

Listeria monocytogenes'in İzolasyon Yöntemleri

Yrd. Doç. Dr. Süeda ÇELİK, Yrd. Doç. Dr. Ayhan TEMİZ

H.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü — ANKARA

GİRİŞ

Listeria monocytogenes son yıllarda gıdalarla bulaşan patojen bir mikroorganizma olarak gıda endüstrisinde önemli bir sorun haline gelmiştir. *L. monocytogenes* insanlarda ve hayvanlarda öldürücü olabilen Listeriosis hastalığının etkenidir (FARBER ve LOSOS, 1988). Hamile kadınlar, yeni doğmuş bebekler ve immüna yetersizliği görülen yetişkinlerde hastalığa yakalanma eğilimi daha fazladır (MARTH, 1988; KAYTANLI ve KAYTANLI, 1989). Özellikle 1983 yılından itibaren *L. monocytogenes* bulaşılı Meksika tipi beyaz peynir ve pastörize sütlerin neden olduğu en az 150 listeriosis vakasının ortaya çıkması ve bunların 54'ünün ölümle sonuçlanması (RYSER ve MARTH, 1988) dikkatleri bu mikroorganizma üzerine çevirmiş ve bu konuda yoğun araştırmalar başlatılmıştır.

L. monocytogenes doğada çok yaygın olarak bulunan bir bakteridir. Bu bakteri bugüne kadar toprak, çamur, bitkiler, evcil çiftlik hayvanları, kümes hayvanları, balık ve diğer deniz ürünleri, süt ve süt ürünleri, silolarda depolanan ürünler, yüzey suları, artık sular, dışkı ve lağım suları gibi pek çok kaynaktan izole edilmiştir (BROCKETT, 1988; AL-GHAZALI, 1988).

L. monocytogenes'in gelişebildiği sıcaklık sınırları 3 - 45°C olarak belirlenmiştir. Optimum gelişme sıcaklığı ise 30 - 37°C'dir. Gıda mikrobiyolojisi açısından en önemli özelliklerinden birisi buzdolabı koşullarında da üreyebilme yeteneğidir. Ayrıca bu bakteri yüksek sıcaklığa ve asitliğe de tolerans göstermektedir. pH 5'de gelişebildiği gibi, alkali pH derecelerine oldukça dayanıklılık gösterdiği ve sıvı ortamlarda pH 9,6 da gelişebildiği de belirtilmiştir. Diğer taraftan bu organizmanın sodyum klorür, nitrit, nisin gibi antimikrobiyal ajanlardan etkilenmediği ya da bu etkinin sınırlı olduğu ileri sürülmektedir (DOYLE, 1988). *L. monocytogenes*'in mikroaerofilik özellik gösteren bir bakteri olduğu belirtilmektedir (BRACKETT, 1988).

L. monocytogenes ile ilgili olarak gıda endüstrisi ve sağlık kuruluşlarını ilgilendiren ve

çözüm bekleyen pek çok sorun bulunmaktadır. En önemli güçlük, bu organizma için çabuk sonuçlandırılan ve kolay uygulanabilen izolasyon ve sayım yöntemlerinin tam olarak ortaya konulmaması ve yetersiz oluşudur. Diğer taraftan listeriosise neden olan minimum enfeksiyon dozu tam olarak belirlenememiştir. Gıda işletmelerinde özellikle pastürizasyon gibi ısı işlemler sırasında organizmanın yaşayabilme yeteneği konusundaki bilgiler ile organizmanın biyolojisi ve özellikle süt ve süt ürünleri ile diğer gıdalardaki davranış özellikleri hakkındaki bilgilerin yetersiz oluşu sorunları artırmaktadır (WEHR, 1987). *Listeria* sorunu çok sayıda kuruluş ve araştırma grubu tarafından çeşitli yönleri ile araştırılmakta ve *L. monocytogenes*'in izolasyon ve sayımına yönelik araştırmalara ağırlık verilmektedir.

