

ARAŞTIRMA MAKALESİ

RESEARCH ARTICLE

Kayseri’de satışı sunulan çiğ süt numunelerinde *Listeria monocytogenes* varlığının klasik kültür yöntemi ile belirlenmesi

Kemal ÖZKAYA, Yeliz YILDIRIM*

Kocatepe Vet J (2010) 3 (2): 25-29

Anahtar Kelimeler

Çiğ süt
Listeria monocytogenes
Listeria spp
ISO 11290-1/A1-2004

Key Words

Raw milk
Listeria monocytogenes
Listeria spp
ISO 11290-1/A1-2004

Erciyes Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Besin Hijyeni ve Teknolojisi AD
Kayseri
Türkiye

* Corresponding author

Email: yyildirim@erciyes.edu.tr
Tel: +90 352 3380006/181
Fax: +90 352 3392312

ÖZET

Bu çalışmada Kayseri’de açıkta satılan çiğ süt örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığını ortaya koymak amaçlanmıştır. Bu amaçla Mayıs-Eylül 2009 aylarında farklı sokak sütçüleri tarafından satışı sunulan toplam 50 adet çiğ süt örneği ISO 11290-1/A1-2004’da önerilen *L. monocytogenes* izolasyon prosedürüne göre analiz edilmiştir. Elde edilen izolatlar Microbact test kitinde biyokimyasal özellikleri açısından değerlendirilerek tür tayini yapılmıştır. Örneklerden 11’inin (%22) *Listeria* türleri ile kontamine olduğu, bunlardan 6’sının (%12) sadece *L. monocytogenes* ile, 3 tanesinin (%6) sadece *L. ivanovii* ile, 1 tanesinin (%2) sadece *L. seeligeri* ile, 1 tanesinin (%2) ise hem *L. monocytogenes* hem de *L. grayi* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Genel olarak 50 çiğ süt örneğinden toplam 7 tanesinin (%14) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu, 39’unun (%78) *Listeria* türlerini içermediği ortaya konmuştur. Çalışmada elde edilen verilere göre, Kayseri’de sokakta satılan çiğ sütlerden kaynaklanan mikrobiyolojik riskin, çiğ sütün ne amaçla kullanılacağına göre değerlendirilmesi gerektiği, ısı işlemi uygulanarak süt ürünü yapımında kullanılacaksa riskin minimal düzeylerde kalırken, ısı işlemi uygulanmadan direk tüketim söz konusu olduğunda çiğ sütlerde *L. monocytogenes* varlığının halk sağlığı açısından bir tehlike yaratabileceği sonucuna varılmıştır. Dolayısıyla sonuçlar Kayseri’de satışı sunulan çiğ süt örneklerinin *L. monocytogenes* açısından göz ardı edilmemesi gereken potansiyel bir halk sağlığı risk unsuru olduğunu ortaya koymaktadır.

●●●

Detection of *Listeria monocytogenes* in raw milk samples retailed in Kayseri by classical cultural technique

SUMMARY

This study was conducted to detect *Listeria monocytogenes* in raw milk samples sold at retail in Kayseri. Total of 50 raw milk samples collected from May to September 2009 were examined as recommended by *L. monocytogenes* isolation protocols of ISO 11290-1/A1-2004. Obtained isolates were biochemically identified at spp. level by Microbact test kit. The results yielded that, 11(22%) of raw milk samples were found contaminated with *Listeria* spp. Among these, 6 (12%), 3(6%), 1(2%) and 1(2%) of which were found contaminated with only *L. monocytogenes*, only *L. ivanovii*, only *L. seeligeri* and both with *L. monocytogenes* and *L. grayi* respectively. Overall, 7(14%) of 50 raw milk samples found to harbour *L. monocytogenes*. The results of this study indicated that the microbiological risk associated with the presence of *L. monocytogenes* in raw milk must be evaluated in relation to its final destination. When milk undergoes heat treatment which is then used to produce dairy products, the risk is minimal. But when used without any heat treatment, can be hazardous for public health. Therefore raw milk sold at retail in Kayseri must not be ignored as potential public health risk for the microorganism of concern.

