

***Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* ve Benzerlerinin (*Yersinia kristensenii*, *Yersinia frederiksenii*, *Yersinia intermedia*) Çiğ Süt Örneklerinden İzolasyonu**

Güven URAZ, Nihal YÜCEL

Gazi Üniversitesi, Fen Ede. Fak., Gen. Biyoloji A.B.D. Mikrobiyoloji Bilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 18.03.1996

Özet: Bu çalışmada toplam 211 çiğ süt örneğinde *Yersinia enterocolitica* ve *Listeria monocytogenes* varlığı araştırılmıştır. Örneklerden 8(%3.79) *Y. enterocolitica*, 6(%2.83) *Y. enterocolitica* benzeri mikroorganizma olmak üzere toplam 14 suş izole edilmiştir. *Y. enterocolitica* benzeri mikroorganizmaların 3'ü (%1.4) *Y. kristensenii*, 2'si (%0.94) *Y. frederiksenii*, 1'ide (%0.47) *Y. intermedia* olarak teşhis edilmiştir. Araştırmada aynı çiğ sütlerden 2(%0.94) *L. monocytogenes* izolasyonu da gerçekleştirilmiştir.

Y. enterocolitica ve benzeri mikroorganizmaların mevsimsel dağılımları değerlendirildiğinde bu mikroorganizmaların düşük sıcaklıklarda üremeyi sevdiği gözlenmiştir. İzolasyonların 6'sı (%42.85) kış mevsiminde, 5'i (%35.71) ilkbaharda, 3'ü (%21.42) yaz mevsiminde gerçekleştirilmiştir. *L. monocytogenes* izolasyonununun 1'si kış, diğeri ilkbahar mevsiminde tespit edilmiştir. *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* ve benzerlerinin izolasyonlarının dağılımları incelendiğinde Ankara ve çevresinden sağlanan örneklerde daha fazla olduğu belirlenmiştir.

The Isolation of *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica* like Microorganism from Raw Milk Samples.

Abstract: The presence of *Yersinia enterocolitica* and *L. monocytogenes* in total 211 raw milk samples were investigated. In this study a total number of 14 *Y. enterocolitica* and *Y. enterocolitica* like microorganism have been isolated. 3.79% (8 samples) of the total isolation were characterized as *Y. enterocolitica* whereas 2.83% (6 samples) of these were found to be *Y. enterocolitica* like microorganism. 1.4% of the total *Y. enterocolitica* like microorganism (3 samples) were identified as *Y. kristensenii*, 0.94% (2 samples) of the total *Y. enterocolitica* like microorganism identified as *Y. frederiksenii* and 0.47% (1 samples) of the total *Y. enterocolitica* like microorganism identified as *Y. intermedia*. A total of 0.94% (2 samples) *L. monocytogenes* were isolated in the same raw milk samples.

Y. enterocolitica and like these microorganisms were observed to grow very easily in low temperature in according to seasonal distribution. 42.85% (6 samples) of total isolations were made during winter time, 35.71% (5 samples) of total isolations were made during spring time, 21.42% (3 samples) of total isolations were made during summer time. One of the *L. monocytogenes* was isolated in winter whereas the other one was isolated in spring season. When the isolation of *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* and *Y. enterocolitica* like microorganism were investigated according to the places where raw milks are taken; it was detected that the isolation had been done in Ankara and its around.

Giriş

Son yıllarda *Yersinia enterocolitica* ve *Listeria monocytogenes* Amerika ve Avrupa ülkelerinde süttten sıklıkla izole edilen patojenlerdendir. Literatürde *Y. enterocolitica* enfeksiyonlarında önemli bir artış olduğu da belirtilmiştir. Bu bakterinin psikrofil karakterde olması gıda endüstrisinde soğuk siccirin yaygınlaşması, patojen özelliğinin tanımlanması ve izolasyon yöntemlerinin geliştirilmesi artış nedeni olarak ileri sürülmektedir. Aynı zamanda beraber anılan iki bakterinin toplum sağlığını yakından ilgilendirmesi pek çok ülkede süt ve ürünlerinden bu mikroorganizmaların izolasyonunu içeren araştırmaları hızlandırmıştır.