L. monocytogenes direkt izolasyon besiyerlerinde yavaş ve zor gelişen bir bakteridir. Bu nedenle bakterinin gıdalardan direkt plaka yöntemiyle izolasyonu çabalarından her zaman başarılı sonuç alınmamaktadır. Çoğunlukla gıdalardaki sayısının az olması veya ısı işlem uygulamaları ya da soğukta muhafaza sırasında bakterinin zarar görmesi nedeniyle *L. monocytogenes*'in izolasyonunda bir veya iki zenginleştirme basamağı içerecek şekilde bir düzenlemeye gidilmektedir (AL-GHAZALI, 1988; LOVETT, 1988 a).

Bu makalede, *L. monocytogenes* için önerilen izolasyon yöntemleri ile bu yönde geliştirilmekte olan yeni ve hızlı bazı yöntemler ele alınarak irdelenmiştir.

Listeria monocytogenes'in İzolasyon Yöntemlerindeki Zenginleştirme Aşamaları.

Biyolojik materyallerden *L. monocytogenes*'i ayırmak için genellikle «soğuk zenginleştirme» yöntemi uygulanmaktadır. Bu yöntemle *L. monocytogenes*'in ortamdaki sayısı arttığı gibi, yöntemin uygulandığı 4°C'de mikroflorada yeralan diğer mikroorganizmaların gelişimi ya hiç olmamakta ya da gelişme önemsenmeyecek düzeylerde kalmaktadır. Bu yöntemde ya temel

veya ön zenginleştirme ya da yalnızca zenginleştirme basamağı kullanılmaktadır. 4°C'deki zenginleştirmenin en önemli dezavantajı, haftalar veya aylarca süren uzun bir inkübasyon dönemi gerektirmesidir (LOVETT, 1988 a). Soğuk zenginleştirme çeşitli araştırmacılar tarafından geliştirilen değişik yöntemlerde kullanılmıştır (RODRIGUEZ ve ark., 1984; DOYLE ve SCHOENI, 1986; 1987; FARBER ve SPEIRS, 1987; HAYES ve ark., 1986; RYSER ve MARTH, 1987 a, b.).

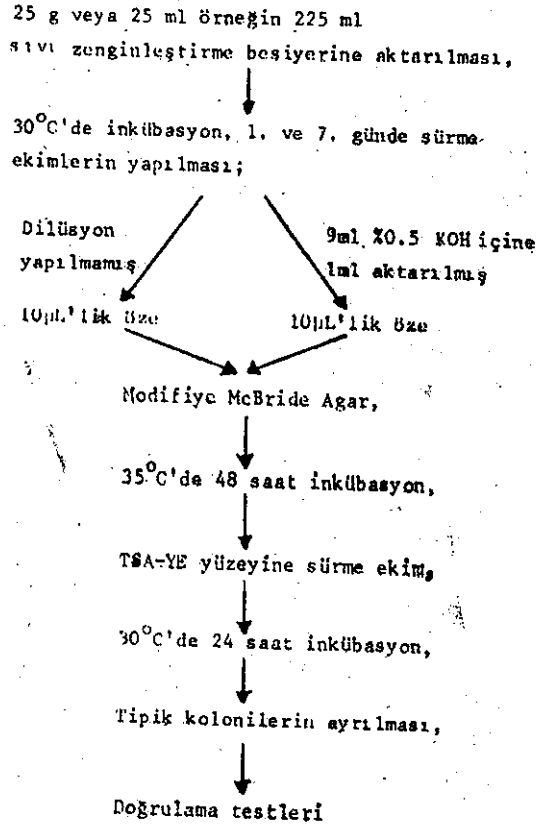
Daha sonra yapılan araştırmalarda ortamdaki diğer mikroorganizmaların üremesini engelleyerek *Listeria*'ların gelişmesi için zenginleştirme formülasyonlarında bazı inhibitör maddeler kullanılmaya başlanmıştır. Böylece zenginleştirme aşamasında inkübasyon sıcaklığı olarak bu bakterilerin optimum gelişme sıcaklığı kullanılabilmüş, ayrıca inkübasyon için gerekli süre haftalardan günlere düşürülebilmıştır (LOVETT, 1988 a).

