



Tüketime Hazır Gıdalarda *Listeria monocytogenes* Varlığının Araştırılması

Serhat AL¹, Mukaddes BAREL¹, Adalet DIŞHAN¹, Fulden KARADAL², Harun HIZLISOY¹,
Nurhan ERTAŞ ONMAZ¹, Yeliz YILDIRIM¹, Zafer GÖNÜLALAN¹

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Veteriner Halk Sağlığı ABD, Kayseri-TÜRKİYE

²Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Bor Meslek Yüksek Okulu Süt ve Ürünleri Teknolojisi ABD, Kayseri-TÜRKİYE

Sorumlu yazar: Serhat AL; E-posta: serhatal@erciyes.edu.tr; ORCID: 0000-0003-2721-9275

Atıf yapmak için; Al S, Barel M, Dışhan A, Karadal F, Hızlısoy H, Ertaş Onmaz N, Yıldırım Y, Gönülalan Z. Tüketime hazır gıdalarda *Listeria monocytogenes* varlığının araştırılması. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2020; 17(2): 149-155.

Özet: Bu çalışmada, Kayseri ve Niğde'de perakende olarak satışa sunulan bazı tüketime hazır gıdalarda *Listeria monocytogenes* varlığının araştırılması, tespit edilen izolatların moleküler karakterizasyonu ve antibiyotik dirençlilik profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla farklı dönemlerde olmak üzere farklı satış noktalarından 64 etsiz çiğ köfte, 54 mayonez bazlı Rus salatası ve 25 peynir tatlısı örneği toplanmıştır. Tüketime hazır gıda numunelerinden konvansiyonel yöntemlerle *Listeria monocytogenes* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen *Listeria* spp. şüpheli izolatlar Microbact *Listeria* 12L Kit ile tür bazında tanımlanmıştır. Fenotipik olarak *L. monocytogenes* olduğu belirlenen izolatlar Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile doğrulanmıştır. *Listeria monocytogenes* izolatlarının klonal yakınlıkları Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC) PZR ile belirlenmiş, ayrıca Multiplex PZR (mPZR) yöntemi ile nesil ve serotip analizleri gerçekleştirilmiştir. İzolatların antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesinde disk difüzyon metodu kullanılmıştır. Çalışma kapsamında etsiz çiğ köfte numunelerinin sekizinden (%12.5) ve Rus salatası örneklerinin ise birinden (%1.85) *L. monocytogenes* izole edilmiştir. Araştırılan peynir tatlısı örneklerinin hiçbirinde *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir. Yapılan ERIC PZR analizi sonucunda izolatların dört farklı tipte bant profili ortaya koydukları belirlenmiştir. *L. monocytogenes* izolatlarının nesillerinin belirlenmesi amacıyla yapılan Allelspesifik Oligonükleotid (ASO) PZR analizinde tüm izolatların birinci nesile ait oldukları; mPZR ile yapılan serotiplendirmede ise tüm izolatların 4b serotipi olduğu ortaya konulmuştur. Çalışma kapsamında elde edilen sekiz izolatın birinin ampisiline; birinin meropenem, üçünün eritromisine ve ikisinin ise trimetoprim/sülfometaksazol'e dirençli oldukları belirlenmiştir. Bu çalışma ile halk sağlığı açısından ciddi riskler oluşturan ve etkin kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gösterebilen *L. monocytogenes*'in tüketime hazır gıdalar aracılığıyla dağılımı gösterebileceği belirlenmiştir. Toplum tarafından talep gören tüketime hazır gıdaların üretiminde, gıda güvenliği yönetim sistemlerinin etkin şekilde kullanılması ve üretim sonrasında olası kontaminasyonların önüne geçilmesi amacıyla gıda muhafaza ilkelerinin göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik duyarlılık, *Listeria monocytogenes*, moleküler tiplendirme, tüketime hazır gıdalar

Investigation of the Presence of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat Foods