Türkiye'de *Y. enterocolitica* izolasyonunu içeren çalışmalar az sayıdadır ve araştırmalar daha çok insan

organizmasında meydana gelen enfeksiyonlarla ilgili çalışmalarıdır. Gıdalardan *Y. enterocolitica* izolasyonu çalışmaları yeni başlamıştır. *L. monocytogenes*'in sebep olduğu listeriosis enfeksiyonları da son yıllarda Türkiye'de artış göstermiştir. Bu nedenlerden araştırmamız konusu seçilerek 211 çiğ süt örneğinde iki bakterinin birlikte izolasyonları gerçekleştirilmiştir.

Son zamanlarda *Y. enterocolitica* yanında *Y. enterocolitica* benzeri olarak adlandırılan türlerden de bahsedilmektedir. Bu mikroorganizmaları temel biyokimyasal özellikleri *Y. enterocolitica*'nın özellikleri ile aynı olup yalnız sukroz, ramnoz, rafinoz ve laktoz fermantasyonlarına göre ayrılırlar. Bercovier ve arkadaşları *Y. kristensenii*'yi, Brenner ve arkadaşları *Y. intermedia*'yi Ursing ve arkadaşları da *Y. frederiksenii*'yi sınıflandırmışlardır (1, 2, 3).

Materyal ve Yöntem

Materyal

Araştırmada 2 yıl süreyle 211 çiğ süt örneği ile çalışılmıştır. Çalışmada Türk Standartları Enstitüsünce belirtilen esaslara göre (TSE-1018) çiğ süt örnekleri steril 100 ml'lik şişelerde alınmış ve örnekler en kısa sürede laboratuvara getirilerek analize başlanmıştır (4).

Bu çalışmada değerlendirilen 211 çiğ süt örneğinin kaynaklara göre dağılımı Tablo 1'de görülmektedir. Süt örneklerinin 169'u çeşitli yörelere ait işletme sütü örnekleridir (Ankara, Polatlı, Burdur, Antalya, Kastamonu, Denizli, Afyon, Bilecik, Konya ve Eskişehir). Diğer 42'sinde Ankara ve çevresi sokak sütçülerinden sağlanan (Çubuk, Hasanoğlan, Gölbaşı, Kazan, Çankırı, Ayaş, Atapark ve Bağlum) örnekleridir.

Tablo 1. Araştırmada Materyal Olarak Kullanılan Çiğ Süt Örneklerinin Alındığı Kaynaklara Göre Dağılımı

Çiğ Süt örneklerinin alındığı kaynaklar	Örnek sayısı	%
Çeşitli süt işletmelerinden alınan çiğ süt örnekleri	169	80.09
Ankara yöresi sokak satıcılarından alınan çiğ süt örnekleri	42	19.90
TOPLAM	211	

Metot

1. *Yersinia enterocolitica*'nın Çiğ Süt Örneklerinden İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Alınan çiğ süt örnekleri 225 ml Tris Pepton Water (TPW) bulunan erlenlere 25 ml ilave edilmiştir. Bu karışım 9°C de 11-14 gün inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonucunda örnekten 1 ml alınarak 9 ml (%0.5 KOH+%0.5 NaCl) çözeltisiyle karıştırılmıştır. Bu karışımdan 0.1 ml alınan örnekler *Yersinia* Selektif Agar plaklarına ekilmiştir. Dana sonra bu plaklar 30°C de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Plaklar üzerinde görülen *Y. enterocolitica* şüpheli mikroorganizmalar koloni morfolojileri, boyanma özellikleri ve pigment özellikleri yönünden incelenmiştir (5, 6, 7). Bu *Yersinia* şüpheli kolonilerden ikinci defa MacConkey Agar (MCA)'a ve *Yersinia* Selektif Agar (YSA)'a pasaj yapılmıştır. 30°C de MCA üzerinde soluk şeftali renginde, YSA'da ortası koyu pembe renkli *Yersinia* kolonileri gözlenmiştir. Anılan iki besiyerinde üreyen saf kültürden önce oksidaz ve katalaz testleri daha sonra da üre, sitrat, indol, metil red, voges proskauer ve Triple Sugar Iron (TSI) testleri yapılmıştır.

Sonuçlara göre 22 ve 37°C deki hareket testleri, ayrıca jelatin hidrolizi, nitrat redüksiyonu, ornitin ve lizin dekarboksilaz, arjinin dehidroliz testleri çalışılmıştır.

