

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



PROJE BAŞLIĞI
KAYSERİ'DE SATIŞA SUNULAN SUCUKLARDA
***LISTERIA* SPP. VARLIĞININ KLASİK KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

Proje No: TSY-12-3906

Proje Türü
Yüksek Lisans

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ
ERÜ. Veteriner Fakültesi/Gıda Hijyeni Ve Teknolojisi

Araştırmacının Adı Soyadı
Koral DUYGULU
ERÜ. Veteriner Fakültesi/Gıda Hijyeni Ve Teknolojisi

Nisan 2014
KAYSERİ

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

**KAYSERİ’DE SATIŞA SUNULAN SUCUKLARDA
LISTERIA SPP. VARLIĞININ KLASİK KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE
BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Koral DUYGULU**

**Danışman
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ**

Yüksek Lisans Tezi

**Nisan 2014
KAYSERİ**

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

**KAYSERİ’DE SATIŞA SUNULAN SUCUKLARDA
LİSTERİA SPP. VARLIĞININ KLASİK KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE
BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Hazırlayan
Koral DUYGULU**

**Danışman
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TSY-
TSY-12-3906 kodlu proje ile desteklenmiştir**

**Nisan 2014
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmamın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tıbbi olarak akıllığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı- Soyadı: Koral DUYGULU

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Kayseri’de Satışa Sunulan Sıcuklarda *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.



Tezi Hazırlayan
Koral DUYGULU



Danışman
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ

Veteriner Gıda Hijyeni ve Teknolojisi ABD Başkanı V.
Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM



Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ danışmanlığında Koral DUYGULU tarafından hazırlanan "Kuyseri'de Satışa Sunulan Sucuklarda *Listeria* spp. Varlığının Klasik Kültür Yöntemi ile Belirlenmesi" adlı bu çalışma jüriimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

09/04/2013

JÜRİ:

İMZA

Üye: Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ (Danışman)

Üye: Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM

Üye: Yrd. Doç. Dr. Falden KARADAL

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 08.05.2014 tarih ve ...627... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

08.05.2014
Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN, danışman hocam Sayın Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ'a, Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM'a, çalışmam sırasında analizlerinin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Araştırma görevlisi Serhat AL'a, tez projesini TSY-12-3906 proje koduyla maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi yetkililerine, çalışmalarım sırasında ve ayrıca tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok kıymetli aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Koral DUYGULU
Kayseri, Nisan 2014

**KAYSERİ’DE SATIŞA SUNULAN SUCUKLARDA
LISTERIA SPP. VARLIĞININ KLASİK KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE
BELİRLENMESİ**

Koral DUYGULU

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans, Nisan, 2014
Danışman: Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ**

KISA ÖZET

Bu çalışmanın amacı Kayseri ilinde satışa sunulan sucuklarda *Listeria* spp. varlığını incelemektir. Çalışmada toplam 100 sucuk örneği incelendi. Örnekler ISO 11290-1/A1-2004’da önerilen *Listeria* izolasyon prosedürüne göre analiz edildi. Çalışma kapsamında, analiz edilen 100 örneğinin 29 örnek (%29) *Listeria* spp. açısından pozitif bulunurken örneklerden altısının (%6) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlendi. Bu çalışmada elde edilen verilere göre, Kayseri’de satışa sunulan sucukların halk sağlığı açısından göz ardı edilmemesi gereken bir tehlike olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *L. monocytogenes*, sucuk, izolasyon, Kayseri

**DETECTION OF *LISTERIA* SPP. BY CULTURAL METHOD FROM THE
SOUJOUK SAMPLES SOLD IN KAYSERİ**

Koral DUYGULU
Erciyes University, Institute of Health Sciences
Department of Veterinary Food Hygiene and Technology
Master Thesis, December, 2013
Supervisor: Associate Prof. Dr. Nurhan ERTAŞ

ABSTRACT

This study was designed to detect *Listeria spp.* from soujouk samples sold in Kayseri. Total of 100 sucuk samples were analysed in this study. Samples were tested according to the *Listeria* isolation procedure as recommended by ISO 11290-1/A1-2004. Among 100 samples analysed, 29 samples (29%) were positive for *Listeria spp.* and only 6 samples (6%) were found to harbour *L. monocytogenes*. The present study shows that the sucuk samples sold in Kayseri must not be underestimated as a hazard for public health.

Keywords: *L. monocytogenes*, sucuk, isolation, Kayseri

İÇİNDEKİLER

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	vi
ONAY:.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
KISA ÖZET	x
ABSTRACT.....	xi
İÇİNDEKİLER.....	xii
KISALTMALAR	xiv
TABLolar LİSTESİ	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xvi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	vii
2. GENEL BİLGİLER.....	vii
2.1. TARİHÇE.....	18
2.2. <i>LISTERIA</i> TÜRLERİNİN TAKSONOMİSİ	18
2.3. <i>LISTERIA</i> TÜRLERİNİN MORFOLOJİSİ VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ.....	19
2.4. <i>LISTERIA</i> TÜRLERİNİN FİZYOLOJİSİ.....	22
2.4.1. Üreme Özellikleri	22
2.4.2. Stres Toleransı.....	24
2.4.2.1. Isı Stresi Yanıtları	24
2.4.2.2. Asit Stresi Yanıtları	25
2.4.2.3. Ozmotik Stres Yanıtları	26
2.4.2.4.Stresten Çapraz Korunma	26
2.4.3. Virülans Faktörleri.....	27
Antimikrobiyallere Karşı Duyarlılık ve Dayanıklılık	29
2.5. <i>LISTERIA</i> ENFEKSİYONLARI	30
2.5.1. Epidemiyoloji, Bulaşma Yolları ve Tiplendirme	30
2.5.2. Hayvanlarda Listeriozis	32
2.5.3. İnsanlarda Listeriozis.....	33
2.6. <i>LISTERIA</i> TÜRLERİNİN ÇEVREDE DAĞILIMI.....	34
2.7. <i>LISTERIA</i> TÜRLERİNİN GIDALARDA BULUNUŞU	35
2.7.1. Et ve Et Ürünleri.....	35
2.7.2. Süt ve Süt Ürünleri	36

2.7.3. Sebze ve Meyveler.....	37
2.7.4. Tüketime Hazır Gıdalar.....	37
2.7.5. Balık ve Su Ürünleri.....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. GEREÇ.....	39
3.1.1. Materyal.....	39
3.1.2. Standart Suş.....	39
3.1.3. <i>Listeria</i> spp. İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyeri ve Kimyasallar	39
3.1.3.1. Half Fraser Broth	39
3.1.3.2. Oxford <i>Listeria</i> Selective Agar	40
3.1.3.3. Kanlı Agar	41
3.1.3.4. Tryptic Soy Broth (TSB)	41
3.1.3.5. Oksidaz Test	41
3.1.3.6. Katalaz Test	41
3.1.3.7. <i>Listeria</i> spp. İdentifikasyon Kiti	42
3.2. YÖNTEM.....	42
3.2.1. Sucuk Örneklerinden <i>Listeria</i> spp. İzolasyonu.....	42
3.2.2. Biyokimyasal Testler	45
3.2.2.1. β -Hemoliz	45
3.2.2.2. Gram Boyama	46
3.2.2.3. Katalaz Test	46
3.2.2.4. Oksidaz Test	46
3.2.2.5. Hareket muayenesi.....	46
3.2.2.6. Microbact Testi.....	46
4. BULGULAR	vii
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	vii
6. KAYNAKLAR	vii
ÖZGEÇMİŞ	65

KISALTMALAR

AFLP	Amplified fragment lenght polymorphism
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
GAD	Glutamat dekarboksilaz
GABA	Gamma-aminobutirik asit
HACCP	Hazard Critical Control Point
Hsps	Heat shock proteins
InlA	İnternalin A
Mpl	Metalloproteaz
MLST	Multilocus sequence based typing
PC-PLC	Fosfaditil kolin fosfolipaz
PFGE	Pulse-field gel electrophoresis
RFLP	PCR-restriction fragment length polymorphism
RAPD	Random amplification polymorphic
STX	Sulfometoksazol
TMP	Trimetoprim
TGK	Türk Gıda Kodeksi

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. <i>Listeria</i> türlerinin fenotipik özellikleri.....	6
Tablo 2.2. <i>L. monocytogenes</i> için tanımlanmış Hsps.....	10
Tablo 2.3. <i>Listeria</i> türlerinin antimikrobiyel ajanlara karşı direnç ve duyarlılıkları.....	14
Tablo 2.4. TKG tarafından et ürünleri için belirlenen mikrobiyolojik kriterler tebliği	21
Tablo 4.1. Sucuk örneklerinde <i>Listeria</i> spp izolasyon sonucu.....	33
Tablo 4.2. Sucuk örneklerinde <i>Listeria</i> türlerinin dağılımı.....	34

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Peritrik flagellaları ile <i>L. monocytogenes</i> preparatı.....	5
Şekil 2.2. Gıda ve çevredeki <i>Listeria</i> türlerinin izolasyon, identifikasyon ve tiplendirilmesi için kullanılan metotlara genel bakış	9
Şekil 2.3. <i>L. monocytogenes</i> 'in hücre içinde üremesi ve komşu hücreye geçişi	13
Şekil 2.4. Toplum sağlığı için Listerial enfeksiyonlarda izlenecek yol.....	17
Şekil 3.1. Horizontal yöntemle <i>Listeria</i> spp. izolasyonu. ISO11290-1/A1-2004.....	28
Şekil 3.2. Half Fraser Broth ile ön zenginleştirme aşaması.....	29
Şekil 3.3. Fraser Broth ile selektif zenginleştirme aşaması	29
Şekil 3.4. Oxford Listeria Selektiv Agar'a ekim aşaması.....	30
Şekil 3.5. Microbact Test Kiti.....	32
Şekil 4.1. İncelenen sucuk örneklerinde <i>Listeria</i> türlerinin dağılımı	34

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda *Listeria monocytogenes*'den kaynaklanan gıda enfeksiyonları büyük önem kazanmıştır. Etkenin doğada, özellikle toprak ve çevrede yaygın olarak bulunması gıdaların kontaminasyonunu ve buna bağlı olarak gıda kaynaklı listeriozis sıklığını tüm dünyada artırmaktadır.

Doğada yaygın olarak bulunan *Listeria* türlerine çoğunlukla kanalizasyon, bataklık, nehir suyu ve sebzelerde rastlanmaktadır (1-3). 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 (4-8).

Listeria monocytogenes, insanlarda ve çeşitli hayvan türlerinde ciddi, sporadik enfeksiyonlara neden olan önemli bir etkidir. *Listeria 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 (9,10).

Türkiye'de kesim hijyeninin yeterli olmaması, sucuk yapımında starter kültür kullanılmaması, hatalı ısı uygulamaları ve üretimin uygun olmayan koşullarda gerçekleştirilmesinin yanı sıra üretim sonrası kontaminasyonların meydana gelmesi sonucu et ürünleri *L. monocytogenes* ile sıklıkla kontamine olabilmekte ve bu şekilde üretilen sucukların tüketime sunulması halk sağlığı açısından risk teşkil etmektedir.

