

# GIDALARDA LATERAL AKIŞ TESTİ İLE LİSTERİA ANALİZİ

Deniz Koçan<sup>\*1</sup>, A. Kadir Halkman<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Aksaray Üniversitesi, Güzelyurt Meslek Yüksek Okulu, Güzelyurt Aksaray

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Dışkapı Ankara

Geliş tarihi / Received: 31.04.2009

Düzeltilerek geliş tarihi / Received in revised form: 20.07.2009

Kabul tarihi / Accepted: 10.08.2009

## Özet

*Listeria monocytogenes* gıda kökenli önemli bir patojendir ve gıda, çevre ve klinik örneklerde yoğun bir şekilde analizi yapılmaktadır. Bu çalışmada 50 gıdada selektif zenginleştirme sonrası Singlepath® *Listeria* hızlı test kiti kullanılarak *Listeria* spp. analizi yapılmıştır. Ayrıca sırası ile 1/2 ve 1/1 Fraser Broth kullanılarak yapılan ön zenginleştirme ve selektif zenginleştirme aşamalarından sonra PALCAM Agar'a sürme yapılmış, izole edilen tipik koloniler tanımlanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, örneklerin %42'sinden *Listeria* spp. izole edilmiştir. *L. monocytogenes* %20 (10/50) oranla en yaygın olan tür iken, bunu %16 (8/50) ile *L. innocua* izlemiştir. Fraser Broth'ta eskulin parçalanmasına bağlı olarak renk değişimi ile karara varılmasının yanıltıcı olduğu görülmüştür. Zenginleştirmenin farklı aşamalarından PALCAM Agar'a yapılan ekimler sonunda farklı *Listeria* türleri elde edilebildiği gibi sadece ön zenginleştirme ya da sadece selektif zenginleştirme aşamasında *L. monocytogenes* de izole edilebilmiştir. Bulgular, standart analiz yöntemlerine tümüyle uyulması gerektiğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Listeria monocytogenes*, Singlepath, Fraser Broth, zenginleştirme

## DETECTION OF LISTERIA THROUGH LATERAL FLOW TEST IN FOODS

### Abstract

*Listeria monocytogenes* is an important food-borne pathogen and is widely tested in food, environmental and clinical samples. In this study, 50 food samples were analyzed for the presence of *Listeria* spp. through Singlepath® *Listeria* rapid test after selective enrichment stages. Moreover, following the pre-enrichment and selective enrichment stages which were performed through using 1/2 and 1/1 Fraser Broth respectively, isolated typical colonies streaked onto PALCAM agar were identified. *Listeria* spp. was isolated from 42% (21/50) of food samples. *L. monocytogenes* was the most prevalent species with 20% (10/50) followed by *L. innocua* with 16% (8/50). Colour changing depending on esculin breakup in Fraser Broth could be misleading to reach a final decision. While different *Listeria* species was obtained as a result of inoculations into PALCAM Agar in different enrichment stages, only in pre-enrichment or selective enrichment stages *L. monocytogenes* were also isolated. Results have shown that standard analysis methods must be carried out completely.

**Keywords:** *Listeria monocytogenes*, Singlepath, Fraser Broth, enrichment

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author ;

✉ dkocan@aksaray.edu.tr, ☎ (+90) 312 596 1178, 📠 (+90) 312 317 8711

## GİRİŞ

*L. monocytogenes*, ilk kez 1891 yılında Alman hastalardan izole edilmiştir. Çevreye geniş ölçüde yayılmış, buzdolabı sıcaklığında gelişebilen, soğutma, dondurma, ısıtma ve kurutma işlemleri gibi olumsuz koşullar altında bile canlılığını sürdürebilen, halk sağlığı açısından önemli bir patojendir. Listeriozis etmeni olarak bilinen *L. monocytogenes*, son yüzyılın en önemli gıda kaynaklı patojenleri arasında yerini almıştır. 1981 yılından itibaren çeşitli büyük listeriozis salgınları görülmüş ve salgına neden olan gıdalar olarak en çok; kontamine süt ürünleri, pastörize edilmemiş peynir, az pişmiş tavuk, sosisli sandviç, şarküteri etleri ve sebzeler belirlenmiştir (1).