GİRİŞ

Hijyenik standartların güçlü yaptırımlarla uygulanmadığı ülkelerde süt ve süt ürünlerinin birçok hastalığın taşınmasında önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir.¹ Kontamine süt ve ondan üretilen ürünler, gıda kaynaklı bir çok hastalığın oluşumunda yer alan birçok mikroorganizmayı içerebilir.²⁻⁶ *Listeria*, gıda kökenli hastalıkların en önemlilerinden biri olarak kabul edilmektedir.

Listeria genusu, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. grayi* ve en son olarak 2009 yılında identifiye edilen *L. marthii* ve *L. rocourtiae* olmak üzere çeşitli türleri ihtiva etmektedir.^{7,8} Bunlardan sadece *L. ivanovii* ve *L. monocytogenes* memeliler için patojen olarak bilinse de, *L. monocytogenes* hayvan ve insanlardaki hastalık olgularında en sık rastlanan tür olarak karşımıza çıkmaktadır. *L. monocytogenes*, her yerde bulunabilme özelliğine sahip, gram pozitif, mikroaerofilik bir bakteri olup insanlarda şiddetli listeriozis infeksiyonlarına (ensefalit, menenjit ve özellikle immun sistemi baskılanmış bireylerde septisemi) yol açabilmektedir.⁹⁻¹² *L. monocytogenes*, endüstrilemiş ve gelişmekte olan ülkelerde, birçok patojenin üremesi ve canlı kalabilmesi için iyi bir besi yeri olan çiğ süt ve ürünlerinin tüketimi sonucu şekillenen birçok sporadik olgu ve gıda kaynaklı salgında tespit edilmiştir.^{4,13,14} Genellikle, gıdalarda *Listeria* türlerinin varlığı, mikrobiyel kontaminasyon açısından bir indikatör olarak kabul edilmektedir.¹⁵

Süt ve süt ürünlerinden kaynaklanan *L. monocytogenes* enfeksiyonlarının risk grubunda bulunan bireylerde yaklaşık %30'lara varan ölüm oranlarına ulaşması söz konusu gıdaların önemini ortaya koymaktadır.⁹

Gıdalar *L. monocytogenes* ile çok düşük düzeylerde kontamine olmuş olsa dahi, depolanma esnasında, soğuk ortamda etken gelişip çoğalabilmekte ve hastalık oluşturabilecek düzeye ulaşabilmektedir. A.B.D.'de listeriyoz olgularının % 11'i bu şekilde gelişen olgulardır. Bununla birlikte yapılan araştırmalarda, normal sağlıklı insanlarda etkenin düşük düzeylerde bulunabildiği, immunsupressif kişilerin, çocukların, yaşlıların, alkoliklerin ve hamile kadınların söz konusu hastalık açısından yüksek risk grubunu oluşturan bireyler olduğu bildirilmektedir.¹⁶

Klasik kültür tekniği *L. monocytogenes* izolasyon ve identifikasyonu için sıklıkla kullanılmakta ve başarılı sonuçlar alınmaktadır. Söz konusu teknik; zenginleştirme işlemi, selektif besi yerlerine ekim ve doğrulama testlerini içermekte ve güvenilir sonuçlar vermektedir.^{17,18}

Çalışmada, çiğ sütte *Listeria* spp. varlığının klasik kültür tekniği ile belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu sayede, Kayseri'de açıkta satışa sunulan çiğ sütte *Listeria* türlerinin, özellikle de halk sağlığı bakımından

listeriozis gibi ciddi bir hastalığa yol açabilen *L. monocytogenes* varlığının araştırılması ile adı geçen etkenin çiğ sütte bir tehlike olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceği hususu ortaya konuldu.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada Kayseri'de farklı sokak sütçüleri tarafından Mayıs ve Eylül 2009 aylarında, satışa sunulan toplam 50 adet çiğ süt örneği materyal olarak kullanıldı.

