



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BURDUR İLİNDE SATILAN ÇİĞ SEBZELERDE *LISTERIA*
TÜRLERİNİN YAYGINLIĞI**

Gıda Mühendisi Mert MİDAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER GIDA HİJYENİ ve TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Danışman
Doç. Dr. Fulya TAŞÇI

BURDUR - 2021

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BURDUR İLİNDE SATILAN ÇİĞ SEBZELERDE *LISTERIA*
TÜRLERİNİN YAYGINLIĞI**

Gıda Mühendisi Mert MİDAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER GIDA HİJYENİ ve TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Fulya TAŞÇI

Bu araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 0687-YL-21 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR – 2021

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yardımcı olan, bu süreçte değerli katkıları ile beni yönlendiren, bilgi ve birikimlerinden her an faydalanma şansı bulduğum saygı değer danışmanım ve hocam Doç. Dr. Fulya TAŞÇI' ya teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine sunulmuş ve 0687-YL-21 numaralı proje olarak desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Sadece çalışmalarım sırasında değil hayatım boyunca tüm süreçlerde yardımını esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve beni destekleyen Annem Nilifer MİDAM, Babam Haşım MİDAM ve Abim Dr. Kemal Can MİDAM'a teşekkür ederim. Ayrıca çalışmalarım süresince ilgi ve yardımını hiçbir zaman esirgemeyen, bu süreçte yardımcı olan ve beni motive eden maddi ve manevi olarak varlığını hissettiğim sevgili arkadaşım Veteriner Hekim Ceren Nur ERDOĞAN'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>Listeria</i> Türlerinin Morfolojik, Biyokimyasal ve Antijenik Özellikleri	4
2.1.1. Morfolojik Özellikleri	4
2.1.2. Biyokimyasal Özellikler	6
2.1.3. Antijenik Özellikleri	8
2.2. Kontaminasyon Kaynakları ve Yayılması	10
2.3. Sebzelerde <i>Listeria</i> Türlerinin Varlığı	15
2.4. <i>Listeria</i> spp. İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi	19
2.5. <i>Listeria</i> İnfeksiyonlarının Patogenezi	23
2.6. İnsanlarda Listeriosis ve Klinik Belirtileri	27
2.7. Yasal Düzenlemeler	33
2.8. Koruma ve Kontrol	35
3. GEREÇ ve YÖNTEM	38
3.1. Materyal	38
3.2. <i>Listeria</i> Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar	38
3.3. Kültürel Yöntem ile İzolasyon	39
3.4. Morfolojik ve Biyokimyasal Analizler	39
3.4.1. Gram Boyama	40
3.4.2. Oksidaz Testi	40
3.4.3. Katalaz Testi	40
3.4.4. SIM Agarda Hareketlilik, İndol ve Sülfür Testleri	40
3.4.5. Beta Hemoliz Testi	41
3.4.6. Karbonhidrat Fermentasyon Testi	41
3.5. Kültürel Yöntem ile Elde Edilen <i>L. monocytogenes</i> 'in PCR ile Doğrulanması	41
3.5.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu	41
3.5.2. PCR Analizi	43
3.6. İstatiksel Analiz	44
4. BULGULAR	45
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	76

ŞEKİLLER

Şekil 2.1	<i>L. monocytogenes</i> 'in ekosistemdeki kontaminasyon yolları	11
Şekil 2.2	<i>L. monocytogenes</i> 'in topraktaki kontaminasyon kaynakları	13
Şekil 2.3	<i>L. monocytogenes</i> 'in kontaminasyon döngüsü	14
Şekil 2.4	Listeriosis hastalığının insan vücudundaki ilerleyişi	24
Şekil 2.5	Hayvanlarda ve insanlarda <i>L. monocytogenes</i> 'in patolojik ve klinik etkileri	29
Şekil 2.6	Bilekte bulunan lezyonlardan alınan kültürde <i>L. monocytogenes</i> üremesi	29
Şekil 4.1	<i>luxS</i> (208 bp) ve <i>flaA</i> (363 bp) gen bölgeleri elektroforez sonuçları	46

TABLÖLAR

Tablo 2.1	<i>Listeria</i> türlerinin insan ve hayvanlarda virölans özelliği	5
Tablo 2.2	<i>Listeria</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri	8
Tablo 2.3	<i>L. monocytogenes</i> 'in serotipleri ve antijen yapısı	9
Tablo 2.4	Sebzelerden izole edilen <i>L. monocytogenes</i> salgınları	18
Tablo 2.5	Avrupa Birliği komisyonu'nun <i>L. monocytogenes</i> ile ilgili yönetmeliği	34
Tablo 2.6	Türkiye'de TKG mikrobiyolojik kriterler yönetmeliği'nin belirli ürünlerdeki <i>L. monocytogenes</i> referans limitleri	35
Tablo 3.1	Kültürel izolasyonda kullanılan besiyerleri ve katkı maddeleri	38
Tablo 3.2	PCR analizinde kullanılan primerler	44
Tablo 4.1	<i>Listeria</i> izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal analiz sonuçları	45

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADI	Arginin Deaminaz
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome (Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu)
ArcA	Arginin Deiminaz
ArcB	Katabolik Ornitin Karbamoiltransferaz
ArcC	Karbamat Kinaz
ArcD	Arginin-Ornitin Antiporter
ArgD	Arginine repressor (Arjinin Baskılayıcı)
ASP	Asit Şok Proteinleri
ATP	Adenozin Trifosfat
ATR	Asit Tolerans Tepkisi
°C	Degres Centigrade (Santigrat Derece)
CAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CDC	Centers for Disease Control and Prevention (Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezi)
CD8	Sitotoksik T Hücreleri
cm	Centimeter (Santimetre)
CO₂	Karbondioksit
EDTA	Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit)
FDA	U.S. Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
GAD	Glutamat Dekarboksilaz
g	Gram
GSR	General Stress Response (Genel Stres Yanıtı)
HIV	Human Immunodeficiency Virus (İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü)
HSP	Isı Şok Proteinleri
ICSB	International Committee on Systematic Bacteriology (Uluslar Arası Sistematik Bakteriyolojik Komitesi)
InA	İnternalin A
InB	İnternalin B
ISO	International Organization for Standardization (Uluslararası Standardizasyon Kuruluşu)
K⁺	Potasyum
kg	Kilogram
kob	Koloni Oluşturan Birim
kob/g	Koloni Oluşturan Birim/Gram
kPa	Kilopascal (kilopaskal)
LLO	Listeriolisin
LTA	Lipoteikoik Asit
µg	Microgram (Mikrogram)
µL	Microliter (Mikrolitre)
µm	Micrometer (Mikrometre)

mL	Milliliter (Mililitre)
mm	Millimeter (Milimetre)
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NaCl	Sodium Chloride (Sodyum Klorür)
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NCTC	National Collection of Type Cultures (Ulusal Tip Kültürler Koleksiyonu)
NK	Natural Killer (Doğal Öldürücü Hücre)
OJEU	Official Journal of the European Union (Avrupa Birliği Resmi Gazetesi)
OIE	World Organisation for Animal Health (Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PFGE	Pulsed- Field Jel Elektroforezi
pH	Power of Hydrogen (Hidrojen Gücü)
spp	Subspecies (Alt türler)
TGK	Türk Gıda Kodeksi
USDA-FSIS	ABD tarım bakanlığına bağlı Gıda Güvenliği Bilgi Sistemi
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
WTA	Wall Teichoic Acid (Çeper Teikoik Asit)
>	Büyüktür
<	Küçüktür

