

Gıdalarda *Listeria monocytogenes*'in Biyokontrolünde Faj Uygulaması

Pınar Şanlıbaba¹, Başar Uymaz²

¹Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Dışkapı, Ankara
²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bayramiç Meslek Yüksekokulu, Bayramiç, Çanakkale

Geliş Tarihi (Received): 06.02.2015, Kabul Tarihi (Accepted): 18.03.2015

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): Pinar.Sanlibaba@ankara.edu.tr (P. Şanlıbaba)

☎ 0 312 203 33 00 / 3617 📠 0 312 317 87 11

ÖZ

Gıda teknolojisindeki gelişmelere paralel olarak gıdaların muhafazasında kullanılan klasik yöntemlerin yanında birçok alternatif yeni teknolojilerin kullanımı da gündemdedir. Bakteriyozin ve bakteriyofajlar doğal gıda biyokoruyucuları olarak tanınmakta ve alternatif gıda muhafaza teknolojileri arasında yer almaktadır. Bakteriyofajlar hücre içi zorunlu parazitler olup, çoğalmaları için canlı bakteri hücrelerine gereksinim duyarlar. *Listeria monocytogenes* son dönemlerde üzerinde en çok araştırma yapılan, insan ve hayvan türleri için önemli patojen mikroorganizmalardan biridir. *L. monocytogenes* açısından en riskli gıdalar tüketime hazır ve soğukta uzun süre depolanmış gıdalardır. Bu derlemede gıda kaynaklı patojenlerden *L. monocytogenes*'in gıdalarda biyokontrolü amacıyla dünyada yapılan faj uygulama çalışmaları özetlenmeye çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Listeria monocytogenes*, Faj, Biyokontrol, Gıda

Application of Bacteriophage for Biocontrol of *Listeria monocytogenes* in Foods

ABSTRACT

Parallel to the developments in food technology, the use of many alternative new technologies remains on the agenda nearby classical food preservation. Bacteriocins and bacteriophages are recognized as natural food biopreservation, and they are among alternative food preservation technologies. Bacteriophages are obligate parasite of bacteria and need to live bacterial cells for propagation. *Listeria monocytogenes* is a very important food-borne pathogen for human and animal species, and it is one of the most studied pathogens in recent years. Ready-to-eat foods and cold-stored foods for a long time are among the most risky foods in terms of *L. monocytogenes*. In this review, the application of bacteriophage for the biocontrol of *L. monocytogenes* in foods was summarized.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, Phage, Biocontrol, Food

GİRİŞ

Doğal veya az işlem görmüş ve katkı maddesi içermeyen gıdalar, günümüzde tüketiciler tarafından tercih edilmektedirler. Geleneksel ısı işlemler, gıdaların raf ömrünün uzamasını ve mikrobiyal açıdan güvenilirliğinin artmasını sağlarken; gıdalarda besin, vitamin ve renk kaybına veya değişimine neden olabilmektedir. Gıdaların özelliklerinin geliştirilmesinde ve muhafazasında kullanılan katkı maddelerinin bir

kısımının ise insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri bulunabilmektedir [1]. Gıda teknolojisindeki gelişmeler ile birlikte gıdaların korunmasında kullanılan klasik yöntemlerin yanında birçok alternatif yeni teknolojilerin kullanımı gündemdedir. Biyokoruma alternatif gıda muhafaza teknolojileri arasında yer alan bir yöntem olup, ürünün raf ömrünü ve hijyenik kalitesini arttırmaktadır. Patojenlerin, kolay bozulan gıda ürünlerinin duyu ve besinsel özelliklerine olan etkisini minimize etmektedir [2]. Bakteriyozin ve bakteriyofajlar

uygulamaları, doğal gıda biyokoruyucuları olarak tanınmaktadır. Gıdalarda patojen bakterilere karşı bakteriyofajların kullanılması ise doğal biyokoruyucular arasında en umut verici sistemdir. Bakteriyofajlarla yürütülen etkin bir biyokontrol için patojen tür ile konakçı spesifik fajın belirlenmesi gereklidir. Araştırmalar *Campylobacter*, *Escherichia coli O157:H7*, *Listeria*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Brochotrix* ve *Salmonella* gibi gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerinde yoğunlaşmaktadır [3-7].

Listeria monocytogenes

İnsan ve hayvan türleri için patojen mikroorganizmalar arasında son dönemlerde üzerinde en çok araştırma yapılanlardan bir tanesi de *Listeria* spp.'dir [8]. *Listeria* türleri çevreye geniş ölçüde yayılabilen, olumsuz koşullar altında bile canlılığını koruyabilen halk sağlığı açısından önemli bir patojendir [3]. Bu bakteriler gıdalara doğrudan kontamine olabildiği gibi, enfekte materyal veya kişiler tarafından gıdaların işlenmesi, muhafazası, paketlenmesi, satışı ve tüketimine kadar geçen süre içinde sekonder olarak da kontamine olabilmektedir [9]. *Listeria* cinsi içinde kesin tanımı yapılmış dokuz tür bulunmaktadır. Bu türler; *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. marthii*, *L. fleischmannii*, *L. rocourtiae* ve *L. welshimeri*'dir [6,7]. İnsanlar için dominant patojen tür *L. monocytogenes* olmakla birlikte, *Listeria*'ların neden oldukları hastalıklarda seyrek de olsa *L. ivanovii*, *L. seeligeri* ve *L. welshimeri*'nin varlığı da gösterilmiştir [6-8, 10, 11].

