

Şavak Salamura Beyaz Peynirin Olgunlaşması Sırasında *Listeria monocytogenes*'in Yaşam Süreleri Üzerine Araştırmalar*

Bahri PATIR

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Elazığ- TÜRKİYE

Aba Müslüm GÜVEN

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kars - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 15.09.1997

Özet: Bu çalışma; Elazığ, Tunceli, Bingöl ve Erzincan yöresinde üretilen ve halkın beslenmesinde önemli bir yeri bulunan şavak salamura beyaz peynirinin olgunlaşması sırasında *Listeria monocytogenes*'in canlı kalma sürelerini saptamak amacıyla yapılmıştır. Bu nedenle, çiğ koyun sütlerine 1.00×10^3 hücre/ml. ile 1.35×10^6 hücre/ml. arasında *Listeria monocytogenes*'in farklı 3 serotipi (*L.monocytogenes* 4b, *L.monocytogenes* 1/2c, *L.monocytogenes* 1/2a) inoküle edilerek şavak tipi peynir üretilmiştir. Üretilen peynir örneklerinin 0, 15, 30, 60, 90 ve 120. olgunlaşma günlerinde içerdikleri *L.monocytogenes* sayıları, hem direkt sayım metodu hem de zenginleştirme yöntemleri (30°C 'de 48 saat ve 7 gün) ile saptanmıştır.

DeneySEL peynir örneklerinin telemelerinde 3.70×10^5 - 6.88×10^5 colony forming unit/g. (cfu/g.) miktarları arasında olan *L.monocytogenes* sayısı, her 3 serotipte birbirlerinden az çok farklı bir şekilde seyrederek olgunlaşmanın 120. gününde 0.50×10 - 7.08×10 cfu/g. düzeyine düşmüştür. Zenginleştirme yöntemleri sonucunda elde edilen *L.monocytogenes* sayılarının ise olgunlaşma boyunca birbirlerinden oldukça farklı şekilde seyrettikleri gözlemlenmiştir.

DeneySEL örneklerdeki pH değerleri, tüm serilerde olgunlaşmanın 60. gününe kadar azalmış, sonraki günlerde ise (90 ve 120. gün) yükselmiştir.

Sonuç olarak, şavak tipi peynirlerin üretiminde kullanılan çiğ koyun sütleri en az 10^3 hücre/ml. miktarında *L.monocytogenes* suşlarını içermesi halinde, ürünün yapım ve olgunlaşması sırasında, adı geçen mikroorganizmanın direkt sayım metodu ile izole edilebileceğini ve 30°C 'de 48 saat zenginleştirme işleminin 30°C 'de 7 günlük zenginleştirme yöntemine göre izolasyon yüzdesini daha fazla arttırdığını ortaya koymaktadır. Ayrıca, şavak peynirinde *L.monocytogenes* suşlarının olgunlaşma süresinin sonuna kadar canlı kaldıkları belirlendiğinden halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike arzedecekleri kanısına varılmıştır.

Anahtar Sözcükler : *Listeria monocytogenes*, beyaz peynir, canlı kalma, inokülasyon.

Investigation on the Viability Span of *Listeria monocytogenes* During the Ripening of Brined Şavak Cheese

Abstract : The purpose of this study was to determine the viability span of *listeria monocytogenes* during the ripening of brined şavak white cheese which is produced by and has a significant role in the nutrition of people living in Elazığ, Tunceli, Bingöl and Erzincan. Ewes milk was inoculated with various strains (4b, 1/2c and 1/2a) of *listeria monocytogenes* at the rate of 1.00×10^3 - 1.35×10^6 cells/ml and then şavak cheese was produced from the milk. The cheese samples were analysed after 0, 15, 30, 60, 90 and 120 days of ripening for the numbers of *listeria monocytogenes* with the direct plating method and enrichment methods (at 30°C for 48 hours or 7 days).

The numbers of *listeria monocytogenes* were 3.70×10^5 - 6.88×10^5 cfu/g in the curd, which fell to 0.50×10 - 7.08×10 cfu/g in the cheese after 120 days of ripening and the trends were almost identical. The numbers of *listeria monocytogenes* determined with the enrichment methods, followed different paths during the ripening.

The pH of the cheese until day 60, in all series of the samples. Later in the experiment (days 90 and 120) the values increased.

It was concluded that it might be possible to isolate *listeria monocytogenes* from şavak cheese made from raw ewes milk containing a minimum of 1.00×10^3 cells/ml; using direct isolation rate in enrichment at 30°C for 48 hours is higher than in enrichment at 30°C for 7 days. In addition, it was evident that *listeria monocytogenes* survive until the end of the ripening process and pose a danger to public health.

Key Words : *Listeria monocytogenes*, white cheese, viability span, Inoculation

* Bu çalışmayı TÜBİTAK (Ankara) desteklemiştir (VHAG-1024)

Giriş

Son yıllarda insanlarda gıda orijinli listeriosis olaylarının arttığı ve bazı yörelerde salgınlar yaptığı bildirilmektedir. Doğada yaygın olarak bulunan *Listeria monocytogenes* ile kontamine besinlerin tüketilmesi sonucu; insanlarda meningitis, meningo-ensefalitis, abortus ve genital organ enfeksiyonlarının meydana geldiği, hastalığın oluşmasında, özellikle süt ve ürünlerinin önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (1- 3).

L.monocytogenes Gram-pozitif, aerobik ve fakültatif anaerobik olup, spor formunu oluşturmayan, uçları yuvarlak, kısa çomak şeklinde bir bakteridir. Psikrotrofik özellikte olan bu mikroorganizma, 20-25°C'de hareketli, 37°C'de ise yavaş hareketli veya hareketsizdir. Tryptic Soya Agar (TSA)'da üreyen koloniler 45°'lik açı ile aydınlatıldığında mavi ile gri-mavi arası renkte görülürler. *Listeria Selective Agar* (LSA)'da 30°C'de 24 saatlik inkübasyon sonunda eskülin hidrolizinden dolayı etrafları siyah hale ile çevrilmiş grimtrak-mavi koloniler oluştururlar. Katalaz test pozitif, oksidaz test ise negatiftir(4,5).

Gıda maddeleri üzerinde yapılan bir çok çalışmada, *Listeria monocytogenes*'in çok geniş bir yayılım gösterdiği ortaya konmuştur. Çeşitli yollarla sütlere bulaşan *L.monocytogenes*'in bir çok vejetatif bakteriden farklı olarak ısıya karşı dirençliliğinin daha fazla olması (6,7), soğuk ortamda üreyebilmesi (8,9) ve çevre koşullarında yaşayabilmesi (10), ayrıca tuza karşı dayanıklı oluşu (11,12) nedeniyle, hem insan sağlığı yönünden hem de süt endüstrisinde zaman zaman önemli problemlere yol açabilmektedir.

1983-1987 yılları arasında İsviçre'de 122 kişi, 1985 yılında ise California'da 142 kişinin yedikleri peynirden listeriosis'e yakalanmaları ve bunlardan 85'inin ölümle sonuçlanması (4) neticesinde, bu ürünler üzerinde yoğun çalışmalar başlamıştır. Bu nedenle, son yıllarda çeşitli ülkelerde yapılan araştırmalarda, *L.monocytogenes*'in farklı tür peynirlerdeki rastlanma sıklığı (13-20) ile yaşam süreleri (21-31) ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir.

