

**ÇİĞ SÜTLERDEN İZOLE VE İDENTİFİYE EDİLEN
LİSTERİA SPP'LERİN PATOJENİTELERİ VE
ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI***

**ANTIBIOTIC SENSITIVITY AND PATHOGENECITY OF
ISOLATED AND IDENTIFIED LISTERIA SPP. FROM
RAW MILK**

Kadri GÜNDÜZ**

Tülay BAYSAL**

Kabul Tarihi: 24.07.1998

ÖZET

Bu çalışmada, Eylül-1995 ile Ocak 1996 tarihleri arasında Konya bölgesindeki çeşitli süt işletmelerinden alınan, 100 adet çiğ süt örneği Listeria yönünden modifiye FDA metodu ile muayene edildi.

İzolasyon çalışmalarında, zenginleştirme besiyeri olarak EB, selektif besiyeri olarak OxA, saf koloni elde etmek için ise KA ve TSA-YE kullanıldı.

OxA'dan izole edilen şüpheli koloniler biyokimyasal testlerle identifiye edildi.

L. monocytogenes olarak identifiye edilen tek β-hemolitik Listeria suşunun patojenitesinin tespiti tavşan ve fare kullanılarak yapıldı.

Toplam 100 çiğ süt örneğinden, 1 adet (%1) L. monocytogenes, 4 adet (%4) L. innocua, 1 adet (%1) L. murrayi olmak üzere 6 adet (%6) Listeria spp. izole ve identifiye edildi.

İzole edilen Listeria suşlarının disk diffüzyon yöntemi ile çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıkları incelendi.

Bu araştırma ile L. monocytogenes'in Konya bölgesindeki çiğ sütte yaygın olarak bulunmadığı görülmüştür. Ancak son yıllarda peynir ve çiğ süte ilişkin listeriozis salgınları ve listeriozisin oluşma-

* Aynı adlı uzmanlık tezinden özetlenmiştir.

** Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü-KONYA

sında minimum enfektif dozun hala bilinmemesi, bu mikroorganizmanın süt ve süt ürünlerinde bulunmasını önleyecek tedbirlerin alınmasını gerektirmektedir

SUMMARY

In this study, totally 100 raw milk samples were collected during 1.9.1995 - 1.1.1996 period from various milk processing plants in Konya and examined for *Listeria* by modified FDA method.

In isolation studies, EB was used enrichment broth and OxA was used as isolation medium and also Blood Agar and TSA-YE were used to obtain pure colony.

Suspected colonies from OxA were subjected to biochemical tests to confirm identity.

The pathogenicity of *L. monocytogenes* strain was determined using mice and rabbit.

Out of 100 raw milk samples, 1(1%) *L. monocytogenes*, 4 (4%) *L. innocua* and 1 (1%) *L. murrayi*, totally 6 (6%) *Listeria* spp. were isolated and identified.

The antibiotic sensitivity of isolated *Listeria* strains against several antibiotics were tested using disc diffusion test.

This study showed that, *L. monocytogenes* was not commonly found in raw milk in Konya. However, in view of the recent outbreaks of listeriosis associated with cheese and raw milk and considering that the minimum infectious dose is still not known, every precaution must be taken to avoid the presence of this organism in dairy products.

GİRİŞ

Listeriosis, *Listeria monocytogenes* tarafından meydana getirilen, insanlarda ve hayvanlarda özellikle koyun, keçi ve sığırlarda görülen zoonoz bir hastalıktır (22,30). Özellikle son 10-15 yıl içerisinde meydana gelen ve çoğu süt ve süt ürünlerine bağlı gıda kaynaklı *Listeria* epidemileri, % 30'a varan ölüm oranları ile tüketicilerin, gıda endüstrisinin ve araştırmacıların dikkatlerini bu hastalık üzerine çekmeye yetmiştir (12,25).

Listeria cinsi, düzenli, sporsuz, gram pozitif çomaklar grubunda bulunmaktadır. Bu cins içinde *L. monocytogenes* dışında *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* ve *L. ivanovii* olmak üzere dört tür daha bulunmaktadır. Bu türlere ek olarak *L. denitrificans*, *L. grayi* ve *L. murrayi* türleri ise aynı cins içinde "Incerta Sedis" alt başlığı altında incelenmektedir (26). *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii* patojen türler olarak kabul edilmektedir. *L. monocytogenes* insan ve hayvanlarda abort, septisemi ve meningitis'e, *L. ivanovii* ise hayvanlarda aborta neden olmaktadır (22,30).

Listerialar Gram pozitif, kapsül ve spor oluşturmeyen, hareketli, çomak şeklinde bakterilerdir. Yaygın olarak kullanılan besiyerlerinin (Trioza agar, kanlı agar vs) hepsinde ürerler. Üreme 30-37 °C'de en iyi şekilde görülürse de üreme ısısı limitleri 1-47 °C'ler arasındadır (26). Yapılarında bulunan peritrik flagellalar sayesinde 20-25 °C'de üretildiklerinde hareket etme yeteneğine sahiptirler (23,26).