L. monocytogenes'e ilk olarak 1891 yılında Alman hastalardan alınan örneklerde rastlanmıştır [10, 11]. 1926 yılında ise *Bacterium monocytogenes* olarak tanımlanmış ve 1940 yılında da günümüzdeki adını almıştır [11]. *L. monocytogenes*; Gram pozitif, mezofilik, fakültatif anaerob, sporsuz, kapsülsüz bir bakteridir. Mikroskopta kısa (0.4–0.5 µm eninde ve 0.5–2 µm boyunda) yuvarlak uçlu çubuklar veya kokobasil şeklinde görünürler. Genç kültürlerde kısa zincirler halinde, "V" veya "Y" şeklinde gözükürken, eski kültürlerde ise zaman zaman uzun filament şekillerinde görülebilmektedirler [7, 12, 13]. Optimum gelişme sıcaklık dereceleri 30–35°C olmakla birlikte, 0–45°C arasında da gelişebilme yeteneğine sahiptirler. *L. monocytogenes*, 4.1–9.6 pH aralığında çoğalabilmekte ise de, optimum olarak pH 6.0–8.0'de gelişir. 1 ila 5 arasında değişen peritrik flagellaları sayesinde 25 °C 'de hareketli olmasına karşın 37°C'de hareketsizdir [7, 8, 13, 14]. Halotoleranttır ve böylece yüksek konsantrasyonlardaki NaCl (%10–12) varlığında bile çoğalabilirler. Metil Red, Voges-Proskauer ve Katalaz reaksiyonları pozitif; indol, oksidaz ve üre reaksiyonları negatiftir. Karbonhidratlardan (glükoz, ramnoz, maltoz, mannoz, salisin, fruktoz, dekstrin, nişasta) asit oluştururlar, ancak gaz meydana getirmezler. *Listeria* cinsi içinde bulunan sadece üç tür (*L. ivanovii*, *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri*) hemolitiklidir ve kanlı agarda β-hemolisin oluştururlar [11, 13].

Listeria türlerinin 15 adet ısıya duyarlı flagella antijeni (H) ve 4 adet ısıya dayanıklı somatik (O) antijeni vardır

[13]. *L. monocytogenes* O ve H antijenlerine göre aglutinasyon ve aglutinasyon-adsorbsiyon testleriyle faklı sero alt gruplara ayrılmışlardır [15]. Yapılan çalışmalarda 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 5, 7, 6a, 6b gibi değişik serotipler tespit edilmiştir [11, 13]. Serotip 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e ve 7 grupları *L. monocytogenes* türlerinde; serotip 1/2a, 1/2b, 3b, 4a, 4ab, 4b, 4c ve 6b grupları *L. seeligeri* türlerinde; serotip 5 *L. ivanovii* ve 1/2b, 6a ve 6b serotip grupları ise *L. grayi*, *L. innocua* ve *L. welshimeri* türlerinde saptanmıştır [13]. *Listeria*'da aynı serotipin farklı türlerde de olması nedeniyle serotiplendirme identifikasyondan ziyade hastalık etmeninin hangi serotipe dâhil olduğunun belirlenmesi için uygulanır [12]. *L. monocytogenes*'in 1/2a, 1/2b ve 4b serotipleri en önemli patojenik suşlar olarak saptanmıştır [17]. 1981 yılından bu yana 4b suşları, pek çok bireysel hastalanma ve salgınların %35-50'sinden sorumlu tutulurken, çoğu ülkede gıdalardan izole edilenlerin büyük çoğunluğunu 1/2 serolojik grupları oluşturmaktadır [12, 13].

L. monocytogenes açısından en riskli gıdalar tüketime hazır ve soğukta uzun süre depolanmış ve 100 kob/g'dan fazla sayıda *L. monocytogenes* içeren gıdalardır [16]. Bu gıdalar arasında; çiğ ya da pastörize süt, dondurma, çiğ sebze ve meyveler, fermente et ürünleri, çiğ veya pişmiş her çeşit et, çiğ veya tütülenmiş balık, kabuklu deniz ürünleri, starter kullanılmadan üretilen taze peynirler, yumuşak peynirler, kanatlı ve hindi etleri, tüketime hazır yiyecekler, ısı işlem görmüş jambon, çeşitli sosis ve salamlar sayılabilir [3, 17, 18]. *L. monocytogenes*'in yüksek sıcaklıklarda ısı direnç geliştirdiği, ayrıca buzdolabı sıcaklıklarında da çoğalabildiği ve nemli ortamlarda birkaç ay, tuzlu ve kuru ortamlarda ise iki yıla yakın yaşayabildiği saptanmıştır [6, 19].

Gıdalarda *L. monocytogenes*'in belirlenmesinde sınırlı tolerans politikası geçerlidir. Bu nedenle pek çok ülkenin gıda kanunları *L. monocytogenes*'in 25 g (mL) gıdada hiç olmamasını öngörmektedir. Bazı Batı Avrupa ülkeleri ise, güvenli gıda için 0.01 g gıdada hiç *Listeria* olmamasını önermektedir. *L. monocytogenes*'in belirlenmesinde ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme ve selektif katı besiyerinden izolasyon olmak üzere temel olarak üç aşama bulunmaktadır. Son 30 yıldır *L. monocytogenes*'in belirlenmesi amacıyla pek çok sayıda zenginleştirme ve izolasyon besiyeri geliştirilmiş ve bunların karşılaştırılmaları üzerine çok yoğun araştırmalar yapılmıştır. Günümüzde *L. monocytogenes*'in belirlenmesi için geçerli olan referans metotlar ABD Gıda ve İlaç Kuruluşu (FDA), Uluslar arası Sütçülük Federasyonu (IDF), Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO) ve Amerika Birleşik Devletleri Tarım Departmanı (USDA) tarafından önerilmiştir. Bu metotlar, farklı selektif zenginleştirme sıvı besiyerleri ve farklı ön zenginleştirme işlemleri içermektedir. Her 4 yöntemin de son aşaması selektif katı besiyerlerinden izole edilen 5 tipik *Listeria* kolonisinin biyokimyasal, fizyolojik, moleküler veya serolojik olarak *Listeria* bakımından doğrulanmasıdır [12]. 1989 yılından itibaren ise multilokus enzim elektroforezi, ribotiplendirme, DNA mikrorestriksiyon ve makrorestriksiyon profil analizi,

poliformik DNA'nın rastgele amplifikasyonu gibi moleküler tiplendirme yöntemleri gıdalarda *L. monocytogenes*'in belirlenmesinde yüksek duyarlılıkla kullanılmaktadır [8].

