

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**KAYSERİ'DE SATIŞA SUNULAN BALIKLARDA *LİSTERİA*
SPP. VARLIĞININ KLASİK KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE
BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Katade ERDOĞAN**

**Danışman
Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM**

Yüksek Lisans Tezi

**Eylül 2013
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**KAYSERİ'DE SATIŞA SUNULAN BALIKLARDA *LISTERIA*
SPP. VARLIĞININ KLASİK KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE
BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Katade ERDOĞAN**

**Danışman
Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-
12-3876 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

Doktora Tezi

**EYLÜL-2013
KAYSERİ**

Doç.Dr.Yeliz YILDIRIM, Katade ERDOĞAN tarafından hazırlanan
“Kayseri’de Satışa Sunulan Balıklarda *Listeria* spp. Varlığının Klasik Kültür
Yöntemi ile Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda
Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

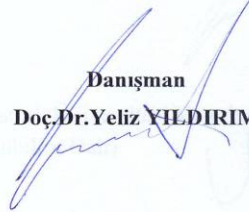
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Kayseri’de Satışa Sunulan Balıklarda *Listeria* spp. Varlığının Klasik Kültür
Yöntemi ile Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü
Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

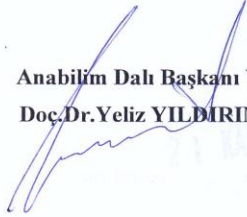
Hazırlayan
Katade ERDOĞAN



Danışman
Doç.Dr.Yeliz YILDIRIM



Anabilim Dalı Başkanı V.
Doç.Dr.Yeliz YILDIRIM



ONAY

Bu tezin kabulü, Erciyes
Üniversitesi Lisansüstü

21 KASIM 2013

Prof.Dr. Şenol ZEDANAR



Doç.Dr.Yeliz YILDIRIM danışmanlığında **Katade ERDOĞAN** tarafından hazırlanan “**Kayseri’de Satışa Sunulan Balıklarda *Listeria spp.* Varlığın Klasik Kültür Yöntemi ile Belirlenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

...../...../ 2013

JÜRİ

Danışman : Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM (Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı)

İmza

Üye : Prof. Dr. Mustafa ATASEVER (Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Şebnem PAMUK (Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı)

ONAY

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

21 KASIM 2013,

21 KASIM 2013,

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

Prof.Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Listeria monocytogenes, insanlarda ve çeşitli hayvan türlerinde ciddi, sporadik enfeksiyonlara neden olan önemli bir etkindir. Özellikle son yıllarda bazı ülkelerde ölümle sonuçlanan çok sayıda *L. monocytogenes* kaynaklı enfeksiyon vakasının ortaya çıkması nedeniyle toplum sağlığı ile uğraşan meslek gruplarının yakından ilgilendiği önemli bir sorun olarak ortaya çıkmıştır. *L. monocytogenes*'in insan ve hayvanlar için patojen olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Hastalık oldukça düşük bir insidensle seyretmesine rağmen risk grubunda bulunan bireylerde yaklaşık %30'lara varan ölüm oranlarına ulaşması hastalığın ciddiyetini ortaya koymaktadır (rantisou, hein).

Etkenin doğada, özellikle toprak ve çevrede yaygın olarak bulunması gıdaların kontaminasyonunu ve buna bağlı olarak gıda kaynaklı listeriozis sıklığını artırmaktadır. Doğada yaygın olarak bulunan *Listeria* türlerine çoğunlukla kanalizasyon, bataklık, nehir suyu ve sebzelerde rastlanmaktadır (garrec, lyautey, crepet). Ayrıca hayvan yemlerinden, sağlıklı ve mastitisli ineklerin sütlerinden, hasta insan ve hayvan dışkılarından, kemirgenlerden, bazı yapraklı sebzelerden, bazı peynir çeşitlerinden çok sayıda *Listeria* izolasyonu yapılmıştır (atıl, akça, low, abdias, kum).

Listeria türlerinin birçok hayvan türlerinde izole edilebildiği bilinmesine rağmen, balık ve diğer deniz mahsullerindeki *Listeria* insidensi hakkında çok az veri elde edilmiştir (hartemink,1991). *L. monocytogenes*'in çeşitli su ürünlerinde bulunması ve bu ürünlerin listeriozisin potansiyel kaynakları olduğu düşünülmesine rağmen, su ürünleri ile insan listeriozisinin bağlantılı oldukları son yıllarda anlaşılmıştır (breer, 1989, hitchins, 1992).

Balık ve diğer su ürünleri *L. monocytogenes*'in taşınmasında rol alabileceği için söz konusu patojenin bu gıdalarda varlığına ilişkin çalışmalar önem kazanmaktadır.

Kayseri ve civarında üretilen ve satışa sunulan balıklarda *L. monocytogenes*'in varlığı ve halk sağlığı açısından oluşturduğu risklerin belirlenmesine yönelik çalışmalar oldukça azdır. Bu çalışmada Kayseri

ve civarında üretimi ve satışı yapılan balıklarda *Listeria* spp. varlığının klasik kültür yöntemiyle belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bu sayede Kayseri’de satışı sunulan balık türlerinin *L. monocytogenes* açısından taşıdığı halk sağlığı riskinin belirlenmesi ve konuya ilişkin literatür bilgilerine zenginlik kazandırılması mümkün olacaktır.

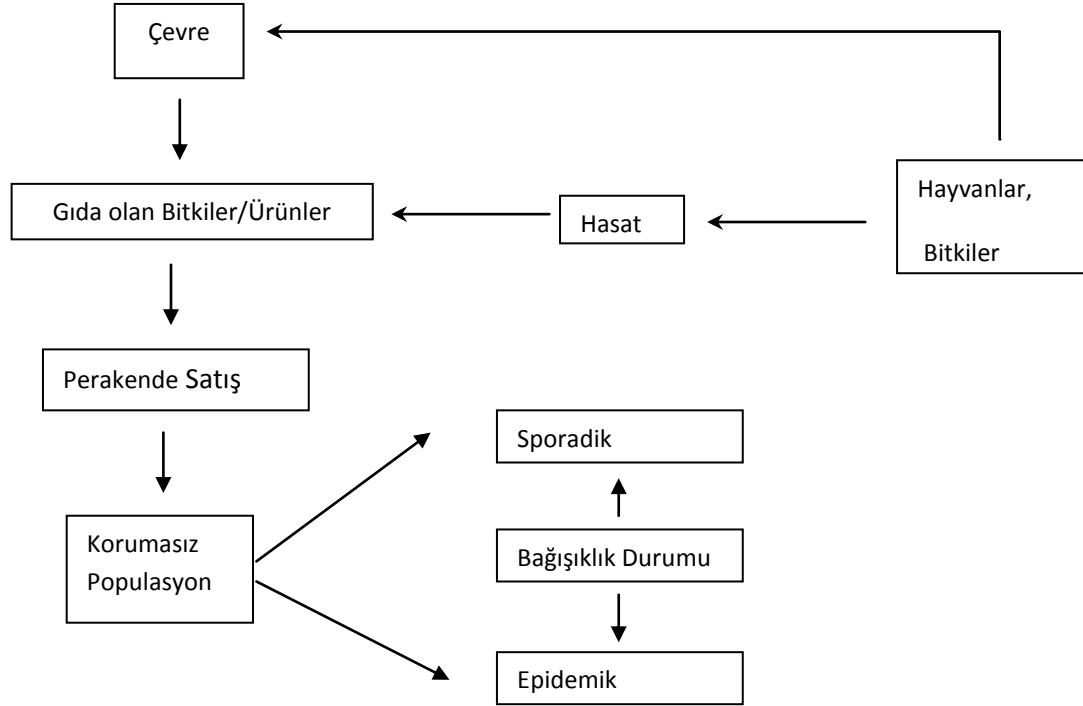
2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Listeria türleri ilk kez 1891 yılında Almanya’da, etkenin hastaların doku örneklerinden izole edilmesi ile bildirilmiştir. Murray ve ark. 1926 yılında laboratuvar rodentlerinde çıkan bir salgından izole ettikleri bakteriye mononükleer lökositoya neden olması sebebiyle *Bacterium monocytogenes* ismini vermişlerdir. Pirie 1927 yılında, bu bakteriyi Güney Afrikada enfekte vahşi gerbillerden izole etmiş ve genus isminin cerrah Lord Lister’e atfen *Listerella* olmasını önermiştir. Murray ve Pirie aynı türden bakteri ile ilgilendiklerini fark ederek isimleri birleştirmişler ve *Listerella monocytogenes* ismini oluşturmuşlardır. Daha sonra yapılan taksonomik çalışmalarla bakterinin ismi *L. monocytogenes* olarak değişmiştir (seeliger,1988).

Yeni doğanlarda sepsis, yetişkinlerde meningitise neden olan hastalığın listeriozis olarak tanımlandığı ilk vaka Burn tarafından 1936 yılında bildirilmiştir (McLauchlin, 1986). Gıda kaynaklı ilk listeriozis vakası ise 1953 yılında, *L. monocytogenes*’in sebep olduğu mastitisli bir ineğin sütünün içilmesi ile tanımlanmıştır. Söz konusu vakada kontamine sütü tüketen hamile kadının ikiz bebeklerinin öldüğü bildirilmiştir (FAO). Almanya’da 1966 yılında 279, Fransa’da 1976 yılında 126 kişinin etkilendiği listeriozis vakaları bildirilse de 1981 yılında Kanada’da ortaya çıkan listeriozis salgınına kadar insan enfeksiyonları çok dikkat çekmemiştir (McLauchlin, 1986).

Listeriozisin Amerika Birleşik Devletleri (Mead,1999), İngiltere ve Galler’de (Adak, 2002) sırasıyla ikinci ve dördüncü en çok ölüm görülen gıda kaynaklı bulaşıcı hastalık olduğu bildirilmiştir. Listeriozisin her iki çalışmada da gıda zehirlenmesinden kaynaklanan ölümlerin yaklaşık %14-15’inden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Adak, 2002) (Mead,1999) . *L. monocytogenes*’in ekolojik etkileşimi, çevre ve gıda bulaşma kaynakları ile listeriozis oluşumu şekil 1. de verilmiştir.



Şekil 2.1. *L. monocytogenes*’in ekolojik etkileşimi ve çevre, gıda ile listeriozis ilişkisi

2.2. LISTERIA TÜRLERİNİN TAKSONOMİSİ

Listeria monocytogenes 1961 yılına kadar soyunun tek türü olarak kabul edilmiş fakat daha sonra *Listeria grayi*, *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri* ve *Listeria murrayi* olarak 6 tür daha belirlenmiştir (Williams). Yapılan çeşitli moleküler çalışmalar ile *L. murrayi*’nin *L. grayi*’nin alttürü olduğu ortaya çıkmıştır (Rocourt1992). *Listeria marthii* ve *Listeria rocourtiae* isimli iki yeni tür ise 2009 yılında rapor edilmiştir (orsi).

Listeria türlerinden *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* ve *L. innocua* memeliler için patojendir (aydın, paracıköğlu, 2004). *L. ivanovii* ve *L. innocua* çoğunlukla ruminantlarda hastalık oluştururken, *L. monocytogenes* hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalık oluşturmaktadır (aydın, paracıköğlu,

2004). Literatürde *L. grayi*'nin immun sistemi baskılanmış hastalarda yol açtığı bakteriyemi ile ilgili 2 vaka bildirilmiştir (todescini, rapose).

Listeria monocytogenes ilk olarak 1940 yılında Paterson tarafından serotiplendirilmiş, bu metot Seeliger ve Hohne tarafından geliştirilmiştir (Seeliger, Honhe, 1979). Flagellar ve somatik antijenlerine göre 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e ve 7 olarak belirlenen *L. monocytogenes* serotiplerinin 4 alt grup altında toplandığı bildirilmiştir (Ward,2008).

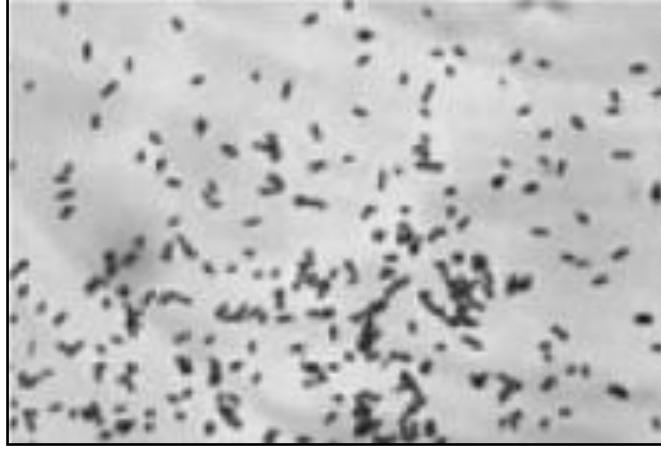
Altgrup I ve II'nin insan klinik ve gıda izolatlarından altgrup III'ün ise hayvan klinik izolatlarından oluştuğu belirlenmiştir (orsi). Her altgruptan gelen izolatların enfeksiyon oluşturma potansiyeli ve stres koşullarında yaşayabilme kabiliyeti açısından farklılık gösterdiği bildirilmektedir. İnsan listeriozis vakalarının % 96'sından 1/2a, 1/2b ve 4/b serotipleri sorumlu tutulmaktadır (liu, Lawrence rew).

Listeria monocytogenes'in suşları arasındaki farkları ayırt etmek için birçok gruplandırma metodu kullanılmaktadır. Serotiplerin fenotipik karakterlerini temel alan ticari antiserumlar ile serotiplendirme, faj tiplendirme ve izoenzim analizi gibi daha geleneksel metodların yanında ribotiplendirme, pulse-field gel electrophoresis (PFGE), random amplification polymorphic DNA (RAPD), amplified fragment lenght polymorphism (AFLP), multilocus sequence based typing (MLST), PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) ve direkt DNA sekanslama gibi genotipik metodlar da bulunmaktadır (Vela 2001, Aurora 2009, cocolin). Bu metodlarla *L. monocytogenes*'in populasyon genetiği, ekolojisi ve bulaşma yolları hakkında bilgiler edinilmiştir (doumith mpx).

Çeşitli kaynaklardan elde edilen 18 adet *L. monocytogenes* suşunun gen sekanslarına Broad Institute'nin internet sitesinden ulaşılmaktadır (<http://www.broad.mit.edu/seq/msc/>).

2.3. LİSTERİA TÜRLERİNİN MORFOLOJİSİ VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Listeria genusunun tüm üyeleri, kısa düzgün çubuk şeklinde, 0,4-0,5 ile 1-2 µm uzunluğunda paralel yüzeyli, genellikle tek ya da kısa zincirler halinde kültürler şeklinde görülür (erol, 2007). Bu bakteriler Gram pozitif fakat özellikle yaşlı kültürlerde gram boya alma özelliğini yitirip Gram negatif olarak görülebildiği gibi direkt frotilerde kokoid görüntü verebilen bakterilerdir (Williams).



Şekil 2.2 Gram boyama yapılmış *L. monocytogenes* preparatı

Listeria türleri sporsuz ve kapsülsüz olup peritrik flagellaları ile hareket ederler. Hareket yeteneği 20-35°C'ler arasında gözlenirken, 37°C'de hareketsizdirler. Hareketleri, yarı katı besiyerinde, 30°C'de, yukardan aşağıya doğru şemsiye şeklindeki üremesi ile gözlenebilir (seeliger, 1986). Sitokromlar ve glikozun aneorobik katabolizması sonucu L(+)- laktik asit, asetik asit ve diğer son ürünler üretilir. Diğer şekerlerden ise gaz oluşturmada asit üretimi şekillenir (Wagner and MC lauchin).

Listeria türlerini benzer bakterilerden ayırt edebilmek için, bazı biyokimyasal reaksiyonlardan faydalanılır (Tablo 2.1). Bu reaksiyonlar, şeker fermentasyon, aminoasit peptidaz, lipolitik ve hemolitik aktiviteler veya Camp testine dayanmaktadır (Wagner and MC lauchin).

Listeria türlerinden *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* ve *L. seeligeri* koyun, at ya da insan kanı eklenmiş kanlı agarda β -hemoliz yapmakla birlikte *L. ivanovii* diğer türlere göre daha geniş hemoliz alanı oluşturmaktadır. Söz konusu bakterilerin ayrımında CAMP testi kullanılmaktadır (mathakiya). Bu teste göre *L. monocytogenes* kanlı agarda *Staphylococcus aureus* ile; *L. ivanovii* ise *Rhodococcus equi* ile sinerjik hemolitik etki göstermektedir (wagler and mclauchin, handbook, allerberger). *L. seeligeri* de *S. aureus* ile sinerjik etki göstermektedir ancak oluşturduğu hemoliz alanı *L. monocytogenes*'e oranla daha dardır (Mathakia).

Tablo 2.1. *Listeria* türlerinin fenotipik özellikleri (Wagner and MC lauchin)

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

<i>Equi</i>						
^a +pozitif reaksiyon, - negatif reaksiyon, $\pm$ değişken ya da zayıf reaksiyon ^b CAMP: Hemoliz reaksiyonunda artma ^c ++Güçlü hemolitik reaksiyon						

Listeria türlerinin hücre duvarında iki farklı polianyonik polimer bulunur. Bunlar peptidoglikana kovalent bağ ile bağlanmış teikoik asit (TA) ve lipoteikoik asittir (LTA). Bu polimerler hücre duvarı kuru maddesinin % 50–60'ını meydana getirir. Aynı zamanda bu polimerler, metal katyon dengesinde, iyon, besin maddesi ve protein taşınmasında ve yüzey proteinlerinin sabitlenmesinde önemli fonksiyonları vardır. Ayrıca TA ve LTA, *L. monocytogenes*'in serotipleri arasındaki temel farklılıkları belirlemektedir (goldfine Pucciarelli).

Bütün *Listeria* türleri yapay besi yerinde morfolojik olarak benzerlik gösterir ve *Listeria* kolonileri 24-48 saatlik inkubasyon periyodu sonunda 0.5- 1.5 mm çapında yuvarlak yarı saydam, hafif konveks, keskin kenarlı ve kristal merkezli renksiz şekilde görülürler. Bakteriyel üreme besi yeri yüzeyinden kaldırıldığında yapışkan ve agar yüzeyinde iz bırakmış halde görülür. Yaşlı kültürlerin (3 ila 7 günlük) çapı 3-5 mm'ye kadar genişleyebilir ve daha opak bir yapı kazanır (Wagner and MC lauchin).

2.4. LİSTERİA TÜRLERİNİN FİZYOLOJİSİ

2.4.1. Üreme Özellikleri

Bakteriler psikotrof özellikte olup 0- 45°C arasında üreyebilmektedirler. Optimal üreme ısıları ise 30-37°C arasındadır (seeliger, 1986). *Listeria* spp. optimal üreme için genellikle biotin, riboflavin, tiyamin, alfa lipoik asit, ve amino asitlere (örneğin sistin glutamin, isoleusin leusin ve valin) gereksinim duyar. Karbonhidratlardan (örneğin glikoz) yan ürün olarak asitler üretilir ve bunlar *Listeria* spp.'nin çoğalması için de gereklidir. Genel olarak *Listeria* türleri selektif olmayan bazı besi yerlerinde iyi ürerler. Tryptone soy broth veya brain-heart infusion (BHI) broth gibi selektif olmayan besi yerlerinde *Listeria* spp. hem aerobik hemde anaerobik olarak üreyebilirler; BHI broth'da 30 °C de yaklaşık 12 saat inkubasyon sonunda durağan faza geçilir. 20-25 °C arasında inkübe edilen kültürlerde takla atma hareketi gözlenir (wagner).