Listeria türlerinden *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* ve *L. ivanovii* kanlı agarda 18-24 saat inkübasyondan sonra β-hemoliz oluştururlar. *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* *Staphylococcus aureus* ile *L. ivanovii* ise *Rhodococcus equi* ile pozitif CAMP reaksiyonu verir (23,31).

Listerialar doğada çok yaygın olarak bulunan mikroorganizmalardır. Toprakta, vejetasyondaki bitkilerden, gıdalardan, silajdan, hayvan yemlerinden, bataklıklardan, kanalizasyon ve atık sularından, sağlıklı hayvanların ve insanların dışkılarından sıklıkla izole edilebilmektedir. Bundan dolayı, çevre tüm *Listeria* türleri için bir rezervuar olarak kabul edilmektedir (15,32). *L. monocytogenes*'in doğada çok yaygın olarak bulunması nedeniyle izolasyon tekniğinde alınan örneğin tipine ve kontaminasyonun derecesine göre değişiklikler göstermektedir (1,18). Listerialar özellikle ilk izolasyonlarında yavaş üreyen nazlı mikroorganizmalardır. Bundan dolayı, Listeriaların +4 °C'de üreme yeteneğinden faydalanılarak soğukta ön zenginleştirme metodu kullanılmıştır (1). Ancak bu ısı derecesinde generasyon süresi çok uzun olduğundan dolayı son zamanlarda içinde birçok kimyasal madde ve antibiyotiğin bulunduğu zenginleştirme ve izolasyon besiyerleri geliştirilmiştir (1,18,19,20,28). Özellikle *Listeria* salgınlarından sonra gıdalardan *Listeria* türlerinin izolasyonunu hızlandırmak amacıyla "FDA" (Food and Drug Administration) ve "USDA" (United State Department of Agriculture) metodları geliştirilmiştir (17). Warrburton ve ark (32) gıdalardan ve çevreden alınan örneklerden *L. monocytogenes*'in izolasyonu için FDA ve USDA metodlarını kullanmışlar ve her

iki metodun da izolasyonda birbirlerine karşı önemli bir üstünlüklerinin olmadığını bildirmektedirler.

Çiğ süt, pastörize süt ve peynir gibi süt ve süt ürünlerinden ile gelen *Listeria* salgınları, çiğ sütlerde *Listeria* türlerinin insidensinin belirlenmesi gerektiği gerçeğini ortaya çıkarmıştır. Bu amaçla yapılan çalışmalar (6,9,10,16,29) çiğ sütlerde *L. monocytogenes*'in bulunuşunun % 0 ile % 45 arasında değiştiğini ortaya koymuştur. Birbirinden farklı bölgelerde yapılan çalışmalar ile birbirine yakın sonuçlar alınabildiği gibi farklı sonuçlar da alınabilmektedir (6,18,21,27). Amerika da farklı bölgelerde çiğ sütlerden *L. monocytogenes*'in arandığı üç ayrı araştırmada; *L. monocytogenes*'i, Lovett ve ark (18) % 4.2, Hayes ve ark (14) ise % 12 oranında bulduklarını bildirmektedirler. Kanada'nın Ontario eyaletinde çiğ sütlerden yapılan iki ayrı çalışma da Slade ve Thomson (27) *L. monocytogenes*'i % 5.4, *L. innocua*'yı % 8.2, *L. welshimerii*'yi % 0.3 oranında tespit ederlerken, Farber ve ark (8) ise *L. monocytogenes* ve *L. welshimerii*'yi % 1.3, *L. innocua*'yı % 9.7 oranında tespit ettiklerini bildirmektedirler. Yine Kanada da yapılan bir başka çalışmada (5) ise *L. monocytogenes* % 1.6 oranında bulunmuştur.

Türkiye'de bu konuda yapılan çalışmalar çiğ sütlerden ziyade süt ürünleri üzerinde yoğunlaşmıştır (2,4,13). Çiftçioğlu ve ark (3,4) beyaz peynirde % 1.9, dondurmada % 10 oranında tespit etmişlerdir. Çiğ sütlerde İstanbul ve çevresinde yapılan bir çalışmada (13) *L. monocytogenes* % 4, *L. innocua* % 3 ve *L. welshimerii* % 2 olarak tespit edilirken, Ankara'da yapılan bir çalışmada (2) ise *L. monocytogenes* % 4.3, *L. ivanovii* % 7.4, *L. murrayi* % 3.76, *L. grayi* % 2.68 ve *L. innocua* % 8.6 oranında tespit edilmiştir.