L. monocytogenes'in neden olduğu rahatsızlıklara genel olarak Listeriosis denilmekte hem hayvanlar, hem de insanlarda görülmektedir. *L. monocytogenes* ile bulaşmış gıdaların tüketimi sonucu görülen Listeriosis; menenjit, hamilelerde düşük, öldürücü septisemi, endokarditis (kalbin endokard tabakasının iltihabı) ve ensefalitis (Beyin yangısı) gibi son yıllarda önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır [12, 17, 20]. Kontamine gıda tüketildikten 12 saat sonra ateş, karın krampları, diyare, yorgunluk, baş ağrısı ve kusma ile seyreden gastrointestinal bir sendrom meydana gelmekte ve menenjit ile öldürücü septisemi gibi daha ciddi durumlar ancak günler veya haftalar sonra ortaya çıkmaktadır. Bu sendromların başlama süresi 11–70 gün arasında (ortalama 21 gün) olup, bu süre enfektif doza ve hastanın durumuna bağlı olarak değişmektedir. *L. monocytogenes*'in insanlardaki enfeksiyon dozu tam olarak bilinmemektedir. İnsanlarda görülen Listeriosis'te hamileler, fetüsler, yeni doğan bebekler, yaşlılar ve bağışıklık sistemi zayıf düşen kişiler risk grubunu oluşturmaktadır. İnsanlarda listeriosis vakası ilk kez 1929'da bildirilmiş ancak Amerika ve Avrupa'daki salgınlara kadar bu hastalığın gıda kaynaklı olabileceği kanıtlanmamıştır. 1980'li yıllarda özellikle Kuzey Amerika ve Avrupa ülkeleri başta olmak üzere pek çok ülkede bu hastalığın neden olduğu salgınlar görülmüştür [3, 12]. *L. monocytogenes* ile kontamine olmuş süt, yumuşak peynir (Meksika tipi), lahanalı salatası, az pişmiş tavuk, sosis, çiğ et ürünleri, balık ve kabuklu deniz ürünleri gibi gıdaların toplu tüketimleri sonucu büyük epidemiler ortaya çıkmış ve %30'lara varan ölümler görülmüştür [6]. Türkiye'de epidemiler şeklinde bilinen insan Listeriosisleri görülmemiştir. Buna karşılık yapılan araştırmalarda çiğ süt ve tüketime hazır gıdalarda *L. monocytogenes* saptanmıştır. *L. monocytogenes*'in en düşük enfektif dozu bulunamamıştır. Gıdaların çoğunda *Listeria* sayısı 10^2 kob/g düzeyinde saptanmıştır. Ancak tüketime hazır gıdaların buzdolabındaki raf ömürleri süresince bu sayı yükselmekte ve 10^6 – 10^8 kob/g'a ulaşmaktadır [10, 12].

Gıda kökenli önemli bir patojen olan *L. monocytogenes*'in gıdalardan inaktivasyonu üzerine günümüzde çok yoğun çalışmalar yapılmaktadır. *Listeria* birçok proste ısı işlemlerle imha edilmekte ancak *Listeria*'nın türüne ve gıdanın yapısına göre ısıya karşı direnç gösterebilmektedir. Ayrıca ısı işlemler ile *L. monocytogenes*'in elimine edilmesinde, uygulanan yüksek sıcaklık dereceleri ürünün kokusunu, rengini, besin değerini, görünüşünü ve duyuşal özelliklerini olumsuz etkilediği için araştırmalar ısı olmayan yöntemler üzerinde yoğunlaşmıştır. Ultrason veya UV uygulaması, yüksek hidrostatik basınç, vurmali elektrik alanı, engeller teknolojisi ve biyokoruma *L. monocytogenes*'in inaktivasyonu için üzerinde çalışılan ısı işlem niteliği taşımayan alternatif teknolojiler arasında sayılmaktadır. Patojenlere karşı gıda muhafazasında ısı olmayan yöntemlerin ve doğal bileşiklerin uygulanması, duyuşal ve besinsel kalitenin korunması bakımından

yararlı olacağından, bu teknikler günümüzde başlıca araştırma konuları arasında yer almaktadır [1, 16, 21].

LİSTERIAL FAJLAR

İlk kez 1896 yılında Ernest Hankin tarafından keşfedilen bakteriyofajların antibakteriyel aktivitesi, 1915 yılında Frederick Twort tarafından tanımlanmıştır. İlk listerial faj izolasyon çalışmaları 1940'larda başlamıştır [6]. Günümüze kadar toplamda 500'e yakın listerial faj izole edilmiş ancak bunlardan çok azının moleküler ve genetik düzeyde tanımlaması yapılmıştır. Farklı cins ve serotip grupları (1/2, 4, 5 ve 6) üzerinde etkili olabilen fajlar tanımlanabildiği halde, *L. monocytogenes* 3a, 3b ve 3c serotipleri ile *L. grayii*, *L. rocourtii* ve *L. marthii* suşlarına etki edebilen faj partikülleri tanımlanamamıştır. Genel olarak serotip 3 grubu üyeleri faj enfeksiyonuna karşı daha dirençli bulunurken, serotip 4 grubu üyeleri ise duyarlılık göstermektedir. *L. monocytogenes*'in serotip 4 grubunda profaj durumunun gözlenmemesinin sebebi, hücre duvarındaki taykoik asit kompozisyonunda gözlemlenen farklılıklardır [6, 7, 20]. Listerial fajlar *Caudovirales* takımı üyeleridir. İzole edilen listerial fajların büyük bir kısmı uzun ve kasılamayan kuyruk içerdiklerinden *Siphoviridae*, çok az bir kısmı ise kasılabilir kuyruk elemanlarına sahip olduklarından dolayı *Myoviridae* familyasına üyedir. *Podoviridae* familyasına ait listerial faj ise izole edilememiştir. *Siphoviridae* familyasındaki listerial fajlar, kuyruk uzunluklarına göre altı grupta sınıflandırılır. *Myoviridae* familyası üyesi listerial fajlar geniş bir konakçı etkinliğine sahip olup, bu familyanın *Spounavirinae* alt familyası ise daha yeni tanımlanmıştır [6, 20]. Listerial faj genomları çift zincir DNA içermekte ve büyüklükleri ise 35.6–134.4 kb aralığında değişmektedir [22]. Virulent *Listeria* fajları genom büyüklükleri esas alınarak 3 farklı grupta incelenebilir. Birinci grup yaklaşık 140 kb genom büyüklüğüne sahip olup, P100 ve A511 fajlarının dâhil olduğu ve geniş konakçı etkinliğine sahip olan fajlardır. İkinci grupta yer alan fajların ise genom büyüklükleri yaklaşık 40 kb olup, P35 ve P40 fajları bu gruba dâhildir. Son grup ise 70 kb genom büyüklüğüne sahip olup, P70 fajı bu gruba dâhildir [7].