Summary: In this study, it was aimed to investigate the presence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods retailed in Kayseri and Niğde province of Turkey and to determine the molecular characterization and antibiotic resistance profiles of the detected isolates. For this purpose, 64 cigköfte without meat, 54 mayonnaise based Russian salads and 25 cheese desserts samples were collected from different sales points. *Listeria monocytogenes* isolation was carried out by conventional method in ready-to-eat food samples. Obtained *Listeria* spp. isolates were identified by species with the Microbact *Listeria* 12L Kit. Isolates phenotypically determined as *L. monocytogenes* were confirmed by Polymerase Chain Reaction (PCR). Clonal relationship of *L. monocytogenes* isolates were revealed by Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC) PCR, and lineage and serotype analyzes were performed by Multiplex PCR (mPCR) methods. Disc diffusion method was used to determine the antibiotic susceptibility profiles of the isolates. In the study, *L. monocytogenes* was isolated in eight of çiğköfte samples (12.5%) and one of Russian salad samples (1.85%). None of the cheese dessert samples were contaminated with *L. monocytogenes*. As a result of the ERIC PCR analysis, it was determined that the isolates separated four different type of band profiles. In the Allelespecific oligonucleotide (ASO) PCR analysis performed to determine the lineage of *L. monocytogenes* isolates, it was revealed that all isolates belong to the Lineage I, and serotyping with mPCR, all isolates were determined as serotype 4b. One of the eight isolates obtained in the study was resistant to ampicillin; one was resistant to meropenem, three to erythromycin and two to trimethoprim/sulfamethoxazole. Within the study, it was determined that antibiotic resistant *L. monocytogenes*, can be distributed with ready-to-eat foods and poses serious risks in terms of public health. It is considered that food preservation principles should be taken into consideration and using food safety management systems effectively in the production process of ready-to-eat foods that are highly demanded by the society to prevent possible contaminations after production.

Key words: Antibiotic susceptibility, *Listeria monocytogenes*, molecular typing, ready-to-eat foods

Giriş

Listeria monocytogenes, özellikle yaşlılar, hamile kadınlar ve yeni doğanlar da dahil olmak üzere yüksek riskli gruplarda enfeksiyonlara neden olabilen Gram pozitif, çubuk şekilli, fakültatif anaerob bir bakteridir. Listeriozis, *Salmonella*, *Campylobacter* veya verotoksijenik *Escherichia coli* gibi diğer gıda kaynaklı patojenlerin neden olduğu hastalıklar kadar yaygın olmasa da, yüksek mortalite ile seyretmesi nedeniyle ciddiyetini korumaktadır. Listeriozis, insanlarda septisemi, meningoensefalit, hamilelerde abort veya neonatal enfeksiyonları şeklinde ortaya çıkabilmektedir (Charlier ve ark., 2017). Bununla birlikte *L. monocytogenes*, yüksek düzeyde çevresel kontaminasyon gösterebilen ubiquitous bir mikroorganizma olarak, ham madde eldesi ve sonrasında çapraz kontaminasyonlar ile üretim, paketleme, nakliye ve depolama gibi aşamalarda gıda üretim zincirine kolaylıkla dahil olabilmektedir (Amajoud ve ark., 2018). Bu patojen bakterisi düşük nem içeriği, yüksek tuzluluk oranı, geniş pH aralığı gibi durumlarda ve soğuk zincirde canlılığını uzun süre koruyabilmekte ve gıda işleme ile ilişkili stres faktörlerine karşı oldukça yüksek tolerans gösterebilmektedir (Chen ve ark., 2020; Cartwright ve ark., 2013). Tüm bu koşullar, pastörize edilmemiş süt ürünleri, et ürünleri, deniz ürünleri ve sebzeler gibi çok çeşitli gıda matrislerinde *L. monocytogenes*'in canlılığını devam ettirmesini ve çoğalmasını sağlamaktadır. Salgınlar ve sporadik listeriozis vakaları, genellikle uzun raf ömrüne sahip, buzdolabında muhafaza edilebilen ve tüketilmeden önce ısı işlem uygulanmayan tüketime hazır gıdalar ile ilişkilendirilmektedir (EFSA, 2018).

Listeria türleri içerisinde *L. monocytogenes*'in (ve nadiren *L. ivanovii*'nin) insanlar ve hayvanlar için patojen olduğu ve üç nesil halinde sınıflandırıldığı bildirilmektedir. Nesil I'nin 4b, 1/2b, 3b ve 3c serotiplerini; nesil II'nin 1/2a, 1/2c, ve 3a serotiplerini ve nesil III'ün ise 4a ve 4c serotiplerini içerdiği ortaya konmuştur (Nadon ve ark., 2001). Bununla birlikte birinci ve ikinci nesil, barındırdıkları serotipler ile insan ve hayvanlarda patojenite gösterebilirken III. nesilin insan listeriozisi ile etiyolojik ilişkisinin oldukça zayıf olduğu bildirilmektedir (Ward ve ark., 2004; Jeffers ve ark., 2001).

