



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2017; 31 (3): 221 - 226  
http://www.fusabil.org

### Mastitisli Sığır Sütlerinde *Listeria monocytogenes* Varlığının Araştırılması\*

Uğur PARIN<sup>1</sup>  
Şükrü KIRKAN<sup>1</sup>  
Melih SAYIN<sup>2</sup>  
Hafize Tuğba YÜKSEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Adnan Menderes  
Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,  
Aydın, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Adnan Menderes  
Üniversitesi,  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü,  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,  
Aydın, TÜRKİYE

Araştırmamızda Aydın ili ve yöresinde bulunan çiftliklerdeki mastitisli sığırlardan alınan süt örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığının fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır. Araştırma materyalini Aydın ili ve çevresinde yer alan sığır işletmelerinde bulunan ve mastitis gözlenen 200 sığır oluşturmuştur. Sığırlardan alınan toplam 200 mastitisli süt örneği soğuk zincir altında laboratuara getirilmiştir. Süt örneklerinden fenotipik yöntemlerle *L. monocytogenes* identifikasyonları yapılmıştır. *L. monocytogenes* olarak identifiye edilen izolatlar genotipik olarak PCR ile doğrulanmıştır. *L. monocytogenes* spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR sonrasında incelenen toplam 11 adet *L. monocytogenes* izolatının hepsi (%100) inB geni açısından pozitif olarak saptanmıştır. Sonuç olarak mastitisli sığırlardan alınan süt örneklerinden fenotipik ve genotipik yöntemlerle %5.5 oranında *L. monocytogenes* identifiye edilmiş ve Aydın ili süt sığırcılığı işletmelerinde *L. monocytogenes* varlığı ortaya konulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Listeria monocytogenes*, süt, sığır, identifikasyon, polimeraz zincir reaksiyonu, mastitis

#### Investigation of the presence of *Listeria monocytogenes* in Cattle Milk with Mastitis

In our research, it was aimed to investigate the *L. monocytogenes* from milk samples taken from cattle with mastitis in Aydın province and its presence by phenotypic and genotypic methods. The research material consisted of 200 cattle that suffered from mastitis in cattle farms in and around Aydın province. A total of 200 milk samples with mastitis taken from cattle were brought to the laboratory under cold chain. Identification of *L. monocytogenes* was carried out by phenotypic methods from the milk samples. The isolates identified as *L. monocytogenes* were genotypically confirmed by PCR. A total of 11 isolates of *L. monocytogenes* (100%) confirmed by PCR using *L. monocytogenes* specific primers and were identified as positive for the inB gene. As a result, *L. monocytogenes* were identified by phenotypic and genotypic methods in 5.5% of milk samples taken from cattle with mastitis and *L. monocytogenes* was identified in Aydın dairy milk cattle farms.

**Key words:** *Listeria monocytogenes*, milk, cattle, identification, polymerase chain reaction, mastitis

#### Giriş

İşletme düzeyinde etkin kontrol programlarının uygulanması ile mastitis nedenli kayıpların azaltılması mümkün olabilmektedir. Mastitis kontrol programlarının uygulanması ve bu programların devamlılığının sağlanması, özellikle kapasiteleri büyük olan süt işletmelerinde, ekonomik verimliliğin en önemli göstergesidir. Ancak ülkemizde özellikle süt yönlü yetiştiricilikte işletme kapasitelerinin küçük olması ve henüz verimlilik merkezli mastitis kontrol programlarının oluşturulamaması nedeniyle, süt üretiminde büyük ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır. Sağlıklı süt, sağlıklı hayvanlardan elde edildiği için, hayvan sağlığını korumak ve mastitis olgularını erken teşhis etmek temel hedeftir. Süt endüstrisinde mastitis kaynaklı ekonomik kayıplar, süt kalitesinin ve süt veriminin azalması, buna bağlı olarak da ilaç, veteriner hekim giderlerinin ve yem giderlerinin artışı sonucunda ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda, infeksiyonun tedavisi için kullanılan antibiyotiklerin sütte kalıntı bırakması, bilinçsiz olarak ilaç kullanımına bağlı gelişen antibiyotik dirençli bakteriler ve tedavi olanaklarının sınırlandırılması gibi olumsuz etkilerle de karşılaşılabilir. Düzenli ve bilinçli kontrol programlarının uygulanması, klinik mastitis olgularının azaltılmasını ve subklinik infeksiyonların da erken teşhis edilmesini sağlamaktadır (1).