Sonuçta, gerek *Listeria monocytogenes* ilave edilmiş ve gerekse *Listeria*'lı sütlere yapılan peynirlerde, *L.monocytogenes*'in yaşam süresinin; başlıca peynirin üretim şekline, olgunlaşma ve depolama süresine bağlı olduğu bildirilmektedir. Ayrıca peynirin kompozisyonu,

olgunlaşma ve depolama ısısı, laktik starterler, patojen mikroorganizmaların türü, peynirin pH'sı, sütteki *Listeria*'nın sayısı ve bilinmeyen birçok faktörün yaşam süresinde etkili olduğu belirtilmektedir (13,21-23,32).

Şavak peyniri, Elazığ, Tunceli, Bingöl ve Erzincan yöresi'ne özgü olan mahalli bir peynir çeşidimizdir. Bu tip peynire işlenecek sütlere etkin bir ısı işleminin uygulanmaması ile birlikte yöre halkının sosyo-ekonomik yapısı ve eğitim düzeyinde gözönüne alındığında, peynir üretiminin oldukça bilinçsiz bir şekilde, hijyenik kurallara pek riayet edilmeden yapıldığı bilinmektedir. Özellikle göçer durumunda hayvancılıkla geçimini sağlayan aşiretlerin atadan kalma yöntemlerle peynir üretmeleri, Listeriosis'in yörede görülme riskini artırmaktadır.

Elazığ Ticaret Borsası'na gelen ve ticari işlem gören taze beyaz peynirlerin miktarları son yıllarda artarak 450-500 ton/yıl'a ulaşmıştır. Ayrıca, diğer bölgelerle birlikte bu miktarın 7500-8000 ton/yıl olduğu tahmin edilmektedir (33,34).

Elazığ'da bu yönde yapılan çalışmalarda, çiğ koyun sütünden üretilen şavak salamura beyaz peynirinin mikrobiyolojik yönden kalitesinin düşük olduğu (35,36), ayrıca incelenen 63 taze peynirin % 6.3'ünde (37), diğer bir çalışmada ise 35 beyaz peynir örneğinin % 11.4'ünde (38) *Listeria* türlerinin saptandığı belirtilmektedir. *Listeria* mikroorganizmalarının bu peynir çeşidimizde oldukça yüksek oranlarda bulunduğu gözönüne alınacak olursa, bölgede *L.monocytogenes* ile ilgili sağlık sorunlarının zaman zaman görülebileceği (39) kaçınılmazdır. Bu nedenle, Doğu Anadolu Bölgesi'nde üretilen ve yöre halkının önemli kesiminin beslenmesinde etkin bir yeri bulunan şavak salamura beyaz peynirinde *Listeria monocytogenes*'in canlı kalma sürelerini saptayarak, tüketici sağlığını korumaya yönelik temel önlemlerin alınmasına yardımcı olacak bilgileri elde etmek amacıyla bu araştırma yapıldı.

Materyal ve Metot

Süt Örnekleri: Deneysel peynir örneklerinin yapımında, Elazığ'a 17 km. uzaklıkta bulunan Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Araştırma ve Deneme Çiftliği'nden temin edilen, deterjan ve antibiyotik kalıntıları içermeyen çiğ koyun sütleri kullanılmıştır. Sabah sağımından elde edilen sütler güğümlerle en fazla

30 dakika içinde laboratuvara getirilmiş ve bu sütlerden, aseptik koşullarda burgulu kapaklı steril cam kavanozlara 150-200 ml. kadar alınarak, *Listeria monocytogenes*'in varlığı ile kimyasal analizler yönünden incelenmiştir. Örneklerin analizi yapıncaya kadar $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

Deneysel Peynir Örnekleri: Deneysel olarak üretilen peynir örnekleri, F.Ü. Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarları'nda yapılmıştır. Peynir örneklerinin üretiminde, her defasında aynı sürünün sütü kullanılmıştır. Örneklerin üretiminde kullanılan çiğ koyun sütlerinin her ml. sine 1.000 hücre/ml. ile 1.350.000 hücre/ml. arasında *L.monocytogenes* suşu inoküle edilmiştir (Tablo 1). İnoküle edilen süt örnekleri 30 dakika bekletilmiş ve sonra maya ilave edilerek şavak tipi peynir yapılmıştır.

Peynir örneklerinin üretiminde *Listeria monocytogenes*'in 3 ayrı suşu (*Listeria monocytogenes* 4b, *Listeria monocytogenes* 1/2 c ve *Listeria monocytogenes* 1/2 a) kullanılmış ve her suş için 5 kez (örnek no: 1,2,3,4,5) peynir yapımı tekrarlanmıştır.

Oluşan teleme usulüne uygun olarak tuzlanmıştır. Cam kavanozlara hazırlanan örnekler 4°C 'de olgunlaşmaya alınarak, olgunlaşmanın 0, 15, 30, 60, 90 ve 120. günlerinde mikrobiyolojik ve kimyasal denemeler uygulanmıştır.

Mikrobiyolojik Analizler

Süt ve Peynir Örneklerinde *L.monocytogenes*'in Sayımı ve İzolasyonu

Çiğ koyun sütlerinden ve deneysel peynir örneklerinden *Listeria monocytogenes*'in sayımı ve izolasyonu için aşağıda belirtilen tekniklere başvurulmuştur.

Süt örneklerine yalnızca iki ayrı *zenginleştirme* yöntemi (30°C 'de 48 saat ve 30°C 'de 1 hafta), peynir örneklerine ise hem *direkt* hem de *zenginleştirme* yöntemleri uygulanmıştır. Bu amaçla, aseptik şartlarda 150 - 200 g. kadar peynir örneği steril bir beher içerisine alınmış ve steril bir spatül ile parçalanmak suretiyle homojen hale getirilmiştir.

L.monocytogenes'in direkt izolasyonunu yapmak için, bu karışımdan 10 g. bir parçalayıcının (Bühler 51800/00) özel kabına tartılmıştır. Örneğin üzerine % 0.5'lik KOH solüsyonundan 90 ml. ilave edilerek homojenizatörde parçalanmış, böylece örneğin 1/10'luk (10^{-1}) seyreltisi hazırlanmıştır. Aynı solüsyonu kullanmak suretiyle örneğin 10^{-6} 'ya kadar diğer seyreltileri yapılarak *Listeria Selective Agar* (LSA) besiyerine yayma yöntemi ile ekimleri yapılmıştır. Plaklar 30°C 'de 24 saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler *Listeria* yönünden değerlendirilmiştir.

