

KARS İLİNDE ÇİĞ SÜTLERDEN *Listeria monocytogenes* İZOLASYONU

Özkan ASLANTAŞ¹

Pınar YILDIZ²

¹Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Hatay – TÜRKİYE
²İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü Kars – TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 24.05.2002

Isolation of *Listeria monocytogenes* from Raw Milk in Kars

Summary

In this study, 150 raw milk samples collected in Kars once a month between January 2001 and June 2001 was investigated to detect presence and frequency of *Listeria spp.* In addition to raw milk samples, 11 different kind of silage samples (4 grass silage, 2 sainfoin silage, 2 corn silage, 2 oat silage and 1 vetch silage) were investigated to detect *L.monocytogenes*. Fourteen (0.93%) *Listeria spp.* were isolated from raw milk samples. Of 14 *Listeria spp.*, 3 (2%) *L.monocytogenes*, 3 (2%) *L.grayi*, 5 (3.3%) *L.welshimeri*, 2 (3%) *L.murrayi* 1 (0.6%) and *L.innocua* were identified. Vetch silage sample was found to be contaminated with *L.monocytogenes*.

In conclusion, this study indicated that Raw milk samples marketed in Kars were contaminated with *Listeria spp.* to varying extent. On the other hand, one silage sample contaminated with *L.monocytogenes* indicated that silage could have potential risk for animals in Kars in respect with Listeriosis

Key Words: *Listeria monocytogenes*, raw milk, silage

Özet

Bu çalışmada, Kars Merkez’de ayda bir kez olmak üzere Ocak 2001-Haziran 2001 tarihleri arasında toplanan 150 çiğ süt numunesinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı araştırıldı. Çiğ süt örneklerine ilave olarak alınan çeşitli türde 11 silaj (4 ot silajı, 2 korunga silajı, 2 mısır silajı, 2 yulaf silajı ve 1 fiğ silajı) numunesi de *L.monocytogenes* yönünden incelendi. İncelenen süt örneklerinde 14 (%0.93) *Listeria* türü izole edildi. Bunlardan 3’ü (%2) *L.monocytogenes*, 3’ü (%2) *L.grayi*, 5’i (%3.3) *L.welshimeri*, 2’si (%3) *L.murrayi* ve 1’i (%0.6) *L.innocua* olarak tanımlandı. İncelemeye alınan 11 silaj numunesinin 1’inde (fiğ silajı) *L.monocytogenes* izole ve tanımlandı.

Sonuç olarak, Kars Merkez’de tüketime sunulan çiğ sütlerin başta *L.monocytogenes* olmak üzere diğer *Listeria* türleri ile düşük düzeyde de olsa kontamine olduğu saptanmıştır. Ayrıca, 11 silaj örneğinin 1’inde tesbit edilen *L.monocytogenes* ile, yöre hayvancılığında silajın Listeriosis yönünden bir risk faktörü olabileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Listeria monocytogenes*, çiğ süt, silaj

Giriş

Listeriosis, hayvanlarda, meningoensefalitis, abortus, septisemi ve mastitisle karakterize olan bulaşıcı zoonotik bir hastalıktır (1). *Listeria* cinsine bağlı, *Listeria monocytogenes*, *L.ivanovii*, *L.innocua*, *L.welshimeri* ve *L.seeligerii* olmak üzere 5 tür bulunmaktadır (28). Bunlardan *L.monocytogenes* ve *L.ivanovii* patojen olarak kabul edilmekte, *L.monocytogenes* hayvan ve insanlarda yukarıdaki klinik semptomları oluştururken (1,24,30), *L.ivanovii* ise hayvanlarda abortusa neden olmaktadır (5).

Listeria türleri doğada çok yaygın olup; toprak, bitki, kanalizasyon, dışkı, su, hayvan yemleri (özellikle silaj) ve altlık gibi materyallerde izole edilmesinin

yanı sıra, sağlıklı hayvan ve insanların gaitalarından da sıklıkla izole edilebilmektedir (3,12). Çiğ sütlerin *Listeria* türleri ile kontaminasyonu ise bu kaynaklardan çeşitli şekillerde olmaktadır (10,26).