Gıda kaynaklı patojenlerin yol açtığı hastalıklar milyonlarca insanın sağlığını etkilemektedir. Gıda kaynaklı patojenler arasında *Listeria monocytogenes*, yüksek patojenite ve gıdalarda kontaminasyona neden olma özelliğinden dolayı ortaya çıkan bir halk sağlığı problemi olarak görülmektedir. *L. monocytogenes*,  $\leq 7$  °C sıcaklıklarda üreyebilme özelliğine sahiptir ve çok çeşitli pH değerlerine (2), ayrıca yüksek tuz konsantrasyonlarına sahip ortamlarda canlılığını sürdürebilmektedir (3). Çeşitli *Listeria* türleri, topraklarda, çürümüş bitkilerde, suda ve hayvanların dışkı florasının bir parçası olarak bulunmaktadır. Süt sığırlarında *L. monocytogenes*, ensefalit, septisemi, düşük ve mastitis gibi çeşitli klinik tablolara neden olabilmektedir. *Listeria*'nın neden olduğu

Geliş Tarihi : 17.08.2017  
Kabul Tarihi : 24.10.2017

#### Yazışma Adresi Correspondence

Şükrü KIRKAN  
Adnan Menderes  
Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,  
Aydın - TÜRKİYE

skirkan@adu.edu.tr

\* Bu araştırma, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-15008 proje numarası ile desteklenmiştir.

mastitis sporadik olmakla birlikte, enfekte meme bezlerinden bu etkenler 12 ay süreyle süt ile etrafa dağılmaktadır. *L. monocytogenes*, süt çiftliği ortamında bulunmakta ve ineklerin gastrointestinal sisteminde hayatta kalabilmektedir (4).

Halk sağlığı açısından genel popülasyonda Listeriozis seyrek görülse de, yenidoğanlarda, hamile kadınlarda, yaşlılarda ve immunsupresif bireylerde ölümcül bakteriyemi ve meningoensefalitise neden olabilmektedir. Buna ek olarak, Listeriozis sağlıklı bireylerde spontan olarak gastroenteritis ile sonuçlanabilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), yaklaşık 1600 kişinin her yıl Listeriozis ile ciddi biçimde enfekte olduklarını ve vakaların %16'sının ölüm ile sonuçlandığını bildirmiştir (2).

*L. monocytogenes* ile enfekte hayvanlardan elde edilen sütün, üretiminin çeşitli aşamalarında ekipman ve son ürünlerin çapraz kontaminasyon olasılığının artmasına neden olduğu bildirilmiştir (5, 6).

Pastörizasyon, çiğ sütteki bakteriyi yok etse de, bu süreç süt üretiminde bulaşma riskini ortadan kaldıramamaktadır. Finlandiya'daki bir çalışmada Lyytikäinen ve ark. (7), pastörize süttten hazırlanan süt ürünlerinin çeşitli üretim aşamalarında *L. monocytogenes* etkeni ile kontamine olabileceğini bildirmiştir. Ayrıca, olumsuz çevre koşulları altında *L. monocytogenes*'in canlı kalması ve biyofilm oluşturma özelliği, süt endüstrisine yönelik tehdidi daha da yoğunlaştırmaktadır. Bu durum, tedavi ve analiz maliyetleri, ayrıca olası ürün kayıpları açısından süt endüstrisine ekstra ekonomik yük getirmektedir (8).

*L. monocytogenes* identifikasyonunda kullanılan mevcut serotiplendirme yöntemlerinden PCR, uygulama kolaylığı, etkin identifikasyon ve ekonomik açıdan uygun bulunmaktadır. Bununla birlikte, günümüzde, moleküler identifikasyona dayanan daha üstün, doğru, hızlı ve daha iyi ayırt edici yöntemler, laboratuvarlarda konvansiyonel yöntemlere göre saha ve birey izolatlarını karşılaştırmak için tercih edilen yöntemler haline gelmiştir (9). Benzer şekilde, *in vitro* koşullar altında uygun prosedürlerde enfeksiyon döngüsü oluşturulmasından sorumlu *L. monocytogenes* virulans genlerinin (inIA, inIB, inIC ve inIJ) karakterize edilmesi, etkenin patojenik potansiyelinin ortaya konulmasına yardımcı olmaktadır (10).