Faj ile konakçısı arasında litik, lizogenik ve pseudolizogenik olmak üzere üç tip ilişki mevcuttur. Litik etki genel hatları ile fajın bakteriyeye tutunması, faj DNA'sının hücre içine enjeksiyonu, faj DNA'sının konakçı sistemleri kullanılarak replikasyonu, faj proteinlerinin sentezi, baş-kuyruk ve kuyruk fibrilleri gibi yapıların montesi ile olgun faj partiküllerinin oluşturulması ve salınma aşamalarını içermektedir. Lizogeni, faj DNA'sının konakçı hücreye enjekte edilmesinden sonra litik fajların aksine replikasyon süreci başlamaz, faj DNA'sı konakçı kromozomal DNA'sına entegre olarak profaj halini almaktadır. Faj taşıyıcı durum olarak ta adlandırılan pseudolizogeni, faj DNA'sının kromozoma entegre olmayıp hücre içinde plazmid gibi davranması olarak tanımlanabilir [23]. *Listeria* kültürlerinde lizogeninin yaygın bir özellik olması nedeniyle, tanımlanan listerial fajların büyük çoğunluğu temperenttir. Temperent listerial fajlar büyük oranda serotip spesifiklik gösterir. Ayrıca birden fazla fajı genomunda taşıyan lizogenik listerial kültürleri de

saptanmıştır. Dar bir konakçı spektrumuna sahip olan temperent *Listeria* fajları, gıdalarda biyokontrol çalışmalarında konakçısı üzerinde öldürücü etkisi bulunmadığından dolayı tercih edilmemektedir [6, 20]. Biyokontrol çalışmalarında kullanılacak listerial fajların taşıması gereken özellikler şu şekilde özetlenebilir: 1) virülent (litik) özellikte olmalı, 2) geniş bir konakçı etkinliğine sahip olmalı, 3) bakteri suşları arasında virülans faktörler, antibiyotik dirençlilik gibi genetik elemanların taşınmasında yardımcı olan transdüksiyon yeteneğine sahip olmamalı, 4) konakçısı ile lizogenik bir döngü içerisinde girmemeli, 5) patojenik etkisi ve yapısında allerjenik protein gen kodu bulunmamalı, 6) moleküler düzeyde genomu tanımlanmalı ve 7) Gıdalarda kullanımı sırasında GRAS (Generally Recognised as Safe- insan ve hayvan tüketiminde güvenli) onayı almalıdır [4, 6, 24]. Biyokontrol çalışmalarında genelde tercih edilen faj grubu büyük genoma sahip olan P100 ve A511 tipi fajlardır [7].

Listerial fajlar çiğ ve işlem görmüş gıdalardan, farklı işletme ortamlarından, atık sulardan ve hayvan feçeslerinden izole edilebilmektedir. Alternatif izolasyon kaynağı ise lizogenik *Listeria* kültürleridir. Lizogenik kültürler ısı uygulaması, mitomisin C ve ultraviyole ışınları gibi indüksiyon ajanlarının uygulanması sonucu, faj DNA'sı kromozomal DNA'dan ayrılarak litik faj haline geçmektedir [7, 16].

ListShield™ ve LISTEX P100™ fajları FDA ve USDA tarafından GRAS statüsünde değerlendirilmiş olup, *L. monocytogenes*'in kontrolünde kullanılmak üzere ticari olarak onaylanmıştır. Bu fajlardan LISTEX™ P100 Almanya'daki süt işletmesinden izole edilmiş olup, bütün çiğ ve tüketime hazır gıdalarda 10^9 fob/g düzeyini aşmamak kaydıyla kullanılmaktadır. ListShield™ ise, Amerika'da Baltimore kıyı sularından izole edilmiş olup altı adet listerial faj kokteylinde oluşmaktadır. ListShield™ genelde gıda ambalaj materyallerinde *L. monocytogenes*'in biyokontrolü amacıyla kullanılmaktadır [16, 18, 25, 26]. Deney hayvanlarında P100 fajı ile yapılan oral toksite çalışmalarında, fajın yüksek konsantrasyonlarda uygulanması halinde bile herhangi bir yan etki göstermediği saptanmıştır [18]. Deney hayvanlarında bu fajlarla yapılan oral toksite çalışmalarında, fajların gıda sistemlerinde yüksek konsantrasyonlarda uygulanması ve tüketilmesi halinde bile, herhangi bir yan etki göstermediği ve gastrointestinal sistemdeki doğal flora üzerinde de bir etkisinin bulunmadığı saptanmıştır [7, 24].

***L. monocytogenes*'in BİYOKONTROLÜNDE FAJ UYGULAMASI**

Gıdalarda patojenlerin yok edilmesinde fajlar genel olarak "çiftlikten sofraya" kadar tüm gıda zinciri aşamalarında uygulanabilmektedir. Bakteriyofajların kullanımları şu şekilde özetlenebilir: (1) canlı hayvanda kolonizasyon ve hastalığın önlenmesi, (2) karkas, taze meyve ve sebze gibi ham ürünlerin dekontaminasyonu, ekipman ve temas yüzeylerinin dezenfeksiyonu, (3) kolay bozulabilir ürünlerde doğal koruyucu olarak kullanım ile raf ömrünün uzatılması. Biyokontrol çalışmalarında karşılaşılabilecek en önemli