ÖZET

Burdur İlinde Satılan Çiğ Sebzelerde *Listeria* Türlerinin Yaygınlığı

Bu araştırmada Burdur ilindeki farklı semt pazarlarından tesadüfi örnekleme yöntemiyle alınan her biri 10 adet olmak üzere toplam 90 adet çiğ sebze (ıspanak, brokoli, marul, maydanoz, roka, semizotu, tere, yeşil soğan ve mantar) materyal olarak kullanıldı. Çiğ sebze örnekleri ISO 11290-1: 2017 standart prosedürü kullanılarak analiz edildi. Kültürel yöntem ile elde edilen izolatların doğrulaması PCR ile yapıldı. Çiğ sebze örneklerinin 7'sinde (%77,77) *Listeria* spp. tespit edildi. Yeşil soğanın %40'ı, ıspanağın %20'si ve maydanozun %10'u *Listeria* spp. ile kontamine olduğu tespit edilirken; brokoli, roka, tere, mantar, marul ve semizotu örneklerinde ise *Listeria* spp. belirlenmedi. Ancak, Burdur ilinde çiğ sebzelerde *Listeria* spp. bulunması sağlık açısından bir risk oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Çiğ sebze, *Listeria* spp.

ABSTRACT

Prevalence of *Listeria* Species in Raw Vegetables Sold in Burdur Province

In this research, a total of 90 raw vegetables (spinach, broccoli, lettuce, parsley, arugula, purslane, cress, scallion and mushrooms) were used as material, 10 of which were taken from different district bazaars in Burdur by random sampling method. Raw vegetable samples were analyzed using the ISO 11290-1:2017 standard procedure. Confirmation of the isolates obtained by the cultural method was done by PCR. In 7 (77.77%) raw vegetable samples, *Listeria* spp. detected. 40% of scallions, 20% of spinach and 10% of parsley are *Listeria* spp. When detected to be contaminated with; In broccoli, arugula, cress, mushroom, lettuce and purslane samples, *Listeria* spp. not determined. However, *Listeria* spp. was detected in raw vegetables in Burdur province and presence poses a health risk.

Keywords: *Listeria* spp., Raw vegetables

1. GİRİŞ

Gıda güvenliği, günlük yaşamda tüketiciler açısından her geçen gün daha önemli bir konu haline gelmektedir. Taze ve tüketime hazır sebzeler, sağlıklı beslenme ve daha hızlı hazırlık aşamalarından dolayı tercih edilmektedir (Byrne ve ark., 2016). Sebzeler; vitaminler, mineraller, antioksidanlar, lifler, biyoaktif bileşikler açısından zengin ve düşük enerjili önemli bir gıdalarıdır. Yeterli miktarda günlük düzenli tüketilmesi, kalp damar hastalıkları ve kanser gibi bazı hastalıkların önlenmesine yardımcı olmaktadır. Daha iyi beslenmeyi teşvik etme çabalarının bir sonucu olarak sebzelerin tüketimlerinde uluslararası bir artış bulunmaktadır (Taban ve Halkman, 2011).

Taze tüketilen sebzeler mikrobiyolojik tehlikeleri önemli ölçüde azaltan işlemlere tabi tutulmadıkları için, bu temel gıdalar patojenik mikroorganizmaların bulaşması için potansiyel araçlardır (Byrne ve ark., 2016). Tüketiciler için en büyük risk, mikroorganizmalarla kontamine sebzelerin ısıtılma işlemi görmeden çiğ olarak tüketilmesidir. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp. gibi çeşitli patojen mikroorganizmalar taze sebzelerde bulunmakta ve gıda kaynaklı hastalıklara neden olmaktadır (Kljujev ve ark., 2018). Taze ve minimum düzeyde işlenmiş sebzelerin tüketimi sağlıklı kabul edilmekle birlikte, bu ürünlerin kontaminasyonu ile ilgili salgınlar sıklıkla rapor edilmektedir. Küresel olarak, her yıl milyarlarca insan güvenli olmayan gıdaların varlığı sebebiyle risk altındadır ve tüketilmesi sonucu binlerce kişi ölmektedir (Quinlan, 2013). *L. monocytogenes* gıda kaynaklı hastalıkların neden olduğu ölüm nedenleri arasında 3. sırada yerini almaktadır (Scallan ve ark., 2011a). *L. monocytogenes*'in neden olduğu gıda kaynaklı listeriosis, dünya çapında bu yüzden önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir. Gelişmiş ülkelerde ki listeriosis insidansı 1 milyon kişi başına 4 ile 8 vaka arasında değişiklik göstermektedir (Vågsholm ve ark., 2020). Listeriosis nedeni ile hastaneye yatış oranı %92 iken, vaka-ölüm oranı ise %20 olarak bildirilmektedir. Hemen hemen tüm listeriosis vakalarının %99'unun gıda kaynaklı olduğu kayıtlara geçmiştir (Mead ve ark., 1999).

Listeria cinsine bağlı *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligerii* ve *L. grayi* başta olmak üzere 17 tür bulunmaktadır (Kayode ve ark., 2020). İnsanlarda enfeksiyonun asıl kaynağını *L. monocytogenes* ile kontamine hayvansal gıdalar oluşturmaktadır. *L. ivanovii* ve *L. seeligerii* nadiren de olsa insanlarda enfeksiyona neden olduğu bildirilmektedir (Jay, 2008; Wiedmann, 2003). *L. monocytogenes* ile kontaminasyon biręok gıda ürününde bulunmaktadır (Tamang ve ark., 2016). Sporadik listeriyoz vakaları, süt, yumuşak peynir, et ve et ürünleri, deniz ürünleri, tüketime hazır yiyecekler ve sebzeler dahil olmak üzere çeşitli gıda maddelerinin kontaminasyonu ile ilişkilendirilmektedir (Byrne ve ark., 2016).

L. monocytogenes doğada her yerde bulunan, toprak ve su dahil olmak üzere biręok farklı ortamlarda uzun süre hayatta kalabilen ve üreyebilen ayrıca biręok stres faktörüne karşı direnęli olan bir bakteridir (Madden ve ark., 2018; Tamang ve ark., 2016). *Listeria* türlerinin pH'nın 4,1'e düştüğü durumlarda da gelişebilmesi ve canlılığını sürdürebilmesi virulansı açısından önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle bakterinin insan midesinden geğerken olumsuz koşullara dayanabildiği bildirilmektedir (Cotter ve ark., 2000; McLauchlin ve ark., 2004). *L. monocytogenes*'in oldukęa yüksek sıcaklıklara direnęli olduğu, ayrıca buzdolabı sıcaklıklarında da çoğalabildiği ve nemli ortamlarda birkaç ay, tuz konsantrasyonu fazla ve kuru ortamlarda ise iki yıla yakın yaşayabildiği bilinmektedir. *Listeria* biręok proste ısıl işlemlerle imha edilmekte, ancak karşılaşılan ısıya karşı direnęlilięi *Listeria*'nın türüne ve gıdanın yapısına göre değişiklik göstermektedir (Huang, 2009; Sergelidis ve Abraham, 2009). Mikrobiyal çoğalmayı engellemek ve yeterli korumayı sağlamak için bazı sebzeler soğuk ortamlarda muhafaza edilmekte ve taşınmaktadır. Bununla birlikte, bu koşullar, halk sağlığı açısından oldukęa önemli olan *L. monocytogenes* gibi psikrotrof mikroorganizmaların çoğalmasını kolaylaştırmaktadır. *L. monocytogenes* çiftliklerde kullanılan sulama suyu, toprak, gübre ve çürüyen bitki maddelerinde yani her yerde bulunabilen bir bakteridir. Bu nedenle sebzeler bu bakterinin varlığı açısından sürekli bir risk altındadır (Byrne ve ark., 2016). *L. monocytogenes*'in enfeksiyon dozunun, 1 gram taze ürün başına yaklaşık 100 bakteri ve bu miktarda ki bakterinin hastalık nedeni olduğu