Aseptik olarak alınarak soğuk zincir altında laboratuvara getirilen çiğ süt örneklerinde *Listeria* türlerinin varlığı, şekil 3.1'de gösterilen ISO 11290-1/A1 - 2004 metodu kullanılarak araştırıldı (19). Bu amaçla 25ml çiğ süt örneği 225 ml 1/2 konsantrasyonda Half Fraser Broth (MERCK Fraser *Listeria* Selektive Anreicherungs Bouillon (Basis) 1.10398.0500, inhibitör Art.Nr.1.10399) besiyerinde ön zenginleştirme amacı ile 30 °C 'de 24 saat süre ile inkübe edilerek ön zenginleştirme işlemi yapıldı. Ön zenginleştirme solusyonundan 0,1 ml alınarak 10'ar ml'lik tüplerdeki Fraser brothlara aktarıldı. Fraser brothlar 37°C'de 2 gün inkübe edilerek selektif zenginleştirme aşaması tüplerde gerçekleştirildi. Brothlardan öze ile Oxford agar besiyerlerine (Oxford *Listeria* Selektive Agar (Basis) 1.07004.0500, inhibitör Art.Nr.1.07006) çizme yöntemiyle ekim yapılarak 37°C 'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyonun 24 ile 48. Saatlerini takiben en az 5 tipik koloni *Listeria* Chrome Agar'a (Oxoid CM 1080 Brilliance *Listeria* Agar Base, inhibitör SR 0228E ve SR0227E) geçildi.

Söz konusu agarda mavi-turkuaz renk opak haleli koloniler şüpheli kabul edilerek Gram boyama, CAMP (Christie, Atkins, Munch-Peterson) testi, SIM Motilite, katalaz ve oksidaz testleri yapıldı. CAMP testi için %5 koyun kanı içeren TSA Agar'a ekim yapıldıktan sonra 35°C'de 24-48 saat inkübe edildi. SIM motilite testi için ise TSB brothlara ekim yapılarak 30°C'de yedi gün boyunca inkübe edildi. Daha sonra, Microbact test kitinde yer alan (Microbact *Listeria* 12L *Listeria* identification system MB1128 OXOID) biyokimyasal testler açısından tekrar değerlendirilmek üzere gliserinli TSB içeren boncuklu cryobank tüplerine aktarılarak -20°C'de muhafaza yapıldı. Çalışma sonunda elde edilen izolatlar çözüldürülüp zenginleştirilerek Microbact test kitinde biyokimyasal özellikleri (Gram boyama pozitif, Katalaz pozitif, Oksidaz negatif, SIM Motilite pozitif, Beta hemoliz pozitif, CAMP Test *S.aureus*/R. *equi* pozitif / negatif, Mannitol negatif, L-Ramnoz pozitif +, D-Ksiloz negatif, Salisin pozitif, Dulsit negatif, MR/VP pozitif / pozitif ve Nitrat Red.) açısından değerlendirildi.

BULGULAR

Bu çalışmada, Kayseri’de sokak sütçüleri tarafından açık olarak tüketime sunulan 50 çiğ süt örneğinde *L. monocytogenes* varlığı kültür teknikleri ile analiz edilmiştir. Elde edilen izolatların microbact test kiti kullanılarak yapılan biyokimyasal test sonuçlarına göre çiğ süt örneklerinin 11 tanesinin (%22) *Listeria* türleri ile kontamine olduğu, bunlardan 6’sının (%12) sadece *L. monocytogenes* ile, 3 tanesinin (%6) sadece *L. ivanovii* ile, 1 tanesinin (%2) sadece *L. seeligeri* ile, 1 tanesinin (%2) ise hem *L. monocytogenes* hem de *L. grayi* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Genel olarak 50 çiğ süt örneğinden toplam 7 tanesinin (%14) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu, 39’unun (%78) *Listeria* türlerini içermediği ortaya konmuştur. Dolayısıyla analiz edilen çiğ süt örneklerinin 7’si (%14) Türk Gıda Kodeksinin ilgili tebliğinde belirtilen kriterlere uygun bulunmamıştır. İncelenen toplam 50 adet süt örneğinde *Listeria* spp. varlığına ilişkin bulgular çizelge 1’de gösterilmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışma çerçevesinde analiz edilen çiğ süt örneklerinin 7’si (%14) Türk Gıda Kodeksinin ilgili tebliğinde belirtilen kriterlere uygun bulunmamıştır. Söz konusu tebliğ çiğ sütte *L. monocytogenes* bulunmasına tolerans tanımamaktadır.