problemlerden birisi, gıda sistemlerinde faj dirençli patojen varlığının saptanmasıdır. Bakteriler faj ataklarına karşı kendilerini savunabilmek için faj adsorbsiyonunun engellenmesi, faj DNA enjeksiyonunun engellenmesi, restriksiyon/modifikasyon sistemleri ve abortif enfeksiyon sistemleri gibi farklı faj dirençlilik sistemlerine sahip olabilirler. Bu durumda faj kokteylerinin kullanılması veya faj rotasyon sistemlerinin uygulanması başlıca çözüm önerileridir. Ayrıca laboratuvar ortamında fajların gösterdikleri antimikrobiyel aktivitenin, gıda sistemine uygulandıklarında büyük ölçüde düşüş göstermesi de biyokontrol çalışmalarında karşılaşılan sorunlardan bir diğeridir. Bu duruma neden olabilecek kısıtlayıcı faktörler arasında fajın yayılma oranının düşmesi sonucu konakçı ile fajın çarpışma olasılığının azalması, fajın karşılaştığı mikrobiyel yükün faj reseptör bölgelerine mekanik bariyer oluşturmaması, inhibitör bileşiklerin varlığı, sıcaklık ve pH değişiklikleri sayılabilir. Biyokontrol çalışmalarında iyi bir faj performansı elde edilebilmesi için, fajların ait oldukları spesifik ortamlardan izole edilmesi en doğru yaklaşımdır. Çünkü fajlar ait oldukları ortam koşullarına en kolay ve hızlı şekilde adapte olabilmekte, üreyebilmekte ve yaşamlarını sürdürebilmektedir [5]. Fajın uygulanma titresi, gıdanın kimyasal kompozisyonu ve özgül matriksi, tüketime hazır gıdalarda *L. monocytogenes*'in biyokontrolünde etkili olan önemli kriterler arasındadır [27]. Gıdalarda *L. monocytogenes*'in biyokontrolünde fajların kullanımı üzerine dünyada son yıllarda yoğun çalışmalar yapılmaya başlanmıştır [16]. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Leverentz ve ark. [17], taze kesilmiş kavun ve elma dilimlerinde *L. monocytogenes*'in biyokontrolü üzerine spreyleme ve pipetleme şeklinde faj uygulamasını denemişlerdir. 10^5 ve 10^6 kob/mL düzeyindeki *L. monocytogenes*'in biyokontrolü için, LM-103 ve LMP-102 olmak üzere iki ayrı litik fajın 5×10^7 fob/mL titresinde hazırlanan kokteyl karışımı denemelerde kullanılmıştır. 10°C 'de 7 gün boyunca depolamaya alınan örneklerde *L. monocytogenes* sayısında kavun dilimlerinde 2.0–4.6 log kob ve elma dilimlerinde ise 0.4 log kob düzeylerinde azalma saptanmıştır. Patojen sayısında elma dilimlerinde saptanan düşük orandaki azalmanın nedeni, elma dilimlerinin düşük pH'ya (yaklaşık 3.8–4.2 arasında) sahip olması şeklinde yorumlanmıştır. Araştırmacılar *L. monocytogenes*'in faj uygulaması ile biyokontrolü için, pH'sı 5.0 ve üzerinde olan gıdalarda çok daha başarılı sonuçlar alınabileceğini vurgulamaktadırlar. Çalışmada ayrıca nisin ve faj kombinasyonu birlikte uygulanmış, patojen sayısında kavun dilimlerinde 5.7 log kob ve elma dilimlerinde ise 2.3 log kob düzeylerinde azalma olduğu gözlemlenmiştir. Nisin tek başına uygulandığı zaman ise, patojen sayısında kavun dilimlerinde 3.2 log kob ve elma dilimlerinde 2.0 log kob düzeylerinde azalma saptanmıştır. Araştırmacılar meyve dilimlerine nisin ile birlikte faj uygulandığı zaman bakteriyosidal etkinin arttığı vurgulamakla birlikte; asit oranı yüksek meyvelerde fajın yüksek konsantrasyonlarda veya düşük pH'yı tolere edebilecek mutant faj uygulamalarının daha başarılı olacağını belirtmişlerdir. Çalışmada ayrıca meyve dilimlerine fajın uygulanış şeklinin bakteri canlılığı üzerine etkisi de araştırılmış ve

spreyleme şeklinde yapılan uygulamanın dilimleri daha iyi kaplamasından dolayı pipetle yapılan uygulamaya kıyasla daha etkili olduğu saptanmıştır.

Leverentz ve ark.'nın [27] yürüttüğü başka bir çalışma da ise 10°C'de ve farklı inkübasyon sürelerinde (0,5h, 1h, 2h, 4h) taze kesilmiş kavun dilimlerinde faj kokteyli uygulaması ile *L. monocytogenes* LCDC 81-861 suşunun biyokontrolü araştırılmıştır. 5×10^5 kob/mL düzeyindeki *L. monocytogenes* LCDC 81-861 sayısında en etkin azalışın 0.5 saat ile 1 saatlik inkübasyon süreleri sonunda elde edildiği ve patojen sayısında 6.8 log kob düzeylerinde azalma olduğu saptanmıştır. Çalışmada ayrıca farklı faj konsantrasyonları (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 ve 10^8 fob/mL) kullanılmış olup, patojen sayısında en etkin azalışın 10^6 fob/mL ve üzerindeki faj uygulamaları ile sağlandığı vurgulanmıştır. Araştırmacılar tarafından kavun dilimlerinin kesilme ve paketlenme sırasında *L. monocytogenes* kontaminasyonu bakımından maksimum risk taşıdığı vurgulanmış olup faj uygulamasının mümkünse kavunun dilimlenmesi sırasında veya dilimlemeden hemen sonra yapılmasını önermektedirler.

Geleneksel Munster tipi yumuşak peynirlerde P100 fajının *L. monocytogenes* LmC suşunun (1/2c serotipi) biyokontrolü üzerinde kullanım olanaklarını araştırdıkları Carlton ve ark. [24] tarafından yapılan çalışmada, 1 ve 10^4 kob/mL düzeylerinde patojen olgunlaşmaya alınmadan önce peynirin yüzeyine inoküle edilmiştir. Yüzeysel olgunlaştırılan yumuşak peynirlerde patojenin biyokontrolü için iki farklı titrede (3×10^9 fob/mL ve $1,5 \times 10^8$ fob/mL) faj uygulaması denenmiştir. Patojenin biyokontrolü için iki farklı titrede P100 fajı salamura içine ayrı ayrı ilave edilerek, 14°C'de 16 günlük olgunlaşmaya bırakılmış ve daha sonra 6°C'de depolanmıştır. Depolamanın 6. günü sonunda 1.5×10^8 fob/mL titresinde faj uygulamasında patojen sayısında 2-3 log düzeylerinde azalış saptanırken, 3×10^9 fob/mL titresinde faj uygulaması ile patojen tamamıyla inhibe edilmiştir. Bu çalışmadan bir yıl sonra P100 fajı LISTEX™ P100 ticari adıyla FDA ve USDA tarafından *L. monocytogenes*'in biyokontrolünde etlerde ve peynirlerde kullanım onayı almıştır.

