



Presence of *Listeria monocytogenes* in Herby Cheese and Determination of Their Susceptibility to Antibiotics

Rabia Mehtap TUNCAY¹ Yakup Can SANCAK¹

¹ Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Van, Turkey

Received: 20.11.2018

Accepted: 17.12.2018

ABSTRACT

This study was carried out to determine the rate of contamination of Herby cheese with *L. monocytogenes* in Van market and antibiotic resistance profiles of *L. monocytogenes* strains isolated from samples. In the study; 250 samples of Herby cheese produced in Van province were investigated. In the isolation of *L. monocytogenes*, the method recommended by International Standard Organisation (ISO) was used. As a result of the analysis, *L. monocytogenes* was isolated in 5 of 250 samples (2%) and antibiotic susceptibility test was performed. As a result of the antibiotic susceptibility test; all 5 strains were susceptible to vancomycin, chloramphenicol and amoxicillin/clavulanic acid but were resistant to erythromycin. As a result, it was determined that Herby cheeses that were sold in Van province could be contaminated with *L. monocytogenes* and *L. monocytogenes* strains isolated from cheeses were antibiotic resistance against erythromycin. Therefore, it was concluded that the consumption of Herby cheese, especially fresh or full ripening, could pose a potential risk for public health and that antibiotic resistance should be considered in the treatment of *L. monocytogenes* infections.

Keywords: Herby cheese, *L. monocytogenes*, Antibiotic susceptibility

ÖZ

Otlu Peynirlerde *Listeria monocytogenes*'in Varlığı ve Antibiyotiklere Duyarlılığının Belirlenmesi *

Bu araştırma, Van piyasasında satışa sunulan Otlu peynirlerin *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranını ve örneklerden izole edilen *L. monocytogenes* suşlarının antibiyotik dirençlilik profillerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmada; Van ilinde üretilen ve satışa sunulan 250 adet Otlu peynir örneği incelenmiştir. Örneklerden *L. monocytogenes* izolasyonunda International Standart Organisation (ISO) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Analizler sonucunda 250 örneğin 5'inde (%2) *L. monocytogenes* izole edilmiş ve bu suşlara antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi sonucunda; 5 suşun tamamının vankomisin, kloramfenikol ve amoksisilin/klavulanik asite karşı duyarlı olduğu ancak eritromisine karşı dirençli oldukları belirlenmiştir. Sonuç olarak, Van ilinde satışa sunulan Otlu peynirlerin *L. monocytogenes* ile kontamine olabileceği ve peynirlerden izole edilen *L. monocytogenes* suşlarının eritromisine karşı antibiyotik direnci olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle Otlu peynirlerin özellikle taze olarak veya tam olgunlaşmadan tüketilmesinin halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabileceği ve *L. monocytogenes* enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotik dirençliliğine dikkat edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Otlu peynir, *L. monocytogenes*, Antibiyotik dirençliliği

GİRİŞ

Türkiye'de en çok üretilen peynirlerin başında beyaz peynir ve kaşar peyniri gelmektedir. Ancak farklı yöresel isimler ile anılan tulum peyniri çeşitleri ile daha çok koyun ve keçi sütünden üretilen Otlu peynir gibi bazı geleneksel peynir çeşitleri de üretim miktarları ile bölgesel olarak önem taşımaktadır. Tüketilirken içine katılan otların koku ve lezzeti hissedilen, çok küçük ve yuvarlak gözeneklere sahip olan Otlu peynir, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde özellikle Van, Bitlis, Diyarbakır, Siirt ve Batman gibi çevre illerde üretilen ve sevilerek tüketilen bir

peynir çeşididir (Coşkun 2005; Kamber 2015)

Otlu peynir üretimi genellikle mayıs ve haziran aylarında yapılmakta olup hammadde olarak kullanılan süt çoğunlukla koyun sütüdür. Peynire katılan otların salamura yapılarak saklanması, peynirin üretim mevsimini sonraki aylara kadar taşımaktadır. Otlu peynirin standart bir üretimi yoktur ve üretimin büyük kısmı köy şartlarında, hijyenden uzak ve atadan kalma usullerle yapılmaktadır. Üretimde çiğ süt kullanılması patojen mikroorganizmaların peynire geçmesine sebep olabilmektedir. Üretilen peynirler hijyenik olmayan şartlarda, plastik leğenlerde ve ortam ısısında üstü

örtülmeden pazarlanmakta, bu da halk sağlığı yönünden oldukça önemli bir risk oluşturmaktadır. Nitekim yapılan araştırmalarda, Otlu peynirlerin hijyenik kalitesinin iyi olmadığı ve içerdiği *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Listeria monocytogenes* gibi bazı patojen mikroorganizmalar ile halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği bildirilmiştir (Sancak ve ark. 1996; Sağun ve ark. 2001b; İşleyici ve Akyüz 2009).

