

SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE LİSTERİALARIN ARANMASI

Detection of *Listeria* spp. in milk and milk products.

Yıldız AYZ*

Erhan AKÇAY*

ÖZET

Süt ve süt ürünlerinde *Listeria*'ların aranması projesinde 2 yıllık süre içinde Ankara piyasasından 50'şer adet beyaz peynir, tulum peyniri, pastörize tereyağı, pastörize süt ve 186 adet çiğ süt örneği toplandı. Örneklerde FDA metodu uygulanarak *Listerialar* arandı. Çalışmalar sonucunda:

50 adet beyaz peynir örneğinde 1 örnekte *L.ivanovii*
2 örnekte *L.innocua*
50 adet tulum peyniri örneğinde 4 örnekte *L.ivanovii*
50 adet kahvaltılık tereyağından 3 adedinde *L.monocytogenes*
4 örnekte *L.ivanovii*
50 adet pastörize süt
örneğinden 1 adedinde *L.ivanovii*
186 adet çiğ süt örneğinden 8 örnekte *L.monocytogenes*
14 örnekte *L.ivanovii*
7 örnekte *L.murrayi*
16 örnekte *L.innocua*
5 örnekte *L.grayi* tesbit edildi.

SUMMARY

In the project of detection of *Listeria* spp. in milk and milk products, white cheese, "tulum" cheese, pasteurised milk samples (50 samples) were collected in Ankara within a period of two years. The samples were examined for *Listeria* spp. by FDA method. The result obtained were as follows:

Sample type	Number	Listeria species isolated
White cheese	1	L.ivanovii
	2	L.innocua
"Tulum" cheese	4	L.ivanovii
Pasteurised butter	3	L.monocytogenes
	4	L.ivanovii
Pasteurised milk	1	L.ivanovii
Raw milk	8	L.monocytogenes
	14	L.ivanovii
	7	L.murrayi
	16	L.innocua
	5	L.grayi

GİRİŞ

Listeria genusunda insan ve hayvanlar için patojen olan L. monocytogenes ve hayvanlarda abortuslara neden olan L. ivanovii dışında saprofitik karakterde listerialar vardır. L. monocytogenes ilk kez 1911 yılında bir tavşandan izole edilmiş, sonraki yıllarda değişik araştırmacı grupları tarafından kobay, fare, koyun, sığır, domuz, tavuk, at, keçi, sinek, köpek, keklik ve insanlardan da izole edilmiştir. (3,4,39)

Listerialar G (+), katalaz (+), eskülini hidrolize eden, kapsülsüz, sporsuz, 20-25°C kültürlerde aktif hareket eden 0.4-0.5X 0.5-2 µm boyutlarında, frotillerde tek tek, çift, V, Y şeklinde veya kısa zincirler şeklinde görülebilir. Optimal üreme dereceleri 30-37°C ise de 1-45°C arasında üreme gösterir. +4°C de üreme göstermesi, izolasyon çalışmalarında önemli bir kriterdir. Optimal üreme pH sı 7.2-7.6 dır. Kanlı agarda hemoliz yapar, indol, üre, sitrat ve nitrat redüksiyonu negatiftir. Serolojik testlerle 7 ana serotipe ve daha çok sayıda alt tiplere ayrılmaktadır. Listeria kolonileri küçük, konveks ve ince yapılıdır. Henry tekniği ile koloni mikroskobunda mavi-yeşil renkte görülürler. L.monocytogenes tavşanlarda monocytogenesis yapar. Bu etkenler için toprak, bitkiler, toz, çürük sebzeler, lağım suları, çamur, nehir suları iyi birer rezervuardır. Dışkı ile kirlenen çevreden kontamine olan bitkilerin insan ve hayvanlar tarafından alınması

hastalığın yayılmasını sağlamaktadır. Hayvan gübresinin toprağı zenginleştirme amacına yönelik kullanımı çevre kirlenmesi riskini arttırmaktadır. Kötü hazırlanmış silaj yemleri hayvanlar için listeriosis kaynağı sayılmaktadır(4).

İnsanlarda Listeriosis gıda kaynaklı olduğuna ilişkin kanıtlar hızla artmaktadır. *L.monocytogenes* hasta insanlardan ve tükettikleri gıda maddelerinden izole edilmesiyle gıda-enfeksiyon teorisi kanıtlanmış bulunmaktadır. Sporadik olaylarda hasta insanlarda ve bir seri gıda maddesinde aynı listeria serotipinin izolasyonu da bu konuda önemli bir bulgudur. *L.monocytogenes* insanlarda meningitis, meningo-encephalitis, konjunktivitis, endokarditis lokalize eksternal ve internal apseler, septisemi, farengitis, tonsillitis, sinüsitis, ürethritis, hepatitis, abortuslar, mental gerileme ve erişkenlerde psikoza neden olabilmektedir. İmmun sistemi yetersiz insanlar, immün sistemi bastırıcı ilaçlar kullananlar, alkolikler, hamile kadınlar, yeni doğanlar Listeriosise daha duyarlıdırlar. Bakteriler hücre içine yerleşmişse antibiyotik sağaltımına yanıt vermeyebilir.