bildirilmektedir (Swaminathan, 2001). *L. monocytogenes*, bitki tohumlarının çimlenmesi sırasında zarar görmüş tohum kabuğunun kenarlarında bulunabilmekte ve bu durum bakterinin bitkiye girişini kolaylaştırmaktadır (Gorski ve ark., 2004). Bakteri flagellasının çok önemli bir etkileşim faktörü olduğu ve *L. monocytogenes*'in bitki dokusuna tutunmasını olumlu yönde etkilemektedir (Gorski ve ark., 2003).

Pancar, havuç ve patates gibi toprakta yetişen sebzeler ile yeşil yapraklı sebzeler, yetiştirilme koşulları nedeniyle bitki örtüsü, toprak, gübre ve sulama suyundan kaynaklanan kontaminasyonlara aşırı derecede duyarlıdır ve birincil gıda zincirinde *L. monocytogenes* potansiyel kontaminasyonu kaynaklarını oluşturmaktadır. Genellikle sebzeler yeterli olmayan hijyenik koşullarda ve ıslak olarak pazarlarda satışa sunulmaktadır. Ayrıca, herhangi bir ısıtma işlemi görmeden çiğ olarak ya da salata gibi gıda ürünlerinde karışım olarak kullanılmakta ve tüketilmektedir. Sebzelerde *L. monocytogenes* başta olmak üzere *Listeria* türlerinin varlığı sağlık açısından ciddi riskler oluşturabilmektedir. Bu nedenlerle tez kapsamında Burdur ilinin farklı yerel semt pazarlarından temin edilen çiğ sebzelerde (ıspanak, marul, brokoli, maydanoz, roka, semizotu, tere, yeşil soğan, mantar) *Listeria* türlerinin varlığının araştırılması, gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından değerlendirilmesi yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Listeria* Türlerinin Morfolojik, Biyokimyasal ve Antijenik Özellikleri

2.1.1. Morfolojik Özellikleri

Listeria türleri; 0,4 - 0,5 µm çapında ve 1 - 2 µm uzunluğunda, yuvarlak uçlu, düzenli kısa çubuk şeklinde Gram pozitif bakterilerdir (Chaves ve ark., 2016; Khelef ve ark., 2006). Ancak eski kültürlerdeki bazı hücreler gram boya tutma yeteneklerini kaybederler (Jørgensen, 1995; Khelef ve ark., 2006). *Listeria* cinsi üyeleri fakültatif aneorobik bakterilerdir. Ayrıca hücre içi bakteri olup fagositik ve fagositik olmayan hücrelere girebilir ve çoğalabilirler (Chaturongakul ve ark., 2008; Gombas ve ark., 2003; Gustafson ve Ryser, 2017; Vivant ve ark., 2013). *Listeria spp.* spor oluşturmeyen bakterilerdir ve kapsüler yapıya sahip değildir (Troxler ve ark., 2000).

L. monocytogenes, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. grayi* ve *L. marthii* tipik olarak *Listeria* cinsine dahil edilmektedir. Bugüne kadar toplam 17 *Listeria* türü tanımlanmıştır. Bu türler arasında *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii* yaygın olarak insan listeriosis ile ilişkilendirilir. *L. welshimeri* ve hatta *L. seeligeri*'nin neden olduğu listeriosis vakaları oldukça nadirdir. *L. innocua* ve *L. grayi* ise patojenik yapıya sahip değildir. Yeni tanımlanan 11 *Listeria* türünün genetik yapıları insanlarda patojenite yapma özelliğine sahip değildir ve Tablo 2.1'de *Listeria* türlerinin insan ve hayvanlarda virülans özelliği karşılaştırılmıştır (Chen ve ark., 2017; Kayode ve ark., 2020; Setiani ve ark., 2015).

Listeria türleri 20 °C ile 25 °C arasında peritrik flagella yapısıyla hareketlilik özelliği göstermektedir (Desvaux ve Hebraud, 2006; Kayode ve ark., 2020). Yarı katı besiyerinde organizmanın mikroaerofilik doğası sebebiyle yüzeyin yaklaşık 0,5 cm altında tipik “şemsiye” ve “ters çam ağacı” görünümü oluşmaktadır (Kathariou ve ark., 1995). Taze triptoz fosfat içeren bir kültürün 20 °C’de inkübe edilmesiyle asma damla preperatlarında karakteristik olarak çeşitli yönlerde ani hız ile harekete geçip, belirli bir hız kazanarak bükülme ve kıvrılma hareketleriyle

devam eden bir yuvarlanma hareketliliği göstermektedir. Ancak, *Listeria* türleri arasında 37 °C’de motilite ve flagellin üretiminde farklılıklar saptanmıştır. *L. monocytogenes*’in alt türlerinin hareketlilik ve çok az ya da hiç flagellin saptanmazken; *L. ivanovii* suşlarında hareket saptanmış ve önemli miktarlarda flagellin üretimi göze çarpmaktadır (Kathariou ve ark., 1995).

Tablo 2.1. *Listeria* türlerinin insan ve hayvanlarda virülans özelliği (OIE, 2014).

<i>Listeria</i> Türleri	İnsanlarda Virülans Özelliği	Hayvanlarda Virülans Özelliği
<i>L. monocytogenes</i>	+	+
<i>L. ivanovii</i> subsp. <i>ivanovii</i>	a	+
<i>L. ivanovii</i> subsp. <i>londoniensis</i>	-	+
<i>L. innocua</i>	b	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-
<i>L. seeligeri</i>	b	+
<i>L. grayi</i> subs. <i>grayi</i> ve <i>L. grayi</i> subs. <i>murrayi</i>	b	-
<i>L. marthii</i>	-	-
<i>L. rocourtiae</i>	-	-
<i>L. weihensteaensis</i>	-	-
<i>L. fleischmanni</i> subsp. <i>fleischmanni</i>	-	-
<i>L. fleischmanni</i> subsp. <i>coloradensis</i>	-	-

a: yalnızca 11 insan enfeksiyon vakası tespit edildi, b: yalnızca 1 insan enfeksiyonu vakası tespit edildi.

L. monocytogenes’in gelişebilmesi için optimal pH 7 (pH 5,2-9,2) iken, optimum sıcaklık 30 °C ile 37 °C (< 0 °C - 45 °C) değerlerindedir (Abatcha ve ark., 2020; Ludwig ve ark., 2011; Tolvanen, 2016). *L. monocytogenes* %10 NaCl içinde çoğalabilmekte ve daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında da hayatta kalabilmektedir (Vázquez-Boland ve ark., 2001). Bakterinin düşük pH ve yüksek NaCl konsantrasyonlarında hayatta kalması sıcaklığa bağlıdır (Tienungoon ve Garland, 1995). Ayrıca 0,93’ün altındaki su aktivitesinde yaşayabilen birkaç gıda kaynaklı patojenden biridir (Liu ve ark., 2006; Petran ve Zottola, 1989).