Guenther ve ark. [3] sosis, pişmiş hindi eti, tütsülenmiş alabalık, karışık deniz mahsulleri, pastörize çikolatalı süt, mozzarella peynir altı suyu, göbek salata ve lahana olmak üzere 8 farklı tüketime hazır gıdada *L. monocytogenes*'in Scott A (4b serotipi) ve WSLC1001 (1/2 a serotipi) suşlarını inaktive edebilmek için, A511 ve P100 litik fajlarını kullanmışlardır. Gıda örneklerindeki 10^3 kob/g düzeyinde patojenin biyokontrolü için 3×10^6 ve 3×10^8 fob/g konsantrasyonundaki fajlar kullanılmış ve gıda örnekleri 6°C'de 6 gün boyunca depolanmıştır. Pastörize çikolatalı süt ve mozzarella peynir altı suyu gibi sıvı nitelikteki gıdalarda *L. monocytogenes* sayısının tespit edilebilir seviyenin altına çok hızlı bir şekilde düştüğü; buna karşılık sosis, pişmiş hindi eti, tütsülenmiş alabalık, karışık deniz mahsulleri, göbek salata ve lahana gibi katı nitelikli gıdalarda ise patojen sayısında 5 log kob/g düzeyinde düşüşler olduğu saptanmıştır. Katı gıda yüzeylerinde fajların sabit kalması nedeniyle, bu tür gıdalarda fajların patojeni

sınırlı düzeyde enfekte edebildiği ve bu da tüm gıda yüzeyinde patojenin elimine edilmesini engellediği belirtilmektedir. Buna karşılık sıvı nitelikteki gıdalarda ise fajlar gıda yüzeyine daha kolay ve homojen bir şekilde dağılabildiği için, bu tür gıdalarda fajların kullanımını ile daha etkin sonuçlar alınabildiği ifade edilmiştir. Araştırmacılar ayrıca gıdalarda patojen kontrolünde kullanılacak olan faj titresinin 10^8 fob/mL'den yüksek olmasını önermekle birlikte, faj miktarının uygulanacak gıda örneğine göre ayarlanması gerektiğini de vurgulamaktadırlar.

Soni ve Nannapaneni [25], farklı depolama sıcaklıklarında (4, 10 ve 30°C), farklı faj konsantrasyonlarında (10^4 , 10^6 ve 10^8 fob/g) ve farklı depolama süreçlerinde (12, 8 ve 4 gün) LISTEX P100 fajının alabalık filetolarında *L. monocytogenes*'in (10^4 kob/g) 1/2a ve 4b serotip karışımına karşı etkinliğini araştırmışlardır. 4°C'de 12 gün, 10°C'de 8 gün ve 30°C'de ise 4 gün boyunca yapılan depolama sonunda patojen sayısında sırasıyla 1.8 log kob/g, 2.5 log kob/g ve 3.5 log kob/g düzeylerinde düşüş meydana geldiği belirtilmiştir. *L. monocytogenes*'in 1/2a ve 4b serotip karışımının inhibisyonu üzerine uygulanan farklı faj konsantrasyonlarının depolama sıcaklık derecelerinden etkilenmedikleri ve üç farklı sıcaklık derecesinde de patojen karışımına karşı aynı inhibisyon etkiyi gösterdikleri saptanmıştır. Ayrıca denemede uygulanan faj yoğunluğu arttıkça *L. monocytogenes* sayısında da hızlı bir azalış olduğu vurgulanırken, 10^4 fob/g düzeyindeki faj uygulaması ile saptanan patojen sayısındaki azalmanın istatistiksel olarak önemli görülmediği belirtilmiştir. Araştırmacılar buzdolabı sıcaklık derecesinde (4°C) fajın hedef konakçı hücreleri etkilemesinin biyokontrol denemelerinde çok önemli bir kriter olduğunu, 4°C'de bile aktivite gösterebilen *L. monocytogenes*'in inhibe edilmesinde fajların kullanılabileceğini vurgulamaktadırlar.

Bigot ve ark. [28], tavuk göğüs etinde 10^5 kob/cm² yoğunluğundaki *L. monocytogenes*'in biyokontrolü için 5.2×10^7 fob/cm² titresinde fajın kullanım olanaklarını araştırmışlardır. 30°C'de 7 saatlik depolama işlemi sonucunda başlangıç patojen sayısında 2.5 log kob/cm² düzeyinde bir azalış saptanırken, depolama süresi 24 saate çıktığı zaman ise tekrar patojen gelişimi gözlenmiştir. Aynı gıda sistemi kullanılarak deneme 5°C'de 10^4 kob/cm² yoğunluğundaki *L. monocytogenes*'in biyokontrolü için 1.5×10^6 fob/cm² titresindeki faj ile yürütüldüğü zaman ise, başlangıç patojen sayısında 1.5 log kob/cm² düzeyinde bir azalış saptanmıştır. Ancak denemelerin 21. gününden sonra yeniden patojen gelişimi gözlenmiştir. Araştırmacılar yapılan bu çalışmada, uygulanan faj dozunun ve depolama sıcaklığının patojen kontrolünde önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Camembert ve Limburger tipi yumuşak peynirlerde *L. monocytogenes*'in biyokontrolünde A511 litik *Listeria* fajının kullanım olanaklarının araştırıldığı Guenther ve Loessner [19] tarafından yapılan çalışmada, peynirlerin üretim ve olgunlaşma fazları sırasında *L. monocytogenes* Scott A ve CNL 103/2005 suşları 10^1 , 10^2 ve 10^3 kob/cm² düzeylerinde peynir yüzeyine inoküle

edilmiştir. Camembert tipi yumuşak peynirlerde 10^3 kob/cm² konsantrasyonundaki Scott A ve CNL 103/2005 kültür kokteyline karşı 3×10^8 fob/cm² titresindeki A511 fajı antimikrobiyel ajan olarak kullanılmış ve 21 günlük olgunlaşma periyodu sonunda patojen sayısında 2,5 log kob düzeylerinde düşüş meydana geldiği belirtilmiştir. Limburger tipi yumuşak peynirlerde ise bu oranın 22 günlük olgunlaşma periyodu sonunda 3 log kob düzeyinde olduğu saptanmıştır. 10^1 ve 10^2 kob/cm² düzeyinde yürütülen çalışmalarda ise faj uygulamasının daha etkili sonuçlar verdiği ve *L. monocytogenes* sayısında 6 log kob/cm² düzeyinde bir azalma olduğu tespit edilmiştir.