Bu çalışmada halk sağlığı açısından önem taşıyan ve sığırlarda mastitise yol açan bu etkenin varlığının Aydın ilindeki çiftliklerde araştırılması amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışma, Aydın ilinde yer alan, özel sektöre ait süt sığır yetiştiriciliği yapılan çiftliklerinde 2016 yılı Mart ve

Ağustos ayları arasında gerçekleştirilmiştir. Bu çiftlikler hayvan başına günlük ortalama en az 20 L süt verimine sahiptir. Serbest sistem yarı açık yapıdaki çiftliklerin rasyonlarında süt yemi, kepek, mısır silajı, saman ve yonca bulunmakta ve makine ile sağım yapılmaktadır. Araştırmamızda, 20-150 başlık hayvan kapasitesine sahip 13 çiftlikteki akut klinik mastitisli ineklerden, uzman veteriner hekim tarafından alınmış 200 süt örneği kullanılmıştır. Çalışmaya hepsi laktasyon döneminde olan, son bir ayda antibiyotik tedavisi uygulanmamış, en az bir doğum yapmış, 2-8 yaşlı, Holstein ırkı hayvanlar dahil edilmiştir. Akut klinik mastitisin belirlenmesinde son 3 gün içinde meme bölgesinde görülen yangı semptomlarıyla (ağrı, hassasiyet, kızarıklık, sıcaklık artışı ve fibrinöz doku oluşumu), sütte görülen değişiklikler (süt veriminin azalması, sütte kötü koku, sütün kanlı, irinli, pıhtılı olması) dikkate alınmıştır. Toplanan sütlerin *Listeria monocytogenes* yönünden mikrobiyolojik analizleri, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Teşhis ve Analiz Laboratuvarında yapılmıştır. Araştırmanın gerçekleştirilmesinde, Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyle Yeri Etik Kurulunun 09.10.2014 tarihli IX. Oturumu 64583101/2014/156 sayılı karar numarası ile etik açıdan sakınca bulunmadığı bildirilmiştir.

*L. monocytogenes* selektif izolasyonu için, 10 mL süt örneği, 50 mL LEB (*Listeria* Enrichment Broth) (Merck®, Almanya) içerisine konuldu ve 2 dakika boyunca süspansiyon edilmiştir. Ardından 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. Ardından 1 mL LEB süspansiyonu Fraser broth (Merck®, Almanya) besiyerine ikinci ön zenginleştirme olarak inokule edildikten sonra 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. Daha sonra Fraser broth kültürü, Palcam (Merck®, Almanya) besiyerine pasajlandıktan sonra 37 °C'de 48 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyondan sonra siyah şüpheli koloniler Triptik soy ağara ekilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. Gram boyama metoduna göre Gram pozitif basil şeklinde olan kolonilere biyokimyasal testler uygulanmıştır. Hareket, CAMP (*S. aureus*), katalaz, glikozdan asit oluşturma, MR, VP, ramnoz testleri pozitif; oksidaz, üre, nitrat, mannitol, ksiloz testleri negatif olan koloniler *L. monocytogenes* olarak tanımlanmıştır (11).

Araştırmamızda *L. monocytogenes* identifikasyonu için yapılan PCR reaksiyonlarında bir örnek için PCR amplifikasyonu 25 µL toplam hacimde olacak şekilde, 2.5 µL PCR Buffer, 10 mM deoksinükleotid trifosfat (dNTP)'den 200 µM, 250 nM primerlerden 1'er µL, *Taq* polimeraz (1.5 U) 0.25 µL, template DNA 5 µL ve 14.25 µL distile su (ddH<sub>2</sub>O) ilavesi ile hazırlanmıştır (12). Çalışmada kullanılan primerler ise Tablo 1'de belirtilmiştir.