Bu sonuçlara göre *Yersinia* tanısını kesinleştirmek amacıyla glikoz, maltoz, mannitol, sükröz, ksiloz, laktoz, ramnoz, rafinoz fermentasyon testleri yapılmıştır. Yapılan test sonuçlarına göre *Y. enterocolitica* ve *Y. enterocolitica* benzerlerinin tanısı konulmuştur.

Çiğ süttten izolasyonu gerçekleştirilen bu suş'ların adlandırılmasında Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'e göre yapılmış ve kontrol amacıyla da RSKK 734' nolu *Y. enterocolitica* suş'undan yukarıda bahsedilen bütün besiyerlerine ekim yapılarak biyokimyasal reaksiyonlarına bakılmıştır (8).

2. *Listeria monocytogenes*'in Çiğ Süt Örneklerinden İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Çiğ süt örneklerinden *L. monocytogenes*'in izolasyon şansını artırmak için iki yöntem bir arada kullanılmıştır.

a. Triptoz Fosfat Broth (TFB) İle+4°C'de Zenginleştirme

0.1 ml çiğ süt örneği 5 ml TFB çoğaltma ortamına ilave edilerek bir, iki ay süreyle +4°C de bekletilmiştir. Bu süre içerisinde üçüncü haftadan itibaren her hafta örneklerden akriflavin ve nallidiksik asit içeren Selektif McBride *Listeria* Agar (SMBLA) plaklarına ekim yapılarak kontrol edilmiştir. SMBLA plaklarına ekilen örnekler 37°C de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Şüpheli kolonilerden *L. monocytogenes* tanısını koymak amacıyla diğer testlerin uygulanmasına geçilmiştir (9, 10).

b. Food and Drug Administration of USA (FDA) Broth İle Zenginleştirme:

25 ml çiğ süt örneği 225 ml FDA zenginleştirme ortamına ilave edilmiş 37°C de 2-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda FDA zenginleştirme ortamında siklohegzimid içeren Modifiye McBride *Listeria* Agar plaklarına ekim yapılmıştır (11, 12, 13).

Anılan besiyeri üzerinde üreyen *Listeria* şüpheli koloniler kanlı agara alınarak β hemoliz özellikleri kontrol edilmiştir. Aynı kolonilerden katalaz testi, 22°C de hareket testi, nişasta hidrolizi, jelatin hidrolizi, nitrat redüksiyonu, üre, indol, metil red ve voges proskauer, TSI besiyerlerine ekim yapılarak çalışılmıştır. Ayrıca glikoz, mannitol, maltoz, laktoz, ksiloz, arabinoz, rafinoz, ramnoz ve sorbitol fermentasyon testleri yapılarak kesin *L. monocytogenes* tanısı konulmuştur.

Çiğ süttten izolasyonu gerçekleştirilen bu suş'ların adlandırılmasında Bergey's manual of Systematic Bacteriology esas alınmış kontrol amacıyla da RSKK 470

numaralı *L. monocytogenes* suş'undan yukarıda adı geçen besiyerlerine ekim yapılarak biokimyasal reaksiyonları kontrol edilmiştir (14).

Bulgular

Bu araştırmada çalışılan toplam 211 çiğ süt örneğinin 16'sında patojen mikroorganizma belirlenmiştir. Tablo 2'de görüldüğü gibi bu izolatların 14'ü (%6.63) *Y. enterocolitica* ve benzerleri, 2'side %0.94 *L. monocytogenes*'dir. 14 *Y. enterocolitica* ve benzerlerinin 12'si süt işletmelerinden alınan örneklerden, 2 izolat ise sokak sütü örneklerinden elde edilmiştir. 2 *L. monocytogenes* suş'unun biri sokak sütü örneğinde diğeri de süt işletmesi örneğinde bulunmuştur.