İki aşamalı zenginleştirme yöntemi HAYES ve Ark., (1986) tarafından 1983 yılının Temmuz-Ağustos aylarında Massachusset'te pastörize sütten kaynaklanan çok sayıda *Listeriosis* vakalarının araştırılması için kullanılmıştır. Bu yöntemde 50 ml süt örneği tamponlanmış ve tamponlanmamış Nutrient Broth besiyerine ayrı ayrı aktarılmış ve 4°C'de 1 aydan daha fazla bir süre ile inkübe edilmiştir. 1. hafta ve 1. ayda zenginleştirme kültürlerinden, Mc Bride *Listeria* Agar veya Martin Agar izolasyon besiyerlerine sürme ekimleri yapılmıştır. Aynı zaman aralıklarında ön zenginleştirme kültüründen 0,1 ml alınarak ikinci zenginleştirme ortamına aşılama yapılmıştır. Bu ikinci zenginleştirme ortamı, 100 µg/ml nalidiksik asit ve % 3,37 oranında potasyum tiyosyanat ile desteklenmiş Nutrient Broth'dur. İkinci zenginleştirme kültürü 35°C de 24 saat inkübe edilmiş, daha sonra buradan izolasyon besiyeri yüzeyine sürme ekimleri yapılmıştır. Ayrıca ön zenginleştirme kültüründen bir eküvyon ile örnek alınarak tüpteki Stuart Transport besiyerine aşılanmış ve tüpler 25°C de bir hafta inkübe edilmiştir. Buradan izolasyon agar yüzeyine sürme ekim yapılmıştır.

İki aşamalı zenginleştirme yöntemi kullanılarak çiğ süt ve ürünlerinde *L. monocytogenes*'in izole edilebileceği bildirilmektedir (DOYLE ve SCHOENI, 1987; SLADE ve COLLINS THOMPSON, 1987). İki aşamalı zenginleştirme yöntemi sığır etinden *L. monocytogenes* izolasyonu için de kullanılmıştır. Bu araştırmada iki farklı zenginleştirme besiyeri karşılaştırmalı olarak denenmiştir. Ön zenginleştirmede Donnelly ve Baigent (DB)'in *Listeria* Enrichment Broth besiyeri ve at serumu ile Tween 80 içeren *Listeria* Test Broth (LTB) besiyeri kullanılmıştır. İkinci zenginleştirmede de aynı besiyerleri kullanılmış ancak bunların herbirine 12 mg/L düzeyinde akriflavin eklenmiştir. Akriflavin bir çok Gram (+) bakterinin üremesini inhibe etmektedir (TRUSCOTT ve McNAB, 1988). Et ürünleri ve kümes hayvanlarından *L. monocytogenes* izolasyonunun, iki aşamalı zenginleştirme yönteminde yapılan yeni bazı modifikasyonlarla 3-4 günde gerçekleştirilebileceği belirtilmektedir. Bu araştırmada ön zenginleştirme ortamına da inhibitör maddeler eklenmiştir (McCLAIN ve LEE, 1988).

DOYLE ve SCHOENI (1986) *L. monocytogenes*'in mikroaerofilik özelliğinden yararlanarak bir selektif zenginleştirme yöntemi (Selective Enrichment Procedure; SEP) geliştirmişlerdir. Bu yöntemde gıda örneği Triptose Broth'a aşılanmakta ve % 5 O₂, % 10 CO₂ ve % 85 N₂ içeren bir atmosferde, 37°C de 48 saat süreyle 100 rpm de çalkalanarak inkübe edilmektedir. Zenginleştirmeden sonra kültürden McBride *Listeria* Agar besiyeri yüzeyine sürme ekimleri yapılmaktadır. Araştırmacılar biyolojik materyallerden *L. monocytogenes* izolasyonunda SEP'in direkt plaka yöntemi ve soğuk zenginleştirme yöntemleriyle karşılaştırılmasına yönelik bir araştırma gerçekleştirmişlerdir. SEP kullanılarak, diğer iki yöntemle göre sırasıyla 2 ve 5 kez daha fazla *L. monocytogenes* izole edildiği bildirilmektedir (DOYLE ve SCHOENI 1986). Bununla beraber, aynı araştırmacıların daha sonra yaptıkları bir araştırmada SEP'in yumuşak peynirlerden *L. monocytogenes* izolasyonunda soğuk zenginleştirme ve Food and Drug Administration (FDA) yöntemi kadar iyi sonuç vermediği belirtilmektedir (DOYLE ve SCHOENI 1987).