Listeria türleri; katı besiyerinde 0,2 ile 1,5 mm çapında, noktasal, mavimsi gri, yarısaydam, dışbükey ve pürüzsüz yüzeyli özelliklere sahip koloniler oluşturmaktadır (Kuhn ve Goebel, 1989; Tolvanen, 2016). İncelenen kolonilerde 3.

ve 7. günlerde çapı 3 - 5 mm, opak ve bazen batık bir merkeze sahip kaba koloni formları geliştirebildiği bildirilmektedir (Wagner ve Mclauchlin, 2008).

2.1.2. Biyokimyasal Özellikler

Listeria diğer Gram pozitif bakterilerle benzer bir hücre duvarı yapısı göstermektedir. Hücre duvarının kuru ağırlığının %35'ini peptidoglikan, hücre duvarının kuru ağırlığının %60-70'ini ve glikan katmanları arasında bağlantı görevi gören teikoik asitler ile hücre duvarının %20'sini oluşturan içeriğinde; N-asetilglukosamin ramnoz, ribitol ve fosfor içeren, Gram negatif bakteriler ile kimyasal benzerlik gösteren lipoteikoik asitlerden meydana geldiği bildirilmiştir (Wagner ve Mclauchlin, 2008).

Listeria türleri in vitro ortamlarda hareket sağlamak amacıyla flagella yapısını kullanmaktadır. Bakteri tarafından üretilen peritrik flagella (5-6 adet) in vitro doku kültürleri ve konakçı epitel hücrelerinde adezyon ile invazyonunda önemli bir role sahiptir (Way ve ark., 2004).

Listeria türleri, olumsuz çevre koşullarında hayatta kalma yeteneği, pH, sıcaklık ve NaCl gibi stresli ortam yaratan faktörlere karşı etkili proteinleri oluşturmakta ve bu proteinler bakteriye belirli özellikler kazandırmaktadır. Bu özellikler arasında; *L. monocytogenes*'in konakçı hücrelerine girme sayısında artış, hücre vakuollerinden kaçma, hücre sitozollerinde replika yapma ve çevredeki komşu hücrelere yayılma kolaylığı bulunmaktadır. Konakçı hücrelerine verimli giriş için internalin A (*InA*) ve internalin B (*InB*), hücrelerin vakuollerinden kaçmaya listeriolisin (LLO) ve fosfolipaz C ayrıca çevredeki komşu hücrelere yayılmak içinde aktin yapılu kuyruğun oluşumunda görevli olan protein (*ActA*) ve intergenik temelli *Mpl* proteini bakteri tarafından sentezlenir ve salgılanır (Yu ve ark., 2007).

Hücredeki istilacı *L. monocytogenes*'lerin kısmen veya tamamen ortadan kaldırılmasına yol açan konakçı bağışıklık tepkilerin hedefinde istila ve virülans ile ilişkili proteinler bulunur. Memeli bir konakçı, istilacı *L. monocytogenes* ile teması üzerine doğal öldürücü hücrelerin (NK) dendritik hücre bileşimiyle hazırlanmış

CD4 T lenfositlerinin aktivasyonu ve genişlemesi özelliğiyle spesifik olmayan bağışıklık saldırıları başlatır (Wang ve Lin, 2007; Yu ve ark., 2007).

Listeria spp. homofermantatiftir ve glikolitik ara bileşikleri okside etmektedir (Sjöman, 2010). Ayrıca glikoz oksidaz ve nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) oksidaz aktivitelerine sahiptir (Müller-Herbst ve ark., 2014). *Listeria*'nın tüm suşları, ana son ürünler olarak aerobik koşullarda glikoz üzerinde büyüme gösterirken laktat, asetat ve asetoin oluşumuna neden olmaktadır (Nilsson ve ark., 2013; Pine ve ark., 1989). Asetoin, anaerobik koşullar altında gelişim göstermez. Anaerobik ortamda büyüme yi heksozlar ve pentozlar gösterirken; maltoz ve laktoz bazı suşların aerobik ortam koşullarında büyümesini destekler lakin sükröz desteklemez. Glikoz katabolizması, Embden ve Meyerhof yolu ile anaerobik ve aerobik olarak ilerleme göstermektedir (Pine ve ark., 1989).

Listeria türlerinin birbirlerine morfolojik benzerlikleri ve *Listeria*'ya ait karakteristik biyokimyasal özellikler olsa da diğer benzer bakterilerden, birbirleri arasındaki farklılaşmalar için bir dizi biyokimyasal reaksiyondan yararlanılmaktadır. Bu reaksiyonlar hemoliz ve siklik adenozin monofosfat (CAMP) fenomenlerinin artmasına ek olarak bakterinin şeker fermentasyonu, peptidaz, lipolitik ve hemolitik aktivitelerini içermektedir (Savini ve ark., 2014).

Günümüze kadar yapılan sayısız klinik, gıda ve çevresel izolatların üzerinde yapılan çalışmalara karşı yalnızca birkaç olağan dışı *Listeria* fenotipi kayıtlara geçmiştir (Holko ve ark., 2002). Bir çalışmada zayıf ve hatta negatif hemolizli ile katalaz reaksiyonu pozitif olan bir *L. monocytogenes* türü kayıt edilmiştir (Wagner ve Mclauchlin, 2008). Başka bir çalışmada farklı bir *L. monocytogenes* türü negatif hemoliz, negatif CAMP testi sonuçlarını verirken bakteride hareketsizlik gözlenmiştir (Kathariou ve Pine, 1991). *Listeria* türlerinin biyokimyasal özellikleri Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2. *Listeria* türlerinin biyokimyasal özellikleri (Allerberger, 2003; Amusan ve Sanni, 2018; OIE, 2014; Sjöman, 2010).

	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanoii</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. welsimeri</i>	<i>L. sealigeri</i>	<i>L. grayi</i>
Gram boyama	+	+	+	+	+	+
Hareket	+	+	+	+	+	+
Beta hemoliz	+	+	-	+	-	-
Mannitol	-	-	-	-	+	+
Ksiloz	-	+	-	+	-	-
Ramnoz	+	-	(+,-)	-	(+,-)	(+,-)
Eskülin	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-
Üre	-	-	-	-	-	-
İndol	-	-	-	-	-	-
a-Metil D-mannosit	+	+	+	+	+	+
a-Metil D-glikozit	+	-	+	+	+	+

2.1.3. Antijenik Özellikleri

L. monocytogenes'in tiplendirilmesinde önde gelen yöntemler arasında serotiplendirme yer almaktadır. Somatik (O) ve flagellar (H) antijenlere göre serotipler veya yaygın olarak adlandırılan serovarlar göre sınıflandırılmaktadır (Nucera ve ark., 2010; Wagner ve Mclauchlin, 2008). H antijenleri önemli derecede hücrenin yapısal çeşitliliğini sergilemektedir. *Listeria* türünde bulunan O antijenlerinin yapısı ise çeper teikoik asitlerden (WTA) oluşmaktadır. Yapısal çeşitlilik sergilenirken, temel bazlı lipoteikoik asit (LTA) yapısı farklı türler serovarlar arasında nispeten korunmuş halde kalmaktadır (Sumrall ve ark., 2020).