Sağlıklı görülen birçok hayvan taşıyıcı olabilmektedir. Hastalık kanatlılarda septisemik bir seyir gösterir. *Listeria* kaynaklı bovin mastisis olaylarında klinik belirtilerin kaybolmasından sonra 3 ay süre ile sütte mikroorganizmaların varlığı Gitter ve ark.(1980) tarafından saptanmıştır. Bu tip sütler insan ve buzağular için iyi bir listeriosis kaynağıdır. 1984-1985 yılları arasında ABD de yürütülen bir çalışmada, çiğ sütlerde % 4,2 oranında *L.monocytogenes* izole edildiği, müsbet olayların ilkbaharda en yüksek düzeyde olduğu, bu mevsimde kötü kaliteli silaj yemlerinin hayvanlara yedirilmesiyle bu oranın yükseldiği bildirilmektedir. Aynı çalışmada çiğ sütlerde *L.monocytogenes* insidensinin normalde % 5 olduğu bildirilmektedir. David W.Fleming ve ark.(1983) Massachusetts'deki bir listeriosis olayının pastörize süt veya kaymaklı sütün tüketilmesi sonucu oluştuğunu bildirdiklerinden beri pastörizasyon derecelerinin bakteri üzerine etkileri araştırılmış, 74°C de 42 saniye pastörizasyonun bakteriyi tamamen tahrip ettiği bildirilmektedir. Ancak 5×10^4 /ml. den fazla *L.monocytogenes* kapsayan sütlerde holder tipi pastörizasyonla canlı kalabilen bakteri olduğu bildirilmektedir. Benzer bir çalışmada 5×10^9 /ml. bakteri kapsayan sütün 74°C ve daha yüksek ısılarda bile canlı *L.monocytogenes* kapsayabileceği bildirilmektedir (11). Barza (1985) *L.monocytogenes*in pastörizasyonu atlatmasını onun sütteki leukocitler tarafından tutulmuş ve böylece korunmuş olmasına bağlarken, bazı araştırmacılar pastörizasyondan sonraki bir

kontaminasyon olasılığı üzerinde durmaktadırlar (4).

Kontamine sütlerin diğer gıda maddesine işlenmesiyle spontan bir bulaşma insanlara ulaşmaktadır. 4°C de üremeye elverdiği bir mikroorganizma olması soğuk hava depolarında depolanmış gıda maddelerinin risk potansiyellerinin artmasına neden olmaktadır. ABD de (1983) iki ay içinde Listeriosisün klinik olarak arttığı görülmüş, abortus, septisemi, meningitis, semptomları gösteren 49 hastanın 40 tanesinden L.monocytogenes izole edilmiştir. Hastalığın değişik bölgelerde bulunan bir market zincirinden alınmış pastörize sütlerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Ancak bu sütlerin kontaminasyon kaynağı tesbit edilememiştir. Rodriges ve ark. 1985 yılında batı ve orta İspanya'dan sağlanan 95 adet soğutulmuş çiğ süt örneğinin % 45 inden, Madritte ise 28 pastörize süt örneğinin % 21 inden L.monocytogenes, izole ettiklerini bildirmektedirler. Şıpka ve ark. (1974) beyaz peynirde yaptıkları çalışmada üretimin başlangıcında L.monocytogenes sayısında artma, olgunlaşma sürecinde ise sayısal bir azalma gözlemişler, ancak olgunlaşmanın 28. gününde bile etkeni izole ettiklerini bildirmektedirler (4).

Shohamat ve ark. (1980) L.monocytogenes'in % 25,5 NaCl çözeltisinde 132 gün canlı kaldığını göstermekle tuzlamanın listerialar üzerindeki etkisini belgelemişlerdir (4).

Deneyssel olarak kontamine edilen çiğ sütlerde ve bu sütlerin 35°C, 63°C ve 72°C pastörizasyonundan sonra elde edilen peynirler üzerinde yapılan çalışmada 35°C ve 63°C lerde pastörizasyondan sonra yapılan peynirlerde L.monocytogenesi tesbit etmiş, ancak 72°C de pastörize edilen kontamine sütlerden yapılan beyaz peynirlerde üretimden sonra listeria tesbit edemediklerini bildirmektedir. Bu çalışmada sütte bulunan L.monocytogenes sayısının, peynirin olgunlaşma süresince tesbit edilen sayıyı da etkilediği ortaya konmuştur.