Tablo 2. Araştırmada 211 Çiğ Süt Örneğinden İzole Edilen Patojen Mikroorganizmaların Dağılımı

Patojen mikroorganizma	İzolasyon sayısı	Yüzdesi
<i>Y. enterocolitica</i> ve benzerleri	14	%6.63
<i>L. monocytogenes</i>	2	%0.94

<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> benzeri mikroorganizmalar			Toplam
	<i>Yersinia kristensenii</i>	<i>Yersinia frederiksenii</i>	<i>Yersinia intermedia</i>	
İzole edilen suş sayısı	8	3	2	14
%	3.79	1.42	0.94	0.47

Tablo 4. Patojen Mikroorganizmaların Çeşitli Bölgelere Ait Çiğ Süt Örneklerindeki Dağılımı

Bölgeler	Tarihler	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. enterocolitica</i> benzerleri			Toplam
				<i>Y. kristensenii</i>	<i>Y. frederiksenii</i>	<i>Y. intermedia</i>	
Ankara	17.6.1991					+	2
	16.7.1997					+	
Polatlı	22.4.1991	+					3
	22.1.1991					+	
	4.2.1991					+	
Sokak sütü	17.1.1992	+					3
	13.4.1992					+	
	13.4.1992					+	
Eskişehir	27.5.1992					+	1
	17.6.1891					+	
Burdur-Seyd.	14.1.1991					+	1
	29.1.1991					+	
Antalya	29.1.1991					+	3
	12.4.1991					+	
Denizli	18.1.1992					+	1
Konya	14.3.1992					+	2
	6.2.1991					+	

Tablo 3'den anlaşıldığı gibi 14 izolatın 8'i (%3.79) *Y. enterocolitica* olarak adlandırılmıştır. 6 (%2.83) *Y. enterocolitica* benzeri mikroorganizma izolatlarının 3'ü (%1.42) *Y. kristensenii*, 2'si (%0.94) *Y. frederiksenii*, 1'i de (%0.47) *Y. intermedia* olarak belirlenmiştir.

Tablo 4 sonuçlarına göre 8 *Y. enterocolitica* izolatının 4'ü Ankara bölgesi olan Polatlı ve sokak sütü örneklerinden gerçekleştirilmiştir. Diğer 4 izolasyon da Antalya, Denizli, Burdur ve Eskişehir bölge sütlerinden yapılmıştır. *Y. enterocolitica* benzeri suş'ların izolasyonunda toplam 6 suş'un 2'si Ankara, 2'si Antalya, diğer 2'si Konya bölgelerine ait sütlerden gerçekleştirilirken, sokak sütü örneklerinde *Y. enterocolitica* benzerleri belirlenmemiştir. 2 *L. monocytogenes* izolasyonu ise Polatlı ve Sokak sütü örneklerinden izole edilmiştir.

Çalışmanın yapıldığı 2 yıl süresince *Y. enterocolitica* ve benzerlerinin dağılımı, mevsimsel farklılıklar göstermektedir. Toplam 14 izolasyonun 6'sı (%42.85) kış, 5'i (%35.71) ilkbahar, 3'ü (%21.42) yaz ayları sütlerinde dağılım göstermiştir. *L. monocytogenes* izolasyonlarının 1'i kış'ın diğeri de ilkbaharda gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3. 211 Çiğ Süt Örneklerinden İzole Edilen *Yersinia enterocolitica* ve *Y. enterocolitica* Benzeri Mikroorganizmaların Dağılımı

Tartışma

Y. enterocolitica ve *L. monocytogenes*'in neden olduğu gıda kökenli enfeksiyonlar Amerika ve Avrupa'da güncel olan konulardır. Bu nedenle birçok araştırmacı çeşitli gıda maddelerinden bu iki mikroorganizmanın bir arada izolasyonunu içeren çalışmalar yapmışlardır.

Tablo 2'de görüldüğü gibi bu çalışmada incelenen örneklerin 14'ünde (%6.63) *Y. enterocolitica* ve benzeri mikroorganizma izole edilmiştir. Bu 14 izolatın 8'i (%3.79) *Y. enterocolitica*, 6'sında (%2.84) *Y. enterocolitica* benzerleridir. Aynı çiğ süt örneklerinde 2 (%0.94) *L. monocytogenes*, izolasyonunda gerçekleştirilmiştir.

Cotton ve White, Amerika'da Missisipi şehrinde inceledikleri 353 çiğ süt örneğinde *Y. enterocolitica*'yı %6.8, *L. monocytogenes*'i ise %6.5 olarak tespit etmişlerdir (13). Yürütülen bu çalışma sonuçlarında tespit edilen *Y. enterocolitica*'nın %6.63 izolasyon oranı ile bu araştırmacıların sonuçları yakındır. Bununla beraber bu araştırmadaki *L. monocytogenes* izolasyon sıklığı anılan araştırmadaki *L. monocytogenes* izolasyon sıklığından düşüktür.