**Tablo 1.** PCR amplifikasyonlarında kullanılan primer çiftleri ve beklenen amplifikasyon boyutları

Primer Çifti	Oligonükleotiddizisi ( 5'-3')	Hedef Gen	Büyüklik (bp)
inIB-L	CTGGAAAGTTTGTATTTGGGAAA	İnternalin B prekürsör	343
inIB-R	TTTCATAATCGCCATCATCACT		

Mastermiks hazırlandıktan sonra 0.2 µL'lik tüpler, içlerine 40'er µL hazırlanılan mastermiksden ilave edilmiştir. Daha sonra, ekstraksiyonu yapılan template DNA'dan 10'ar µL alınıp eklenmiştir. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazlarına yüklenip, programlanmıştır. *inlB-L* ve *inlB-R* primerlerine özgü hazırlanan mastermiks PCR analizlerinde ısıl döngü ve süre diyagramı 94 °C'de 2 dak ön denatürasyonu takiben 35 siklus olmak üzere 94 °C'de 45 sn denatürasyon, 60 °C'de 45 sn bağlanma, 72 °C'de 90 sn uzama, ardından 72 °C'de 8 dakika son uzama olacak şekilde gerçekleştirilmiştir (12).

PCR işlemi üzerine elde edilen ürünlerden 10'ar µL pipet yardımıyla alınıp, 3 µL 6x loading dye solusyonu ile karıştırılmıştır. Oluşturulan karışımın tamamı alınarak, %1.8'lik agaroz jeldeki uygun pozisyondaki kuyucuğa yüklenmiştir. Hazırlanmış olan jele, istenilen örnekler ve markerların yüklemesi yapıldıktan sonra, 80 Volt 500 miliamper akımda 15 dakika ve sonrasında 40 Volt 500 miliamper akımda 60 dakika yürütülmüştür. Süre sonunda yürütülen jel, bilgisayara bağlı durumdaki transilluminatör cihazındaki odacığa yerleştirilmiştir. UV ışığı altında fotoğraflandıktan sonra, bant uzunlukları her PCR için ayrı değerlendirilmiştir. PCR analizinde, *L. monocytogenes* için 343 bp uzunluğundaki bant oluşumları aranmıştır.

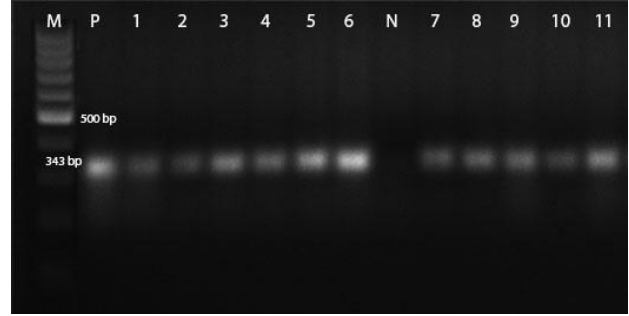
### Bulgular

İzole edilen ve mikroskopik morfoloji, gram boyanma özelliği, oksidasyon fermentasyon, katalaz, indol, karbonhidrat fermentasyon testi (TSI), üreaz ve oksidaz aktivitesi testlerine göre identifikasyonu yapılan *L. monocytogenes* suşları, *inlB* geni saptanması için moleküler testlere tabi tutulmuştur. Yapılan biyokimyasal test sonuçları Tablo 2'de sunulmuştur.

İzolasyon ve identifikasyon çalışmaları sonucunda toplanan 200 adet süt numunesinden 11 (%5.5) adet *L. monocytogenes* izole ve identifiye edilmiştir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile aynı örnekleri incelendiğinde izolatlar, *inlB* geni açısından pozitif olarak bulunmuş ve *L. monocytogenes* olarak doğrulanmıştır. PCR ürünlerine yapılan jel elektroforez görüntüsü Şekil 1' de sunulmuştur.

**Tablo 2.** *L. monocytogenes* suşları kullanılarak yapılan bazı biyokimyasal testlerin sonuçları

Testler	<i>Listeria monocytogenes</i>
O/F	Fermentatif
Katalaz	+
İndol	-
TSI	+
Üreaz	-
Oksidaz	-
CAMP ( <i>S. aureus</i> )	+
Glikozdan asit oluşturma	+
MR	+
VP	+
Ramnoz	+
Mannitol	-
Ksiloz	-



**Şekil 1.** *L. monocytogenes inlB* spesifik gen için yapılan PCR sonuçları. **M:** 100 bp DNA ladder, **P:** Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* ATCC® 19111), **N:** Negatif Kontrol (*Escherichia coli*® ATCC 25922), **1-11:** *inlB* geni pozitif örnekler