Listeriozis, genellikle bağışıklık sistemi zayıflamış kişileri (kanser, şeker, böbrek ve AIDS hastaları), hamileleri, yeni doğan bebekleri ve yaşlıları tehdit etmektedir (1). ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) 2008 verilerine göre; her 100000 kişilik popülasyonda *Listeria* enfeksiyonu teşhis oranı 0.29 olarak hesaplanmıştır. *L. monocytogenes* enfeksiyonu görülme sıklığında geçen 3 yıllık (2005-2007) döneme göre önemli bir değişiklik olmadığı ancak, 1996-1998 dönemine göre %36 oranında nispi bir düşüş olduğu belirtilmiştir. *L. monocytogenes* enfeksiyonu, ABD’de daha çok 4 yaş altı ve 50 yaş üstü kişilerde görülmektedir. Hastaneye başvuran ve *Listeria* enfeksiyonu saptanan 50 yaş üstündeki hastaların %86.2’si hastaneye yatırılmış, bunların %19.5’inde de ölüm gerçekleşmiştir. Bu oranlar gıda kaynaklı hastalıklara yol açan diğer patojen bakterilere (STEC O157, *Salmonella*, *Shigella* vb.) göre çok yüksektir (2).

*Listeria* cinsi 6 tür içerir. Bu türler; *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* *L. ivanovii* ve *L. grayi*’dir. *Listeria* türleri içinde sadece *L. monocytogenes*, genel olarak insan listeriozisi ile ilişkilendirilmiştir. İnsan listeriozisinde seyrek de olsa *L. ivanovii* ve *L. seeligeri* varlığı saptanmıştır. Hitchins 2002 yılında *Listeria* türleri içinde *L. ivanovii*’nin insanlarda neden olduğu 7 listeriozis vakası bildirmiştir (3-6).

Gıda, hastalığa neden olabilecek bir patojenle başlamış ise çok genel olarak yoğun refakatçi flora kontaminasyonu da vardır. Analizler sırasında çeşitli selektif besiyerleri kullanılarak refakatçi floranın baskılanması hedeflenir. Mikroorganizmalar, gıdalarda hasar görmüş olarak da bulunabil-

mektedir. Herhangi bir strese maruz kalan patojen, canlılığını sürdürebilmekte ve bir süre sonra onarım mekanizması aracılığıyla tekrar aktivite kazanıp sağlık için tehdit oluşturmaktadır. Dolayısıyla gıda analizlerinde hasar görmüş olan patojenlerin de belirlenmesi hedef alınır. Aktif durumdaki patojenin analizinde bir sorun olmazken, stres altındaki patojenlerin aktive edilmesi gerekir. Bu amaçla hedef mikroorganizmaya yönelik farklı besiyerleri ve analiz yöntemleri bulunmaktadır (4, 7).

Kullanılan besiyerlerindeki selektivite yüksek olursa bundan hedef patojen de olumsuz etkilenebilmekte, tersine olarak çok düşük bir selektivite varsa bu kez de refakatçi flora aşırı gelişerek hedef patojenin izolasyonunu maskeleyebilmektedir. Bu nedenle klasik mikrobiyolojik analizlerde kullanılan yöntemler ve/veya besiyerleri üzerindeki çalışmalar sürdürülmektedir (7).

*Listeria monocytogenes* ‘in belirlenmesinde kullanılan ISO 11290-1 nolu yöntem 2004 yılında revize edilmiştir. Buna göre 25 g (mL) gıda, selektif olmayan ön zenginleştirme amacıyla 225 mL yarı konsantre Fraser Broth besiyerinde homojenize edilerek 30 °C’da 24±2 saat inkübe edilmekte, arkasından selektif zenginleştirme amacıyla 10 mL tam konsantre Fraser Broth besiyerine ön zenginleştirme kültüründen 0,1 mL ilave edilip, 35-37 °C’da 48±2 saat inkübasyona bırakılmaktadır. Ön zenginleştirme kültürü ile selektif zenginleştirme aşamasının 24 ve 48. saatlerinde ALOA Agar (*Listeria* Ottaviani and Agosti Agar) ile kullanıcının tercihine bırakılan bir başka selektif katı besiyerine öze ile sürme yapıp, inkübasyon sonunda tipik *Listeria* kolonileri elde edilirse çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik testlerle tür belirlemesi yapılmaktadır. ALOA Agar besiyerinde *L. monocytogenes*, etraflarında opak hale olan mavi-yeşil renkli koloniler ile belirlenir (8, 9).

