

ELAZIĞ BÖLGESİNDE KOYUN VE KEÇİ SÜTLERİNDE *LISTERIA* TÜRLERİNİN İZOLASYONU

Hasan Basri ERTAŞ Hasan Basri GÜLCÜ

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 24.03.1997

Isolation of *Listeria* Species From Sheep and Goat Milk in Elazığ Vicinity

SUMMARY

In this study, raw milk samples were collected from healthy and aborted individuals on 14 sheep and 12 goat flocks in Elazığ province and its central villages between April and September 1995, to investigate the presence of *Listeria* species. The total number of samples collected was 300. Of these, 100 were collected from healthy sheep and 50 from aborted sheep. The remaining 150 samples were from healthy goats.

The overall proportion of *Listeria spp.* isolated from raw milk samples was 1.66% (5/300). Four of these (4%) were obtained from healthy sheep and only one (0.66%) was from a healthy goat. Three of the sheep isolates were identified as *L. welshimeri* and one was *L. dentrificans*. The *Listeria spp.* isolated from the goat was determined to be *L. welshimeri*. No isolation was made from the milk samples of aborted sheep. Pathogen *Listeria species* weren't isolated from raw milk samples in this study.

In conclusion, the absence of *L. monocytogenes* in raw milk samples suggests that the isolation of this species in milk products (e.g. cheese) in other studies might have been a consequence of environmental contamination rather than infected milk. The findings of this study also suggest that listeric abortion is not a serious problem in animal population of this region.

Key Words: Sheep, Goat, Milk, Listeria

ÖZET

Bu çalışmada *Listeria* türlerinin varlığı yönünden incelemek amacıyla Nisan ve Eylül 1995 tarihleri arasında Elazığ ili merkez ve çevre köylerinde 14 koyun ve 12 keçi sürüsündeki sağlıklı ve atık yapmış hayvanlardan ayrı ayrı çiğ süt örnekleri toplandı. Toplam 300 süt numunesi alındı. Bunlardan 100 tanesi sağlıklı koyunlardan, 50 tanesi atık yapmış koyunlardan ve 150 tanesi sağlıklı keçilerden alındı.

İncelenen tüm süt örneklerinden %1.66 oranında (5/300) *Listeria spp.* izole edildi. Bunların 4'ü (%4) sağlıklı koyun sütünden, 1'i (%0.66) sağlıklı keçi sütünden izole edildi. Koyun izolatlarının 3 tanesi *L. welshimeri*, bir tanesi *L. dentrificans*, keçi izolatu ise *L. welshimeri* olarak identifiye edildi. Atık yapmış koyun sütlerinden hiç izolasyon yapılamadı. Bu çalışmada hiç patojen *Listeria spp.* izole edilemedi.

Sonuç olarak çiğ sütlerden *L. monocytogenes* izole edilememiş olması, diğer çalışmalarda süt ürünlerinden (ör. peynir) izole edilen bu bakterinin sütlerin kendisinden değil, daha çok çevresel kontaminasyonlardan kaynaklanabileceğini göstermiştir. Ayrıca çalışmanın bulguları listerik abortusların bu bölgede ciddi bir hayvancılık sorunu olmadığı kanısını güçlendirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Koyun, Keçi, Süt, Listeria

GİRİŞ

Listerialar tabiiatta oldukça yaygındır. Toprak, bitki ve sularda bulunurlar. Bu yüzden insan ve hayvan-

lar tarafından sıklıkla taşınırlar (15,16,25,26). Diğer gıda kaynaklı patojenlerden farklı olarak *L.*

monocytogenes buzdolabı ısısında (4-6 °C'de) çoğalabilir (6,37). Nitrit ve tuza dirençlidir. 4 °C'de %30.5 tuz konsantrasyonuna 100 gün dayanabilir. *Listeriaların* kendilerine has üreme özellikleri ve doğadaki yaygınlığı gıdalarla taşınması riskini artırmaktadır (25).

Listeria bakterileri, özellikle de *L. monocytogenes* insan ve hayvanlarda ölüm ve abortuslarla sonuçlanan ciddi infeksiyonlara neden olabilirler (26).

L. monocytogenes sütte ya sıvı menstrum içinde serbest olarak ya da süt içinde yaygın olarak bulunan lökositlerin içinde bulunur. *Listeria* bakterisinin intraselüler olması onu sütte bulunan immunglobulin, lizozim, peroksidaz ve laktoferrin gibi birçok antiinfektif substansa karşı koruyabilir. (3,10).

Listerik menenjitisli ve *Listerial* abortus yapan süt sığırları, koyun ve keçiler sütleriyle yıllarca *L. monocytogenes* çıkarabilirler ve süt ile etkenin çıkarılması infekte koyunlarda 2,5 yıl süreyle devam edebilir (7,13,16,18,27). Listeriosis'e bağlı abort yapan ineklerin sütlerinin %16'sının abortustan sonra sütleriyle bu bakteriyi çıkardıkları, aynı durumdaki 938 hayvana ait sütlerin 72 (%7.7)'inden *L. monocytogenes* izole edildiği bildirilmiştir (15,16). Silajla beslenen hayvanların diğer gıdalarla beslenen hayvanlardan daha fazla oranda sütleriyle bakteriyi çıkardıkları tespit edilmiştir (22).