### Tartışma

Listeriozis, evcil ve vahşi hayvanlar olmak üzere çoğu zaman koyun ve sığır, nadiren keçi, at ve kümes hayvanlarını etkilemektedir. İneklerde *Listeria* etkenlerinin abortus veya mastitis sonucu enfeksiyonu takiben süt ve ekskretler yoluyla atılımı sürmektedir. Bazı durumlarda atılım süresi birkaç yılı bulabilmekte, gizli enfekte hayvanlar, klinik belirti göstermeksizin etkeni yaymaya devam etmektedir. Çiğ süt, esasen çiftlikteki hasta hayvanlara bağlı olarak, *L. monocytogenes*'in bulaşması için en yaygın yollardan biridir. Sağlıklı hayvanların çoğunlukla *L. monocytogenes* taşıyıcısı olabileceği riski daima göz önünde bulundurulmalı, tarama numunelerinden etken izolasyonu ve identifikasyonu yoluna gidilmelidir. Süt üretim ve işleme tesisleri, yüksek nem bulunan bir ortam olması ve *L. monocytogenes*'in ekipman üzerinde kalması nedeniyle etkenin üremesi için ideal ortamlar olmaktadır. *L. monocytogenes*, katı yüzeylere adhezyon yoluyla tutunarak biyofilm oluşturabilir, kullanılan alet ve ekipman yüzeyinde çoğalarak tekrar kontaminasyona yol açabilmektedir. Gıda kaynaklı patojenlerin başında *L. monocytogenes* en önemli yer tutmaktadır. Bütün *Listeria* türleri topraktan, çürümüş sebzelerden, silajlardan, lağım sularından, sulardan, hayvan yemlerinden, taze ve işlenmiş etlerden, çiğ sütlerden, peynirlerden, mezbaha atıklarından ve asemptomatik insan ve hayvan portörlerden izole edilmektedirler. Çevrede bu ölçüde yaygın bulunması, *Listeria* türlerinin gıda üretimi ve çevresel prosedürlerden gıdalarda varlığını arttırmakta ve yaygınlaştırmaktadır (10). *Listeria* türlerinin psikrotrofik doğasından dolayı, bütün türler buzdolabı derecelerinin de dahil olduğu tüm derecelerdeki yiyeceklerde üreyebilme özelliğine sahiptirler. Bu yüzden yaygın ve tekrarlayan listeriozis vakaları pastörize süt, peynir, sebze salataları ve et ürünleri gibi işlenmiş farklı gıdalarda görülmektedir. *L. monocytogenes*, sporadik ve epidemik listeriozis vakalarının nedeni olan gıda kaynaklı bir patojendir. Özellikle çocuklar, yaşlılar ve immunsupresif hastalar (özellikle kanserli, AIDS'li ve şeker hastalığı bulunan) risk grubu içinde yer almaktadırlar (13). Listeriozis düşük insidansa sahip olmasına rağmen, %20-30 oranlarında

ölüme sebebiyet vermektedir ve insanlar için büyük bir sorun teşkil etmektedir (14).

*Listeria* türleri çiğ ve işlenmemiş gıda ürünlerinde yaygın olarak bulunmaktadır (15). Çiğ sebze, çiğ süt, peynir, taze ve dondurulmuş etler gibi gıdalar, üretildikleri tesisler ve üretim şartları nedeniyle *L. monocytogenes* ile kontamine olabilmektedir. Soğuk parçalar veya hazır etler, peynirler ve diğer süt ürünleri gibi yenmeye hazır gıdalar da kontaminasyon için ideal kaynaklardır (10). *L. monocytogenes* vakumlu olarak paketlenmiş gıda ürünlerinde de üreyebilmektedir (16). Bu patojenin en yüksek insidansı kırmızı ve beyaz etler ile deniz ürünlerinde oluşmaktadır. *L. monocytogenes* kontaminasyonu, özellikle kırmızı et, kanatlı eti, deniz ürünleri ve süt ürünleri gibi gıdaların piyasadan toplanmasına neden olan önemli mikrobiyolojik etkenlerden biridir (17).