ZENGİNLEŞTİRME

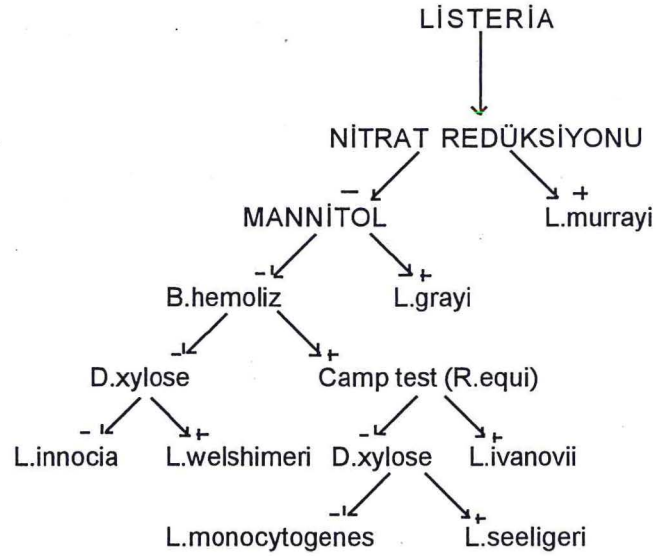
İZOLASYON BESİ YERİNDE KÜLTÜR

SAF KÜLTÜR

GRAM BOYAMA G (+)

Katalaz (+)

ESKÜLİN HYD (+)



MATERYAL VE METOD

1. Materyal: Ankara piyasasında satılmakta olan beyaz peynir, tulum peyniri, pastörize tereyağ ve pastörize sütün alınan 50 şer örnek ve 186 çiğ süt örneği materyalimizi oluşturmaktadır.

2. Metot: *Listeria monocytogenes* ve *List. spp* izolasyonlarında FDA metodu kullanıldı (21).

A. Zenginleştirme Besiyeri

Tryptone soya Broth (oxid, CM 129)	30.0 gr.
Yeast Extract (oxid, L.21)	6.0 gr.
Eau Dist	1000 ml.

Supplement 1.

Nalidixic acid, sodium salt (sigma N. 4382)	40 mg.
Eau Dist	10 ml.

Supplement 2

Cycloheximide (serva 10700)	50 mg.
Ethanol	4 ml.
Eau Dist	6 ml.

Supplement 3

Acriflavin hydrochloride (serva 10671)	15 mg.
Eau Dist	10 ml.

Zenginleştirme besiyeri verilen formüle göre hazırlandıktan sonra 121°C'de 15 dakika sterilize edilerek 50°C'ye soğutulduktan sonra içine milipor filtrede (0.2) sterilize edilmiş supplementler aseptik koşullarda ilave edildi.

İzolasyon besiyeri olarak oxid listeria selective medium kullanıldı.

Listeria selective supplement (oxid SR 140)

Cyclohexim'de	200.00 mg.
Colistin sulphate	10 mg.
Acirflavin	2.5 mg.
Cefoletan	1.0 mg.
Fosfomycin	5.0 mg.

27.75 gr. Listeria selektif agar 500 ml. distile suda ısıtılarak eritildi. 121°C de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra 50°C'ye soğutuldu. 5 ml. etanol/ su (1/1) karışım ilave edildikten sonra 1 vial supplement ilave edilerek karıştırıldı. Hazırlanan besiyeri steril petrilere dökülerek kullanıma hazır hale getirildi.

Tryptone soy agar

Tryptone soy agar (oxid cm 131) 40.0 g.

Yeast extract (oxid L.21) 6.0 g.

Eau Dist 1000 ml.

formüle göre hazırlanan besiyeri 121°C'de 15 dk. sterilize edildikten sonra steril petri kutularına döküldü.

Listeria yarı katı motility medium:

formüle göre hazırlanan besi yeri 5-6 ml. halinde tüplere dağıtıldıktan sonra 121°C'de 15 dk. sterilize edildi.

Numunelerden Ekim Yapılması:

Aseptik koşullarda tartılan 25gr. (süt 25ml.) numune steril waring blendere konarak 225ml. steril trypton soy broth ilave edilerek 2 dk. homojenize edildi. Steril erlenlere konarak 30°C'de 48 saat inkübe edildi. Zenginleştirme sonunda 3 öze gözü dolusu subkültür listeria selektive agar besi yerine azaltma metoduyla ekim yapılarak 37°C'de 48 saat inkübe edildi. Tipik kolonilerden saf kültür yapıldıktan sonra (mavi-gri) kolonilerden değerlendirme testleri yapıldı.

Değerlendirme testleri

Gram boyama, katalaz reaksiyonu, Oxidase, motility test, Nitrat, mannitol redüksiyon testleri, hemoliz, camp test (S.aureus, R.equi) şeker reaksiyonları uygulandıktan sonra serolojik muayene yapıldı.

Gram boyama,

Gram boyama tekniğiyle belirlenen şüpheli kolonilerin incelenmesinde gram (+), 0.4-0.5 um eninde 0.5-2 µm boyunda kokoid çubuklar değerlendirilmeye alındı.

Katalaz Reaksiyonu

%3 H₂O₂ solusyonundan lam üzerine bir damla alınarak şüpheli koloni süspanse edildi. Birkaç saniye içerisinde köpük tarzında gaz oluşumu pozitif

olarak değerlendirildi.

Oksidaz Reaksiyon Testi:

Bu test için ticari oksidaz test kağıtları kullanıldı. Şüpheli koloni öze ile alınarak oksidaz kağıdının işaretli bölgede renk değişikliğinin görünmemesi pozitif olarak değerlendirildi.

Hareketlilik Testi

Motility medium'a ekim yapılarak oda ısısında 7 gün süresince inkübe edildi.

Tipik çam ağacı görüntüsü pozitif olarak değerlendirildi.