Kayseri ve civarında üretilen ve satışa sunulan sucuklarda *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes*'in varlığı ve halk sağlığı açısından oluşturduğu risklerin belirlenmesine yönelik çalışmalar oldukça azdır. Bu çalışmada Kayseri ve civarında üretimi ve satışı yapılan sucuklarda *Listeria* spp. varlığının klasik kültür yöntemiyle belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bu sayede Kayseri'de satışa sunulan sucukların *L. monocytogenes* açısından taşıdığı halk sağlığı

riskinin belirlenmesi ve konuya ilişkin literatür bilgilerine zenginlik kazandırılması mümkün olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Listerialar ilk olarak 1981 yılında Almanya’da hasta hayvanlardan izole edilmiştir. Gram-pozitif bir bakteri olan *L. monocytogenes* ise ilk kez 1926 yılında Birleşik Krallık Cambridge’de monocytosis enfeksiyonu görülen laboratuvar rodentlerinde Murray tarafından tanımlanmış ve *Bacterium monocytogenes* olarak isimlendirilmiştir. 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 (11).

Yetişkinlerde meningitis ve yeni doğanlarda sepsise neden olan hastalık Burn tarafından 1936 yılında listeriozis olarak tanımlanmıştır (12). *L. monocytogenes*’in sebep olduğu mastitisli bir ineğin sütünün hamile bir kadın tarafından içilmesi ve ikiz bebeklerinin ölümü ile sonuçlanan gıda kaynaklı ilk listeriozis vakası ise 1953 yılında bildirilmiştir (13). Kanada’da 1981 yılında ortaya çıkan listeriozis salgınına kadar insan enfeksiyonları çok dikkat çekmemiştir (12).

Listeriozisin Amerika Birleşik Devletleri (14), İngiltere ve Galler’de (15) 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 (14,15).

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 (16). Yapılan çeşitli moleküler çalışmalar

ile *L. murrayi*'nin *L. grayi*'nin alttürü olduğu ortaya çıkmıştır (17). *Listeria marthii* ve *Listeria rocourtiae* isimli iki yeni tür ise 2009 yılında rapor edilmiştir (18).

Listeria türlerinden *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* ve *L. innocua* memeliler için patojendir (19). *L. ivanovii* ve *L. innocua* çoğunlukla ruminantlarda hastalık oluştururken, *L. monocytogenes* hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalık oluşturmaktadır (16, 19). Literatürde *L. grayi*'nin immun sistemi baskılanmış hastalarda yol açtığı bakteriyemi ile ilgili 2 vaka bildirilmiştir (20, 21).

Listeria monocytogenes ilk olarak 1940 yılında Paterson tarafından serotiplendirilmiş, bu metot Seeliger ve Hohne tarafından geliştirilmiştir (22). 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 (23).

Altgrup I ve II'nin insan klinik ve gıda izolatlarından altgrup III'ün ise hayvan klinik izolatlarından oluştuğu belirlenmiştir (18). 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 (24).

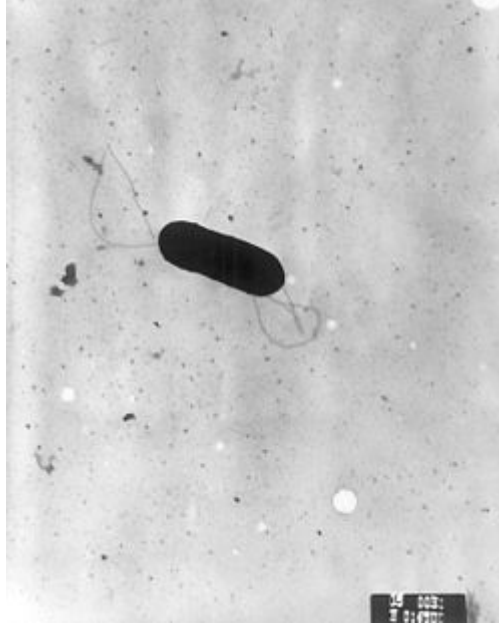
Listeria monocytogenes'in suşları arasındaki farkları ayırt etmek için birçok gruplandırma metodu kullanılmaktadır. Serotiplerin fenotipik karakterlerini temel alan ticari antiserumlar ile serotiplendirme, faj tiplendirme ve izoenzim analizi gibi daha geleneksel metodların yanında ribotiplendirme, pulse-field gel electrophoresis (PFGE), random amplification polymorphic DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphism (AFLP), multilocus sequence based typing (MLST), PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) ve direkt DNA sekanslama gibi genotipik metodlar da bulunmaktadır (25-27). Bu metodlarla *L. monocytogenes*'in populasyon genetiği, ekolojisi ve bulaşma yolları hakkında bilgiler edinilmiştir (28).

2.3. LISTERIA 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 (29). Bu bakteriler Gram pozitif fakat özellikle yaşlı kültürlerde gram boya alma özelliğini yitirip Gram negatif olarak görülebildiği gibi direkt frotilerde kokoid görüntü verebilen bakterilerdir (16).

Listeria türleri sporsuz ve kapsülsüz olup peritrik flagellaları ile hareket ederler (Şekil 2.1). 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 (30).



Şekil 2.1 Peritrik flagellaları ile *L. monocytogenes* preparatı

Sitokromlar ve glikozun aneorobik katabolizması sonucu L(+)- laktik asit, asetik asit ve diğer son ürünler üretilir. Diğer şekerlerden ise gaz oluşturmada asit üretimi şekillenir (31).

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 (30, 31).

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 (32). Bu teste göre *L. monocytogenes* kanlı agarda *Staphylococcus aureus* ile; *L. ivanovii* ise *Rhodococcus equi* ile sinerjik hemolitik etki göstermektedir (31). *L. seeligeri* de *S. aureus* ile sinerjik etki göstermektedir ancak oluşturduğu hemoliz alanı *L. monocytogenes*’e oranla daha dardır (32).

Tablo 2.1. *Listeria* türlerinin fenotipik özellikleri (31)

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

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. Eski kültürlerin (3 ila 7 günlük) çapı 3-5 mm'ye kadar genişleyebilir ve daha opak bir yapı kazanır (31).

2.4. *LISTERIA* TÜRLERİNİN FİZYOLOJİSİ

2.4.1. Üreme Özellikleri

Bakteriler psikotrof özellikte olup 0- 45°C arasında üreyebilmektedirler. Optimal üreme ısıları ise 30- 37°C arasındadır (30). *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 inkübasyon sonunda durağan faza geçilir. 20-25 °C arasında inkübe edilen kültürlerde takla atma hareketi gözlenir (1, 6, 31).

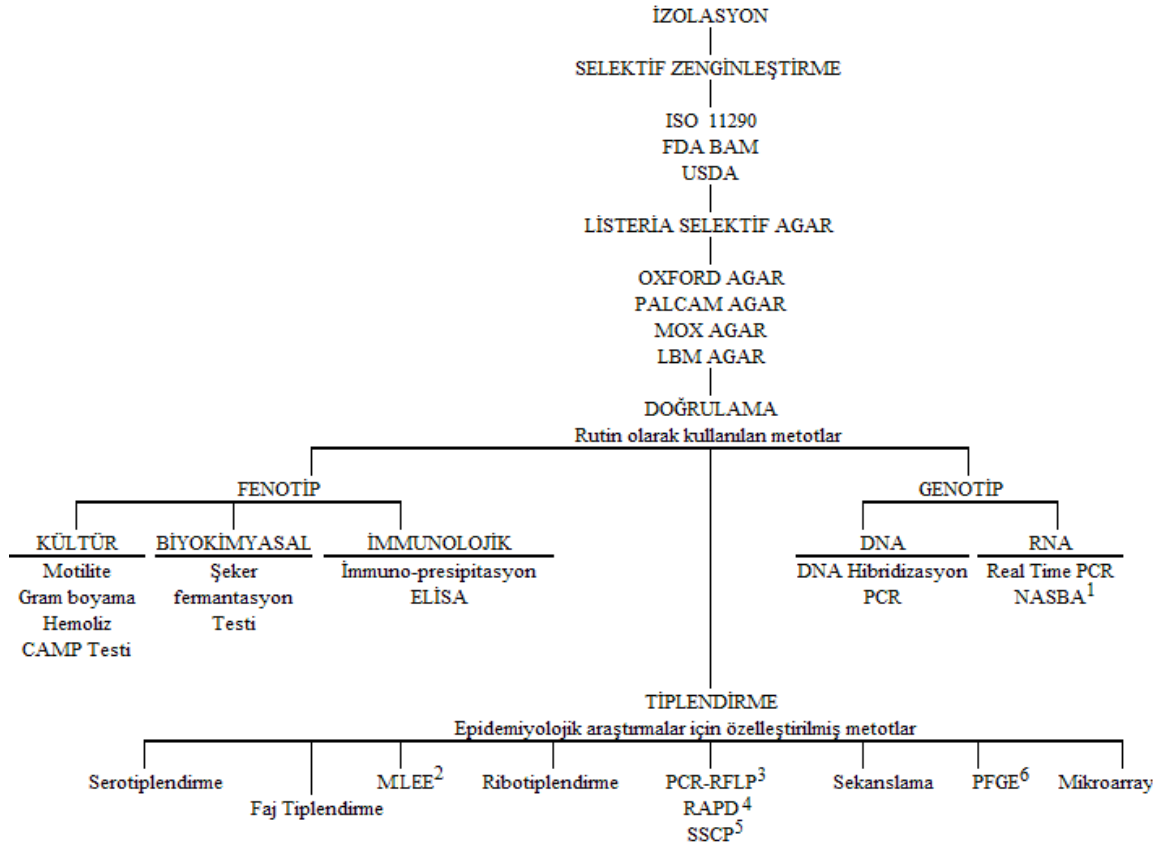
Listeria spp. düşük sıcaklıklara çok iyi adapte olmuş psikrotrofik organizmalardır ve 0 °C nin altındaki sıcaklıklarda canlılığını sürdürürler. *L. monocytogenes*'in buzdolabı ısısında (4°C) üreyebilmesi, ısı işlemi görmeyen ya da ısı işleminden sonra kontamine olan ve buzdolabında uzun süre muhafaza edilen tüketime hazır gıdalarda çoğalma riskini artırmaktadır (33).

Listeria türlerinin metabolizması anaerobik ve fakültatif anaerobik özellik göstermektedir (31). 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 (34,35). 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 (36). Tuza (NaCl) toleranslı oldukları, yaklaşık % 40 civarındaki yüksek tuz konsantrasyonlarında dahi uzun süre canlılığını sürdürebildikleri belirtilmektedir (35, 37). Bakteriler, % 10'luk NaCl ve 200 ppm sodyum nitrit (NaNO_2) konsantrasyonunda üreyebilmekte ve gıda üretim çevrelerinde nemli ve kuru ortamlarda yıllarca yaşayabilmektedirler (35). Etkenlerin % 4 'lük tuz konsantrasyonunda yüksek ısı, düşük pH ve nisin gibi bariyerlere karşı direncinin arttığı belirtilmektedir (38).

Listeria monocytogenes ısıya dayanıklı değildir ve sütün pastörizasyon parametrelerine dayanmamaktadır (39). 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 (29).

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 (40-43). 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 (40). 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 (31). 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 rölle ile diğerlerinden ayrılmaktadır (31,44). Selektif kromojenik *L. monocytogenes* agarları *L. monocytogenes* deteksiyonuna 37 °C de 24-48 saatlik süreye kadar kısaltabilmekle birlikte elde edilen izolatların daha sonraki testlerle doğrulanması gerekmektedir. Klasik kültür yöntemlerinin yeterince hızlı olmaması ve son yıllarda epidemiyolojinin önem kazanması nedeniyle birçok izolasyon ve idendifikasyon yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemler şekil 2.2’de kısaca gösterilmektedir (44).