Griffiths (12), *Listeria* türlerinin çiğ sütlerde bulunuşunun, çalışmanın yapıldığı yer ve mevsime göre değişiklikler gösterdiğini savunmaktadır. Dominguez-Rodriguez ve ark (6) İspanya'da *L. monocytogenes*'in çiğ sütlerde bulunuşunu %45.3 olarak bildirirken Lovett (18) Amerika'nın Tri-State Area bölgesinde %0 olarak bildirmektedir. Fernandez - Garayzabal ve ark (11) listeriaların çiğ sütlerde bulunma oranının yazın daha az kışın ise daha fazla olduğunu gözlemişlerdir. Bu farkın, kışın kapalı yerde beslemeden, beslemede silajın kullanılmasından ve hijyenik tetbirlerin yeterince yerine getirilmemesinden kaynaklanabileceğini savunmuşlardır. Slade ve ark. (27) Kanada'da listeriaların çiğ sütlerde bulunuşunda mevsimsel dağılımının önemli olmadığını savunurlarken, yine aynı ülkede Farber ve ark. (8) ise yazın daha fazla sayıda *Listeria* spp izole ettiklerini bildirmektedirler.

Bu araştırma ile Konya bölgesindeki süt işletmelerinden alınan çiğ süt örneklerinde, *Listeria* türlerinin bulunma sıklığı tespit edilerek, insanlarda süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi ile oluşabilecek kaynağa yönelik bulaşma riskinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Konya ve çevresindeki süt işletmelerinden temin edilen 100 adet 25 ml'lik çiğ süt örneği çalışma materyali olarak kullanılmıştır.

Besiyerleri: Örneklerden *Listeria* türlerinin izolasyonu amacıyla FDA tarafından tavsiye edilen Enrichment Broth zenginleştirme buyyonu olarak (32), *Listeria* Selective Agar Base (*Listeria* Selective Supplement - Oxoid SR 140) ise İzolasyon besi yeri olarak (19), izole edilen *Listeria* suşlarının mavi - yeşil refle verebilme özelliklerinin kontrolü amacıyla da Triptoz Soy Agar (TSA-YE) kullanıldı (1). Blood Agar Base (Oxoid No:2), İzole edilen *Listeria* suşlarını saflaştırmak ve hemoliz özelliklerinin belirlenmesi amacıyla (1), *Listerialar* için yarı katı agar, hareket özelliklerinin tespiti için (24) ve Müller Hinton Agar ise antibiyotiklere duyarlılıklarının tespiti amacıyla kullanıldı. Fenol Red Broth Base (Difco), *Listeria* türlerinin karbonhidrat fermentasyon özelliklerinin tespitinde kullanılan stok şeker (D-ksiloz, L-ramnoz, salisin, glikoz ve mannitol) solüsyonlarının hazırlanmasında kullanıldı (24).

Deneme hayvanları: *Listeria* suşlarının patojenitesinin belirlenmesi amacıyla, 4 adet de beyaz fare ve bir adet Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı (18).

Antibiyotik diskleri: İzole edilen *Listeria* suşlarının antibiyotiklere duyarlılığını belirlemek amacıyla; amoksisilin, eritromisin, penisillin, ampisilin, enrofloxacin, danofloxacin, oksitetrasiklin, sefalosporin, gentamisin, neomisin, trivetrim, tetrasiklin, nitrofurantoin antibiyotik diskleri kullanıldı.

Metod: Zenginleştirme buyyonlarına (225'er ml'lik), süt numuneleri (25'er ml'lik) ekilerek, 1 hafta süre ile 30 °C'de inkübe edildi. İnkübasyonun birinci, ikinci ve yedinci günlerinde buyyondan direkt olarak ve % 0.5 KOH ile 1/10 oranında sulandırılarak izolasyon besiyerine (OxA) ekimler yapıldı ve 48 saat 35 °C'de inkübe edildi (32).

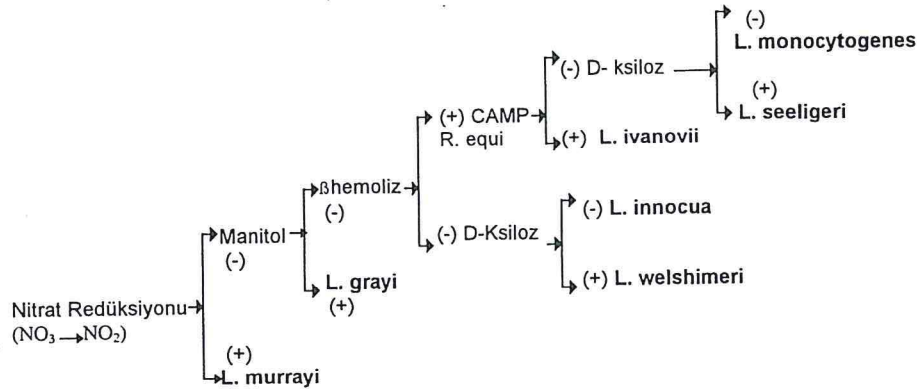
Üreyen koloniler; koloni formasyonları (eskülin pozitif), Gram boyanma özellikleri (Gram pozitif), mikroskopik görünümleri (Düzgün