İnsanlarda ciddi sağlık problemlerine yol açan önemli gıda patojenlerinden birisi olarak dikkat çeken *L. monocytogenes*; peynirlerin üretim, olgunlaşma, depolama, nakil ve satış aşamalarında canlı kalabilmektedir. Özellikle hijyenik kalitesi düşük süt kullanılarak üretilen peynirlerin gıda kaynaklı *Listeria* enfeksiyonları için önemli bir vektör olduğu bildirilmiştir (Dominguez ve ark. 1987; Ryser ve Marth 1987).

Toplam 17 türden oluşan *Listeria* cinsi içerisinde *L. monocytogenes* insan ve hayvanlar için, *L. ivanovii* ise yalnızca hayvanlar, özellikle de koyun ve keçiler için patojen olan türlerdir (Weller ve ark. 2015; Orsi ve Wiedmann 2016).

Listeriozis özellikle immun sistemi baskılanmış kişiler (AIDS ve kanser hastaları, organ nakli alıcıları, kortikosteroid kullananlar), yaşlılar, yeni doğanlar, bebekler, hamile kadınlar, alkolikler, ilaç bağımlıları, şeker hastaları ve laksatif kullananlarda görülmekte, ancak bazen immunosupresif faktörlerin etkisi belirgin olmayabilmektedir. İnsanlarda menenjit ve meningoensefalit listeriozis'in en yaygın görülen formudur. Bunun yanında; hamilelerde abort, ölü doğum, erken doğum veya septisemi görülebilmektedir. Enfektif endokardit, oküloglandüler hastalık ve dermatit görülebilen diğer klinik belirtilerdir (Schlech 2000; Narayanan 2013).

Listeria türlerinin optimum üreme ısıları 30-37°C olmakla birlikte, bu mikroorganizmalar 2 ile 50°C arasında da üreyebilmekte, yüksek su aktivitesinde (>0.95) ve pH 4.0-9.5 arasında çoğalabilmektedirler. Psikrotrof özellikteki *Listeria* türleri, 60°C'de 30 dk ısıtma işlemi uygulandığında canlılıklarını kaybederler. *L. monocytogenes*'in inaktif olduğu sıcaklığın; pH, atmosfer, tuz konsantrasyonu ve gıdanın bileşimi ile ilişkisi vardır. *L. monocytogenes* buzdolabı sıcaklığında gelişebilen, ısıtma, soğutma ve dondurma gibi olumsuz koşullarda bile canlı kalabilen, ayrıca çevreye yayılabilen halk sağlığı açısından önemli bir patojen mikroorganizmadır (McLauchlin ve Ress 2009; Narayanan 2013).

Diğer yandan patojenlerden kaynaklanan enfeksiyonlarda gelişen antibiyotik dirençliliği, halk sağlığı açısından giderek büyüyen bir sorun olmakta ve tedavi başarısızlıklarını da beraberinde getirmektedir (Hof 1991). Antibiyotiklere karşı dirençli ilk *L. monocytogenes* suşu 1988 yılında rapor edilmiş ve test edilen suşlar (ml başına >10 mg) tetrasikline dirençli bulunmuştur (Charpentier ve ark. 1995). Menenjitin standart tedavisi için kullanılan sefotaksim veya seftriaksonun *L. monocytogenes*'e etkili olmadığı ve bu nedenle *Listeria* kökenli menenjit olgularında bu antibiyotiklerin kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir (Sönmez 2008). *Listeria* enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması başarı şansını arttırmaktadır (Jones ve MacGowan 1995).

Bu araştırma, Van piyasasında satışa sunulan ve üretim miktarı ile geleneksel peynirlerimiz içerisinde önemli bir yere sahip olan Otlu peynirlerin *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranını belirlemek ve örneklerden izole

edilen *L. monocytogenes* suşlarının antibiyotik duyarlılık profillerini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu araştırmada materyal olarak Van ilinde 2016 yılı Nisan/Haziran aylarında üretilen ve satışa sunulan 250 adet Otlu peynir örneği kullanılmıştır. Örnekler aseptik koşullarda yaklaşık 200'er g alınarak, soğuk zincirde laboratuvara getirilmiş ve aynı gün analize alınmıştır (Metin ve Öztürk 2002).