*Listeria* cinsi, Gram pozitif spor oluşturmeyen bakteri grubudur. DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarına göre *Listeria*, içinde *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. grayi* (*L. grayi* subs. *grayi*) ve *L. murrayi* olmak üzere 7 türün bulunduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu türler içinde *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* ve *L. seeligeri* hemolitik türlerdir ve insan patojenesi ile ilişkilidirler. Gıda kaynaklı listeriozis vakalarının içerdiği türlerin başında *L. monocytogenes* gelmektedir. Nadir olarak da patolojik olgularda *L. ivanovii*, bazı meningitis vakalarında da *L. seeligeri*'nin izole edildiği bildirilmektedir. *L. monocytogenes*'in geniş çaplı epidemilerde görülmesinde kontamine gıdalar önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle bu gıdalar içinde taze sebzeler, süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri önemli bir yer tutmaktadırlar (18).

*Listeria* türleri doğada çok yaygındır. *Listeria* türleri çevresel kaynaklardan, topraktan, akarsu ve göllerden, su, lağım, silaj örneklerinden, taze sebze ve meyvelerden, insan ve hayvan dışkılarından izole edilebilmektedir (19).

Süt ve süt ürünleri, *L. monocytogenes* ile enfekte olan mastitisli hayvanların çeşitli üretim aşamalarında sütlerinin kullanılması sonucu kontamine olabilmektedir. Bu tür ürünlerin tüketimi insan sağlığı için listeriosis açısından bir risk faktörü teşkil etmektedir (20). Bu çalışmada, *L. monocytogenes*, sığır çiğ süt örneklerinden konvansiyonel ve PCR yöntemleri kullanılarak izole ve identifiye edilmiştir. Daha önceki çalışmalarda, birçok araştırmacı tarafından *L. monocytogenes*'in genotipik olarak identifikasyonu yapılmıştır. 2013 yılında Tahran'da yapılan bir çalışmada çiğ inek sütlerinden %5.4 oranında *L. monocytogenes* PCR ile tespit edilmiştir (20). Çekya'da Nested PCR uygulanarak yapılan bir çalışmada ise çiğ inek sütlerinde %5 oranında *L. monocytogenes* identifiye edildiği bildirilmiştir (21). 2007 yılında yapılan ve *plcA*, *prfA*, *hlyA*, *actA* ve *iap* virülans genlerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada 243 adet hayvandan 12 (%1.66) *Listeria* sp. izole edilmiş, tür bazında identifikasyonda ise 4 (%0.55) adet *L. monocytogenes* identifiye edilmiştir (22). Hindistan'da 2008 yılında *hlyA*

virülans geninin araştırıldığı 2060 adet hayvandan alınan numune ile yapılan bir çalışmada 139 (%6.75) *Listeria* sp. izole edilmiş, tür bazında identifikasyonda ise 2 (%0.1) adet *L. monocytogenes* identifiye edilmiştir (23). 2014 yılında Hindistan'da insan, toprak, sebze, su ve inek sütü olmak üzere çeşitli kaynaklardan izole edilen 80 adet *L. monocytogenes* suşunun 16S rRNA ve *hlyA* genine dayalı PCR analizleri sonucu 7 izolatin inek sütünden identifiye edildiği bildirilmiştir (24). Ülkemizde ise Bursa'da 2014 yılında çeşitli gıda maddelerinden alınan örneklerde ise %8.4 oranında *L. monocytogenes* moleküler olarak identifiye edilmiştir (25). Bu çalışmada elde edilen %5.5'lik oran, söz konusu çalışmalarla uyumlu olarak saptanmıştır.

*L. monocytogenes* suşları genellikle patojen olarak kabul edilmektedir, ancak virülans potansiyeli bir suştan diğerine değişiklik göstermektedir ve bu durum bazı belirli genetik determinantlara bağlı olmaktadır (26). Virülans potansiyelini analiz etmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiş, ancak bu yöntemlerin arasında virulent genlerin PCR tabanlı identifikasyonunda internalin (*inl*) grubu genlerin identifikasyonu, daha fazla tercih edilen bir yöntem olarak öne çıkmıştır. Internalin prekürsör grubu genler, bakterinin memeli hücrelerine intrasellüler olarak yerleşmesine ve enfeksiyonun hücre içi yayılmasını sağlamaktadır (27, 28). Internalin grubu genlerin araştırılmasına dayalı uygulamalar *L. monocytogenes* identifikasyonu ile ilgili daha önceki çalışmalarda kullanılmıştır (22, 29-34). Araştırmamızda biyokimyasal özelliklerin belirlenmesi ile identifiye edilen 11 adet *L. monocytogenes* suşunun tamamında (%100) *inlB* geninin saptanması, ilgili gen diziliminin kullanılmasının saha suşlarının tespit edilmesinde oldukça faydalı ve yüksek güvenilirlik taşıdığı ortaya konulmuştur.