Yurdumuzda ve dünyada çiğ sütlerde *Listeriaların* varlığına araştırmak amacıyla yapılan birçok araştırmada değişik oranlarda etken izolasyonu yapılmıştır.

Çiğ inek sütlerinde yapılan çalışmalarda İnce (21), Elazığ'da topladığı 72 numuneden %28 *Listeria spp.*, Gün (14), İstanbul'da topladığı 100 numuneden 4 *L. monocytogenes*, 9 *L. innocua* ve 2 *L. welshimeri* olmak üzere 15 *Listeria spp.*, Ünlü (36), Sivas yöresinden topladığı 100 numunede %4'ü *L. monocytogenes*, %2'si *L. innocua* olmak üzere %6'sında *Listeria spp.*, Sharif ve Tunail (31), 77 çiğ süt numunesinden %1.3-18 oranlarında *Listeria spp.*, Husu (19), 314 süt numunesinden %7'si *L. monocytogenes* olmak üzere %13 *Listeria spp.*, Husu ve ark. (20), diğer bir çalışmada 59 numuneden 1'i *L. monocytogenes* olmak üzere 2 adet *Listeria spp.*, Oni ve ark. (28), Nijerya'da topladıkları 150 numuneden 1 *L. monocytogenes*, Kviatek ve ark. (24), tanklardan aldıkları 16 numuneden %56.2, hayvanlardan aldıkları 81 örnekten %7.4 oranında *L. monocytogenes* izole ve tanımlanmıştır.

Slade ve Collins (32), topladıkları 315 çiğ süttten 17 si *L. monocytogenes*, 26'sı *L. innocua* ve 1'i *L. welshimeri* olmak üzere 36 (%11.4) numuneden *Listeria spp.*, El-Leboudy ve Fayed (8), 236 numuneden 7'si *L. monocytogenes* olmak üzere 27(%11.4) numuneden

Listeria spp. bulmuşlardır. Şahin ve ark. (33), Elazığ bölgesinde inceledikleri kuru ot örneklerinden ve kuru ot ile beslenen inek sütlerinden bakteriyi izole edememişler, mısır silajı örneklerinden ve bu silajla beslenen ineklerin sütlerinden ise *L. welshimeri* ve *L. grayi* izole etmişlerdir. En yüksek *Listeria* izolasyonunu silaj yedirmesinin 7. ve 8. haftalarında %57.14 olarak tespit etmişlerdir.

Garayzabal ve ark. (11), 67 süt numunesinden 30'undan *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. Farber ve ark. (9), Kanada'da dört farklı mevsimde farklı coğrafi bölgelerden topladıkları 445 tank sütü numunesinden %12.4'ünden *Listeria spp.* izole etmişlerdir. *L. monocytogenes* ve *L. welshimeri* %1.3 oranında izole edilirken *L. innocua* %9.7 oranında izole edilmiştir.

Coşkun ve ark. (5), İzmir ve Manisa yörelerinde koyunlardan tek tek el ile sağmak suretiyle topladıkları 308 çiğ süt örneğinden hiç *L. monocytogenes* izolasyonu yapamamış, yalnızca 1 *L. ivanovii* ve 1 *L. grayi* olmak üzere 2 (%0.6) numuneden izolasyon yapmışlardır. İspanya'da 287 çiftlikteki süt toplama tankından ve 17 taşıma kamyonundan alınan 1052 koyun sütü numunesinden %2.19 *L. monocytogenes* ve %2 *L. innocua*, 136 kamyon sütünden %18.38 *L. monocytogenes* ve %11.76 *L. innocua* izole edilmiştir (29). Katic ve Stojanovic (22), 7 çiftlikteki silajla beslenen 77 keçi sütünden 6 (%7.78), 152 koyun sütünden 3 (%1.9) ve silajların tümünden *L. monocytogenes* izole ederken, samanla beslenen koyun ve keçilerin sütünden ve saman örneklerinden *L. monocytogenes* izole edememişlerdir (59). Greenwood ve ark. (12), inceledikleri pastörize edilmiş 361 inek sütünden 13 (%3.6), 480 keçi sütünden 4 (%0.8) ve 56 koyun sütünden 1 (%1.8) *L. monocytogenes* izole etmişlerdir.

Yukarıdaki bilgilerin doğrultusunda bu çalışmanın amacı;

Sağlıklı koyun-keçi çiğ sütlerinden *Listeria* türlerini izole etmek ve bu suretle koyun ve keçi sütlerinden imal edilen süt ürünlerinde tespit edilen *Listeria* türlerinin kaynağının çiğ sütler olup olmadığını belirlemek, atık yapan hayvanların sütlerinden *Listeria* türlerini izole etmek. Böylece rutin izolasyon metotlarıyla izole edilemeyen, fakat ruminantlarda atıklara neden olan, aynı zamanda süte de geçebilen bu bakterinin sütlerden izole edilmesiyle yöredeki Listeriosis'e bağlı abortusları tespit etmektir.

MATERYAL VE METOT

Süt Numunelerinin Toplanması

Koyun ve keçi süt örnekleri 6.4.1995 ve 26.9.1995 tarihleri arasındaki dönemde Elazığ merkez ve ilçelerine bağlı köylerdeki sağlıklı ve atık yapmış sürülerden temin edildi.