¹NASBA: Nucleic Acid Sequence Based Amplification

²MLEE: Multi-Locus Enzyme Electrophoresis,

³PCR-RFLP: Polymeraz Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism

⁴RAPD: Random Amplification of Polymorphic DNA

⁵SSCP: Single Strand Conformation Polymorphism

⁶PFGE: Pulsed Field Gel Electrophoresis

Şekil 2.2. Gıda ve çevredeki *Listeria* türlerinin izolasyon, identifikasyon ve tiplendirilmesi için kullanılan metotlara genel bakış (44)

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 (45). Sıcaklık şoku cevap mekanizması yüksek derecede hücresel savunma mekanizmasıdır ve sıcaklık şoku proteini (HsPs) salgılanması ve birikimi ile karakterizedir (46). Çoğu Hsps düşük seviyeli stres koşullarında da salgılanır, fakat bakteri suni olarak uyarılarak ortam sıcaklığının yükseltilmesi ile çok kısa sürede eyleme geçer (47). Hsps'lerin kendileri birer

virülans faktörüdür (48), hastalığın esas ve gelişimini indirekt olarak etkilerken, konakçı savunmasına karşı bakterinin direncini artırır ya da virülans genlerini regüle ederler (45, 49).

Listeria monocytogenes'in ısı şoku proteinleri, GroELS, DnaKJ, HtrA, Clp (ABCEP) olarak belirlenmiştir (49) (Tablo 2.2). GroEL ve GroES proteinlerini kodlayan *groEL* ve *groES* genleri her ısıda üreme için gereklidir (45). Değişik çalışmalar, GroEL protein üretiminin düşük pH ve osmolarite, etanol ve safra tuzu gibi stres ortamlarında da arttığını göstermektedir (50, 51). Gıdanın yavaş yavaş ısıtılması, sodyum laktat veya NaCl eklenmesi bakterinin ısıya direncini artırmaktadır (52).

Clp (caseinolitik proteaz) proteinlerini kodlayan *clpB*, *clpC*, *clpE*, ve *clpP* genlerinin aynı zamanda basınç toleransında, harekette ve virülansta da rol oynadığı bildirilmektedir (53). 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 sağlamakta ve biyofilm oluşumunda rol oynamaktadır (51, 54).

Tablo 2.2. *L. monocytogenes* için tanımlanmış Hsps (51)

Stres Tipi	Genetik Lokus	Virülans Rolü
Sıcaklık Stresi	<i>groESL</i>	Evet
	<i>dnaK</i>	Evet
	<i>clpB</i>	Evet
	<i>clpC</i>	Evet
	<i>clpE</i>	Evet
	<i>clpP</i>	Evet
	<i>htrA</i>	Evet

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 F0F1-ATPaz gibi asit direnç mekanizmaları vardır (49,51).

Glutamat dekarboksilaz (GAD) sisteminde sitoplazmik GAD geri dönüşümsüz olarak ekstraselüler kaynaklı glutamata 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 katkıları 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 (34, 55, 56).

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 (49,51). *L. monocytogenes*'in glisin betadin ve karnitin alımı, BetL, Gbu ve OpuC adı verilen 3 ozmolit taşıyıcısı vasıtasıyla olmaktadır (57).

2.4.2.4. Stres 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 (38,58). Söz konusu çapraz koruma fenomeni *L. monocytogenes*'de de bulunmaktadır (59). *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 (60). 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 (49,51).

2.4.3. Virölans Faktörleri

Listeria monocytogenes ile *Listeria innocua*'nın dairesel gen haritaları Glaser et al (61) tarafından yayınlanmıştır. *Listeria* türlerinde virölansstan 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 (31,34).

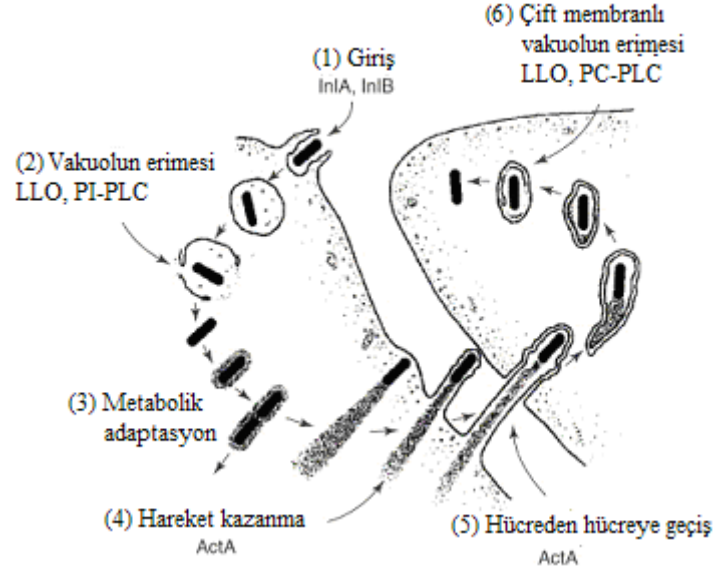
Virölans genlerinin üretilmesi ve düzenlenmesi için *prfA* geni tarafından kodlanan Pozitif Regülatör Faktör A (PrfA) ve aynı zamanda stres tolerans genlerini de düzenleyen σ^B gereklidir. Enfeksiyonun gastrointestinal aşamasının σ^B , kanda yayılma aşamasının ise PrfA tarafından düzenlendiği düşünülmektedir (62).

Hücre içi bir patojen olan *L. monocytogenes*'in hücreye adhezyonu için internalin A ve B proteinleri kullanılmaktadır. İnternalin A (InlA), 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 (63,64). İnternalin B ise hepatosit benzeri hücrelere girmek için gereklidir. InlA ve B'nin haricinde InlC, InlC2, InlD, InlE, InlF, InlG InlH ve InlJ olarak isimlendirilen ve konak hücrelerine internalizasyonda rol oynayan başka internalinler de belirlenmiştir (65).

İnternalin 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 (34, 66, 67). 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 (62). 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 (62,66,68).

Bakteri hücre dışına hiç çıkmadan konak hücreden komşu hücreye geçtiğinde etrafı çift membranlı vakuol ile çevrilidir. Bu membranı geçmek için *plcB* geni tarafından kodlanan fosfoditil kolin fosfolipaz (PC-PLC) gereklidir. PC-PLC'nin aktivasyonu için ise *mpl* geni tarafından kodlanan metalloproteaz (Mpl) proteinine ihtiyaç vardır (65). Mpl proteini

tarafından aktive edilen PC-PLC, fosfatidilkolini parçalayarak hücreden hücreye geçişi sağlar (69, 70). Hücre içi üreme ve hareket yeni hücrede de devam eder (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. *L. monocytogenes*'in hücre içinde üremesi ve komşu hücreye geçişi (70)

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 (71, 72). PrfA tarafından düzenlenen *vip* geni ise LPXTG proteinlerini kodlamaktadır. Patojen olan *Listeria* türlerinde bulunan bu proteinler, konak sinyal sistemine ve immün yanıtına engel olmaktadır (73,74).

Ağız yoluyla alınan bakteri sekum ve kolonun lamina propriasının altındaki fagositik hücrelere geçer. Kan ve lenf yoluyla mezenterik lenf yumrularına, dalağa ve karaciğere ulaşır (75). Karaciğer ve dalak, bakteriyel üreme için birincil hedef organlardır. Bakteri bu organlarda apse oluşturur (62). 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 santral sinir sistemine invaze olduğu bildirilmiştir. Bu olay, bazı hastalarda kontamine yiyecek tüketiminden sonra, 3 aydan uzun süren inkübasyon süresini açıklamaktadır (75).

Antimikrobiyallere Karşı Duyarlılık ve Dayanıklılık

Antimikrobiyel direnç, mikroorganizmaların gösterdiği bir adaptasyon süreci olmasına rağmen, antibiyotiklerin hatalı kullanılması sonucu mikroorganizmalar arasında direncin artışı hızlanmıştır (76). *Listeria* spp. bazı antimikrobiyel ajanlara karşı duyarlıdır. Troxler ve ark. (77) *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.2.3). *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 (78-80).

Tablo 2.3. *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
Cefotiam	Sulfamethoxazole
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 ampisilin 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 (80,81). Bilinen ve listeriozis tedavisinde kullanılan antibiyotiklere direnç gösteren *Listeria* türlerine ait artan sayıda izolat bildirilmektedir (81). Yakın zamanda tetrasiklin, TMP- STX, kloramfenikol, eritromisin, streptomisin ve vankomisine dirençli izolatlar bildirilmiştir (79, 80). Gentamisin, penisilin, ampisilin, kanamisin, sulfonamid ve rifampisin de *L. monocytogenes*'in dirençli olduğu antibiyotikler arasında rapor edilmiştir (82).

2.5. LISTERIA ENFEKSİYONLARI

2.5.1. Epidemiyoloji, Bulaşma Yolları ve Tiplendirme

Listeria türlerinin insan ve hayvanlarda meydana getirdiği enfeksiyona listeriozis adı verilmektedir. Neredeyse tüm insan listeriozis vakalarının *L. monocytogenes* (83); çok nadir olarak *L. ivanovii* ve *L. seeligeri* kaynaklı olduğu rapor edilmiştir (84,85). Her ne kadar koyunlarda görülen septicemisinin yaklaşık %10'unun *L. ivanovii* kaynaklı olduğu bildirilse de (86); *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 (87). Bu da küçük ruminantların *L. ivanovii* enfeksiyonlarına karşı olan hassasiyetlerini açıklamaktadır.