Bu çalışma ile hassas grup bireylerde ölümlerle sonuçlanabilen enfeksiyonlara neden olan *L. monocytogenes*'in tüketime hazır gıdalarda varlığının (i); elde edilen izolatların klonal yakınlıklarının (ii); nesil ve serotip dağılımlarının (iii) ve antibiyotik duyarlılık profillerinin (iv) ortaya konulması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Tüketime hazır gıda numunelerinin örneklendirilmesi

Çalışma kapsamında Mayıs-Haziran 2018 aylarında

Kayseri ve Niğde'de bulunan bazı satış yerlerinden üretim tarihleri ve parti numaraları gözetilerek birer haftalık aralıklarla 64 etsiz çiğ köfte, 54 Rus salatası ve 25 peynir tatlısı örneği toplandı. Kendi ambalajında bulunan örnekler direkt kendi ambalajıyla; diğer tipteki numuneler ise sızdırmaz steril numune poşetlerine alındı. Tüm örnekler soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek aynı gün analize tabi tutuldu.

Çalışmada kullanılan pozitif kontroller

Çalışmada elde edilen şüpheli izolatların doğrulanmasında; *L. monocytogenes* N7144, nesil belirlenmesi ve serotiplendirmede ise *L. monocytogenes* RSKK 472 ve RSKK 476 referans suşları kullanıldı. Nesil II için ise Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi kültür koleksiyonunda bulunan daha önce doğrulanmış, *L. monocytogenes* klinik olarak elde edilmiş insan izolatu kullanıldı.

Listeria monocytogenes izolasyonu ve identifikasyonu

Çalışma kapsamında temin edilmiş gıda numunelerinde *Listeria* spp. varlığının belirlenmesi amacıyla ISO 11290-1/2017 horizontal metodu takip edildi (ISO, 2017). *Listeria monocytogenes* şüpheli koloniler Gram boyama ve hareket muayenesine tabi tutuldu. ISO kapsamında yapılması zorunlu kılınan biyokimyasal testler için kanlı agarda ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek taze kültüre edilmiş izolatlar, Microbact 12L test kiti (Oxoid, İngiltere) ile biyokimyasal (Esculin, Mannitol, Ksiloz, Arabitol, Ribose, Rhamnose, Trehalose, Tagatose, Glucose-1-Phosphate, Methyl-D-Glucose, Methyl D-Mannose, Hemolysis) açıdan değerlendirildi.

Moleküler Karakterizasyon

DNA izolasyonu

Kanlı agarda taze kültüre edilmiş şüpheli izolatlardan total genomik DNA izolasyonu Instagene Genomic DNA Ekstraksiyon kiti (Bio-Rad, ABD) kullanılarak üretici firmanın önermiş olduğu protokol doğrultusunda gerçekleştirildi. Elde edilen gDNA konsantrasyonları (ng/µL) Qubit 3.0 fluorometre (Thermo Fisher, ABD) kullanılarak belirlendi ve PCR analizleri gerçekleştirilene kadar gDNA izolatları -20 °C'de muhafaza edildi.

Listeria monocytogenes izolatlarının PZR ile doğrulanması

Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *L. monocytogenes* izolatlarının doğrulanması amacıyla Border ve ark. (1990) tarafından bildirilmiş olan primer çifti kullanıldı (Tablo 1). Çalışmada gerçekleştirilen tüm PZR analizlerinde DreamTaq Hot Start PCR (2x) Master Mix (Thermo Fisher, ABD) üreticinin önerileri doğrultusunda kullanıldı. DNA amplifikasyonunda 95°C'de 2

Tablo 1. Çalışma kapsamında kullanılan primerler

Kullanım amacı	Primer	Dizi (5'-3')	Ürün (bp)	Literatür
<i>L. monocytogenes</i> doğrulanması	LM1	CCTAAGACGCCAATCGAA	702	Border ve ark. (1990)
	LM2	AAGCGCTTGCAACTGCTC		
Nesil belirlenmesi	actA1-f	AATAACAACAGTGAACAAAGC	373	Ward ve ark. (2004)
	actA1-r	TATCACGTACCCATTTACC		
	plcB2-f	TTGTGATGAATACTTACAAAC	564	
	plcB2-r	TTTGCTACCATGTCTTCC		
	actA3-f	CGGCGAACCATACAACAT	277	
	plcB3-r	TGTGGTAATTTGCTGTCC		
Serotip belirlenmesi	lmo0737-f	AGGGCTTCAAGGACTTACCC	691	Doumith ve ark. (2004)
	lmo0737-r	ACGATTTCTGCTTGCCATTC		
	lmo1118-f	AGGGGTCTTAAATCCTGGAA	906	
	lmo1118-r	CGGCTTGTTCCGTCATACTTA		
	ORF2819-f	AGCAAAATGCCAAAACCTCGT	471	
	ORF2819-r	CATCACTAAAGCCTCCCATTG		
	ORF2110-f	AGTGGACAATTGATTGGTGAA	597	
	ORF2110-r	CATCCATCCCTTACTTTGGAC		
	prs-f	GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG	370	
	prs-r	CAAAGAAACCTTGATTTGCGG		