Örneklerden *L.monocytogenes*'in *zenginleştirme yöntemleri* ile izolasyonu için de, 25 g. peynir veya 25 ml. süt örneği, 225 ml. Tryptic Soya Broth (TSB) (ana zenginleştirme besiyeri, enrichment broth) içerisinde homojenize edilmiş ve 30°C 'de 24 saat inkübasyona alınmıştır. Bu sürenin sonunda ana zenginleştirme besiyerinden alınan 0.1 ml. homojenizat tüpte hazırlanmış olan 10 ml. TSB besiyerine aktarılmıştır (alt zenginleştirme). Alt zenginleştirme besiyeri de 30°C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra % 0.5'lik KOH solüsyonu kullanılarak örneklerin 10^{-6} 'ya kadar seyreltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan seri dilüsyonlardan 0.1 ml. alınarak yine LSA besiyerine yayma metodu ile ekimleri yapılmıştır. Plaklar 30°C 'de 24 saat inkübe edildikten sonra; 1 mm. çapında, hafif kabarık, pürüzsüz, merkezleri parlak gri - siyah renkte, etraflarında siyah hale görülen koloniler, *Listeria* şüpheli koloniler olarak değerlendirilmiş ve izolasyonları yapılmıştır.

İzolasyonda, her petriden şüpheli 5 koloni alınarak Tryptic Soya Broth (TSB)'a geçilmiş ve 30°C 'de 24 saat inkübasyona alınmıştır. İnkübasyondan sonra Tryptic Soya Agar (TSA) ve TSB besiyerlerine transfer edilerek üreme gösteren kültürlerle temel izolasyon testleri uygulanmıştır. Bu işlem, 1 haftalık zenginleştirme işlemine alınan örneklere de aynen tatbik edilmiştir (17, 21, 22, 40-43).

Temel izolasyon testlerinden Gram boyama ve hareket muayenesi (5,44), Henry illuminasyon tekniği (40,45), katalaz testi (40,44), semisolid indol motility medium (SİM)'da üreme (40) ile oksidaz test (44) yapılmıştır. Süt örneklerindeki antibiyotik kalıntıları yoğurt kültürü kullanılarak (46-48), peynir örneklerinin pH'sı ise APHA'nın (46) belirttiği şekilde saptanmıştır.

Bulgular

Deneyel şavak salamura beyaz peynirinin üretiminde kullanılan çiğ koyun sütü örneklerinin hiç bir serisinde *Listeria monocytogenes*'e rastlanmamıştır.

Listeria monocytogenes'in İnoküle Süt ve Telemdeki Sayıları

Deneyel şavak salamura beyaz peyniri örneklerinin yapımında kullanılan çiğ koyun sütüne inoküle edilen *L.monocytogenes* suşları (L.m.4b, 1/2c ve 1/2a) ile inokülasyon düzeyleri Tablo.1'de gösterilmiştir. Tablo.1'den anlaşılacağı üzere, mikroorganizmanın inokülasyon miktarının; *L.monocytogenes* 4b de 1.30×10^3 - 1.28×10^6 hücre/ml., *L.monocytogenes* 1/2c de 1.00×10^3 - 1.13×10^6 hücre/ml. ve *L.monocytogenes* 1/2a suşunda ise 1.20×10^3 - 1.35×10^6 hücre/ml. arasında olduğu görülmektedir. İnoküle edilen suş miktarlarının geometrik ortalamaları da; *L.monocytogenes* 4b de 6.16×10^4 hücre/ml., *L.monocytogenes* 1/2c de 5.41×10^4 hücre/ml. ve *L.monocytogenes* 1/2a da 6.39×10^4 hücre/ml. değerlerinde bulunmuştur.

Aynı tabloda peynir örneklerinin telemesinde saptanan *L.monocytogenes* sayıları da gösterilmiştir. Tablodan izleneceği gibi, L.m. 4b ile inoküle edilmiş sütlerden yapılan örneklerin telemesinde (0. gün) en az 7.50×10^4 cfu/g. , en çok 9.60×10^6 cfu/g. , ortalama 5.38×10^5 cfu/g.; Lm. 1/2c içeren örneklerde en az 8.80×10^3 cfu/g., en çok 1.32×10^7 cfu/g., ortalama 3.70×10^5 cfu/g.; diğer suş olan L.m. 1/2a'nın telemesinde ise en az 1.00×10^5 cfu/g., en çok 1.34×10^7 cfu/g., ortalama 6.88×10^5 cfu/g. miktarında mikroorganizma saptanmıştır. Verilerden anlaşılacağı üzere, telemede en az mikroorganizma sayısı

L.monocytogenes 1/2c'yi içeren örneklerde, en fazla da *L.monocytogenes* 1/2a örneklerinde gözlemlenmiştir.

Peynir Örneklerinin olgunlaşması sırasında *Listeria monocytogenes*'in Sayısında Meydana Gelen Değişimler

Direkt Sayım Metodunda Elde Edilen Bulgular

Deneyel şavak beyaz peynirinin olgunlaşması sırasında örneklerde saptanan *L.monocytogenes* sayısında meydana gelen değişimler ile pH değerleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2 incelendiğinde, *L.monocytogenes* 4b ile inoküle edilmiş sütlerden elde edilen telemede mikroorganizmanın ortalama olarak \log_{10} sayısının 5.73 cfu/g. olduğu ve olgunlaşmanın 15, 30, 60, 90 ve 120. günlerinde sırasıyla 4.90, 5.10, 2.26, 2.44 ve 1.85 cfu/g. düzeyinde bulunduğu gözlemlenmiştir. Görüldüğü gibi bu seri peynir örneklerinde mikroorganizma sayısı düzensiz bir değişim göstermiştir. Şöyleki, 15. günde 4.9 cfu/g. düzeyinde olan mikroorganizma sayısı 30. günde 5.10 cfu/g.'a yükselmiş ve 60. günde 2.26 cfu/g. düzeyine düşmüştür. Sonra tekrar artan mikroorganizma sayısı 90. günde 2.44 cfu/g. olmuş ve 120. günde de 1.85 cfu/g. düzeyine inmiştir. Aynı örneklerin telemelerinde saptanan ortalama pH değerinin ise 5.70 olduğu ve olgunlaşmanın 60. gününe kadar azaldığı, ileri olgunlaşma günlerinde ise artarak 120. günde 5.59 değerine ulaştığı tesbit edilmiştir.

Olgunlaşma süresince peynir örneklerindeki *L.monocytogenes* 4b'nin ortalama sayıları (\log_{10} cfu/g.)

Tablo 1. Deneyel Peynir Örneklerinin Yapımında Kullanılan Çiğ Koyun Sütlerine İnoküle Edilen *Listeria monocytogenes* Suşları ile Bunların Süt ve Telemdeki Sayıları(CFU/ml.-g.).

Örnek No	Suşun Adı					
	4b		1/2c		1/2a	
	inoküle edilen hücre say./ml.	Teleme CFU/g.	inoküle edilen hücre say./ml.	Teleme CFU/g.	inoküle edilen hücre say./ml.	Teleme CFU/g.
1	1.30×10^3	7.50×10^4	1.00×10^3	8.80×10^3	1.20×10^3	1.00×10^5
2	1.40×10^4	2.20×10^5	1.10×10^4	1.96×10^5	1.20×10^4	1.15×10^5
3	7.50×10^4	3.30×10^5	9.60×10^4	4.60×10^5	9.80×10^4	2.38×10^6
4	5.07×10^5	8.60×10^5	3.90×10^5	6.60×10^5	5.61×10^5	4.20×10^5
5	1.28×10^6	9.60×10^6	1.13×10^6	1.32×10^7	1.35×10^6	1.34×10^7
G.O.	6.16×10^4	5.38×10^5	5.41×10^4	3.70×10^5	6.39×10^4	6.88×10^5
S.	1.204	0.796	1.227	1.140	1.244	0.909

G.O : Geometrik ortalama

S : Standart sapma.