Listeria spp. İzolasyonu

Peynir örneklerinden *Listeria* türlerinin izolasyonu ve *L. monocytogenes*'in identifikasyonunda ISO 11290-1/A1-2006 metodu kullanılmıştır. Ön zenginleştirme için 25 g örnek 225 ml Half Fraser Broth (LABM, LAB211) ile homojenize edilmiş ve homojenat 30±1°C'de 24 saat süreyle aerobik şartlarda inkübe edilmiştir. Bu zenginleştirme ortamından bir öze dolusu alınarak Oxford Agar (LABM, LAB122) ve PALCAM Agar (LABM, LAB148)'a çizme yöntemiyle ekim yapılmış ve PALCAM Agar 37±1°C'de, Oxford Agar ise 35±1°C'de 24 saat süreyle aerobik ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Asıl zenginleştirme işlemi için ön zenginleştirme ortamından 0.1 ml alınarak, 10 ml tam kuvvette hazırlanan Fraser Broth (LABM, LAB212) içeren tüplere aktarılmış ve 37°C'de 48 saat süreyle aerobik şartlarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda bu kültürden de bir öze dolusu alınarak Oxford Agar ile PALCAM Agar'a çizme yöntemiyle ekim yapılmış ve ekim yapılan besiyerleri 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra saflaştırma ve identifikasyon işlemleri için her iki besiyerinde de üreyen tipik 5 koloni %0.6 Yeast Extract (LABM, MC001) içeren Tryptone Soya Agar (LABM, LAB011)'a alınarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu besiyerinde saflaştırılan koloniler *Listeria* spp. şüpheli koloniler olarak değerlendirilmiştir (ISO 2006).

L. monocytogenes'in İdentifikasyonu

İzole edilen *Listeria* spp. şüpheli kolonilere fenotipik ve biyokimyasal testler (Henry'nin oblik aydınlatması, Gram boyama, katalaz, oksidaz, nitrat, üre, SIM'de üreme ve gaz oluşturma, MR/VP, indol, H₂S testi, CAMP testi, β-hemoliz, dekstroz, maltoz, mannitol, ramnoz, ksiloz ve sorbitol fermentasyon testleri) uygulanarak tür tespiti yapılmıştır (ISO 2006; McLauchlin ve Ress 2009).

L. monocytogenes'in Rapid Test ile Doğrulması

Fenotipik ve biyokimyasal testlerle cins ve tür düzeyinde identifiye edilen kolonilere doğrulama amacıyla Singlepath L'mono GLISA-Rapid Test (Merck 1.04148) uygulanmıştır. Test prosedürüne uygun olarak; PALCAM Agar'dan izole edilen şüpheli koloni 250 µl Brain Heart Infusion Broth'da süspanse edilmiş ve 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra oda ısısında soğutulmuştur. BHI Broth'tan 150 µl test alanına bırakılmış ve 30 dk sonra kontrol (C) ve test (T) zonu kırmızı olan kitler *L. monocytogenes* pozitif olarak değerlendirilmiştir.

DNA Ekstraksiyonu

Listeria kolonilerinden DNA ekstraksiyonu amacıyla ticari kit (GeneAll, Exgene™ Cell SV) kullanılmış ve üretici firmanın önerdiği talimatlar uygulanmıştır.

Real-time PCR Analizi

L. monocytogenes identifikasyonu için kullanılan Real-time PCR tekniğinde Aznar ve Alarcón (2003)'un Border ve ark. (1990)'ından geliştirdiği metot temel alınmıştır. Bu amaçla

hlyA gen bölgesine spesifik primer çifti (LMF: CCTAAGACGCCAATCGAA; LMR: AAGCGCTTGCAACTGCTC) kullanılmıştır. Real-time PCR analizi için hazır ticari master mix (GeneAII, Real. AmpTM SYBR qPCR Master Mix) kullanılmıştır. Hazırlanan PCR tüpleri, Corbett Research Rotor Gene 6000 (Qiagen) Real-time PCR cihazına yerleştirilmiştir. PCR amplifikasyonu 94°C'de 5 dk ön denatürasyon aşamasını takiben, 94°C'de 30 sn denatürasyon, 55.5°C'de 45 sn bağlanma, 72°C'de 45 sn uzama ve 72°C'de 5 dk final uzaması safhası olmak üzere toplam 35 siklus olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Daha sonra pozitif kontrol, örnekler ve negatif kontrolün grafikteki konumları incelenmiştir.