30 dakika ön denatürasyon işleminden sonra 95 °C'de 30 saniye, 54 °C'de 30 saniye, 72°C'de 1 dakika (35 siklus) ve 72 °C'de 10 dakika son uzama uygulandı (Arctic™ Thermal Cycler; Thermo Fisher, USA). Çalışmanın tamamında elde edilen ampikonlar GelRed Nükleik Asit Jel Boyası (Biotium, USA) ile hazırlanan %1.5'lik agaroz jelle yüklenerek 120 voltta 45 dakika elektroforez işlemine tabi tutuldu ve Chemidoc XRS+ jel dökümantasyon sistemi (Bio-Rad, ABD) ile görünlendi.

Allelspezifik Oligonükleotid (ASO) PZR

Çalışma kapsamında elde edilmiş olan *L. monocytogenes* izolatlarının nesillerinin belirlenmesi amacıyla Ward ve ark., (2004) tarafından dizayn edilmiş primer çiftleri kullanılarak mPZR analizi gerçekleştirildi (Tablo 1). Bu amaçla gerçekleştirilen amplifikasyonda; 95°C'de 2 dakika ön denatürasyon işleminden sonra 95°C'de 30 saniye, 53°C'de 30 saniye, 72°C'de 1 dakika (35 siklus) ve 72°C'de 10 dakika son uzama uygulandı (Arctic™ Thermal Cycler; Thermo Fisher, USA).

Serotiplendirme

Listeria monocytogenes izolatlarının serotiplendirilmesinde Doumith ve ark., (2004) tarafından ortaya konulmuş mPCR protokolü takip edildi (Tablo 1). Bu amaçla gerçekleştirilen amplifikasyonda; 95°C'de 2 dakika ön denatürasyon işleminden sonra 95°C'de 30 saniye, 56°C'de 30 saniye, 72°C'de 1 dakika (35 siklus) ve 72°C'de 10 dakika son uzama uygulandı (Arctic™ Thermal Cycler; Thermo Fisher, USA).

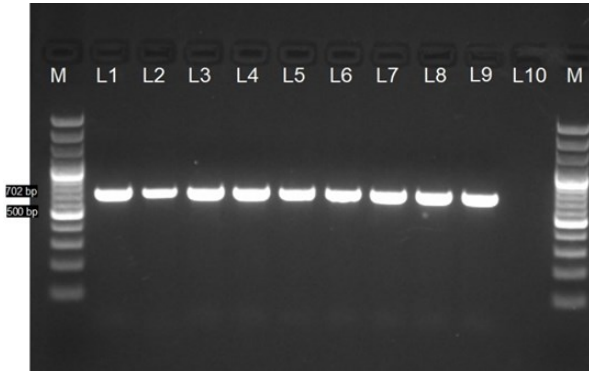
Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC) PZR

Çalışmada izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının klonal yakınlıklarının belirlenmesi amacıyla Versalovic ve ark. (1991) tarafından bildirilmiş ERIC PZR primer çifti (ERIC-1, ERIC-2) ve protokolü takip edildi (Tablo 1). Amplifikasyon sonrası elde edilen PZR ürünleri, %2'lik agaroz jelle 1 saat elektroforeze tabi tutuldu ve oluşan bant profilleri jel dökümantasyon sisteminde (Image Lab Software 6.0; Bio-Rad, ABD) analize tabi tutuldu. Bant profillerinin benzerlik indekslerinin belirlenmesi amacıyla açık erişimli DendroUPGMA uygulaması kullanıldı (Garcia-Vallve ve

Tablo 2. Tüketime hazır gıdalardan elde edilen *Listeria* spp. izolatlarının türler bazında dağılımı

Gıda	N	İzolatların tür dağılımı (%)				
		<i>L. monocytogenes</i> *	<i>L. innocua</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. ivonovii</i>	<i>L. grayi</i>
Etsiz çiğköfte	64	7 (10.9)	2 (3.12)	4 (6.25)	1 (1.56)	2 (3.12)
Rus salatası	54	1 (1.85)	2 (3.70)	-	1 (1.85)	2 (3.70)
Peynir tatlısı	25	-	-	-	-	-

N: Numune sayısı; *: PCR ile doğrulanan veriler; -: Tespit edilmedi.