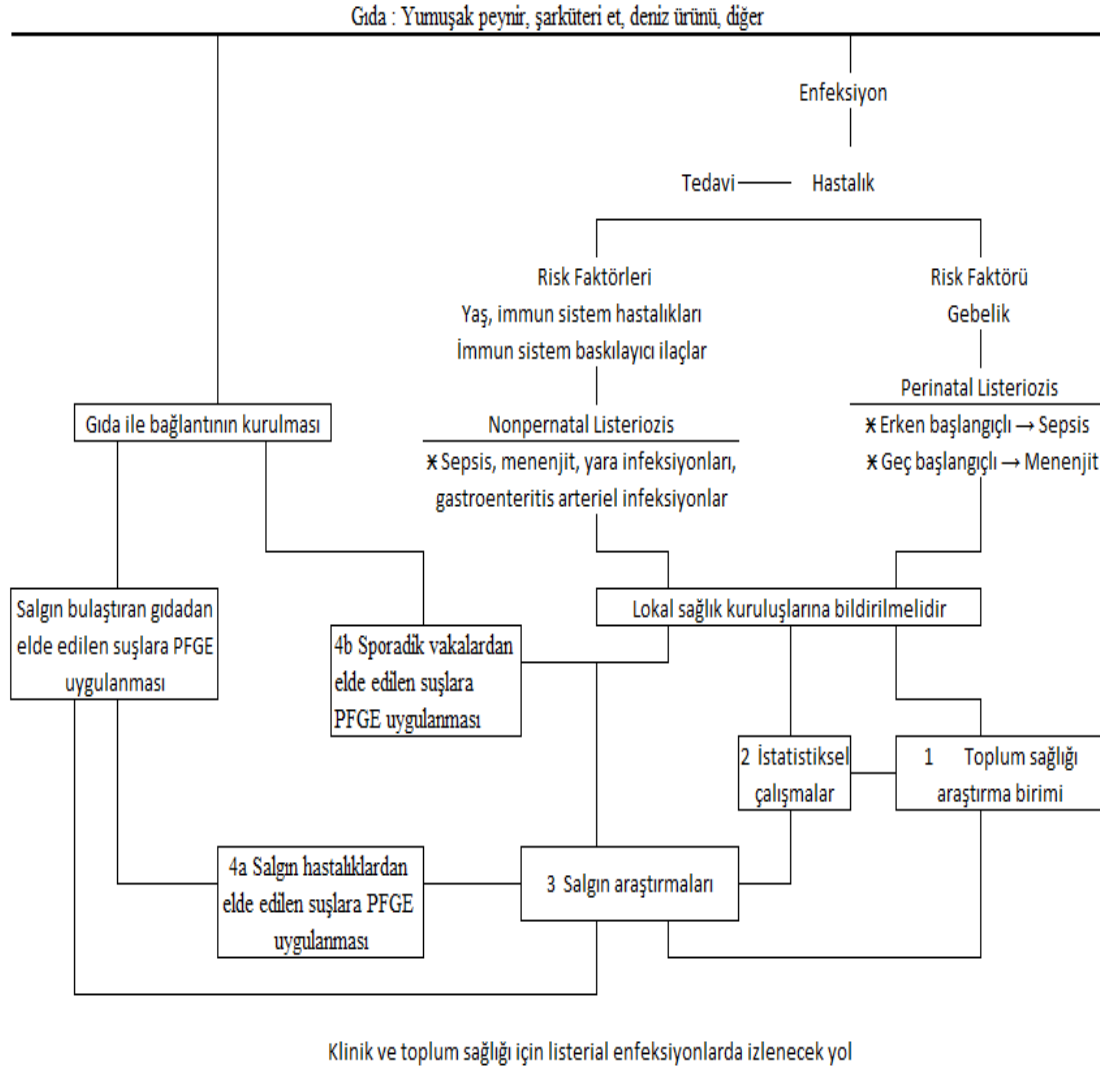
Listeria monocytogenes konağın farklı dokularına kolonize olarak farklı klinik semptomlara neden olan multisistemik invaziv bir patojendir. Bu semptomlardan bazıları, diğerlerinden daha sık olarak rastlanan ve etkenin spesifik olarak beyine ve plasentaya affinite gösterdiğini ortaya koyan meningoensefalit ve abort şeklinde görülen semptomlardır. 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 patogenez mekanizmasının bütün duyarlı konaklarda aynı olduğunu ortaya koymaktadır (66)

Gıdalar, listeriozisin 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 (3,14,16,18). 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 (88). Ayrıca anneden bebeğe

plasenta ya da enfekte doğum kanalı yoluyla da bulaşabilmektedir (89). *Listeria monocytogenes* mastitis etkenlerinden biri olmasına rağmen, gıdaların enfekte hayvandan direkt kontaminasyonu nadir görülmektedir (90).

Bakterinin pastörizasyon ısısında inaktive 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 (82,83,87,90). 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 (90). 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 (65,76,80).

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 (91). Listerial enfeksiyonlarda izlenecek yol Şekil 2.4'de kısaca gösterilmektedir (92).



Şekil 2.4. Toplum sağlığı için Listerial enfeksiyonlarda izlenecek yol (92)

2.5.2. Hayvanlarda Listeriozis

Listeria türlerinin sağlıklı evcil hayvanlardan ve atıklarından izole edildiğini bildiren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bunlardan bazıları: Hofer ve ark. (93) Brezilya'daki sağlıklı ineklerden 239 *Listeria* spp. izolatı elde ettiklerini; bunların içerisinde 96 *L. monocytogenes*, 141 *L. innocua*, bir *L. ivanovii*, ve bir *L. grayi* bulunduğunu bildirmişlerdir. Antoniollo ve ark. (94) Brezilya'da bulunan kuzulardan aldıkları 35 dışkı örneğinde 7 (%20) *L. welshimeri* ve 3 (%8.6) *L. innocua* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Hutchison ve ark. (95) İngiltere'de çiftlik hayvanları atıklarındaki *L. monocytogenes* prevalansını araştırdıkları bir çalışmada, 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.

Sığır, keçi, koyun gibi çiftlik hayvanları başta olmak üzere 40'tan fazla vahşi ve evcil hayvan türünün listeriozis enfeksiyonuna duyarlı olduğu belirtilmektedir (63). Hayvanlarda listeriozisin belirtileri, meningoensefalit, abort, endoftalmit, sepsisemi ve mastitistir (12,16,17). Meningoensefalit gelişen hayvanlarda kendi eksenini etrafında dönme hareketi ile karakterize tipik semptom ilk kez 1933 yılında Gill tarafından Yeni Zelanda'da tanımlanmıştır (6).

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. (16,29,39).

Diğer taraftan *L. monocytogenes*'den farklı olarak *L. ivanovii* koyunlarda ve ineklerde sepsisemi, enteritis ve abortların başlıca sebebidir, aynı zamanda hayvanlarda meningoencephalitise neden olur (51, 75) Monogastrik hayvanlarda listeriozis nadir olarak sepsisemi ve meningoensefalitise neden olmaktadır. Hastalık kuşlarda sepsisemi ve miyokardial nekroz ile birlikte seyretmektedir (6).

2.5.3. 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. (29,72,75) Besin ile birlikte alınmış bakteri sayısı, virülansı ve patojenik özellikleri ile konağın immünolojik durumu, enfeksiyona ait klinik belirtilerin ciddiyetini belirlemektedir (10,29). Hastalığın insidensi düşük olmasına rağmen özellikle risk grubundakilerde yüksek mortalite (yaklaşık %30) görülebilmektedir (10).

Hastalığın invaziv formunda etken, yüksek risk grubundaki bireylerde bakteriyemi ile birlikte hedef organları etkileyerek ensefalit, menenjit ve abort gibi ciddi semptomlarla seyredebilmektedir (27). Listeriozisin son yıllarda bildirilen non-invaziv formu ise duyarlı olmayan kişilerde gastroenteritis, ateş, kusma, mide krampları, diyare ve grip benzeri semptomlarla seyretmektedir. Gıda, fazla sayıda bakteri ile kontamine ise bu semptomlar bir iki gün içerisinde başlamaktadır. Vakaların çok azı ciddi sistemik enfeksiyonlara dönüşmektedir (2,13,28,). Listeriozis klinik tablolarında nadir olarak artritis, hepatitis, endoftalmitis, deri lezyonları ve endokarditis ile sonuçlanan peritonitis görülür (6,75).

Veteriner, çiftlik çalışanı gibi enfekte hayvan veya havyan 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 konjuktivitis oluşabilmektedir (6).

Vakaların % 10-20'si hamile ve yeni doğanlarda görülmektedir. Maternal listeriozis gebelik süresince devam edebilir fakat semptom göstermediği için 20 haftalıktan önce nadiren anlaşılır. Listeriozisli gebelerin % 5'inde hastalık fötusa geçmez (75,92). Bazı gebelerde titreme, ateş, sırt ağrısı, boğaz enfeksiyonu ve baş ağrısı, bazen ise konjuktivitis, diyare ve uyuşukluk gibi çok yumuşak semptomlar görülebilir. Bunun yanında kan, vajinal svap, dışkı ve idrar kültürleri pozitifdir (92). Ateş başladığında fötal hareket azalır ve yaklaşık 1 hafta içinde doğum, ölü doğum ya da abort meydana gelir. Prematüre bebeklerin yaklaşık %70'inde erken neonatal listeriozis gelişmektedir. Erken neonatal listeriozisin semptomları genellikle pnemoni, hepatosplenomegali, peteşi, karaciğer ve beyinde apseler, peritonitis ve enterokolitistir (6). Yeni doğanlarda hastalık hastaneden bulaştığı zaman belirtiler 5. günden sonra başlar ve geç neonatal listeriozis olarak adlandırılır. Hastalığın bu formu menenjit ile birlikte seyreder. Geç neonatal listerioziste ölüm oranı %10 civarında iken erken neonatal listerioziste %30-60 arasındadır. Anneden fetusa geçiş haricinde insandan insana listeriozis bulaşması gerçekleşmediğinden hastaları izole etmek gerekmemektedir. (92).

2.6. 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 (5,6,13). *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 (15,19).

Sindirim sisteminde bulunmasına rağmen *Listeria* türleri saprofitik hayata adapte olmuş bakterilerin birçok özelliğini gösterir (31). *Listeria* spp. deniz suyundan, yeraltı sularından ve yağmur sularından nadiren izole edilebilmiştir. Bununla birlikte genellikle nehir, koy, lağım sularında, endüstriyel ve çiftlik atıklarında bulunabilmişlerdir. (1,2,29,39,41).

2.7. LISTERIA TÜRRLERİNİN 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 (27). Etken kırmızı et ve ürünleri, kanatlı eti, süt ve süt ürünleri (peynir, dondurma) balık, sebzeler ve gıda üretim tesislerinden izole edilmiştir. Ayrıca sebzeler ve sebze salataları ve tüketime hazır gıdalar da etkenin önemli taşıyıcıları arasındadır (9).

Gıda ürünlerine *L. monocytogenes* bulaşmasındaki en önemli faktör, gıdanın hazırlanması sırasında oluşan çapraz kontaminasyonlardır (27). *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 (Hazard Critical Control Point) kurallarına uyulması gerekmektedir (96).

2.7.1. 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 (1,6,12,35).

Hayvan orijinli tüketime hazır gıdalar, kanatlı eti içerenler başta olmak üzere tüketime hazır et ürünleri, yüksek oranda kontaminasyon riski taşımaktadır. Sporadik vakaların % 32'si şarküteri tezgahında hazırlanarak tüketime sunulan et ürünlerine dayandırılmaktadır (2,6,29,96). 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 (52).

Bu patojenin çiğ etlerdeki prevalansının daha yüksek olduğu bildirilse de pişmiş et ürünlerinde *L. monocytogenes* varlığı da (% 4.9) Uyttendaele ve ark. (97) çalışmasında rapor edilmiştir. Yan ve ark. (81) çalışmalarında inceledikleri 733 çiğ et ve 302 pişmiş et örneklerinden 46'sı çiğ etten ve 10'u pişmiş etten olmak üzere toplam 56 *L. monocytogenes* izole ettiklerini belirtmişlerdir. Jajali ve ark. (98) çalışmalarında toplam 332 et, kıyma ve hamburger örneğinin sadece 4'ünde *L. monocytogenes* saptadıklarını belirtmişlerdir.

Bu konuda ülkemizde yapılmış olan bir çalışmada da Yücel ve ark. (99) inceledikleri çiğ et örneklerinden 42 kıyma örneğinin 2'sinin, 26 tavuk eti örneğinin 3'ünün ve 19 sığır eti örneğinin 1'inin; pişmiş et örneklerinden ise 31 kırmızı etten 2'sinin, 28 tavuk etinin ise 1'inin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. Türk Gıda Kodeksi (TGK) tarafından et ürünleri için belirlenen mikrobiyolojik kriterler tebliği Tablo 2.4.'te gösterilmektedir.