Koyun sütleri 10 farklı yerleşim yerinde, sağlıklı veya daha önce atık yapmış 14 koyun sürüsünden, keçi sütleri ise 9 farklı yerleşim yerinde, 12 sürüdeki keçilerden alındı. Atık vakası tespit edilen keçi sürüsü bulunmadığından keçi sütlerinin tümü sağlıklı sürülerden temin edildi. Çalışmada 150 koyun ve 150 keçi sütü olmak üzere toplam 300 çiğ süt numunesi incelendi. Sütlerin 50 tanesi atık yapmış koyunlardan alındı.

Aseptik şartlarda 200 ml'lik steril cam şişelere sağılan süt numuneleri, içerisinde buz kutuları bulunan termosu konulduktan sonra vakit geçirmeden laboratuvara getirilerek izolasyon işlemlerine başlandı.

Referens Suşlar

İdentifikasyon çalışmalarında herhangi bir yanılıgı önlemek amacıyla bu izolatlarla paralel olarak Fransa Pastör Enstitüsünden temin edilen referens *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* suşları da test edildiler. CAMP testi için β -emolitik *Staphylococcus aureus* ve *Rhodococcus (Corynebacterium) equi* suşları kullanıldı.

Listeria İzolasyonunda Kullanılan Vasatlar

Listeriaların sütlerden selektif izolasyonunda besi yeri olarak Modified *Listeria* Enrichment Broth (Difco 0205-17-4), *Listeria* Selective Agar Base (Oxoid CM856, Oxford Formulation) ve *Listeria* Selective Supplement (Oxoid SR140, Oxford Formulation) kullanıldı. Şüpheli kolonilerin incelenmesinde Tryptic Soy - Yeast Extract Agar (TSYE Agar) ve Tryptic Soy-Yeast Extract Broth (TSYE Broth) kullanıldı.

İdentifikasyonda Kullanılan Testler

Selektif zenginleştirme sonrası TSYE agarda saf olarak izole edilen *Listeria* kolonileri identifiye edilirken, çeşitli karbonhidratlardan asit oluşumu, MR/VP, nitrat redüksiyonu, üreaz, indol, H₂S, sitrat, hemoliz ve CAMP (*Staph. aureus* ve *R. equi* ile), hareket, oksidaz ve katalaz testleri yapıldı (2,4).

İzolasyon Yöntemi

İzolasyon işleminde daha önce Food and Drug Administration (FDA) tarafından Bacteriological Analytical Manual'de tanımlanan Lovett ve Hitchins'in (68) önerdiği, sonradan The International Dairy Federation (IDF) tarafından süt ve süt ürünleri için

modifiye edilen izolasyon metodu kullanıldı. 24 ve 48 saatlik selektif zenginleştirmeden sonra *Listeria* Selektif Agara (LSA) ekimler yapılmak suretiyle *Listeria* izolasyonu yapıldı. LSA besi yerleri 37 °C'de aerobik koşullarda etüvde 48 saat inkube edildiler (35).

Deneme İzolasyonu ve Vasatların Kontrolü

Çiğ sütlerden *Listeria* izole etmek amacıyla kullanacağımız vasatların kontrolünü yapmak, yaklaşık 10 ve daha yüksek Colony Forming Unit(CFU) bakteriyi izole edip edemeyeceğini tespit etmek amacıyla deneme izolasyonları yapıldı (17).

Kontaminasyon kültürü olarak *Staph. aureus* ve *Escherichia coli* kullanıldı. Sütün *Listeria* izolasyonuna etkisini tespit etmek amacıyla deneme izolasyonları hem süt katılmamış, hem de 25 ml steril koyun sütü katılmış vasatlarda yapıldı.

Kesin İzolasyon İçin Kolonilerin Saflaştırılması

LSA'da küçük, siyah, etrafı siyahımsı bir halka ile çevrili olan kolonilerin 5 tanesi, eğer 5 taneden daha az ise hepsi *Listeria* şüphesiyle identifikasyon için seçildi ve TSYE agar besi yerlerine ekilerek 37 °C'de 24 saat inkube edildiler. Saf olarak üreyen kolonilere izolasyon ve identifikasyon testleri uygulandı (30).

Saf İzolatların İncelenmesi

TSYE agara ekilen saf *Listeria* kolonileri Henry İlluminasyon tekniği ile muayene edildiler. Yansıma sonucu tipik mavi yeşil parlama gösteren şeffaf koloniler *Listeria* şüphesiyle incelendiler (35).

BULGULAR

Deneme İzolasyonları Bulguları

On CFU ve daha fazla *L. monocytogenes* bakterisi ihtiva eden sulandırılmış *L. monocytogenes* süspansiyonu ile kontaminant kültürlerin birlikte inokule edildiği zenginleştirme besi yerlerinin 30 °C'de 24 ve 48 saatlik zenginleştirme sonrası LSA'a ekimleri neticesinde hepsinden *L. monocytogenes* saf olarak izole edildi. Süt ilave edilmeden ve süt ilave edilerek yapılan denemelerin tümünden izolasyon yapıldı ve vasat içerisinde süt bulunmasının izolasyonu etkilemediği tespit edildi.