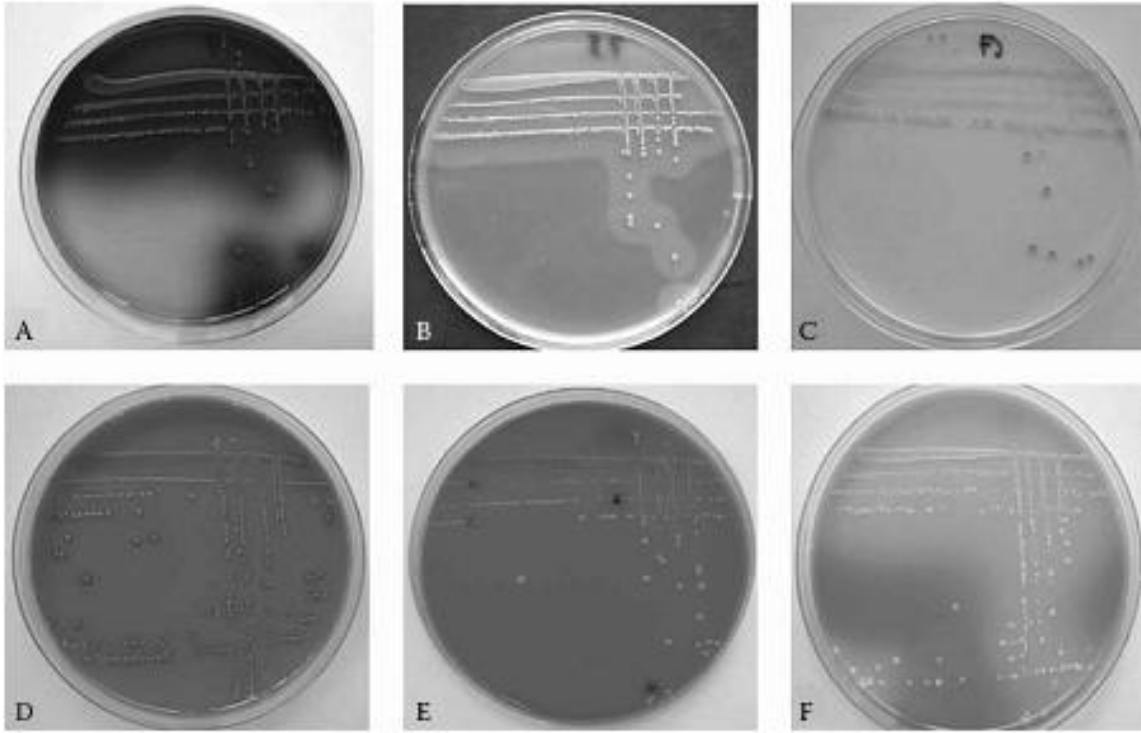
Listeria spp. düşük sıcaklıklara çok iyi adapte olmuş psikrotrofik organizmalardır ve 0 °C nin altındaki sıcaklıklarda canlılığını sürdürürler. *L. monocytogenes*'in buzdolabı ısısında (4°C) üreyebilmesi, ısı

işlemi görmeyen ya da ısı işleminden sonra kontamine olan ve buzdolabında uzun süre muhafaza edilen tüketime hazır gıdalarda çoğalma riskini artırmaktadır (Beverly).

Listeria türlerinin metabolizması anaerobik ve fakültatif anaerobik özellik göstermektedir (wagner). Nötral ya da hafif alkali ortamları tercih etseler de pH 4.3 ile 9.6 arasında üreyebilmektedirler. Bakterilerinin 3.0 ile 12.0 arasındaki pH değerlerinde hayatta kaldığı bildirilmektedir (liu2005, hain). Optimal su aktivitesi (a_w) değeri 0.97 olmasına karşın üreyebilecekleri en düşük a_w değeri 0.92 olarak belirtilmiştir. Ayrıca 0.83 a_w 'de de canlılıklarını muhafaza edebilmektedirler (renier). Tuza (NaCl) toleranslı oldukları, yaklaşık % 40 civarındaki yüksek tuz konsantrasyonlarında dahi uzun süre canlılığını sürdürebildikleri belirtilmektedir (liu2005, lourenco). Bakteriler, % 10'luk NaCl ve 200 ppm sodyum nitrit (NaNO_2) konsantrasyonunda üreyebilmekte ve gıda üretim çevrelerinde nemli ve kuru ortamlarda yıllarca yaşayabilmektedirler (liu2005,). Etkenlerin % 4 'lük tuz konsantrasyonunda yüksek ısı, düşük pH ve nisin gibi bariyerlere karşı direncinin arttığı belirtilmektedir (Falerio 2003).

Listeria monocytogenes ısıya dayanıklı değildir ve sütün pastörizasyon parametrelerine dayanmamaktadır (Bell, 2005). Etkenin Sütteki $D_{71.7}^{\circ\text{C}}$ değeri 2.7-4.1 saniye, etteki $D_{62.8}^{\circ\text{C}}$ değeri 2.56 dakikadır (Erol, 2007).

Gıda, gaita ve su gibi ortamlardan *Listeria* türlerini izole etmek için International Organization for Standardization (ISO), Food and Drug Administration (FDA), Association of Official Analytical Chemists (AOAC) ve US Department of Agriculture'nın (USDA) bildirdiği klasik kültür yöntemleri kullanılmaktadır (ISO2004, hitkins, usda, aoac). ISO11290 metodunda iki aşamalı zenginleştirme uygulanmakta ön zenginleştirme için half fraser, selektif zenginleştirme için ise fraser broth kullanılmaktadır. Fraser broth, akriflavin ve naladiksik asit gibi selektif ajanlar ile *Listeria* türlerinin β -D-glukozidaz aktivitesini ölçen eskülin içermektedir. Zenginleştirme aşamalarından sonra Oxford, PALCAM ya da MOX agara ekim yapılmaktadır (ISO,2004). Bakteri, *Listeria* selektif besi yerlerinde, 24- 48 saat inkübasyonun ardından 0.5- 1.5 mm çapında, yuvarlak, yarı saydam, etrafı belirgin ve hafif konveks koloniler oluşturur. Koloniler öze ile toplandığında yapışkandır ve besi yerinde izleri kalır (wagler and MC lauchin, handbook). Selektif besi yerlerinin *Listeria* türlerini diğer bakterilerden ayırması eskülinaz reaksiyonuna dayanmaktadır. Ancak *Enterococcus* ve *Bacillus* türleri de eskülini benzer şekilde kullanmaktadırlar. Bu gibi durumlarda şüpheli kültürler tryptic soy agara (TSA) aktarılıp eğimli ışıktaki incelenirse, *Listeria* spp. kolonileri verdikleri mavi-yeşil röfle ile diğerlerinden ayrılmaktadır (gasanov). Selektif kromojenik *L. monocytogenes* agarları *L. monocytogenes* deteksiyonuna 37 °C de 24-48 saatlik süreye kadar kısaltabilmekle birlikte elde edilen izolatların daha sonraki testlerle de doğrulanması gerekmektedir. Farklı *Listeria* türlerinin selektif agarda koloni üremelerine ilişkin örnekler Şekil 2.3'de gösterilmektedir. Son zamanlarda *Listeria* türlerinin gıdalardan izole edilmesi için İmmunoassay'lere ve polimeraz zincir reaksiyonlarına dayanan teknikler sıklıkla kullanılmaktadır (wagler and MC lauchin, handbook).



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

2.4.2. Stres Toleransı

Bakteri, sıcaklık, pH, ozmotik basınç, oksidatif stres ve safra tuzları gibi stres faktörlerine karşı çeşitli proteinler sentezlemektedir:

2.4.2.1. Isı Stresi Yanıtları

Birçok organizmada olduğu gibi *Listeria* türlerinin de ısı stresine karşı, ısı şoku proteinlerinden (Heat shock proteins, Hsps) oluşan korunma mekanizması bulunmaktadır (gahan, 2001). Sıcaklık şoku cevap mekanizması yüksek derecede hücresel savunma mekanizmasıdır ve sıcaklık şoku proteini (HsPs)

salgılanması ve birikimi ile karakterizedir (yura,1999). Çoğu Hsps düşük seviyeli stres koşullarında da salgılanır, fakat bakteri suni olarak uyarılarak ortam sıcaklığının yükseltilmesi ile çok kısa sürede eyleme geçer (abee,1999). Hsps lerin kendileri birer virülens faktörüdür (solokovic,1989), hastalığın esas ve gelişimini indirekt olarak etkilerken, konakçı savunmasına karşı bakterinin direncini artırır ya da virülens genlerini regüle ederler (gahan,2001) (havana,2002) (stack,2005). Çoğu Hsps iki sınıfa dahildir; moleküler koruyucular yada adenosin tri fosfat (ATP)- proteaz bağımlılar(ATPases). Genel olarak, iyi yapılanmış proteinler dayanıklı olmakla birlikte bazı stres koşullarına maruz kalarak protein yapıları zarar görür ve hücre yüzeyinde hidrofobik kalıntılar şekillenir. (georgopoulos,1993) (gottesman,1996).

Listeria monocytogenes'in ısı şoku proteinleri, GroELS, DnaKJ, HtrA, Clp (ABCEP) olarak belirlenmiştir (stack, handbook). GroEL ve GroES proteinlerini kodlayan *groEL* ve *groES* genleri her ısıda üreme için gereklidir (gahan, 2001). Değişik çalışmalar, GroEL protein üretiminin düşük pH ve osmolarite, etanol ve safra tuzu gibi stres ortamlarında da arttığını göstermektedir (gahan, hill). Gıdanın yavaş yavaş ısıtılması, sodyum laktat veya NaCl eklenmesi bakterinin ısıya direncini artırmaktadır (zhu2005a).

Clp (caseinolitik proteaz) proteinlerini kodlayan *clpB*, *clpC*, *clpE*, ve *clpP* genlerinin aynı zamanda basınç toleransında, harekette ve virülansta da rol oynadığı bildirilmektedir (karatzas). HtrA proteinini kodlayan yüksek ısı gereklilik genleri (high temperature requirement, *htr*) değişik bakterilerden de izole edilmektedir. Bu protein asit, antibiyotik, ısı, oksidatif ve ozmotik stres gibi durumlarda bakteriye direnç sağlamak ve biyofilm oluşumunda rol oynamaktadır (stack, wonderling).

2.4.2.2. Asit Stresi Yanıtları

Listeria türleri sitoplazmik pH'larını nötrale yakın tutabilmek için asit şok proteinleri (ASPs) üretebilmektedirler. Bakterilerinin glutamat dekarboksilaz, arjinin deiminaz ve FOF1-ATPaz gibi asit direnç mekanizmaları vardır (stack, Handbook).

Glutamat dekarboksilaz (GAD) sisteminde sitoplazmik GAD geri dönüşümsüz olarak ekstraselüler kaynaklı glutamatı dekarboksile eder ve γ -aminobütirat (GABA) oluşturur. Reaksiyon boyunca hücre içi protonlar harcanır böylece sitoplazma asitleşmesi azaltılır ve pH dengesi sağlanır. GABA glutamattan daha az asidiktir ve çevrenin alkalizasyonuna katkıda bulunur. Bu reaksiyonu gerçekleşmesi için ortamda serbest glutamat bulunması gerekmektedir. Gıdalarda asitliği ayarlamak ve aroma sağlamak için gıda katkısı olarak kullanılan glutamat, birçok gıdada *L. monocytogenes*'in gelişimine katkıda bulunmaktadır. Bu genlerin transkripsiyonel düzenlenmesi, asit ortamda *sigB* geni tarafından kodlanan alternatif sigma faktör (σ^B) tarafından yapılmaktadır (hain, becker, ferreira).

2.4.2.3. Ozmotik Stres Yanıtları

Yarı geçirgen yapıdaki bakteriyel sitoplazmik membran, su için geçirgen olmasına rağmen metabolitler için geçirgen değildir. Hiperozmotik şok karşısında bakteri hücresi, “ozmolit” adı verilen ve hücre fonksiyonlarını değiştirmeyen küçük organik molekülleri hücre içinde biriktirmeye çalışır. Glisin betadin, prolin, prolin betadin, asetil karnitin, karnitin, gama-bütirobetadin ve 3-dimetilsülfaniol-propiyonat bilinen ozmolitlerden bazılarıdır. En etkilileri glisin betadin ve karnitindir (stack, Handbook, considine). *L. monocytogenes*'in glisin betadin ve karnitin alımı, BetL, Gbu ve OpuC adı verilen 3 ozmolit taşıyıcısı vasıtasıyla olmaktadır (selator2003).

2.4.2.4. Streslen Çapraz Korunma

Çapraz koruma veya stres katılaşması terimleri bir stres durumunun diğer stres faktörlerine karşı koruma sağlama yeteneği olarak açıklanabilir. Bu durum maruz kalınan stresin çeşidine ve letalitesine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bu fenomen bir çok bakteride tarif edilmiştir ve mevcut gıda işleme teknolojileri modifiye edilirken veya yeni teknolojiler geliştirilirken göz önüne alınması gereken önemli bir ayrıntıdır. Nitekim bu durum gıda muhafaza önlemlerinin etkinliğini azaltarak gıda güvenliğini riske atabilmektedir (Browne, Faleiro). Söz konusu çapraz koruma fenomeni *L. monocytogenes*'de de bulunmaktadır (O'dricol). *L. monocytogenes*'de ozmotik, hidrojen peroksit, ısı, etanol ve glikoz adaptasyonu ile indüklenen çapraz koruma sistemi, asit adaptasyonu ile oluşan çapraz korumadan çok daha sınırlı bir çapraz koruma sağlamaktadır. *L. monocytogenes*'in pH 4.5-5'e 1 saat maruz bırakılmasının ardından pH 3.5, % 17.5 etanol veya % 0.1'lik hidrojen peroksit maruz bırakıldığında bakteri hücrelerinin canlı kalma yeteneğinin arttığı gözlemlenmiştir (lou, 1997). Bu durum, asit adaptasyonunun bakteri tarafından daha genel bir stres indikatörü olarak algılandığını öte yandan tuz, sıcaklık, etanol, hidrojen peroksit ve glikozun daha spesifik stres olarak algılandığını ortaya koymuştur. Sonuç olarak gıda işleme endüstrisinde asite maruz bırakılan mikroorganizmalar mide ve bağırsakta ve son olarak sistemik enfeksiyon süresince maruz kaldığı invivo streslere iyi bir şekilde hazırlanmış olmakta dolayısıyla adapte edilmiş çapraz direnç bakterinin canlı kalma ve hastalık oluşturabilme yeteneğini desteklemektedir (stack, handbook).

2.4.3. Virülans Faktörleri

Listeria monocytogenes ile *Listeria innocua*'nın dairesel gen haritaları Glaser et al (2001) tarafından yayınlanmıştır. *Listeria* türlerinde virülansstan sorumlu genlerin bulunduğu 9.6-kb'lık gen kümelerine *Listeria* patojenite adası adı verilmektedir. *Listeria* patojenite adası 1 (LIPI-1) *L. monocytogenes* ile *L. seeligeri*'de bulunurken, *Listeria* patojenite adası 2 (LIPI-2) *L. ivanovii*'de bulunmaktadır. *L. ivanovii*'de

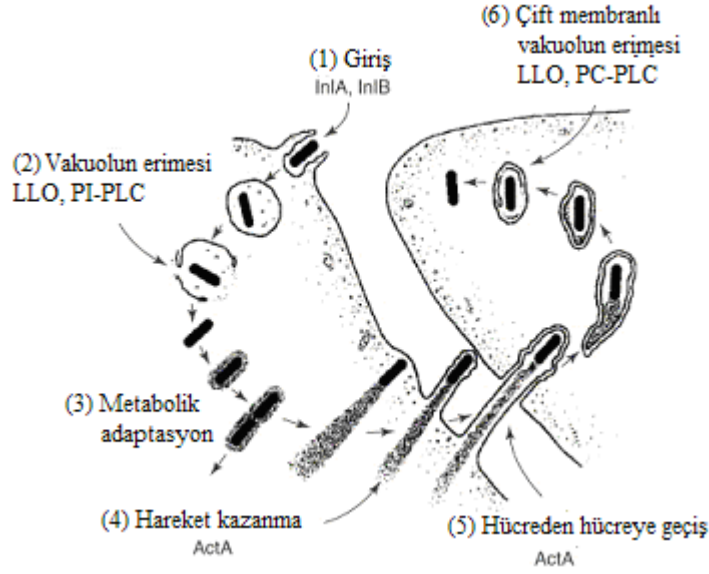
bulunan LIPI-2 gen klusteri ruminant eritrositlerindeki posfolipitleri parçalayan fosfokolinesteraz enzimini kodlamaktadır (hain, Wagner, mclauchlin,handbook).

Virölans genlerinin üretilmesi ve düzenlenmesi için *prfA* geni tarafından kodlanan Pozitif Regülatör Faktör A (PrfA) ve aynı zamanda stres tolerans genlerini de düzenleyen σ^B gereklidir. Enfeksiyonun gastrointestinal aşamasının σ^B , kanda yayılma aşamasının ise PrfA tarafından düzenlendiği düşünülmektedir (stavru).

Hücre içi bir patojen olan *L. monocytogenes*'in hücreye adhezyonu için internalin A ve B proteinleri kullanılmaktadır. Internalin A (InIA), tüm vücuttaki fagositik olmayan epitel hücrelerine tutunmak için gereklidir. İntestinal bariyeri ve plasentayı geçmede kritik role sahiptir. Söz konusu protein, memeli hücre duvarındaki peptidoglikanda bulunan e-kaderin isimli proteine kovalent bağlanarak hücreye penetre olur ve bakterinin hücreye alınmasını sağlar (Lecuit, orndorff,). Internalin B ise hepatosit benzeri hücrelere girmek için gereklidir. InIA ve B'nin haricinde InIC, InIC2, InID, InIE, InIF, InIG InIH ve InIJ olarak isimlendirilen ve konak hücrelerine internalizasyonda rol oynayan başka internalinler de belirlenmiştir (Liu, 2007b).

Internalin proteinleri ile konak hücreye penetre olan bakteri, konak hücre tarafından vakuol içine alınır. Tek membranlı vakuolden kurulmak için *hlyA* geni tarafından kodlanan (LLO) salgılanır. LLO, fosfolipidleri parçalayan ve *plcA* geni tarafından kodlanan fosfoditil inositol fosfolipaz (PI-PLC) ile birlikte vakuol membranını lize ederek sitoplazmaya geçer (Cabanès 2004; Dancz,2002, hain). Bakteri, tekrar üreyebilmek için hücre içi ortama adapte olur. Metabolik adaptasyon için hücreye şeker alımı gerekir. Bu alım, heksoz fosfat transporter (*htp*) ve benzeri genlerin ekspresyonu ile gerçekleştirilir (stavru). Hücre içinde 1 saatte çoğalan bakteri, komşu hücreye geçmek için hareket kazanmak zorundadır. Bunun için *actA* geni tarafından kodlanan aktin polimerizasyon proteini (ActA) ile konak hücrenin sitoplazmasındaki polimerize aktini kullanır ve flagella benzeri bir yapı oluşturarak hareket kazanır (Chong, Cabanès, 2004, stavru).

Bakteri hücre dışına hiç çıkmadan konak hücreden komşu hücreye geçtiğinde etrafı çift membranlı vakuol ile çevrilidir. Bu membranı geçmek için *plcB* geni tarafından kodlanan fosfaditil kolin fosfolipaz (PC-PLC) gereklidir. PC-PLC'nin aktivasyonu için ise *mpl* geni tarafından kodlanan metalloproteaz (Mpl) proteinine ihtiyaç vardır (liu, Lawrence,2007a). Mpl proteini tarafından aktive edilen PC-PLC, fosfaditilkolini parçalayarak hücreden hücreye geçişi sağlar (Marquis, 2000). Hücre içi üreme ve hareket yeni hücrede de devam eder (Şekil 2.2).



Şekil 2.4. *L. monocytogenes*'in hücre içinde üremesi ve komşu hücreye geçişi (portnoy, goldfine)

Bu sürece katkıda bulunan çeşitli proteinlerden p104 isimli yüzey proteini, bağırsak hücrelerine tutunmayı sağlar. Tüm *Listeria* türlerinde bulunan *iap* geni tarafından kodlanan p60 isimli hücre dışı protein ise patojen *Listeria* türlerinde fibroblastlar gibi fagositoz yeteneği olmayan hücrelere invaze olmayı sağlar (Bubert, pucciarelli, goldfine). PrfA tarafından düzenlenen *vip* geni ise LPXTG proteinlerini kodlamaktadır. Patojen olan *Listeria* türlerinde bulunan bu proteinler, konak sinyal sistemine ve immün yanıtına engel olmaktadır (Cabanes, 2005. Li, 2002).