Klasik mikrobiyolojik analizlerde görülebilen sahte negatif sonuç sorunları ve uzun analiz süresine çözüm olarak immünolojik, serolojik, genetik esaslı testler geliştirilmektedir (10-13).

*Listeria* analizinde kullanılan Singlepath® *Listeria*, immünokromatografik lateral akış (lateral flow) testi olup, Sandwich ELISA sistemi ile çalışmaktadır. Bu sistemde antijen, kit içindeki altınla işaretlenmiş (gold-labelled) antikor emdirilmiş bir konjugat peddeki antikora bağlanır ve bu antijen-antikor kompleksi konjugat pedden iletici (con-

necting) ped aracılığıyla diğer uçtaki bağlayıcı (absorbant) pede doğru göçer. Singlepath® iletici ped test (örnek) şeridi (T) ve iç kontrol şeridi (C) olmak üzere iki adet yakalayıcı antikor şeridi içermektedir. T şeridine gelen antikor-antijen kompleksi burada kompleksle reaksiyona girer ve göç durur. Yeterli miktarda altınla kaplanmış antikor-antijen kompleksi yakalayıcı antikorlara bağlanınca 20 dakika içinde gözle görülebilir berrak ve keskin bir kırmızı şerit oluşur. Eğer test edilen örnekte *Listeria* spp. yoksa (T) şeridinde kırmızı şerit oluşmaz. Sistemin iç kontrolü nedeniyle örnekte *Listeria* spp. olsun ya da olmasın, altınla işaretlenmiş antikorların fazlası (T) şeridinden devam ederek (C) şeridine gelir ve buradaki yakalayıcı antikorlarla bağlanarak bu şeridin kırmızı olarak görülmesini sağlar (14). Singlepath® *Listeria* test kiti flagella antijenlerinin varlığının belirlenmesi prensibine dayanmaktadır. *Listeria* spp.'nin 5 adet ısıya duyarlı flagella antijeni (H) ve 15 adet ısıya dayanıklı somatik (O) antijeni vardır. *Listeria* türlerinde bulunan A, B, C, D ve E flagella antijenlerinden en yaygın olarak bulunanı B antijenidir (1). *Listeria* spp. 30 °C'de geliştirildiği zaman dört-beş adet peritrik flagellaya sahipken üreme sıcaklığı 35-37 °C'ye yükseltildiğinde flagella sayısı bire düşmekte ve pozitif reaksiyon çok zayıf gerçekleşmektedir (1, 15). Buna bağlı olarak bu sistemle yapılan *Listeria* analizinde inkübasyon sıcaklığı 28-30 °C olarak uygulanır.

Sandwich ELISA tekniği daha çok bir antikorla tanımlanabilen ancak en az iki farklı antijenik yapı taşıyan maddelerin saptanmasında önem taşır. Bu yöntemde aranan antijen, daha önceden katı bir taşıyıcıya tespit edilmiş antikora bağlanarak antijen+antikor kompleksi oluşturur ve işlem sonunda da antijen-antikor kompleksinin enzimle işaretli anti-antikor ile birleşmesi gerçekleşir ve renk değişikliği oluşur (16).

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Bu çalışmada çiğ süt ve süt ürünleri, dana eti, tavuk ve hindi eti, balık ve deniz ürünleri, sebze, şarküteri ürünleri ve tüketime hazır gıdalardan oluşan toplam 50 adet gıda materyal olarak kullanılmıştır. Denemelerde kullanılan gıdalar Ankara ve çevresindeki market, pazar ve süt işletmelerinden sağlanmıştır.

### Yöntem

Çalışmada esas amaç Sandwich ELISA sistemi ile çalışan immünokromatografik lateral akış hızlı test kitinin (Singlepath® *Listeria*; Merck) kullanılarak *Listeria* spp. analizinin yapılmasıdır.