Günümüzde *L. monocytogenes* 15 somatik antijen ve 4 flagella antijeni ile karakterize 13 serotipe sahiptir (Sumrall ve ark., 2020). *L. monocytogenes*'in serotipleri ve antijen yapısı Tablo 2.3'de verilmiştir.

Tablo 2.3. *L. monocitogenes*'in serotipleri ve antijen yapısı (Sjöman, 2010).

Serotip	O- antijen	H- antijen
1/2a	I, II(III)	
1/2b	I, II, (III)	
1/2c	I, II, (III)	
3a	II,(III),IV,(XII),(XIII)	
3b	II,(III),IV,(XII),(XIII)	
3c	(III),(V),VI, IX	
4a	(III),(V),VI, IX	
4ab	(III), V,VI, VII, IX, X	
4b	(III), V,VI	
4c	(III),V,VII	
4d	(III),(V),VI, VII	
4e	(III),V,VI,(VII),(IX)	
7	(III), XII, XIII	

Çeşitli genetik alt tiplendirme teknikleri kullanılarak, *L. monocitogenes* üç soya ayrılır:

- Soy I : 1/2b, 3b, 4b, 4d, 4e serovarlarını,
- Soy II : 1/2a, 1/2c, 3a, 3c serovarlarını,
- Soy III : 4a, 4c serovarlarını içermektedir.

Ayrıca soy III, üç alt gruba (IIIA, IIIB, IIIC) ayrılmaktadır. Alt grup IIIA, tipik ramnoz pozitif hastalık yapma yeteneği olmayan serovar 4a ve virülen serovar 4c suşlarından oluşmaktadır. Alt grup IIIB, bazıları serovar 7 ile ilgili olabilen, ama genel olarak atipik ramnoz negatif virülen 4a ve 4c olan suşlardan meydana gelmektedir. Alt grup IIIC ise, ramnoz negatif virülen serovar 4c suşlarını içermektedir (Liu ve ark., 2006; Parkash ve ark., 1998; Roberts ve ark., 2006; Wagner ve Mclauchlin, 2008). Bu farklı soyların izolatları arasında farklı bir patojenite derecesinin varlığı öne sürülmektedir (Wiedmann ve ark., 1997).

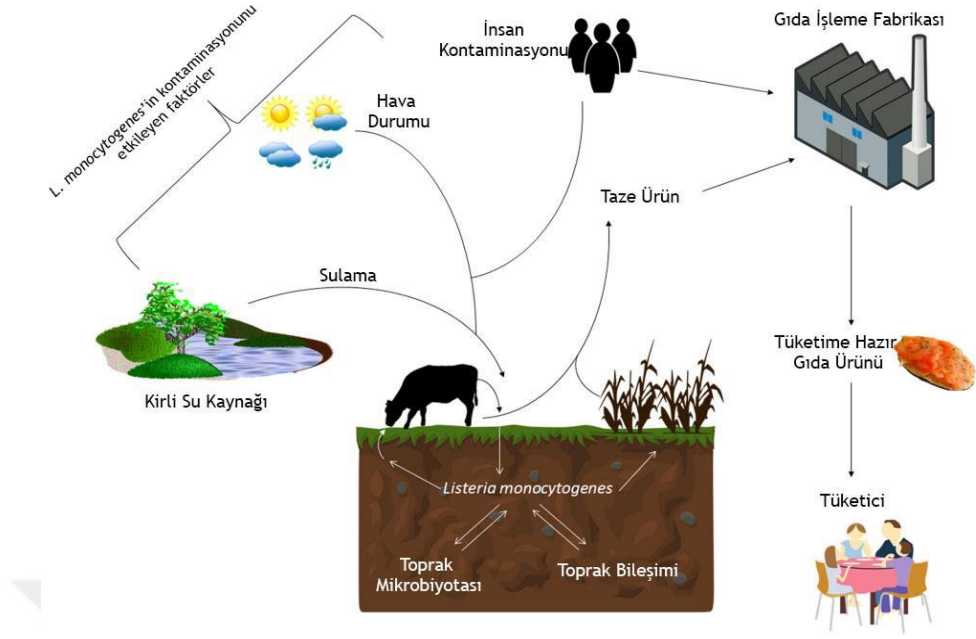
Serotiplendirme yardımıyla listeriosis salgınlarının %90'ının 1/2b ve 4b, 4e serotiplerinden kaynaklanırken, sporadik salgınlarda genellikle 1/2a ve 1/2c serotiplerinden kaynaklandığı bilinmektedir. Gıda işleme ortamlarında ise en yüksek derecede 1/2a serotipi gözlemlenirken 4b, 4e, 1/2b, 1/2c serovarları azda olsa bulunmaktadır (Leong ve ark., 2014; Shen ve ark., 2013).

Deneysel fare modellerinde, *L. monocytogenes* serovarları olan 4b, 1/2a, 1/2b ve 1/2c intragastrik ve intraperitoneal olarak uygulanmış, diğer serotiplerden daha yüksek enfektif özellik gösterdiği bildirilmiştir (Barbour ve ark., 2001). Ayrıca 1/2a, 1/2b ve 4b serovarlar dışındaki suşlara bağlı doğal sporadik enfeksiyonlar, nispeten seyrek olsalar da diğer serovarlara bağlı olan enfeksiyonlarla aynı şiddettedirler. Bu nedenle, hayvan ve doku kültür modellerinden elde edilen verilere doğal olarak oluşan enfeksiyona uygulamak için dikkatli olunması gerekmektedir (Collins ve ark., 1991; Feresu ve Jones, 1988; Hartford ve Sneath, 1993).

Serotiplendirme geleneksel ve ticari olarak temin edilebilen veya özel olarak üretilen antiserumlar kullanılarak aglütinasyon reaksiyonları ile gerçekleştirilir. Bu yöntemin sonucunu yorumlamak zor ve maliyetlidir. Zayıf olabilen veya reaksiyon olmamasına benzer durumlar görülebilir ve aglütinasyon reaksiyonun görsel yorumlarına dayanmaktadır. Yorumlardaki hata payının en düşük seviyelerde olması için bu testleri yapan personellerin eğitilmiş olması şarttır. Bu metod yerine günümüzde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) daha yaygın şekilde kullanılmakta ve bir suşun o grup içerisindeki hangi fenotipe ait olduğunu belirlemeye izin vermektedir (Doumith ve ark., 2004).

2.2. Kontaminasyon Kaynakları ve Yayılması

L. monocytogenes hem normal hem de stresli ortamlarda geniş ölçüde hayatta kalma ve çoğalma yeteneğine sahiptir (Sauders ve ark., 2012). Stresli ortamlarda da dahil her yerde bulunmaları, çeşitli yiyeceklerin ve ortamların kolayca kirlenmesine neden olmaktadır (Lomonaco ve ark., 2015). Patojenin genel olarak kontaminasyon yolları Şekil 2.1'de gösterilmektedir.