Ağız yoluyla alınan bakteri sekum ve kolonun lamina propriasının altındaki fagositik hücrelere geçer. Kan ve lenf yoluyla mezenterik lenf yumrularına, dalağa ve karaciğere ulaşır (Vazquez-Boland, 2001). Karaciğer ve dalak, bakteriyel üreme için birincil hedef organlardır. Bakteri bu organlarda apse oluşturur. Deneysel intravenöz enfeksiyondan 10 dakika sonra inokulumun % 90'ının karaciğerde, % 5- 10'unun dalakta toplandığı, ilk 6 saatte karaciğerde bulunan canlı bakteri hücre sayısının 10 kat azaldığı görülmüştür (Stavru). Deneysel olarak enfekte edilen hayvanlarda bakterinin, dalak ve karaciğerdeki fagositik hücreler tarafından ilk enfeksiyondan 10- 14 gün sonra kandan temizlenebildiği görülmüştür. Ancak özellikle immün sistemi yetersiz bireylerde, aktive edilmemiş fagositik hücrelerdeki bazı bakterilerin yaşamaya devam ettiği ve hepatositler gibi diğer konak hücrelerine yayıldığı daha sonra da kan-beyin ve plasenta gibi bariyerleri geçebilmesinden dolayı uterusu ya da sentral sinir sistemine invaze olduğu bildirilmiştir. Bu olay, bazı hastalarda kontamine

yiyecek tüketiminden sonra, 3 aydan uzun süren inkübasyon süresini açıklamaktadır (Vazquez-Boland, 2001).

2.4.4. Antimikrobiyallere Karşı Duyarlılık ve Dayanıklılık

Antimikrobiyel direnç, mikroorganizmaların gösterdiği bir adaptasyon süreci olmasına rağmen, antibiyotiklerin hatalı kullanılması sonucu mikroorganizmalar arasında direncin artışı hızlanmıştır (Sibergeld). *Listeria* spp. bazı antimikrobiyel ajanlara karşı duyarlıdır. Troxler ve ark. 103 *Listeria* suşunun (21 *L. monocytogenes*, 21 *L. innocua*, 21 *L. seeligeri*, 19 *L. ivanovii*, 11 *L. welshimeri*, and 10 *L. grayi* içeren), pek çok antimikrobiyele karşı doğal olarak duyarlı bazılarına ise dikkate değer bir şekilde dirençli olduğunu bildirmişlerdir (Tablo.2.4). *L.grayi*'nin trimethoprim, co-trimoxazole, ve rifampicine karşı dirençli görüldüğünü, kinolonlardan ise kolay etkilendiğini bildirmişlerdir. Ayrıca *L. ivanovii*'nin kinolonların çoğuna karşı doğal direncinin bulunduğu, *L. monocytogenes*'in ise nalidiksik asit, fusidik asit ve fosfomisin gibi antibiyotiklere doğal olarak dirençli olduğu ve bu antibiyotiklerin diğer mikroorganizmaların üremesine engel olmak amacıyla *listeria* selektif broth ve agarlarda kullanıldığı belirtilmektedir (baylan, aureli, conter, 2009).

Tablo 2.2. *Listeria* türlerinin antimikrobiyel ajanlara karşı direnç ve duyarlılıkları

Doğal duyarlı	Doğal dirençli
Tetracyclines	Cephalosporinler
Aminoglycosides	Aztreonam
Penicillins (except oxacillin)	Pipemidic acid
Cephalosporinler (loracarbef, cefazoline, cefaclor)	Dalfopristin/quinupristin Sulfamethoxazole
Cefotiam	
Cefoperazone	
Carbapenems	
Macrolides	
Lincosamides	
Glycopeptides	
Chloramphenicol	
Rifampicin (<i>L. grayi</i> hariç)	

Listeria monocytogenes'in genellikle gram pozitif bakterilere karşı kullanılan antibiyotiklere duyarlı olduğu (III. kuşak sefalosporinler, bazı kinolonlar ve fosfomisin hariç) bildirilmektedir. Son zamanlarda listeriozisin standart tedavisinde β -laktam antibiyotiklerden ampicilin tek başına ya da gentamisin gibi aminoglikozidlerle birlikte, β -laktam alerjisi olan hastalarda ise trimetoprim (TMP) ile birlikte sulfometoksazol (STX) gibi bir sülfonamid türevi kullanılmaktadır. Ayrıca vankomisin ve eritromisinin de bakteriyemi ve hamilelerde listeriozisin tedavisinde kullanıldığı belirtilmektedir (Yan, conter). Bilinen ve listeriozisin tedavisinde kullanılan antibiyotiklere direnç gösteren *Listeria* türlerine ait artan sayıda izolat bildirilmektedir (Yan). Yakın zamanda tetrasiklin, TMP- STX, kloramfenikol, eritromisin, streptomisin ve vankomisine dirençli izolatlar bildirilmiştir (Aurelia, conter, marco). Gentamisin, penisilin, ampicilin, kanamisin, sulfonamid ve rifampisin de *L. monocytogenes*'in dirençli olduğu antibiyotikler arasında rapor edilmiştir (Zhang).

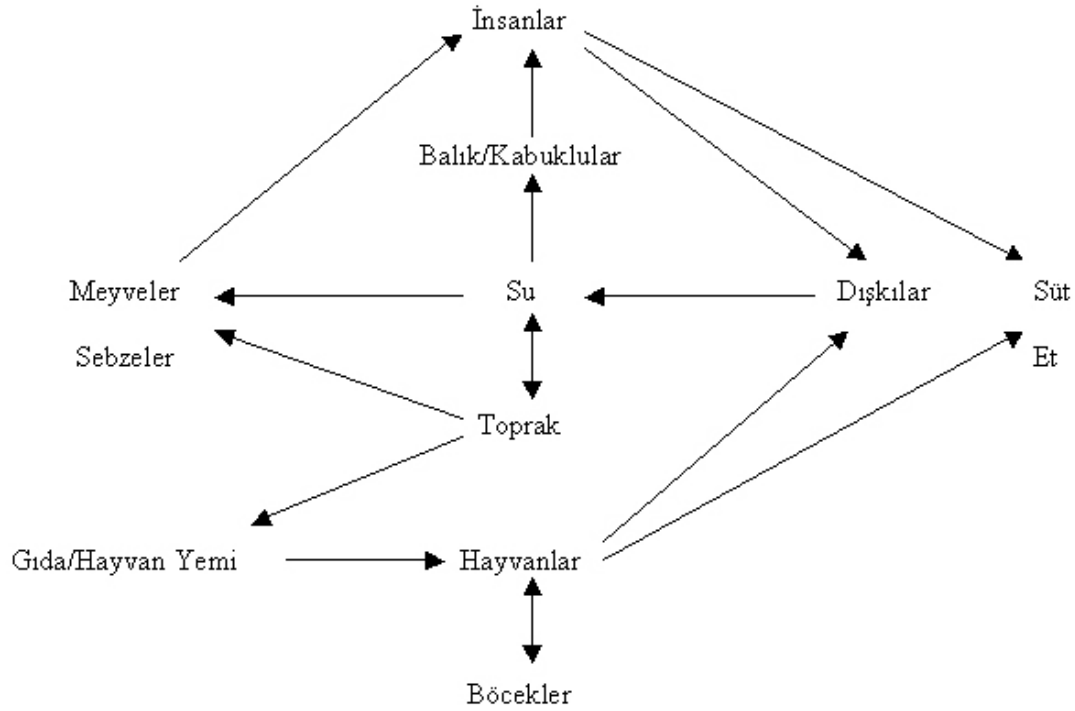
2.6. LISTERIA ENFEKSİYONLARI

2.6.1. Epidemiyoloji, Bulaşma Yolları ve Tiplendirme

Listeria türlerinin insan ve hayvanlarda meydana getirdiği enfeksiyona listeriozis adı verilmektedir. Neredeyse tüm insan listeriozis vakalarının *L. monocytogenes* (mc lauchlin, 1997); çok nadir olarak *L. ivanovii* ve *L. seeligeri* kaynaklı olduğu rapor edilmiştir (rocourt,1986; cummis,1994). Her ne kadar koyunlarda görülen septiseminin yaklaşık %10'unun *L. ivanovii* kaynaklı olduğu bildirilse de (low,1997) ; *L. monocytogenes* diğer hayvanlar için de major patojendir. Ek olarak sahip olduğu virülens gen kümeleri (*Listeria'* da bilinen patojenitik alan island 1 ya da LIPI-1) *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* için ortaktır. *L. ivanovii* island 2 (LIPI-2) ye sahip olması ile *Listeria* patojenitesinden ayrılır ki fosfokolinesteraz kodu ruminant eritrositlerinde bulunan fosfolipidleri daha verimli kullanmak içindir (gonzales-zorn,1999). Bu da küçük ruminantların *L. ivanovii* enfeksiyonlarına karşı olan hassasiyetlerini açıklamaktadır.

Listeria monocytogenes NIAID (National Institute of Allergy and Infectious Disease) tarafından B kategoride biyoterörizm ajanı olarak sınıflandırılmaktadır (<http://www.broad.mit.edu/seq/msc/>). *L. monocytogenes* konağın farklı dokularına kolonize olarak farklı klinik semptomlara neden olan multisistemik invaziv bir patojendir. Bu semptomlardan bazıları, diğerlerinden daha sık olarak rastlanan ve etkenin spesifik olarak beyine ve plasentaya affinite gösterdiğini ortaya koyan meningoensefalit ve abort şeklinde görülen semptomlardır. Çoğu durumda etken zayıf ve immun sistemi baskılanmış bireylerde kendini gösterdiği için *L. monocytogenes* oportunist bir patojen olarak değerlendirilebilir. Etken aynı zamanda kuşlar ve memeliler de dahil olmak üzere birçok hayvan türünde hastalığa neden olabilmektedir. Hayvanlarda ve insanlarda görülen patolojik bulgular birbirine benzemektedir ki bu durum patogeneiz mekanizmasının bütün duyarlı konaklarda aynı olduğunu ortaya koymaktadır. Son yıllarda *L. monocytogenes*'e ilişkin virülans determinantları ve mevzuat düzenleme konuları en önemli araştırma başlıkları arasında yer almaktadır (vaskuez, cabanes, 2004;).

Listeriozis genellikle sporadik olarak seyreden ancak salgınların da görüldüğü ve çoğunlukla gıda ile bulaşan bir hastalıktır (dillon,1992). Şekil 2.4'de Listeriozis'e ilişkin enfeksiyon döngüsü şematize edilmiştir.



Şekil 2.5. *Listeria* enfeksiyon döngüsü (Dillon, 1992)

Gıdalar, listerozisin bulaşmasında temel faktör olarak yer alsa da hastalığın başka bulaşma yolları da vardır. Hasta hayvanla ya da hayvan materyali ile temas, veteriner hekimler ve çiftlik çalışanlarında çeşitli deri ve göz semptomlarının oluşmasına neden olabilmektedir (bucholz). Yeni doğan bebeklerde çapraz kontaminasyon yoluyla oluşan enfeksiyonların belirtileri, bebek hastaneyi sağlıklı olarak terk ettikten 5- 12 gün sonra görülür. Bu enfeksiyonlarda bulaşma, genellikle aynı bakım ünitesindeki bebeklerde kullanılan ortak ekipman ya da çalışan hemşireler yoluyla gerçekleşmektedir (lorber, goldfine). Ayrıca anneden bebeğe plasenta ya da enfekte doğum kanalı yoluyla da bulaşabilmektedir (Colodner, 2003).

Listeria monocytogenes mastitis etkenlerinden biri olmasına rağmen, gıdaların enfekte hayvandan direkt kontaminasyonu nadir görülmektedir (oliver, goldfine).

Bakterinin pastörizasyon ısısında inaktif olması *L. monocytogenes* içeren gıdaları ısı işleminden sonra güvenli hale getirmektedir. Çoğunlukla çiğ tüketilen ya da rekontamine gıdaların listeriozise neden olduğu belirtilmektedir. Rekontaminasyonun en önemli nedeni ise üretim sürecinde gıda imalathanelerinde hijyen ve sanitasyona dikkat edilmemesidir (oliver, goldfine). Gıda üretim çevrelerinde kullanılan ahşap ekipman, dilimleme makinesi, ahşap ya da metal raflar, delikli taşıyıcı bant gibi temizlenmesi zor ekipmanların temizliğine gerekli

özenin gösterilmemesi, üretim ünitesinde gıda kalıntıları, sıkışık soğutma odası ve yetersiz drenaj gibi olumsuz faktörler bakteri üremesine fırsat vermektedir (oliver, goldfine). Kontamine gıda matriksinin *L. monocytogenes* üremesine uygun olması (yüksek su aktivitesi, nötral pH), yüksek oranda kontamine olması ($>10^3$ kob/g), tüketime sunulmadan önce uzun süre buzdolabında bekletilmesi ve çiğ tüketilmesi hastalık riskini artırmaktadır. *L. monocytogenes*'in minimal enfeksiyon dozu 100 kob/g olarak bildirilmiştir (bortolussi).

Avrupa ülkelerinde 2000 yılında 1.9–7.5 vaka/milyon kişi arasında bildirilen listeriozis insidensinin 2000 yılından beri özellikle 65 yaş üzerindeki kişilerde artış gösterdiği belirtilmektedir (goulet). ABD'de 1998- 2002 boyunca gıda kaynaklı hastalıkların neden olduğu ölümlerin yaklaşık % 43'üne *L. monocytogenes*'in sebep olduğu rapor edilmiştir (yan, 2010).

2.6.1. Hayvanlarda Listeriozis

Listeria türlerinin sağlıklı evcil hayvanlardan ve atıklarından izole edildiğini bildiren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bunlardan bazıları: Hofer ve ark. (?) Brezilya'daki sağlıklı ineklerden 239 *Listeria* spp. izolatu elde ettiklerini; bunların içerisinde 96 *L. monocytogenes*, 141 *L. innocua*, bir *L. ivanovii*, ve bir *L. grayi* bulunduğunu bildirmişlerdir. Antoniollo ve ark. (?) Brezilya'da bulunan kuzulardan aldıkları 35 dışkı örneğinde 7 (%20) *L. welshimeri* ve 3 (%8.6) *L. innocua* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Hutchison ve ark. (?) İngiltere'de çiftlik hayvanları atıklarındaki *L. monocytogenes* prevalansını araştırdıkları bir araştırmada, taze inek dışkı örneklerinden %29.8'inden (241/810), taze domuz dışkı örneklerinin %19.8'inden (24/126), taze kanatlı dışkı örneklerinin %19.4'ünden (13/67), ve taze koyun dışkı örneklerinin %29.2'sinden (7/24) *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Benzer olarak, Nightingale ve ark. (?) 52 ruminant(inek, koyun, keçi) çiftliğinden %20'sinde *L. monocytogenes*, Ho ve ark. (?) 759 süt ineği dışkı örneğinden 26 (%3.4) *L. monocytogenes* ve 112 (%14.8) *Listeria* spp. suşu izole ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca çiftlikte kullanılan araç gereçlerden alınan 674 örnekte de *L. monocytogenes* (%2.7) ve *Listeria* spp. (%13.9) bulunduğu bildirilmiştir. Bu gözlemler *Listeria* spp. nin evcil hayvanlarda ortak olarak bulunduğunu göstermektedir.

Sığır, keçi, koyun gibi çiftlik hayvanları başta olmak üzere 40'tan fazla vahşi ve evcil hayvan türünün listeriozis enfeksiyonuna duyarlı olduğu belirtilmektedir (orndorff). Hayvanlarda listeriozisin belirtileri, meningoensefalit, abort, endoftalmit, sepsis ve mastitistir (barbuddhe). Meningoensefalit gelişen hayvanlarda kendi eksenini etrafında dönme hareketi ile karakterize tipik semptom ilk kez 1933 yılında Gill tarafından Yeni Zelanda'da tanımlanmıştır (Low). Winter ve ark. (?)

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

Hayvanlarda listeriozis bulaşıcı olmayan sporadik vakalar şeklinde ortaya çıkmaktadır. Fakat silaj gibi kontamine kaynaklar koyunlarda salgınlara yol açabilmektedir. Hastalık özellikle kış ve ilkbahar aylarında çok sık görülmektedir. Kış aylarında sık görülmesinin nedeni olarak silajla beslenmenin yanı sıra diğer patojenlerin üremesinin baskılandığı düşük ısılarda bakterinin üreyebilmesi gösterilmektedir. (Picoux, 2008). Wagner ve ark. (?) Listeriozis salgını olduğu bildirilen 55 koyunluk bir sürüde hastalık sebebinin *L. monocytogenes* ile kontamine çayır otu silajı olduğunu bildirmişlerdir. Salgının çeşitli evrelerinde, listeriozisin çeşitli formlardaki klinik semptomları yavru atma (9 koyun), ensefalit(1 koyun) ve sepsisemi (4 koyun) gözlemlenmiştir. Sepsisemik vakalar *Listeria*'ların beyinde değil iç organlarda biriktiğini göstermektedir fakat ensefalit geçiren koyunlarda ise, merkezi sinir sistemi semptomları gelişmiştir.

Diğer taraftan *L. monocytogenes*'den farklı olarak *L. ivanovii* koyunlarda ve ineklerde sepsisemi, enteritis ve abortların başlıca sebebidir, aynı zamanda hayvanlarda meningoencephalitise neden olur. Avustralya ve Hindistan'da koyun abortlarının *L. ivanovii* (Sergeant, 1991; Alexander, 1992) enfeksiyonundan kaynaklandığı ve ABD ve Avustralya'da inek (Alexander, 1992; Gill, 1997) abortlarının *L. ivanovii* ile ilişkilendirildiğine dair çalışmalar bulunmaktadır. *L. ivanovii* ile ilişkili inek abortlarının patolojik özellikleri, çoğunlukla *L. monocytogenes* kaynaklı abortlara benzemektedir (Alexander, 1992).

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

Monogastrik hayvanlarda listeriozis nadir olarak sepsisemi ve meningoensefalitise neden olmaktadır. Hastalık kuşlarda sepsisemi ve miyokardial nekroz ile birlikte seyretmektedir (Low).

2.6.2. İnsanlarda Listeriozis

Listeriozis; genellikle hamile kadınlar, yaşlılar, yeni doğanlar, çocuklar ve steroid veya sitotoksik tedavi gören ya da kötü huylu tümörü olan immun sistemi zayıflamış yetişkinler gibi yüksek risk grubundaki bireyleri etkilemektedir. (gaulin) Besin ile birlikte alınmış bakteri sayısı, virülansı ve patojenik özellikleri ile konağın immünolojik durumu, enfeksiyona ait klinik belirtilerin ciddiyetini belirlemektedir (Hein; liureview). Hastalığın insidensi düşük olmasına rağmen özellikle risk grubundakilerde yüksek mortalite (yaklaşık %30) görülebilmektedir (Hein).

Hastalığın invaziv formunda etken, yüksek risk grubundaki bireylerde bakteriyemi ile birlikte hedef organları etkileyerek ensefalit, menenjit ve abort gibi ciddi semptomlarla seyredebilmektedir (Cocolin, Issa). Listeriosis vakalarının % 7.5'inde endokarditis şekillenmekte ve hastaların % 50'si kalp nakline ihtiyaç duymaktadır. (poros).

Listeriosisın son yıllarda bildirilen non-invaziv formu ise duyarlı olmayan kişilerde gastroenteritis, ateş, kusma, mide krampları, diyare ve grip benzeri semptomlarla seyredebilmektedir. Gıda, fazla sayıda bakteri ile kontamine ise bu semptomlar bir iki gün içerisinde başlamaktadır. Vakaların çok azı ciddi sistemik enfeksiyonlara dönüşmektedir (mas, 2003). Listeriosis klinik tablolarında nadir olarak artritis, hepatitis, endoftalmitis, deri lezyonları ve endokarditis ile sonuçlanan peritonitis görülür (bucholdz).

Veteriner, çiftlik çalışanı gibi enfekte hayvan veya hayvan materyali ile temas eden kişilerde papüler ya da püstüler kutaneöz lezyonlar görülebilir. Bu lezyonlar, genellikle sığır abortundan 1-4 gün sonra abort materyali ile temas etmiş kişilerin kol ya da bileklerinde görülür ve tedaviye ihtiyaç duyulmaksızın geçer. Aynı şekilde yine temas yoluyla konjunktivitis oluşabilmektedir (Low).