Sütlerde ve süt ürünlerinde *Listeria* türlerinin varlığını saptamak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Gün ve Ilgaz (18), İstanbul ve çevresinde süt çiftliklerinin süt toplama tanklarından aldıkları 100 örnekte 4 (%4) *L.monocytogenes*, 9 (%9) *L.innocua*, 2 (%2) *L.welshimeri* Ceyhan ve ark (4), Ankara merkez ve çevre semtlerindeki sokak satıcıları ve mandıralardan aldıkları 126 çiğ süt örneğinin 2’sinde (%1.6) *L.monocytogenes* izole

ettiklerini belirtmektedir. Ertaş ve Gülcü (10), Elazığ bölgesinde sağlıklı 150 koyun ve 150 keçi ile abort yapmış 50 koyuna ait süt örneklerinden *L.monocytogenes* izole edemezken 4'ü (3 *L.welshimeri*, 1 *L.denitrificans*) koyunlardan 1'i (*L.welshimeri*) keçilerden olmak üzere toplam 5 *Listeria* türü izole etmişlerdir. Abort yapmış koyunların sütlerinden *Listeria spp.* izole edememişler ve etkenle sütün kontaminasyonunun sağımdan sonra çevreden sonradan olduğunu ifade etmişlerdir. Ayaz ve Akçay (2), Ankara yöresinde 186 adet çiğ süt örneğinden 8 (%4.3) *L.monocytogenes*, 14 (%7.4) *L.ivanovii*, 7 (%3.76), *L.murrayi*, 5 (%2.68) *L.grayi* ve 16 (%8.6) *L.innocua* izole etmişlerdir. Gündüz ve Baysal (20), Konya ve çevresinde bulunan süt işletmelerinden temin ettikleri 100 çiğ süt örneğinde 1 *L.monocytogenes*, 1 *L.murrayi*, ve 4 *L.innocua*, Sağun ve ark. (26) ise, Van ve çevresinden aldıkları 250 çiğ süt örneğinde 3 (%1.20) *L.monocytogenes*, 1 *L.innocua* (%0.40), 1 (%0.40) *L.ivanovi* ve 1 *L.welshimeri* (%0.40) izole etmişlerdir.

Yurtdışında etkenin süt ve süt ürünlerinde varlığı üzerinde yapılan çalışmalarda farklı oranlarda *Listeria spp.* izolasyonu yapılmıştır. Dominguez-Rodriguez ve ark (7), İspanya'da 95 çiğ süt örneğinin % 45'nde *L.monocytogenes* izole etmişlerdir. Farber ve Sanders (11), Kanada'da dört farklı coğrafik bölgedeki süt toplama tanklarından aldıkları 445 süt örneğinin 6'sında (%1.3) *L.monocytogenes* ve *L.welshimeri*, 43'ünde (%9.7) ise *L.innocua* izole etmişler ve etkenin yazın daha fazla izole edildiğini bildirmişlerdir. Slade ve Collins (29), Kanada'da 315 çiğ süt örneğinin 17'sinde (%5.4) *L.monocytogenes*, 26'sında (%8.2) *L.innocua* ve 1'inde *L.welshimeri* (%0.3) izole ve tanımlanmıştır.

Bu araştırma ile, Kars il merkezindeki süt satış yerlerinden alınan çiğ süt örneklerinde *Listeria* türlerinin varlığının ve yaygınlığının mevsimsel olarak araştırılması amaçlanmıştır. Çiğ süt örneklerine ilave olarak, Kars ili merkez köylerinden alınan çeşitli türde 11 silaj örneği de *L.monocytogenes* yönünden incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Süt Örnekleri: Kars il merkezinde bulunan süt satış yerlerinden Ocak 2001-Haziran 2001 tarihleri arasında alınan toplam 150 çiğ süt numunesi çalışmanın materyalini oluşturmuştur.

Silaj Örnekleri: Silaj örnekleri Kars ili merkez köylerinden temin edildi.

Süt ve silaj örneklerinin zenginleştirilmesi ve *Listeria* türlerinin izolasyonunda Food and Drug

Administration (FDA) tarafından önerilen metot kullanıldı (32).

Zenginleştirme: Her süt örneğinden aseptik şartlarda alınan 25 ml ve silaj örneklerinden ise 25 g alınarak 225 ml *Listeria Selective Enrichment Supplement* (Oxoid SR141) ilave edilmiş *Listeria Selective Enrichment Broth*'a (Oxoid CM 862) ilave edilerek homonize hale getirildikten sonra 30 °C'de bir hafta süreyle inkubasyona bırakılmıştır.