Davidson ve ark. (15) Kanada'da 256 çiğ süt örneğinden *Y. enterocolitica*'yı 7 örnekte (%2.7), *L. monocytogenes*'i 4 örnekte (%1.6), izole etmişlerdir. Araştırmadaki *Y. enterocolitica*'nın izolasyon sıklığı bu çalışmadaki *Y. enterocolitica*'nın izolasyon sıklığından daha düşüktür, ancak *L. monocytogenes* izolasyonu bu çalışmadaki izolasyon oranımıza yakın değerdedir.

Pekçok araştırmacı gıdalardan özellikle süt örneklerinden *Yersinia* türlerinin izolasyonu için çoğaltma ortamı ve seçici besiyerini kullanmışlardır. Bu araştırmada da Greenwood ve Hooper'ın çalışması doğrultusunda Tris- Pepton-Water (TPW) çoğaltma ortamı ve seçici besiyeri

olarakta Schiemann'ın 1979 yılında geliştirdiği daha sonra pekçok araştırmacı tarafından halen kullanılan *Yersinia* Selektife Agar (YSA) kullanılmıştır (6, 7).

Stone ise Yeni Zelanda'da incelendiği 71 çiğ süt örneğinde *Y. enterocolitica*'yı 3 örnekte (% 4) tespit ederken araştırmacı aynı çiğ süt örneklerinden *L. monocytogenes*'i izole edememiştir (16). Anılan araştırma ile bizim sonuçlarımız karşılaştırıldığında *L. monocytogenes* izolasyonumuz %0.94 gibi düşük oranıyla bu çalışmaya yakın tespit edilmiştir.

Y. enterocolitica'nın +4°C'de üreyebilmesi de diğer bakterilerden ayırdedici önemli bir özelliğidir (8, 17). Araştırmamızda bakterinin bu özelliğinden yararlanılmıştır. Hughes, Avustralya'da yaptığı bir çalışmada 256 çiğ keçi sütü örneğinin 35'inden (%12.8) *Y. Yersinia enterocolitica*'yı izole etmişlerdir. Araştırmacı bütün çiğ süt örneklerini +4°C de ve daha düşük sıcaklıkta saklamıştır. Bakteriyi bu sıcaklıkta çoğalttıktan sonra selektif besiyerlerinden izolasyonları gerçekleştirmiştir (18).

Tablo 5'de 211 çiğ süt örneğinden izole edilen *Y. enterocolitica* ve benzerlerinin mevsimlere göre dağılımı verilmiştir. Tablodan da anlaşıldığı gibi izolasyonlar daha çok kış ve ilkbahar aylarında gerçekleştirilmiştir. Kış mevsiminde 6 izolat, ilkbaharda ise 5 izolat tespit edilmiştir. Davidson ve ark. (15) çiğ süt örneklerinden izole ettikleri 7 *Y. enterocolitica*'nın 5'ni soğuk aylarda bulmuşlardır. Araştırmacıların bu sonuçları bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. Bakterinin özelliğinden kaynaklanan literatür bilgilerimizde bu doğrultuda olup sonuçlarımızla paralellik göstermektedir.

Moustafa ve Marth Amerika'da yaptıkları çalışmada 100 çiğ süt örneğinin 12'sinden (%12) *Y. enterocolitica* izole etmişlerdir. Çalışmada YSA ve MCA Besiyerlerini

Tablo 5. İki Yıl Süreyle Çalışılan 211 Çiğ Süt Örneğinden İzole Edilen *L. monocytogenes* *Y. enterocolitica* ve Benzeri mikroorganizmaların Mevsimlere Göre Dağılımı

Süt örneklerinin alındığı		İzole edilen mikroorganizmalar					Toplam
Mevsimler	Aylar	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. kristensenii</i>	<i>Y. frederiksenii</i>	<i>Y. intermedia</i>	<i>L. monocytogenes</i>	
KIŞ	Aralık						
	Ocak	3	1			1	
	Şubat	1			1		
ILKBAHAR	Mart			1			
	Nisan	2	1		1	1	
	Mayıs	1					
YAZ	Haziran	1	1				
	Temmuz		1				
	Ağustos						

kullanmışlardır (19). Moustafa yine Mısır'da yaptığı bir başka çalışmada 100 çiğ süt örneğinin 10'undan (%10) *Y. enterocolitica*'yı izole etmiştir (5).