Vakaların % 10-20'si hamile ve yeni doğanlarda görülmektedir. Maternal listeriosis gebelik süresince devam edebilir fakat semptom göstermediği için 20 haftalıktan önce nadiren anlaşılır. Listeriosisli gebelerin % 5'inde hastalık fötusa geçmez. ABD'de 2007 yılında pastörize sütün bulaşan salgında etkilenen hamile kadınlardan birinin erken doğum yaptığı ancak bebeğin sağlıklı olduğu bildirilmiştir (CDC,2008). Bazı gebelerde titreme, ateş, sırt ağrısı, boğaz enfeksiyonu ve baş ağrısı, bazen ise konjunktivitis, diyare ve uyuşukluk gibi çok yumuşak semptomlar görülebilir. Bunun yanında kan, vajinal svap, dışkı ve idrar kültürleri pozitifdir (bucholz). Ateş başladığında fetal hareket azalır ve yaklaşık 1 hafta içinde doğum, ölü doğum ya da abort meydana gelir. Prematüre bebeklerin yaklaşık %70'inde erken neonatal listeriosis gelişmektedir. Erken neonatal listeriosisın semptomları genellikle pneumoni, hepatosplenomegali, peteşi, karaciğer ve beyinde apseler, peritonitis ve enterokolitistir (barbuddhe). Yeni doğanlarda hastalık hastaneden bulaştığı zaman belirtiler 5. günden sonra başlar ve geç neonatal listeriosis olarak adlandırılır. Hastalığın bu formu menenjit ile birlikte seyreder. Geç neonatal listeriosiste ölüm oranı % 10 civarında iken erken neonatal listeriosiste % 30-60 arasındadır (barbuddhe, bucholz,).

Anneden fetusa geçiş haricinde insandan insana listeriosis bulaşması gerçekleşmediğinden hastaları izole etmek gerekmemektedir (Dworkin, 2001).

2.7. LISTERIA TÜRLERİNİN ÇEVREDE DAĞILIMI

Listeria türleri çevrede, toprakta, suda ve kalitesiz silajlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu kaynaklardan hayvanlara ve hayvanların dışkı, kan ve sütleri ile de çevreye bulaşmaktadır. Sanitasyon uygulamalarının yetersiz olduğu durumlarda ise gıda maddeleri üretim, taşıma ve tüketim prosesleri boyunca kontamine olmaktadır (akkayapasta). *Listeria* türleri, hücre içinde yaşamaları, olumsuz çevre şartlarına ve buzdolabı ısısına dirençlilikleri, sağlıklı insan ve hayvanlarda hastalığa neden olmadan varlıklarını sürdürebilmeleri ve her yerde bulunabilmeleri nedeniyle çok dikkatli değerlendirilmelidirler (Akça, 2011).

Sindirim sisteminde bulunmasına rağmen *Listeria* türleri saprofitik hayata adapte olmuş bakterilerin birçok özelliğini gösterir. Hayvanların gastrointestinal kanallarında nadiren ve geçici olarak bulunurlar (wagner). MacGowan ve ark. (?) İngiltere topraklarında, 130 toprak örneğinden 20'sinin (%14.7) *Listeria* spp. içerdiğini, dışkı örneklerinde *L. monocytogenes* ve *L. innocua*'nın, ve toprak örneklerinde ise *L. ivanovii* ve *L. seeligeri*'nin dominant olduğunu belirtmişlerdir. Moshtaghi ve ark. (?) Hindistan topraklarından alınan 130 örnekte 7 *L. monocytogenes* (%5.4), 2 *L. ivanovii* (%1.5), 10 *L. innocua* (%7.7), ve 4 (%3.1) *L. welshimeri* izole etmişlerdir. *L. ivanovii* sadece hayvanların bulunduğu alanlarda izole edilmiştir, tarım alanlarında ise bulunamamıştır. *Listeria* türlerinin toprakta (ortalama %20'sinde) muhtemelen saprofit olarak bulunduğu bildirilmiştir.

Listeria spp. deniz suyundan, yeraltı sularından ve yağmur sularından nadiren izole edilebilmiştir. Bununla birlikte genellikle nehir, koy, lağım sularında, endüstriyel ve çiftlik atıklarında bulunabilmişlerdir. (Huss, 2000, Schaffter,2002, Hansen, 2006).

Luppi ve ark. (?) kuzey İtalya'dan aldıkları 50 nehir suyu örneğinden 11 *Listeria* izolatu (%22) (içerisinde 1 *L. monocytogenes*, 2 *L. seeligeri*, 1 *L. welshimeri*, ve 7 *L. innocua* bulunan), 80 yüzey suyu örneğinden 15 *Listeria* izolatu (%19) (1 *L. monocytogenes*, 11 *L. innocua*) 98 yer altı suyu örneğinden 1 *Listeria* izolatu (%1) (*L. innocua*) ve 33 şehrsel atık suyundan 14 *Listeria* izolatu (%42.4) (8 *L. monocytogenes*, 5 *L. innocua*, ve 1 *L. seeligeri*) elde etmişlerdir. Colburn ve ark. (?) Kaliforniya'daki Humboldt-Arcata koyundan aldıkları 37 tatlı ya da az tuzlu su örneklerinde 30 *Listeria* izolatu (%81) elde etmişler bunun da 19'unun (%62) *L. monocytogenes* olduğunu bildirmişlerdir.

Çöküntülerden alınan 46 su örneğinde 13 (%30) *Listeria* spp. ve 5 (%17) *L. monocytogenes* bulunmuştur (Colburn,1990). MacGowan ve ark. (?) 115 atık su örneğinin, 108'inin (%93.9) *Listeria* spp. içerdiğini, bunun %60'nın ise (61/108) *L. monocytogenes* olduğunu bildirmişlerdir. David and Odeyemi (?) 36 toprak örneğinden 32'sinin (% 91.6) ve 20 sığır dışkısı örneğinden 17'sinin (% 85) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada Atıl ve

ark. (?) sığır ve koyun çiftliklerinden topladıkları dışkı, su ve yem örneklerinin *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranının sırasıyla % 0.8, % 2.3 ve % 0.8 olduğunu bildirmişlerdir.

2.8. LISTERIA TÜRLERİNİN GIDALARDA BULUNUŞU

Epidemiyolojik çalışmalara göre listeriozis olgularının önemli bir bölümü kontamine gıdalardan kaynaklanmaktadır. Listeriozis salgınları gıda endüstrisi ile ilgili olduğundan, *L. monocytogenes*'in gıda üretimindeki epidemiyolojisi ile ilgili bilgilere ulaşmak çok önemlidir (Cocolin). Etken süt ve süt ürünleri (peynir, dondurma) kırmızı et, kanatlı eti, balık, sebzeler ve gıda üretim tesislerinden izole edilmiştir (Amagliani, Millet). Ayrıca sebzeler ve sebze salataları ve tüketime hazır gıdalar da etkenin önemli taşıyıcıları arasındadır (Rantsiou).

Gıda ürünlerine *L. monocytogenes* bulaşmasındaki en önemli faktör, gıdanın hazırlanması sırasında oluşan çapraz kontaminasyonlardır (cocolin). *L. monocytogenes*'in gıda ile bulaşmasını önlemek için, gıda işletmelerinde hammadde ile işlenmiş ürünlerin birbirinden ayrılması, hammaddenin kontamine edilmemesi, toplama, işleme, taşıma ve satış esnasında hijyen kurallarına uyulması, ürünün işlenmesi sırasında kontaminasyonların önlenmesi için etkin temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin yapılması ve yapılan uygulamaların etkinliğini ölçmek için gerekli kontrollerin yapılması, kısaca HACCP kurallarına uyulması gerekmektedir. (Çolak, 2008).

2.8.1. Süt ve Süt Ürünleri

Bilinen en büyük listeriozis salgınlarından biri 1983 yılında ABD'nin Massachusetts eyaletinde yaşanmış, salgından 49 kişi etkilenmiş ve 14 kişi ölmüştür. Salgından sorumlu tutulan gıda pastörize süt olarak açıklanmıştır (Fleming, 1985).

Süt ve yumuşak peynir gibi süt ürünleri listeriozisi bulaştırmaları bakımından risk değerlendirmesine göre özel gıdalar kategorisinde sınıflandırılmaktadır. Bu ürünlerin herhangi bir ısı işlemi olmadan geleneksel olarak üretildiği ülkelerde, çiğ süt kontaminasyonunun çiftlik düzeyinde azaltılması gündeme gelmiştir (Meyer). Bakterinin çiğ sütlerdeki prevelansı % 2-5 arasındadır (poros). Çiğ sütteki *L. monocytogenes* kontaminasyonu sağım, depolama ve taşıma esnasında özellikle silajla beslenen hayvanlardan veya enfekte hayvanlardan kaynaklanan fekal ve çevresel bulaşmayla olmaktadır. Taşçı ve ark. (2010), Burdur yöresinden toplanan 75 silaj, 85 silaj ile beslenen inek sütü ve 90 silajla beslenmeyen inek sütündeki *Listeria* türlerini araştırdıkları çalışmalarında, silaj örneklerinden 5'inin (6.66), silajla beslenen inek sütü örneklerinden 1'inin (% 1.17) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu, silaj ile beslenmeyen ineklerden alınan süt örneklerinde ise hiçbir *Listeria* türü izole

edilemediğini rapor etmişlerdir. *L. monocytogenes* izole edilen silaj örneklerinin pH değerinin 5.1- 8.3 arasında olduğu ve bu örneklerin a_w değerinin yüksek olduğu bildirilmektedir. (Taşçı, 2010). Uysal ve Anđ (2003), 221 çiğ süt örneğinin sadece 1'inden *L. monocytogenes* izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Aygün ve Pehlivanlar (2006) Antakya'dan toplanan 157 çiğ süt örneğinin hiçbirinin *L. monocytogenes* ile kontamine olmadığını bildirmişlerdir.

Çiğ süttten yapılmış peynirler üzerinde yapılan çalışmalarda *Listeria* türlerine rastlandığı bildirilmiştir: Rahimi et al. (2010) çalışmalarında 30 ticari peynir örneğinin hiçbirinde *L. monocytogenes* bulamazken, geleneksel yöntemlerle üretilmiş 60 peynir örneğinin 9'undan *L. monocytogenes* izole edildiğı belirtmişlerdir. Kum ve ark.(2011) 29'u çiğ süttten üretilen, 21'i ısı işlemleri görmüş süttten yapılmış olan 5 çeşit peynir örneğı içinde *L. monocytogenes* ile kontaminasyon yüzdesi en yüksek olanın (% 22,7) ev yapımı çömlük peyniri olduğunu ayrıca ısı işlemleri görmüş peynirlerden 5 lor peyniri örneğinin 1'inin (% 20) ve 7 tel peynir örneğinin 1'inin (%14,2) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. Filiouis et al.(2009) sert peynir ve feta peynirinde *L. monocytogenes* bulunamamasına rağmen 10 yumuşak peynir örneğinin 4'ünde bulunduğunu bildirmişlerdir. Pintado et al.(2005) çiğ koyun süttünden geleneksel yöntemlerle yapılmış 63 yumuşak peynirin 47'sinin *Listeria* türleri ile kontamine olduğunu ve bunların 29'unun *L. monocytogenes* olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Abrahao et al. (2008) çalışmalarında nem oranına göre 10 gruba ayrılan 90 peynir örneğinin % 6.7'sinden *L. monocytogenes* izole ettiklerini ancak nem oranı düşük peynirlerden hiç bakteri izole edemediklerini rapor etmişlerdir.

Listeria monocytogenes'in beyaz peynirdeki canlılığının starter kültür eklenmesi, tuz oranı ve başlangıçtaki bakteri miktarına bağılı olduğu, bakterinin 4°C'de 3 ay muhafazaya dayanabildiğı belirtilmektedir (Erkmen 2000; Erkmen 2001). Ayrıca, starter kültür ilave edilmeyen peynirlerde olgunlaşma periyodu süresince % 6.6- 7.2 arasında saptanan tuz konsantrasyonunun *L. monocytogenes*'in inhibisyonu için yeterli olmadığı belirtilmiştir (Yıldırım, 2006).

Yoğurt, kashk gibi laktik asit bakterilerinin hakim olduğu ve pH'sı düşük süt ürünlerinde *L. monocytogenes* varlığı bildirilmemektedir (Aygün, 2006, rahimi 2010, filiouis, 2009). Ayrıca tereyağında da ya hiç bulunmamakta ya da çok az miktarda bulunmaktadır (Aygün, 2006,uysal 2003).

Geleneksel yöntemle yapılmış ev dondurmalarının *L. monocytogenes* ile kontaminasyonu pastörize süt ile yapılmış ticari dondurmalarından belirgin derecede yüksektir (rahimi 2010; El-Sharef, 2006).

2.8.2. Et ve Et Ürünleri

Et ve ürünlerinin *Listeria* türleri ile kontaminasyonu kesim aşamasında başlamaktadır. Kesimhanelerde hayvan dışkı, deri ve ayakları ayrıca işletmede çalışan personel, iş kıyafetleri, kullanılan sular, çevre ve ekipman bulaşmanın başlıca kaynağıdır (sancak, 2007).

2.8.2.1.Tavuk Eti

Luppi ve ark. (?) düzenledikleri bir araştırmada, İtalya'da 113 et örneğinde 13 (%11,5) *Listeria* izolatu elde etmiş (9 *L. monocytogenes* ve 4 *L. innocua*) ve 4 (%5.3) *Listeria* izolatının (2 *L. monocytogenes* ve 2 *L. innocua*) perakende satış yerlerinden alınan 75 donmuş gıda örneğinde bulunduğunu bildirmişlerdir. MacGowan ve ark. (?) İngiltere'de, kanatlı ürünlerinden(21/32 ya da %65.6), sığır etinden (9/26 ya da %34.6), kuzu etinden (8/20 ya da %40), domuz etinden (9/32 ya da %28.1) ve sosisten (8/23 ya da %34.7) sıklıkla *L. monocytogenes* izole edildiğini bildirmiştir. Bununla birlikte seyrek olarak, beyin(1/40) ya da peynir örneklerinden (1/251) identifiye edildiğini bildirmiştir. Çalışmalarında Brezilya'da kanatlı üretim tesislerindeki, tesis ortamından, su ve kanatlı ürünlerinden aldıkları 645 örnek kullanan, Reiter ve ark. (103) 230 (%35.6) örnekte *L. monocytogenes* tespit etmiş, tavuklarda göğüs etlerinin ve kanatların, but bölgelerine göre daha yüksek oranda kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Capita ve ark. (104) depolanmış taze tavuk karkaslarının *Listeria* spp., *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. grayi*, ve *L. ivanovii* ile kontamine olduğunu ve kontaminasyon yüzdelerinin sırasıyla %95, %32, %66, %7, %4, ve %2 olduğunu bildirmişlerdir. Rorvik et al.(2003) tarafından tavuk kesimhanelerinde yapılan çalışmada tavuk dışkısının tavuk ürünlerinden bulaşan *L. monocytogenes* için önemli bir kaynak olamayacağı, tavuk ürünlerinin muhtemelen kesim ve işleme esnasında kontamine olabileceği belirtilmiştir. Kanatlı eti ve ürünlerinin *Listeria* türleri ile yüksek düzeyde kontamine olmasında kanatlı kesim işleminin tüy yolma, iç organ çıkarma, soğutma ve parçalama gibi kritik aşamalarında oluşan çapraz kontaminasyon büyük rol oynamaktadır. İnsanlardaki tüm listeriozis olgularının % 6'sının iyi pişmemiş kanatlı eti tüketiminden kaynaklandığı bildirilmektedir (erol, 1999).

2.8.2.2. Sığır Eti

Samadpour ve ark. (105) Washington Seattle, perakende satış yerlerinden aldıkları 1750 sığır kıyma örneğinin 18'inin (%3.5) *L. monocytogenes* yönünden pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Bosilevac ve ark. (106) dört ülkeden (Amerika Birleşik Devletleri 487, Avusturalya 220, Yeni Zellanda 223 ve Uruguay 256) 1186 adet sığır eti örneğini analiz etmişler, toplam 79 *L. monocytogenes* izolatu elde etmişlerdir (Amerika Birleşik Devletleri 17, Avusturalya 4, Yeni Zellanda 5 ve Uruguay 53).

Navartilova et al. (2004) yaptıkları çalışmada kesim aşamasında kontamine olmayan etlerden işleme aşamasında alınan örneklerin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada et üretim tesisindeki ekipmandan da *L. monocytogenes* izole edildiği belirtilmiştir.

2.8.3. Sebze ve Meyveler

Hayvanlarla ilgili tarımsal çevrelere ek olarak *L. monocytogenes*, bitki yetiştirilen tarım çevrelerinden de izole edilmektedir. Sebze örnekleri ile *L. monocytogenes* kontaminasyonu düşük oranlarda ($\leq 3\%$) bildirilmektedir (Abadias ve ark. 2008, Crepet ve ark., 2007). Yan et al. (2010) 323 sebze örneğinin 2'sinden *L. monocytogenes* elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Wang et al. (2012) 90 kereviz, marul ve domates örneğinin 4'ünden *L. monocytogenes* elde ettiklerini belirtmişlerdir. Fliousis et al. (2009) ise 50 salata örneğinin hiçbirinden *L. monocytogenes* izole edemediklerini bildirmişlerdir. Etken prevelansının marul, soğan, domates gibi sebzelerden yapılan salatalarda % 3.9 oranında olduğu bildirilirken, etkenin rus salatasında bulunmadığı bildirilmiştir (Berrada 2006).

Değişen tüketim alışkanlıkları ve tercihleri doğrultusunda, tüketime hazır çiğ sebze tüketiminin artmasıyla bu gıdalar insan listeriozis salgınlarına neden olmaktadır (oliver, goldfine). Sebze tüketiminin neden olduğu listeriozis salgınlarından ilkinin 1981 yılında Kanada'da lahana salatasından kaynaklandığı bildirilmiştir (schlech, 1983).

Abadias et al. (2008) inceledikleri meyve örneklerinin hiçbirinde *L. monocytogenes* izole edemediklerini belirtmişlerdir.

2.8.4. Tüketime Hazır Gıdalar

Tüketime hazır gıdalar işlem görmüş balık, et ve sebzeleri kapsamaktadır, bu gıdalar tüketimden önce ayrıca pişirme gibi işlem gerektirmemektedir. Pek çok hazır gıda, (ör soğuk tütsülenmiş balık) yaklaşık %2-5 NaCl içermektedir. Her ne kadar hazır gıdalar, genellikle düşük sıcaklıklarda tutulsalar da (4 ve - 20°C arasında), *L. monocytogenes* in yaşama ve gelişmesi 4°C'de depolamada dahi etkin bir şekilde engellenemediği için söz konusu hazır gıdaların *L. monocytogenes* için mükemmel üreme ortamı sağladıkları kabul edilmektedir (Handbook). Son 15 yıl içinde tüketime hazır et ve kanatlı ürünlerinden kaynaklanan çeşitli listeriozis salgınları bildirilmiştir. 1998- 1999 yıllarında sosis ve tüketime hazır diğer et ürünlerinin neden olduğu *L. monocytogenes* salgınında 101 hastadan 21'inde ölüm meydana gelmiştir (zhu). Tüketime hazır hindi etinin neden olduğu 2000 yılındaki salgında ise 29 kişi hastalanmış 4 ölüm ve 3 abort görülmüştür (olsen 2005). Commission Regulation (EC) tüketime hazır gıdaların gram ya da mililitresinde maksimum 100 kob *L. monocytogenes* bulunma sınırı getirmiştir (ec,2005).

Listeria monocytogenes'in tüketime hazır etler ile bulaşmasına engel olmak için etler paketlenmeden önce pastörizasyon, irradasyon veya antimikrobiyel katkı ilavesi gibi işlemlerden geçirilmektedir. Bunların dışında paketlenmiş gıdalara 85°C'de 10sn ya da 90.6- 96.1 °C'de 1 dakikadan az olmak üzere yapılan pastörizasyon uygulamalarının etkili olduğu rapor edilmiştir (zhurew). Gıda güvenliği ve

inceleme birimi (FSIS) nisin, EPL (ϵ -poly-L-lysine), ACS (Asidik kalsiyum sülfat) ve LAE (Laurik arjinat ester) gibi antimikrobiklerin tüketime hazır et ve tavuk ürünlerinde tek başına ya da kombine olarak kullanılmasına izin vermektedir (fisis2003). Nisin ve ACS'ın *L. monocytogenes*'e karşı inhibitör etkilerinin, sinerjik; ELP ve ACS etkilerinin ise antagonist olduğu belirtilmiştir (Brant). Tüketime hazır et ürünlerinde *L. monocytogenes* üremesini engellemek için kullanılan hurdle (engeller) teknolojisi uygulamalarında ısı işlemleri, vakum paketleme, soğukta depolama ve nitrit ilavesi birlikte kullanılmaktadır. Sommers and Fan (2005) irradyasyon ile antimikrobiyal madde uygulamalarının birlikte kullanılmasını tavsiye etmektedir.