İzolasyon ve İdentifikasyon: Zenginleştirme işleminin birinci, ikinci ve yedinci günlerinde direkt veya %0.5 KOH ile 1/10 oranında sulandırılarak *Listeria Selective Supplement* (Oxoid, SR 140) ilave edilmiş *Listeria Selective Agar*'a (Oxford CM856) ekimleri yapılarak 35°C'de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda etrafı siyah haleli kolonilerden seçilen 5 koloni identifikasyon için % 0.6 oranında *Yeast Extract* (Oxoid LM21) içeren *Tryptone Soya Agar*'a (Oxoid CM 131) tek koloni düşecek şekilde ekimleri yapılarak 30°C'de 24 saat sonra üreyen kolonilere, Gram boyama, katalaz, oksidaz (Oxoid BR64), *SIM Medium*'da (Oxoid CM435) hareket, Metil Red-Voges Proskauer testi ile karbonhidrat fermentasyon (D-ksiloz, L-ramnoz ve mannitol) testleri yapıldı (22,28). Kanlı Agar'da (Oxoid CM271) β-hemoliz gösteren *Listeria* suşlarının identifikasyonu için *Rhodococcus equi* ve *Staphylococcus aureus* ile CAMP testi yapıldı (23,28,30).

Bulgular

İncelenen 150 çiğ süt örneğinin 14'ünde (%0.93) *Listeria* türleri izole edilmiştir. Bunlardan 3'ü (%2) *L.monocytogenes*, 3'ü (%2) *L.grayi*, 5'i (%3.3) *L.welshimeri*, 2'si (%3) *L.murrayi* 1'i (%0.6) *L.innocua* olarak tanımlanmıştır (Tablo 1). İncelemeye alınan 11 silaj numunesinin 1'inde *L.monocytogenes* izole ve tanımlanmıştır.

Tablo 1. Süt örneklerinden izole edilen *Listeria* suşlarının aylara göre dağılımı

Örneklerin toplama zamanı	Örnek sayısı	L. monocytogenes	L.innocua	L.murrayi	L.welshimeri	L.grayi	Toplam
Ocak	25	1	-	-	1	1	3
Şubat	25	-	1	2	1	-	4
Mart	25	-	-	-	1	-	1
Nisan	25	-	-	-	1	1	2
Mayıs	25	1	-	-	-	-	1
Haziran	25	1	-	-	1	1	3
Toplam	150	3	1	2	5	3	14

Tablo 2. İzole edilen *Listeria* türlerinin biyokimyasal özellikleri

Testler	S u ş n u m a r a l a r ı													
	11	16	22	30	38	42	48	62	87	95	111	126	139	145
β-hemoliz	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Hareket (25°C'de)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
CAMP (S.aureus)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
CAMP (R.equi)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MR ve VP	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hippurat hidrolizi	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Nitrat redüksiyonu	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Rhamnoz	+	+/-	-	+	+	+	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+/-	-
D-Ksiloz	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
Mannitol	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Eskülin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
İdentifiye edilen türler	L.mo	L.w	L.g	Li	L.m	L.m	L.w	L.w	L.w	L.g	L.mo	L.mo	L.w	L.g
L.mo: <i>L.monocytogenes</i>		L.w: <i>L.welshimeri</i>		Li: <i>L.innocua</i>		L.m: <i>L.murrayi</i>		L.g: <i>L.grayi</i>						

Tartışma

Bu çalışmada 150 çiğ süt örneğinden 14 (%0.93) adet *Listeria* türü izole edilmiş olup; bunların 3'ü (%2) *L.monocytogenes*, 3'ü (%2) *L.grayi*, 5'i (%3.3) *L.welshimeri*, 2'si (%1.3) *L.murrayi* ve 1'i (%0.6) *L.innocua* olarak identifiye edildi.

Listeria türlerinin çiğ süt örneklerinde varlığı üzerinde gerek yurdumuzda (2,4,10,18,26) gerekse yurtdışında (7,11,12,17,29) yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Yapılan araştırmalarda çiğ sütlerden farklı oranlarda *Listeria* türlerinin izole edilmesi; farklı izolasyon yöntemleri ve besi yerlerinin kullanılmasına, örneklerin alınma zamanına, iklim ve coğrafik farklılıklara, barınak ve sağım hijyenine, hayvan besleme alışkanlıklarına bağlanmaktadır (6,16,23).

Listeria türlerinin kışın çiğ sütlerde izolasyon oranının daha yüksek olduğunu ileri süren araştırmacılar (11,23), bunu hayvanların kışın kapalı

yerlerde beslenmesinin ve beslemede silajın kullanımına bağlamakta iken bazı araştırmacılar (12,28,29) ise *Listeria* türlerinin izolasyon oranı üzerine mevsimin bir etkisi olmadığını ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada, *Listeria* türlerinin izolasyon sıklığı üzerine çiğ süt örneklerinin alındığı aylara göre belirgin bir farkın olduğunu söylemek mümkün değildir.