Tablo 2. Şavak Salamura Beyaz Peyniri Örneklerinin Olgunlaşmaları sırasında *Listeria monocytogenes*'in Sayısında Meydana Gelen Değişimler ile pH Değerleri.

Örneğin Olgunluğu(gün)	L.m. 4b (Log ₁₀ Cfū/g.)	pH	L. m. 1/2c (Log ₁₀ Cfū/g.)	pH	L. m. 1/2a (Log ₁₀ Cfū/g.)	pH
0	5.73	5.70	5.57	5.84	5.84	5.67
15	4.90	5.47	3.76	5.59	4.46	5.46
30	5.10	5.40	3.67	5.49	4.36	5.40
60	2.26	5.35	2.38	5.45	3.09	5.35
90	2.44	5.44	2.33	5.56	2.79	5.48
120	1.85	5.59	0.70	5.66	1.68	5.53

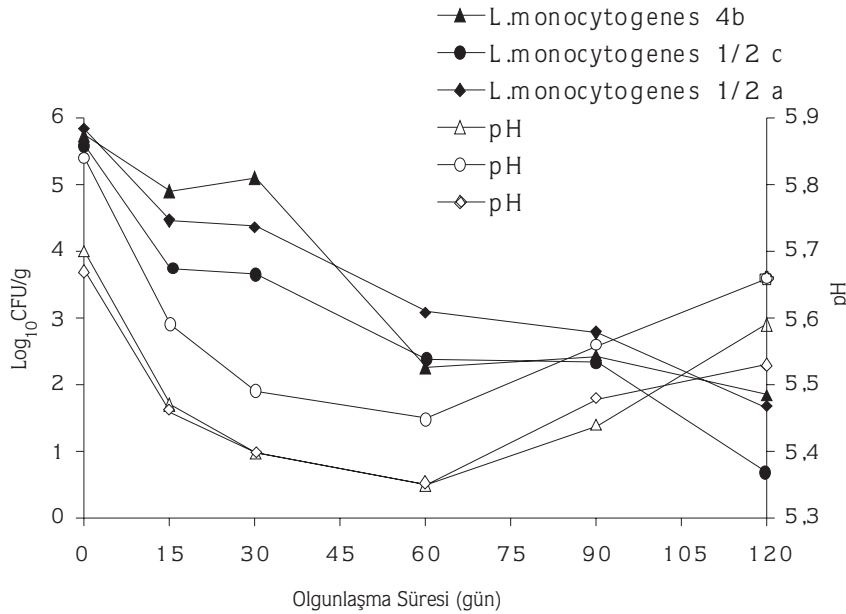
ile pH değerlerinin verildiği Şekil 1'de görüldüğü gibi, olgunlaşmanın 60. gününe kadar, pH'nın azalmasına paralel olarak mikroorganizma sayısı da azalmış (30. olgunlaşma günü hariç) ve bu azalma, 60. günde pH'nın tekrar yükselmeye başlamasıyla durmuştur. Mikroorganizma sayısı 60-90. günler arasında nisbeten sabit sayıda seyrederek 120. günde tekrar azalmıştır.

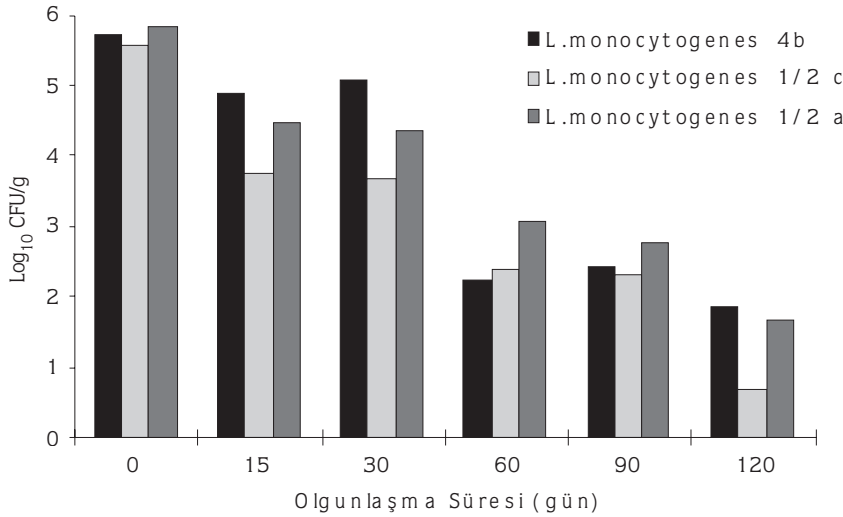
L.monocytogenes 1/2c ile aşılınmış sütlerden elde edilen teleme örneklerinde, mikroorganizmanın ortalama Log₁₀ sayısı 5.57 cfu/g. düzeyinde saptanmıştır. İleri olgunlaşma günlerinde ise zamana bağlı olarak düzenli bir azalma göstererek, olgunlaşmanın 15. gününde 3.76 cfu/g., 30 gününde 3.67 cfu/g., 60. gününde 2.38 cfu/g., 90. gününde 2.33 cfu/g. ve 120. gününde 0.70 cfu/g.'a düşmüştür. Bu tip örneklerde saptanan ortalama pH değerleri ise telemede 5.84, 15. günde 5.59, 30. günde 5.49, 60. günde 5.45, 90. günde 5.56 ve 120.

olgunlaşma gününde de 5.66 değerinde bulunmuştur. Bu örneklerde de pH, 60. güne kadar düzenli bir şekilde azalmış ileri günlerde ise yükselmiştir (Tablo 2).

L.monocytogenes 1/2c'nin pH ile ilişkisi Şekil 1'de gösterilmiştir. Şekil 1'de belirtildiği gibi mikroorganizma sayısı pH'nın düşmesine nisbeten paralel seyrederek hızlı bir şekilde azalmıştır. Mikroorganizma sayısındaki bu azalma, pH'nın 60. günde tekrar yükselmesine kadar devam etmiştir. Olgunluğun 60 ve 90. günlerinde mikroorganizma sayısında büyük bir değişiklik görülmemiş, 120. günde ise sayı tekrar azalmıştır.

L.monocytogenes 1/2a suşu içeren peynir örneklerinin telemesinde ise mikroorganizmanın ortalama Log₁₀ sayısı 5.84 cfu/g. değerinde bulunmuştur. Mikroorganizma sayısı olgunlaşmanın 15. gününde 4.46 cfu/g., 30. gününde 4.36 cfu/g., 60. gününde 3.09 cfu/g., 90. gününde 2.79 cfu/g. ve 120. gününde 1.68 cfu/g.

Şekil 1. Şavak Peynirinin Olgunlaşması Sırasında *L. monocytogenes* 4b, 1/2c, 1/2a Suşlarının Sayısında Meydana Gelen Değişimler ve pH Değerleri



Şekil 2. Şavak Peynirinin Olgunlaşması sırasında *L. monocytogenes* 4b, 1/2c ve 1/2a Suşlarının Sayılarında Meydana Gelen Değişimler.

düzeyinde gözlemlenmiştir. Bu grup peynirlerde de, diğer grup örneklerde olduğu gibi ortalama pH değerinin olgunlaşmanın 60. gününe kadar bir azalma gösterdiği sonraki günlerde ise yükseldiği tesbit edilmiştir (Tablo 2).