Bacto tryptose	10.0 g.
Glikoz	1.0 g.
NaCl	5.0 g.
Agar	5.0 g.
Dist. su	1000 ml.

121°C'de 20 dk. otoklav.

Nitrat redüksiyon testi.

Nitrat besi yerine şüpheli koloni inokule edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Üzerine A ve B solusyonundan 4'er damla damlatıldı oluşan koyu kiremit rengi "nitrat pozitif" olarak değerlendirildi.

Mannitol Testi

Mannitol besi yerine şüpheli koloni inokule edildi. 37°C'de 24 saat sonucunda besi yerinin kırmızıdan sarı renge dönüşmesi mannitol pozitif olarak değerlendirildi.

Hemoliz Testi

Koyun kanlı agara inokule edilen şüpheli koloniler 37°C'de 24 saat inkübe edilerek hemoliz durumu incelendi.

Karbonhidrat Testleri

Eskülin testi

10 ml. steril peptonlu suya 0.5 cc %10'luk eskülin ilave edildikten sonra

şüpheli koloni inkube edildi. 37 °C 18-24 saat sonunda ferric amonium klorürden 1 damla damlatıldı. Siyah renk testin pozitif oluşunu gösterdi.

D-Xylose Testi

İndikotörlü peptonlu suya (fenol red'li) 0.5 cc. D-xylose ilave edildikten sonra şüpheli koloni inokule edilerek 37 °C'de 18-24 saat inkube edildi. Vasatın renginin sarı renge dönüşmesi testin pozitif olduğunu gösterdi.

CAMP Testi

S.aureus ve R.equi test organizması olarak kullanıldı.

Kanlı agar plağının orta çizgisi boyunca test organizması inokule edildi. Şüpheli koloniler bu çizgiye dik olacak şekilde yine çizgi şeklinde inokule edildi. 37 °C'de 18-24 saat tutuldu. Bu süre sonunda şüpheli mikroorganizmanın hemoliz alanının test organizmasının yaptığı hemoliz alanında oluşturduğu tipik konkav hemoliz alanı CAMP test pozitif olarak değerlendirildi.

Biyokimyasal testler yönünden listeria monocytogenes olduğu saptanan suşlar serolojik olarak teste tabi tutuldu.

	L.monocytogenes	L.ivanovii	L.melshimeri	L.seeligerii	L.innonewa	L.grayi	L.murrayi
Gram Boy.	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+
Hareket 20°C	+	+	+	+	+	+	+
B Hemoliz	+	+	-	+	-	-	-
CAMP Test (S.aureus)	+	-	-	+	-	-	-
CAMP Test (R.equi)	-	+	-	-	-	-	-
Eskülin	+	+	+	+	+	+	+
D-Xylose	-	+	+	+	-	-	-
Nitrat	-	-	-	-	-	-	+

5- LİTERATÜR ÖZETİ

Listeria'lar 1911 yılında bir tavşandan *L.monocytogenes* izole edilmesinden bugüne değin epidemiyolojisi, insidensi, teşhis yöntemleri, zenginleştirme vasat ve zenginleştirme süreleri kontaminasyon kaynakları yönünden üzerinde sürekli çalışılan bir mikroorganizmadır. Sığırlarda mastitis, kanatlı ve kasaplık hayvanlarda sistemik hastalıklar meydana getirir. Süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri ile etken insanlarda hastalık oluşturduğundan, bu ürünler listerialar yönünden sürekli taranmaktadır.

Amerika Birleşik Devletlerinde ilk listeriosis paniği 1983 yılında Massachusett'de pastörize süt kaynaklı olarak yaşandı.

49 vakanın (42 yetişkin 7 çocuk) 14'ü ölümlle sonuçlandı. Olayın aynı marka pastörize sütün imalinde kullanılan ham süttten kaynaklandığı saptandı (4).

Barza (1985) Listeriosis salgınında pastörizasyondan kaçan mikroorganizmaların leucocytler tarafından korunmuş, somatik hücrelere lokalize olduklarını ileri sürmüştür (4).

Reed (1986) pastörizasyon kazanının paketlenme bölümüne yakın olması, pastörizasyondan sonraki kontaminasyonu önleme açısından önemli olduğunu bildirmektedir. (4)

Kalifornia'da 1985 yılında Ocak-Haziran ayları arasında 86 listeriosis olayı görülmüş bunun 29'u ölümlle sonuçlanmıştır. Hastaların 58'i anne ve çocuktur. Kontrol çalışmaları, infeksiyonun Mexika stili taze peynir olduğunu, peynirlerden ve hastalardan *L.monocytogenes* 46 serotipi identifikasyonu ile ortaya kondu (4).

İngiltere'de 1986 yılında *L.monocytogenes* orijinli menintigisli bir kadında, etkenin yumuşak peynir kaynaklı olduğu aile içinde sadece bu 36 yaşındaki kadının peyniri yediği belirtilmiş, peynirden serotip 46 izole edilmiştir. Kadın peyniri yedikten 8-9 gün sonra hastalanmıştır (4).