Agaroz Jel Elektrofrez

PCR işlemi sonucunda elde edilen ampikonların jel elektrofrez için gel-red (abm, Safe View Classic™ G108) ile boyanmış %1.5'lik agaroz jel (Bioshop, TAE Buffer 50X Liquid Concentrate) yatay (horizontal) tankta (Thermo Scientific, OwlR EasyCast™ B1) hazırlanarak kullanılmıştır. Agaroz jel polimerize olduktan sonra tanka 1X TAE buffer eklenmiştir. Daha sonra her bir örneğe ait 5 µl ampikon, 1 µl boya (vivantis, Loading Dye 6X) ile karıştırılıp kuyucuklara yerleştirilmiştir. Sırasıyla DNA Marker (abm, 100 bp Opti-DNA Marker), pozitif kontrol (ATCC 7646), örnek ampikonları ve negatif kontrol (DNA yerine PCR suyu ilave edildi) jeldeki kuyucuklara yüklenmiş ve 70 volt elektrik akımında (Hofer Scientific PS 500X power) 90 dk süreyle elektrofrez işlemi yapılmıştır. Bu işlem sonunda, DNA Marker yardımıyla elde edilen spesifik DNA ve pozitif kontrol bantları jel görüntüleme cihazında (Genesis®) gözlemlenmiştir. PCR ürünlerinin agaroz jel elektrofrez neticesinde oluşan 702 bp moleküler uzunluğundaki bantlar *L. monocytogenes* pozitif olarak kabul edilmiştir.

Antibiyotik Duyarlılık Testi

Peynir örneklerinden izole edilen 5 adet *L. monocytogenes* suşunun antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon metodu Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) 2010 ve European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) 2017'ye göre belirlenmiş (Tablo 1), test besiyeri olarak Mueller Hinton Agar (MH-F) (LABM, LAB039) kullanılmıştır (NCCLS 2010; EUCAST 2017).

Tablo 1. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri ve değerlendirme ölçüleri

Table 1. Antibiotic discs used in the study and evaluation measures

Antibiyotik disk	Dozu	Değerlendirme (mm)		
		R	I	S
Ampisilin* (AMP)	10 µg	16<	**	≥16
Eritromisin* (E)	15 µg	25<	**	≥25
Amoksisilin/ Klavulanik asit (AUG)***	30 µg	13<	14-17	>18
Kloramfenikol (C)***	30 µg	12<	13-17	>18
Oksitetrasiklin (OX)***	30 µg	14<	15-18	>19
Penisilin G (P)***	10 IU	20≤	-	-
Tetrasiklin (TE)***	30 µg	14<	15-18	>19
Vankomisin (VA)***	30 µg	14<	15-16	>17

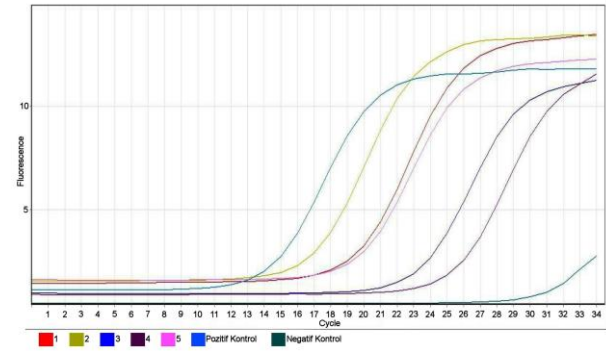
*Ampisilin ve Eritromisin EUCAST 2017'ye göre değerlendirilmiştir. **EUCAST 2017'de orta dirençlilik sınıfı yoktur. ***NCCLS (M31-A3/2010)'a göre değerlendirilmiştir. R: Dirençli, I: Orta düzeyde duyarlı, S: Duyarlı

İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS (Version 23.0) paket programı kullanılarak yapılmıştır (Anonymous 2015).

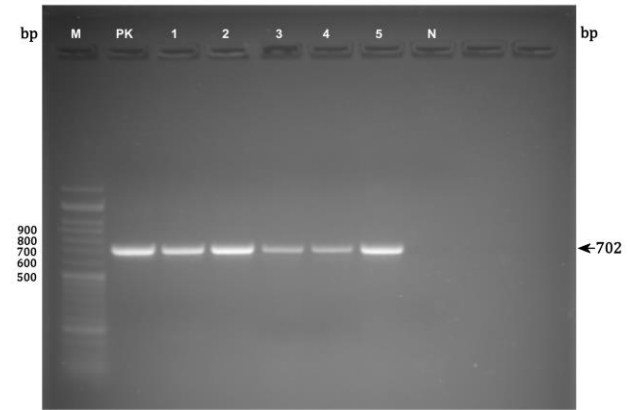
BULGULAR

Bu çalışmada, Van İli merkezinden ve çevre köylerden 2016 yılı Nisan-Haziran aylarında toplanan 250 adet Otlu peynir örneğinin 5 (%2)'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiş ve bunların doğrulanması amacıyla yapılan Real-time PCR ve elektrofrez görüntüleri Şekil 1 ve 2'de sunulmuştur.