Şekil 1. *Listeria monocytogenes* izolatlarının doğrulanması amacıyla elde edilen jel elektroforez görüntüsü M: Moleküler marker (GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder; Thermo, ABD); L1: *L. monocytogenes* N7144; L2-L8: *L. monocytogenes* çiğköfte izolatları; L9: *L. monocytogenes* Rus salatası izolatı; L10: Negatif Kontrol (Distile su)

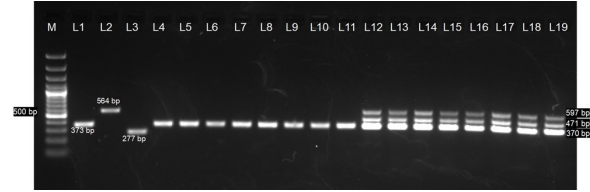
ark., 1999). Normalleştirmeden sonra, en üst pozisyona dayalı profil benzerlikleri, 100 tekrarlı olarak Jaccard benzerlik katsayısı kullanılarak hesaplandı. Elde edilen Newick formatından dendogramın görselleştirilmesi için, açık erişimli iTOL (versiyon 5) programı kullanıldı (Letunic ve Bork, 2019).

Antibiyotik duyarlılık testi

İzolatların antibiyotik duyarlılık profilleri Avrupa Antimikrobiyel Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) tarafından önerilen disk difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi (EUCAST, 2018). Bu amaçla ampisilin (2 mg), meropenem (10 mg), eritromisin (15 mg) ve trimetoprim-sulfametoksazol (1.25-23.75 mg) diskleri kullanıldı.

Bulgular

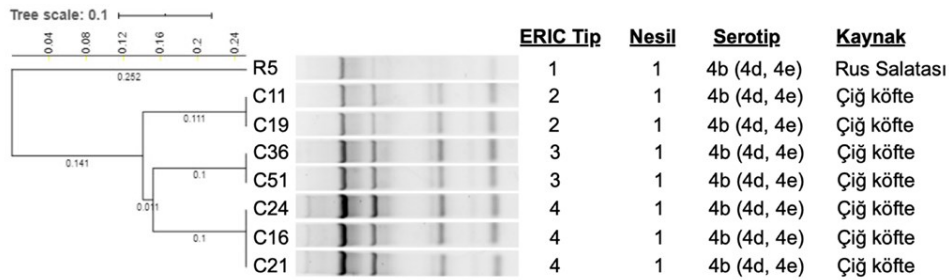
Çalışmada incelenen 64 etsiz çiğköfte numunesinin 16'sından, 54 Rus salatası numunesinin ise altısından (%11.1) *Listeria* spp. izole edildi. İncelenen peynir numunelerinde ise *Listeria* spp. kontaminasyonu



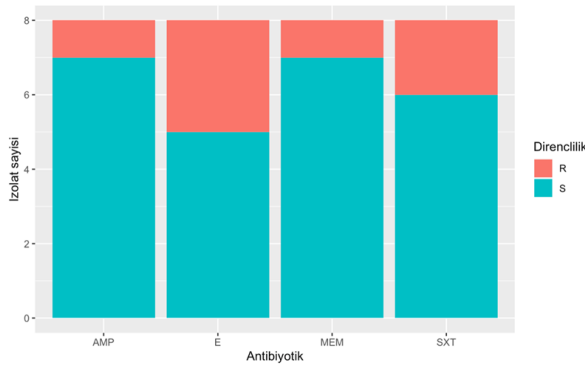
Şekil 2. *Listeria monocytogenes* izolatlarının nesil ve serotiplerinin belirlenmesinde elde edilen jel elektroforez görüntüsü. M: Moleküler marker (GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder; Thermo, ABD); L1: *L. monocytogenes* RSKK 472 (Nes 1); L2: *L. monocytogenes* insan izolatı (Nes 2); L3: *L. monocytogenes* RSSK 476 (Nes 3); L4-L10: *L. monocytogenes* çiğköfte izolatları (Nes 1); L11: *L. monocytogenes* Rus salatası izolatı (Nes 1); L12-L18: *L. monocytogenes* çiğköfte izolatları (4b); L19: *L. monocytogenes* Rus salatası izolatı (4b)