Marth (1986) Amerika Birleşik Devletlerinde yaptığı survey çalışmasında 650 örnekte %4.2 oranında *L.monocytogenes* izole etmiştir, kötü kaliteli silaj yemlerinin sütteki en büyük enfeksiyon kaynağını oluşturduğunu bildirmiştir (4).

Rodriquez ve ark. (1985) Batı ve Orta İspanya'da 95 adet çiğ sütte yaptıkları taramada %45 oranında *L.monocytogenes* identifiye ettiklerini bildirmektedir (4).

Sahamat ve arkadaşları (1980) *L.monocytogenes*'in tuza duyarlılığını ölçmüşler ve %25.5 tuz konsantrasyonunda mikroorganizmanın 37 °C'de 5 gün, 22 °C'de 5 gün, 22 °C'de 32 gün, 4 °C'de 132 gün canlılığını koruduğunu tesbit etmişlerdir. Aynı çalışmada sodyum nitritin 25.000 ppm miktarına dayanıklı olduğunu görmüşlerdir (4).

L.monocytogenes üzerine pastörizasyonun etkileri çalışmalarında 72°C'de 15 sn.lik pastörizasyon etkeni imha için yeterli olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (5,11,13,17,40). Bu ısı derecesinin altındaki pastörizasyon işlemlerinde sütte listerialar canlı kalmaktadır.

Ryser ve Marth (1989) tarafından Camembert peynirleri üzerinde yapılan çalışmada, peynir yapımından 24 saat sonra *L.monocytogenes* sayısı 5-10 misli artmış, ancak olgunlaşmanın 18. gününde azalma tesbit etmişlerdir. Araştırmacılar salamura bayez peynirde maximum *L.monocytogenes* düzeyini olgunlaşmasının 15. gününde tesbit etmişlerdir (30).

Aynı araştırmacıların (1989) cheddar peynirleri üzerinde yaptıkları çalışmada *L.monocytogenes* sayısı 14. günde en üst düzeye ulaşmış, 14. günden sonra azalma göstermiştir (31).

Ryser ve arkadaşları (1985) Cottage peynirlerinde yaptıkları çalışmada olgunlaşma döneminde *L.monocytogenes* sayısında azalma tesbit etmişler, ancak etkenin peynirden tamamen elimine olmadığını bildirmişlerdir (29).

Yapılan deneysel çalışmalarda yapım ve olgunlaşma koşulları farklı olsa da değişik peynirlerde olgunlaşma koşullarına bağlı olarak artmış, belirli sürelerde azalma görülmüş, ancak olgunlaşma dönemi bittiğinde etkenin tamamen ortadan kalkmadığı gözlenmiştir.

Karamehmetoğlu (1994) yaptığı çalışmada deneysel olarak değişik düzeylerde *L.monocytogenes* ilave ettiği çiğ sütleri değişik derecelerde pastörize ettikten sonra salamura beyaz peynir imalinde kullanmış, bu peynirlerde *L.monocytogenesi* izlemiştir. Buna göre 72 °C'nin altındaki ısılamaların etkeni imha için yeterli olmadığını, kontamine süttten yapılan peynirlerde olgunlaşmanın 90. gününde *L.monocytogenes* tesbit ettiğini, etkenin peynirde yaşama süresinin tuz konsantrasyonu, pH gibi etkiler dışında sütteki düzeyine bağlı olduğunu bildirmektedir (19).

Çiftçioğlu ve ark. (1992) *L.monocytogenes*'in dondurmalarındaki varlığı üzerine yaptıkları araştırmada İstanbul'da 509 dondurma numunesinde % 10 oranında

L.monocytogenes, %12 oranında L.innocua tesbit etmişler, 48 saatlik zenginleştirme süresinin daha başarılı sonuç verdiğinide gözlemişlerdir. Dordurmalarla ilgili bir çalışmada Mac lauchlin ve Gilbert (1990) L.monocytogenes kontaminasyonunu %6 oranında tesbit etmişlerdir (8).

Çiftçioğlu ve ark. (1991) ülkemizde tüketilen beyaz peynirlerde listeriaların varlığı çalışmasında %2.9 oranında L.monocytogenes kontaminasyonu saptamışlardır (7).

Tümbay ve ark. (1988) benzer çalışmada beyaz peynirlerde %2.1 oranında L.monocytogenes kontaminasyonu tesbit etmişlerdir (38).

Gün ve Ilgaz (1993) İstanbul ve çevresinde süt çiftliklerinin süt toplama tanklarında L.monocytogenes varlığının saptanması çalışmasında 100 örnekte %4 oranında L.monocytogenes, %9 oranında L. innocua, %2 oranında L.welshimeri identifiye ettiklerini bildirmekteler (18).

El-labaudy ve ark. (1992) Mısırdaki 236 çiğ süt örneğinde yaptıkları çalışmada 27 süt örneğinde Listeria tesbit etmişler, bunun %3'ünün L.monocytogenes, %8.5'unun L.innocua olduğunu bildirmişlerdir (12).

Rocourt ve Seeliger (1984), hasta bir keçi beyninden L.monocytogenes izole ettikleri bir süt çiftliğinde, hasta keçinin sütünün kullanılmadığı peynirde aynı serotipte L.monocytogenes izole etmiş, hastalığın diğer hayvanlara da bulaştığı kanısına varmışlardır (28).