LOVETT ve Ark., (1987)'nin gıdalardan *L. monocytogenes* izolasyonu ve tanımlanması için geliştirdikleri ve FDA yöntemi olarak isimlendirilen yöntemin bugün için Avrupa ve Amerika'da bu organizmanın izolasyonu için en çok başvurulan yöntem olduğu bildirilmektedir. Bu yöntem, süt ve süt ürünleri ile özellikle de dondurma ve peynirlerden *Listeria* izolasyonu için başarıyla kullanılmaktadır (LOVETT, 1988 a,b). FDA yönteminde (Şekil-1) selektif bir



Şekil 1. Gıdalardan *L. monocytogenes* izolasyonunda FDA yöntemi (LOVETT, 1988 a).

besiyerinde tek bir zenginleştirme aşaması bulunmaktadır. Selektif besiyeri; % 0,6 yeast ekstrakt, 15 mg/L akriflavin HCl, 40 mg/L nalidiksik asit ve 50 mg/L sikloheksimit içeren Trypticase Soy Broth'dur. 25 ml test örneği 225 ml zenginleştirme besiyerine ektiler ve 30°C'de 7 gün inkübe edilmektedir. 24 saat ve 7. günde hem % 0,5 KOH içinde 1/10 oranında dilüe edilen kültürlerden hem de orjinal kültürden ayrı ayrı Modifiye McBride Agar besiyeri yüzeyine sürme ekimleri yapılarak 35°C

de 48 saat inkübasyonları sağlanmakta ve daha sonra Henry aydınlatma tekniği kullanılarak bakterinin bulunup bulunmadığı kontrol edilmektedir. |

L. monocytogenes izolasyonu için önerilen daha karmaşık bir yöntemde ise 3 ön zenginleştirme, 3 ikinci zenginleştirme ve bir izolasyon besiyeri kullanılmıştır. İzolasyon besiyeri amonyum ferrik sülfat, nalidiksit asit ve akriflavin içermektedir. Araştırmacılar bu yöntemin bakterinin izolasyonu için soğuk zenginleştirme yönteminden daha etkili olduğunu belirtmişlerdir (CASSIDAY ve BRACKETT, 1989).

LEE ve McLAIN (1986) in gıdalardan *Listeria* izolasyonu için geliştirdikleri yöntemde sadece akriflavin konsantrasyonu farklı olan aynı zenginleştirme besiyerlerini kullanarak iki aşamalı zenginleştirme yolunu izlemişlerdir. Geliştirdikleri izolasyon agar besiyeri (LICI-phenylethanol-moxalactam; LPM) bir β -lactam antibiyotik olan moksalaktam içermektedir. Moksalaktamın besiyerinde *Staphylococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas* türlerinin de dahil olduğu bir çok Gram (+) ve Gram (-) bakterinin gelişimini engellediğini bildirmişlerdir (LEE ve McCLAIN, 1986).

Listeria monocytogenes için İzolasyon Yöntemleri

L. monocytogenes'in izolasyonunda en çok McBride *Listeria* Agar (MLA), Modifiye McBride *Listeria* Agar (MMLA), Martin Agar (Gum Base Nalidixic Acid ;GBNA) besiyerleri kullanılmaktadır. Kan içermeyen ve sikloheksimit eklenerek hazırlanan MMLA, aynı GBNA besiyerinde olduğu gibi 45° açı ile gelen beyaz ışık varlığında incelendiğinde (Henry aydınlatma tekniği) *Listeria* kolonilerinin tanımlanmasını engellemeyecek kadar şeffaf olup, besiyerindeki *Listeria* kolonileri mavimsi, mavimsi-griye değişen renklerde görülmektedir. Bu amaçla açısı ayarlanabilen ışık kaynağına sahip bir stereomikroskopun kullanılması daha yararlı olmaktadır. Kan veya ferrik amonyum sitrat içeren agarlı besiyerlerindeki kolonilerin tanımlanması şeffaf besiyerlerine göre daha zordur. *Listeria* olarak değerlendirilen tipik görünümü kolonilerin saflık kontrollerinin yapılması için, MMLA besiyerindeki mavimsi kolonilerin