Şekil 1. İzole edilen *L. monocytogenes* suşlarının Real-time PCR görüntüsü

Figure 1. Real-time PCR image of *L. monocytogenes* strains isolate



Şekil 2. İzole edilen *L. monocytogenes* suşlarının agaroz jel elektrofrez görüntüsü

Figure 2. Image of agarose gel electrophoresis of *L. monocytogenes* strains isolated

Bu çalışmada izole edilen *L. monocytogenes* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları (vankomisin, kloramfenikol, tetrasiklin, ampisilin, eritromisin, oksitetrasiklin, penisilin G) Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. İzolatlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

Table 2. The results of antibiotic susceptibility test of isolates

Suş No	VA	C	TE	AUG	OT	P	AMP	E
1	S	S	I	S	R	S	S	R
2	S	S	S	S	R	R	R	R
3	S	S	I	S	R	S	S	R
4	S	S	I	S	R	R	R	R
5	S	S	S	S	S	S	S	R

TARTIŞMA ve SONUÇ

Otlu peynir; Van İli başta olmak üzere Bitlis, Siirt, Batman ve Diyarbakır gibi illerde üretilen ve sevilerek tüketilen geleneksel bir peynir çeşididir. Otlu peynir üretiminde hammadde olarak çiğ süt kullanılması ile hijyenik olmayan ilkel koşullarda geleneksel yöntemlerle üretim yapılması peynirin patojen mikroorganizmalarla kontamine olmasına sebep olabilmekte ve bu durum halk sağlığı açısından önemli bir tehlike oluşturmaktadır. Kontaminasyonu arttıran diğer faktörler ise Otlu peynirlerin üstü açık bir şekilde plastik leğenlerde ve soğuk şartlara özen gösterilmeden ortam ısısında satışa sunulmasıdır. Daha önce yapılan birçok çalışmada Otlu peynirlerin hijyenik kalitesinin iyi olmadığı ve bazı patojen mikroorganizmaları içerdiği bildirilmiştir (Sancak ve ark. 1996; İşleyici 2009; Sağun ve ark. 2001a; Coşkun ve Öztürk 2002),

İnsanlarda önemli sağlık problemlerine yol açabilen *L. monocytogenes* ilk olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde Meksika stili yumuşak peynirlerde tespit edilmiştir (Ryser ve Marth 1987). Farklı ülkelerde (El-Marrakchi ve ark. 1993; Silva ve ark. 1998; Rudolf ve Scherer 2001) ve Türkiye'de (Sağun ve ark. 2001b; Dümen ve ark. 2011; Kum ve ark. 2011; Azak ve ark. 2012; Karadal ve Yıldırım 2014; Demir ve Öksüztepe 2016) yapılan çalışmalarda birçok peynir çeşidinde bu patojenin belirlendiği bildirilmiştir.

Bu çalışmada örneklerde belirlenen *L. monocytogenes* izolasyon oranı (%2), Dümen ve ark. (2011)'nin bulguları ile benzer, Karadal ve Yıldırım (2014)'in bildirdikleri orandan yüksek, El-Marrakchi ve ark. (1993), Silva ve ark. (1998), Rudolf ve Scherer (2001), Sağun ve ark. (2001b), Kum ve ark. (2011), Azak ve ark. (2012) ile Cokal ve ark. (2012)'in tespit ettikleri orandan daha düşüktür. Bazı araştırmacılar (Büyükyörük ve Göksoy 2011; Demir ve Öksüztepe 2016) bu çalışma bulgularından farklı olarak inceledikleri örneklerde *L. monocytogenes*'e rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada belirlenen izolasyon oranı ile diğer araştırmalardan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıklar, incelenen peynirler ve üretim yöntemleri ile analiz metodlarındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Üretimde kullanılan sütün hijyenik kalitesinin, işletmelerin hijyenik durumlarının ve satış aşamasında meydana gelen kontaminasyon düzeylerinin de *L. monocytogenes* izolasyon oranlarında görülen farklılıklara neden olduğu düşünülmektedir.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (TGK, 2011)'ne göre peynirlerin 25 g'ında *L. monocytogenes*'in bulunmaması gerektiği bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada incelenen Otlu peynirlerin %2'sinin ilgili Tebliğe göre uygun olmaması, yöresel olarak üretilen ve bölge halkı için önemli bir gelir kaynağı olan bu peynirlerin pazarlanmasında yasal kriterlere uygunluk yönünden problemler oluşturabileceğini göstermektedir.