Tüketime hazır gıdalardan kremalı pasta ve puding türü tatlılar ile etli ve etsiz çiğ köftelerin de bakterilerin üremesi için uygun koşullar içerdiği bildirilmektedir (taban, 2012; Akkaya, 2006; işleyici, 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Materyal

Çalışma kapsamında Kayseri’de 2012 Mayıs-Eylül ayları arasında dört farklı balık türüne ait 25’er adet olmak üzere toplam 100 çiğ taze balık numunesi kullanıldı. Steril poşetlere alınan balık örnekleri soğuk zincir altında laboratuara ulaştırıldıktan sonra en geç 1-2 saat içerisinde analiz edildi.

3.1.2. Standart Suş

Listeria monocytogenes’in izolasyon ve identifikasyonunda kullanılmak üzere *L. monocytogenes* ATCC 7644 referans suşu kontrol suş olarak kullanıldı.

3.1.3. *Listeria* spp. İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyeri ve Kimyasallar

3.1.3.1. Half Fraser Broth

Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth Base (Merck 1.10398.0500)

Bileşim

Proteose peptone	5.0 g	
Peptone from casein	5.0 g	
Yeast extract	5.0 g	
Meat extract	5.0 g	
Sodium chloride	20.0 g	Fraser Listeria
Disodium hydrogen phosphate	9.6 g	Selective Supplement
Potassium dihydrogen phosphate	1.35 g	(Merck, 1.11883)
Esculin	1.0 g	
Lithium chloride	3.0 g	
pH	7.0 ± 0.2	

Hazırlanışı

Ön zenginleştirme aşaması için toz halindeki ticari besiyerinden 18 g

tartılarak 500 ml distile suda çözündürüldü, pH'sı ayarlandı ve otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Otoklavdan çıkarılan besiyeri 50°C'ye soğutulduktan sonra üzerine 1 ml steril distile su ile süspanse edilmiş Fraser Supplement'ten ve 1 ml steril distile su ile süspanse edilmiş Amonyum iron (III) citrate'den 1'er vial eklendi.

3.1.3.2. Oxford Listeria Selective Agar

Oxford Listeria Selective Agar (Merck 1.07004.0500)

Bileşim

Peptone	23.0 g
Sodium chloride	5.0 g
Glucose	0.5 g
Starch	1.0 g
Lithium chloride	15.0 g
Esculin	1.0 g
Ammonium(III) citrate	0.5 g

Agar	13.0 g
pH	7.0± 0.2

Oxford Listeria Selective Supplement (Merck 1.07006)

Hazırlanışı

Hazır besiyerinden 29.25 g tartılarak 500 ml distile suda çözündürüldü ve pH değeri 7.0 ± 0,2'ye ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda (Velp Scientifica ARE) eritildikten sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Otoklavdan çıkarılan besiyeri 50 °C'ye soğutulduktan sonra üzerine 2.5 ml etanol ve 2.5 ml steril distile su karışımı ile sulandırılmış 5 ml Listeria Selektive Supplement eklendi. Besi yeri steril petrilere dökülerek kullanılabileceği kadar +4°C'de muhafaza edildi.

3.1.3.3. Kanlı Agar

Blood Agar Base (Merck 1.10886.0500)

Bileşim

Nutrient substrate (heart extract and peptones, kalp ekstraktı ve peptonlar)	20.0 g/L
NaCl	5.0 g/L
Agar-agar	15.0 g/L
pH	6.8

Hazırlanışı

Hazır besiyerinden 40 g tartılarak 1 lt distile suda çözündürüldü ve manyetik karıştırıcıda (Velp Scientifica ARE) eritildi. Karışımın pH değeri 6.8 ± 0.2'ye ayarlanarak otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. 50 °C'ye soğutulduktan sonra üzerine % 5 defibrine koyun kanı eklendi. Steril petrilere dökülerek 4°C'de muhafaza edildi.

3.1.3.4. Tryptic Soy Broth (TSB)

Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck 1.05459)

Bileşim

Peptone from casein	17.0 g/L
Peptone from soymeal	3.0 g/L

D(+) Glukose monohydrate	2.5 g/L
Sodium chloride	5.0 g/L
di-potassium hydrogen phosphate	2.5 g/L
pH	7.3

Hazırlanışı

Hazır besiyerinden 30 g tartılarak 1 lt distile suda çözündürüldü ve pH değeri 7.3 ± 0.2 'ye ayarlandı. Karışım, manyetik karıştırıcıda (Velp Scientifica ARE) eritildi ve 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi.

3.1.3.5. Oksidaz Test

Bactident Oxidase (Merck 113300) Stick

3.1.3.6. Katalaz Test

Hydrogen Peroxide (H₂O₂) (Merck 8597)

Hazırlanışı

Ticari % 30'luk hidrojen preoksitten 2 ml alınarak 27 ml distile suyla karıştırıldı ve % 3'lük H₂O₂ solusyonu hazırlandı.

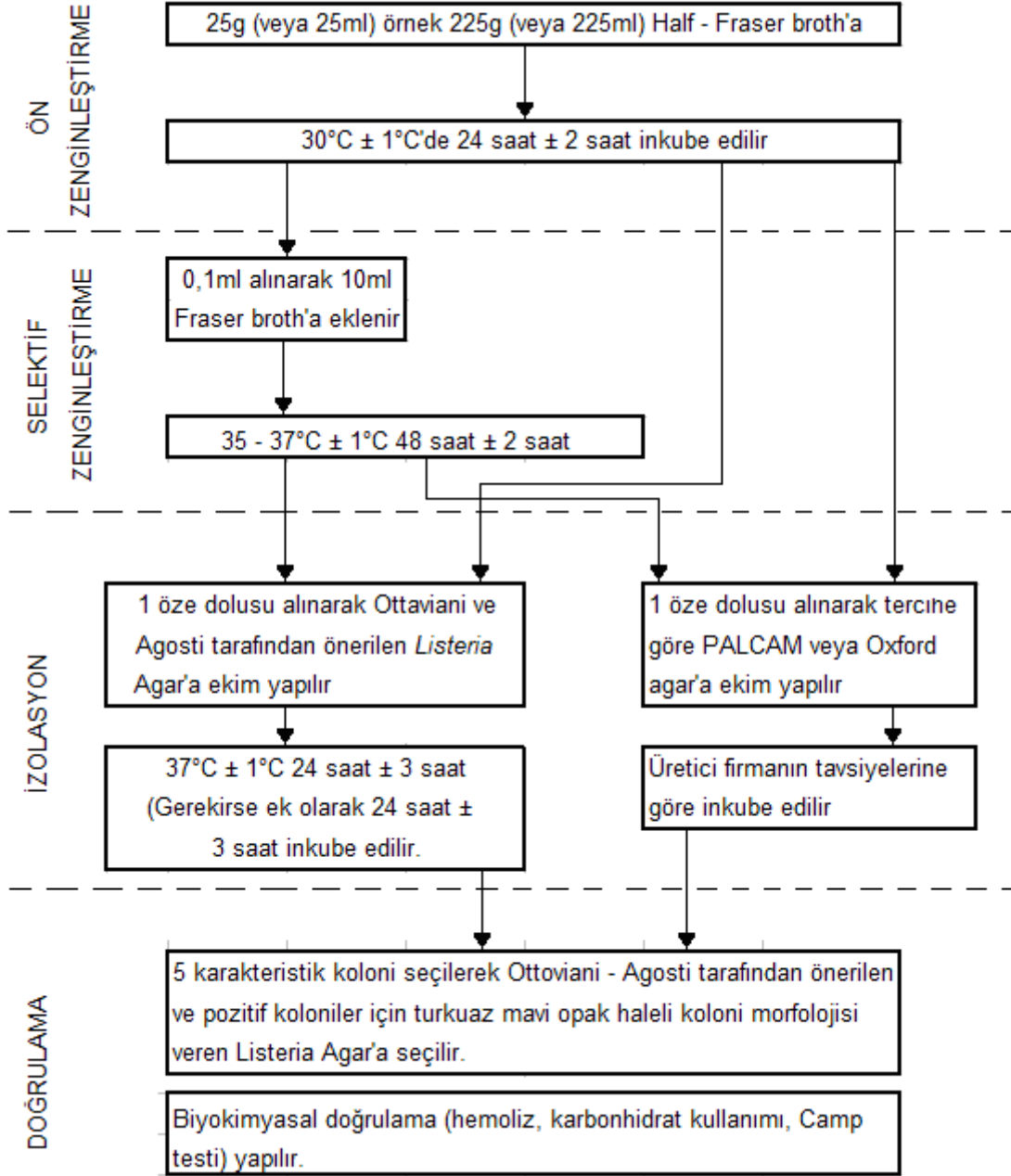
3.1.3.7. *Listeria* spp. İdentifikasyon Kiti

Listeria spp. izolatlarının identifikasyonu için Microbact 12L test kiti (Microbact *Listeria* 12L *Listeria* identification system MB1128 Oxoid) kullanıldı. Bu identifikasyon kitinde 11 farklı şeker ve 1 hemoliz test kutucuğundan oluşan mikro düzeyde biyokimyasal test sistemi vardır. Şüpheli her bir koloninin 18-24 saat inkübasyonu sonrasında oluşan renk değişimi değerlendirilmektedir. Renk değişimi, kontrol kartlarına işlenerek elde edilen 4 basamaklı kod özel bilgisayar programına girilmektedir. Özel bilgisayar programı, girilen koda göre koloninin hangi *Listeria* türüne ait olabileceğini % olarak vermektedir.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Balık Örneklerinden *Listeria* spp. İzolasyonu

Aseptik şartlarda alınarak soğuk zincir altında laboratuara getirilen balık örneklerinde *Listeria* spp. varlığı ISO 11290-1/A1- 2004 metodu ile saptanmıştır (ISO). Söz konusu metodun aşamaları şekilde özetlenmiştir (Şekil 3.1.).



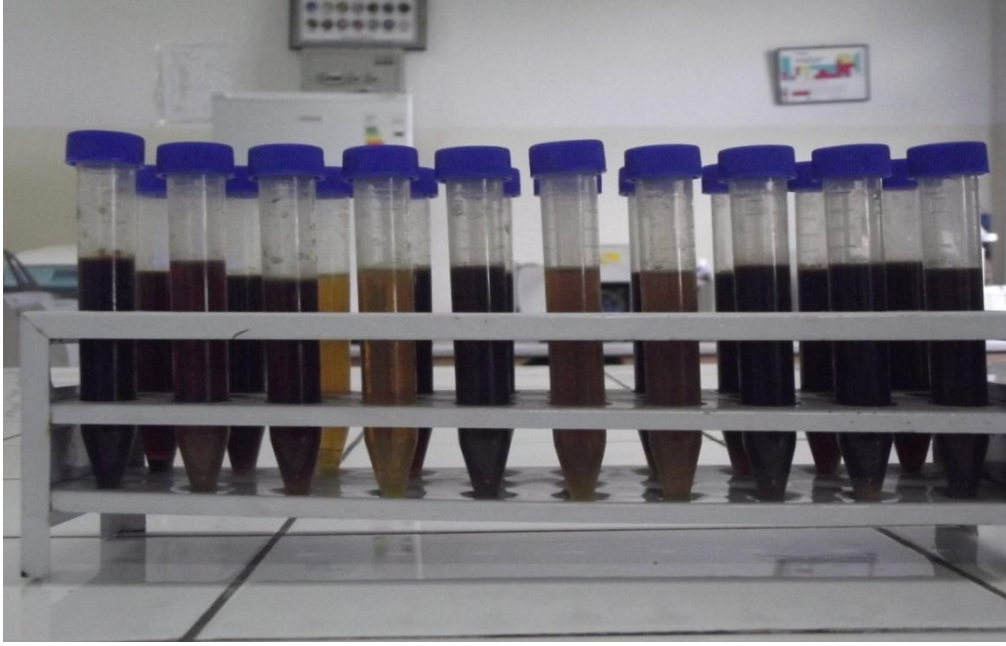
Şekil 3.1. Horizontal yöntemle *Listeria* spp. izolasyonu. ISO11290-1/A1-2004 (62).

ISO 11290-1/A1-2004 metodu çerçevesinde 25'er g balık örneği steril filtreli numune poşetlerine (Bag Fitler 400P, Interscience, St. Nom La Breteche, Fransa) tartıldı. Üzerine 225 ml 1/2 konsantrasyonda (inhibitörleri yarım konsantrasyonda içeren) Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth Base (Merck 1.10398) besiyeri ilave edilerek stomacherde (BagMixer, Interscience, France) 2 dk homojenize edildi ve ön zenginleştirme amacı ile 30°C 'de 24 saat inkübe edildi (Şekil 3.2).

İnkübasyon süresi sonunda ön zenginleştirme yapılmış kültürlerden 0.1 ml alınarak 10'ar ml'lik tam kuvvette hazırlanan (inhibitörleri normal konsantrasyonda içeren) Fraser Listeria Selective Enrichment Broth Base (Merck 1.10398) tüplerine ilave edildi ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi (Şekil 3.3).

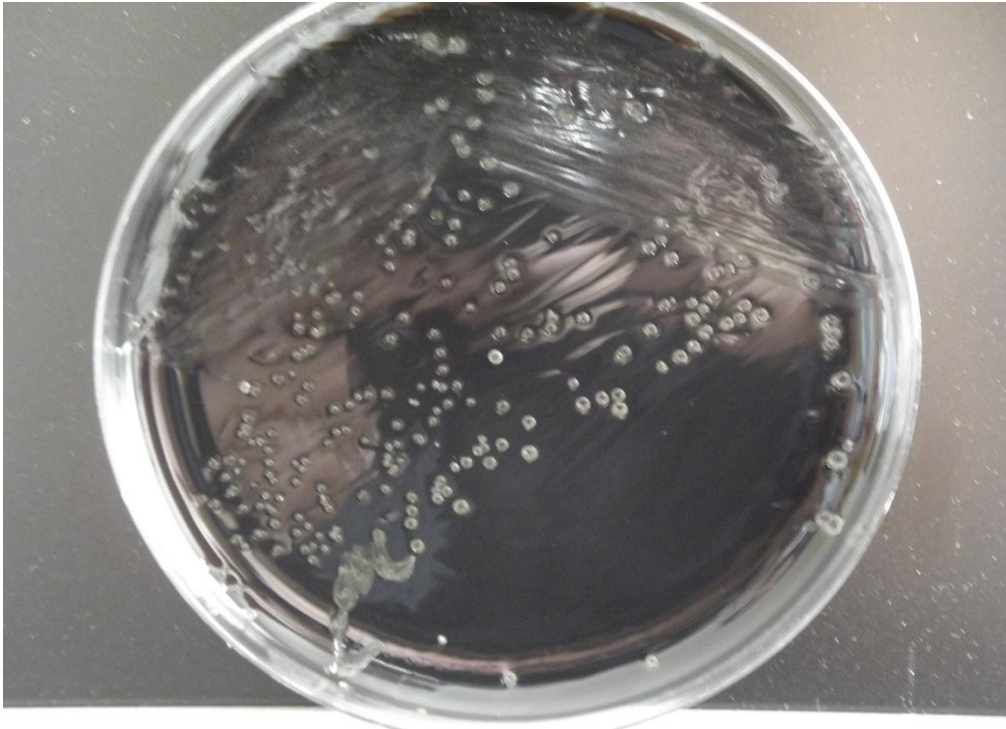


Şekil 3.2. Half Fraser Broth ile ön zenginleştirme aşaması



Şekil 3.3. Fraser Broth ile selektif zenginleştirme aşaması

Daha sonra brothlardan öze yardımıyla polymyxin- acriflavin- lithium chloride- ceftazidime-esculin-mannitol içeren Oxford Listeria Selective Agar besiyerlerine (Merck 1.07004.0500) çizme plak yöntemiyle ekim yapılarak 37°C 'de 24 saat inkübe edildi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Oxford Listeria Selektiv Agar'a ekim aşaması

L. monocytogenes şüpheli kolonilerden 1-5 adet koloni seçilerek biyokimyasal testleri gerçekleştirmek için kanlı agara geçildi ve 37°C 'de 24 saat inkübe edildi.

3.2.2.Biyokimyasal Testler

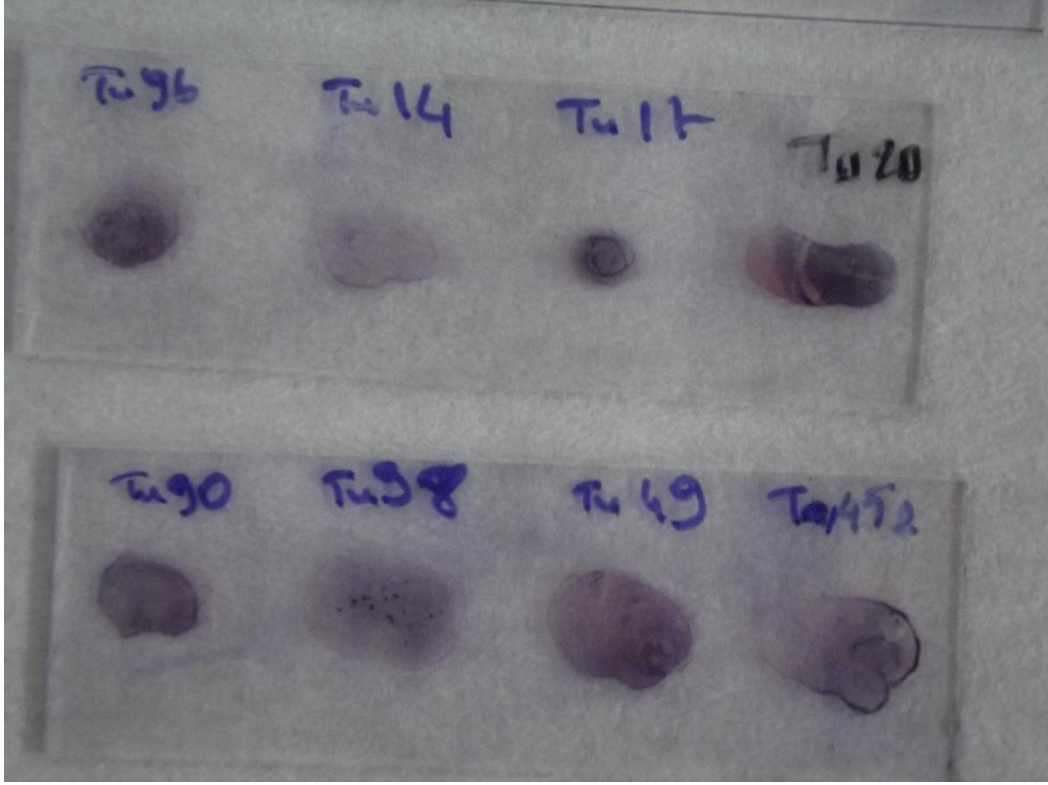
Kanlı agarda β -hemoliz oluşturarak üreyen kolonilere sırasıyla Gram boyama, Katalaz (Hydrogen Peroxide Merck) ve Oksidaz (Bactident Oxidase, Merc 113300) testleri yapıldı.

3.2.2.1. β -Hemoliz

Listeria spp. şüpheli koloniler defibrine koyun kanı ile hazırlanan % 5'lik kanlı agarlara ekilerek 35°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda etrafında açık renkli berrak zon oluşan koloniler β -hemoliz pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.2.2.Gram Boyama

Şüpheli koloniler lam üzerinde preparatları hazırlanarak alevde tespit edildi. Preparatlar kristal viyole ile 1-2 dakika boyandıktan sonra saf su ile yıkandı. Bir dakika lugol çözeltisi uygulamasını takiben önce % 96'lık alkol ile daha sonra saf su ile yıkandı. Yıkanan preparatlar sulu karbon fuksin çözeltisi ile 10-20 saniye boyandıktan sonra tekrar saf su ile yıkanıp kurutuldu. Bu şekilde Gram boyaması yapılan preparatlar mikroskopun (Nikon Alphaphot-2, Japonya) immersiyon objektifinde incelendi ve mavi-menekşe renk almış, kısa çubuk, kokobasil formundaki mikroorganizmalar *Listeria* spp. şüpheli olarak kabul edildi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5.Gram boyama aşaması

3.2.2.3. Katalaz Test

Kanlı agardan alınan şüpheli koloniler bir lam üzerinde öze yardımıyla bir damla % 3'lük H_2O_2 ile karıştırıldı. 1-2 saniye içinde görülen köpürme şeklindeki gaz oluşumu katalaz pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.2.4. Oksidaz Test

Test çubuğu katı besiyerindeki (kanlı agar) şüpheli *Listeria* spp. kolonisine dokundurulduğunda, 20-60 saniye içinde renk reaksiyonunun oluşmaması oksidaz negatif olarak değerlendirildi.