Tablo 3'te görüldüğü gibi bir araştırmada *Y. enterocolitica*'nın yanında benzerleri olarak *Y. kristensenii*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, türleri izole edilmiştir. Greenwood ve Hooper'ın İngiltere'de yaptıkları bir çalışmada da yukarıda adı geçen bu bakteriler izole edilmiştir. Araştırmacılar TPW ve YSA besiyerlerini kullanarak toplam 17 *Yersinia* suşunun izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Bu türler içinde *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia* ve *Y. frederiksenii* vardır (7).

Franzin, İtalya'da inceledikleri 30 çiğ süt örneğinin 11'den *Y. enterocolitica* ve benzerlerini tespit etmiştir. İzolasyon sayısı pozitif olan 11 çiğ süt örneğinin bazılarında hem *Y. enterocolitica* hem de *Y. enterocolitica* benzerlerini beraberce izole etmiştir (20).

Walker ve Gilmour isimli araştırmacılar Kuzey İrlanda'da yaptıkları araştırmada 150 çiğ tank sütü örneğinin 34'ünde (%22.7) çiftlik sütü örneğinde 5'inde (%25) *Y. enterocolitica* ve benzerleri tespit edilmiştir. Bu izolatları da *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia* ve *Y. frederiksenii* olarak tanımlamışlardır (21).

L. monocytogenes uzun yıllardan beri epidemilere neden olan bir bakteridir. Dünyanın her tarafında süt ve ürünleri ile insanlara bulaşmaktadır. Ülkelerin iklim ve hijyen koşullarına bağlı olarak sütle bulaşan *Listeria* enfeksiyonlarının oranı da değişmektedir. Bunu belirlemek amacıyla süttten izolasyon çalışmalarına ağırlık verilmiştir.

Bu araştırmada 211 çiğ süt örneğinde *L. monocytogenes* izolasyonu 2 örnekte (%0.94) bulunmuştur. Bu izolasyon oranı Fedio ve Jackson'un, Alberta'da 426 çiğ süt örneğindeki %1.9'luk *L. monocytogenes* izolasyon oranına yakın bulunmuştur (22). Bazı araştırmacılar ise *L. monocytogenes*'i hiç izole edememişlerdir. Örneğin Massa ve ark. (23). İtalya'da 40 çiğ süt örneğinde *L. monocytogenes*'in varlığını tespit edememişlerdir.

Lovett ve ark. (24) çiğ sütlere *L. monocytogenes*'in varlığı ve bulunma sıklığı ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Massachusetts çiğ sütlere %7, diğer birkaç farklı bölgenin çiğ sütlere %4.2 oranında bulunurken California çiğ sütlere ise *L. monocytogenes*'i hiç izole edememişlerdir. Lovett ve ark. *L. monocytogenes* izolasyonunun yörelere göre farklılıklar gösterdiğini vurgulamışlardır. Bu araştırmada ise 2 *L. monocytogenes* izolatının ikisi'de Ankara yöresi süt örneklerinde belirlenmiş, ancak izolasyonun birisi sokak sütü örneğinden saptanmıştır.

Bu çalışmada izolasyonu gerçekleştirilen 2 *L. monocytogenes* suşunun 1'si Ocak diğeride Nisan ayına ait süt örneklerinde bulunmuştur (Tablo 5). Fenlon ve Wilson İskoçya'da depolama tanklarındaki çiğ süt örneklerinden *L. monocytogenes*'i yaz aylarında %3.8 oranında, sonbaharda %1 oranında izole etmişlerdir (25). Araştırmacıların *Listeria* izolasyonları ülkesi iklim koşulları nedeniyle en fazla yaz aylarında belirlenmiştir.

Ceylan tarafından Ankara'da yapılan bir araştırmada incelenen 126 çiğ süt örneğinin 2'den %1.6 oranında *L. monocytogenes* izole edilmiştir. Araştırmacı izolasyonunu gerçekleştirdiği bu 2 suş'u sokak sütü örneklerinde bulmuştur (26). Yapılan bu çalışmada ise *L. monocytogenes* izolasyonlarının 1'i sokak sütü, diğeride işletmelere gelen süt örneklerinde tespit edilmiştir.

Yine Ankara'da Sharif ve Tunail'in yaptığı bir araştırmada 79 çiğ süt örneğinde 14 (%18.2) *L. monocytogenes* suşu bulunmuşlardır (27).