% 0,6 yeast ekstrakt içeren Trypticase Soy Agar (TSA - YE) besiyerine sürme ekimlerinin yapılması önerilmekte ve 30°C de 24 saat inkübas-yondan sonra oluşan izolatlarla doğrulama testlerinin uygulanması yararlı görülmektedir (LOVETT, 1988 a).

En çok kullanılan izolasyon besiyerleri Mc Bride veya modifikasyonları olmasına rağmen diğer bazı izolasyon besiyerlerinde değişik araştırmalarda başarıyla kullanıldığı bildirilmektedir (AL-GHAZALI, 1988; LOVETT, 1988 a; CASSIDAY ve BRACKETT, 1989). Bunlardan LPM besiyeri et ürünlerindeki *Listeria*'ların izolasyonu için önerilmiş (LEE ve McCLAIN, 1986) ve bu besiyeri süt örnekleri ve bazı taze seb-zeler içinde denenmiştir (HEISICK ve ark., 1989). Jambonlardan bu bakterinin izolasyonu için yapılan bir araştırmada 10 farklı besiyeri içinde LPM'nin en uygun izolasyon ortamı ol-duğu bildirilmiştir (CASSIDAY ve ark., 1989).

Listeria monocytogenes için Doğrulama Testleri

İzolasyon besiyerinden ayrılan izolatların doğrulanması için, katalaz reaksiyonu ve Gram boyanma özelliklerinin belirlenmesinden önce «Yaş Preparasyon» ile hareket muayenelerinin yapılması önerilmektedir. Yaş preprasyonda yavaş taklalar atan veya eksenî etrafında dön-me hareketleri yapan, çubuk şekilli küçük bak-teriler jleri bir doğrulama için biyokimyasal testlerden geçirilmelidir (LOVETT, 1988 a). *L. monocytogenes* için uygulanan biyokimyasal testlerden bazıları ve alınan sonuçlar şöyledir : Gram (+); katalaz (+), glukoz (+), maltoz (+), ramnoz (+), salisin (+), eskulin (+), trehaloz (+), levuloz (+), mannitol (—), dul-sitol (—), ksiloz (—), arabinoz (—), raffinöz (—), inisitol (—), inulin (—), jelatin hidrolizi (—), üre hidroliz (—), nitrat indirgenmesi (—), Voges Proskauer (+), metil red (+), β -hemoliz (+) (ALGHAZALI, 1988; LOVETT, 1988 a).

L. monocytogenes zayıf hemolitik özellik göstermekte, koyun kanlı Agar besiyerine sep-lama ekim yapıldığında hemolitik zonu görme olasılığı artmaktadır. CAMP testi hemolizleri doğrulamak veya saptamak için kullanılan diğer bir yöntemdir (LOVETT, 1988 a).

Serolojik testler, her ne kadar bu bakteri-nin doğrulanmasında kullanılmıyorsa da bir izo-latin sınıflandırılmasını desteklemek için kulla-nılabilmektedir. Patojenite testleri ise bazı du-rumlarda *L. monocytogenes*'in sınıflandırılması-nı doğrulamak için kullanılmaktadır (LOVETT, 1988 a).

Listeria monocytogenes'in İzolasyonu için Hızlı Yöntemler.

Yukarıda açıklanan zenginleştirme izolas-yon ve doğrulama aşamalarından sonuç alınma-sı için pek çok yöntemde yaklaşık iki haftalık bir süreye gereksinim vardır. Bu sürenin kısal-tılması için yoğun araştırmalar yapılmaktadır.