Chibeu ve ark. [29], pişmiş hindi ve rostoda P100 fajının *L. monocytogenes* üzerine etkisini potasyum laktat (PL) ve sodyum diasetat (SD) gibi antimikrobiyel kimyasal ajanlar ile kombine ederek araştırmışlardır. 4°C'de 28 günlük depolama süresi boyunca yürütülen çalışmada 10^3 kob/cm² düzeyinde patojen kontaminasyonunun biyokontrolü için 10^7 fob/cm² titresindeki P100 fajı kimyasal ajanlar ile kombine edilmeden uygulanmıştır. Bu deneme sonucunda pişmiş hindi etinde 2,1 log kob/cm² ve rostoda ise 1.7 log kob/cm² düzeyinde patojen sayısında azalışlar gözlemlenmiştir. Aynı deneme 10 °C'de yürütüldüğü zaman ise, pişmiş hindi etinde 1,5 log kob/cm² ve rostoda ise 1.7 log kob/cm² düzeyinde patojen sayısında azalış saptanmıştır. Aynı deneme koşullarında P100 fajının %2.8 PL ve % 0.2 SD oranlarındaki kombinasyonu ile birlikte uygulandığı zaman ise pişmiş hindi etinde patojen sayısında 4 °C'de 4.5 log kob/cm² ve 10°C'de 7.5 log kob/cm² düzeylerinde azalmalar gözlemlenirken, rostoda ise azalmalar 1,2 log kob/cm² ve 10°C'de 7.2 log kob/cm² düzeylerinde saptanmıştır. Araştırmacılar *L. monocytogenes*'e karşı P100 fajının tek başına kullanımından kimyasal ajanlar ile birlikte kombine edilmesi halinde daha etkili sonuçlar alınabileceğini vurgulamışlardır.

Taze kesilmiş meyve ve meyve sularında *L. monocytogenes*'in biyokontrolünde Oliveira ve ark. [18], Listex P100 fajının etkinliğini 10°C'de 8 günlük depolama süresi boyunca araştırmışlardır. 10^5 kob/cm² konsantrasyonundaki patojenle kontamine edilen taze kesilmiş kavun, armut ve elma dilimleri üzerine, 1×10^8 fob/cm² titresindeki P100 fajı muamele ettirilmiştir. Kavun ve armut ile yapılan denemede, patojen sayısında sırasıyla 1.5 log kob ve 1.0 log kob düzeylerinde hızlı bir düşüş gözlemlenirken, elma dilimlerinde *L. monocytogenes* sayısında kayda değer bir azalma saptanamamıştır. Araştırmacılar taze meyve dilimleri ile yaptıkları denemelerde elde ettikleri değerlere yakın sonuçları meyve suları ile yapılan çalışmalarda da gözlemlenmiştir. 10°C'de 8 günlük depolama süresinde patojen sayısında en hızlı azalma kavun suyunda (8.00 log kob/mL düzeyinde) saptanmıştır. Armut suyunda ise 2.10 log kob/mL düzeyinde patojen sayısında azalma gözlemlenirken, elma suyunda faj uygulaması ile *L. monocytogenes* sayısında bir azalma olmadığı aksine patojen sayısında 3.30–5.00 log kob/mL düzeylerinde artış olduğu belirtilmiştir. Faj uygulamasının taze elma dilimleri ve elma suyunda etkili olamamasının en önemli nedeni olarak, bu gıdalardaki pH miktarının (yaklaşık 3,70) faj

duyarlılığında artışa sebep olması ve bu sebepten dolayı faj titresinde meydana gelen hızlı düşüşler gösterilmiştir. Çalışmada ayrıca 10°C'de 8 günlük depolama sonunda meyve sularında kalan faj sayıları da saptanmıştır. Kavun suyunda 7.90 log fob/mL ve armut suyunda ise 7.40 log fob/mL düzeylerinde faj sayısı saptandığı vurgulanırken, elma suyunda faj titresinin çok hızlı bir şekilde azalış gösterdiği ve 8. günün sonunda ise faj titresinin saptanamadığı belirtilmiştir.

Brazilya'da üretilen geleneksel Minas Frescal ve Coalho tipi yumuşak peynirlerde *L. monocytogenes*'in biyokontrolü üzerine 8.3×10^7 fob/g düzeyindeki P100 faj uygulamasının etkinliği araştırılmıştır [26]. 10^5 kob/g düzeyindeki başlangıç patojen sayısında Minas Frescal ve Coalho tipi yumuşak peynirlerde 10 °C'de 7 günlük depolama süreci sonunda sırasıyla 2.3 ve 2.1 log kob/g düzeylerinde bir azalış saptanmıştır. Araştırmacılar tarafından *L. monocytogenes*'in biyokontrolü üzerine faj uygulaması çalışmalarında etkin sonuç alabilmek için, başlangıç patojen sayısının az ama uygulanan faj yoğunluğunun ise yüksek olması gerektiği vurgulanmıştır.

Soni ve ark. [30], soğuk tütsülenmiş alabalıkta beş farklı *L. monocytogenes* kültürünün biyokontrolü için P100 fajını, nisini ve laurik arjinatı (LAE) öncelikle tek tek ve daha sonra kombine ederek kullanmışlardır. P100 fajı (10^8 fob/mL), nisin (500 ppm) ve LAE'in (200 ppm) ayrı ayrı uygulandığı denemelerde, 4°C'de 24 saatlik depolama süresi sonunda 10^6 kob/mL düzeyindeki *L. monocytogenes* kültür kokteyli sayısında yaklaşık 2- 3 log kob azalış sağlandığı belirtilmiştir. P100 fajı + LAE ve nisin + LAE kombinasyonlarının aynı sıcaklık derecesi ve depolama süresi boyunca *L. monocytogenes* kültür kokteyline karşı uygulanması sonucunda ise, patojen sayısı saptanabilir seviyenin altına düşmüştür. Araştırmacılar *L. monocytogenes*'in biyokontrolünde faj ve kimyasal ajanların tek tek kullanılmalarından ziyade bunların kombine bir şekilde kullanılmalarının patojenlere karşı daha etkili sonuçlar vereceğini belirtmişlerdir.