Sütlerden İzolasyon Bulguları

İncelenen süt numunelerinden LSA'da üreyen *Listeria* şüpheli kolonilerin saf kültürleriyle yapılan testler neticesinde 4 *L. welshimeri* ve 1 *L. dentrificans* olmak üzere 5 numuneden *Listeria* spp. izole edildi. Keçi sütlerinden 1 *Listeria* spp. izole edilirken, koyun sütlerinden 4 *Listeria* spp. izolasyonu yapıldı. İzolatların hepsi sağlıklı koyun ve keçi sütlerindendi.

Atık yapan koyunların sütlerinin hiçbirinden *Listeria spp.* izolasyonu yapılamadı (Şekil 1), (Tablo 1).

Sağlıklı koyunlardan alınan 100 süt numunesinden 3 (%3) *L. welshimeri* ve 1 (%1) *L. dentrificans* olmak üzere 4 (%4) *Listeria spp.*, sağlıklı keçilerden alınan 150 süt numunesinden 1 (%0.66) *L. welshimeri* izole edildi. Atık yapmış koyunlardan alınan 50 süt numunesinden ise izolasyon yapılamadı. İncelenen

sütlerin tümünden 4 (%1.33) *L. welshimeri* ve 1 (%0.33) *L. dentrificans* olmak üzere 5 (%1.66) *Listeria spp.* tespit edildi (Tablo 2).

Çalışmada patojen olarak bilinen *Listeria* türlerinin hiçbirisi izole edilemedi. İzole edilen türlerin hepsi apatojen ve hemoliz oluşturmayan *Listeria* türleri idi.

Tablo 1: İzole Edilen *Listeria* Türlerinin Dağılımı

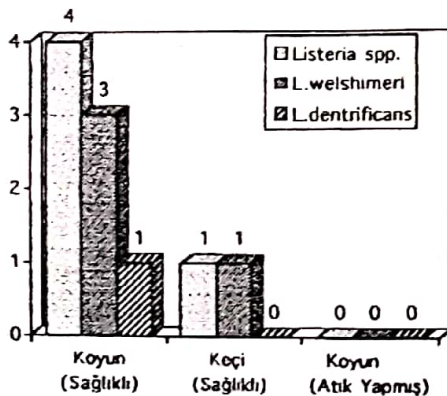
İzole Edilen Türler	Sağlıklı Koyun Sütü	Atık Yapmış Koyun sütü	Sağlıklı Keçi sütü	Toplam
<i>L. welshimeri</i>	3	-	1	4
<i>L. dentrificans</i>	1	-	-	1
Toplam <i>Listeria spp.</i>	4	-	1	5

Tablo 2: İncelenen Süt Numunelerine Göre İzolatların Dağılımı.

İncelenen Numune	Numune Sayısı	<i>L. welshimeri</i> (%)	<i>L. dentrificans</i> (%)	Toplam (%)
Sağlıklı Koyun Sütü	100	3(3)	1(1)	4(4)
Atık Yapmış Koyun Sütü	50	0(0)	0(0)	0(0)
Sağlıklı Keçi Sütü	150	1(0.66)	0(0)	1(0.66)
Toplam	300	4(1.33)	1(0.33)	5(1.66)

Tablo3: 24 ve 48 Saatlik Zenginleştirme Bulguları.

İncelenen Numune	24 saatlik zenginleştirme bulguları	48 saatlik zenginleştirme bulguları
Sağlıklı Koyun Sütü	-	3 <i>L. welshimeri</i> -1 <i>L. dentrificans</i>
Atık Yapmış Koyun Sütü	-	-
Sağlıklı Keçi Sütü	-	1 <i>L. welshimeri</i>
Toplam	-	5 <i>Listeria spp.</i>



Şekil 1: Sütlerden İzole Edilen *Listeria* Türleri

24 ve 48 Saatlik Zenginleştirme Bulguları

24 saatlik zenginleştirme sonrası LSA'da *Listeria* izolasyonu yapılamadı. Yapılan izolasyonların tümü 48 saatlik zenginleştirme sonrası LSA'da 48 saatlik inkubasyon'da yapıldı (Tablo 3).

İdentifikasyon Testleri Bulguları

TSYE agarda saf olarak üretilen kolonilerin Henry Iluminasyon yöntemiyle incelenmesinde mavi-yeşilimsi renkte parlama veren, şeffaf koloniler şeklinde olduğu görüldü.

Staph. aureus ve *R. equi* ile yapılan CAMP testinde *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* *Staph. aureus* ile pozitif, *R. equi* ile negatif, *L. ivanovii*'nin *Staph. aureus* ile negatif, *R. equi* ile pozitif reaksiyon verdiği gözlemlendi. Diğer suşların tümü CAMP testinde negatif sonuç verdi.