Bu çalışmada elde edilen %14’lük *L. monocytogenes* kontaminasyon yüzdesi oldukça yüksek bir değer olarak nitelendirilebilir. Çiğ sütte bulunan bu yüksek insidens Mena ve ark.²¹ tarafından bulunan (%16,7) ve Hassan ve ark.²² tarafından elde edilen (%12,6) verilerle benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlar etkenin her yerde bulunabilme özelliğini yansıtmaktadır. Çiğ gıdalar tüketilmeden önce muhtemel bir ısı işlemine tabi tutulduğu için halk sağlığı açısından etkenin çiğ gıdalarda bulunması tüketime hazır gıdalarda bulunmasından daha az risk teşkil etmektedir.

Süt işletmelerindeki süt toplama tanklarından alınan örneklerde *L. monocytogenes* varlığının araştırıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çerçevede çiğ sütün Hollanda’da %4,4,²³ İskoçya’da %3,8,²⁴ İngiltere’de %3,6²⁵ ve Kuzey İrlanda’da %5,3²⁶ oranında *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu ortaya konmuştur. Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise çiğ sütün *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranı %0,45,²⁷ %2,²⁸ %0,94²⁹ ve %1,6³⁰ olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada çiğ sütte *L. monocytogenes* kontaminasyonunun (%14) belirtilen çalışmalardan yüksek düzeylerde bulunmasının nedeninin olarak, kullanılan izolasyon metodu ile beraber numunenin alındığı yerlerin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Belirtilen çalışmalarda çoğunlukla çiğ süt numuneleri direk olarak memeden veya çiftlikte

sağımdan hemen sonra alınmış, bu çalışmada ise sokak sütçülerinden toplanmıştır.

Sağım işlemini takiben sütün üretildiği yerdeki depolama ve transport koşulları da *L. monocytogenes*’in üremesi üzerine son derece etkilidir. Özellikle sokak sütçülüğünde bireysel olarak sütçülük yapan küçük işletme veya üreticilerden alınan sütler satışa sunulmak üzere toplama tanklarına alınmaktadır. Bu süre zarfında yaklaşık 4-35°C olan süt *L. monocytogenes*’in üreyebilmesi için uygun bir ortam yaratmaktadır. Sütün bu tanklarda bekleme süresi toplama sıklığına bağlı olarak değişmekte, günlük olabildiği (iki sağımlık) gibi, transport maliyetlerini azaltmak için iki günlük (dört sağımlık) de olabilmektedir.³¹ Farklı üreticilerden alınan sütlerin aynı tank içinde karıştırılması, kontamine olmayan sütlerin de kontamine olmasına neden olmakta ve söz konusu etkenden kaynaklanan halk sağlığı riskini artırmaktadır.

Bu çalışmada bulunan yüksek kontaminasyon oranlarını, ülkemizde işletme bazında süt üretimi yapılmasından ziyade, aile hayvancılığı şeklinde yapılan üretimlerin halka sunulmasına da bağlayabiliriz. Aile hayvancılığı şeklinde süt üretimi, başta yetiştiricilik koşulları olmak üzere meme hijyeni ve sağımlık hijyeni açısından da son derece uygunsuz ve kontrolsüz koşullar altında yürütülmektedir.

Bu çalışma kapsamında oldukça yüksek bulunan *L. monocytogenes* insidensinden, kontamine olmuş sokak süt tanklarının etkin bir şekilde temizlenmeden tekrar süt depolama amacıyla kullanılmasından kaynaklanan çapraz kontaminasyonları da sorumlu tutabiliriz. Nitekim yapılan bir çalışmada etkenin süt çiftliği veya üretim alanlarının herhangi birini kontamine ettiği durumlarda, varlığını sürdürürebilme yeteneğinin (persistent) yüksek olduğunu, varlığını devam ettirdiği sürece de üretimden sonra bile çapraz kontaminasyon riskinin büyük ölçüde devam ettiğini ortaya koymaktadır.³²

Çiğ sütte *L. monocytogenes* kontaminasyon kaynaklarının araştırıldığı bir çalışmada, silaj kalitesinin yanı sıra, sağımlık alanlarında düzenli aralıklarla temizlik yapılmamasının, hayvanın genel kirliliğinin, sağımlık alanlarının yetersiz ışıklandırılmasının ve hayvan memelerinin temizliğinde kullanılan havluların yanlış dezenfekte edilmesinin çiğ süt kontaminasyonunda rol aldığı belirlenmiştir.³³ Çiğ sütte *L. monocytogenes* insidensinin belirlendiği bir çalışmada etkenin süte mastitli hayvanlar tarafından değil, muhtemelen sağlıklı görünen taşıyıcı inekler tarafından bulaştırıldığı belirtilmektedir.²⁶