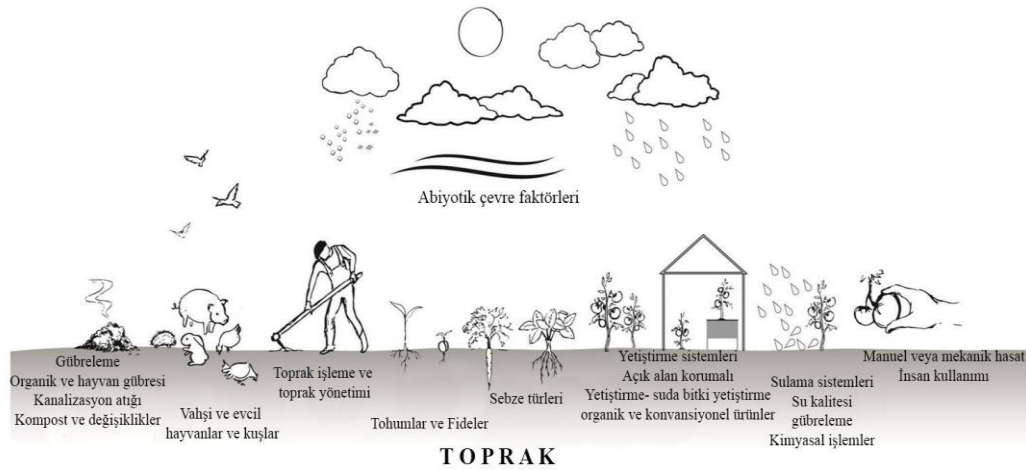
Şekil 2.1. *L. monocytogenes*'in ekosistemdeki kontaminasyon yolları (NicAogáin ve O'Byrne, 2016).

L. monocytogenes ve diğer *Listeria* türleri doğal ortamda bitki örtüsü ve toprakta yaygın olarak bulunmaktadır (Beuchat, 2002). Topraktaki *L. monocytogenes* varlığı çürüten bitki örtüsü, hayvan atıkları, hayvansal gübreler ve kanalizasyon gibi birçok farklı kaynaklardan ileri gelmektedir (NicAogáin ve O'Byrne, 2016). *L. monocytogenes*'in topraktaki ve gıdalarda belirli bir süre hayatta kalabilmesi toprak tipine, nem içeriğine, su aktivitesine, pH ve sıcaklık oranlarına göre değişmektedir (Sauer ve ark., 2019; Vivant ve ark., 2017). Locatelli ve ark. (2013), *L. monocytogenes*'in yüksek kil içeriğine sahip toprakta hayatta kalmasının daha yüksek olduğunu bildirmektedir. Bunun sebebinin ise uzun süreli hayatta kalma durumlarında daha dengeli kation içeriğine sahip olmaları ile açıklamışlardır.

L. monocytogenes'in hayatta kalması toprak bileşimine ve mevcut mikroflora gibi faktörlere bağlıdır (Pushkareva ve Ermolaeva, 2010). Organizmanın toprakta hayatta kalmasında coğrafi ve meteorolojik etkilerde mevcut olup, Şekil 2.2'de *L. monocytogenes*'in topraktaki kontaminasyon kaynakları ve Şekil 2.3'de ise çiftliklerdeki *L. monocytogenes*'in kontaminasyon döngüsü verilmektedir.

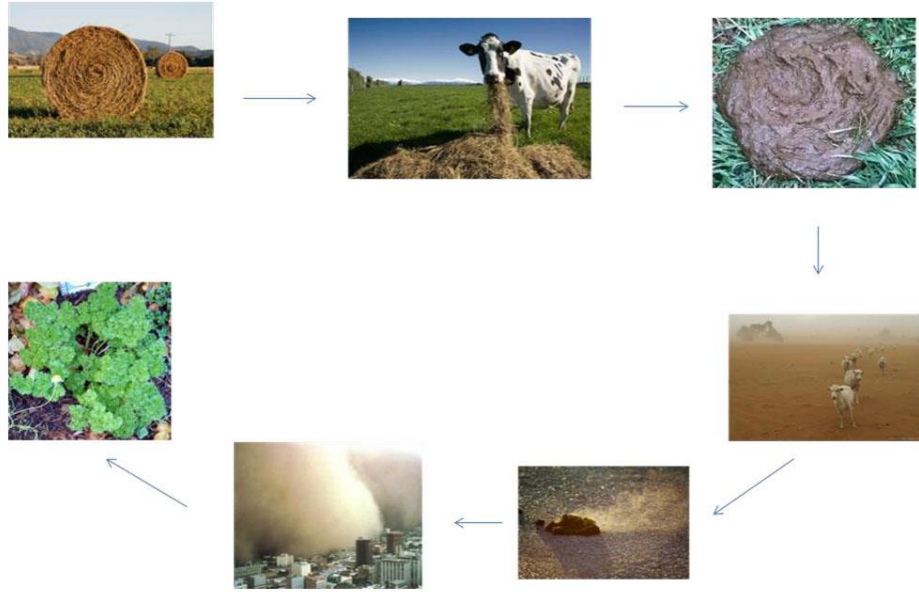
Weller ve ark. (2015), hasat öncesi ıspanağın kontaminasyonuna neden olan zamansal faktörleri incelemişlerdir. Sulama ve yağmur sonrası izole edilen *L. monocytogenes*'in, sulama sonrasında daha fazla arttığı ve 24 saat içerisinde en yüksek seviyelere ulaştığı bildirilmiştir. Aynı şekilde sulama hasat öncesi gıdaların kontaminasyonunda önemli bir risk faktörüdür (Genereux ve ark., 2015). *L. monocytogenes* için nehirler, göller, akarsular dahil olmak üzere çok çeşitli yüzey sularının rezervuar görevi gördüğü bildirilmektedir (Huss ve ark., 2000; Linke ve ark., 2014; Lyautey ve ark., 2007). Tienungoon ve Garland (1995), yaptığı çalışmada, balık işleme fabrikası atıklarından toplanan numunelerin %35 ila %100'ü, kıyı deniz sularından alınan numunelerin %6,6'sında *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Ayrıca pasifik istiridye ve mavi midyelerin %15'inde *L. monocytogenes* saptanmıştır (Fenlon, 1999). *L. monocytogenes*'in deniz suyunda hayatta kaldığı bildirilmektedir, ancak deniz suyunda hayatta kalabilmesi için bazı stres faktörlerinin (sıcaklık, ozmotik stres, protozoa tarafından avlanma, besin bulunabilirliği ve güneş ışığı) etkisi dikkate alınmalıdır (NicAogáin ve O'Byrne, 2016; Tedetti ve Sempéré, 2006).

Arıtma tesislerinden çıkan çamurun tarım alanlarını gübrelemek için kullanılması, insan ve hayvan tüketimindeki mahsüllerin *Listeria* ile kontaminasyonda önemli bir kaynağını oluşturmaktadır (Prazak ve ark., 2002; Vivant ve ark., 2013). Gübre olarak kullanılan materyallerin *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* spp. ile kontaminasyonunda önemli etkisi bulunmaktadır (Vázquez-Boland ve ark., 2001).



Şekil 2.2. *L. monocytogenes*'in topraktaki kontaminasyon kaynakları (Miceli ve Settanni, 2019).