SONUÇ

Listeriosis etmeni olarak bilinen *L. monocytogenes* son yüzyılın en önemli gıda kaynaklı patojenleri arasında yer almaktadır. Günümüzde *Listeria* kültürlerinin biyokimyasal ve moleküler düzeyde tanımlanması ve epidimiyolojileri ile ilgili çalışmalar yoğun bir şekilde yürütülmektedir. Bununla birlikte listerial faj izolasyonu, izole edilen fajların morfolojik, serolojik ve moleküler düzeyde tanımlanması, fajın konakçısı üzerinde gösterdiği gelişme parametrelerinin saptanması ile bu fajların patojen kontrolünde kullanılması üzerine çalışmalar son 10 yıldır hız kazanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Buzrul, S., 2014. Hayvansal gıdalarda bulunan *Listeria monocytogenes*'in yüksek hidrostatik basınç altında yaşam eğrilerinin tanımlanması üzerine bir derleme. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 20(2): 321-327.
- [2] Seçkin, A.K., Baladura, E., 2010. Gıdaların muhafazasında bakteriyosin ve bakteriyofaj uygulamaları. *Gıda* 36(6): 461-467.
- [3] Guenther, S., Huwyler, D., Richard, S., Loessner, M.J. 2009. Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Applied and Environmental Microbiology* 75(1): 93-100.
- [4] Hagens, S., Loessner, M. 2010. Bacteriophage for biocontrol of foodborne pathogens: calculations and considerations. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 11: 58-68.
- [5] Temelli, S., Çetin, E. 2011. Gıdalarda patojen kontrolünde bakteriyofaj kullanımı. *Uludağ University Journal of Faculty of Veterinary Medicine* 30(2): 45-52.
- [6] Klump, J., Loessner, M.J., 2013. *Listeria* phages: Genomes, evolution and application. *Bacteriophage* 3: 3, e26861-1.
- [7] Hagens, S., Loessner, M., 2014. Phages of *Listeria* offer novel tools for diagnostics and biocontrol. *Frontiers in Microbiology*, Volume 5, Article No: 159.
- [8] Değirmenci, M. F. 2010. Dondurmalarda *Listeria* ssp. Varlığının Klasik ve Moleküler Yöntemle Saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [9] Ekici, K., İşleyici, Ö., Sağun, E. 2004. Süt ve süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes* varlığı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 15(1-2): 97-101.
- [10] Koçan, D., Halkman, A.K., 2010. Gıdalarda lateral akış testi ile *Listeria* analizi. *Gıda* 35(2): 121-126.
- [11] Yavuz, M., Korukluoğlu, M., 2010. *Listeria monocytogenes*'in gıdalardaki önemi ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 24(1): 1-10.
- [12] Koçan, D., 2007. *Listeria monocytogenes*'in Belirlenmesinde Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [13] Liu, D., 2008. Handbook of *Listeria monocytogenes*, CRC Press, ISBN: 978-1-4200-5140-7. 535 page.
- [14] Ataseven, L., Yardımcı, H., İça, T. 2012. *Listeria monocytogenes* isolation from a chinchilla (*Chinchilla laniger*), *AVKAE Dergisi* 2 (2): 22-25.
- [15] Jadhav, S., Bhave, M., Palombo, E.A., 2012. Methods used for the detection and subtyping of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Microbiological Methods* 88: 327-341.
- [16] Arachchi, G.J.G., Mutukumira, A.N., Dias-Wanigasekera, B.M., Cruz, C.D., McIntyre, L., Young, J., Flint, S.H., Hudson, A., Billinton, C., 2013. Characterization of three listeriophages isolated from New Zealand seafood environments. *Journal of Applied Microbiology* 115: 1427-1438.
- [17] Leverentz, B., Conway, W.S., Camp, M.J., Janisiewicz, W.J., Abuladze, T., Yang, M., Saftner, R., Sulakvelidze, A., 2003. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. *Applied and Environmental Microbiology* 69(8): 4519-4526.
- [18] Olivera, M., Vinas, I., Colas, P., Anguera, M., Usall, J., Abadias, M., 2014. Effectiveness of a Bacteriophage in reducing *Listeria monocytogenes* on fresh-cut fruits and fruit juices. *Food Microbiology* 38: 137-142.
- [19] Guenther, S., Loessner, M.J., 2011. Bacteriophage biocontrol of *Listeria monocytogenes* on soft ripened white mold and red-smear cheeses. *Bacteriophage* 1(2): 94-100.
- [20] Habann, M., Leiman, P.G., Vandersteegen, K., den Bossche, A.V., Lavigne, R., Shneider, M.M., Biemann, R., Eugster, M.R., Loessner, M.J., Klump, J., 2014. *Listeria* phage A511, a model for the contractile tail machineries of SP01-related bacteriophages. *Molecular Microbiology* 92(1): 84-99.
- [21] Öner, Z. 2012. *Listeria monocytogenes*'in inaktivasyonu üzerine ısı olmayan işlemlerin etkisi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 7(2): 12-20.
- [22] Denes, T., Vongkomjan, K., Ackermann, H.W., Swith, M.A.I., Wiedmann, M., den Berker, C.H., 2014. Comparative genomic and morphological analysis of *Listeria* phages isolated from farm environments. *Applied and Environmental Microbiology* DOI: 10.1128/AEM.00720-14.
- [23] Şanlıbaba, P. 1999. Lactococcus cinsine ait suşlarda faj dirençlilik sistemlerinin tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [24] Carlton, R.M., Noordman, W.H., Biswas, B., de Meester, E.D., Loessner, M.J., 2005. Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes*'in foods: Genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* DOI: 10.1016/j.yrtph.2005.08.005.
- [25] Soni, K.A., Nannapaneni, R., 2010. Bacteriophage significantly reduces *Listeria monocytogenes* on raw salmon filet tissue. *Journal of Food Protection* 73: 32-38.
- [26] Silva, E.N.G., Figueiredo, A.C.L., Miranda, F.A., Castro Almeida, R.C. 2014. Control of *Listeria monocytogenes* growth in soft cheeses by bacteriophage P100. *Brazilian Journal of Microbiology* 45(1): 11-16.
- [27] Leverentz, B., Conway, W.S., Janisiewicz, W.J., Camp, M.J., 2004. Optimizing concentration and timing of a phage spray application to reduce *Listeria monocytogenes* on honeydew melon tissue. *Journal of Food Protection* 67: 1682-1686.
- [28] Bigot, B., Lee, W. J., McIntyre, L., Wilson, T., Hudson, J.A., Billington, C., Heinemann, J.A., 2011. Control of *Listeria monocytogenes* growth in a ready-to-eat poultry product using a bacteriophage. *Food Microbiology* 28: 1448-1452.

- [29] Chibeu, A., Agius, L., Gao, A., Sabour, P.M., Kropinski, A.M., Balamurugan, S., 2013. Efficacy of Bacteriophage LISTEX P100 combined with chemical antimicrobials in reducing *Listeria monocytogenes* in cooked turket and roast beef. *International Journal of Food Microbiology* 167: 208-214.
- [30] Soni, K. A., Shen, Q., Nannapaneni, R., 2014. Reduction of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon by bacteriophage P100, nisin and lauric arginate, singly or in combinations. *International Journal of Food Science and Technology* 49: 1918-1924.
-
-