Mustafa ve ark. (1993) Amerika'da 50 inekten alınan 195 süt örneğini CMT testine tabi tuttuktan sonra mastitisli olduğunu tesbit ettikleri sütlerden L.monocytogenes'i izole edemediklerini bildirmekteler (24).

Fedio ve ark. (1992) çiğ süt tanklarındaki sütlerden izole ettikleri L.monocytogenesin kökeni konusunda yaptıkları çalışmada, swab, toprak, gaita ve yem örneklerini L.monocytogenes yönünden araştırmış, en önemli kontaminasyon kaynağını hayvanların gaitaları olduğu kanısına varmıştır (15).

El Gazzar (1991) Amerika'da yayınladığı çalışmasında insan listeriosis ile süt ve süt ürünleri ilişkisini ortaya koymuş, süt ürünlerindeki tuz miktarı, pastörizasyon kalitesi gıdaların pH'sı ve gıdalara uygulanan düşük ısıların insan listeriosisinin önemli faktörleri olduğunu bildirmiştir (11).

Farber (1991) Kanada'da yaptığı çalışmada normal görünüşlü, mastitis olgusu görülmeyen ineklerden aldığı sütlerde L.monocytogenes izole ettiğini bildirmektedir (14).

Schaack ve Marth (1988) Amerika'da yaptıkları bir çalışmada yoğurt mayası olarak kullanılan *L.bulgaricus* ve *S.thermofilusun* *L.monocytogenes* üzerine olumsuz etki yaptığını gözlemişlerdir (33).

Pini ve Gilbert (1988) İngiltere'de yumuşak peynirlerden %10 oranında *L.monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir (26).

Beer ve ark. (1990) Yeni Zelanda'da süt ürünlerinde yaptıkları çalışmada *L.monocytogenes* izole edemediklerini bildirmekteler (2).

Listerialar her yönü ile incelenen bir mikroorganizmadır. Ülkemizde süt ürünlerinde olduğu gibi et ürünlerinde de yapılmış araştırmalar vardır.

7. BULGULAR

Araştırma süresince Ankara piyasasından 50'şer adet beyaz peynir, tulum peyniri, kahvaltılık tereyağı, pastörize süt ve 186 adet çiğ süt örneği toplanarak listerialar yönünden incelendi. Yapılan çalışmalar sonucunda

- 50 adet beyaz peynir örneğinde 1 örnekte *L.ivanovii*, 2 örnekte *L.innocua*
- 50 adet tulum peyniri örneğinden 4. örnekte *L.ivanovii*,
- 50 adet kahvaltılık tereyağından 3 adedinde *L.monocytogenes*, 4 örnekte *L.ivanovii*
- 50 adet pastörize süt örneğinden bir adedinde *L.ivanovii*,
- 186 adet çiğ süt örneğinden 8 örnekte *L.monocytogenes*,
- 14 örnekte *L.ivanovii*, 7 örnekte *L.murrayi*, 16 örnekte *L.innocua*, 5 örnekte *L.grayi* tesbit edildi.

Numune Adı	Adedi	<i>L.monocytogenes</i>	<i>L.ivanovii</i>	<i>L.murrayi</i>	<i>L.grayi</i>	<i>L.innocua</i>
Çiğ süt	186	8 %4.3	14 %7.4	7 %3.76	5 %2.68	16 %8.6
Pastörize süt	50	-	1 % 2	-	-	-
Tereyağı	50	3 % 6	4 % 8	-	-	-
Beyaz peynir	50	-	1 % 2	-	-	2 %4
Tulum peyniri	50	-	4 %8	-	-	-
Toplam	386	11	24	7	5	18

TARTIŞMA VE SONUÇ

Listerialar doğada, sulara, yemlerde, toprakta, sebzelerde varlığı kanıtlanmış mikroorganizmlerdir. L.monocytogenes bovin mastitis etkeni oluşu, kanatlılarda ve diğer hayvanlarda septisemik hastalıklar oluşturması nedeniyle araştırmacıların dikkatini çekmiş bu etkene bağlı değişik ülkelerde meningitis, abortus, toksikasyon ve ölümlerle sonlanan olaylar yaşanmıştır.

Süt ürünlerinde çiğ süt kullanılması, pastörizasyonun yetersiz olması veya pastörizasyondan sonra yeterli hijyenik koşulların sağlanamaması, süt ürünlerinde olgunlaşma koşul ve sürelerine uyulmaması nedeniyle bu tip gıdalar diğer patojenler gibi listerialar yönünden de risk taşırlar.

Değişik ülkelerde çok çeşitli süt ürünlerinde, et ürünlerinde salatalarda, soslarda L.monocytogenes ve diğer listeriaların izole edildiğine dair geniş bir literatür bilgi vardır. (1,6,7,25,27,29,31,35,37,40).

Bunun yanında deneysel olarak, çiğ sütlerin değişik düzeylerde kontaminasyonun, değişik pastörizasyon dereceleri uygulandıktan sonra farklı ısıların farklı depolama ısılarının, farklı salamura konsantrasyonunun listerialara etkileri incelenmiş, 72°C'lik 15 sn. pastörizasyon ısısının etkeni imha için yeterli olduğu ortak fikrinde birleşilmiştir (5,11,13,17,40).