belirlenmedi. *Listeria* spp. olarak izole edilen tüm şüpheli izolatlar *L. monocytogenes* açısından değerlendirildi. Yapılan incelemede etsiz çiğ köfte izolatlarının yedisi (%10.9); Rus salatası izolatlarının ise biri (%1.85) *L. monocytogenes* olarak doğrulandı. Çalışma kapsamında biyokimyasal ve moleküler olarak tanımlanan *Listeria* türlerinin dağılımı Tablo 2'de; *L. monocytogenes* izolatlarının elektroforez görüntüsü ise Şekil 1'de gösterilmektedir.

Moleküler ve biyokimyasal yöntemlerle ile doğrulanan *L. monocytogenes* izolatlarının ASO PCR ve mPCR ile sırasıyla nesil ve serotip analizleri gerçekleştirildi. İncelenen sekiz izolatın tamamının birinci nesile dahil olan 4b serotipi olduğu ortaya kondu. Nesil ve serotip belirlenmesi sonucu elde edilen elektroforez görüntüsü Şekil 2'de gösterilmektedir. Elde edilen izolatların klonal yakınlıklarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen ERIC PCR analizinde izolatların dört ayrı ERIC tipte dağılım gösterdikleri belirlendi. Yapılan analiz ile çiğköfte izolatlarının, Rus salatası izolatından farklı olarak aynı kümede üç ayrı ERIC tipte oldukları belirlendi. ERIC PCR ile elde edilmiş olan dendogram ve izolatların genel özellikleri Şekil 3'de verilmektedir.



Şekil 3. *L. monocytogenes* izolatlarının ERIC PCR profilleri ve bazı özellikleri



Şekil 4. *Listeria monocytogenes* izolatlarının antibiyotik dirençlilik durumları. AMP: Ampisilin (2 mg), MEM: Meropenem (10 mg), E: Eritromisin (15 mg) ve SXT: Trimetoprim-sulfometaksazol (1.25-23.75 mg); R: Dirençli; S: Duyarlı

Çalışmada yapılan antibiyotik duyarlılık analizleri neticesinde, birer izolatin ampisiline ve meropeneme dirençli oldukları belirlendi. Üç izolatin eritromisine ve ikisinin ise trimetoprim/sulfametoksazol'e dirençli oldukları belirlenmiştir. İzolatların antibiyotik duyarlılık profillerini gösteren grafik Şekil 4'de gösterilmektedir.

Tartışma ve Sonuç

Listeria monocytogenes, insanlarda ve çeşitli hayvan türlerinde ciddi, sporadik enfeksiyonlara neden olan önemli bir etkidir. Düşük bir insidensle görülmesine rağmen listeriozisin risk grubunda bulunan bireylerde yaklaşık %30'lara varan ölüm oranına sebep olması hastalığın ciddiyetini ortaya koymaktadır (Rantsiou ve ark., 2008; Hein ve ark., 2001). Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC, ABD) tarafından yayınlanan rapora göre 2017-2019 yılları arasında ABD'de 24 listeriozis salgını gelişmiş, salgınlarda 22 bireyin hastanede tedavi edildiği ve iki vakanın ölümle sonuçlandığı bildirilmiştir (CDC, 2020). *Listeria* spp. kaynaklı enfeksiyonların büyük çoğunluğunun (%99) gıda kaynaklı olduğu ve özellikle çocuklar, yaşlılar, immun-supresif hastalar ve hamileler gibi hassas grup bireylerde invaziv listeriozis prognozunun oldukça kötü olduğu vakalarda önemli düzeyde ölümle sonuçlandığı bildirilmektedir (Schlech, 2000). Bu sebepten ötürü gelişmiş ülkelerin çoğunda olduğu gibi Türkiye'de de *L. monocytogenes* Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğinde "Sıfır Tolerans" olarak sınıflandırılmış ve 25 g gıda numunesinde bulunmaması gerekliliği bildirilmiştir (TGK, 2011).