Bu çalışmada analiz edilen örneklerin %6’sının *L. ivanovii*, %2’sinin *L. seeligeri* ve 1 tanesinin ise hem *L. monocytogenes* hem de *L. grayi* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. İspanya’nın merkezinde yer alan 114 süt çiftliğinden bir yıl boyunca alınan çiğ süt örneklerinin *Listeria* türleri açısından analiz edildiği bir çalışmada örneklerin sırasıyla %3,62 ve %2,71’inin

L.monocytogenes ve *L.innocua* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Söz konusu çalışmada bir yıl boyunca farklı mevsimlerde alınan süt örneklerinde *L. monocytogenes* ile kontaminasyon açısından mevsime bağlı bir farklılık gözlenmediği belirtilmiştir.³⁴ Almanya, Hollanda, Fransa ve İngiltere’de tüketim anında gıdalarda bu patojenin bulunma toleransı <100 kob/ml-g olarak belirlenmiştir. Söz konusu düzenlemenin halk sağlığı açısından problem yaratabileceği, kontamine gıdaların buzdolabını kontamine ettikten sonra etkenin burada kolonize olabileceği ve kontamine gıdanın etkenin üremesini destekleyerek belli bir süre sonra enfektif doza ulaşabileceği belirtilmektedir.²¹ Tüketim esnasında gıdanın 100 kob/g’den fazla *L. monocytogenes* içermemesinin yanı sıra özellikle raf ömrü 1 haftadan fazla olan tüketime hazır gıdalarda etkenin 25 g’da hiç bulunmaması gerektiği belirtilmektedir.³⁵

Çiğ sütte *L. monocytogenes* varlığı, çiğ sütün kullanılması amacı ve kullanım şekli ile doğrudan ilgili bulunmaktadır. *L. monocytogenes* ile kontamine çiğ sütün herhangi bir ısı işlem uygulanmadan ya da yetersiz/hatalı ısı işlemden geçirilerek doğrudan tüketilmesi veya ürüne işlenmesi, özellikle listeriosis bakımından risk grubunda bulunan bireyler açısından son derece önem taşımaktadır. Ülkemizde İç ve Doğu Anadolu Bölgelerinde çiğ sütün üretilen peynirlerin, krema ve tereyağının yaygın bir şekilde pazarlarda satılıyor olması hususuna, bu konulardaki yasal düzenleme ve denetim yetersizlikleri de eklenince sorunun halk sağlığı bakımından ne kadar önemli olduğu son derece açıktır. Bütün bunlara ilave olarak sütlerden yapılan ürünlerin olgunlaşma esnasında ve üretim sonrası çapraz kontaminasyonlara maruz kal-

bilmesi de ayrı bir handikap olarak karşımıza çıkmaktadır.

Sonuç olarak, Kayseri ili piyasasında satışı yapılan çiğ sütlerden numune alınan dönem içerisinde, çiğ sütün %14’ünün *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu ve Türk Gıda Kodeksinin ilgili maddelerine uygun olmadığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla söz konusu gıdanın *Listeria spp.* ve *L. monocytogenes* açısından halk sağlığı bakımından tehlike yaratabileceği tespit edilmiştir. Kayseri ilinde açıkta satışa sunulan sütlerdeki *Listeria* türleri içerisinde *Listeria monocytogenes* varlığı, diğer türlerden farklı olarak daha yaygın olması açısından önemli bulunmuştur.

Etkenin kontrol altına alınmasında özellikle süt ve süt ürünleri üreticilerinin meme ve sağım hijyeni, ısı işleminin önemi ve ısı işlem sonrası meydana gelebilecek kontaminasyonlar hakkında yeterince bilgilendirilmesi gerekmektedir. İlgili kurumlar tarafından kontrol ve denetim hizmetlerinin daha etkin yürütülebilmesi için gerekli mevzuatın oluşturulması da bir o kadar önem taşımaktadır.

Tespit edilen sonuca göre, ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sisteminin ve bu sistemin alt yapısını oluşturan ön gereksinim programlarının, uygun yasal düzenlemeler çerçevesinde, süt ve süt ürünleri imalat sektörünün her aşamasında etkin bir şekilde çalışır hale getirmenin gerekli olduğu hususuna vurgu yapmak yerinde olacaktır ■

Çizelge 1. *Listeria spp.* pozitif çiğ süt örneklerinin *Listeria* türlerine göre dağılımı (%).