Peynirlerde olgunlaşma süresi boyunca ortamın pH değerine bağlı olarak sayısal bir azalma dikkati çekmektedir. Ancak başlangıçtaki mikroorganizma yüküne bağlı olarak son üründe sayısal veriler değişebilmektedir. Ayrıca etkenin düşük ısılarda üreyebilmesi, soğuk hava depolarında bekletilen süt ürünleri (peynir, tereyağı, kreme vb.) için her zaman riskli durumlar yaratabilir. Ülkemizde listerialar süt ve ürünlerinde, et ürünlerinde sınırlı sayıda çalışılmış, çiğ sütlerde, beyaz peynirde doğal olarak tesbit edilmiştir. Bunun yanında et ve süte deneysel olarak inoküle edilerek, sıcaklığın, tuzun, pH dercelerinin starter kültürlerin listerialar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Tam pastörizasyonun uygulanmadığı ürünlerde, olgunlaşma süresince mikroorganizm sayısında azalma olsa bile, ürünlerde tam olarak elimine olmamıştır.

Listeriosis olgularında özellikle Amerika'da yapılan çalışmalarla gıda- enfeksiyon teorisi kanıtlanmış, değişik meningitis olaylarında ve zehirlenmelerinde, hastalardan ve yedikleri gıdalardan aynı serotipte L.monocytogenes izole edilmiştir. Tıp fakültelerine bağlı hastanelerimizde

özellikle meningitis olgularından *L.monocytogenes* izole edilmektedir.

Süt ve süt ürünlerinde *Listeria* etkenlerinin aranması çalışmasında biz de çiğ sütlerde, %4.3 oranında *L.monocytogenes*, %7.4 oranında *L.ivanovii*, %3.76 oranında *L.murrayi*, %2.68 oranında *L.grayi*, %8.6 oranında *L.innocua*, pastörize sütlerde %2 oranında *L.ivanovii*, pastörize tereyağlarında %6 oranında *L.monocytogenes*, %8 oranında *L.ivanovii*, beyaz peynirlerde %2 oranında *L.ivanovii*, %4 oranında *L.innocua*, tulum peynirlerinde %8 oranında *L.ivanovii* tesbit ettik. En yüksek oranda *L.monocytogenes* pastörize tereyağ olarak satılan tereyağlarında tesbit etmiş bulunmaktayız (%6).

Sonuç olarak;

Listeriosisten korunabilmek için sütlerde pastörizasyonun tam uygulanması işletmelerde ve satış yerlerinde hijyenik koşulların yerine getirilmesi, taze gıda tüketiminin teşvik edilmesi gerekmektedir.

LİTERATÜR LİSTESİ

1. Amin, A., Panoulis, C., Geniorgis, C., Karainanoğlu, P.; Prevalence and potential growth of *L.monocytogenes* in ready to eat appetizer salads in Greece. 3rd world Congress Foodborne infections and intoxication. B. 49. 361, Berlin.1992
2. Beer, I.D., Yoeman, D.M.: *Listeria* in Food New Zealand Medical Journal 103: 883-84, 1990.
3. Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology Vol 2, 1235-1245, 1986.
4. Bulletin of the international Dairy Federation No: 223/988.
5. Bunning, V.K., Dnelly, C.W., Peeler, J.T., Briggs, E.H.: Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* within bovin milk phagocytes. Appl. Environ. Microbiol. 54 (2): 364-370, 1988.
- 6- Chartthorn, B.R., Kinde, H., Jensen, H.: Environmental survey for *Listeria* species in California milk processing plants. J. Food prot. 53 (3): 198-201, 1990.
7. Çiftçioğlu, G., Uğur, M.: Ülkemizde tüketilen salamura beyaz peynirlerde *Listeria*'ların varlığı üzerine bir araştırma. Bursa II. Uluslararası Gıda Sempozyumu 1991.
8. Çiftçioğlu, G, Ülgen, M.T.,Bostan, K.:*L.monocytogenes*in dondurmalarındaki

varlığı üzerine bir araştırma. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg. 18 (2), 1-8, 1992.

9. Çon, A.H., Kaya, M., Gökalp, H.Y.: Sucuklardan *L.monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak. Gıda Bilimi ve Teknolojisi.

10. Dallıkılıç, E.: Isolation of *Listeria monocytogenes* from clinical specimens. İnfeksiyon dergisi 2 (4). 575-579 1988.

11. El Gazzar, F.E., Marth, E.H.: *Listeria monocytogenes* and Listeriosis related to milk, milk products and dairy ingredients. *Milchwissenschaft* 46: 1, 14-19. 1991.

12. El labaudy, A.A., Fajed, M.A.. Incidence of listeria in raw milk. *Assiut Veterinary Medical Journal* 27: 53, 134-146. 1992.

13. Farber, J.M.. Thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in foods int. *J. Food. Microbiol.* 8: 285-291. 1989.