3.2.2.5. Hareket muayenesi

Temiz bir lam üzerine bir damla FTS (Fizyolojik Tuzlu Su) damlatıldı. İzolattan öze yardımıyla alınan bir koloni FTS içinde homojenize edildi. Üzerine lamel kapatılarak immersiyon objektifinde incelendi. 25°C'de hareket gözlenip 37°C'de gözlenmemesi pozitif kabul edildi.

3.2.2.6. Microbact Testi

Katalaz pozitif, Oksidaz negatif ve Gram pozitif olan koloniler Microbact test kitinde (Microbact *Listeria* 12L *Listeria* identification system MB1128 Oxoid) biyokimyasal özellikleri (Esculin, Mannitol, Ksiloz, Arabitol, Ribose, Rhamnose, Trehalose, Tagatose, Glucose-1-Phosphate, Methyl-D-Glucose, Methyl-D-Mannose, Hemolysis) açısından değerlendirildi (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Microbact Test Kiti

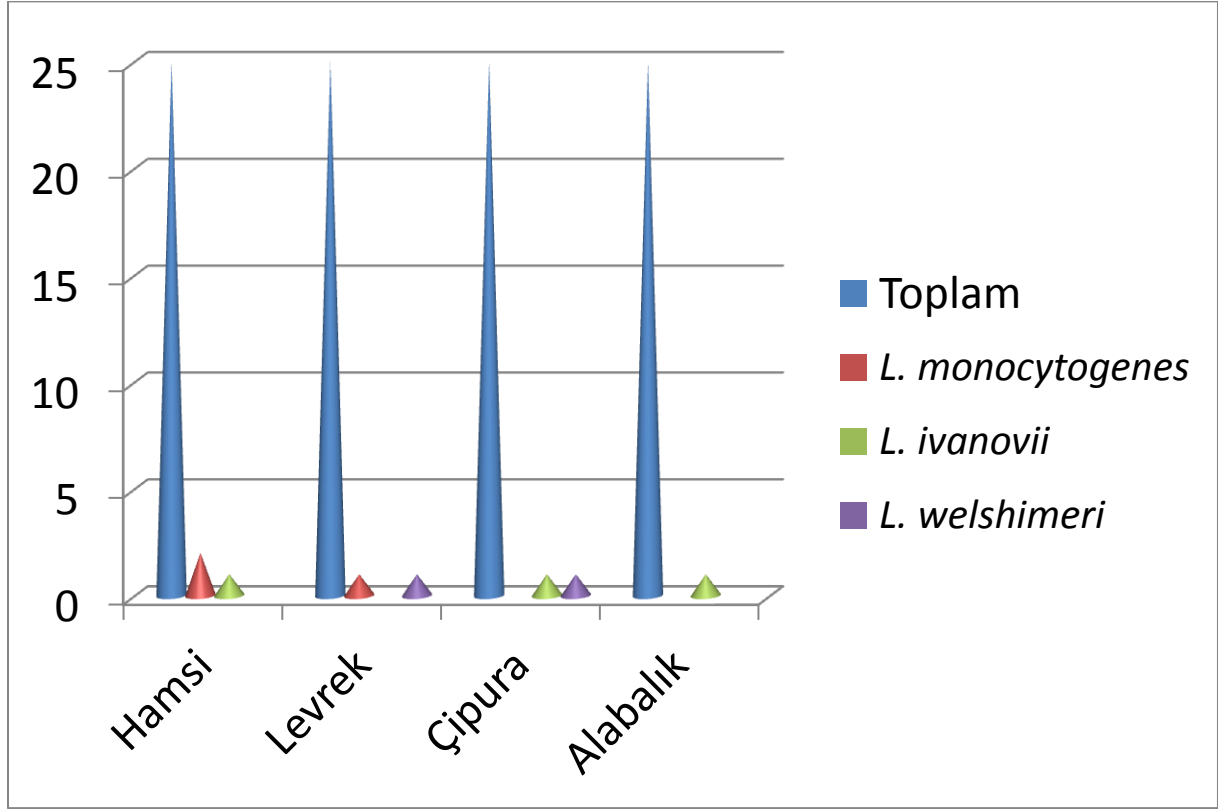
4. BULGULAR

Bu çalışmada, Mayıs-Eylül 2012 tarihleri arasında Kayseri balık marketlerinden toplanan 100 balık örneğinde *Listeria* türlerinin varlığı araştırıldı. Dört farklı balık türüne (çipura (*Sparus aurata*), alabalık (*Salmo trutta*), hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*)) ait örneklerden 25'er adet olmak üzere örneklendi. Toplam 8 örnek (%8) *Listeria* spp. açısından pozitif bulunurken örneklerden sadece üçünün (%3) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlendi. Çalışma kapsamında 2 hamsi (%8) ve bir levrek (%4) örneği *L. monocytogenes* ile kontamine bulunurken, bir hamsi, bir alabalık ve bir çipura örneğinin *L. ivanovii* ile ve bir çipura ve bir levrek örneğinin ise *L. welshimeri* ile kontamine olduğu bulundu (Tablo 4.1, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2' de özetlenmiştir.

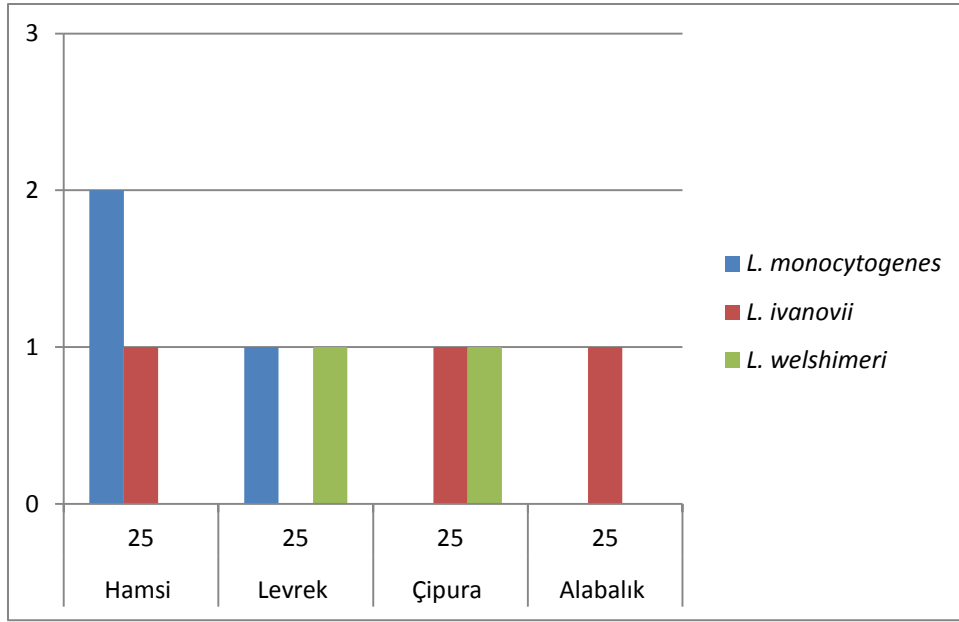
Tablo 4.1. Balık örneklerinde *Listeria* spp. varlığı

Balık türü	Örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı ve yüzdesi		
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. welshimeri</i>
Hamsi	25	2 (%8)	1 (%4)	-
Levrek	25	1 (%4)	-	1 (%4)
Çipura	25	-	1 (%4)	1 (%4)
Alabalık	25	-	1 (%4)	
Toplam	100	3(%3)	3(%3)	2 (%2)

Şekil 4.1. İncelenen balık türlerinde *Listeria* spp. dağılımı



Şekil 4.2. *Listeria* spp ile kontamine balık sayıları



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ilıman bölgelerde *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri su ürünlerinden 1980'li yılların sonlarından itibaren düzenli bir şekilde izole edilmektedir (Soutos ve ark. 2007). Embarek (1994) dünya çapında deniz ürünlerinde *Listeria* türlerinin insidensini taramış ve *L. monocytogenes* prevalansının ılıman bölgelerde %4 ila 12 arasında değişiklik gösterdiğini bildirmiştir. Genel olarak Avrupadaki balıklardan elde edilen veriler *L. monocytogenes* kontaminasyonunun %3 civarında olduğunu bildirmektedir (Davies ve ark., 2001).

Farklı ülkelerde balık ve diğer su ürünlerinde *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin araştırıldığı çalışmalarda: İzlanda'da satışa sunulan taze balıklardan %54'ünün *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri ile kontamine olduğu (Harteming ve ark.), kuzey Yunanistan bölgesinde 120 çiğ, taze balık örneğinden %5'inin *Listeria* spp. ile ve sadece bir tanesinin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu (soultoş, 2007), yine Yunanistan'ın kuzeyinde 75 taze balık örneğinden 2'sinin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu (Salamoura ve ark. 2004) bildirilmiştir. Benzer şekilde Meksika'da, 12 aylık periyotta (Haziran 2001- Mayıs 2002) 66 istiridye, 66 balık, ve 144 adet deniz suyu örneğinden sadece balık ve su numunelerinde sırası ile %22.7 ve %30.5 oranında *Listeria* spp. bulunduğu, ve yine aynı örneklerin sırasıyla %4.5 ve %8.3'ünün *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirtilmiştir (Rodas-Suarez ve ark.). ABD'deki marketlerde perakende olarak satılan taze gökkuşaağı alabalıklarında %54'e varan yüksek derecelerde *L. monocytogenes* kontaminasyonu belirlenmiştir (Draughan ve ark 1999). Hindistan'da ise 115 çiğ, taze deniz ürününden 10'unun (%8.6) *L. monocytogenes* ile 18'inin de *L. innocua* ile kontamine olduğu ortaya konmuştur (parihar, 2008). Yapılan diğer bazı çalışmalarda *L. monocytogenes* prevelansının çiğ balıklarda % 0-1 arasında (Autio ve ark. ,1999; Yohanson ve ark., 1999) ve %0-10 arasında (Jenmi ve ark., 1994) değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir. Gudbjörnsdottir ve arkadaşları (2004) tarafından deniz ürünlerindeki *L. monocytogenes* insidensi %20.6 – 4.1 arasında bulunmuştur. Jallewar et al. (2007) 200 balık örneğinin 39'unda *Listeria* türleri saptamış ve bunların 26'sının *L. monocytogenes* olduğunu rapor etmişlerdir. Yan et al. (2010) 343 deniz ürünü inceledikleri çalışmalarında 4 örnekten *L. monocytogenes* izolatu elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin taze balık örneklerindeki insidensi sırasıyla %3 (2 hamsi ve bir levrek) ve %5 olarak belirlenmiş, *L. ivanovii* insidensi %3, *L. welshimeri* insidensi ise %2 olarak saptanmıştır. Diğer *Listeria* türleri ise saptanamamıştır. Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada Ertaş ve Şeker (2005), Keban barajından yakaladıkları 150 tatlı su balığının 10'unun barsak içeriğinde (%6.6) *L. monocytogenes* bulduklarını bildirmişlerdir. Yine ülkemizde Cenet (2007) Manisa'da bulunan bir alabalık çiftliğinden satın aldığı 66 alabalık fletosunun 3'ünün (%4,5) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmiştir.

Bu çalışmada levrek örneklerinden sadece bir tanesi *L. monocytogenes* ile kontamine bulunmuştur. Genel olarak *L. monocytogenes* açık sularda avlanan balıklarda bulunmamaktadır. Bununla birlikte bu balıklardaki kontaminasyon satış yerindeki iç organ temizleme işlemlerinden kaynaklanmış olabilir. Bu durumda *L. monocytogenes*'in potansiyel kaynakları satış esnasında kullanılan buz, kesim ve temizleme materyalleri, taşıma materyalleri ve insan kaynaklı kontaminasyonlar olarak sıralanabilir. *L. monocytogenes* sıklıkla kıyı sularında ve göllerin yüzey sularında bulunduğundan bu kaynaklardan yakalanan veya kültüre edilen balıkların bu mikroorganizmayı taşımaları olasıdır (FAO, 1999).

Balıkların satış noktalarında potansiyel *Listeria* spp. kontaminasyonuna ilişkin çok az veri bulunmaktadır. Soultos ve ark. (2007) balık marketlerde bulunan 100 bıçak, el, ambalaj materyalinden yapılan örneklemede beş örneğin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Kapalı tanklarda taşınan veya satıştan önce ikinci kez paketlenen ürünlerde *L. monocytogenes* kontaminasyonu daha sık görülmektedir. Bu çalışmada *L. monocytogenes* kontaminasyonunun en çok hamsi balıklarında görülmesi söz konusu balık türünün Karadeniz bölgesinden genellikle dondurulmuş olarak Kayseri'ye taşınması ve çözündürülerek satışa sunulmasına bağlanabilir.

Listeria türlerinin balık ve su ürünlerine bulaşmasında en etkili faktör suyun kontaminasyonudur. *Listeria* spp., kirletilmemiş sulardan elde edilen deniz ürünlerinden nadiren izole edilmektedir. Colburn ve arkadaşları (1990) tarafından yapılan araştırmada, deniz suyu örneklerinin %33'ünde ve tatlı su örneklerinin ise %81'inde *Listeria* türleri saptanmış, su örneklerinin %62'sinden *L. monocytogenes* izole edildiği belirtilmiştir. Hansen ve ark, (?) 14 taze su akıntısında *L. monocytogenes* tespit edemediklerini, balık çiftliklerindeki deniz suyu örneklerinin %2, balık çiftliği taze sularından alınan örneklerin %10, işleme tesis örneklerinin %16, tütsüleme tesislerindeki örneklerin ise %68 oranında söz konusu bakteri ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Eklund ve ark. (?) somon rins örneklerinde, deri ve karın boşluğunda *L. monocytogenes* bulamamıştır. Bu sonuçlar göstermektedir ki, *Listeria* spp. nin sudaki insidensi hayvan ve insan aktivitesinin artmasına bağlı olarak şekillenen kirlilikle artmakta ve çamur ve lağım suyundaki organik madde yükü, temiz suya göre *Listeria* spp. için daha uygun bir üreme ortamı sağlamaktadır (hansen,2006; eklund).

Miettinen ve Wirtanen (?) Finlandiya'da çeşitli deniz ve göl balık çiftliklerinden toplanan toplam 510 gökkuşağı alabalığı örneğinin %0 ila 75 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, *L. monocytogenes* izolasyonlarının %95.6 (43/45)'inin balık solungaç örneklerinden, %4.4'nin (2/45) ise balık derisinden ya da iç organlarından elde edildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, *L. monocytogenes*'in özellikle solungaçlarda yoğunlaştığını, solungaçların her ne kadar lökosit ve plazma hücrelerini içeren diğer mukozal dokulardaki gibi (bağırsak, deri) immun sistemin önemli parçalarını içermesine rağmen yoğun bir şekilde kontamine olan suları filtre etmesi açısından kontaminasyona en müsait bölge olduğunu belirtmişlerdir (Miettien, 2005).

Bazı balık çiftliklerinde *Listeria* kontaminasyonu çeşitli koşullara ve mevsimsel değişikliklere göre değişkenlik göstermektedir. Bahar aylarında normalde kuru olarak geçen bu mevsim sürecinde bazı çiftlikler *Listeria* spp. ile kontamine olmaktadır. Söz konusu kontaminasyon, karların erimesi ve taşan suların deniz ve göllerdeki organik madde yükünü arttırmasına bağlanmaktadır. Yaz aylarında ise (temmuz-ağustos) sadece birkaç çiftlikte *Listeria* vakası rapor edilmiş ve sonrasında sonbahar yağmurları ile birlikte *Listeria* pozitif çiftlik sayısında önemli artışlar kaydedilmiştir. Sonbahar

sonlarına doğru hava sıcaklığının sıfırın altına düşmesi ile birlikte akan su miktarının azalmasına paralel olarak *Listeria* vaka bildiriminin yine azaldığı belirtilmektedir. Kış aylarında göl ve denizler buz ile kaplandığından örnekleme yapılamamakta ve durum stabil kabul edilmektedir. Bu sonuçlar balıklardaki *Listeria* prevelansının mevsimsel değişkenlerle ve serbest akan su miktarı ile direkt olarak ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Aynı şekilde sudaki organik materyal yükünün de *Listeria* spp. prevelansı ile yakından alakalı olduğu vurgulanmaktadır (miettinen, 2005).

Chou ve ark. (?) nehir yayın balığı fletolarında hakim olan türün *Listeria* türünün %25–47 arasında *L. monocytogenes* olduğunu bildirmişlerdir. Yayın balığı işletmelerinden, çevresinden ve taze yayın balığı filetosundan *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin araştırıldığı bir çalışmada toplam 315 örneğin %21.6, %13 ve %29.5'nin sırasıyla *L. monocytogenes*, *L. innocua* ve *L. seeligeri*- *L. welshimeri*- *L. ivanovii* grubu ile kontamine olduğu *L. monocytogenes* izolatlarının serotiplerinin ise sıklıkla 1/2b, 3b ve 4c olduğu belirlenmiştir (chen, 2010). Söz konusu çalışmada araştırmacılar *L. monocytogenes*'e ilişkin en önemli kontaminasyon kaynağının yetiştiricilikte kullanılan soğutma suyu olduğunu, dolayısıyla işletme çevrelerine ait kontaminasyonun ön plana çıktığını vurgulamışlardır. Aynı çalışmada balık filetolarındaki kontaminasyonun, balık derilerinden veya bağırsaklarından ziyade kesim tahtalarından kaynaklanmış olabileceği vurgulanmakta, nitekim kesim tahtalarındaki *L. monocytogenes* insidensinin %33 olduğu belirtilmektedir.

Balık ve çeşitli su ürünlerinin hazırlanma süreçleri ve tüketime sunulma biçimleri de *Listeria* türleri ile kontaminasyonlarda önemli rol alabilmektedir. Soğuk tütsülenmiş balık ürünleri üretim aşamasında teknolojisi gereği *Listeria* türlerini inaktive edecek herhangi bir işlemde geçmemekte dolayısıyla listeriozis bulaşmasında risk teşkil etmektedir (oliver, goldfine).

Tütsülenmiş balıkla ilgili birçok çalışmada *L. monocytogenes* varlığı tespit edilmiştir. Finlandiya'da 1999 yılında tütsülenmiş soğuk alabalığın neden olduğu listeriozis salgını ateş ve gastroenteritis ile seyretmiştir (Miettinen, 1999 outb). Ericsson ve ark. (?) insanlarda görülen bazı ateşli gastroenteritis vakalarını incelemiş, bu kişilerin önceden *L. monocytogenes*'le kontamine tütsülenmiş alabalık yediklerini belirtmişlerdir. Yeni Zellanda Auckland'da 1992 yılında, listeriozis salgınları (17 vaka) görülmüş ve salgın nedeni hastaların *L. monocytogenes* ile kontamine tütsülenmiş midye tüketmelerine dayandırılmıştır (Brett, 1998). Aureli et al. (2003) çalışmalarında tütsülenmiş somondan elde edilen ve Denka Seiken *Listeria* Antiserum ile serotiplendirilen 10 izolatın % 44,4'ünün 1/2a, % 11,1'inin 1/2b, % 44,4'ünün 3a serotipinde olduğu rapor edilmiştir. Nakamura et al. (2004), 95 tütsülenmiş soğuk balık örneğinin 12'sinden *L. monocytogenes* izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Çalışmada belirlenen kontamine örneklerin büyük bir bölümün yaz aylarında toplandığı vurgulanmaktadır. Van Coillie ve ark.(2004) Belçika'da 252 hazır gıda üzerinde düzenledikleri çalışmada örneklerin %23,4'ünde bu bakteriye rastlamışlar, tütsülenmiş balık örneklerinde yüksek

derecede kontaminasyona rastladıklarını bildirmişlerdir (van coillie, 2004). Norveç'teki soğuk tütülenmiş somon balıkları ile ilgili çalışmada Embarek (1994) numunelerde %27'ye kadar *L. monocytogenes* kontaminasyonu olabileceğini saptamıştır (ben embarek, 1994). Domenech ve arkadaşlarının (2012) çalışmasında ise 176 tütülenmiş somon balığı, 32 tütülenmiş mezgit ve 37 adet diğer tütülenmiş balıklardan alınan örneklerde somon balıklarında % 28.16, mezgit balıklarında %25, diğer tütülenmiş balık örneklerinde ise %24.32 oranında *L. monocytogenes* tespit edildiği ortaya konmuştur (domenech, 2012).