Tablo 2.4. TGK tarafından et ürünleri için belirlenen mikrobiyolojik kriterler tebliği (100)

Gıda	Mikroorganizmalar	Numune alma planı		Limitler (1)	
Et ürünleri		n	c	m	M
Isıl işlem görmemiş et ürünleri					
Fermente (sucuk vb.)	Küf	5	2	10 ²	10 ³
	<i>S. aureus</i> (1)	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0/25 g-mL	
	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
	<i>E. coli</i> O157:H7	5	0	0/25 g-mL	
Isıl işlem görmüş et ürünleri (sis, salam, kavurma, döner, köfte, jöle işkembe vb.)	Maya ve küf	5	2	10 ²	10 ³
	<i>S. aureus</i> (1)	5	2	10 ²	10 ³
	<i>C. perfringens</i>	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0/25 g-mL	
	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
	<i>E. coli</i> O157:H7	5	0	0/25 g-mL	

(1) : Aksi belirtilmedikçe limit kob/g-mL olarak değerlendirilir. kob: Koloni oluşturan birim (katı besiyerinde)

2.7.2. Süt ve Süt Ürünleri

Listeria spp. ve *L. monocytogenes* çiğ süt tanklarında ve işletme süt örneklerinde genel olarak az bulunmaktadır.(8,75). Çiğ sütteki *Listeria* spp. kontaminasyonu sağım, depolama ve taşıma esnasında özellikle silajla beslenen hayvanlardan veya enfekte hayvanlardan kaynaklanan fekal ve çevresel bulaşmayla olmaktadır (4,5,8,82).

Listeria monocytogenes'in beyaz peynirdeki canlılığının starter kültür eklenmesi, tuz oranı ve başlangıçtaki bakteri miktarına bağlı olduğu, bakterinin 4°C'de 3 ay muhafazaya dayanabildiği belirtilmektedir (101). 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 (102). Yoğurt, kashk gibi laktik asit bakterilerinin hakim olduğu ve pH'sı düşük süt ürünlerinde *L. monocytogenes* varlığı bildirilmemektedir (103,104). Ayrıca tereyağında da ya hiç bulunmamakta ya da çok az miktarda bulunmaktadır (103). Geleneksel yöntemle yapılmış ev dondurmalarının *L. monocytogenes* ile kontaminasyonu pastörize süt ile yapılmış ticari dondurmalarından belirgin derecede yüksektir (104).

2.7.3. 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 (3,7). Yan ve ark. (81) 323 sebze örneğinin 2'sinden *L. monocytogenes* elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Flivirus ve ark. (105) ise 50 salata örneğinin hiçbirinden *L. monocytogenes* izole edemediklerini bildirmişlerdir. Etken prevalansının marul, soğan, domates gibi sebzelerden yapılan salatalarda % 3,9 oranında olduğu bildirilirken, etkenin rus salatasında bulunmadığı bildirilmiştir (106). Değişen tüketim alışkanlıkları ve tercihleri doğrultusunda, tüketime hazır çiğ sebze tüketiminin artmasıyla bu gıdalar insan listeriozis salgınlarına neden olmaktadır (90). Abadias ve ark. (7) inceledikleri meyve örneklerinin hiçbirinde *L. monocytogenes* izole edemediklerini belirtmişlerdir.

2.7.4. Tüketime Hazır Gıdalar

Tüketime hazır gıdalar işlem görmüş balık, et ve sebzeleri kapsamaktadır, bu gıdalar tüketimden önce ayrıca pişirme gibi işlem gerektirmemektedir. Pek çok hazır gıda, (ör soğuk tütülenmiş balık) yaklaşık %2-5 NaCl içermektedir. Her ne kadar hazır gıdalar, genellikle düşük sıcaklıklarda tutulsalar da (4 ve -20°C arasında), *L. monocytogenes* in yaşama ve gelişmesi 4°C'de depolamada dahi etkin bir şekilde engellenemediği için söz konusu hazır gıdaların *L. monocytogenes* için mükemmel üreme ortamı sağladıkları kabul edilmektedir (31,51). 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 (52).

Listeria monocytogenes'in tüketime hazır etler ile bulaşmasına engel olmak için etler paketlenmeden önce pastörizasyon, irradyasyon veya antimikrobiyel katkı ilavesi gibi işlemlerden geçirilmektedir. Bunların dışında paketlenmiş gıdalara 85°C'de 10 sn ya da 90.6-

96.1 °C’de 1 dakikadan az olmak üzere yapılan pastörizasyon uygulamalarının etkili olduğu rapor edilmiştir (52).

2.7.5. Balık ve Su Ürünleri

Listeria spp., kirletilmemiş suların elde edilen deniz ürünlerinden nadiren izole edilmektedir. Eklund ve ark. (107) somonlarda sümüksü maddede, deride ve karın boşluğunda *L. monocytogenes* bulamamıştır. Hansen ve ark. (108) 14 taze su akıntısında *L. monocytogenes* tespit edemese de, balık çiftliklerindeki deniz suyu örneklerinin %2, balık çiftliği taze sularından alınan örneklerin %10, işleme tesis örneklerinin %16, tütüleme tesislerindeki örneklerin ise %68 oranında söz konusu bakteri ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar göstermektedir ki, *Listeria* spp. nin sudaki insidensi hayvan ve insan aktivitesinin artmasına bağlı olarak şekillenen kirlilikle artmakta ve çamur ve lağım suyundaki besinler temiz suya göre *Listeria* için büyüme ortamı sağlamaktadır (107,108).

Miettinen ve Wirtanen (109) Finlandiya’da çeşitli deniz ve göl balık çiftliklerinden toplanan toplam 510 gökkuşakı alabalığı örneğinin %0 ila 75 oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlendiklerini 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 izole ettiklerini belirtmişlerdir. Aynı araştırmada çözündürülmüş balıkların da sırası ile %14.3 ve %8.8 *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* içerdikleri tespit edilmiştir (109). Ülkemizde ise Cenet (110) Manisa’da bulunan bir alabalık çiftliğinden satın aldığı 66 alabalık fletosunun 3’ünün *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmiştir.

Balık ve çeşitli su ürünlerinin hazırlanma süreçleri ve tüketime sunulma biçimleri de *Listeria* türleri ile kontaminasyonlarına yol açabilmektedir. Soğuk tütülenmiş balık ürünleri üretim aşamasında teknolojisi gereği *Listeria* türlerini inaktive edecek herhangi bir işlem den geçmemekte dolayısıyla listeriozis bulaşmasında risk teşkil etmektedir (oliver, goldfine). Finlandiya’da 1999 yılında tütülenmiş soğuk alabalığın neden olduğu listeriozis salgını ateş ve gastroenteritis ile seyretmiştir (109).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Materyal

Çalışma kapsamında Kayseri’de 2013 yılı Mayıs-Eylül ayları arasında farklı firmalara ait toplam 100 sucuk numunesi kullanıldı. Steril poşetlere alınan sucuk numuneleri 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		
Disodium hydrogen phosphate	9.6 g		
Potassium dihydrogen phosphate	1.35 g		
Esculin	1.0 g		
Lithium chloride	3.0 g	Fraser	Listeria
pH	7.0 ± 0.2		SelectiveSupplement
(Merck, 1.11883)			

Hazırlanışı

Ön zenginleştirme aşaması için toz halindeki ticari besiyerinden 18 g tartılarak 500 mL distile suda çözündürüldü 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’dan 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. 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 kullanılabilecek 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 L 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 L distile suda çözündürüldü. 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 peroksitten 2 mL alınarak 27 mL distile suyla karıştırıldı ve %3'lük H₂O₂ solüsyonu hazırlandı.

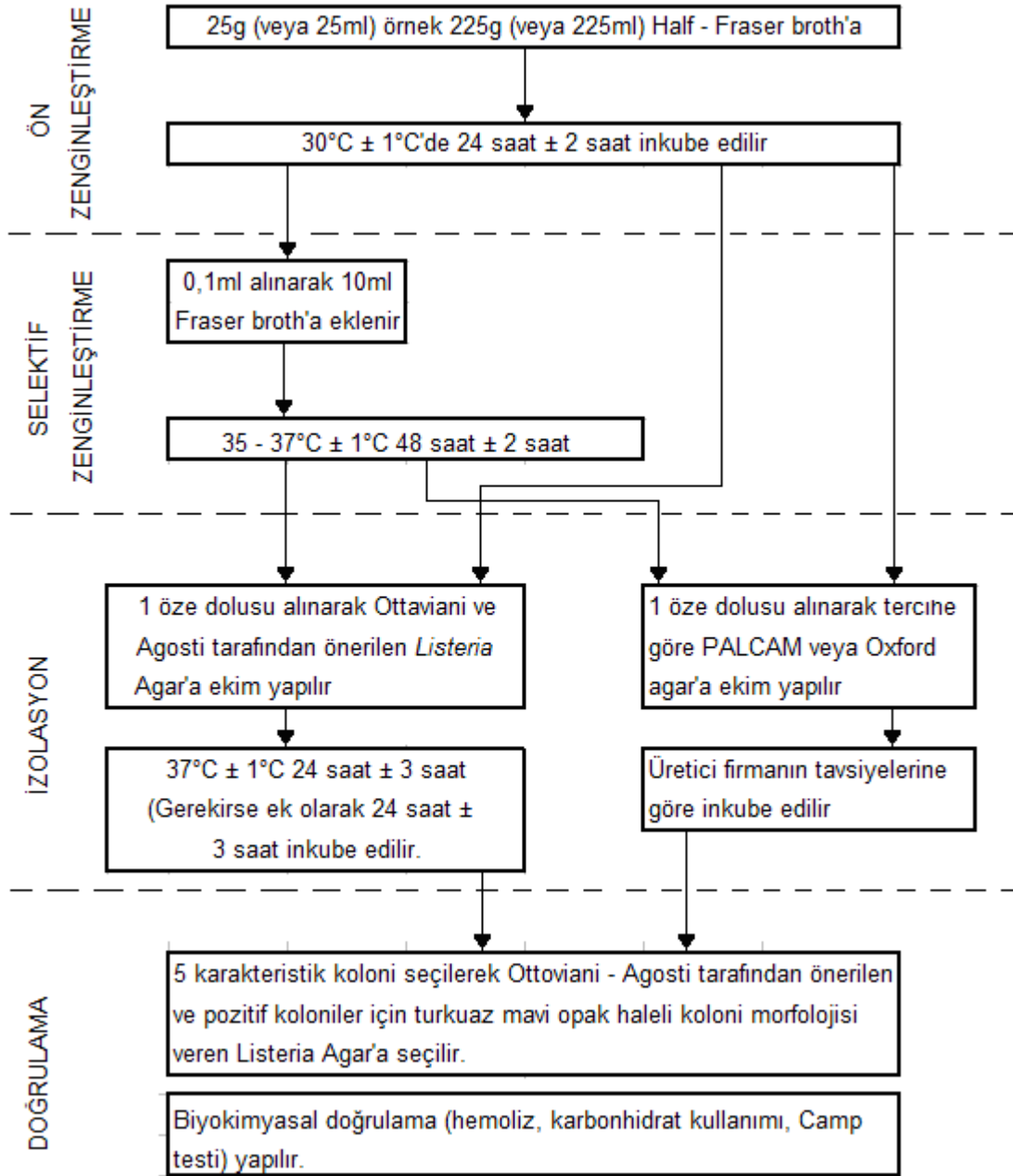
3.1.3.7. *Listeria* spp. İdentifikasyon Kiti

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. Sucuk Örneklerinden *Listeria* spp. İzolasyonu

Aseptik şartlarda alınarak soğuk zincir altında laboratuara getirilen sucuk örneklerinde *Listeria* spp. varlığı ISO 11290-1/A1- 2004 (40) 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 (40).