DONNELLY ve BAIGENT (1986)'in geliştiri-diği bir yöntemde, çiğ sütlerde floresansla işaretlenmiş bakteri popülasyonundan «flow cytometric» analizle *L. monocytogenes*'in belirlenmesi amaçlanmıştır. Ancak bu yöntemin pahalı ekipman gerektirmesi bir çok labora-tuar için dezavantajdır.

FARBER ve SPEIRS (1987) gıdalarda *List-eria* türlerini belirlemek için «Enzyme Immuno Assay» (EIA)'i temel alan bir yöntem kullan-mışlardır. Bu yöntemde *Listeria* türlerinin fla-gellar antijenlerine karşı monoklonal antikorlar kullanılmaktadır. EIA yönteminin gıda mikrobi-yolojisinde mikroorganizmaları ve bunların tok-sinlerini belirlemede çok kullanılan bir yöntem olduğu ve bunun hızlı, duyarlı, basit ve çok pahalı olmadığı ifade edilmektedir.

Spesifik monoklonal antikorlar kullanılarak «Enzyme - Linked Immunosorbent Assay» (ELISA) tekniği ile *Listeria*'ları hızlı bir şekilde be-lirlemeye dönükar aştırmaların sayısı hızla art-maktadır (BEUMER ve BRINKMAN, 1986; MAT-TINGLY ve ark., 1988).

Diğer bir yöntemde ise hemolitik *L. mo-nocytogenes* için geliştirilen «gen probe» kul-lanılmıştır. 500 baz çiftinden oluşan ve hemo-lizin geni içeren bir DNA parçası plasmid içine klon edilmiş ve «nick translation» kullanılarak 32 P ile işaretlenmiştir. Araştırmada çiğ süt ve yumuşak peynirler ele alınmıştır. Hazırlanan probe, LMP besiyeri kullanılarak ve direkt plaka yöntemiyle bu örneklerde bakterinin belirlen-mesi için kullanılmıştır. Ancak bu yöntemin,

Listeria kontaminasyonu 10 hücre/g dan daha fazla ise kullanılabilirliği belirtilmiştir (DATTA ve ark., 1988).

Gıdalarda *Listeria*'ların belirlenmesi için en son geliştirilen bir yöntemde yine gen probe'lar kullanılmaktadır. KLINGER ve Ark., (1988) bu konuda 16 S rRNA dizilişine dayalı bir nükleik asit hibridizasyon yöntemi tarif etmişlerdir. Bu yöntemle 2,5 günde *Listeria* izolasyonunun mümkün olduğu ve bu yöntemin FDA yönteminden daha iyi olduğu belirtilmektedir.

Diğer taraftan son bir kaç yıldır gıdalardan *L. monocytogenes*'in izolasyon ve sayımı için direkt plaka yöntemleri geliştirme konusunda yapılan araştırmalar da yoğunluk kazanmıştır (CASSİDAY ve ark., 1989; HAO ve ark., 1987; GOLDEN ve ark., 1988; BUCHANON ve ark., 1987; SWAMİNATHAN ve ark., 1988).

SONUÇ

Listeria izolasyonu yıllar önce gerçekleştirilmiş olmasına rağmen, bu organizmanın izolasyonu bugün dahi uzun bir zaman almaktadır. Gıdalardan *L. monocytogenes* izolasyonu için kolay uygulanabilir ve kısa süren yöntem geliştirme çabaları sürdürülmektedir. Bu makalede yöntemlerin tümü üzerinde ayrıntılı bilgi vermek mümkün olmamış, yalnızca son birkaç yılda yayınlanan ve en çok kullanılan bazı yöntemler temel özellikleri ile ele alınmıştır. Henüz *L. monocytogenes* izolasyon yöntemlerinin hiçbirisi bütün gıdalar için uygun değildir. Soğuk zenginleştirme yöntemi, gıdalarda yüksek o-

randa diğer mikroorganizmaların bulunduğu mikrofloradan bu bakterinin izolasyonu için en uygun yöntem olarak değerlendirilmekte ancak çok uzun bir sürede sonuç alınmaktadır. Direkt plaka yöntemleri ise daha az kontamine olmuş gıdalar için kullanılabilirlerdir. ELISA ve gen probe gibi moleküler biyoloji tekniklerinin kullanıldığı yöntem geliştirme araştırmaları da sürdürülmektedir. Moleküler biyoloji teknikleri ve direkt plaka yönteminin bir kombinasyonu, *L. monocytogenes*'in gıdalardan izolasyonu ve sayımı için yöntem geliştirme çabalarında umut verici bir aşama olarak düşünülmektedir.