Çeşitli deniz ürünleri içeren tüketime hazır salatalarda *L. monocytogenes* prevelansının belirlendiği bir çalışmada alabalık ve uskumru balığı ile kerevit gibi deniz ürünleri içeren salatalarda *L. monocytogenes* prevelansı (% 10.0), ton balığı (% 4.1) ve karides (% 3) içerenlerden belirgin derecede yüksek bulunmuştur (Little). Wagner ve arkadaşları (2007) 93 tüketime hazır balık ve deniz ürününün 18'inde (%19.4), *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir (Wagner, 2007).

Bu çalışma bulguları, Kayseri balık marketlerinden toplanan ve çeşitli türlere ait balık örneklerinde *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin çok düşük düzeylerde bulunduğunu ortaya koymuştur. Balıklardaki farklı immun sistem yapıları, tür farklılıkları, çevresel koşullar, mikrobiyal flora farklılıkları, deniz veya tatlı su balığı olmaları ve genel sağlık ve stres durumlarından ileri gelen farklılıklardan dolayı *Listeria* spp. kontaminasyonları farklılık gösterebilmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada materyal olarak kullanılan 4 farklı balık türünden sadece hamsi ve levrek türüne ait örneklerde *L. monocytogenes* kontaminasyonu tespit edilmiştir.

Satış noktalarında balık ve diğer su ürünlerinin *L. monocytogenes* ile kontaminasyonuna ilişkin riskler hakkında satıcıların bilinçlendirilmesi, gerekli önlemlerin alınabilmesi açısından önem arz etmektedir. Temas yüzeylerinin ve diğer alanların sanitasyon koşulları ve personel hijyeni uygulamaları satış noktalarındaki *L. monocytogenes* kontaminasyonunu azaltabilecek önlemlerin başında gelmektedir. *L. monocytogenes*, ısı işlemi ile inaktive edilebilmekte ve Türkiye'de çiğ ya da yarı çiğ deniz ürünleri tüketilmemektedir. Bununla birlikte çiğ deniz ürünlerindeki *L. monocytogenes* kontaminasyonu mutfaklarda pişmiş gıdaları veya tüketime hazır gıdaları kontamine edebilmesi açısından halk sağlığı riski oluşturmaktadır. Yeterince pişmemiş deniz ürünlerinin risk grubunda yer alan popülasyon tarafından tüketilmesi de etkenin hastalık oluşturabilme riskini artırabilmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar *L. monocytogenes* kontaminasyonunun balığın temizlenmesi esnasında oluşabileceğini veya artabileceğini düşündürmektedir. Tezgahlarda çözündürülmüş balıkların bulundurulması da söz konusu riski artıran bir unsur olarak karşımıza çıkmaktadır. Balığın temizlenmesi esnasında açığa çıkan kan ve et suyu kalıntıları *Listeria* türlerinin üremesini destekleyen

bir ortam oluşturmaktadır. Dolayısıyla işletmelerin temiz ve kuru tutulması ve özellikle hamsi balığının taze şekilde satışa sunulması bu bakterinin yayılımının önlenmesi açısından önem arz etmektedir.

Balık satışı yapan işletmeler, sattıkları ürünlerin *L. monocytogenes* ve diğer patojen bakterilerle kontaminasyonlarının, işletmede gıdanın temas halinde olduğu yüzeyler, ikincil olarak da yerler, tavanlar, duvarlar ve diğer yapılarla ilgili olduğunu göz ardı etmemelidirler. Bu işletmeler, *L. monocytogenes* kontaminasyonuna ilişkin risklerden haberdar edilmeli ve gerekli önlemleri almalıdırlar. Gıda ile temas halinde olan yüzeylere ve personel hijyenine ilişkin koşulların uygun hale getirilmesi için sıkı yaptırımların uygulanması, balık ve diğer su ürünlerinin satış noktalarında potansiyel *L. monocytogenes* kontaminasyonlarının önlenmesi açısından önem arz etmektedir.

Tüketilmeye su ürünlerinin işlenmesinde aşağıdaki maddelerin uygulanması *L. monocytogenes*'in getireceği sağlık sorunlarının ortadan kaldırılmasında etkilidir.

1. Soğuk depolama koşullarının sağlanması 2. Satış yerlerinde gerekli önlemlerin alınarak kontaminasyonların engellenmesi 3. Tezgahlarda çözündürülmüş balık satışının engellenmesi 4. Etkin ısı işlemi uygulamaları.

6. KAYNAKLAR

1. Rantsiou K, Alessandria V, Urso R, Dolci P, Cocolin L. Detection, quantification and vitality of *Listeria monocytogenes* in food as determined by quantitative PCR. Int J Food Microbiol 2008; 121: 99–105.
2. Hein I, Klein D, Lehner A, et al. Detection and quantification of the *iap* gene of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* by a new real-time quantitative PCR assay. Res Microbiol 2001; 152: 37- 46.
3. Garrec N, Picard-Bonnaud F, Pourcher AM. Occurrence of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in sewage sludge used for land application: Effect of dewatering, liming and storage in tank on survival of *Listeria* species. FEMS Immunol Med Mic 2003; 35: 275- 283.
4. Lyautey E, Lapen DR, Wilkes G, et al. Distribution and characteristics of *Listeria monocytogenes* isolates from surface waters of the South Nation River Watershed, Ontario, Canada. Appl Environ Microbiol 2007; 73: 5401–5410.

5. Crepet A, Albert I, Dervin C, Carlin F. Estimation of microbial contamination of food from prevalence and concentration data, application to *Listeria monocytogenes* in fresh vegetables. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73: 250–258.
6. Atıl E, Ertaş HB, Özbey G. Isolation and molecular characterization of *Listeria* spp. from animals, food and environmental samples. *Vet Med Czech* 2011; 56: 386– 394.
7. Akça D ve Şahin M. Kars yöresi sığırlarından alınan süt ve vajinal sıvı örneklerinden *Listeria* türlerinin araştırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2011; 17: 987- 993.
8. Low JC, Donachie W. A Review of *Listeria monocytogenes* and Listeriosis. *Vet J*, 1997; 153: 9-29.
9. Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsona C, Vinas I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int J Food Microbiol* 2008; 123: 121–129.
10. Kum E, Yıldırım Y, Ertaş N. Kayseri’de satışa sunulan peynir örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığının klasik kültür yöntemi ile belirlenmesi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2011; 8: 105 -109.
11. Hartemink, R., Georgsson, F. (1991). Incidence of *Listeria* species in seafood and seafood salads. *Int J Food Microbiol* 12: 189 – 196
12. Hitchins, A.D., *L. monocytogenes*. (1992). FDA Bacteriological Analytical Manual.7th. ed. AOAC International, Arlington, VA.
13. Breer, C., Schopfer, K. (1989). *Listeria* in food. *Schweiz Med. Wochenschr.* 119: 306-311.
14. Seeliger HPR. Listeriosis- History and actual developments. *Infection* 1988; 16 : 80- 84.
15. Anonymous. Food and Drug Administration. Risk Assessment of Listeriosis Associated with Ready to Eat Foods: Hazard Identification and Hazard Characterization. Preliminary Report prepared for Joint FAO/WHO Expert Consultation on Risk Assessment of Microbiological Hazards in Foods, FAO Headquarters, Rome, Italy, 17- 21 July 2000. p.1-2
16. McLauchlin J, Audurier A, Taylor AG. Aspects of the epidemiology of human *Listeria monocytogenes* infections in Britain 1967- 1984; the use of serotyping and phage typing. *J Med Microbiol* 1986; 22: 367- 377.
17. Mead, P.S. et al., Food-related illness and death in the United States, *Emerg. Infect. Dis.*, 5, 607, 1999.
18. Adak, G.K., Long, S.M., and O’Brien, S.J., Trends in indigenous food-borne disease and deaths, England and Wales: 1992 to 2000, *Gut*, 51, 832, 2002.
19. Williams SK. *Listeria Monocytogenes* and Other *Listeria* Species In Small and Very Small Ready-To-Eat Meat Processing Plants, Master Thesis, Colorado State University, Department of Animal Sciences, Colorado 2010: 121.

20. Ludwig W, Schleifer K-H, Whitman WB. Revised Road Map to the Phylum *Firmicutes* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2009; 3: 1- 13.
21. Rocourt J, Boerlin P, Grimont F, Jacquest C, Piffaretti JC. Assignment of *Listeria grayi* and *Listeria murrayi* to a single species, *Listeria grayi*, with a revised description of *Listeria grayi*. Int J Syst Bacteriol 1992; 42: 69- 73.
22. Orsi RH, Bakker CH, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. Int J Med Microb 2011; 301: 79- 96.
23. Paracıkoğlu J. *Listeria* Enfeksiyonları. İçinde: Aydın N, Paracıkoğlu J. (editörler), Veteriner Mikrobiyoloji. 1. basım, İlke-Emek Yayınları, Ankara, 2006: s 57- 72.
24. Todeschini G, Friso S, Lombardi S, et al. A Case of *Listeria murrayi/grayi* bacteremia in a patient with advanced Hodgkin's Disease. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998; 17: 808- 810.
25. Rapose A, Lick SD, Ismail N. *Listeria grayi* bacteremia in a heart transplant recipient. Transpl Infect Dis 2008; 10: 434- 436.
26. Seeliger H, Höhne K. Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species. In: Bergan T, Norris J. (Eds.), Methods in Bacteriology. Academic Press, London, 1979: p: 31– 49.
27. Ward TJ, Ducey TF, Usgaard T, Dunn KA, Bielawski JP. Multilocus geno-typing assays for single nucleotide polymorphism-based subtyping of *Listeria monocytogenes* isolates. Appl Environ Microbiol 2008; 74: 7629–7642.
28. Liu D, Lawrence M, Ainsworth AJ, Austin FW. Toward an improved laboratory definition of *Listeria monocytogenes* virulence. Int J Food Microbiol 2007a; 118: 101– 115.
29. Vela AI, Fernandez-Garayzabal JF, Latre MV, et al. Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from meningoencephalitis in sheep. Int J Antimicrob Agents 2001; 17: 215–220.
30. Aurora R, Prakash A, Prakash S. Genotypic characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from milk and ready-to-eat indigenous milk products. Food Control 2009; 20, 835– 839.
31. Cocolin L, Stella S, Nappi R, et al. Analysis of PCR-based methods for characterization of *Listeria monocytogenes* strains isolated from different sources. Int J Food Microbiol 2005; 103: 167- 178.
32. Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. J Clin Microbiol 2004a; 42: 3819–3822.
33. <http://www.broad.mit.edu/seq/msc/>. Erişim tarihi: Temmuz, 2013
34. Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi (Birinci Basım), Pozitif Matbaacılık, Ankara, 2007: 145.
35. Seeliger HP, Jones D. Genus *Listeria*, in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Sneath PH, Mair NS, Sharpe, ME, Hold JG. (Eds). Williams and Willkins, Baltimore 1986, USA.

36. Wagner M, McLauchlin J. Biology, in Handbook of *Listeria monocytogenes*. Lui D. (Ed). CRC Pressby Taylor & Francis Group, LLC, New York 2008, USA. p.3- 27
37. Pucciarelli MG, Bierne H, García-del Portillo F. The cell wall of *Listeria monocytogenes* and its role in pathogenicity, in *Listeria monocytogenes: Pathogenesis and Host Response*. Goldfine H, Shen H. (Ed). Springer Science+Business Media, LLC. 233 Spring Street, New York 2007, USA. p. 81- 111
38. Mathakiya RA, Roy A, Nayak JB. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates by CAMP test. Vet World 2011; 4: 301- 303.
39. Beverly RL. The Control, Survival, and Growth of *Listeria monocytogenes* on Food Products, A Dissertation, Louisiana State University, The Department of Food Science, Louisiana 2004: 35.
40. Hain T, Steinweng C, Chakraborty T. Comparative and functional genomics of *Listeria* spp. J Biotechnol 2006; 126: 37- 51.
41. Liu D, Lawrence ML, Ainsworth AJ, Austin FW, Comparative assessment of acid, alkali and salt tolerance in *Listeria monocytogenes* virulent and avirulent strains. FEMS Microbiol Lett 2005; 243: 373- 378.
42. Renier S, Hebraud M, Desvaux M. Molecular biology of surface colonization by *Listeria monocytogenes*: An additional facet of an opportunistic gram-positive foodborne pathogen. Environ Microbiol 2011; 13: 835- 850.
43. Lourenco A, Machado H, Brito L. Biofilms of *Listeria monocytogenes* produced at 12°C either in pure culture or in co-culture with *Pseudomonas aeruginosa* showed reduced susceptibility to sanitizers. J Food Sci 2011; 76: 143- 148.
44. Faleiro ML, Andrew PW, Power D. Stress response of *Listeria monocytogenes* isolated from cheese and other foods. Int J Food Microbiol 2003; 84: 207- 216.
45. Bell, C., and Kyriakides, A., *Listeria: A practical approach to the organism and its control in foods*, 2nd ed. Blackwell, Oxford, 2005.
46. Anonymous, Horizontal Method for Detection of *Listeria monocytogenes* International Standardization Organization ISO NORM, 11290-1-/A1. 2004.
47. Hitchins AD and Jinneman K. Bacteriological Analytical Manual Chapter 10. Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. US Food and Drug Administration's Bacteriological Analytical Manual, FAO, April, 2011
48. Anonymous Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry, Egg and Environmental Samples. MLG 8.07. United States Department of Agriculture Food Safety And Inspection Service, USDA/FSIS, Office of Public Health Science. Revision: 07. USA 2009.

49. Anonymous, American Official Analytical Chemist International AOAC, Official Methods of Analysis, Chapter 17, Microbiological Methods. 18th edn. Revision 1, 2006
50. Gasanov U, Hughes D, Hansbro M P. Methods for The Isolation and Identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: A Review. FEMS Microbiol Rev 2005; 29: 851- 875.
51. Yura, T., and Nakahigashi, K., Regulation of the heat-shock response, Curr. Opin. Microbiol., 2, 153, 1999.
52. Abee, T., and Wouters, J.A., Microbial stress response in minimal processing, Int. J. Food Microbiol., 50, 65, 1999.
53. Sokolovic, Z., and Goebel, W., Synthesis of listeriolysin in *Listeria monocytogenes* under heat shock conditions, Infect. Immun., 57, 295, 1989.
54. Gahan, C.G., O'Mahony, J., and Hill, C., Characterization of the *groESL* operon in *Listeria monocytogenes*: Utilization of two reporter systems (*gfp* and *hly*) for evaluating *in vivo* expression, Infect. Immun., 69, 3924, 2001.
55. Hanawa, T. et al., Participation of DnaK in expression of genes involved in virulence of *Listeria monocytogenes*, FEMS Microbiol. Lett., 214, 69, 2002.
56. Stack, H.M. et al., Role for HtrA in stress induction and virulence potential in *Listeria monocytogenes*, Appl. Environ. Microbiol., 71, 4241, 2005.
57. Georgopoulos, C., and Welch, W.J., Role of the major heat shock proteins as molecular chaperones, Annu. Rev. Cell Biol., 9, 601, 1993.
58. Gottesman, S., Proteases and their targets in *Escherichia coli*, Annu. Rev. Genet., 30, 465, 1996.
59. Gahan CGM, O'Mahony J, Hill C. Characterization of the *groESL* operon in *Listeria monocytogenes*: Utilization of two reporter systems (*gfp* and *hly*) for evaluating *in vivo* expression. Infect Immun 2001; 69: 3924- 3932.
60. Stack HM, Hill C, Gahan CGM. Stress Responses, in Handbook of *Listeria monocytogenes*. Lui D. (Ed). CRC Pressby Taylor & Francis Group, LLC, New York 2008, USA. p.61- 97
61. Hill C, Cotter PD, Sleator RD, Gahan CG. Bacterial stress response in *Listeria monocytogenes*: jumping the hurdles imposed by minimal processing. Int Dairy J 2002; 12: 273–283.
62. Zhu M, Du M, Cordray J, Ahn DU. Control of *Listeria monocytogenes* contamination in Ready-to-Eat Meat products. Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety 2005b; 4: 34- 42.
63. Karatzas A, Wouters JA, Gahan CGM, et al. The CtsR regulator of *Listeria monocytogenes* contains a variant glycine repeat region that affects piezotolerance, stress resistance, motility and virulence. Mol Microbiol 2003; 49: 1227- 1238.

64. Wonderling LD, Wilkinson BJ, Bayles DO. The *htrA (degP)* gene of *Listeria monocytogenes* 10403S is essential for optimal growth under stress conditions. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 1935- 1943.
65. Becker LA, Evans SN, Hutkins RW, Benson AK. Role of σ B in adaptation of *Listeria monocytogenes* to growth at low temperature. *J Bacteriol* 2000; 182: 7083- 7087.
66. Ferreira A, Sue D, O'Byrne CP, Boor KJ. Role of *Listeria monocytogenes* σ B in survival of lethal acidic conditions and in the acquired acid tolerance response. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69: 2692- 2698.
67. Considine CM, Sleator RD, Kelly AL, Fitzgerald GF, Hill C. A role for proline synthesis and transport in *Listeria monocytogenes* barotolerance. *J Appl Microbiol* 2011; 110: 1187- 1194.
68. Sleator RD, Francis GA, O'Beirne D, Gahan CGM, Hill C. Betaine and carnitine uptake systems in *Listeria monocytogenes* affect growth and survival in foods and during infection. *J Appl Microbiol* 2003; 95: 839- 846.
69. Browne N and Dowds BCA. Heat and salt stress in the food pathogen *Bacillus cereus*. *J Appl Microbiol* 2001; 91: 1085.
70. O'Driscoll B, Gahan CGM, Hill C. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis analysis of the acid tolerance response in *Listeria monocytogenes* LO28. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63: 2679.
71. Lou Y and Yousef AE. Adaptation to sublethal environmental stresses protects *Listeria monocytogenes* against lethal preservation factors. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63: 1252.
72. Glaser P, Frangeul L, Buchrieser C, et al. Comparative genomics of *Listeria* species. *Science* 2001; 294: 849–52.
73. Stavru F, Archambaud C, Cossart P. Cell biology and immunology of *Listeria monocytogenes* infections: Novel insights. *Immunol Rev* 2011; 240: 160- 184.
74. Orndorff PE, Hamrick TS, Smoak IW, Havell EA. Host and bacterial factors in listeriosis pathogenesis. *Vet Microbiol* 2006; 114: 1–15.
75. Lecuit M, Nelson DM, Smith SD, et al. Targeting and crossing of the human maternofetal barrier by *Listeria monocytogenes*: role of internalin interaction with trophoblast E-cadherin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 6152–6157.
76. Liu D, Lawrence ML, Austin FW, Ainsworth AJ. A multiplex PCR for species- and virulence-specific determination of *Listeria monocytogenes*. *J Microbiol Methods* 2007b; 71: 133–140.
77. Cabanes D, Dussurget O, Dehoux P, Cossart P. Auto, A surface associated autolysin of *Listeria monocytogenes* required for entry into eukaryotic cells and virulence. *Mol Microbiol* 2004; 51: 1601–1614.