Olgunlaşma süresince, peynir örneklerinde saptanan *L. monocytogenes* 1/2a'ya ait Log_{10} sayıları Şekil 1'de pH değerleri ile birlikte gösterilmiştir. Şekil 1'den de izleneceği üzere mikroorganizma sayısı pH'nın düşmesine az çok paralel bir şekilde seyrederek azalmıştır. Mikroorganizma sayısındaki azalma, diğer örneklerde olduğu gibi olgunlaşmanın 60. gününde pH'nın yükselmeye başlamasıyla durmuş, 60. ile 90. günler arasında ise sabit kalmıştır. Mikroorganizma sayısı olgunlaşmanın 120. gününde tekrar azalmıştır.

Her üç tip peynir örneğindeki *L. monocytogenes* sayıları olgunlaşma süresince birbirine benzer şekilde seyrederek olgunluğun sonunda en az düzeye inmiştir (Şekil 2).

Zenginleştirme Yöntemi Sonunda Elde Edilen Bulgular

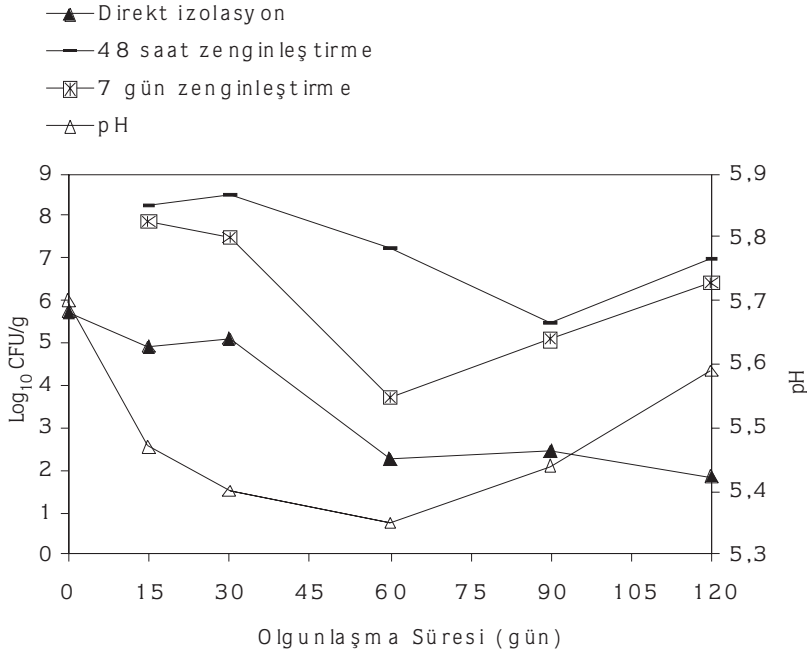
L. monocytogenes'in sayım ve izolasyonunda kullanılan direkt, 48 saat ve 7 günlük zenginleştirme işleminde elde edilen veriler Şekil 3 - 5'de belirtilmiştir.

L.m. 4b'yi içeren peynir örneklerinde, 48 saat zenginleştirme sonucunda elde edilen mikroorganizma sayısı olgunluğun 15. gününden 30. güne kadar az da olsa bir artış göstermiş, daha sonraki günlerde (60 ve 90. olgunlaşma günlerinde) azalarak 120. günde tekrar yükselmiştir. 7 gün süren zenginleştirme işleminde ise,

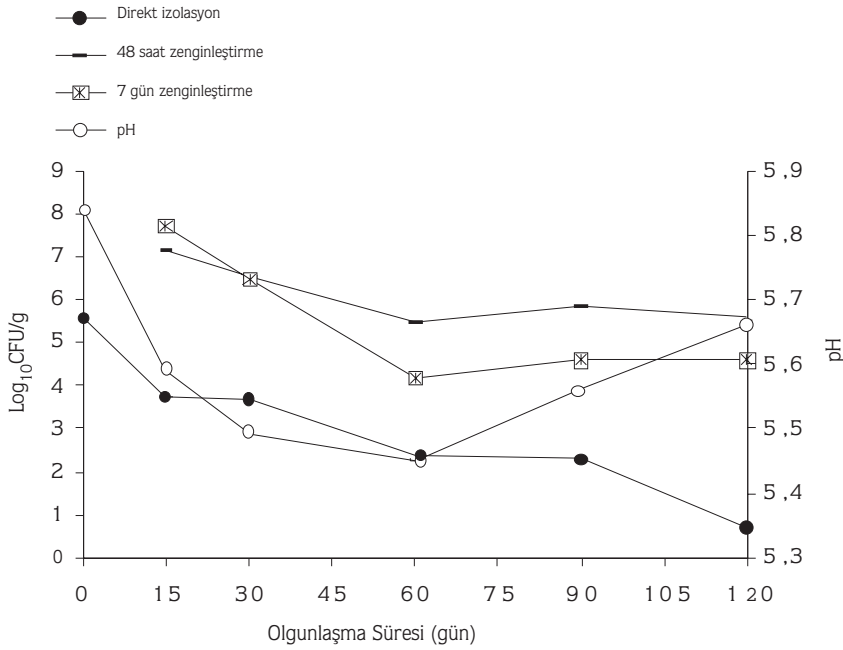
mikroorganizma sayısı 15. günden itibaren 60. olgunlaşma gününe kadar azalmış, sonraki günlerde ise tekrar yükselmiştir. Bu örneklerde 48 saatlik zenginleştirme sonucunda saptanan mikroorganizma sayısı, hem direkt hem de 7 günlük zenginleştirmede elde edilen sayıdan daha yüksektir (Şekil 3).

L.m. 1/2c ile inoküle edilen örneklerde, her iki zenginleştirme yönteminde elde edilen değerlerin seyri gözönüne alındığında, nisbeten birbirlerine benzer şekilde seyrettikleri söylenebilir. Şöyleki, 48 saat ve 7 gün zenginleştirme sonucunda bulunan mikroorganizma sayıları 60. olgunlaşma gününe kadar azalmış, sonraki günlerde ise tekrar yükselmiştir. Ancak, bu grup örneklerde de mikroorganizma sayısı 15. olgunlaşma günü hariç tutulursa, en çok 48 saatlik zenginleştirme sonunda elde edilmiştir (Şekil 4).

İnokülasyonda kullanılan L.m. 1/2a serotipinde ise zenginleştirme sonucunda elde edilen veriler değerlendirilerek şekil 5'de gösterilmiştir. Bu örneklerde, olgunlaşma süresince en fazla mikroorganizma sayısı yine 48 saatlik zenginleştirme sonucunda saptanmıştır. Hem 48 saatlik, hem de 7 gün süren zenginleştirmede saptanan mikroorganizma sayılarının, olgunlaşma süresince seyri birbirine oldukça benzer şekilde olmuştur. Her iki yöntemde elde edilen mikroorganizma sayılarının, olgunluğun 60. gününe kadar azaldığı görülmüştür. Daha sonraki olgunluk gününde (90. gün) artan mikroorganizma sayısı 120. günde tekrar azalmıştır.