Bu çalışmada *L. monocytogenes*'in süt örneklerinden izolasyon şansını artırmak amacıyla 2 ayrı yöntem aynı anda çalışılmıştır. Bu yöntemlerden birisi FDA (Food and Drug Administration of USA)'dır. Yöntem süt örneğinden *L. monocytogenes*'in kısa sürede izolasyonunu amaçlamaktadır. Farber ve ark., Lovett ve ark. da çiğ süttten *L. monocytogenes*'in izolasyonu sırasında bu yöntemi kullanmışlardır (11, 24). Araştırmada uygulanan diğer yöntemde soğukta zenginleştirmedir. Süt örnekleri çoğaltma besiyerine inoküle edildikten sonra 1-2 ay (+4°C) soğukta zenginleştirmeye bırakılmıştır. Süt örneğini soğukta uzun süre zenginleştirmeye bırakmak psikrofil özellikte olan bu bakterinin üremesine yardımcı olmaktadır. Bu izolasyon yönteminde Hayes, Liewen gibi birçok araştırmacı tarafından kullanılıp başarılı olduğu gösterilmiştir (28, 12). İzolasyonunu gerçekleştirdiğimiz 2 *L. monocytogenes* suş'u yukarıda adı geçen araştırmacıların paralelinde soğukta zenginleştirmeden sonra bulunmuştur.

Tüketilen temel gıda maddeleri arasında yer alan süt, hammadde olarak kullanılmasıyla üretilen ve taze olarak tüketilen (taze kaşar, dil ve hatta taze beyaz peynir) bazı süt ürünlerinde patojen mikroorganizmalar varlığını koruyabilecektir. Çünkü anılan bu ürünlerin üretim teknolojileri sırasında uygulanan sıcaklık 60-70°C'e arasındadır. Hatta çoğu kez ısı uygulanmaksızın yani çiğ süttten üretimleri de yapılmaktadır. İzolasyonunu gerçekleştirilen bu çalışmada 211 çiğ süt örneğinde 16 patojen mikroorganizmanın varlığı düşünüldüğünde çiğ sütlere kaynaklanabilecek enfeksiyonların halk sağlığı açısından önemi ortaya çıkmaktadır.