Sağun ve ark. (2001b) Van'da yaptıkları bir çalışmada, Otlu peynirlerde *Listeria* izolasyon oranının (%5.11) çiğ sütlerdeki izolasyon oranından (%2.4) daha yüksek bulunduğunu ve bu durumun *Listeria*'ların peynirlere çiğ süttten ziyade daha çok üretim aşamalarındaki diğer kaynaklardan bulaşmış olmasından veya çapraz kontaminasyonlardan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Çiğ süt, peynirlerdeki *Listeria* kontaminasyonlarının önemli bir kaynağı olmakla birlikte, bulaşmanın üretim ve üretim sonrası aşamalarda alet-ekipman, toprak, su, dışkı ve personel gibi kaynaklardan da oluşabileceği bildirilmektedir (Ryser ve Marth 1987; El-Marrakchi ve ark. 1993).

Bu çalışmada *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu (%2) belirlenen Otlu peynirlerin hijyenik kalitesinin yetersiz olduğu ortaya konulmuştur. Bu nedenle; Otlu peynirlerin yeterince olgunlaştırılması, üretim teknolojisinin geliştirilmesi, üretimde standardizasyonun sağlanması üretim ve üretim sonrası aşamalarda hijyen kurallarına kesinlikle uyulması gerekmektedir (Durmaz ve Sağun 2004).

Çalışmada peynir örneklerinden izole edilen *L. monocytogenes* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları da belirlenmiştir. Antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda, örneklerden elde edilen 5 izolatın tamamının (%100) vankomisin, kloramfenikol ve amoksisilin/klavulanik asite duyarlı, eritromisine karşı ise dirençli oldukları belirlenmiştir. Ayrıca, izolatların 2'sinin (%40) tetrasikline, 3'ünün (%60) ampisiline ve penisilin G'ye, 1'inin de (%20) oksitetrasikline duyarlı olduğu, yine aynı izolatların 2'sinin (%40) ampisiline ve penisilin G'ye, 4'ünün de (%80) oksitetrasikline karşı dirençli olduğu ve tüm izolatların 3'ünün (%60) ise tetrasikline orta düzeyde duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2).

Yapılan farklı çalışmalarda da süt ve süt ürünlerinden izole edilen *L. monocytogenes* suşlarının antibiyotiklere farklı düzeylerde duyarlılıklarının ve dirençlerinin olduğu bildirilmiştir (Harakeh ve ark. 2009; Conter ve ark. 2009; Rahimi ve ark. 2010, Dümen ve ark.2011; Karadal ve Yıldırım 2014; Pehlivanlar Önen ve Elmalı 2016). Antibiyotik duyarlılığı ile ilgili yapılan çalışmalarda belirlenen sonuçlar ile bu çalışmanın bulguları arasındaki farklılıklar, *L. monocytogenes* izolasyonunun yapıldığı bölgenin, gıda türünün, gıdanın içerdiği patojen seviyesi ve serotiplerinin farklı olmasına bağlanabilir. *Listeria* türlerinin antibiyotiklere dirençliliği, kendiliğinden aktarılabilir ve harekete geçirilebilir mobilize plazmidler ve konjugatif transpozonlar gibi genetik elemanlardan da kaynaklanabilmektedir (Charpentier ve ark. 1995).

Bu çalışmada incelenen *L. monocytogenes* suşlarının tamamının (%100) eritromisine dirençli olduğu belirlenmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda ise bu çalışmada elde edilen sonucun aksine eritromisin direnci çok daha düşük olarak tespit edilmiştir (Harakeh ve ark. 2009; Conter ve ark. 2009; Rahimi ve ark. 2010; Dümen ve ark. 2011; Karadal ve Yıldırım 2014; Pehlivanlar Önen ve Elmalı 2016). Bu durum eritromisinin bölgedeki hayvanların tedavisinde daha fazla tercih edilmesi ile Roberts ve ark. (1996)'nın ifade ettikleri gibi bu patojenin eritromisine karşı plazmidler ve konjugasyon gibi mekanizmalarla direnç geliştirmesiyle ilişkilendirilebilir.