Şekil 3. Şavak Peynirinin Olgunlaşması sırasında *L.monocytogenes* 4b'nin İzolasyonunda Kullanılan Yöntemler (direkt, 48 saat ve 7 günlük zenginleştirme) Sonucunda Elde Edilen Sayılardaki Değişimler ve pH Değeri.

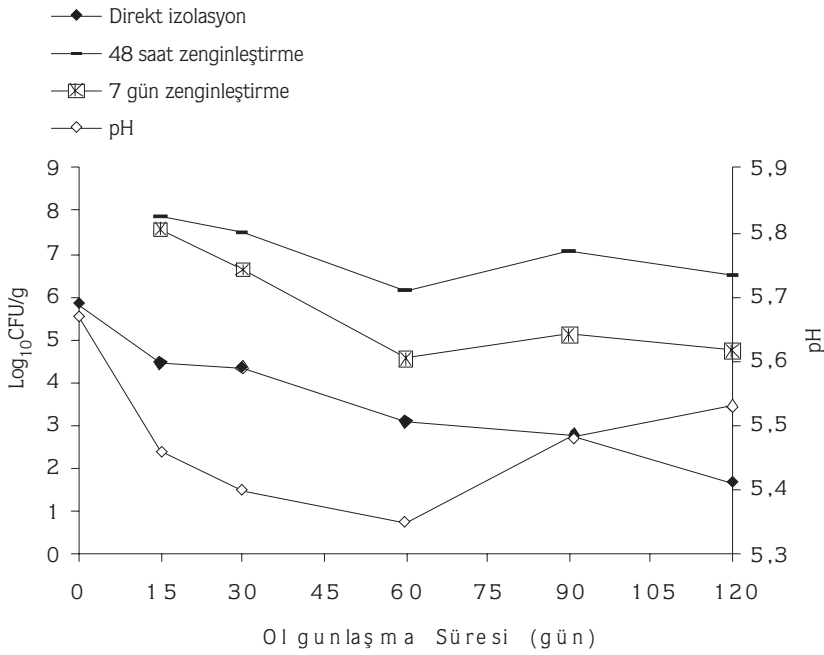


Şekil 4. Şavak Peynirinin Olgunlaşması sırasında *L.monocytogenes* 1/2c'nin İzolasyonunda Kullanılan Yöntemler (direkt, 48 saat ve 7 günlük zenginleştirme) Sonucunda Elde Edilen Sayılardaki Değişimler ve pH Değeri.

Tartışma

Bu çalışmada, çiğ koyun sütlerine *L.monocytogenes*'in farklı suşları (*L.monocytogenes* 4b, 1/2c ve 1/2a) inoküle edilerek, şavak tipi peynir örnekleri üretilmiş ve tuzlama işleminden sonra + 4°C'de 120 gün olgunlaşmaya alınmıştır. Örneklerde, olgunlaşmanın 0,15,30,60,90 ve 120. günlerinde periyodik olarak *L.monocytogenes*'in varlığı incelenmiştir.

Bu araştırmamızın sonunda, adı geçen mikroorganizmanın her 3 tip peynir örneğinde ortamdaki tamamen elimine olmadığı ve 0.70 - 1.85 Log₁₀ cfu/g. düzeylerinde bulunduğu belirlenmiştir. Yapım ve olgunlaşma koşulları farklı olan bir çok peynirde de (Blue, Camembert, Cheddar, Trappist, Brick gibi) *L.monocytogenes*'in farklı serotiplerine bağlı olarak, maksimum mikroorganizma düzeyleri farklı günlerde elde



Şekil 5. Şavak Peynirinin Olgunlaşması sırasında *L.monocytogenes* 1/2a'nın izolasyonunda Kullanılan Yöntemler (direkt, 48 saat ve 7 günlük zenginleştirme) Sonucunda Elde Edilen Sayılardaki Değişimler ve pH Değeri.

edilmiş ve olgunlaşma süresince mikroorganizma sayısında azalma görülmesine rağmen, olgunluğun sonunda ortamdan tamamen yok olmadıkları saptanmıştır (21-23,26,28,29). Ancak, inokülasyonda kullanılan suşların bazılarının olgunluk süresinin belirli günlerinde ortamdan yok olduklarını bildiren Yousef ve Marth'ın (49) sonuçlarıyla bizim sonuçlarımız uyum göstermemektedir. Bulguların uyumsuzluğu, muhtemelen farklı teknolojik uygulamalardan ve farklı serotipler'den kaynaklanmış olabilir.

Önceleri gıdalardan ve çevreden *L.monocytogenes*'in izole edilmesinde kullanılan metotlardan birisi soğuk zenginleştirme işlemiydi (50). Ancak, böyle bir zenginleştirme yönteminde mikroorganizmanın tesbiti 3 aylık bir zamana ihtiyaç göstermektedir. Buna karşın, 4° C'de zenginleştirme işlemine alınan örneklerde bir çok mikroorganizmanın gelişmesi durmakta ve *Listeria* türleri de yavaş bir şekilde çoğalmaktadır (9).

Daha sonraki yıllarda bir çok araştırmacı (40,51-53) ise, zenginleştirme ortamına özel selektif maddeler ilave ederek mikroorganizmanın izolasyonu için gerekli olan izolasyon zamanını kısalttılar. Diğer bazı araştırmacılar da (54,55), izolasyon şansını artırdılar.

Son yıllarda yapılan bir çok çalışmada *L.monocytogenes*'in yaşam süresini saptamak amacıyla

hem direkt (21-23,28-30,52) hem de zenginleştirme yöntemlerine (24, 27, 30) başvurulmuştur.

Çalışmamızda, zenginleştirme yöntemleriyle peynir örneklerindeki *L.monocytogenes*'in varlığı olgunluğun 120. gününde de tesbit edildi. Bu sonuç, bir çok araştırmacının (21-23,26,28,29,31,37,52,56) bulgularıyla uyum içindedir. Ancak, Yousef ve Marth'ın (24) Parmesan peynirinde, ayrıca Buazzi ve ark.'nın (25), Swiss peynirindeki sonuçlarından farklıdır. Adı geçen araştırmacılar, bu tip peynirlerde yapım ve olgunlaşma aşamalarındaki işlemlerin *L.monocytogenes* mikroorganizmalarının yıkımlanmasına neden olduğunu bildirmektedirler.

Zenginleştirme işlemleri sonucu, örneklerde saptanan *L.monocytogenes* sayıları en fazla 48 saat zenginleştirme yönteminde elde edilmiştir.

DeneySEL peynir örneklerinin telemesinde ortalama olarak pH değerlerinin 5.67 ile 5.84 arasında olduğu belirlendi. Her 3 tip'de pH değerleri olgunluk süresinin 60. gününe kadar düzenli bir şekilde azaldıktan sonra ileri olgunlaşma günlerinde (90 ve 120. gün) yükseldi. pH'nın 60. olgunluk gününden itibaren yükselmeye başlamasıyla, mikroorganizma sayılarındaki azalmanın nisbeten yavaşladığı gözlemlenmiştir. Bu sonuç, beyaz peynir örneklerinde, pH'nın olgunluğun 30. gününe kadar

düzensiz bir şekilde seyrettiğini, sonra 50. güne kadar azaldıktan sonra , olgunlaşmanın 65. gününde tekrar yükselerek maksimum seviyeye ulaştığını ve olgunlaşma süresince pH değerlerinin 6.0'nın altına düşmediğini bildiren Abdalla ve ark. nın (57) sonuçlarıyla uyum göstermemektedir. Bu durum, farklı nitelikteki sütlerin kullanılmasına, peynir yapımında süte uygulanan ısı işlemine ve peynirin olgunlaşma süresine bağlanabilir.