Tablo 4: Referens Suşların ve İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

Testler	L.m.	L.iv.	L.in.	L.se.	L.we.	Koyun	Koyun	Koyun	Koyun	Keçi
						93	123	130	134	138
Gram (+) Çomak	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LSA'da Tipik Koloni	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket (25 °C'de)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
β hemoliz	+	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-
CAMP (<i>Staph.aureus</i>)	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-
CAMP (<i>R.equi</i>)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
MR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
TSI (A/A)*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S (TSI'de)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Üreaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrat Redüksiyonu	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Sitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İndol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eskulin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(*): Dipte ve Yüzeyde Asit Oluşumu , (+): Zayıf Reaksiyon

L.m. : *L. monocytogenes*

L.iv. : *L. ivanovii*

L.in. : *L. innocua*

L.se. : *L. Seeligeri*

Karbonhidrat fermentasyon testleri sonucunda izolatların ve referens suşların tümünün eskulini hidrolize ettiği, glikoz, maltoz, fruktoz, salisin, selobioz'u fermente ederek gaz oluşturmaksızın asit oluşturduğu ve Purple Broth Base besi yerinin normal menekşe rengini sarıya dönüştürdü gözlemlendi. Mannitol, rafinoz, sorbose, sorbitol'den asit oluşturmadığı tespit edildi. *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. dentrificans* ve *L. welshimeri*'nin ksilozu'u fermente ettiği gözlemlendi.

Listeria şüphesiyle incelenen kolonilerin tümünün ve referens suşların katalaz, MR/VP pozitif (*L. dentrificans*'da VP negatif), oksidaz, H₂S, üreaz, sitrat, indol negatif olduğu, TSI agarda dipte ve yüzeyde asit oluşturduğu tespit edildi (Tablo 4).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyada ve Türkiye'de çiğ sütlerde *Listeriaların* varlığını tespit etmek amacıyla pekçok araştırma yapılmıştır. Toplama tanklarından alınan süt numunelerinde yapılan çalışmaların çoğunluğunun (9,11,14,19,20, 21,24,28,29) sonuçları ile bu çalışmanın sonuçları fark-

lılık göstermektedir. Tank sütü numuneleriyle yapılan çalışmalarda bu çalışmadan farklı olarak daha yüksek oranda *Listeria spp.* izolasyonu yapılmış, ayrıca incelenen sütlerden apatojen *Listeria* türlerinden başka *L. monocytogenes* de değişik oranlarda izole edilmiştir.

Tank sütlerinden *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin yüksek oranda izole edilmesine, sütlerin sağım ve depolama şartlarının hijyenik olmaması nedeniyle çevresel kontaminasyona maruz kalması neden olabilir. Kviatek ve ark.nın (24), tank sütlerinden, bireysel olarak ineklerden alınan sütlerden daha fazla oranda *L. monocytogenes* izole etmesi bu bakterinin hayvanların sütleriyle çıkarılmasından çok, sütlerin sağımdan sonra kontamine oldukları görüşünü desteklemektedir. Rodirguez ve ark. (29),'nın yaptıkları çalışmada koyun sütlerinden izolasyon oranının bu çalışmanın bulgularından yüksek olmasına, diğer çalışmalarda olduğu gibi sütlerin toplama tanklarından alınmış olması ve çevresel kontaminasyonlara bağlanabilir.

Bu çalışmada incelenen süt numuneleri ise toplama kaplarından değil doğrudan doğruya hayvanların kendilerinden sağılmak suretiyle toplanmış ve sağım

sonrası çevresel kontaminasyon ihtimali minimuma indirgenmiştir. Çalışmada *Listeria spp.* izolasyon oranının tank sütlerinde yapılan çalışmaların sonuçlarına göre düşük olmasında çevresel kontaminasyon riskinin büyük ölçüde ortadan kaldırılmasının rolü olabilir.

Yugoslavya'da saman ve silajla beslenen sağlıklı koyun ve keçilerin sütlerinde yapılan bir çalışmanın bulguları ile bu çalışmanın bulguları birbirine benzerlik göstermektedir. Araştırmada silajla beslenen koyun ve keçi sütlerinden *L. monocytogenes* izole edilirken saman ile beslenen koyun ve keçi sütlerinin hiçbirinden *L. monocytogenes* izolasyonu yapılamamıştır (22). Bu çalışmada da sütleri incelenen koyun ve keçiler silaj ile beslenmemekteydi ve yemlerinin büyük bir çoğunluğunu saman gibi kaba yemler oluşturmaktaydı. Yugoslavya'da yapılan çalışmaya benzer şekilde incelenen sütlerin hiçbirinden *L. monocytogenes* izolasyonu yapılamadı. Ancak Katic ve Stojanovic (22)'in çalışmalarında silaj yedirilen hayvanların sütlerinden *L. monocytogenes* izole edilmesi bizim bulgularımızdan farklılık arz etmektedir. Bunun nedeni hayvanların *L. monocytogenes* ile kontamine olmuş silajlarla beslenmelerine bağlanabilir.

Şahin ve ark. (33), yörede yaptıkları bir araştırmada silajla beslenen ineklerin sütlerinde ve silaj numunelerinde aynı *Listeria* türlerini saptamışlar, Husu ve ark. (19), çalışmalarında etkeni süt, silaj ve dışkılarından değişik oranlarda izole etmişlerdir. Bu çalışmalarda hayvanlara silaj yedirilmesi ile *Listeriaların* hayvanların dışkılarında ve sütlerinde bulunmasının birbiriyle ilişkili olduğu görülmüştür. Dolayısıyla çiğ sütlerden bu bakterinin izole edilmesi pek çok çalışmada hayvanların silajlarla beslenmesine bağlanmıştır (11,19,22,33).