Buna bağlı olarak üretici firma kullanma kılavuzu doğrultusunda; 25 g (mL) gıda örneği, ön zenginleştirme amacıyla selektif inhibitörleri yarı konsantrasyonda içeren (1/2) Fraser Broth'ta (Merck) homojenize edilmiş ve 28-30 °C'da 24 saat inkübasyondan sonra bu kültürden 0,1 mL alınıp, 10 mL 1/1 Fraser Broth'a (Merck) aktarılmış ve 28-30 °C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda selektif zenginleştirme kültüründen 1-2 mL alınarak kaynar su banyosunda 15 dakika bekletilmiş, oda sıcaklığına soğutulmuş, sonra oda sıcaklığına getirilmiş olan test kitine 160 µL aktarılıp 20 dakika süre ile kit gözlenmiş, bu süre içinde test (T) penceresinde kırmızı şerit görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Denemeler sırasında Fraser Broth'ta zenginleştirmeler sonunda *Listeria* spp. için tipik renk değişimleri (zeytin yeşili- siyah) izlenmiş ve kayda alınmıştır.

Çalışmada ayrıca, Fraser Broth'taki renk değişimine ve Singlepath® *Listeria* sonuçlarına bakılmaksızın her 2 zenginleştirme sonrasında PALCAM Agar'a (Merck) sürme yapılmıştır. 37 °C'da 24 saat inkübasyon sonunda elde edilen tipik *Listeria* kolonileri izole edilerek biyokimyasal ve fizyolojik esaslı testlerle tanımlanmıştır (3, 6). Bu amaçla izole edilen koloniler TSYE (Tryptone Soya Yeast Extract) Agar besiyerinde geliştirilmiş ve şeker testleri (mannitol, ramnoz, ksiloz) Phenol Red Broth Base besiyerinde, hemoliz ve CAMP (Christie-Atkins-Munch-Peterson) testi ise koyun kanlı agarda yapılmıştır.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

*Listeria* spp. varlığı açısından incelenen 50 örneğin 21'inde (%42) *Listeria* spp.'ye rastlanmıştır ve 10 örnekte (%20) *Listeria monocytogenes* pozitif bulunmuştur. Diğer *Listeria* türleri açısından sonuçlar incelendiğinde, 8 örnekte (%16) *L. innocua*, 3 örnekte (%6) *L. welshimeri* ve 2 örnekte de (%4) *L. seeligeri* belirlenmiştir. Ayrıca iki aynı örnekte 2 farklı *Listeria* türü izole edilerek karışık kontaminasyon olduğu belirlenmiştir.

Singlepath® Listeria kiti ile elde edilen pozitif sonuçlar ile PALCAM Agar'da teşhis edilen *Listeria* spp. sonuçları %100 uyumlu bulunmuştur. Sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir.

Fraser Broth besiyerinde *Listeria* türlerinin optimum gelişme koşulları yüksek besin maddesi içeriği ve tamponlama kapasitesi ile sağlanır. Refakatçi floranın gelişimi önemli ölçüde lityum klorür, naldiksik asit ve akriflavin hidroklorür ile baskılanır. *Listeria*'nın  $\beta$ -D-glucosidase aktivitesi eskulin ve amonyum demir (III) sitrat ile belirlenir. Eskulin, bu enzim ile eskuletin ve glikoza parçalanır. Eskuletin, demir (III) sitrat ile zeytin yeşili-siyah renk veren kompleks yapar. Dolayısıyla besiyeri renginin kararması *Listeria* türlerinin varlığını gösterir (7). Bununla birlikte standart analiz yöntemlerinde renk değişiminden bağımsız olarak her 2 zenginleştirme aşamasından da selektif katı besiyerine sürme yapılması gerektiği bildirilmektedir (2, 8).

Bu çalışmada 17 örnekte Fraser Broth besiyerinde tipik renk değişimi gözlemlendiği halde *Listeria* spp.'ye rastlanmamıştır. Bu, normal bir sonuçtur ve analiz edilen örnekte Fraser Broth besiyerinde gelişme gösterebilen ve  $\beta$ -D-glucosidase enzimine sahip başka türlerin bulunması beklenebilir. Nitekim 5 örnekte selektif zenginleştirme aşamasında tipik renk değişimi gözlenmemiştir. Bu sonuç, bu örneklerdeki refakatçi floranın baskılanması ile açıklanabilir.