çomakçıklar veya kokoid), katalaz (Pozitif), oksidaz (Negatif) testleri ve hareket muayeneleri (Pozitif) yapılarak *Listeria* spp. olarak değerlendirildi (19,23,26). Türlerin identifikasyonu amacıyla; hippurat hidroliz, Metil Red ve Voges-Proskover, Nitrat redüksiyonu testleri, D-ksiloz, L-ramnoz, salisin, glikoz ve mannitol karbonhidrat fermentasyon testleri yapıldı (15,23). β hemoliz gösteren *Listeria* suşunun identifikasyonu için de Blood agar'da *Rhodococcus equi* ve *Staphylococcus aureus* ile CAMP testi yapıldı (31). Şekil 1'deki kriterlere göre identifikasyona gidildi (23).

Listeria suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları disk diffüzyon testi ile tespit edildi (7).

Örneklerden izole edilen *L. monocytogenes* suşunun patojenitesini tespit etmek için, TSB'de hazırlanan 18-24 saatlik kültüründen iki adet beyaz fareye İ.P. olarak 0.1 ml enjekte edilirken, aynı kültürden tavşanın gözüne korneaya değdirmeden iki damla damlatıldı (18).

Şekil 1: *Listeria* Türlerinin Biyokimyasal İdentifikasyonu (23)



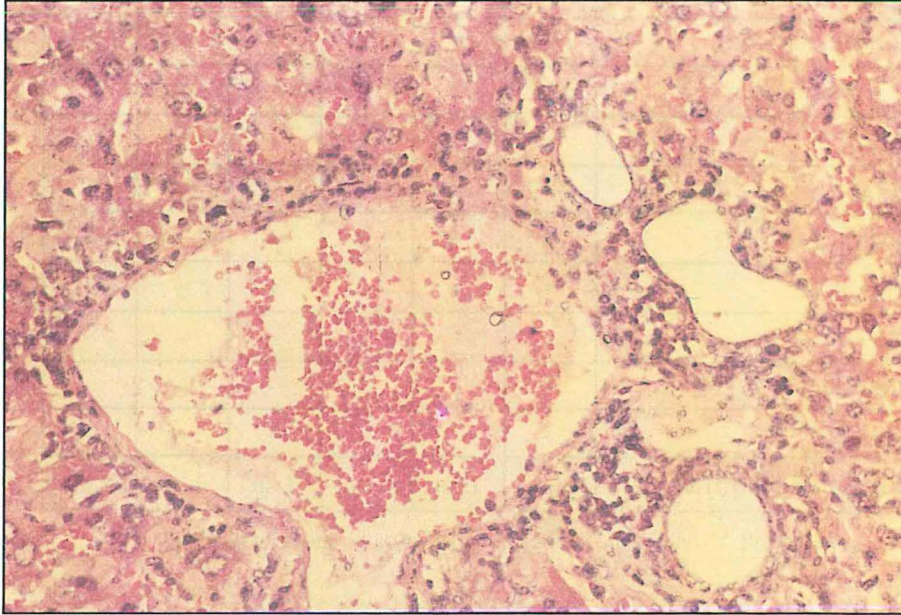
BULGULAR

Toplam olarak işlenen 100 adet süt çiğ süt örneğinden; 6 adet (% 6) *Listeria* spp. izole edilmiştir. Bunlardan 1 adeti (% 1) *L. monocytogenes*, 1 adeti (% 1) *L. murrayi* ve 4 adeti (% 4) de *L. innocua* olarak identifiye edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Süt Örneklerinin ve İzole Edilen *Listeria* Suşlarının Aylara Göre Dağılımı

Örneklerin Toplama Zamanı	Örnek Sayısı	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. murrayi</i>	Toplam
1995 Eylül	15	-	-	-	-
Ekim		15	-	-	-
Kasım	20	-	-	1 (% 5)	1 (% 5)
Aralık	20	1 (%5)	1 (% 5)	-	2 (% 10)
1996 Ocak	30	-	3 (% 10)	-	3 (% 10)
Toplam	100	1 (% 1)	4 (% 4)	1 (% 1)	6 (% 6)

Patojenite test sonuçları: *L. monocytogenes* olarak tanımlanan *Listeria* izolatı farelerde enjeksiyondan 3 gün sonra ölüm meydana getirdi. *L. monocytogenes* ölen farelerin karaciğerinden ve dalaktan tekrar izole edildi. Ayrıca karaciğerden yapılan histopatolojik incelemeler sonucu; mikroapsellerle karakterize deneysel listeriozis tespit edildi (Resim 1).



Resim 1: *L. monocytogenes* olarak tanımlanan *Listeria* suşunun fare karaciğerinde oluşturduğu deneysel listeriozis H&E boyama, X300.

Aynı suş ile tavşanda yapılan ANTON's testi sonucu ; tavşanın gözüne inokülasyondan 24 saat sonra ilk önce seröz, daha sonra purulent bir akıntı, keratokonjunktivitis ve korneada opaklaşma görüldü (Resim 2).