ISO 11290-1/A1-2004 metodu çerçevesinde 25'er g sucuk örneği steril filtreli numune poşetlerine (Bag Fitler 400P, Interscience, St. Nom La Breteche, Fransa) tartıldı. Üzerine 225 mL1/2 konsantrasyonda (inhibitörleri yarım konsantrasyonda içeren) Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth Base (Merck 1.10398) besiyeri ilave edilerek homojenizatörde (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).

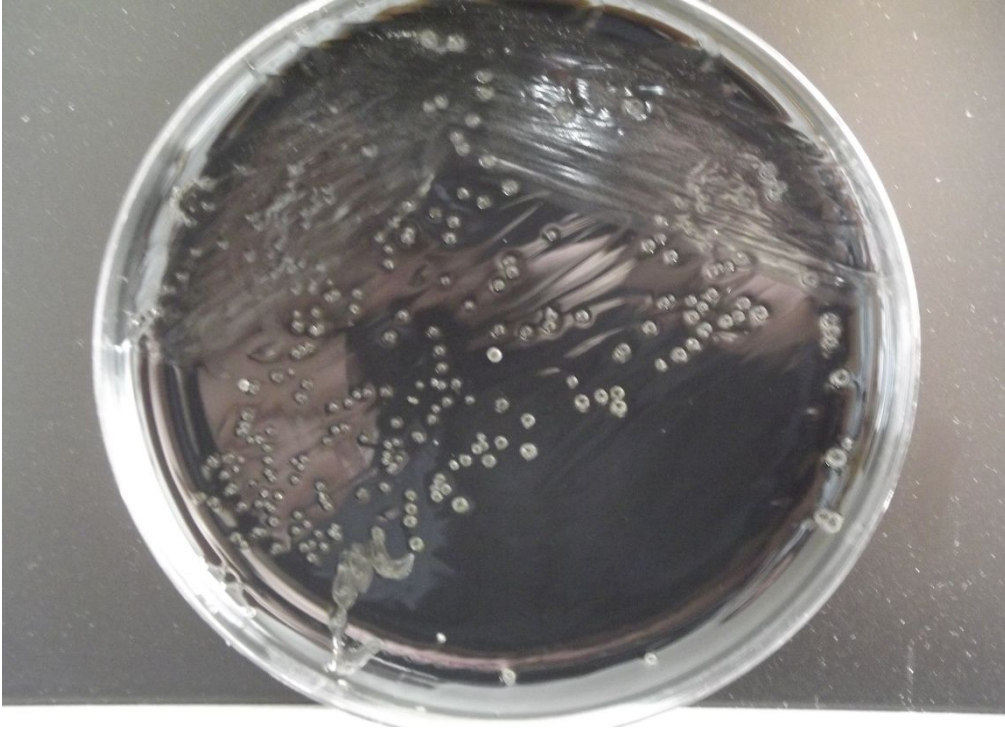


Şekil 3.2. Half Fraser Broth ile ön zenginleştirme aşaması



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 yıkayıp kurutuldu. Bu şekilde Gram boyaması yapılan preparatlar mikroskobun (Nikon Alphaphot-2, Japonya) immersiyon objektifinde incelendi ve mavi-menekşe renk almış, kısa çubuk, kokobasil formundaki mikroorganizmalar *Listeria* spp. şüpheli olarak kabul edildi.

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 3.5. Microbact Test Kiti

4. BULGULAR

Bu çalışmada, Mayıs-Eylül 2013 tarihleri arasında Kayseri'deki marketlerden temin edilen farklı firmalara ait toplam 100 sucuk numunesinde ISO 11290-1/A1-2004'da önerilen metod ile yapılan *Listeria* spp. izolasyonunda; toplam 29 örnek (%29) *Listeria* spp. açısından pozitif bulundu. *Listeria* spp. izolatlarının tamamı Gram pozitif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, 25 °C'de hareketli olarak tespit edildi (Tablo 4.1).

Listeria spp. pozitif örneklerle yapılan microbact (Microbact *Listeria* 12L *Listeria* identification system MB1128 Oxoid) testi sonucunda; örneklerden altısının (%6) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlendi. Ayrıca çalışma kapsamında analiz edilen sucuk örneklerinden 10 tanesinin (%10) *L. innocua*; 8 tanesinin (%8) *L. ivanovii*; 3 tanesinin (%3) *L. welshimeri* ve 2 tanesinin ise (%2) *L. grayi* ile kontamine olduğu ortaya konuldu (Tablo 4.2., şekil 4.1)

Tablo 4.1. Sucuk örneklerinde *Listeria* spp izolasyon sonucu

Numune	Numune sayısı	<i>Listeria</i> spp. Pozitif örnek sayısı (%)
Sucuk	100	29 (%29)

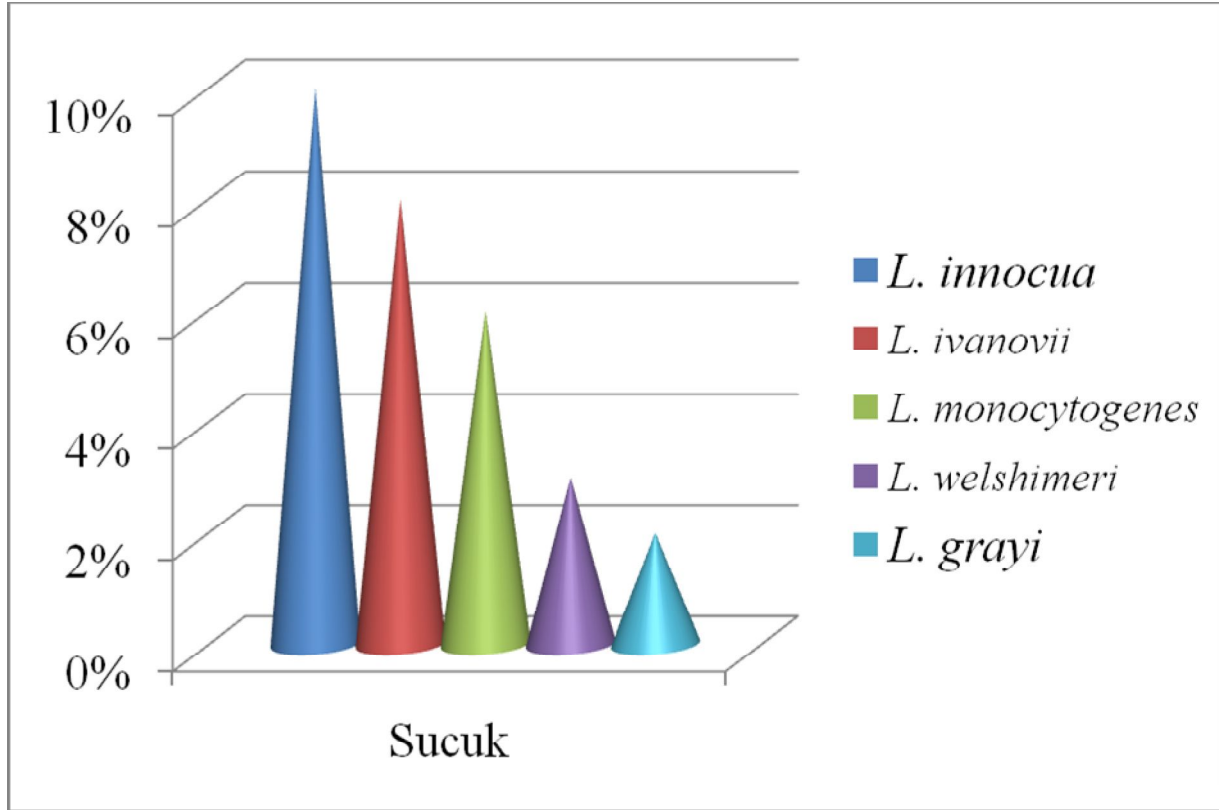
Tablo 4.2. Sucuk örneklerinde *Listeria* türlerinin dağılımı

	Pozitif örnek sayısı	Pozitif örnek yüzdesi
<i>L. monocytogenes</i>	6	%6
<i>L. innocua</i>	10	%10
<i>L. ivanovii</i>	8	%8
<i>L. welshimeri</i>	3	%3

L. grayi

2

%2



Şekil 4.1. İncelenen sucuk örneklerinde *Listeria* türlerinin dağılımı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Et ve et ürünlerinin *Listeria* türleri ile kontamine olmasında çeşitli kaynaklar etkili olmaktadır (110). Kontaminasyonda mezbaha ve et işletmelerinin çok önemli bir yeri vardır. Hayvanların dışkıları, derileri ve ayaklarından, ayrıca işletmede çalışan personelin elleri, elbiseleri ile kullandıkları aletlerden, işletmede kullanılan sular önemli kontaminasyon kaynaklarıdır (111,112). Etin işlenmesi ve et ürünlerinin üretimi aşamasında personel, et parçalama ve işleme ekipmanları *Listeria* spp.'nin bulaşma kaynağı olabilir (112, 113).

Bu çalışmada 100 sucuk örneğinden 29'u (%29) *Listeria* spp. açısından pozitif bulunurken örneklerden altısının (%6) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çalışma kapsamında analiz edilen sucuk örneklerinden onunun (%10) *L. innocua*; sekizinin (%8) *L. ivanovii*; üçünün (%3) *L. welshimeri* ve ikisinin (%2) *L. grayi* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde *L. monocytogenes*'in sucuklardaki prevalansı ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır.

Bu çalışma ile paralel olarak Güven ve Patır (114), Elazığ ilinden temin edilen 80 sucuğun %7.5'inden *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Ancak ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda sucuk örneklerindeki *L. monocytogenes* kontaminasyonu bu çalışmada elde edilen verilerden oldukça yüksek çıkmıştır. Örneğin: Berktaş ve ark. (115), % 24'ünden; Sharif ve Tunail (116) %20'sinden; Barut ve Ateş (117) ise 18 örneğin 3'ünden (%17); *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Listeria spp. üzerine yapılan çalışmalarda ise; Kaya ve Gökalp (118), incelenen sucuk örneklerinin %39'unun *Listeria* spp.; %16'sının *L. monocytogenes* ile; Çolak ve ark. (119) ise

300 sucuk örneğinin 63'ününün (%21) *Listeria* spp.; 35'in de (%11.6) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, Sancak ve ark. (120) vakumlu paketlenmiş 20 sucuk örneğinden bakteriyi izole edemediklerini ancak ambalajlanmamış 20 sucuk örneğinin 9'undan (%45) *Listeria* türlerinin izole edildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri 9 izolatin türlere göre dağılımını ise 3 *L. monocytogenes*, 4 *L. innocua*, 1 *L. welshimeri* ve 1 *L. innocua* ve *L. seeligeri* olarak rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlardan daha düşük kontaminasyon oranı bildirilen çalışmalardan bazılarında; Kök ve ark. (121) Aydın'da, Öksüztepe ve ark. (122) Elazığ'da yaptıkları çalışmalarda fermente sucukların % 4'ünde *L. monocytogenes* bulunduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Çiftçioğlu ve Uğur (123) inceledikleri sucuk örneklerinin % 2'sinden *L. monocytogenes* izole ettiklerini belirtmişlerdir.