Ancak, ilginç olarak 2 örnekte ("sosis 1" ve "hindi eti 1") Fraser Broth besiyerinde renk değişimi olmadığı halde *Listeria* pozitif sonuç alınmıştır. Bunlardan "sosis 1" örneğinde ön zenginleştirme aşamasında renk değişimi gözlenmiş ancak selektif zenginleştirmede renk değişimi gözlenmemiştir. "Hindi eti 1" örneğinde ise her iki aşamada da renk değişikliği olmamıştır.

Bu bulgu, standart analiz yöntemlerinde yapılan uyarıyı doğrulamaktadır. Fraser Broth besiyerinde renk değişimine göre verilecek kararlarda yanılığa düşülebileceği, benzer sonuçlar elde eden diğer araştırmacılar tarafından da gösterilmiştir (17, 18). Fraser Broth'ta refakatçi bakteriler (*Bacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp.) düşük sayıda ( $10^2$  kob/mL'den daha az) olmasına rağmen selektif maddelerin varlığında üreyerek eskulini hidrolize etmekte ve siyahlaşma oluşturmaktadır (19).

Bu çalışmada ayrıca selektif zenginleştirme aşamasında bazı tüpler yeşil kahve renk almış ve yüzeyde siyah bir tortu görülmüştür, bazı tüplerde ise besiyeri açık kahve renk almıştır.

Tüm bu bulgular, Fraser Broth besiyerinde renk değişimine göre *Listeria* pozitif ya da negatif şeklindeki kararın yanıltıcı olacağını göstermektedir. Fraser Broth besiyerinde 24 saatlik inkübasyon sonunda siyahlaşmanın gerçekleşmesi için en az  $10^3$  kob/mL *Listeria* olması gerektiği bildirilmiştir (17). Eğer örnekte daha düşük sayıda *Listeria* bulunuyorsa eskulin hidrolizi reaksiyonunun gerçekleşebilmesi için inkübasyon süresinin uzatılması gerekmektedir. Bu süre selektif zenginleştirme için 48 saat olarak verilmektedir. Ön zenginleştirmede ise refakatçi floranın baskılanması endişesi ile inkübasyon süresi 24 saat olarak tutulmaktadır (19, 20).

Bu çalışmada farklı zenginleştirme aşamalarından elde edilen *Listeria* türlerinde de farklılık olduğu belirlenmiştir. "Pasta 1" örneğinde ön zenginleştirmede *L. innocua*, selektif zenginleştirmede *L. innocua* ve *L. welshimeri*; "hindi eti 3" örneğinde sadece ön zenginleştirmede *L. monocytogenes*; "tavuk eti 1" örneğinde ön zenginleştirmede *L. monocytogenes* ve *L. innocua*, selektif zenginleştirmede sadece *L. innocua*; palamut örneğinde ise sadece selektif zenginleştirmede *L. monocytogenes* izole edilmiştir.

Selektif zenginleştirme aşamasında *L. innocua*'nın *L. monocytogenes*'in üremesini baskılama eğiliminde olduğu ve 1/2 Fraser Broth'taki pozitif örneklerin %55.9 düzeyinde kaybolduğu ve bunun *L. innocua*'nın aşırı gelişiminden kaynaklandığı laboratuvarlar arası çalışmada belirlenmiştir. Ayrıca PALCAM Agar'da da *L. innocua*'nın *L. monocytogenes*'ten daha hızlı üremesi sonucunda *L. monocytogenes* kolonileri maskelenerek sadece negatif sonuçlar alınabilmektedir. 14 Avrupa ülkesinde 19 laboratuvarın katıldığı ortak bir çalışma sonucunda, test materyalinde yüksek sayıda *L. innocua* olması halinde tüm gıda çeşitlerinde *L. monocytogenes*'in teşhis edilemediği bildirilmiştir (21, 22). 1/1 Fraser Broth'taki akriflavin miktarı 1/2 Fraser Broth'takinin iki mislidir ve akriflavinin *L. monocytogenes*'in hem lag süresini hem de generasyon zamanını etkilediği, *L. innocua*'ya ise hemen hemen hiçbir etkisi olmadığı bilinmektedir (23). Selektif zenginleştirme besiyerinde *L. innocua*'nın ortama hâkim olup, *L. monocytogenes*'in üremesini baskılmasının nedeninin akriflavinin bu etkisi olduğu düşünülmektedir.