Tablo 2: İzole Edilen *Listeria* Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri

TESTLER		SUŞ NUMARALARI					
		43	54	67	78	86	92
Oxford agarda üreme		+	+	+	+	+	+
Kanlı agarda hemoliz		-	-	+	-	-	-
25 °C'de hareket	Asılı damla	+	+	+	+	+	+
	Yarı katı agar	+	+	+	+	+	+
CAMP TESTİ	S.aureus			+			
	R. equi			-			
Katalaz		+	+	+	+	+	+
Oksidaz		-	-	-	-	-	-
Hippurat Hidroliz		-	+	+	+	+	+
Nitrat redüksiyon		+	-	-	-	-	-
Eskülin		+	+	+	+	+	+
Glukoz		+	+	+	+	+	+
Salisin		+	+	+	+	+	+
L-Ramnoz		+	+	+	+	+	+
D-Ksiloz		+	-	-	-	-	-
Mannitol		+	-	-	-	-	-
MR ve VP		+	+	+	+	+	+
İdentifiye edilen türler		L.mu	L.in	L.mo	L.in	L.in	L.in

L.mu: *L. murrayi*, L.in: *L. inoocua*, L.mo: *L. monocytogenes*

Antibiyoqram Test Sonuçları: Antibiyoqram test sonuçları tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3: İdentifiye Edilen *Listeria* Türlerinin Antibiyotiklere Duyarlılık Özellikleri

ANTİBİYOTİKLER	Konsantrasyon	SUŞ NUMARALARI					
		43	54	67	78	86	92
Penisilin -G	10 IU	R	R	R	R	I	R
Ampisilin	10 mcg	S	S	S	S	S	S
Tetrasiklin HCL	30 mcg	S	I	R	I	S	I
Oksitetrasiklin	30 IU	I	R	R	R	S	I
Neomisin	30 mcg	R	R	R	R	S	R
Nitrofurantoin	200 mcg	R	R	R	R	R	R
Trivettrin	25 mcg	R	I	S	R	R	S
Sefalosporin	30 mcg	I	R	I	S	S	R
Gentamisin	10 mcg	R	R	S	I	I	S
Enrofloksasin	5 mcg	I	I	S	I	S	S
Amoksisilin	25 mcg	S	S	S	S	S	S
Danofloksasin	5 mcg	I	I	S	S	S	I
Eritromisin	15 mcg	S	S	I	S	R	I
<i>Listeria</i> türleri		L.mu	L.in	L.mo	L.in	L.in	L.in

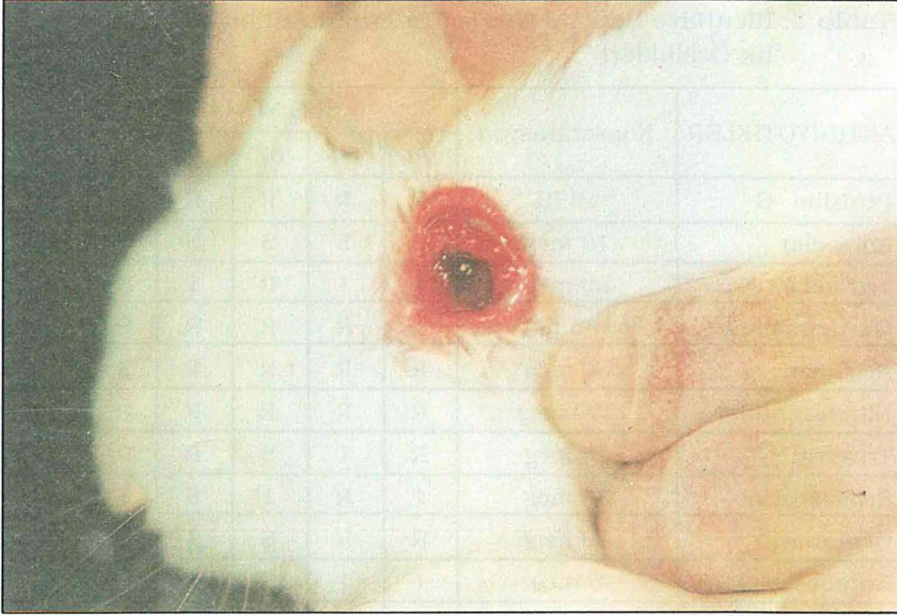
L.mo: *L. monocytogenes*, L.in: *L. innocua*, L.mu: *L. murrayi*

S: Duyarlı I: Orta derecede duyarlı R: Dirençli

TARTIŞMA VE SONUÇ

L. monocytogenes ve diğer *Listeria* türleri, dünyanın birçok yerinde çeşitli gıda maddelerinden izole edilmiştir (29,32). Son zamanlarda bu mikroorganizma ile bulaşık süt, süt ürünleri ve çiğ sebzelerin tüketimi ile meydana gelen *Listeriosis* vakaları *Listeriaların* bu gıda maddelerinden izolasyonu amacıyla çok sayıda araştırmanın yapılmasına yol açmıştır (2,18,32).