İklim ve coğrafi şartlar göz önüne alındığında Listeriosis nemli ve bol yağışlı iklim koşullarının hüküm sürdüğü ve hayvanların çoğunlukla silajla beslediği ülkelerde bir hayvancılık sorunu olduğu görülmektedir (26,27). Bunun tabii bir sonucu olarak bu ülkelerde yapılan araştırmalarda sağlıklı hayvanların sütlerinde Türkiye'de yapılan araştırmalardan daha fazla *Listeria* izolasyonu yapılmıştır.

Bu çalışmada *L. monocytogenes* izole edilememesi ve *Listeria spp.* izolasyon oranının çok düşük olması, incelenen hayvanların beslenmesinde Listeriosis'te önemli bir risk faktörü olan silaj kullanılmamasına ve buna karşın büyük ölçüde *Listeriaların* yaşaması için uygun bir ortam oluşturmayan kuru ot, saman gibi yem maddelerinin kullanılmasına bağlanabilir. Nitekim yöremizde yapılan bir araştırmada (22), hayvan yetiştiricilerinden toplanan kuru ot örneklerinin incelenmesinde gerek kuru ot numunelerinden ve gerekse bu otlarla beslenen ineklerin sütlerinden *Listeria spp.* izole edilememiş olması bu çalışmanın bulgularını desteklemektedir.

Yüce (38), incelediği koyun ve keçi sütlerinin hiçbirinden *Listeria* izolasyonu yapamamıştır. Coşkun

ve ark. (5), çalışmalarında koyunlardan tek tek sağmak suretiyle topladıkları süt numunelerinde %0.6 *Listeria spp.* izole etmesine rağmen hiç *L. monocytogenes* izole edememişlerdir. Yurdumuzda yapılan bu çalışmalarda *Listeria* izolasyon oranının düşük olması bizim bölgemiz için de geçerli olan bakım, beslenme ve iklim şartlarından kaynaklanabilir.

Şahin ve ark. (33)'ün çalışmasında silajla beslenen ineklerin sütlerinden *L. monocytogenes* izole edilemezken *L. welshimeri* yüksek oranda izole edilmiştir. Bu sonuç hem bizim bulgularımızı desteklemekte, hem de *L. welshimeri* türünün yöremizde çiğ sütlerde diğer *Listeria* türlerine göre daha yaygın olduğunu göstermektedir.

Hayvanların silajla beslenmeleri, özellikle kış mevsiminde uzun süre kapalı mekanlarda tutulmaları ve içinde buldukları kötü bakım ve beslenme koşullarının hayvanların sütlerinden *Listeria* izolasyon oranını artıran faktörler olduğu bildirilmiştir (19). Bu çalışmanın sonuçlarının yurdumuzda yapılan bazı çalışmaların sonuçlarından yüksek çıkmasının nedeni bölgede incelenen hayvanların çoğunun oldukça kötü hijyenik koşullarda ve çadırlarda yaşamalarına bağlanabilir. Fakat yurdumuzda yapılan benzer çalışmalarda ve aynı şekilde bu çalışmada da koyun ve keçi sütlerinden *L. monocytogenes* izole edilmemiş olması birbiri ile uygunluk göstermektedir.

Yurdumuzda çiğ sütlerde yapılan çalışmalarda *Listeria* izolasyon oranı düşük bulunmasına rağmen Türkiye'nin çeşitli yörelerinde süt ürünlerinde yapılan çalışmalarda oldukça yüksek oranda *L. monocytogenes* izole edilmiştir (21,34). İnce (21), çalışmasında Elazığ piyasasından topladığı değişik tipteki beyaz peynir örneklerinden %11 oranında *L. monocytogenes* izole etmiştir. Tümbay ve ark. (34), farklı hayvanlara ait sütlerden yapılan peynir örneklerinden çeşitli oranlarda *Listeria spp.* izole etmiş ve en yüksek izolasyon oranını %6.5 ile koyun sütünden yapılan peynirlerde tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın bulguları ise koyun ve keçi sütlerinde *Listeria insidensinin* çok düşük olduğunu *L. monocytogenes*'in ise bulunmadığını göstermektedir. Yurdumuzda yapılan çalışmalarda *Listeriaların*, özellikle de *L. monocytogenes*'in peynir gibi ürünlerde sütlerden daha fazla oranda tespit edilmesine bu ürünlerin üretimi ve depolanması aşamasında meydana gelen çevresel kontaminasyonların neden olması kuvvetle olasıdır.

Birçok çalışmada *Listerialar* daha çok sistemik Listeriosisli ve Listerial abortus yapan hayvanların sütlerinden izole edilmiştir (15,16). Bu çalışmada listerik abort yapan ve klinik semptom göstermeyen koyunların sütleriyle etkeni çıkarıp çıkarmadıklarını tespit etmek amacıyla atık yapmış koyunların sütleri de incelendi, fakat atık yapmış hiçbir hayvanın sütünden *Listeria* izole edilemedi. İncelenen koyun ve keçi sürülerinin sahiplerinden alınan anamnezlerde bugüne kadar

Listeriosis ile ilgili herhangi bir vaka meydana gelmediği tespit edildi.