*L. monocytogenes*'in halk sağlığı açısından önemi nedeni ile standart analiz yöntemi diğer patojenlerin analizine göre daha farklılık göstermektedir. Buna göre, ön zenginleştirme sonrası ile selektif

## Gıdalarda Lateral Akış Testi ile *Listeria* Analizi

Çizelge 1. *Listeria* analiz ve tanımlama sonuçları

Gıda	Fraser B Siyahlaşma <sup>1</sup>	Singlepath® <i>Listeria</i>	PALCAM 1 <sup>2</sup>	PALCAM 2 <sup>3</sup>
Çiğ Süt 1	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Çiğ Süt 2	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Çiğ Süt 3	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. innocua</i>	<i>L. innocua</i>
Çiğ Süt 4	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Çiğ Süt 5	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Peynir 1	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Peynir 2	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Peynir 3	+ / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Peynir 4	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. innocua</i>	<i>L. innocua</i>
Peynir 5	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Sosis 1	+ / -	<i>Listeria</i> +	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Sosis 2	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. welshimeri</i>
Sosis 3	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Sosis 4	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Sosis 5	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Salata 1	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Salata 2	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Salata 3	+ / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Salata 4	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Salata 5	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. innocua</i>	<i>L. innocua</i>
Pasta 1	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Pasta 2	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Pasta 3	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. innocua</i>	<i>L. innocua</i> <i>L. welshimeri</i>
Pasta 4	+ / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Pasta 5	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Soya filizi	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. innocua</i>	<i>L. innocua</i>
Lahana	+ / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Marul	+ / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Turp	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Patates	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. welshimeri</i>
Hindi eti 1	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. seeligeri</i>
Hindi eti 2	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. innocua</i>	<i>L. innocua</i>
Hindi eti 3	- / -	<i>Listeria</i> +	<i>L. monocytogenes</i>	-
Hindi eti 4	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Hindi eti 5	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Kıyma 1	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Kıyma 2	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. innocua</i>	<i>L. innocua</i>
Kıyma 3	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Kıyma 4	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Kıyma 5	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Tavuk eti 1	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. monocytogenes</i> <i>L. innocua</i>	<i>L. innocua</i>
Tavuk eti 2	- / -	<i>Listeria</i> -	-	-
Tavuk eti 3	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. seeligeri</i>
Tavuk eti 4	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Tavuk eti 5	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Hamsi	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Alabalık	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Somon	+ / +	<i>Listeria</i> -	-	-
Palamut	+ / +	<i>Listeria</i> +	-	<i>L. monocytogenes</i>
İstavrit	+ / +	<i>Listeria</i> +	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>

1: İlk işaret ön zenginleştirmede, 2. işaret selektif zenginleştirme renk değişikliğini göstermektedir.

2: PALCAM 1: Ön zenginleştirme sonrasında PALCAM Agar'dan izole edilen *Listeria* türleri.

3: PALCAM 2: Selektif zenginleştirme sonrasında PALCAM Agar'dan izole edilen *Listeria* türleri.

zenginleştirmenin 24 ve 48. saatlerinde selektif katı besiyerine sürme yapılmaktadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, bu analiz şeklinin gerekli olduğu-nu göstermiştir.

Bu çalışmada kullanılan ve Sandwich ELISA sistemi ile çalışan immünokromatografik lateral akış test kiti ile tümüyle tatmin edici sonuçlar alınmıştır. Bu gibi kitler ile *Listeria* analizinde kayda değer ölçüde zaman kazancı sağlanmaktadır ve en önemli olarak Petri kutusunda refakatçi flora baskılaması gibi olumsuzluklar söz konusu değildir.