Çiğ süt örneklerinden *Listeriaların* varlığı üzerine yapılan çalışmaların sonuçları farklılık göstermektedir. Amerika'da 3 farklı bölgede çiğ sütler üzerine yapılan bir çalışmada, ortalama olarak *Listeria* spp. % 12, *L. monocytogenes* ise % 4.2 olarak bildirilmiştir (18). Yine Amerika'nın Nebraska eyaletinde yapılan bir çalışmada ise *Li-*



Resim 2: ANTON's Testi: *L. monocytogenes* olarak tanımlanan suşun tavşanın gözüne instilasyonundan sonra oluşan keratokonjunktivitis ve korneada opaklaşma

ewen ve Plautz (16), *Listeria* spp. % 9, *L. monocytogenes* ise % 4 olarak tespit etmişlerdir. İtalya'da, peynir, tereyağ ve çiğ sütlerden *Listeria* izolasyonu amacıyla yapılan bir araştırmada (21) çiğ sütlerde hiçbir *Listeria* türüne rastlanmazken, İspanya da Dominquez Rodriquez ve ark. (6) çiğ sütlerde *L. monocytogenes*'in insidensini % 45 olarak bildirmektedirler. Türkiye'de İstanbul'da yapılan bir çalışmada (13), *L. monocytogenes* oranı % 4, Ankara'da yapılan bir çalışmada (2) % 4.3 olarak tespit edilmiştir. Cezayirde Tiwari ve Aldenrath (29) üzerinde çalışma yaptıkları 252 çiğ süt örneğinden, % 4 *Listeria* spp., % 0.8 *L. monocytogenes* ve % 3.2 oranında *L. innocua* izole ettiklerini bildirmektedirler. Fedio ve Jackson (9) ise yine Cezayir'de yaptıkları bir araştırmada *L. monocytogenes*'in çiğ sütlerdeki insidensini % 1.9 olarak bulmuşlardır. Manitoba'da 256 çiğ sütün işlendiği bir araştırmada % 1.6 oranında *L. monocytogenes* izole edildiği bildirilmektedir (5). Bu çalışmada ise, *Listeria* spp. % 6, *L. monocytogenes* % 1, *L. murrayi* % 1, *L. innocua* % 4 oranında tespit edilmiştir. Yukarıdaki bilgilerden anlaşılacağı üzere *Listeriaların* çiğ sütlerde bulunuşu, hem ülkeler arasında, hemde aynı ülkede yapılan farklı çalışmalarda birbirinden değişik sonuçlar göstermektedir.

Araştırmalardan farklı sonuçlar alınması, izolasyonda kullanılan yöntemlerin ve besiyerlerinin farklı olmasına, örneklerin değişik mevsimlerde alınmasına, örneklerin alındığı yerdeki hayvancılık sistemindeki ve hayvan besleme alışkanlıklarının farklılığına, sütlerin alındığı yerdeki hijyenik şartlara bağlanmaktadır (9,10,11,12,15).

Listeriaların gıdalardan izolasyonu amacıyla şimdiye kadar standart bir metod geliştirilememiştir (32). İzolasyon amacıyla birçok yöntem ve vasat kullanılmıştır (1,18,32). Bazı araştırmacılar (1,14) iki aşamalı zenginleştirmenin (Soğukta ön zenginleştirme+Zenginleştirme) Listeriaların izolasyon şansını arttırdığını savunurlarken, Lovett (17) bunun çok zaman aldığını ve kendisinin ve arkadaşlarının geliştirdiği tek aşamalı "FDA" yöntemi ile zenginleştirmenin daha iyi sonuç vereceğini savunmaktadır. Bu çalışmada zamanın kısa olması nedeniyle zenginleştirme besiyeri olarak "FDA" tarafından önerilen zenginleştirme besiyeri kullanılmıştır.

Listeriaların izolasyonunda içinde bir ya da birkaç supplementin bulunduğu çok sayıda selektif besiyerleri geliştirilmiştir (1,28). Bu araştırmanın başında da MMLA agar selektif besiyeri olarak kullanılmışsa da Listeria türlerinin ayırımında baz alınan refle özelliğinin bazı bakteriler tarafından da meydana getirilmesinden dolayı terkedilerek yerine Listeria Selektif Agar Base (Oxford formülasyonu - Oxford Agar) kullanılmıştır. Oxford Agar, PALCAM, ASLM gibi selektif besiyerlerinde üreyen Listeria kolonileri besiyerinin içinde bulunan indikatör sistem sayesinde kolayca tanınabilirler.