Olgunlaşma süresince tüm değerler gözönüne alındığında, pH'nın en az 5.35 en çok 5.84 olduğu görülmektedir (Tablo 2). Bu pH değerlerinde *L.monocytogenes*'in iyi bir şekilde gelişebileceği (58,59), ancak peynirde pH'nın 5.0'in altına düşmesiyle mikroorganizmanın gelişmesinin önlenebileceği Papageorgiou and Marth (28) tarafından vurgulanmaktadır. Aynı araştırmacılar (23) Feta peyniri örneklerinde olgunlaşmanın ilk 2 gününde

L.monocytogenes sayısında bir artışın olduğunu ve pH'nın 6.65'den 4.60'a düşmesiyle, bu artışın durduğunu da belirtmektedirler.

Sonuç olarak, şavak peynirleri *L.monocytogenes* mikroorganizmalarının yaşamları için iyi bir ortam olduğu, ve bu ortamda olgunlaşma süresinin sonuna kadar (120 gün) varlıklarını koruyabildikleri, dolayısıyla halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturabilecekleri kanısına varıldı. Ayrıca, çiğ sütteki kontaminasyon düzeyinin en az 10^3 hücre/ml. olması halinde, bu tip peynirlerin yapım ve olgunlaşma safhalarında mikroorganizma sayısının önemli miktarlarda arttığı, bu nedenle hem direkt hem de sıcak zenginleştirme yöntemleriyle izolasyonlarının mümkün olduğu ve izolasyonda 30° C'de 48 saat zenginleştirme işleminin 7 günlük zenginleştirme yöntemine göre nisbeten daha uygun olduğu sonucuna varıldı.

Kaynaklar

1. Fleming, D.W., Cochi, S.L., Kristine, L., McDonald, M.D., Brondum, J., Hayes, P.S., Pliakytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.L. 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.
2. Terplan, V.G.: *Listeria*'lar, gıda maddelerinde bulunuşu ve sağlık yönünden önemi, mikroorganizmalar ile gıda teknolojisi ve gıda hijyeni arasındaki ilişkiye bir örnek, *Listeria*. Seminer. İstanbul Üniv. Vet. Fak. 1989; İstanbul.
3. World Health Organisation.: Foodborne Listeriosis. Report of a WHO Informal Working Group. Feb. 15-19. 1988; Geneva.
4. Farber, J.M. and Peterkin, P.I.: *L.monocytogenes* a food-borne pathogen . Microbiological Reviews. 1991; 55, (3): 476 - 511.
5. Seeliger, H.P.R. and Jones, D.: Genus *Listeria* Pirie, 1940, in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Eds. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G.: Vol. 2. The Williams and Wilkins Co. 1986; 1235 - 1245. Baltimore.
6. Bearn, R.E. and Girard, K.F.: The effect on pasteurization of *Listeria monocytogenes*. Can. J. Microbiol. 1958; 4, 55-61.
7. Doyle, M.P., Glass, K.A., Beery, J.T., Garcia, G.A., Pollard, D.J. and Schultz, R.D.: Survival of *L.monocytogenes* in milk during high-temperature, short-time pasteurization. Appl. Environ. Microbiol. 1987; 7, 1433 - 1438.
8. Donnelly, C.W. and Briggs, E.H.: Psychrotrophic growth and thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* as a function of milk composition. J. Food Prot. 1986; 49, 994 - 998.
9. Rosenow, E.M. and Marth, E.H.: Growth of *L.monocytogenes* in skim, whole and chocolate milk and in whipping cream during incubation at 4, 8, 13, 21 and 35°C. J. Food Prot. 1987; 50, 452 - 459.
10. Mitscherlich, E. and Marth, E.H.: Microbial Survival in the Environment. Springer-Verlag. 1984; 224. Berlin.
11. Papageorgiou, D.K. and Marth, E.H.: Behaviour of *Listeria monocytogenes* at 4 and 22 °C in whey and skim milk containing 6 or 12 % sodium chloride . J. Food Prot. 1989; 52, 625 - 630.
12. Shahamat, M., Seaman, A. and Woodbine, M.: Survival of *L.monocytogenes* in high salt concentrations. Zentralbl. Bacteriol. Hyg. I Abt. Orig. A. 1980; 256, 506 - 511.
13. Karim, G., Nazarinia, A. and Sadzadeh, P.: The occurrence of *L.monocytogenes* in Iranian white cheese in brine. 3rd World Congress Foodborne Infections and Intoxications. 1992; 20, 1091-1093.
14. McLauchlin, J. and Gilbert, R.J.: *Listeria* in food. PHLS Microbiology Digest. 1990; 7, (3): 54 - 55.
15. Massa, S., Cesarani, D., Poda, G. and Trovatielli, L.D.: The Incidence of *Listeria* spp. in soft cheeses, Butter and Raw Milk in the Province of Bologna. J. Appl. Bacteriol. 1990; 68, 153 - 156.
16. Schönberg, A., Teufel, P. and Weise, E.: Serovars of *L.monocytogenes* and *L. innocua* from food. Acta Microbiol. Hung. 1989; 36, (2-3): 249 - 253.
17. Terplan, V.G., Schoen, R., Springmeyer, W., Degble, I. und Becker, H.: Vorkommen verhalten und bedeutung von *Listerien* in milch und milchprodukten. Arciv. Für Lebensmittelhygiene. 1986; 37, 129 - 156.
18. Pini, P.N. and Gilbert, R.J.: The occurrence in the U.K. of *Listeria* species in raw chickens and soft cheeses. Int. J. Food Microbiol. 1988; 6, 317 - 326.
19. Tümbay, E., Seeliger, H.P.R., İnci, R., Coşar, G. ve Langer, B.: Isolation of *Listeria* from cheese in Turkey. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infections). 1988; 2, (4): 593 - 598.