Kaliforniya'da 1985 yılında patlak veren listeriosis vakalarında sonra bu hastalık Amerika'da bildirilmesi zorunlu hastalıklar listesine alınmıştır. FDA gıdalardaki *Listeria* türleri için, bir emniyet tedbiri olarak 25 g örnekte 1 organizmadan daha az bulunmalıdır koşulunu getirmiştir. Bugün Amerika'daki süt işletmelerinde *Listeria* kontrolleri sürekli olarak yapılmaktadır (CASSİDAY ve BRACKETT, 1989).

Ülkemizde de gıda sektöründe, özellikle de süt ve süt mamülleri üreten işletmelerde *L. monocytogenes*'e yönelik kontrollerin bir an önce başlatılması ve bakterinin izolasyon ve sayımının rutin olarak yapılabilmesi için bu araştırmalara hız verilmesi gereklidir. Diğer taraftan *Listeria*'nın gıdalarda bulunabileceği miktar konusunda bir sınırlama getirilmesi ve *Listeria* probleminin çeşitli yönleri ile ele alınarak, araştırmaların özendirilmesi ve hızlandırılması yararlı görülmektedir.

KAYNAKLAR

- AL-GHAZALI, M.R. 1988. Isolation procedure of *Listeria* species. *İnfeksiyon Dergisi* 2: 541-551.
- BEUMER, R.R., E. BRINKMAN. 1989. Detection of *Listeria* spp with a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Food Microbiol.* 6: 171-177.
- BRACKETT, R.E. 1988. Presence and persistence of *Listeria monocytogenes* in food and water. *Food Tech.* 42: 162-164.
- BUCHANAN, R.L., H.G. STAHL, D.L. ARCHER. 1987. Improved plating media for simplified, quantitative detection of *Listeria monocytogenes* in foods. *Food Microbiol.* 4: 269-275.
- CASSİDAY, P.K., RE. BRACKETT. 1989. Methods and media to isolate and enumerate *Listeria monocytogenes*: A review. *J. Food Prot.* 52: 207-214.
- CASSİDAY, P.K., RE. BRACKETT, L.R. BEUCHAT. 1989. Evaluation of ten selective direct plating media for enumeration of *Listeria monocytogenes* in hams and oysters. *Food Microbiol.* 6: 113-125.
- DATTA, A.R., B.A. WENTZ, W.E. HILL. 1988. Identification and enumeration of beta-hemolytic *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated dairy products. *J. Assoc. off Anal Chem.* 71: 673-675.