Denemeler sonunda elde edilen *Listeria* sonuçları, gerek kendi içinde gerek Türkiye’de yapılmış olan diğer tarama çalışmaları ile kıyaslanmamıştır. Bunun nedeni, selektif zenginleştirme aşamasının, standart analiz yöntemi dışında 28-30 °C’da ve sadece 24 saat olarak yapılmış olmasıdır. Dolayısı ile bulgular, sadece bu koşullar altında hangi türlerin izole edildiğini göstererek diğer araştırmacılara kaynak sağlamaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Koçan D, Halkman AK. 2006. *Listeria monocytogenes* ve Listeriozis. *GIDA*, 31(3): 133-140.
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2009. Preliminary FoodNet Data on the Incidence of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food- 10 States. 2008. *Morbidity and Mortality Weekly Reports*. 58(13)333-337.
3. Hitchins AD. 2003. Chapter 10 Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods *Bacteriological Analytical Manual Online*. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-10.html> (Accessed 10 March 2005).
4. Koçan D. 2007. *Listeria monocytogenes*’in Belirlenmesinde Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 185 s.
5. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. 2000. *Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology*. 9<sup>th</sup> Edition. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, USA, 787 p.
6. Doğan HB. 2000. *Listeria monocytogenes*. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. 2. baskı. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü yayını. Sim Matbaacılık, Ankara, Türkiye, s. 373-386.
7. Halkman AK (ed). 2005. *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları Merck*. Başak Matbaacılık, Ankara, Türkiye, 358s.
8. ISO 11290-1. 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: Detection method. Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data.
9. Vlaemynck G, Lafarge V and Scotter S. 2000. Improvement of the *Listeria monocytogenes* by the application of ALOA, a diagnostik, chromogenic isolation medium. *J Appl Microbiol*, 88, 430-441.
10. Mercanoğlu Taban B, Aytaç SA. 2008. Tavuk etlerinde *Salmonella* spp. belirlenmesine yönelik hızlı bir yöntem. *GIDA*, 33 (5): 205-211.
11. Raugel PJ. 1999. *Rapid Food Analysis and Hygiene Monitoring*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 921 p.
12. Tortorello ML, Gendel SM. 1997. *Food Microbiological Analysis; New Technologies*. Marcel Dekker, New York, USA, 360 p.
13. Noveir MN, Doğan HB, Halkman AK. 2002. Kıymalarda *E. coli* O157:H7 aranmasında EZ Coli Kiti kullanımını üzerine araştırma. *GIDA*, 27 (5): 361-36714. Anon 2009. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Hızlı Kitler. <http://www.mikrobiyoloji.org> (Erişim tarihi 23.01.2009).
15. Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS. 1999. *Özel Mikrobiyoloji*. Medisan Yayınevi, Ankara, Türkiye, 362s.
16. Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS. 1998. *İmmünoloji*. Medisan Yayınevi, Ankara, Türkiye, 394s.
17. Fraser JA, Sperber WH. 1988. Rapid detection of *Listeria* spp. in food and environmental samples by esculin hydrolysis. *J Food Protect*, 51(10): 762-765.
18. Capita R, Calleja CA, Garcia-Arias MT, Moreno B, Garcia Fernandez MC. 2000. Evaluation of Fraser Broth to isolate *Listeria* from poultry. *Lebensm - Wiss u - Technol*, 33(8): 560-563.
19. Warburton DW, Farber JM, Armstrong A, Caldeira R, Tiwari NP, Babiuk T, Lacasse P, Read S. 1991. A Canadian comparative study of modified versions of the FDA and USDA methods for the detection of *Listeria monocytogenes*. *J Food Protect*, 54(9): 669-676.
20. Walker SJ, Archer P, Appleyard J. 1990. Comparison of the *Listeria*-Tek ELISA kit with cultural procedures for the detection of *Listeria* species in foods. *Food Microbiol*, 7: 335-342.
21. Johansson T, Ahola-Luttila H, Pirhonen T, Taimisto A-M, Haario H, Laine M, Salkinoja-Salonen M. 2000. Improved detection of *Listeria monocytogenes* in soft mould-ripened cheese. *J Appl Microbiol*, 88: 870-876.
22. Scotter SL, Langton S, Lombard B, Schulten S, Nagelkerke N, In’t Veld PH, Rollier P, Lahellec C. 2001. Validation of ISO method 11290 Part 1- Detection of *Listeria monocytogenes* in foods. *Int. J. Food Microbiol*, 64: 295-306.
23. Beumer RR, te Giffel MC, Anthonie SVR, Cox LJ. 1996. The effect of acriflavine and nalidixic acid on the growth of *Listeria* spp. in enrichment media. *Food Microbiol*, 13: 137-148.