Kaynaklar

1. Bercovier, H., Brenner D.J., Steigerwalt A.G., Fanning, G.R., Carter, G.P., Mollaret, H.H., *Y. kristensenii*: A New Species of Enterobacteriaceae Composed of Sucrose-negative Strains (formerly called atypical *Y. enterocolitica* or *Y. enterocolitica*-like) *Curr. Microbiol.*, 4, 219-224, 1980.
2. Brenner, D.J. Bercovier, H., Ursing, J., Alonso, J.M., Steigerwalt, A.G., Fanning, G.R., Carter, G.P., Mollaret, H.H., *Yersinia intermedia* A New Species of Enterobacteriaceae Composed of Rhamnose-positive, Melibiose-positive, Raffinose positive strains (formerly called atypical *Yersinia enterocolitica* or *Yersinia enterocolitica*-like) *Curr. Microbiol.*, 4, 207-212, 1980.
3. Ursing J., Grenner, D.J., Bercovier, H., Fanning, G.R., Steigerwalt, A.G., Brault, J., Mollaret, H.H., *Y. frederiksenii*: A New and species of Enterobacteriaceae Composed of Rhamnose-positive Strains (formerly called atypical *Yersinia enterocolitica* or *Yersinia enterocolitica*-like), *Curr. Microbiol.*, 4, 213-218, 1980.
4. Türk Standartları Enstitüsü, Çiğ Süt TS 1018, 1981.
5. Moustafa, M.K., Isolation of *Y. enterocolitica* from Raw Milk and Soft Cheese in Assiut City, *Assiut Vet. Med. J.*, 23, 45, 106-109, 1990.
6. Schiemann, D.A., Synthesis of a Selective Agar Medium for *Y. enterocolitica*, *Can. J. Microbiol.*, 25, 1298-1304, 1979.
7. Greenwood, M.H., Hooper, W.L., Improved Methods for the Isolation of *Yersinia* species from Milk and Foods, *Food Microbiology*, 6, 99-104, 1989.
8. Bercovier, H., Mollaret, H.H., Genus XIV. *Yersinia*, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Ed. Krieh, R. N., 9 th ed, The Williams and Wilkins, Baltimore, 498-506, 1984.
9. Ghazali, M.R. Al. Isolation Procedure of *Listeria* species, *Infeksiyon Dergisi*, 2, 4, 541-551, 1988.
10. Seeliger, H.P.R., Langer, B., Methods of Detection, Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* and Related Species from Clinical samples, Food and Environmental Sources, *Infeksiyon Dergisi*, 2, 4, 607-616, 1988.
11. Farber, J.M., Sanders, W.G., Malcolm, S.A. The presence of *Listeria* spp. In Raw Milk in Ontario, *Can. J. Microbiol.*, 34, 95-100, 1988.
12. Liewen, M.B., Plautz, M.W., Occurrence of *L. monocytogenes* in Raw Milk in Nebraska *Journal of Food Protection*, 51, 11, 840-841, 1988.
13. Cotton, L.N., White, C.H., *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* and *Salmonella* in Dairy Plant Environments, *Journal of Dairy Science*, 75 (1), 51-57, 1992.
14. Seeliger, H.P.R., Jones, D., Genus *Listeria*, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Ed. Krieh, R.N., 9 th ed, The Williams and Wilkins, Baltimore, 498-506, 1984.
15. Davidson, R.J., Sprung, D.W., Park, C.E. et al., Occurrence of *L. monocytogenes*, *Campylobacter* spp and *Y. enterocolitica* in Manitoba Raw Milk *Can. Inst. Food. Sci. Technol. J.*, 22 (1), 70-74, 1989.
16. Stone, D.L., A Survey of Raw Whole Milk for *Campylobacter jejuni*, *L. monocytogenes* and *Y. enterocolitica* *New Zealand Dairy Research Institute*, 22, 257-264, 1987.
17. Tümbay, E., *Y. enterocolitica* Simpozyumu, XX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. İzmir, Ağustos, 1980.
18. Hughes, D., Jensen, N.Y. *Y. enterocolitica* in Raw Goat's Milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41(1), 309-310, 1981.
19. Moustafa, M.K., Ahmet, A.A.H., Marth, E.H., Occurrence of *Y. enterocolitica* in Raw and Pasteurized Milk, *Journal of Food Protection*, 46, 4, 276-278, 1983.
20. Franzin, L., Fantino, P., et al., Isolation of *Yersinia enterocolitica* *Y. enterocolitica*-like Organism from Raw Milk in Italy, *Current Microbiology*, 10, 357-360, 1984.
21. Walker, S.J., Gilmour A., The incidence of *Y. enterocolitica* and *Y. enterocolitica*-like organisms in Raw and Pasteurized Milk in Northern Ireland *Journal of Applied Bacteriology*, 61, 133-138, 1986.
22. Fedio, W.M., Jakson, H., Incidence of *L. monocytogenes* in Raw Bulk Milk in Alberta *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 23, (4/5), 236-238, 1990.
23. Massa, S., Daniela, C., Poda, G., Travatelli, L.D., The incidence of *Listeria* spp. in Soft Cheeses Butter and Raw Milk in the Province of Bologna, *Journal of Applied Bacteriology*, 68, 153-155, 1990.
24. Lovett, J., Francis, D.W., Hunt, J.M., *L. monocytogenes* in Raw Milk: Detection, Incidence, and Pathogenicity. *Journal of Food Protection*, 50, 3, 188-192, 1987.
25. Fenlon, D.R., Wilson, J., The incidence of *L. monocytogenes* in Raw Milk from Bulk Tanks in North-East Scotland *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 191-196, 1989.
26. Ceylan, I., Ankara Merkez ve Çevre Semtlerden Sağlanan Çiğ Sütlerde *L. monocytogenes* Araştırması, (Uzmanlık Tezi), Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzısıhha Müdürlüğü Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara, 30 s. 1990.
27. Sharif, A., Tunail, N., Çeşitli Yörelere Ait Çiğ Sütler ile Ankara Piyasasında Satılan *L. monocytogenes* Kontaminasyonunun Araştırılması, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 25, 15-20, 1991.
28. Hayes, P.S., Feeley, J.C., Graves, L.M et al., "Isolation of *L. monocytogenes* from Raw Milk", *Appl. and Environ. Microbiol.*, 1986; 1, 2, 438-440.