Table 1. Distribution of *Listeria spp.* in *Listeria* positive raw milk samples (%)

Çiğ süt örneği (n=50)	<i>Listeria spp.</i> pozitif çiğ süt örnekleri (%)			
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. grayi</i>
	7 (%14)	3 (%6)	1(%2)	1(%2)

KAYNAKLAR

- Meyer-Broseta S, Diot A, Bastian S, Riviere, Cerf O (2003) Estimation of low bacterial concentration: *Listeria monocytogenes* in raw milk. *Int J Food Microbiol*, 80:1-15.
- Danielsson-Tham ML, Eriksson E, Helmersson S, Leffler M, Ludtke L, Steen M, Sorgjerd S, Tham W (2004) Causes behind a human cheese-borne outbreak of gastrointestinal listeriosis. *Foodborne Pathog Dis*, 1:153-9.
- MacDonald PD, Whitwam RE, Boggs JD, MacCormack JN, Anderson KL, Reardon JW, Saah JR, Graves LM, Hunter SB, Sobel J (2005) Outbreak of Listeriosis among Mexican immigrants as a result of consumption of illicitly produced Mexican-style cheese. *Clin Infect Dis*, 40:677-82.
- Makino SI, Kawamoto K, Takeshi K, Okada Y, Yamasaki M, Yamamoto S, Igimi, S (2005) An outbreak of food-borne Listeriosis due to cheese in Japan, during 2001. *Int J Food Microbiol*, 104:189-96.
- Okwumabua O, O'Connor M, Shull E, Strelow K, Hamacher M, Kurzynski T, Warshauer, D (2005) Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from food animal clinical cases: PFGE pattern similarity to strains from human listeriosis cases. *FEMS Microbiol Lett*, 249:275-81.
- Oliver SP, Jayarao BM, Almeida RA (2005) Food-borne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathog Dis*, 2:115.
- Graves LM, Helsel LO, Steigerwalt AG, Morey RE, Daneshvar MI, Roof SE, Orsi RH, Fortes ED, Milillo SR, denBakker HC, Wiedmann M, Swami-nathan B, Saunders BD (2010) *Listeria marthii* sp. nov., isolated from the natural environment. Finger Lakes National Forest. *Int J Syst Evol Microbiol*, 60:1280-1288.
- Leclercq A, Clermont D, Bizet C, Grimont PA, LeFleche-Mateos A, Roche SM, Buchrieser C, Cadet-Daniel V, LeMonnier A, Lecuit M, Allerberger F (2009) *Listeria rocourtiae* sp. Nov *Int J Syst Evol Microbiol*, doi:10.1099/ijs.0.017376-0.
- Herman L, De Block J, Moermans R (1995) Direct detection of *Listeria monocytogenes* in 25 milliliters of raw milk by a two-step PCR with nested primers. *Appl Environ Microbiol*, 61:817-9
- Vela A, Fernandez-Garayzábal J, Latre M, Rodriguez A, Dominguez L, Moreno M (2001) Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from eningocephalitis in sheep. *Int J Antimicrob Agents*, 17:215-20.
- Siegman-Igra Y, Levin R, Weinberger M, Golan Y, Schwartz D, Samra Z, Konigsberger H, Yinnon A, Rahav G, Keller N, Bisharat N, Karpuch J, Finkelstein R, Alkan M, Landau Z, Novikov J, Hassin D Rudnicki D, Kitzes R, Ovadia S, Shimoni Z, Lang R, Shohat T (2002) *Listeria monocytogenes* infection in Israel and review of cases worldwide. *Emerg Infect Dis*, 8:305-10.
- McLauchlin J, Mitchell R, Smerdon W, Jewell K (2004). *Listeria monocytogenes* and Listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *Int J Food Microbiol*, 92:15-33.
- Kells J, Gilmour A (2004) Incidence of *Listeria monocytogenes* in two milk processing environments and assessment of *Listeria monocytogenes* blood agar for isolation. *Int J Food Microbiol*, 91:167-74.