20. Çiftçioğlu, G. ve Uğur, M.: Ülkemizde tüketilen beyaz peynirlerde *Listeria*'ların varlığı üzerine bir araştırma. II. Uluslararası gıda Sempozyumu. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı gıda Teknolojisi Araştırma Enstitüsü. 1991; 179 - 190. Bursa.
21. Ryser, E.T. and Marth, E.H.: Behavior of *L.monocytogenes* during the manufacture and ripening of Cheddar cheese. J. Food Prot. 1987; 50, (1): 7 - 13.
22. Ryser, E.T. and Marth, E.H.: Fate of *L.monocytogenes* during the manufacture and ripening of Camembert cheese. J. Food Prot. 1987; 50, (5): 372 - 378.
23. Papageorgiou, D.K. and Marth, E.H.: Fate of *L.monocytogenes* during the manufacture, ripening and storage of Feta cheese. J. Food Prot. 1989; 52, (2): 82 - 87.
24. Yousef, A.E. and Marth, E.H.: Fate of *L.monocytogenes* during the manufacture and ripening of Parmesan cheese. J. Dairy Sci. 1990; 73, (12): 3351 - 3356.
25. Buazzi, M.M., Johnson, M.E. and Marth, E.H.: Survival of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Swiss cheese. J. Dairy Sci. 1992; 75, (2): 380 - 386.
26. Ryser, E.T. and Marth, E.H.: Behavior of *L.monocytogenes* during the manufacture and ripening of Brick cheese. J. Dairy Sci. 1989; 72, (4): 838 - 853.
27. Buazzi, M.M., Johnson, M.E. and Marth, E.H.: Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture of Mozzarella cheese. J. Food Prot. 1992; 55, (2): 80 - 83.
28. Papageorgiou, D.K. and Marth, E.H.: Fate of *L.monocytogenes* during the manufacture, ripening of Blue cheese. J. Food Prot. 1989; 52, (7): 459 - 465.
29. Kovincic, I., Vujcic, I. F., Svabic-Vlahovic, M., Vulic, M., Gagic, M. and Wesley, I.V.: Survival of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Trappist cheese. J. Food Prot. 1991; 54,(6): 418 - 420.
30. Tham, W.: Survival of *L.monocytogenes* in cheese made of unpasteurized goat milk. Acta. Vet. Scand. 1988; 29, (2): 165 - 172.
31. Sarımehtemioğlu, B.: Türk Salamura Beyaz Peynirinde Yapım ve Olgunlaşma Aşamalarının *Listeria monocytogenes* Üzerine Etkisi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi. Teksir. 1992; Ankara.
32. Terplan, V.G.: *Listeria* in the dairy industry, problems of foodborne listeriosis. European Sempodium. 1988; Wiesbaden.
33. Devlet Planlama Teşkilatı . Süt ve Mamülleri. IV. Beş yıllık Kalkınma Planı Özel ihtisas Komisyon Raporu. Yayın No: DPT: 1512-ÖİK: 210. DPT. 1976; Ankara.
34. Elaziğ Ticaret Borsası.: yıllık Bülten. Teksir. Elaziğ Ticaret Borsası. 1993; Elaziğ.
35. Tekinşen, O.C. ve Çelik, C.: Şavak Peynirinde *Staphylococcuslar* ve *Micrococcuslar*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 1979; 26, (3-4): 47 - 63.
36. Tekinşen, O.C., Patır, B. ve Alkan, M.: Şavak peynirinde koliform grubu mikroorganizmalar üzerine araştırmalar. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg. 1993; 9, (2): 8 - 12.
37. Koçak, F.: Elaziğ ve Yöresinde Süt ve Ürünlerinde *Listeria spp.* Yaygınlığının Araştırılması. Fırat Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. 1990; Elaziğ.
38. Keven İnce, F.:Elaziğ İlinde Üretilen Süt ve Beyaz Peynir Örneklerinde *L.monocytogenes*'in Bulunuşu ve Laboratuvarda Üretilen Beyaz Peynirlerde Canlı Kalma Süresinin Araştırılması.Fırat Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi . 1993; Elaziğ.
39. Kılıç, S.S., Yılmaz, M., Perk, M. ve Çeliker, H.: *Listeria monocytogenes meningoenephalitis* in an adult. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection). 1988;2, (4): 587 - 590.
40. Lovett, J. and Hitchins, A.D.: *Listeria* isolation - FDA Bacteriological analytical manual. Federal Register. 1988; 53, (211): 44148 - 44153.
41. Food and Drug Administration.: Grade A Pasteurized Milk Ordinance 1978 Recommendations. Public Health Service Publication. 229 (Rev. 1983). U.S. Government Printing Office. 1983; Washington, D.C.
42. Lovett, J.: Isolation and enumeration of *L.monocytogenes*. Food Technol. 1988;42,172 - 175.
43. Seeliger, H.P.R. and Langer, B.: Methods of detection isolation and identification of *L.monocytogenes* and related species from clinical samples, food and environmental sources. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection). 1988; 2, (4): 607 - 616
44. Harrigan, W. F. and McCance, M. E.: Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Revised ed. Academic Press. 1976; London.
45. Lachica, R.V.: Simplified Henry Technique for initial recognition of *Listeria* colonies. Appl. Environ. Microbiol. 1990; 56, (4): 1164 - 1165.
46. American Public Health Association.: Standards Methods for the Examination of Dairy Products. 13th. Ed. American Public Health Association . 1974; New York.
47. Food and Agricultural Organisation. Laboratory Manual. The FAO Regional Dairy Development and Training Centre For the Near East. 1977; Spring.
48. Kosikowski, F.V.: Cheese and Fermented Milk Foods. 2. Ed. Edwards Brothers Inc. 1977; Michingan.
49. Yousef, A.E. and Marth, E.H.: Inactivation of *L.monocytogenes* by ultraviolet energy. J. Food Sci. 1988; 53, (2): 571 - 573.
50. Gray, M.L. and Killinger, A.H.: *Listeria monocytogenes* and listeric infections. Bacteriol. Rev. 1966; 30, 309 - 382.
51. Lovett, J., Francis, D.W. and Hunt, J.M.: *Listeria monocytogenes* in raw milk, detection, incidence and pathogenicity. J. Food Prot. 1987; 50, (3): 188 - 192.
52. Donnelly, C. W. and Baigent, G. J.: Method for flow cytometric detection of *Listeria monocytogenes* in milk. Appl. Environ. Microbiol. 1986; 52, 689 - 695.

53. Pini, P.N. and Gilbert, R.J.: A comparison of two procedures for the isolation of *Listeria monocytogenes* from raw chickens and soft cheeses. *Int. J. Food Microbiol.* 1988;7,331 - 337.
54. Warburton, D.W., Farber, J.M., Armstrong, A., Calderia, R., Hunt, T., Messier, S., Plante, R., Tiwari, N.P and Vinet, J.: A comparative study of the "FDA" and "USD" methods for the detection of *Listeria monocytogenes* in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 1991; 13, 105 - 118.
55. McClain, D. and Lee, W.H.: Development of USDA - FSIS method for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw meat and poultry. *J. Assoc. off. Anal. Chem.* 1988; 71, 660 - 664.
56. Ryser, E.T. and Marth, E.H.: "New" foodborne pathogens of public health significance. *J. Am. Diet. Assoc.* 1989; 89, (7): 948 - 954.
57. Abdalla, O.M., Christen, G.L. and Davidson, P.M.: Chemical composition of and *Listeria monocytogenes* survival in white pickled cheese. *J. Food Prot.* 1993; 56, (10): 841 - 846.
58. Cole, M.B., Jones, M.V. and Holyoak, C.: The effect of pH, salt concentration and temperature on the survival and growth of *L.monocytogenes*. *J. Appl. Bacteriol.* 1990; 69, 63 - 72.
59. Conner, D.E., Brackett, R.E. and Beuchat, L.R.: Effect of temperature, NaCl and pH on growth of *Listeria monocytogenes* in cabbage juice. *Appl. Environ. Microbiol.* 1986; 52, 59 - 63.