*L. monocytogenes* patojenlerinin süt ve süt ürünleri vasıtasıyla gıda zincirine katılarak halk sağlığı için önemli tehlikeler oluşturabileceği dikkate alındığında, bu çalışmanın düzenlendiği süt işletmelerinde özellikle sağıım yeri ve muhafaza bölümlerinde başta dezenfeksiyon olmak üzere diğer hijyen önlemlerinin artırılması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca sağıımhane çalışanlarının temizlik ve hijyen şartlarına özen göstermeleri ve özellikle sağıım aletleri olmak üzere işletme ekipmanlarının da gerekli temizlik ve hijyenlerini artıracak önlemlerin alınması, bununla birlikte sağıım öncesi sonrası meme dezenfeksiyon yöntemleri hakkında işletmelerin bilinçlendirilmesi, mastitis görülme insidansını düşürecektir. Araştırmamız sonucunda, Aydın ilinde mastitis hastalığına yakalanmış ineklerin *L. monocytogenes* etkenini süt yoluyla yaymak suretiyle kontaminasyon kaynağı oluşturduğu, bu durumla ilgili olarak süt üreticileri ve tüketicileri olmak üzere toplum sağlığı açısından enfeksiyon riski teşkil ettiği ortaya konulmuştur. İnek sütü üretiminin yoğun olduğu Aydın yöresinde Listerial enfeksiyonların tanısasal olarak göz önüne alınması gerektiği belirlenmiştir. Ayrıca konuyla ilgili daha detaylı çalışmaların prosedürlerinin belirlenerek planlanması, toplum sağlığı ve süt ekonomisinin iyileştirilmesi açısından önerilmektedir.