Çalışmada incelenen çiğ köfte örneklerinin % 10.9'unun, Rus salatası örneklerinin ise 1.85'inin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Gürler ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada 49 çiğköfte örneğinde *L. monocytogenes* tespit edilmişken, Rus salatası örneklerinin %8.6'sında be-

lirlenmiştir. Mercanoğlu Taban (2012) tarafından yapılan çalışmada ise etsiz çiğköfte örneklerinin % 17.1'inin *L. monocytogenes* pozitif olduğu bildirilmektedir. Yapılan bir başka çalışmada ise etsiz çiğ köfte numunelerinde %1.4 düzeyinde *L. monocytogenes* kontaminasyonu olduğu bildirilmektedir (Ghazzi ve ark., 2018). Balıkesir bölgesinden toplanan tüketime hazır gıdaların incelendiği bir çalışmada 20 Rus salatası ve 15 adet peynir tabanlı hoşmerim tatlısında da bu çalışma ile paralel olarak, *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir (Gökmen ve ark., 2016). Bu çalışmaların büyük çoğunluğunda Türkiye'de tüketime hazır gıdaların *L. monocytogenes* açısından halk sağlığını tehdit ettiği görülmektedir. Bu sebeple ilgililer tarafından üretim hatları ve perakende satış yerlerinde gıda denetimlerinin sıklaştırılması gerekmektedir.

Gıda kaynaklı listeriozis salgın ve vaka sayılarının etkili olarak azaltılabilmesi için etkenin epidemiyolojik ve ekolojik özelliklerinin moleküler seviyede belirlenmesi ve kaynak-etken ilişkisinin bilimsel olarak açığa çıkarılması gerekmektedir. Bu sebeple ülke genelinde gıdalardan ve çevresel örneklerden izole edilen etkenlerin akrabalıklarının belirlenmesi, alt tiplendirme yöntemleri ile etkenin moleküler olarak karakterize edilmesi önem taşımaktadır. Artan moleküler çalışmalar, listeriozise sebep olan etkenin nesil ve serotip özelliklerine bağlı olarak konak spesifite ve patojenite bakımından değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu sebeple gıdalardan izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının insan listeriozisinde sorumlu nesil ve serotipik özellikte olup olmadığının belirlenmesi önemli hale gelmiştir. İnsan listeriozisin başlıca sorumlusu olarak birinci nesilden gelen *L. monocytogenes* 4b serotipi olduğu ancak nesil I'e mensup serotip 1/2b ve nesil II'ye mensup serotip 1/2a'nın da bazı salgınlara yol açtığı bilinmektedir (Orsi ve ark., 2011). Bu sebepten ötürü çalışmada izole edilen *L. monocytogenes*'lerin insanlarda listeriozisin en önemli serotipi olan 4b olarak tanımlanmış olması halk sağlığı açısından endişe vericidir.

Bu çalışma bulguları, Kayseri ve Niğde'de bulunan perakende satış yerlerinden toplanan bazı tüketime hazır gıdaların *L. monocytogenes*'le kontaminasyon düzeylerini ve elde edilen izolatların moleküler karakterizasyonlarını ortaya koymaktadır. Bu çalışmada ısıtma işlemi uygulanmadan direkt olarak tüketilen gıdalarda *L. monocytogenes* kontaminasyonu saptanması, söz konusu ürünlerin listeriozise ilişkin tehlike arz ettiklerini ortaya koymaktadır. Özellikle yüksek düzeyde çevresel kontaminasyon gösteren *Listeria* türlerinin gıda üretim tesislerinde, gıda işleme prosesinin her basamağında gıdaları kontamine edebileceği düşünülmektedir. HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) ve SOPs (Sanitation Standard Operating Procedures) gibi gıda güvenliği yönetim sistemlerinin gıda zincirinin başından sonuna kadar ciddiye takip edilmesi gerekmektedir. Gıda üretiminde kaliteli hammadde kullanılması, toplama, işleme, taşıma ve satış

esnası dahil tüm hat boyunca hijyenik kurallara uyulması, işlenmiş ürünlerin doğru muhafaza edilmesi ve gıda ile temasın bulunduğu tüm ortamlarda hijyen prensiplerinin uygulanması gerekmektedir. Ayrıca gıda zincirinin her basamağında rol alan personelin, gıda güvenliği konusunda akademik uzmanlıkları bulunan bireyler tarafından periyodik olarak eğitime tabii tutulması hususunda otorite tarafından adımlar atılmalıdır.