Sonuç olarak, düşük düzeylerde de olsa (%2) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlenen ve bölgede taze olarak tüketimi yaygın olan Otlu peynirlerin hijyenik kalitesinin yetersiz olduğu ve halk sağlığı açısından bir risk oluşturabileceği görülmektedir. Genel olarak hijyenik ve standart olmayan küçük aile işletmelerinde ve evlerde yapılan Otlu peynir üretiminin daha hijyenik şartlarda yapılması ve üretiminin standart hale getirilmesi gerekmektedir.

Tüketime sunulan peynirlerde *L. monocytogenes*'e rastlanması, peynirlerin yeterince olgunlaşmadan tüketime sunulduğunu ve üretimde kullanılan ham madde, alet-ekipman ve personel hijyenine uyulmadığını göstermektedir. Halk sağlığı açısından güvenli bir üretim sağlanabilmesi için hijyenik kaliteye gerekli önemin verilmesi ve belli bir standardı olmayan Otlu peynir standardının oluşturularak modern işletmelerde üretilmesi gerekmektedir. Üretimden tüketime kadar geçen tüm süreçlerde etkili Gıda Güvenliği Yönetim

Sistemlerinden olan Tehlike Analizleri ve Kritik Kontrol Noktaları (Hazard Analysis and Critical Control Points, HACCP), İyi Üretim Uygulamaları (Good Manufactured Practice, GMP) ve İyi Hijyen Uyhulmaları (Good Hygiene Practice, GHP) gibi uygulamalar Otlı peynir üretiminde de eksiksiz olarak yerine getirilmelidir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2015-SBE-D322 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Türk Gıda Kodeksi (TGK) (2011).** Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, RG: 29.12.2011, 28157 (3. mükerrer), Başbakanlık Basımevi, Ankara.
- Anonymous (2015).** IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. IBM Corp., Armonk, NY, USA.
- Azak MG, Kılıç H, Hızlısoy H, Abay S (2012).** Erzincan İli tulum peynirlerinden *Listeria* spp. izolasyonu ve identifikasyonu. *J Fac Vet Med Univ Erciyes*, 9, 3, 149-156.
- Aznar R, Alarcón B (2003).** PCR detection of *Listeria monocytogenes*: a study of multiple factors affecting sensitivity. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 958-966.
- Border P, Howard J, Plastow G, Siggins K (1990).** Detection of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction. *Lett Appl Microbiol*, 11, 158-162.
- Büyükyörük S, Göksoy EÖ (2011).** Aydın İli'nde satışa sunulan köy peynirlerinde *Listeria* varlığını araştırılması. *Uludağ Univ. J Fac Vet Med*, 30, 1, 9-12.
- Charpentier E, Gerbaud G, Jachquet C, Rocourt J, Courvalin P (1995).** Incidence of antibiotic resistance in *Listeria* species. *The Journal of Infectious Disease*, 172, 277-281.
- Cokal Y, Dagdelen A, Cenet O, Gunsun U (2012).** Presence of *L. monocytogenes* and some bacterial pathogens in two Turkish traditional foods, Mihalıc cheese and Hosmerim dessert. *Food Control*, 26, 337-340.
- Conter M, Paludi D, Zanardi E, Ghidini S, Vergara A, Ianieri A (2009).** Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 128, 497-500.
- Coşkun H (2005).** Otlı peynir. Gıda Teknolojisi Derneği Yay, Ankara, 58.
- Coşkun H, Öztürk B (2002).** Otlı peynir adı altında üretilen peynirlerin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *Gıda Teknolojisi*, 8, 44-48.
- Demir P, Öksüztepe G (2016).** Şavak tulum peynirlerinde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp.'nin varlığı. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 30, 2, 119-122.
- Dominguez L, Garayzabal JFF, Vazquez JA, Blanco JL and Suarez G (1987).** Fate of *L. monocytogenes* during manufacture and ripening of semi-hard cheese. *Lett Appl Microbiol*, 4, 125-127.
- Durmaz H, Sağun E (2004).** Otlı peynirlerin üretim ve olgunlaşma sürelerinin *Listeria monocytogenes*'in üremesi üzerine etkileri. *Vet Bil Derg*, 20(2): 87-93.
- Dümen E, Issa G, İkiz S, Bağcıgil F, Özgür Y, Kahraman T, Ergin S, Yeşil O (2011).** Determination existence and antibiotic susceptibility status of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy products, serological and molecular typing of isolates. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17, 111-119.
- El-Marrakchi A, Hamama A and El-Othmani F (1993).** Occurrence of *L. monocytogenes* in milk and dairy products produced or imported into Morocco. *J Food Prot*, 56, 256-259.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (2017).** Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method. www.eucast.org Erişim Tarihi: 18.04.2017.
- Harakeh S, Saleh I, Zouhairi O, Baydoun E, Barbour E, Alwan N (2009).** Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy based products. *Sci Total Environ*, 407:4022-4027.