**Kaynaklar**

1. Blowey R, Edmondson P. Mastitis control in dairy herds: An Illustrated Practical Guide. Chapter 1. Ipswich: Farming Press Books, 1995.
2. Centers for Disease Control and Prevention. "Estimates of foodborne illness in the United States". <http://www.cdc.gov/foodborneburden/index.html/17.03>. 2017.
3. Ryser ET. Applied Dairy Microbiology. New York: Marcel Dekker Inc, 2001.
4. Winter P, Schilcher F, Bago Z, et al. Clinical and histopathological aspects of naturally occurring mastitis caused by *Listeria monocytogenes* in cattle and ewes. J Vet Med B 2004; 51: 176-179.
5. Barancelli GV, Camargo TM, Gagliardi NG. Pulsed-field gel electrophoresis characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from cheese manufacturing plants in Sao Paulo, Brazil. Int J Food Microbiol 2014; 173: 21-29.
6. Stessl B, Fricker M, Fox E. Collaborative survey on the colonization of different types of cheese-processing facilities with *Listeria monocytogenes*. Foodborne Pathog Dis 2014; 11: 8-14.
7. Lyytikäinen O, Autio T, Maijala R. An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. J Infect Dis 2000; 181: 1838-1841.
8. Sharma S, Sharma V, Dahiya DK, et al. Prevalence, virulence potential, and antibiotic susceptibility profile of *Listeria monocytogenes* isolated from bovine raw milk samples obtained from Rajasthan, India. Foodborne Pathog Dis 2017; 14: 1-9.
9. Hyden P, Pietzka A, Lennkh A. Whole genome sequence-based serogrouping of *Listeria monocytogenes* isolates. J Biotechnol 2016; 235: 181-186.
10. Bortolussi R. Listeriosis: A primer. CMAJ 2008; 179: 795-797.
11. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams TS. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore: William and Wilkins, 1994.
12. Pangallo D, Kackov E, Kuchta T, Drahovsk H. Detection of *Listeria monocytogenes* by polymerase chain reaction oriented to inlB gene. New Microbiol 2001; 24: 333-339.
13. Paul ML, Dwyer DE, Chow C, et al. Listeriosis a review of eighty-four cases. Med J Aust 1994; 160: 489-493.
14. Skogberg K, Syrjanen J, Jahkola M, et al. Clinical presentation and outcome of listeriosis in patients with and without immunosuppressive therapy. Clin Infect Dis 1992; 14: 815-821.
15. Schlech WF. Foodborne listeriosis. Clin Infect Dis 2001; 31: 770-775.
16. Henning WR, Cutter C. "Controlling *Listeria monocytogenes* in small and very small meat and poultry plants". <http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/Nis/Outreach/Listeria.html/28.03.2017>.
17. Jemmi T, Stephan R. *Listeria monocytogenes*: Food-borne pathogen and hygiene indicator. Rev Sci Tech OIE 2006; 25: 571-580.
18. Schuchat A, Swaminathan B, Broome CV. Epidemiology of human listeriosis. Clin Microbiol Rev 1991; 4: 169-183.
19. Fenlon DR. *Listeria monocytogenes* in the natural environment. New York: Marcel Dekker Inc, 1999.
20. Jamali H, Radmehr B, Thong KL. Prevalence, characterisation, and antimicrobial resistance of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolates from raw milk in farm bulk tanks. Food Control 2013; 34: 121-125.
21. Holko I, Urbanova J, Kantikova M, Pastorova K, Kmet V. PCR detection of *Listeria monocytogenes* in milk and milk products and differentiation of suspect isolates. Acta Vet Brno 2002; 71: 125-131.
22. Rawool DB, Malik SVS, Shakuntala I, Sahare AM, Barbudhe SB. Detection of multiple virulence-associated genes in *Listeria monocytogenes* isolated from bovine mastitis cases. Int J Food Microbiol 2007; 113: 201-207.
23. Kalorey DR, Warke SR, Kurkure NV, Rawool DB, Barbudhe SB. *Listeria* species in bovine raw milk: A large survey of Central India. Food Control 2008; 19: 109-112.
24. Soni DK, Dubey SK. Phylogenetic analysis of the *Listeria monocytogenes* based on sequencing of 16S rRNA and hlyA genes. Mol Biol Rep 2014; 41: 8219-8229.
25. Cetinkaya F, Yibar A, Guclu N, Tavsanlı H, Cibik R. Prevalence, serotype identification by multiplex polymerase chain reaction and antimicrobial resistance patterns of *Listeria monocytogenes* isolated from retail foods. J Food Safety 2014; 34: 42-49.
26. Neves E, Silva AC, Roche SM, Velge P, Brito L. Virulence of *Listeria monocytogenes* isolated from the cheese dairy environment, other foods and clinical cases. J Med Microbiol 2008; 57: 411-415.
27. Liu D, Lawrence ML, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* subgroups IIIA, IIIB, and IIIC delineate genetically distinct populations with varied pathogenic potential. J Clin Microbiol 2006; 44: 4229-4233.
28. Roberts A, Nightingale K, Jeffers G, et al. Genetic and phenotypic characterization of *Listeria monocytogenes* lineage III. Microbiology 2006; 152: 685-693.
29. Jaradat ZW, Schutze GE, Bhunia AK. Genetic homogeneity among *Listeria monocytogenes* strains from infected patients and meat products from two geographic locations determined by phenotyping, ribotyping and PCR analysis of virulence genes. Int J Food Microbiol 2002; 76: 1-10.
30. Jallewar PK, Kalorey DR, Kurkure NV, Pande VV, Barbudhe SB. Genotypic characterization of *Listeria* spp. isolated from fresh water fish. Int J Food Microbiol 2007; 114: 120-123.
31. Nayak JB, Brahmabhatt MN, Savalia CV, et al. Detection and characterization of *Listeria* species from buffalo meat. Buffalo Bull 2010; 29: 83-87.

32. Momtaz H, Yadollahi S, Doudi M, Tajbakhsh E. Isolation and characterization of *Listeria* species and determines *Listeria monocytogenes* serotypes in fresh fish, shrimp, crab and lobster in Isfahan and Shahrekord, Iran. IJABBR 2013; 1: 2322-4827.
33. Soni DK, Singh RK, Singh DV, Dubey SK. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from Ganges water, human clinical and milk samples at Varanasi, India. Appl Environ Microbiol 2013; 68: 6273-6282.
34. Bierne H, Sabet C, Personnic N, Cossart P. Internalins: A complex family of leucine-rich repeat-containing proteins in *Listeria monocytogenes*. Microbes Infect 2007; 9: 1156-1166.