14. Farber, J.U., Peterkin, D.I.: *Listeria monocytogenes* a Foodborne pathogen. *Microbiological- reviews* 55: 3 476-511 1991.

15. Fedio, W.M., Jockson, H.: On the origin of *listeria monocytogenes* in raw bulk-tank-milk. *International- Dairy- Journal* 2:3, 197-208, 1992.

16. Fedio, W.M., Schoonderwoerd, M., Shute, R., Jackson, H.: A case of bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes*. *Canadian Veterinary Journal* 31: 11 773-775, 1990.

17. Fleming, D.W., Cocki, S.L., Kristine, L., Mac Donald, M.D.: Pasteurised milk as a vehicle of infection in an outbreak of Listeriosis. *N. Engl. J.Med.* 312 (7): 404-4-7, 1985.

18. Gün, H., Ilgaz, A.: İstanbul ve çevresinde, süt çiftliklerindeki süt toplama tanklarında *Listeria monocytogenes*'in varlığının araştırılması. I. Ulusal Veteriner Mikrobiyolojik Kongresi Özet Kitabı. 55, 1994.

19. Karamehmetoğlu, B.: Türk salamura beyaz peynirinde yapım ve olgunlaşma aşamalarının *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi. A.Ü. Vet. Fak. Dok. Tez. 1994.

20. Lowet, J., Froncic, D.W.: *Listeria monocytogenes* in raw milk. Detection, incidence and pathogenity. *J. Food Prot.* 50 (3): 188-192, 1987.

21. Lovett, J.: *Listeria* isolation Bakteriological Analiticol manual. FDA Supplement 9/87, 1988.

22. Lovett. J.: Isolation and enumeration of *listeria monocytogenes*. *Food.*

Technol. 172-175, 1988.

23. Mclauchlin, J., Gilbert, R.J.: *Listeria* in food Microbiology Digest. ' (3): 54-56, 1990.

24. Mustafa, S.I., Marth, E.H.: Occurrence of *E.coli*, *P. aeruginosa* and *L.monocytogenes* in abnormal milk. Dairy Food and Environmental Sanitation 13:2, 70-73, 1993.

25. Papageorgiou, D.K., Marth, E.H.: Fate of *L.monocytogenes* during the manufacture, ripening and storage of Feta cheese J. Food Prot. 52 (2): 82-87, 1989.

26. Pini, P.N., Gilbert, R.J.: The occurrence in the U.K. of *Listeria* species in raw chickens and soft cheeses. int. J. Food Microbiol 6: 317-326, 1988.

27. Pinto, B., Rosati, S., Reoli, D. *Listeria monocytogenes* in Italian soft cheese. Detection and incidence. 3rd world congress Foodborne infections and intoxications. B. 48. 358 Berlin 1992.

28. Reeves, N.W., Rocourt, J., Seeliger, H.P.R.: Isolation of *Listeria monocytogenes* from goat cheese associated with a case of listeriosis in goat Acta-Veterinaria-Scandinavica 34:2, 145-149, 1993.

29. Ryser, E.T., Marth, E.H., Doyle, M.: Survival of *L.monocytogenes* during the manufacture and storing of cottage cheese. J. Food Prot. 48: 746-753, 1985.

30. Ryser, E.T., Marth, E.H., Doyle, M.: Behavior of *L.monocytogenes* during the manufacture and ripening of Cheddar cheese. J. Food Prot. 50 (1): 7-13, 1989.

31. Ryser, E.T., Marth, E.H., Doyle, M.: Behavior of *L.monocytogenes* during the manufacture and ripening of Cheddar cheese. J. Food Prot. 50 (1): 7-13, 1989.

32. Seeliger, H.P.R., Larger, B.: Methods of detection, isolation and identification of *Listeria monocytogenes* and related species, from clinical samples, food, and environmental sources. J. infect. 2 (4). 607-616, 1988.

33. Schaack, M.M., Marth, E.H.: Behavior *Listeria monocytogenes* in skim milk and in yogurt mix during fermentation by thermophilic lactic acid bacteria J. Food Prot. 51: 607-614, 1988.

34. Slade, P.J., Collins, T.: *L. monocytogenes* in raw milk letters in Applied Microbiology 6: 5, 121-123, 1988.

35. Surak, J.G., Borefoot, S.F.: Control of *Listeria* in the dairy plant Vet. Hum

toxicol 29: 247-249, 1987.

36. Swannack, K.: Sheep Dairy News 6: 2, 28-29, 1989.

37. Terplan, G.: Listeria in the dairy industry problems of foodborne listeriosis, European symposium, Wiesbaden, 1986.

38. Tümbay, E., Seeliger, H.P.R., İnci, R., Coşer G., Larger, B.: Isolation of listeria from cheese in Turkey. Turkish J. Infect. 2(4): 593-598, 1988.

39. Olsen, B.: The effort made by the Danish dairy industry against Listeria monocytogenes scandinavium Dairy-industry 2:1, 9-11, 1988.

40. WHO Foodborne Listeriosis Geneva 1988.

WHO/EHE/FOO/88.5.

41. Zottola, E.A., Smith, L.B: Pathogens in cheeses. Food microbiol. 8: 171-182, 1991.