Çiğ sütlere *Listeria* türlerinin bulaşmasında en önemli nedenlerden birisi olarak silaj gösterilmektedir. Uygun şekilde fermente edilmemiş ve yüksek pH'ya (>pH:4) sahip silajlardan *L.monocytogenes* dahil *Listeria* türlerinin yaygın olarak izole edildiği bildirilmektedir (8,9,14,25,31). Nitekim, Listeriozis ile silaj tüketimi arasındaki ilişki sığırlarda (13,15), koyunlarda (13,19,21) ve keçilerde (15) gösterilmiştir. Bu çalışmada, Kars Merkez köylerinde 2000 yılında sınırlı sayıda yetiştiricinin yaptığı 11 silaj örneğinin sadece 1'inde (%9) *L.monocytogenes* saptanmıştır. Fakat, çalışmada silaj

tüketen hayvanlara ait gaita ve süt örnekleri *Listeria* türleri yönünden incelemeye alınamamış sadece silaj örneklerinin incelenmesi ile yetinilmiştir. Şahin ve ark. (27), silaj ve bu silajı tüketen hayvanların sütlerinden *L.monocytogenes* izole edememişler, fakat *L.welshimeri* ve *L.grayi* türlerini hem silajda hemde bu hayvanların sütlerinde tesbit etmişlerdir.

Sonuç olarak, Kars ili merkezinde tüketime sunulan çiğ süt örneklerin başta *L.monocytogenes* olmak üzere diğer *Listeria* türleri ile düşük düzeyde de olsa kontamine olduğunu saptandı. Ancak, *Listeria* türlerinin düşük ısı derecelerinde de üreme yeteneklerinden dolayı çiğ sütlerin tüketilmelerine kadar geçen zamanda üreyerek sağlık yönünden

insanlar için risk oluşturabilecekleri unutulmamalıdır. İncelemeye alınan 11 silaj örneğinin 1'inde *L.monocytogenes*'in izole edilmesi, özellikle düşük kaliteli ve yüksek pH'ya sahip silajların, yörede yaygınlaştırılmasına çalışılan ve hayvanların beslenmesinde yadsınamayacak kadar önemli olan silajın *Listeriosis* yönünden bir risk oluşturabileceğini ortaya koymaktadır. Bu sebeplerden dolayı, yörede yaygın olarak tüketilen gıda maddelerinin *Listeria* türleri ile kontaminasyon durumlarının bilinmesi ve bunun üzerine etkili olan faktörlerin saptanarak bu faktörlerin ortadan kaldırılmasına yönelik tedbirlerin alınması gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Arda M, Minbay A, Leloğlu N ve ark. Özel Mikrobiyoloji. 4. Baskı, Ankara. Medisan Yayınları, 1997.
2. Ayaz Y, Akçay E. Süt ve süt ürünlerinde listeriaların araştırılması. Etlik Vet Mikrobiol Derg 1995; 8: 1-18.
3. Brackett RE. Presence and persistence of *Listeria monocytogenes* in food and water. Food Technol 1998; 42: 162-164.
4. Ceyhan İ, Bodur S, Babür C. Sokakta satılan çiğ sütlerde *Listeria monocytogenes* araştırılması. SÜ Tıp Fak Derg 1992; 8: 41-45.
5. Chand P, Sadana JR. Outbreak of *Listeria ivanovii* abortion in sheep in India. Vet Rec 1999; 145: 83-84.
6. Çetinkaya B, Ertaş HB, Muz A. Süt ürünlerinde *Listeria* türlerinin izolasyonu. FÜ Sağlık Bil Derg 1999; 13: 21-25.
7. Dominiquez-Rodriguez L, Fernandez-Garzasabal JF, Vaquez-Boland JA et al. Isolations de micro-organismes de *Listeria* a partir de lait une destine a' le consommation humaine. Can J Microbiol 1985; 31: 938-941.
8. Donald AS, Fenlon DR, Seddon B. The relationship between ecophysiology, indigenous microflora and growth of *Listeria monocytogenes* in grass silage. J Appl Bacteriol 1995; 79: 141-148.
9. Driehuies F, Oude Lferink SJ. The impact of the quality of silage on animal health and food safety: a review. Vet Q 2000; 22: 212-216.
10. Ertaş HB, Gülcü HB. Elazığ Bölgesinde koyun ve keçi sütlerinden *Listeria* türlerinin izolasyonu. FÜ Sağlık Bil Derg 1999; 13: 7-14.
11. Farber JM, Sanders GW, Malcom SA. The presence of *Listeria* spp in raw milk in Ontario. Can J Microbiol 1988; 34: 95-100.
12. Fenlon DR, Wilson J. The incidence of *Listeria monocytogenes* in raw milk from farm bulk tanks in North-East Scotland. J Appl Bacteriol 1989; 66: 191-196.
13. Fenlon DR. Rapid quantitative assesment of the distribution of *Listeria* in silage implicated in a suspected outbreak of *Listeriosis* in calves. Vet Rec 1986; 118: 240-242.
14. Fenlon DR. Wild birds and silage as reservoirs of *Listeria* in the agricultural environment. J Appl Bacteriol 1985; 42: 162-164.
15. Fensterbank RA, Audurier J, Godu P et al. Study of *Listeria* strains isolated from sick animals and from the silage consumed. Ann Res Vet 1984; 15: 113-118.
16. Fernandez-Garzasabal JF, Dominiquez-Rodriguez L, Vaquez-Boland JA et al. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in raw milk. Vet Rec 1987; 120: 258-259.
17. Greenwood MH, Roberts D, Burden P. The occurrence of *Listeria* species in milk and dairy products: A national survey in England and Wales. Int J Food Microbiol 1991; 12: 197-206.
18. Gün H, Ilgaz A. İstanbul ve çevresinde süt çiftliklerindeki süt toplama tanklarında *Listeria monocytogenes*'in varlığının araştırılması. I. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı 1994.
19. Gitter M, Stebbings RSJ, Morris JRS et al. Relationship between ovine *Listeriosis* and silage feeding. Vet Rec 1986; 118: 207-208.
20. Gündüz K, Baysal T. Çiğ sütlerden izole ve tanımlanmış *Listeria* spp'lerin patojeniteleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Etlik Vet Mikrobiyol Derg 1999; 10: 47-61.
21. Gronstol H. *Listeriosis* in sheep-isolation of *Listeria monocytogenes* from grass silage. Acta Vet Scan 1979; 20: 417-428.
22. Husu JR. Epidemiological studies on the occurrence of *Listeria monocytogenes* in the feces of dairy cattle. J Vet Med 1992; 37: 276-282.