Hazır, formüle edilmiş hayvan yemleri düşük seviyelerde *L. monocytogenes* içermektedir. Aynı şekilde saman ve tahıl tanelerinde de *L. monocytogenes* varlığı bildirilmiş olsa da enfektif dozlarının hayvanlarda ciddi bir risk oluşturan seviyeye ulaşmadığı bilinmektedir (Alvarez, 2019). Formüle edilmiş birçok yem palet şeklinde satışa sunulmaktadır ve *Listeria* spp. mevcut ise yüksek oranını öldürebilecek bir ısı işlem uygulanmaktadır. Asıl hayvan listeriosisi ile yakın ilişkisi olan silajdır (Oevermann ve ark., 2010). Birçok çalışmada silajın hayvanlar üzerindeki olumsuz etkileri bildirilmiştir (Oliveira ve ark., 2008; Pöntinen, 2019; Roberts ve Wiedmann, 2003; Sauders ve ark., 2006). Ot, mısır, tam mahsul tahılları veya baklagil bitkilerinden hazırlanan silajların uygun olmayan ortamlarındaki muhafazası ile kontaminasyon kaynağı olabilmektedir. Ancak, iyi korunmuş silajlarda düşük pH değerleri ile (<4.5 pH) *L. monocytogenes*'in çoğalması engellenmektedir (Pahlow ve ark., 2003). Soğuk ve nemli iklimlerde ot silajı, düşük şeker seviyeleri ve yüksek nem oranına sahip olmalarından dolayı zayıf ve yavaş bir fermentasyona neden olmaktadır. Bu silajlar, sıcak iklimlerdeki ot ve mısır silajlarına göre *L. monocytogenes* kontaminasyonuna ve çoğalmasına daha elverişli ve duyarlıdır (Santorum ve ark., 2012).



Şekil 2.3. Çiftliklerdeki *L. monocytogenes*'in kontaminasyon döngüsü (Premier, 2010).

L. monocytogenes'in yem maddelerini muhafaza etmek için kullanılan ambalaj materyalleri üzerinde de uzun süre hayatta kalabileceği gözlemlenmiştir (NicAogáin ve O'Byrne, 2016). Genel olarak silajlarda varlığı gözle görülebilen küflü alanlardan kaynaklanır ve beslenme öncesi bunlar fark edilip geriye kalan kısımdan uzaklaştırılırsa hayvanların daha yüksek oranda patojene maruz kalması engellenebilmektedir (Ryser ve ark., 1997). Sistemik listeriosis enfeksiyonuna ek olarak özellikle sığır ve koyunların kafalarını beslenme sistemlerindeki balya silajına gömdüklerinde kontamine olmuş ot saplarının neden olduğu aşınmalar ile göz enfekte ettikleri bildirilmektedir (Low ve Donachie, 1997; Rivera-Betancourt ve ark., 2004).

L. monocytogenes'in gıda üretim tesislerinde uzun süre hayatta kalabildiği belirtilmektedir. Ancak, kontaminasyon kaynağı genellikle bilinmemektedir. Patojenin kalıcılığı yani genel olarak uzun bir zaman boyunca aynı ortamdan izole edilmiş belirli bir alt tür varlığı olarak tanımlanmaktadır. Mikroorganizma gıda işleme ortamında uygun faktörler sonucu koloniler oluşturmakta ve uzun süre kalıcı olmaktadır (Carpentier ve Cerf, 2011; Ferreira ve ark., 2014). Gıda ürünlerindeki

kontaminasyonda önemli bir role sahip olan diğer bir etkende gıdadaki biyofilm oluşumudur (Pan ve ark., 2006). *L. monocytogenes* suşları, gıda işleme tesislerinde bulunan birçok materyale yapışarak bu ortamlarda uzun vadeli kalıcılıklarına izin vermektedir. Ayrıca kalıcı suşlar, yüksek riskli üretim alanlarında daha uzun süre (yıllar) boyunca hayatta kalabilmektedir (Beresford ve ark., 2001; Tompkin, 2002).

L. monocytogenes çevreye genellikle dışkı ile taşınmaktadır (DeLong, 2002). Kuzey İtalya’da 1997 yılında meydana gelen ilkokul öğrencileri ve personellerin etkilendiği kafeteryadaki kontamine mısır içeren yemek nedenli listeriosis vakası rapor edilmiştir. Maruz kalan 2189 kişiden 292’si hastaneye kaldırılmıştır. Hastaneye yatan bireylerden alınan 141 dışkı örneğinin 123’ünde *L. monocytogenes* patojeni izole edilmiştir (Aureli ve ark., 2000). ABD’de yapılan bir çalışmada ise 30 yaş altı bireylerin yaşlı bireylere oranla taşıma ve yayılımı daha yüksek oranlarla rol oynadığı bildirilmektedir (Koudelka ve ark., 2019). Aktif veya geçmişte sağlık sorunu yaşayan bağışıklığı düşük bireylerin *L. monocytogenes*’i dışkı ile taşımada rol oynadığı ve yüksek oranlar gösterdiği gözlemlenmiştir (Rivera-Betancourt ve ark., 2004). *L. monocytogenes*’in yayılmasının gebelik üzerindeki etkileri araştırıldığında, gebe olan ve gebe olmayan bireyler arasında patojenin yayılması arasında bir fark olmadığı belirtilmiştir (Anon, 2014; Holah ve ark., 2002; NicAogáin ve O’Byrne, 2016). Mesleki olarak *L. monocytogenes*’a maruz kalan bireylerde de yüksek oranda dışkı ile etkenin taşındığı bildirilmiştir. Özellikle laboratuvarında çalışan bireylerde yüksek oranlar bildirilsede, ortam ile teması olmayan ama aynı kurumdaki ofis çalışanlarında da aynı oranlar tespit edilmiştir (Matto ve ark., 2018).

2.3. Sebzelerde *Listeria* Türlerinin Varlığı

Taze ürün, meyve ve sebzelerde dahil olmak üzere çiftliklerden temin edilen bir grup mahsul için genelleştirilmiş bir terimdir. Meyve ve sebzelerin, dengeli beslenme programında temel bileşenler olduğu artık evrensel olarak kabul edilmektedir (Liu, 2013; Ramya ve Patel, 2019; Santos ve ark., 2012). Taze ürün tüketimi nispeten düşük kalorili olması, vitaminler, mineraller, diyet lifi ve

fitokimyasal bileşikler gibi temel bileşenleri sağladığından sağlık kurumları tarafından da yaygın olarak önerilmektedir (Liu, 2013; Ramya ve Patel, 2019). Ayrıca meyve ve sebze tüketimi; kronik hastalıkların, kalp hastalıklarının ve kanser riskinin azaltılması ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmektedir (Slavin ve Lloyd, 2012). Yetersiz meyve ve sebze tüketimi, dünya çapında kronik bulaşıcı olmayan hastalıkların artışına katkıda bulunmakta ve yılda 2,7 milyon kişinin ölümüne neden olan en büyük faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Bu sebeple Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) çeşitli ülkelerdeki birçok sağlık kuruluşu, günde 5 porsiyona eşdeğer 400 g sebze ve meyve alımını teşvik etmektedir (Aryani ve ark., 2015; Hall ve ark., 2009). Bu ürünlere yönelik artan talepler doğrultusunda minimum düzeyde işlenmiş kullanıma hazır veya tüketime hazır sebzeler pazarın genişlemesine neden olmaktadır (Little ve Gillespie, 2008; Olaimat ve Holley, 2012). Tüketime hazır taze sebzeler, tüm yıl boyunca küresel olarak üretilir, ticarileştirilir ve çiğ olarak genellikle başka yıkama - dekontaminasyon prosedürleri olmaksızın yenildikleri için gıda güvenliği tehditleri oluşturmaktadırlar (Little ve Gillespie, 2008).