Araştırmacıların bazıları (11,18) çiğ sütlerden Listeria izolasyonunda örneklerin toplandığı mevsimin önemli olduğunu savunmaktadırlar ve kış mevsiminde Listeria izolasyon şansının yaza göre daha fazla olduğunu bildirmektedirler. İzolasyon oranının kışın daha fazla olmasında, kapalı yerde beslemenin ve beslemede silajın kullanılmasının, en önemli etkenler olduğu üzerinde durulmaktadır (10,15, 21,8). Kimi araştırmacılar (26,27) ise izolasyonda mevsimin bir etkisi olmadığını savunmaktadırlar. Bu çalışmada her ne kadar çiğ süt örneklerinin alındığı zamanı yaz ve kış olarak ayırmak mümkün değilse de, örneklerin alındığı 5 ay içerisinde sıcak aylar olarak kabul edebileceğimiz eylül ve ekim aylarında hiçbir Listeria türü izole edilebilmiş değildir.

Çiğ sütlere Listeriaların bulaşmasında en önemli nedenlerden birisi de birçok araştırmacı (10,12,15) tarafından da bildirildiği gibi bozuk silajdır. Bu çalışmada çiğ süt örneklerinin alındığı işletmelere

süt sağlıyan çiftliklerde ineklerin beslenmesinde silaj ya hiç kullanılmamakta ya da çok az kullanılmaktadır. Silajın hayvanların beslenmesinde yaygın olarak kullanıldığı yerlerde yapılan çalışmalardan (11,15,18) izole edilen *L. monocytogenes* oranlarına (% 45, % 13, % 4) göre bu çalışmada elde edilen oranın (%1) düşük olmasının bir nede-nide bu araştırmanın yapıldığı Konya bölgesinde silajın beslemede kullanılmaması olabilir.

L. monocytogenes olarak identifiye edilen *Listeria* suşu ile fare-lerde ve tavşanda yapılan patojenite testlerinde, literatürlerde bildiril-diği gibi farelerin karaciğerinde mononükleer hücre infiltrasyonu ile karakterize mikropapseller tespit edilirken, tavşanın gözünde ise kera-tokonjunktivitis ve korneada opaklaşma ile karakterize deneysel liste-riozis oluşturulmuştur (18).

Araştırmada tespit edilen *L. monocytogenes* oranı düşük olmak-la birlikte, *Listeriaların* +4 °C de üreme yeteneklerinden dolayı, çiğ sütlerin, süt işletmelerinde işlenmeden önce toplama tanklarında bekletilmeleri esnasında üreyerek hastalık yapabilecek sayıya ulaş-ması, insanlar için potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır. Öte yan-dan insanlarda listeriozisin oluşması için gerekli minimum infeksiyoz dozun ne olduğu hala açıklık kazanabilmiş değildir (25). Ayrıca, yeni doğan bebekler, yaşlı insanlar ve immun sistemi gebelik ya da kan-ser, alkolizm gibi hastalıklardan dolayı baskılanmış insanlar listeri-ozisin meydana gelmesinde risk grubu olarak bildirilmektedir (12,25). Yukarıda sayılan nedenlerden dolayı süt işletmelerinde bu mikroorga-nizmayı tahrip edecek yeterli pastörizasyonun yapılması ve pastörize süt ve süt ürünlerine, imalat, depolama ve nakliye aşamasında *Liste-riaların* muhtemel bulaşma yollarının tespit edilip, ihtiyaç duyulan hijyenik önlemlerin alınması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- **Al-Ghazalı M R**, (1988). *Isolation Procedure of Listeria species* infek. Der., 2 (4) 541-551.
- 2- **Ayaz Y, Akçay E**, (1995). *Süt ve Süt Ürünlerinde Listeriaların Aranması*. Etlik Vet. Kont. ve Arş. Enst. Derg. 1-2(8): 1-8.
- 3- **Çiftçioğlu G, Uğur M**, (1991). *Ülkemizde Tüketilen Salamura Beyaz Peynirlerde Listeriaların Varlığı Üzerine Bir Araştırma*. Bursa II. Uluslararası Gıda Sempozyumu.
- 4- **Çiftçioğlu G, Ülgen M T, Bostan K**, (1992). *Listria monocytogenes'in Dondurmalarındaki Varlığı Üzerinde Bir Araştırma*. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi., 18 (2): 1-8.
- 5- **Davidson R J, Spring D W, Park C E, Rayman M K**, (1989). *Occurrence of Listeria monocytogenes, Capylobacter spp, Yersinia enterocolitica in Manitoba Raw Milk*. Can.Inst. Food Science Technol., 22 (1): 70-74.
- 6- **Dominquez Rodriquez L, Fernandez Garayzabal J F, Vazquez Boland J A**, (1985). *Isolation de micro-organismes du genre Listeria a partir de lait cru clestine a la consommation humaine*. Can. J. Microbiol., 31: 938-941.
- 7- **Erganiş O**, (1992). *Mikrobiyoloji ve immünoloji*. Sağlık Bakanlığı Konya Sağlık Eğitim Enstitüsü Yayınları No: 2 Konya.
- 8- **Farber J M, Sanders G W, Malcom S A**, (1988). *The Presence of Listeria spp in Ram Milk in Ontario* Can. J. Microbiol.,34: 95-100.
- 9- **Fedio W.M, Jackson H**, (1990). *Incidence of Listeria monocytogenes in Raw Milk in Alberta*. Can. Inst. Food Scien. Technol, 23(4/5): 236-238.
- 10- **Fedio W M, Jackson H**, (1992). *On The Origin of Listeria monocytogenes in Raw Bulk-Tank Milk*. Inter. J. Microbiol., 2(3): 197-208.
- 11- **Fernandez Garayzabal J F, Dominquez Rodriquez L, Vazquez Boland J A, Gomez-Lucia E, Rodriquez E R, Suarez G**, (1987). *Occurrence of Listeria monocytogenes in Raw Milk*. Vet. Rec., 120: 258-259.
- 12- **Griffths M W**, (1989). *Listeria monocytogenes: Its Importance in the Dairy Industry*. J.Science Food Agricul., 47: 133-158.