78. Dancz CE, Haraga A, Portnoy DA, Higgins DE. Inducible control of virulence gene expression in *Listeria monocytogenes*: temporal requirement of listeriolysin O during intracellular infection. J Bacteriol 2002; 184: 5935–5945.
79. Chong R, Swiss R, Briones G, et al. Regulatory Mimicry in *Listeria monocytogenes* Actin-Based Motility. Cell Host Microbe 2009; 6: 268–278.
80. Marquis H, Hager EJ. pH-regulated activation and release of a bacteria-associated phospholipase C during intracellular infection by *Listeria monocytogenes*. Mol Microbiol 2000; 35: 289–298.
81. Portnoy DA. A 20-Year Perspective on *Listeria monocytogenes* Pathogenesis, in *Listeria monocytogenes*: Pathogenesis and Host Response. Goldfine H, Shen H. (Ed). Springer Science+Business Media, LLC. 233 Spring Street, New York 2007, USA. p. 1- 13
82. Bubert A, Hein I, Rauch M, et al. Detection and differentiation of *Listeria* spp. by a single reaction based on multiplex PCR. Appl Environ Microbiol 1999; 65: 4688–4692.
83. Cabanes D, Sousa S, Cebria A, et al. Gp96 is a receptor for a novel *Listeria monocytogenes* virulence factor, Vip, a surface protein. Embo J 2005; 24: 2827–2838.
84. Li Z, Dai J, Zheng H, Liu B, Caudill M. An integrated view of the roles and mechanisms of heat shock protein gp96-peptide complex in eliciting immune response. Front Biosci 2002; 7: 731–751.
85. Vazquez-Boland J A, Kuhn M, Berche P, et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 584–640.
86. Sibergeld KE, Graham J, Price BL. Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health. Annu Rev Public Health 2008; 29: 151- 169.
87. Conter M, Paludi D, Zanardi E, et al. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. Int J Food Microbiol 2009; 128: 497- 500.
88. Aurelia P, Ferrinia AM, Mannonia V, et al. Susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from food in Italy to antibiotics. Int J Food Microbiol 2003; 83: 325- 330.
89. Troxler R, von Gravenitz A, Funke G, Wiedemann B, Stock I. Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligerii* and *L. welshimerii* strains. Clin Microbiol Infect 2000; 6: 525– 535.
90. Baylan O. Fosfomisin: Dünü, Bugünü ve Geleceği. Mikrobiyol Bul 2010; 44: 311- 321
91. Yan H, Neogi SB, Mo Z, et al. Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China, 2005–2007. Int J Food Microbiol 2010; 144: 310- 316.

92. Marco F, Almela M, Nolla-Salas J, et al. In vitro activities of 22 antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* strains isolated in Barcelona, Spain. *Microbiol Infect Dis* 2000; 38: 259–261.
93. Zhang Y, Yeh E, Hall G, Cripe J, Bhagwat A A, Meng J. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from retail foods. *Int J Food Microbiol* 2007; 113: 47- 53.
94. McLauchlin, J., The pathogenicity of *Listeria monocytogenes*: A public health perspective, *Rev. Med. Microbiol.*, 8, 1, 1997.
95. Rocourt, J. et al., Meningite purulente aigue à *Listeria seeligeri* chez un adulte immunocompetent, *Schweiz. Med. Wochenschr.*, 116, 248, 1986.
96. Cummins, A.J., Fielding, A.K., and McLauchlin, J., *Listeria ivanovii* infection in a patient with AIDS, *J. Infect.*, 28, 89, 1994.
97. Low, J.C., and Donachie, W., A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis, *Vet. J.*, 153, 9, 1997.
98. Gonzalez-Zorn, B. et al., The smcL gene of *Listeria ivanovii* encodes a sphingomyelinase C that mediates bacterial escape from the phagocytic vacuole, *Mol. Microbiol.*, 33, 510, 1999.
99. Dillon R., Patel T., Ratnam S.1992. Prevalence of *Listeria* in Smoked Fish. *J.Food Prot.*55, 866-870.
100. Buchholz U and Mascola L. Transmission, pathogenesis, and epidemiology of *Listeria monocytogenes*. *Infect Dis Clin Pract* 2001; 10: 34– 41.
101. Lorber B. Listeriosis, in *Listeria monocytogenes: Pathogenesis and Host Response*. Goldfine H, Shen H. (Ed). Springer Science+Business Media, LLC. 233 Spring Street, New York 2007, USA. p. 1- 13
102. Colodner R, Sakran W, Miron D,et al. *Listeria monocytogenes* cross-contamination in a nursery. *Am J Infect Control* 2003; 31: 322–324.
103. Oliver HF, Wiedmann M, Boor KJ. Environmental Reservoir and Transmission into the Mammalian Host, in *Listeria monocytogenes: Pathogenesis and Host Response*. Goldfine H, Shen H. (Ed). Springer Science+Business Media, LLC. 233 Spring Street, New York 2007, USA. p. 111- 139
104. Bortolussi, R. Listeriosis: a primer. *JMAC Practise* 2008; 179: 795- 797.
105. Goulet V, Hedberg C, Le Monnier A, De Valk H. Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 734–740.
106. Hofer, E., Ribeiro, R., and Feitosa, D.P., Species and serovars of the genus *Listeria* isolated from different sources in Brazil from 1971 to 1997, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 95, 615, 2000.
107. Antoniollo, P.C. et al., Prevalence of *Listeria* spp. in feces and carcasses at a lamb packing plant in Brazil, *J. Food Prot.*, 66, 328, 2003.

108. Hutchison, M.L. et al., Levels of zoonotic agents in British livestock manures, Lett. Appl. Microbiol., 39, 207, 2004.
109. Nightingale KK, Schukken YH, Nightingale CR, et al. Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment. Appl Environ Microbiol 2004; 70: 4458–4467.
110. Ho, A.J., Lappi, V.R., and Wiedmann, M., Longitudinal monitoring of *Listeria monocytogenes* contamination patterns in a farmstead dairy processing facility, J. Dairy Sci., 90, 2517, 2007.
111. Barbuddhe SB, Malik SVS, Kumar JA, Kalorey DR, Chakraborty T. Epidemiology and risk management of listeriosis in India. Int J Food Microbiol 2012; 15: 154: 113- 118.
112. Brugere-Picoux J. Ovine listeriosis. Small Ruminant Research 2008; 76: 12– 20.
113. Wagner M. et al., Outbreak of clinical listeriosis in sheep: Evaluation from possible contamination routes from feed to raw produce and humans, J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health, 52, 278, 2005.
114. Sergeant, E.S., Love, S.C., and McInnes, A., Abortions in sheep due to *Listeria ivanovii*, Aust. Vet. J., 68, 39, 1991.
115. Alexander, A.V. et al., Bovine abortions attributable to *Listeria ivanovii*: Four cases (1988–1990), J. Am. Vet. Med. Assoc., 200, 711, 1992.
116. Gill, P.A. et al., Bovine abortion caused by *Listeria ivanovii*, Aust. Vet. J., 75, 214, 1997.
117. Peters, M., Amtsberg, G., and Beckmann, G.T., The diagnosis of *Listeria* encephalitis in ruminants using cultural and immunohistological techniques. I. Comparison of different selective media and culture techniques for the detection of *Listeria* from rumina.
118. Gaulin C, Ramsay D, Ringuette L, Ismail J. First documented outbreak of *Listeria monocytogenes* in Quebec, 2002. Can Commun Dis Rep 2003; 29: 181- 186.
119. Issa ZM, Mustakim M, Mohamed SAS, et al. Antibigram Profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from foods, 2nd International Conference on Biotechnology and Food Science IACSIT Press, IPCBEE vol 7, p 133- 137, 2011, Singapore.
120. Poros- Gluchowska J, Markiewicz Z. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes*. Acta Microbiol Pol 2003; 52: 113- 129.
121. Carrique-Mas JJ, Hokeberg I, Andersson Y, et al. Febrile gastroenteritis after eating on-farm manufactured fresh cheese--an outbreak of listeriosis? Epidemiol Infect 2003; 130: 79- 86.
122. Anonymous, CDC. Outbreak of *Listeria monocytogenes* infections associated with pasteurized milk from a local dairy - Massachusetts, 2007. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008; 57: 1097- 1100.

123. Dworkin MS, Williamson J, Jones JL, Kaplan JE. Prophylaxis with trimethoprim–sulfamethoxazole for human immunodeficiency virus-infected patients: Impact on risk for infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 393– 398.
124. Akkaya L, Alişarlı M, Kara R, Telli R. Afyonkarahisar’da tüketime sunulan kremalı pastalarda *Listeria* türlerinin varlığının belirlenmesi. *YYÜ Vet Fak Derg* 2006; 17: 93-97.
125. MacGowan, A.P. et al., The occurrence and seasonal changes in the isolation of *Listeria* spp. in shop bought food stuffs, human feces, sewage and soil from urban sources, *Int. J. Food Microbiol.*, 21, 325, 1994.
126. Moshtaghi, H., Garg, S.R., and Mandokhot, U.V., Prevalence of *Listeria* in soil, *Indian J. Exp. Biol.*, 41, 1466, 2003.
127. Huss, H.H., Jorgensen, L.V., and Vogel, B.F., Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods, *Int. J. Food Microbiol.*, 62, 267, 2000.
128. Schaffter, N., and Parriaux, A., Pathogenic-bacterial water contamination in mountainous catchments, *Water Res.*, 36, 131, 2002.
129. Hansen, C.H., Vogel, B.F., and Gram, L., Prevalence and survival of *Listeria monocytogenes* in Danish aquatic and fish-processing environments, *J. Food Prot.*, 69, 2113, 2006.
130. Luppi, A. et al., Ecological survey of *Listeria* in the Ferrara area (northern Italy), *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. A.*, 269, 266, 1988.
131. Colburn, K.G. Kaysner, C.A., Abeyta, C., Weekell, M.M. (1990) *Listeria* species in a California coast estuarine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 2007–2011.
132. David OM and Odeyemi AT. Antibiotic resistant pattern of environmental isolates of *Listeria monocytogenes* from Ado-Ekiti, Nigeria. *Afr J Biotech* 2007; 6: 2135- 2139.
133. Millet L, Saubusse M, Didienne R, Tessier L, Montel MC. Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses. *Int J Food Microbiol* 2006; 108: 105-114.
134. Amagliani G, Giammarini C, Omiccioli E, Brandi G, Mangan M. Detection of *Listeria monocytogenes* using a commercial PCR kit and different DNA extraction methods. *Food Control* 2007;18: 1137- 1142.
135. Çolak F, Diğrak M, Aksoy Z. Kahramanmaraş’ta tüketime sunulan tavuk etlerinde *Listeria* türlerinin patojenitesi’nin belirlenmesi. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi* 2008; 11: 8- 12.
136. Fleming DW, Cochi SL, MacDonald KL. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *N Engl J Med* 1985; 312:404–407.
137. Meyer-Broseta S, Diot A, Bastian S, Riviere J, Cerf O. Estimation of low bacterial concentration: *Listeria monocytogenes* in raw milk. *Int J Food Microbiol* 2003; 80: 1 – 15.
138. Taşçı F, Türütoğlu H, Öğütçü H. Investigations of *Listeria* species in milk and silage produced in Burdur province. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2010; 16: 93 -97.

139. Uysal HK ve Anđ Ö. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen *Listeria* türleri. Turk Mikrobiyol Cem Derg 2003; 33: 163- 169.
140. Aygün O ve Pehlivanlar S. *Listeria* spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. Food Control 2006; 17: 676- 679.
141. Rahimi E, Ameri M, Momtaz H. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran. Food Control 2010; 21: 1448- 1452.
142. Filiouis G, Johansson A, Frey J, Perreten V. Prevalence, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from open-air food markets in Greece. Food Control 2009; 20: 314– 317.
143. Pintado CMBS, Oliveira A, Pampulha ME, Ferreira MASS. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from soft cheese. Food Microbiol 2005; 22: 79–85.
144. Abrahao WM, Abrahao PRS, Monteiro CLB, Pontarolo B. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese and ice cream produced in the State of Paraná, Brazil. Braz J Pharm Sci 2008; 44: 289- 296.
145. Erkmen O. Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* in Turkish White cheese during the ripening period. J Food Eng 2000; 46: 127- 131.
146. Erkmen O. Survival of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Turkish White cheese. Nahrung 2001; 45: 55 – 58.
147. Yıldırım Y ve Sarımehtetoğlu B. Beyaz Peynir yapımında bazı probiyotik bakterilerin kullanılmasının *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2006; 3: 1- 7.
148. El-Sharef N, Ghenghesh KS, Abognah YS, Gnan SO, Rahouma A. Bacteriological quality of ice cream in Tripoli- Libya. Food Control 2006; 17: 637–641.
149. Brett, M., Short, P., McLauchlin, J. (1998). A small outbreak of *listeriosis* associated with smoked mussels. Int J Food Microbiol. **43**: 223–229
150. Reiter, M.G. et al., Occurrence of *Campylobacter* and *Listeria monocytogenes* in a poultry processing plant, J. Food Prot., 68, 1903, 2005.
151. Capita, R. et al., Occurrence of *Listeria* species in retail poultry meat and comparison of a cultural/immunoassay for their detection, Int. J. Food Microbiol., 65, 75, 2001.
152. Rovrik LM, Aase B, Alvestad T, Caugant DA. Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in broilers and poultry products J Appl Microbiol 2003; 94: 633– 640.
153. Erol İ, Şireli UT, Gündeş B. Piliç parça et ve iç organlarında *Listeria* türlerinin varlığı ve kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi. Ankara Uni Vet Fak Derg 1999; 44: 179- 188.
154. Samadpour, M. et al., Incidence of enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in retail fresh ground beef, sprouts, and mushrooms, J. Food Prot., 69, 441, 2006.

155. Bosilevac, J.M. et al., Microbiological characterization of imported and domestic boneless beef trim used for ground beef, J. Food Prot., 70, 440, 2007.
156. Navratilova P, Schlegelova J, Sustackova A. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in milk, meat and food stuff of animal origin and the phenotype of antibiotic resistance of isolated strains. Vet Med Czech 2004; 49: 243–252.
157. Wang F, Chern M, Li C, Yan M, Hsieh Y. Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in food products in Taipei, Taiwan. Afr J Microbiol Res 2012; 6: 4702 -4706.
158. Berrada H, Soriano JM, Pico Y, Manes J. Quantification of *Listeria monocytogenes* in salads by real time quantitative PCR. Int J Food Microbiol 2006; 107: 202–206.
159. Schlech III WF, Lavigne PM, Bortolussi RA, et al. Epidemic Listeriosis - Evidence for Transmission by Food. N Engl J Med 1983; 308: 203- 206.
160. Olsen SJ, Patrick M, Hunter SB et al. Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* infection linked to delicatessen turkey meat. CID 2005; 40: 962- 967.
161. Anonymous, FSIS. 2003. Control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat and poultry products; final rule. Fed Reg 68: 34207–54.
162. Brandt AL, Castillo A, Haris KB, et al. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by food antimicrobials applied singly and in combination. Journal of Food Science 2010; 75: 557- 563.
163. Sommers C and Fan X. Gamma irradiation of fine-emulsion sausage containing sodium diacetate. J Food Prot 2003; 66: 819– 824.
164. Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. 27/12/2007: 13-17.
165. İşleyici O, Sancak YC, Sağun E, Ekici K. Presence of *Listeria* species in cig kofte. I. National Veterinary Food Hygiene Congress, pp. 139-146, 2004, Ankara.
166. Taban B. *Listeria monocytogenes* in cig kofte without meat: A novel bulgur ball product. J Food Agr Environ 2012; 10: 130- 132.
167. Eklund, M.W. et al., Incidence and sources of *Listeria monocytogenes* in cold smoking fishery products and processing plants, J. Food Prot., 58, 502, 1995.
168. Rodas-Suarez, O.R. et al., Occurrence and antibiotic sensitivity of *Listeria monocytogenes* strains isolated from oysters, fish, and estuarine water, Appl. Environ. Microbiol., 72, 7410, 2006.
169. Ertaş HB ve Şeker E. Isolation of *Listeria monocytogenes* from Fish Intestines and RAPD Analysis. Turk J Vet Anim Sci 2005; 29: 1007- 1011.
170. Draughon, F.A., Anthony, B.A., Denton, M.E. (1999). *Listeria* species in fresh rainbow trout purchased from retail markets. Dairy Food Environ. Sanit. 19: 90–94.

171. Miettinen, H., Wirtanen, G. (2005). Prevalence and location of *Listeria monocytogenes* in farmed rainbow trout. *Int. J. Food Microbiol.* 104: 135-143.
172. Chou, C.H., Silva, J.L., and Wang, C., Prevalence and typing of *Listeria monocytogenes* in raw catfish fillets, *J. Food Prot.*, 69, 815, 2006.
173. Chen, B. Y., Pyla, R., Kim, T. J., Silva, J. L. (2010). Prevalence and contamination patterns of *L. monocytogenes* in catfish processing environment and fresh fillets. *Food Microbiol.* 27: 645 – 652.
174. Parihar, V. S., Barbuddhe, S. B., Danielsson-thm, M. L., Tham, W. (2008) Isolation and characterization of *Listeria species* from tropical seafoods. *Food Control* 19: 566-569.
175. Gudbjornsdottir, B., Suikho M. L. Gustavsson, P., et. al. (2004). The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. *Food Microbiology* 21: 217 - 225
176. Cenet O. Alabalık Fletolarında Farklı Yöntemlerle *Listeria monocytogenes*'in Arastırması. YYÜ Vet Fak Derg 2007; 18: 41- 44.
177. Jallewar PK, Kalorey DR, Kurkure NV, Pande VV, Barbuddhe SB. Genotypic characterization of *Listeria* spp. isolated from fresh water fish. *Int J Food Microbiol* 2007; 114: 120- 123.
178. Autio, T., Hielm, S., Miettinen, M., Sjöberg, A. M., Aarnisalo, K., Björkroth, J., et al. (1999). Sources of *L. monocytogenes* contamination in a cold-smoked rainbow trout processing plant detected by pulsed-Field gel electrophoresis typing. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 150–155.
179. FAO (1999). Fisheries Report No. 604. Expert consultation on the trade impact of *Listeria* in Wsh products. Amherst, MA, USA.
180. Jemmi, T., & Keusch, A. (1994). Occurrence of *L. monocytogenes* in fresh water Wsh farms and Wsh smoking plants. *Food Microbiology*, 11, 309– 316.
181. Davies, A. R., Capell, C., Jehanno, D., Nychas, G. J. E., & Kirby, R. M. (2001). Incidence of foodborne pathogens on European Wsh. *Food Control*, 12, 67–71.
182. Embarek, P. K. B. (1994). Presence, detection and growth of *L. monocytogenes* in seafoods: a review. *Food Microbiology*, 23, 17–34.
183. Johansson, T., Rantala, L., Palmu, L., & Honkanen-Buzalski, T. (1999). Occurrence and typing of *L. monocytogenes* strains in retail vacuum-packed fish products and in a production plant. *International Journal of Food Microbiology*, 47, 111–119.
184. Salamoura, C., Papadopoulou, C., Vrioni, G., Filioussis, G., Dontorou, C., Malamas, M. et al., (2004). Detection of *L. monocytogenes* from fresh fish using real time PCR, PCR and standard ISO methods. In *Proceedings of 3rd Hellenic Symposium on Food Hygiene and Food Technology*, Vol. A. Athens, Greece, pp. 276–279.

185. Miettinen MK, Siitonen A, Heiskanen P, et al. Molecular Epidemiology of an outbreak of febrile gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* in cold-smoked rainbow trout. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2358–2360.
186. Soultos, N., Abraham, A., Papageorgiu K., Steris V. (2007) Incidence of *Listeria* spp. in fish and environment of fish markets in Northern Greece. *Food Control*. 18: 554-557.
187. Ericsson, H. et al., An outbreak of listeriosis suspected to have been caused by rainbow trout, *J. Clin. Microbiol.*, 35, 2904, 1997.
188. Nakamura H, Hatanaka M, Ochi K, et al. *Listeria monocytogenes* isolated from cold-smoked fish products in Osaka City, Japan. *Int J Food Microbiol* 2004; 94: 323–328.
189. Van Coillie, E. et al., Prevalence and typing of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food products on the Belgian market, *J. Food Prot.*, 67, 2480, 2004.
190. Ben Embarek, P. K. (1994). Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods: a review. *Int J Food Microbiol* **23**: 17-34.
191. Domenech, E., Amoros, J.A., Martorell, S., Escriche I. (2012). Safety assessment of smoked fish related to *Listeria monocytogenes* prevalence using risk management metrics. *Food Control*. 25: 233-238.
192. Rorvik, L. M., Skjerve, E., Yndestad, M. (1991). Growth of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed, smoked salmon during storage at 4°C. *Int. J. Food microbiol.* 14: 111-118.
193. Little CL, Taylor FC, Sagoo SK, et al. Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in retail prepackaged mixed vegetable salads in the UK. *Food Microbiol* 2007; 24: 711–717.
194. Wagner, M. et al., Survey on the *Listeria* contamination of ready-to-eat food products and household environments in Vienna, Austria, *Zoon. Publ. Health*, 54, 16, 2007.
195. Karunasagar, I., Karunasagar, I. (2000) *Listeria* in tropical fish and fishery products. *Int. J. Food Microbiol.* **62**: 177-181