Kaynaklar

- Amajoud N, Leclercq A, Soriano JM, Bracq-Dieye H, El Maoudi M, Senhaji NS, Abrini J. Prevalence of *Listeria* spp. and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from food products in Tetouan, Morocco. *Food Control* 2018; 84: 436-41.
- Border PM, Howard JJ, Plastow GS, Siggins KW. Detection of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction. *Lett Appl Microbiol* 1990; 11(3): 158-62.
- Cartwright EJ, Jackson KA, Johnson SD, Graves L.M, Silk BJ, Mahon BE. Listeriosis outbreaks and associated food vehicles, United States, 1998-2008. *Emerg Infect Dis* 2013; 19: 1-9.
- Centers for disease control and prevention (CDC). Outbreak of *Listeria* Infections Final Update. <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/monocytogenes-08-19/index.html>. Accessed Date: Mayıs 2020.
- Charlier C, Perrodeau É, Leclercq A, Cazenave B, Pilmi, B, Henry, Dieye, HB. Clinical features and prognostic factors of listeriosis: the MONALISA national prospective cohort study. *The Infect Dis* 2017; 17(5): 510-9.
- Chen Y, Chen M, Wang J, Wu Q, Cheng J, Zhang J, Pang, R. Heterogeneity, Characteristics, and Public Health Implications of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Foods and Pasteurized Milk in China. *Front Microbiol* 2020; 11: 642.
- Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2004; 42(8): 3819-22.
- European Food Safety Authority (EFSA) Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. *EFSA J* 2018; 16 (1): p. 5134.
- Garcia-Vallve S, Palau J, Romeu A. Horizontal gene transfer in glycosyl hydrolases inferred from codon usage in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Mol Biol Evol* 1999; 16(9): 1125-34.
- Ghazzi, M, Porto-Fett AC, Ayaz ND, Ozansoy G, Çufaoğlu G, Goncuoglu M, Stahler LJ. Microbiological characterization of çiğ köfte sold at retail in Ankara, Turkey, and evaluation of selected antimicrobials as ingredients to control foodborne pathogens in çiğ köfte during refrigerated storage. *Food control* 2018; 84: 138-47.
- Gökmen M, Akkaya L, Kara R. Balıkesir'de satışa sunulan bazı tüketime hazır gıdalarda *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes*'in yaygınlığı. *Van Vet J* 2016; 27(1): 31-6.
- Gurler Z, Pamuk S, Yıldırım Y, Ertas N. The microbiological quality of ready-to-eat salads in Turkey: A focus on *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol* 2015; 196: 79-83.
- Hein I, Klein D, Lehner A, Bubert A, Brandl E, Wagner M. Detection and quantification of the *iap* gene of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* by a new real-time quantitative PCR assay. *Res Microbiol* 2001; 152: 37-46.
- International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. Part 1: Detection method. 2017;11290-1.
- Jeffers GT, Bruce JL, McDonough PL, Scarlett J, Boor JK, Wiedmann M. Comparative genetic characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from human and animal listeriosis cases. *Microbiology* 2001; 147: 1095-104.
- Letunic I, Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: Recent updates and new developments. *Nucleic Acids Res* 2019; 47(1): 256-9.
- Mercanoğlu Taban B. *Listeria monocytogenes* in çiğ köfte without meat: A novel bulgur ball product. *J Food Agric Environ* 2012; 10(2): 130-2.
- Nadon CA, Woodward DL, Young C, Rodgers FG, Wiedmann M. Correlations between molecular subtyping and serotyping of *Listeria monocytogenes*. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2704-7.
- Orsi RH, den Bakker HC, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *International J Med Microbiol* 2011; 301(2): 79-96.
- Rantsiou K, Alessandria V, Urso R, Dolci P, Cocolin L. Detection, quantification and vitality of *Listeria monocytogenes* in food as determined by quantitative PCR. *Int J Food Microbiol* 2008; 121: 99-105.
- Schlech W. Foodborne listeriosis. *Clin. Infect. Dis* 2000; 31: 770-5.
- The European Committee on Antimicrobial Suscepti-

bility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 2018; 8.1. <https://eucast.org/> Accessed Date: August 2018.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Resmî Gazete Sayı: 28157 <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6-1.pdf>. Erişim tarihi: Mayıs 2020.

Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucl Acids Res* 1991; 19: 6823-31.

Ward TJ, Gorski L, Borucki MK, Mandrell RE, Hutchins J, Papedis K. Intraspecific phylogeny and lineage group identification based on the *prfA* virulence gene cluster of *Listeria monocytogenes*. *J Bacteriol Res* 2004; 186(15): 4994-5002.