14. Manfreda G, De Cesare A, Stella S, Cozzi M, Cantoni C (2005) Occurrence and ribotypes of *Listeria monocytogenes* in Gorgonzola cheese. *Int J Food Microbiol*, 102:287–93.
15. Gilot P, Content J (2002) Specific identification of *Listeria welshimeri* and *Listeria monocytogenes* by PCR assays targeting a gene encoding a fibronectin-binding protein. *J Clin Microbiol*, 40:698–703.
16. Orsi RH, Bakker HC, Wiedmann M (2010) *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology and phenotypic characteristics. *Int J Med Microbiol*, 301(2):79-96.
17. Holko I, Urbanova J, Kantikova M, Pastorova K, Kmet V (2002) PCR detection of *Listeria monocytogenes* in milk and milk products and differentiation of suspect isolates *Acta Vet Brno*, 71: 125-131.
18. Stevens KA, Jaykus LA (2004). Direct detection of bacterial pathogens in representative dairy products using a combined bacterial concentration-PCR approach. *J Appl Microbiol*, 97: 1115-1122.
19. Anon (2004). Horizontal method for the detection of *Listeria monocytogenes* ISO 11290-1/A1 2004.
20. Anon (2000). iđ St ve Isıl İşlem Grmş İme Stleri Tebliđi 2000/6 TKB 2000.
21. Mena C, Almeida G, Carneiro L, Teixeira P, Hogg T, Gibbs P (2004) Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *Food Microbiol*, 21: 213-216.
22. Hassan L, Mohammed HO, McDonough PL, Gonzalez RN (2000) A cross-sectional study on the prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in New York dairy herds. *J Dairy Sci*, 83: 2441-2447.
23. Beckers HJ, Soentoro PSS, Delfgou-van Asch EHM (1987) The occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft cheeses and raw milk and its resistance to heat. *Int J Food Microbiol*, 4:249-256.
24. Fenlon DR, Wilson J (1989) The incidence of *Listeria monocytogenes* in raw milk from farm bulk tanks in North-East Scotland. *J Appl Bacteriol*, 66: 191–196.
25. Greenwood MJ, Roberts D, Burden P (1991) The occurrence of *Listeria* species in milk and dairy products: a national survey in England and Wales. *Int J Food Microbiol*, 12:197-206.
26. Harvey J, Gilmour A (1992) Occurrence of *Listeria* species in raw milk and dairy products produced in Northern Ireland. *J Appl Bacteriol*, 72: 119–125.
27. Uysal HK, Anđ Ő (2003) St ve St rnlerinden izole Edilen *Listeria* Türleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 33: 163-169.
28. Aslantaş Ő, Yıldız P (2003) Kars ilinde çiğ sütlerden *Listeria monocytogenes* izolasyonu. *F Sağlık Bil Derg*, 17 (1): 11-15.
29. Uraz G, Yücel N (1998) *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* ve Benzerlerinin (*Yersinia kristensenii*, *Yersinia frederiksenii*, *Yersinia intermedia*) iđ Süt rneklerinden İzolasyonu. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 22: 463–468.
30. Ceylan İ (1990) Ankara Merkez ve evre Semtlerden Sađlanan iđ Stlerde *L. Monocytogenes* Araştırması. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlıkı Refik Saydam Hıfzassıhha Mdrlđ Mikrobiyoloji Blm, Ankara,30 s.
31. Broseta SM, Diot A, Bastian S, Rivière J, Cerf O (2003) Estimation of low bacterial concentration: *L. monocytogenes* in raw milk. *Int J Food Microbiol*, 80: 1-15.
32. Ho AJ, Lappi VR, Wiedmann M (2007) Longitudinal Monitoring of *Listeria monocytogenes* Contamination Patterns in a Farmstead Dairy Processing Facility. *J Dairy Sci*, 90: 2517-2524.
33. Sanaa M, Pourel B, Menard JL, Serieys F (1993) Risk Factors Associated with Contamination of Raw Milk by *Listeria monocytogenes* in Dairy Farms. *J Dairy Sci*, 76: 2891-2898.
34. Gaya P, Sanchez J, Medina M, Nuñez M (1998) Incidence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in raw milk produced in Spain. *Food Microbiol*, 15: 551-555.
35. Jorgensen LV, Huss HH (1998) Prevalence and growth of *L. monocytogenes* in naturally contaminated seafood. *Int J Food Microbiol*, 42: 127-131.