- DONNELLY, C. W., G.J. BAIGENT. 1986. Method for flow cytometric detection of *Listeria monocytogenes* in Milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 52: 689 - 695.
- DOYLE, M.P., J.L. SCHOENI. 1986. Selective-enrichment procedure for isolation of *Listeria monocytogenes* from fecal and biologic specimens. *Appl. Environ. Microbiol.* 51: 1125 - 1129.
- DOYLE, M.P., J.L. SCHOENI. 1987. Comparison of procedures for isolating *Listeria monocytogenes* in soft, surface-ripened cheese. *J. Food. Prot.* 50: 4 - 6.
- DOYLE, M.P. 1988. Effect of environmental and processing conditions on *Listeria monocytogenes*. *Food Tech.* 42: 169 - 171.
- FARBER, J.M., J.I. SPEIRS. 1987. Monoclonal antibodies directed against the flagellar antigens of *Listeria* species and their potential in EIA-based methods. *J. Food Prot.* 50: 479 - 484.
- FARBER, J.M., J.Z. LOSOS. 1988. *Listeria monocytogenes*: a food borne pathogen. *CMAJ.* 138: 413 - 418.
- GOLDEN, D.A., L.R. BEUCHAT, R.E. BRACKETT. 1988. Evaluation of selective direct plating media for their suitability to recover uninjured, heatinjured, and freeze-injured *Listeria monocytogenes* from Foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 1451 - 1456.
- HAO, D.Y.Y., L.R. BEUCHAT, R.E. BRACKETT. 1987. Comparison of media and methods for detection and enumerating *Listeria monocytogenes* in refrigerated cabbage. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 955 - 957.
- HAYES, P.S., J.C. GEELEY, L.M. GRAVES, G. W. FLEMING, D.W. FLEMING. 1986. Isolation of *Listeria monocytogenes* from raw milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 51: 438 - 440.
- HEISICK, J.E., F.M. HARRELL, E.H. PETERSON, S. McLAUGHLIN, D. WAGNER, E. WESLEY, I.V. BRYNER. 1989. Comparison of four procedures to detect *Listeria* spp in Foods. *J. of Food Prot.* 52: 154 - 157.
- KAYTANLI, M., F.E. KAYTANLI. 1989. *Listeria monocytogenes*'in gıdalarla olan kişisel özellikleri, izolasyon ve patojenitesi. *GIDA* 14 (1) 57 - 62.
- KLINGER, J.D., A. JOHNSON, D. CROAN, P. FLYNN, K. WHIPPİE, M. KIMBALL, J. LAWRIE, M. CURRIALE. 1988. Comparative studies of nucleic acid hybridization assay for *Listeria* in foods. *J. Assoc. off. Anal. Chem.* 71: 669 - 673.
- LEE, W.H., D. McCLAIN. 1986. Improved *Listeria monocytogenes* selective agar. *Appl. Environ. Microbiol.* 52: 1215 - 1217.
- LOVETT, J., D.W. FRANCIS, J.M. HUNT. 1987. *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence, and pathogenicity. *J. Food Prot.* 50: 188 - 192.
- LOVETT, J. 1988 a. Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes*. *Food Tech.* 42: 172 - 175.
- LOVETT, J. 1988 b. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in dairy products. *J. Assoc. off. Anal. Chem.* 71: 658 - 660.
- MARTH, E.H. 1988. Disease characteristics of *Listeria monocytogenes*. *Food Tech.* 42: 165, 168.
- MATTINGLY, J., B.T. BUTMAN, M.C. PLANK, R.J. DURHAM. 1988. Rapid monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Listeria* in food products. *J. Assoc. off. Anal. Chem.* 71: 679-681.
- McCLAIN, D., W.H. LEE. 1988. Development of USDA - FSIS method for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw meat and poultry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 71: 660 - 664.
- RODRIGUEZ, D., G.S. FERNANDEZ, F. GARAYZABAL, E.A. FERRI. 1984. New methodology for the isolation of *Listeria monocytogenes* from heavily contaminated environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 1188 - 1190.
- RYSER, E.T., E.H. MARTH. 1987 a. Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of cheddar cheese. *J. Food Prot.* 50: 7 1-3.
- RYSER, E.T., E.H. MARTH. 1987 b. Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of camembert cheese. *J. Food Prot.* 50: 372 - 378.
- PYSER, E.T., E.H. MARTH. 1988. Survival of *Listeria monocytogenes* in cold-pack cheese food during refrigerated storage. *J. Food Prot.* 51: 615 - 621.
- SLADE, P.J., D.L. COLLINS - THOMPSON. 1987. Two-stage enrichment procedures for isolating *Listeria monocytogenes* from raw milk. *J. Food Prot.* 50: 904 - 908.
- SWAMINATHAN, B, P.S. HAYES, V.A. PRZYBYSEWSKI. 1988. Evaluation of enrichment and plating media for isolating *Listeria monocytogenes*. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 71: 664 - 668.
- TRUSCOTT, R.B. W.B. McNAB. 1988. Comparison of media and procedures for the isolation of *Listeria monocytogenes* from ground beef. *J. Food Prot.* 51: 626 - 628.
- WEHR, H.M. 1987. *Listeria monocytogenes* - A current dilemma. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 70: 769 - 771.