Çalışmada atk yapan hayvanların sütlerinden etken izole edilememesi Listeriosis'in bölgemizdeki hayvanlar için henüz ciddi bir atk sorunu olmadığı ihtimalini akla getirebilir. Ancak sadece hayvanların sütlerini incelemek suretiyle böyle bir yargıya varmak yanıltıcı olabilir. Çünkü Listeriosisli hayvanların hepsi sütleriyle etkeni çıkartmayabilirler. Bazen hayvanların sütlerinden izolasyon yapılamamasına rağmen bakterinin hayvanların barsaklarında bulunduğu bildirilmiştir (16).

türlerinin üremeleri üzerine olumsuz etkilerinin

olduğu bildirilmiştir (1,23). Ayrıca incelenen süt örnekleri içerisinde başlangıçta çok az sayıda *Listeria* bakterisi bulunabilir ve 24 saatlik zenginleştirme az sayıdaki *Listeria* bakterisinin üremesi için yeterli olmayabilir. Birçok araştırmada (12,14,20,22,24), en yüksek izolasyonun 48 saatlik zenginleştirmeden sonra elde edilmesi bu bulguları desteklemektedir.

Sonuç olarak bölgemizde yetiştirilen koyun ve keçilerin sütlerinde az sayıda apatojen *Listeria* türleri bulunduğu görülmüştür. Bu durum yörede Listeriosis'in ciddi bir hayvancılık sorunu olmamasından kaynaklanabilir. Ancak koyun ve keçi sütleri büyük ölçüde peynir imalatında kullanılmaktadır. Gerek bölgemizde gerekse

Bu çalışmada izolatların tümü 48 saatlik zenginleştirmeden sonra tespit edildi. Numunelerin 24 saatlik zenginleştirmesinde hiç izolasyon yapılamadı. Bu sonuç 24 saatlik zenginleştirmede çoğunlukla *L. monocytogenes* izolasyonu yapan birçok araştırmacının sonuçlarına uymamaktadır. Bu durum bu çalışmadaki izolatların büyük ölçüde *L. monocytogenes* dışındaki apatojen türler olmasından kaynaklanabilir. Çünkü selektif zenginleştirme ve selektif izolasyon vasatlarında kullanılan supplement maddelerinin bazı *Listeria*

yurdumuzdaki diğer bölgelerde yapılan çalışmalarda bu peynirlerin önemli ölçüde patojen ve apatojen *Listeria* türleri ile kontamine olduğu bildirilmiştir. Bu ve diğer çalışmaların bulguları bu kontaminasyonun hayvanların sütlerinden kaynaklanmadığı görüşünü desteklemektedir. Birçok ülkede insanlarda ölümlerle sonuçlanan ciddi salgınlara, hayvan ölümlerine ve abortuslara sebep olan bu bakterinin koyun ve keçi sütünden yapılan gıdalardaki gerçek kaynağının tespit edilmesi için daha kapsamlı araştırmaların yapılması ve daha hijyenik şartlarda gıdaların üretilmesi için kontaminasyona neden olan faktörlerin ortadan kaldırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Anonim. Technical Information, 1993; Difco Bacto, Modified *Listeria* Enrichment Broth.
2. Arda, M. Genel Bakterioloji. A.Ü. Vet. Fak. Yay. 402 1985; Ankara.
3. Barza, M. Listeriosis and Milk. New England J. Medicine 1985; 312(7):438-440.
4. Bilgehan, H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Barış Yay. 1992, İzmir.
5. Coşkun, Ş., Önal, O., Keskin, M., Okyay, T., Yüce, A. ve Erel, B. Çiğ Süt Örneklerinde *Listeria* Araştırması ve ELISA ile Kültür Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Tur.J.Inf. 1993; 7(3-4):329-332.
6. Doyle, M.P. Effect of Environmental and Processing Conditions on *Listeria monocytogenes*. Food Tech. 1988; 4:169-171.
7. El-Gazzar, F.E. and Marth, E.H. *Listeria monocytogenes* and Listeriosis Related to Milk, Milk Products and Dairy Ingredients: A Review *Listeria monocytogenes*, Listeriosis and responses of the Pathogen to Environmental Conditions. Milchwissenschaft 1991; 46(1):14-19.
8. El-Leboudy, A.A. and Fayed, M.A. Incidence of *Listeria* in Raw Milk. Assiut Vet.Med.J. 1992; 27(53):134-146.
9. Farber, J.M., Sanders, G.W. and Malcom, S.A. The Presence of *Listeria spp.* in Raw Milk in Ontario. Can.J.Microbiol. 1988; 34:95-100.
10. Fleming, D.W., Cochi, S.L., Mac Donald, K.L., Brondum, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.V. and Reingold, A.L. Pasteurized Milk As a Vehicle of Infection in an Outbreak of Listeriosis. N.Engl.J.Med. 1985; 312(7):404-407.
11. Garayzabal, J.F.F., Dominguez, L., Vasquez, J.A., Gomez-Lucia, E., Ferr, E.R.R. and Suarez, G. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Raw Milk. Vet.Rec. 1987; 120:258-259.
12. Greenwood, M.H., Roberts, D. and Burden, P. The Occurrence of *Listeria* Species in Milk and Dairies Products: A National Survey in England and Wales. Int.J.Food Mic. 1991; 12:197-206.
13. Gronstol, H. Listeriosis in Sheep. *Listeria monocytogenes* excretion and Immunological State in Healty Sheep. Acta Vet.Scand. 1979; 20(2):168-179.
14. Gün, H. İstanbul ve Yöresindeki Sağlıklı İneklerin Sütlerinde *Listeria* Türlerinin İzolasyon, İdentifikasyon ve Patojenitesi Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü 1994; İstanbul.
15. Hird, D.W. Review of Evidence for Zoonotic Listeriosis. J. Food Protect. 1987; 50(5):429-433.
16. Hird, D.W. and Genigeorgis, C. Listeriosis in Food Animals: Clinical Signs and Livestock as a Potential Source of Direct (Nonfoodborne) Infection for Humans. In A.J.Miller, J.L. Smith and Somkuti, G.A. (eds). Foodborne Listeriosis. Elsevier Science Publishers Amsterdam 1990; 31-39.