- Hof H (1991).** Therapeutic activities of antibiotics in listeriosis. *Infect*, 19, 4, 229-233
- International Organization for Standardization (ISO) (2006).** Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*-Part 1: Detection method; Amendment 1: Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data, ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004.
- İşleyici Ö, Akyüz N (2009).** Van ilinde satışa sunulan Otlı peynirlerde mikrofloranın ve laktik asit bakterilerinin belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniv Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(2), 59-64.
- Jones EM, MacGowan AP (1995).** Antimicrobial chemotherapy of human infection due to *Listeria monocytogenes*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 14, 165-175.
- Kamber U (2015).** Traditional Turkey cheeses and their classification, *Van Veterinary Journal*, 26 (3): 161-171.
- Karadal F, Yıldırım Y (2014).** Antimicrobial susceptibility and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* isolates obtained from raw milk cheese samples sold in Niğde. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 61, 255-260.
- Kum E, Yıldırım Y, Ertaş N (2011).** Kayseri'de satışa sunulan peynir örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığının klasik kültür yöntemi ile belirlenmesi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 8, 2, 105-109.
- McLauchlin J, Rees Ced (2009).** Genus I. *Listeria* Pirie 1940a, 383AL. In "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", Editors, Vos PD, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman WB. Volume 3, Family III, 244-257, Springer, London.
- Metin M, Öztürk GF (2002).** Süt ve Süt Ürünleri Örnek Alma Kılavuzu. Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksekokulu Yay. No: 24, İzmir, 227-249.
- Narayanan S (2013).** *Listeria*. In "Veterinary Microbiology", 3rd Edition, Ed: McVey DS, Kennedy M, Chengappa MM., Wiley-Blackwell, 223-225, US.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (2010).** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard Eighth edition M31-A3. Wayne, PA, USA.
- Orsi RH, Wiedmann M (2016).** Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100, 5273-5287.
- Pehlivanlar Önen S, Elmali M (2016).** Determination of *L. monocytogenes*, and its antibiotic resistance of local produced cheese consuming in Hatay. *Van Vet J*, 27, 1, 25-29.
- Rahimi E, Ameri M, Momtaz H (2010).** Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran. *Food Control*, 21, 1448-1452.
- Roberts MC, Facinelli B, Giovanetti E, Valardo PE (1996).** Transferable erythromycin resistance in *Listeria* spp. isolated from Food. *Appl and Environ Microbiol*, 62(1), 269-270.
- Rudolf M, Scherer S (2001).** High incidence of *L. monocytogenes* in European red smear cheese. *Int J Food Microbiol*, 63, 91-98.
- Ryser ET, Marth EH (1987).** Behavior of *L. monocytogenes* during the manufacture and ripening of Cheddar cheese. *J Food Prot*, 50, 7-13.
- Sağun E, Sancak H, Durmaz H (2001a).** Van'da kahvaltı salonlarında tüketime sunulan süt ürünlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal kaliteleri üzerine bir araştırma. *Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak Derg*, 12, 1-2, 108-112.
- Sağun E, Sancak YC, İşleyici Ö, Ekici K (2001b).** Van ve çevresi süt ve Otlı peynirlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma. *Tr J Vet Anim Sci*, 25, 15-19.
- Sancak YC, Kayaardı S, Sağun E ve Ekici K (1996).** Otlı peynirlerin kimyasal kompozisyonu, su aktivitesi (a_w) değeri ve mikroorganizmalar arasındaki ilişki. *Yüzüncü Yıl Üniv Sağlık Bil Derg*, 2, 75-79.
- Schlech WF III (2000).** Foodborne listeriosis. *Clin Infect Dis*, 31:770-775.
- Silva MCD, Hofer E, Tibana A (1998).** Incidence of *L. monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil. *J Food Prot*, 61, 354-356.
- Sönmez E (2008).** *L. monocytogenes*. "Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 2: Etkenlere Göre Enfeksiyonlar", Ed: Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, 3. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd Şti, İstanbul.
- Weller D, Andrus A, Wiedmann M, den Bakker HC (2015).** *Listeria booriae* sp. nov. and *Listeria newyorkensis* sp. nov., from food processing environments in the USA. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65, 286-292.