Değişik ülkelerde üretilen fermente sosisler üzerine yapılan çalışmalardan birinde Manzano ve ark. (124) çalışmalarında domuz, sığır, tavuk gibi çeşitli hayvanların et ve kıymaları ile fermente sosisten oluşan 85 örneği incelediklerini, bunların 25'inde *L. monocytogenes* saptadıklarını bildirmişlerdir. İsviçre'de yapılan bir çalışmada Jemmi ve ark. (125), 142 fermente sosis örneğinin %15'inin; Portekiz'de yapılan bir çalışmada ise Mena ve ark. (126) 27 İspanyol tipi sosis örneğinin 1'inin (% 3.7) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. .

Anaerobik ve fakültatif anaerobik bir metabolizması olan *L. monocytogenes*, asidik pH değerlerinde (pH 4.3), 0.92 a_w değerinde ve % 10'luk NaCl'de üreyebilmektedir (36, 37). Sucuklarda mikrobiyel güvenliği sağlamak için kullanılan $NaNO_2$ 'e dirençli olduğu ve 200 ppm $NaNO_2$ konsantrasyonunda üreyebildiği bildirilmektedir (65) Gıda üretim çevrelerinde uzun süre hayatta kalabilen bakteri ısıya dayanıklı olmadığından (39) gıdalar uygulanan pastörizasyon işlemlerinin *L. monocytogenes* kontaminasyonunu önlemede önemli bir faktör olduğu öngörülmektedir.

Et ve ürünlerinde *L. monocytogenes*'in canlılığı, muhafaza sıcaklığı, kullanılan katkı maddeleri, ürünün pH değeri ve doğal mikrofloranın ürettiği antibakteriyel ajanların miktarına bağlıdır (120). Türk tipi fermente sucuklarda olgunlaşma süresinden sonra floraya laktobasiller hakim olmaktadır. Bu bakterilerin oluşturduğu bakteriosinler asit ortamda, pH, tuz, nitrit ve sarımsağın da etkisi ile *L. monocytogenes*'in yaşam ve gelişimini engellemektedir (114). Bu konuda yapılan iki ayrı çalışmada pediosin üreten *Pediococcus acidilactici* ve sakasinA üreten *Lactobacillus sakei*'nin starter kültür olarak kullanıldıkları sucuklarda *L. monocytogenes* sayısının hızlı bir şekilde düştüğü belirlenmiştir (118, 127).

Sucuk üretiminde olgunlaşmanın başlangıç safhasının *L. monocytogenes* gelişimi açısından en kritik aşama olduğu, bu aşamada pH değerinin hızlı bir şekilde düşürülmemesi halinde *L. monocytogenes* sayısının arttığı belirtilmektedir (118, 128). Ülkemizde sucuk üretiminde starter kültür kullanımı bazı büyük işletmeler hariç pek yaygın olmadığından, bazı işletmelerde sucukların 2-3 gün içerisinde ve yeterince olgunlaşmadan piyasaya sürülebildiğinden, yeterince ısı işlemi görmeden veya çiğ olarak tüketilen sucuklar listeriozis açısından tehlike arz edebilmektedir (118).

Sonuç olarak; bu çalışmada incelenen sucuk örneklerinde *Listeria* spp ve *L. monocytogenes* varlığını ortaya konulmuştur. *Listeria* enfeksiyonlarının kontaminasyonla kolaylıkla yayılabilmesi ve geniş sıcaklık değerlerinde gelişmesini sürdürebilmesi ve zoonoz özellikte olması açısından sucuk örneklerinde *Listeria* türlerinin belirlenmesi halk sağlığı açısından tehlike oluşturabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Zira, *Listeria monocytogenes*'in neden olduğu enfeksiyonlar oldukça düşük bir insidensle seyretmesine rağmen risk grubunda bulunan bireylerde yaklaşık % 30'lara varan ölüm oranlarına ulaşması hastalığın ciddiyetini ortaya koymaktadır. Bu nedenle sucuk yapımında ürün ile ilgili her faktörün (hammadde, bileşim, ısıl işlem, depolama, raf ömrü, personel, çapraz bulaşma riski gibi) dikkate alınarak çiftlikten sofraya gıda güvenliği kapsamında standartlara uygun ürün elde edilmesi önemlidir. Bu amaçla sucuk üretiminde kullanılan etler için sağlıklı hayvanlar yetiştirilmeli, işletme içerisinde ve çevresinde insekt ve rodent mücadele yapılmalıdır. Kesimhanelerde hijyenik koşullar HACCP programları çerçevesinde iyileştirilerek, özellikle çapraz kontaminasyon kontrol altına alınmalı, sucuk yapımında temas edecek yüzey, alet ve ekipmanın temizlik ve dezenfeksiyonu etkin bir şekilde yapılmalıdır. Üretim, dağıtım ve satış aşamalarında soğuk zincirin sürekliliği sağlanmalıdır. Personel hijyenine önem verilmeli, patojen bakterilerin gıda hazırlama yerleri ve evlerde çapraz kontaminasyonu önlenmeli ve etkin pastörizasyon işlemi uygulanmalıdır.

6. KAYNAKLAR

1. 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.
2. Lyautey E, Lapen DR, Wilkes G, McCleary K, Pagotto F, Tyler K, Hartmann A, Piveteau P, Rieu A, Robertson WJ, Medeiros DT, Edge TA, Gannon V, Topp E. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Akça D, Şahin M. Kars yöresi sığırlarından alınan süt ve vajinal sıvap örneklerinden *Listeria* türlerinin araştırılması. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2011; 17: 987- 993.
6. Low JC, Donachie W. A Review of *Listeria monocytogenes* and Listeriosis. Vet J 1997; 153: 9- 29.
7. 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.
8. 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.

9. Rantsiou K, Alessandra 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.
10. Hein I, Klein D, Lehner A, Bubert A, Brandl E, Wagner M. 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.
11. Seeliger HPR. Listeriosis- History and actual developments. *Infection* 1988; 16: 80-84.
12. 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.
13. 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.
14. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States, *Emerg Infect Dis* 1999; 5(5): 607-625.
15. Adak GK, Long SM, O'Brien SJ. Trends in indigenous food-borne disease and deaths, England and Wales: 1992 to 2000. *Gut* 2002; 51: 832-841.
16. 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.
17. 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.
18. Orsi RH, Bakker CH, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *Int J Med Microb* 2011; 301: 79-96.
19. Paracıkoğlu J. *Listeria* Enfeksiyonları. İçinde: Aydın N, Paracıkoğlu J. (editörler), *Veteriner Mikrobiyoloji*. 1. basım, İlke-Emek Yayınları, Ankara, 2006: 57-72.

20. Todeschini G, Friso S, Lombardi S, Casaril M, Fontana R, Corrocher R. A Case of *Listeria murray/grayi* bacteremia in a patient with advanced Hodgkin's Disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17: 808-810.
21. Rapose A, Lick SD, Ismail N. *Listeria grayi* bacteremia in a heart transplant recipient. *Transpl Infect Dis* 2008; 10: 434-436.
22. Seeliger H, Höhne K. Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species. In: Bergan T, Norris J. (Eds.), *Methods in Bacteriology*. Academic Press, London, 1979: 31-49.
23. 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.
24. Liu D, Lawrence M, Ainsworth AJ, Austin FW. Toward an improved laboratory definition of *Listeria monocytogenes* virulence. *Int J Food Microbiol* 2007; 118: 101-115.
25. Vela AI, Fernández-Garayzábal JF, Latre MV, Rodríguez AA, Domínguez L, Moreno MA. Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from meningoencephalitis in sheep. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 17: 215-220.
26. 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.
27. Cocolin L, Stella S, Nappi R, Bozzetta E, Cantoni C, Comi G. Analysis of PCR-based methods for characterization of *Listeria monocytogenes* strains isolated from different sources. *Int J Food Microbiol* 2005; 103: 167-178.
28. 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.
29. Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi (Birinci Basım), Pozitif Matbaacılık, Ankara, 2007: 145.
30. 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.
31. 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.

32. Mathakiya RA, Roy A, Nayak JB. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates by CAMP test. Vet World 2011; 4: 301-303.
33. 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.
34. Hain T, Steinweng C, Chakraborty T. Comparative and functional genomics of *Listeria* spp. J Biotechnol 2006; 126: 37-51.
35. 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.
36. 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.
37. 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.
38. 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.
39. Bell C, Kyriakides A. *Listeria*: A practical approach to the organism and its control in foods, 2nd ed. Blackwell, Oxford, 2005.
40. International Standardization Organization (ISO). Horizontal Method for Detection of *Listeria monocytogenes* ISO NORM, 11290-1-/A1. 2004.
41. Hitchins AD, 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.
42. USDA/FSIS. 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.
43. AOAC, American Official Analytical Chemist International AOAC, Official Methods of Analysis, Chapter 17, Microbiological Methods. 18th edn. Revision 1, 2006.

44. Gasanov U, Hughes D, Hansbro MP. Methods for The Isolation and Identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: A Review. FEMS Microbiol Rev 2005; 29: 851-875.
45. 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.
46. Yura T, Nakahigashi K. Regulation of the heat-shock response. Curr Opin Microbiol 1999; 2: 153-158.
47. Abee T, Wouters JA. Microbial stress response in minimal processing. Int J Food Microbiol 1999; 50: 65-91.
48. Sokolovic Z, Goebel W. Synthesis of listeriolysin in *Listeria monocytogenes* under heat shock conditions. Infect. Immun 1989; 57: 295-298.
49. Stack HM, Sleator RD, Bowers M, Hill C, Gahan CG. Role for *HtrA* in stress induction and virulence potential in *Listeria monocytogenes*. Appl Environ Microbiol 2005; 71: 4241-7.
50. Phan-Thanh L, Mahouin F, Aligé S. Acid responses of *Listeria monocytogenes*. Int J Food Microbiol 2000; 55: 121-126.
51. 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.
52. Zhu M, Du M, Cordray J, Ahn DU. Control of *Listeria monocytogenes* contamination in Ready-to-Eat Meat products. Compr Rev Food Sci F 2005; 4: 34-42.
53. Karatzas KA, Wouters JA, Gahan CG, Hill C, Abee T, Bennik MH. 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.
54. 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.
55. 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.

56. 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.
57. 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.
58. Browne N, Dowds BCA. Heat and salt stress in the food pathogen *Bacillus cereus*. *J Appl Microbiol* 2001; 91: 1085-1094.
59. 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: 2679-2685.
60. Lou Y, Yousef AE. Adaptation to sublethal environmental stresses protects *Listeria monocytogenes* against lethal preservation factors. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63(4): 1252-1255.
61. Glaser P, Frangeul L, Buchrieser C, Rusniok C, Amend A, Baquero F, Berche P, Bloecker H, Brandt P, Chakraborty T, Charbit A, Chetouani F, Couvé E, de Daruvar A, Dehoux P, Domann E, Domínguez-Bernal G, Duchaud E, Durant L, Dussurget O, Entian KD, Fsihi H, García-del Portillo F, Garrido P, Gautier L, Goebel W, Gómez-López N, Hain T, Hauf J, Jackson D, Jones LM, Kaerst U, Kreft J, Kuhn M, Kunst F, Kurapkat G, Madueno E, Maitournam A, Vicente JM, Ng E, Nedjari H, Nordsiek G, Novella S, de Pablos B, Pérez-Díaz JC, Purcell R, Remmel B, Rose M, Schlueter T, Simoes N, Tierrez A, Vázquez-Boland JA, Voss H, Wehland J, Cossart P. Comparative genomics of *Listeria* species. *Science* 2001; 294: 849-52.
62. Stavru F, Archambaud C, Cossart P. Cell biology and immunology of *Listeria monocytogenes* infections: Novel insights. *Immunol Rev* 2011; 240: 160-184.
63. Orndorff PE, Hamrick TS, Smoak IW, Havell EA. Host and bacterial factors in listeriosis pathogenesis. *Vet Microbiol* 2006; 114: 1-15.
64. Lecuit M, Nelson DM, Smith SD, Khun H, Huerre M, Vacher-Lavenu MC, Gordon JI, Cossart P. Targeting and crossing of the human maternofetal barrier by *Listeria monocytogenes*: role of internalin interaction with trophoblast E-cadherin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 6152-6157.