17. Hitchins, A.D. and Tran, T. Initial Cell Concentration and Selective Media Effects on the Isolation of *Listeria monocytogenes* from Enrichment Cultures of Inoculated Foods. J.Food Protec. 1990; 53(6):502-504.
18. Hughes, K.L. *Listeria* as a Cause of Abortion and Neonatal Mortality in Sheep. Aust. Vet.J. 1975; 51(2):97-99.
19. Husu, J.R. Epidemiologic Studies on the Occurrence of *Listeria monocytogenes* in the Feces of Dairy Cattle. J.Vet.Med. 1990; 27:276-282.
20. Husu, J.R., Seppanen, J.T., Sivela, S.K. and Rauramaa, A.L. Contamination of Raw Milk by *Listeria monocytogenes* on Dairy Farms. J.Vet.Med. 1990; 37:268-275.
21. İnce, F.K. Elazığ İlinde Üretilen Süt ve Beyaz Peynir Örneklerinde *Listeria monocytogenes*'in Bulunuşu ve Laboratuvarında Üretilen Beyaz Peynirlerde Canlı Kalma Süresinin Araştırılması. Doktora Tezi, Fırat Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 1993.
22. Katic, V. and Stojanovic, L. The Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Goat and Sheep Milk. Acta Veterinaria (Beograd) 1992; 42(4):215-220.
23. Kerr, K.G., Lacey, R.W. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes*. J.Clin.Pathol. 1991; 44:624-627.
24. Kviatsek, K., Wojton, B. and Rola, J. The Occurrence of *L. monocytogenes* in Meat of Slaughter Animals, Poultry and Raw Milk in Poland. 3rd World Congress Foodborne Infections and Intoxications 1992; 1084-1088, Berlin.
25. Lovett, J. and Twedt, R.M. (1988). *Listeria*. Food Technol., 4,188-191.
26. McLauchlin, J. *Listeria monocytogenes*, Recent Advances in the Taxonomy and Epidemiology of Listeriosis in Humans. J. Appl. Bact. 1987; 63,1-11.
27. Müller, H.E. Listeriosis in Animals. Turk.J.Inf. 1988; 2(4):505-519.
28. Oni, O.O., Adesiyun, A.A., Adekeye, J.O. and Saidu, S.N.A. Prevalence and Some characteristics of *Listeria monocytogenes* Isolated From Cattle and Milk in Kaduna State, Nigeria. Isr.J.Vet.Med. 1989; 45(1):12-17
29. Rodriguez, J.L., Gaya, P., Medina, M. and Nunez, M. Incidence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria spp.* in Ewes' Milk. J.Food Protec. 1994; 57(7):571-575.
30. Seeliger, H.P.R. and Jones, D. (1986). Genus *Listeria* Pirie, Sneath, N.S.Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt in: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.2. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, MD. 1986; 1235-1245, In.P.H.A.
31. Sharif, A. and Tunail, N. *Listeria monocytogenes* Contamination of Raw Milk From Different Regions of Anatolia and Pasterized Milk Sold in Ankara. Mikrobiyol.Bult. 1991; 25(1):15-20.
32. Slade, P.J. and Collins-Thompson, D.L. Incidence of *Listeria* Species in Ontario Raw Milk. Can.Inst.Food.Technol.J. 1988; 21(4):425-429.
33. Şahin, K., Çerçi, İ.H., Güler, T., Özcan, C. ve Şahin, N. Silaj ve Kuru Ot Katılan Rasyonlarla Beslenen Süt İneklerinin Kaba Yem ve Sütlerinde *Listeria* Türlerinin Araştırılması. F.Ü. Sağlık Bil. Derg. 1995; 10(2):245-249.
34. Tümbay, E., Seeliger, H.P.R., İnci, R., Coşar, G. and Langer, B. Isolation of *Listeria* From Cheese in Turkey. Turk.J.Inf. 1988; 2(4):593-598.
35. Twedt, R.M. and Hitchins, A.D. Determination of the Presence of *Listeria monocytogenes* in Milk and Dairy Products: IDF Collaborative Study. J.AOAC Int.1994; 77(2):395-402.
36. Ünlü, G. Sivas Yöresindeki Çiğ Sütlerde *Listeria monocytogenes* ve Diğer Türlerin Aranması. Uzmanlık Tezi, Cumhuriyet Üniv. Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas, 1990.
37. WHO Working Group. Foodborne Listeriosis. Bull. World Health Organization, 1988; 66(4):421-428.
38. Yüce, A. İzmir Yöresindeki Mandıralardan Alınan Çiğ Sütlerde *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* Aranması. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniv. Gıda Müh. Anabilim Dalı, İzmir, 1992.