23. Lovett J, Francis DW, Hunt JM. *Listeria monocytogenes* in raw milk : Detection, incidence and pathogenicity. *J Food Protec* 1987; 50: 188-192.
24. Low JC, Renton CP. Septicemia, encephalitis and abortion in a housed flock of sheep caused by *Listeria monocytogenes* type1/2. *Vet Rec* 1985; 116: 147-150.
25. Ryser ET, Arimi SM, Donnelly CW. Effects of pH on distribution of *Listeria* ribotypes in corn, hay and grass silage. *App Environ Microbiol* 1997; 63: 3695-3697.
26. Sağun E, Sancak YC, İşleyici Ö, Ekici K. Van ve çevresi süt ve otlı peynirlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma. *Turk J Vet Anim Sci* 2001; 25: 15-19.
27. Şahin K, Çerçi İH, Güler T, Özcan C, Şahin N. Silaj ve kuru ot katılan rasyonlarla beslenen süt ineklerinin kaba yem ve sütlerinde *Listeria* türlerinin araştırılması. *FÜ Sağlık Bil Derg* 1996, 10: 245-249.
28. Seeliger HPR, Jones D. Genus *Listeria*. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol: 2 Baltimore. Williams and Wilkins, 1986; 1235-1245.
29. Slade PJ, Collins-Thompson DL. Incidence of *Listeria* species in Ontario raw milk. *Can Inst Food Technol J* 1991; 25: 15-20.
30. Quinn PJ, Carter ME, Markey BK et all. *Listeria* species. In: *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe publishing, London 1994; 170-174.
31. Vazquez-Boland JA, Dominguez L, Blanco M et all. Epidemiological investigation of silage-associated epizootic of ovine listeric encephalitis, using a new *Listeria*-selective enumeration medium and phage typing. *Am J Vet Res* 1992; 53: 368-371.
32. Warburton DN, Farber JM, Calderia AA. et all. A comparative study of FDA and USDA methods for the detection of *Listeria monocytogenes* in foods. *Int J Food Microbiol* 1991; 13: 105-108.