13- Gün H, Ilgaz A, (1994). *İstanbul ve Çevresinde, Süt Çiftliklerindeki Süt Toplama Tanklarında Listeria monocytogenes'in Varlığının Araştırılması*. 1. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı.

14- Hayes P S, Feely J C, Graves L M, Ajello G W, Fleming D W, (1986). *Isolation of Listeria monocytogenes from Raw Milk*. Appl. Environmen. Microbiol. 51(2): 438-440.

15- Husu J R (1992). *Epidemiological Studied on the Occurence of Listeria monocytogenes in the Feces of Dairy Cattle*. J. Vet. Med., 37: 276-282.

16- Liewen M B, Plautz M W, (1988). *Occurence of Listeria monocytogenes in Raw Milk in Nebreska*. J. Food Prot., 51(11): 840-841.

17- Lovett j, (1988). *Isolation and Enumeration of Listeria monocytogenes*. Food Technol., 4:172-175.

18- Lovett J, Frncis D W, Hunt J M, (1987). *Listeria monocytogenes in Raw Milk: Detection, Incidence and Pathogenecity*. J. Food Prot., 50(3): 188-192.

19- Lund A M, Al-Zottala E, Pusch D J, (1991). *Comparasion of Methods for Isolation of Listeria from Raw Milk*. J. Food Prot., 54:602-606.

20- Marrakchi A E, Hamama A, Othmani F E, (1993). *Occurrence of Listeria monocytogenes in Milk and Dairy Products Produced or Imported into Morocco*. J. Food Prot., 56: 256-259.

21- Massa S, Lesaroni D, Poda G, Trovatelli L D, (1990). *The Incidence of Listeria spp. in Soft Cheeses, Butter and Raw Milk in the Province of Bologna*. J. Appl. Bacteriol., 68: 153-156.

22- Müller H E, (1988). *Listeriosis in Animals*. Infek. Derg., 2(4): 505-519.

23- Rolovich B S, Naidu A S, (1988). *Data to the Cultivation and Isolation of Listeria*. mfek. Derg., 2(4): 553-560.

24- Rocourt J, (1988). *The Recognition and Idendification of Listeria Species by Classical Methods*. infek. Derg., 2(4): 471-485.

25- Seeliger H P R, (1988). *Why Listeriosis*. mfek. Derg., 2 (4): 455-460.

26- Seeliger H P R, Jones D, (1986). *Genus Listeria: In: P.H.A. Sneath and J.H. Holt(eds) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol:2, Williams and Wilkins, Baltimore. 1235-1245.*

27- Slade P J, Collins-Thompson D L, (1988). Incidence of *Listeria* Species in Ontario Raw Milk. *Can. Inst. Food Science Technol.*, 21(4): 425-429.

28- Tiwari N P, Aldenrath S G, (1990). *Isolation of Listeria monocytogenes from Food Products on Four Selective Plating Media. J. Food Prot.*, 53(5): 382-385.

29- Tiwari N P, Aldenrath S G, (1990b). *Occurrence of Listeria Species in Food and Environmental Samples in Alberta. Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 23(2/3): 109-113.

30- Vandepitte J, Ruelens R, (1988). *Clinical Aspects of Human Listeriosis. infek. Derg.*, 2(4): 487-496.

31- Vazquez-Boland J A, Dominquez Rodriquez L, Fernandez Garayzabal J F, Rodriquez-Ferri E F, Briones V, Blanco M, Suarez G, (1990). *Revision of the Validity of CAMP Tests for Listeria Identification. Proposal of an Alternative Method for the Determination of Hemolytic Activity by Listeria Strains. Act. Microbiol. Hung.* 37(2): 201-206.

32- Warburton D N, Farber J M, Calderia A A R, Hunt T, Messier S, Plate R, Tiwari N P, Vinet J, (1991). *A Comparative Study of the "FDA" and "USDA" Methods for the Detection of Listeria monocytogenes in Foods. Int. J. Food Microbiol.*, 13: 105-108.