65. 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.
66. 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.
67. 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.
68. Chong R, Swiss R, Briones G, Stone KL, Gulcicek EE, Agaisse H. Regulatory Mimicry in *Listeria monocytogenes* Actin-Based Motility. Cell Host Microbe 2009; 6: 268-278.
69. 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.
70. 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.
71. Bubert A, Hein I, Rauch M, Lehner A, Yoon B, Goebel W, Wagner M. Detection and differentiation of *Listeria* spp. by a single reaction based on multiplex PCR. Appl Environ Microbiol 1999; 65: 4688-4692.
72. 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.
73. Cabanes D, Sousa S, Cebriá A, Lecuit M, García-del Portillo F, Cossart P. Gp96 is a receptor for a novel *Listeria monocytogenes* virulence factor, Vip, a surface protein. Embo J 2005; 24: 2827–2838.
74. 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.

75. Vázquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Domínguez-Bernal G, Goebel W, González-Zorn B, Wehland J, Kreft J. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 584-640.
76. Sibergeld KE, Graham J, Price BL. Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health. Annu Rev Public Health 2008; 29: 151-169.
77. 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.
78. Baylan O. Fosfomisin: Dünü, Bugünü ve Geleceği. Mikrobiyol Bul 2010; 44: 311-321.
79. Aureli P, Ferrini AM, Mannoni V, Hodzic S, Wedell-Weergaard C, Oliva B. Susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from food in Italy to antibiotics. Int J Food Microbiol 2003; 83: 325-330.
80. Conter M, Paludi D, Zanardi E, Ghidini S, Vergara A, Ianieri A. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. Int J Food Microbiol 2009; 128: 497-500.
81. Yan H, Neogi SB, Mo Z, Guan W, Shen Z, Zhang S, Li L, Yamasaki S, Shi L, Zhong N. Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China, 2005–2007. Int J Food Microbiol 2010; 144: 310-316.
82. 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.
83. McLauchlin J. The pathogenicity of *Listeria monocytogenes*: A public health perspective. Rev Med Microbiol 1997; 8: 1-14.
84. Rocourt J, Hof H, Schrettenbrunner A, Malinverni R, Bille J. Meningite purulente aigue à *Listeria seeligeri* chez un adulte immunocompetent, Schweiz Med Wochenschr 1986; 116: 248-251.
85. Cummins AJ, Fielding AK, McLauchlin J. *Listeria ivanovii* infection in a patient with AIDS, Clin Infect 1994; 28: 89-91.
86. Low JC, Donachie W. A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. Vet J 1997; 153: 9-29.
87. González-Zorn B, Domínguez-Bernal G, Suárez M, Ripio MT, Vega Y, Novella S, Vázquez-Boland JA. The *smcL* gene of *Listeria ivanovii* encodes a sphingomyelinase

- C that mediates bacterial escape from the phagocytic vacuole *Mol Microbiol*, 1999; 33:510-23.
88. 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.
 89. Colodner R, Sakran W, Miron D, Teitler N, Khavalevsky E, Kopelowitz J. *Listeria monocytogenes* cross-contamination in a nursery. *Am J Infect Control* 2003; 31: 322–324.
 90. 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.
 91. 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.
 92. Bucholz U, Mascola L. Transmission, pathogenesis, and epidemiology of *L. monocytogenes*. *Infect Dis Clin Pract* 2001; 10: 34-41.
 93. Hofer E, Ribeiro R, Feitosa DP, Species and serovars of the genus *Listeria* isolated from different sources in Brazil from 1971 to 1997. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95: 615-620.
 94. Antoniollo PC, Bandeira Fda S, Jantzen MM, Duval EH, da Silva WP. Prevalence of *Listeria* spp. in feces and carcasses at a lamb packing plant in Brazil. *J Food Prot*, 2003; 66: 328-330.
 95. Hutchison ML, Walters LD, Avery SM, Synge BA, Moore A. Levels of zoonotic agents in British livestock manures. *Lett Appl Microbiol* 2004; 39: 207-214.
 96. Çolak F, Dıġrak M, Aksoy Z. Kahramanmaraş'ta tüketime sunulan tavuk etlerinde *Listeria* türlerinin patojenitesi'nin belirlenmesi. *KSÜ Fen Müh Derg* 2008; 1: 8- 12.
 97. Uyttendaele M, De Troy P, Debevere J. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different types of meat products on the Belgian retail market. *Int J Food Microbiol* 1999; 53: 75-80.
 98. Jajali M, Abedi D. Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. *Int J Food Microbiol* 2008; 122: 336-340.
 99. Yücel N, Çıtak S, Önder M. Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in meat products in Ankara, Turkey. *Food Microbiol* 2005; 22: 241-245.

100. TKG, 2011. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. Erişim Tarihi: Kasım 2013.
101. Erkmen O. Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* in Turkish White cheese during the ripening period. J Food Eng 2000; 46: 127-131.
102. Yıldırım Y, Sarımeahmetoğlu B. Beyaz Peynir yapımında bazı probiyotik bakterilerin kullanılmasının *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2006; 3: 1- 7.
103. Aygün O ve Pehlivanlar S. *Listeria* spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. Food Control 2006; 17: 676-679.
104. 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.
105. 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.
106. 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.
107. Eklund MW, Poysky FT, Paranjpye RN, Lashbrook LC, Peterson ME, Pelroy GA. Incidence and sources of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked fishery products and processing plants. J Food Protect 1995; 58: 502-508.
108. Hansen CH, Vogel BF, Gram L. Prevalence and survival of *Listeria monocytogenes* in Danish aquatic and fish-processing environments. J Food Prot 2006; 69: 2113-2122.
109. Miettinen MK, Siitonen A, Heiskanen P, Haajanen H, Björkroth KJ, Korkeala HJ. Molecular Epidemiology of an outbreak of febrile gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* in cold-smoked rainbow trout. J Clin Microbiol 1999; 37: 2358-2360.
110. Cenet O. Alabalık Fletolarında Farklı Yöntemlerle *Listeria monocytogenes*'in Arastırması. YYÜ Vet Fak Derg 2007; 18: 41-44.
111. Dhanashree B, Ottab SK, Karunasagarb I, Goebelc W, Karunasagarb I Incidence of *Listeria* spp. in clinical and food samples in Mangalore, India. Food Microbiol 2003; 20: 447–453.
112. Gobat PF, Jemmi T. Epidemiological studies on *Listeria* spp. in slaughterhouses. Fleischwirtschaft 1990; 70: 1448-1450.

113. Thévenot D, Delignette-Muller ML, Christieans S, Vernozzy-Rozand C. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dried sausage processing plants and their products. Int J Food Microbiol 2005; 102: 85-94.
114. Güven A, Patır B. Elazığ ilinde tüketime sunulan et ve bazı et ürünlerinde *Listeria* türlerinin araştırılması. Tr J Vet Animal Sci 1998; 22: 205-212.
115. Berktaş M, Bozkurt EN, Bozkurt H, Alisharlı M, Güdücüoğlu H. Et ve et ürünlerinden *Listeria monocytogenes*'in izolasyonu. Van Tıp Derg 2006; 13: 36-41.
116. Sharif A, Tunail N. Detection of *Listeria monocytogenes* in foods of animal origin. Turk J Vet Anim Sci 1995; 19: 329-334.
117. Barut NB, Ates M. Değişik et ürünlerinde *Listeria monocytogenes* rastlanma sıklığı ve mikrobiyal kalitenin belirlenmesi. Gıda 2004; 5: 75-79.
118. Kaya M, Gökalp HY. Farklı laktik starter kültürler kullanılarak üretilen sucuklarda *Listeria monocytogenes*'in davranışı. Turk J Vet Anim Sci 2004; 28: 1113-1120.
119. Çolak H, Hampikyan H, Ulusoy B, Bingo EB: Presence of *Listeria monocytogenes* in Turkish style fermented sausage (sucuk). Food Control 2007; 18: 30-32.
120. Sancak YC, İşleyici Ö, Sağun E. Van'da tüketime sunulan bazı et ürünlerinde *Listeria monocytogenes* varlığı. YYÜ Vet Fak Derg 2007; 18: 93-99.
121. Kök F, Özbey G, Muz A. Aydın ilinde satışa sunulan fermente sucukların mikrobiyolojik kalitelerinin incelenmesi. Fırat Üniv Sağ Bil Derg 2007; 21: 249-252.
122. Öksüztepe G, Güran HŞ, İncili GK, Gül SB. Elazığ'da tüketime sunulan fermente sucukların mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. Fırat Üniv Sağ Bil Derg 2011; 25: 107-114.
123. Çiftçioğlu G, Uğur M. Kıyma, sucuk ve tavuk etlerinde *Listeria monocytogenes* kontaminasyonu. İst Univ Vet Fak Derg 1992; 18: 33-34.
124. Manzano M, Cocolin L, Ferroni P, Cantoni C, Comi G. A Simple and Fast PCR Protocol to detect *Listeria monocytogenes* from meat. J Sci Food Agric 1997; 74, 25-30.
125. Jemmi T, Pak S, Salman MD. Prevalence and risk factors for contamination with *L. monocytogenes* of imported and exported meat and fish products in Switzerland, 1992–2000. Prev Vet Med 2002; 54: 25-36.
126. Mena C, Almeida G, Carneiro L, Teixeira P, Hogg T, Gibbs PA. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. Food Microbiol 2004; 21: 213-216.

127. Erol İ, Çelik TH, Sireli UT, Özdemir H. Bakteriyosin oluşturan starter kültürlerin fermente Türk Sucuklarında *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi. Turk J Vet Animal Sci 1999; 23: 793-802.
128. Barazi, A. ve Erkmen, O. Survival of *Listeria monocytogenes* in Sucuk during Manufacturing and Storage Periods at Different Modified Atmosphere, Rom Biotech Lett 2008; 13: 49-58.

ÖZGEÇMİŞ

- 1. Adı Soyadı** : Koral DUYGULU
- 2. Doğum Tarihi** : 09.05.1977
- 3. Doğum Yeri** : Kayseri
- 4. Unvanı** : Veteriner Hekim
- 5. Medeni Durumu** : Evli
- 6. İş Tecrübesi** : Erciyes Veteriner Kliniği, 2005-
- 7. Yabancı Dil** : İngilizce

1. Öğrenim Durumu:

Derece	Üniversite	Fakülte	Yıl
Lisans	Erciyes	Veteriner	1995-2000
Y. Lisans	Erciyes	Sağlık Enst.Veteriner Gıda Ve Tek.	Bilim. 2009- Hij.

Adres : Fevizçakmak mh. Müftüoğlu sk. No:6, Kat:1, Kocasinan, KAYSERİ

Tel : 05372445222

E-mail : duygulukoral@hotmail.com