Çiğ sebze ve meyvelerin normalde insan ve hayvan atıklarıyla kontamine olmadıkça, insan ve hayvan enterik patojeninden arınmış olması beklenmektedir (Beuchat ve ark., 2001). *L. monocytogenes*'in taze sebzeleri kontamine edebildiği çeşitli yollar mevcuttur. Gıda talebindeki küreselleşmeye yol açan tarımsal uygulamalar, işleme, koruma, dağıtım ve pazarlamadaki ilerlemelerin patojenlerin geniş coğrafi alanlara yayılmasında önemli tehlikeleri ortaya çıkartmaktadır. Böylelikle *L. monocytogenes*'in taze ürünlerdeki potansiyel varlığı halk sağlığında ciddi bir sorun haline gelmektedir (Beuchat, 1996). Son yıllarda yeşil yapraklı sebzeler ile ilişkili gıda kaynaklı patojenlerin neden olduğu insan gastroenterit salgınlarının sayısı ve bunlarla hazırlanmış hazır salataların tüketimi tüm dünyada artmıştır. ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi (CDC) tarafından bildirilen enfeksiyon salgınlarında çeşitli yeşil yapraklı sebzeler suçlanmış ve bunun beraberinde bu salgın oranlarının artan tüketimle açıklanabilecek olanın ötesinde bir seviyede artış gözlemlenmiştir (Beuchat, 2002; Tan ve ark., 2019).

Pek çok ülkede, yeşil yapraklı sebzeler ve hazır salatalar genel olarak 24 saati geçmeyecek şekilde ve kullanıma hazır olarak endüstriyel ölçekte üretilmektedir (da Costa Neto, 2015). Hazır salatalarda kullanılan yeşil yapraklı sebzeler, minimum işlemden sonra yerel mikrofloranın çoğunu korunmaktadır ve bu nedenle potansiyel bir gıda güvenliği sorunu oluşturmaktadır (Francis ve ark., 1999). Küresel ölçekte işleme, koruma, dağıtım ve pazarlama alanında gelişen teknoloji şüphesiz ürün endüstrisinin yıl boyunca satın almak isteyenlere neredeyse her çeşit yeşil yapraklı sebzenin tedarik edilmesini sağlamaktadır. Ayrıca bir kısım yeşil yapraklı sebzeler yaygın olarak yetiştirilmediği ülkeleri de tanıtmakta ve böylelikle ithalatlardaki büyük artışlar sadece yazın değil dört mevsim olarak tüketimi artmaktadır. Bu durum aynı zamanda çok çeşitli gıda kaynaklı patojenlerle ilişkili olarak insan hastalıkları riskini de beraberinde getirmektedir (Beuchat, 2002; Rico ve ark., 2007; Tan ve ark., 2019). Sebzelerden izole edilen *L. monocytogenes* salgınları Tablo 2.4’de verilmiştir. Yeşil yapraklı sebzelerin yetiştirildiği arazinin yeri ve geçmişi yemeğe hazır salataların güvenliğini etkileyen temel faktörlerdendir (Micelli ve Settani, 2019; Rico ve ark., 2007). Hasat sırasında insan ve mekanik temas, patojenik bakterilerin hasat edilen yeşil yapraklı sebzelere bulaşmasında önemli role sahiptir (Micelli ve Settani, 2019). Yeşil yapraklı sebzelerin bütün olarak paketlenildiği dış yapraklarının yıkanarak ve yüzeylerindeki kirlerin çıkartılması ambalajlanmadan kesilmesi, birkaç kez yıkanması veya kesilmeden poşetlenmesi gibi ülke içinde ve ülkeler arasında farklılık gösteren çeşitli şekillerde yetiştirilmekte ve işlenmektedir (da Costa Neto, 2015).

Türkiye’de ve birçok ülkede yapılan çalışmalar, sebzelerde farklı *Listeria* türleri ile kontamine olduğunu ortaya koymaktadır. Yapılan bir çalışmada; brokoli, tatlı yeşil biber, soğan, mantar ve bezelyede 1/2a, 1/2b ve 4b serotiplerinin ısıl direnci belirlenmiş ve en yüksek değer bezelyeden elde edilmiştir. Brokoli, havuç, karnabahar gibi sert sebzeler ısıl işleme daha dayanıklı olduğu ve bakterinin yüksek sıcaklıkta uzun zaman etkilenmediği bildirilmiştir (Mazotta, 2001).

Tablo 2.4. Sebzelerden izole edilen *L. monocytogenes* salgınları (Chaves ve ark., 2016).

Gıda Ürünü	Yıl	Ülke	Analiz Edilen Materyal Sayısı/ Pozitif Sonuç Sayısı (İnsidans Yüzdesi)
Tüketime Hazır Su	2001	Brezilya	50/2 (%4,0)
Teresi	2007	Türkiye	20/1 (%5,0)
	2008	Brezilya	18/1 (%5,6)
	2011	Brezilya	172/1 (%0,6)
Marul	2001	Brezilya	100/4 (%4,0)
	2001	İspanya	10/1 (%10,0)
	2002	Norveç	10/1 (%10,0)
Tüketime Hazır	2001	İspanya	152/3 (%2,0)
Marul	2008	Brezilya	30/1 (%3,3)
Tüketime Hazır	2009	Brezilya	14/1 (%0,9)
Lahana			
Hindiba	2006-2007	Hollanda	13/3 (%23,1)
Escarole (Yaprak	2008	Brezilya	172/1 (%0,6)
Sebze)	2011	Brezilya	13/1 (%7,7)
Tüketime Hazır	2000-2005	Şili	181/1 (%23,1)
Ispanak	2004	Brezilya	11/1 (%0,6)
	2008	Brezilya	334/19 (%6,0)
	2014	ABD	8/3 (%37,5)
Tüketime Hazır	2007	Türkiye	214/2 (%0,9)
Fesleğen			
Tüketime Hazır	2008	Brezilya	19/1 (%5,3)
Karışık Yeşillik			
Tüketime Hazır	2009-2010	Hırvatistan	50/2 (%4,0)
Lahana			
Roka	2013	Yunanistan	19/2 (%10,5)
	2001	Brezilya	22/1 (%4,5)
Maydanoz	2007	Türkiye	19/2 (%10,5)
	2009	Brezilya	22/1 (%4,5)
Fasulye Filizi	2014	ABD	5/2 (%40)
Paket Salata	2016	ABD	19/1 (%5,3)
Enoki Mantarı	2020	Güney Kore	36/4 (%11,11)

2.4. *Listeria* spp. İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

L. monocytogenes her yerde bulunması, çeşitli çevresel koşullarda hayatta kalma yeteneği, hastalık şiddeti, yüksek vaka ve ölüm oranı nedeni ile ciddi bir halk sağlığı tehdidinde sebebiyet vermektedir (Drolia ve Bhunia, 2019; FSAI, 2011). Ayrıca listeriosis, birçok ülkede bildirilmeyen hastalık durumu ve yeterli olmayan sörveyans programlarının olması nedeni ile muhtemelen eksik bildirilen bir enfeksiyondur (Gillespie ve ark., 2010). Diğer bakteriyel gıda kaynaklı hastalıklarla karşılaştırıldığında, nispeten düşük insidans ve uzun inkübasyon süresinde dahil olmak üzere listeriosisin çeşitli özellikleri sebebi ile salgınlara tanımlanması oldukça zordur (Painter ve Slutsker, 2007).

Farklı bakteri izolatlarının ayırt edilmesine yönelik tiplendirme yöntemleri salgın araştırmasında temel epidemiyolojik araştırmalardır. PFGE, *L. monocytogenes* için moleküler tiplendirme yöntemi arasında “altın standart” olarak kabul edilmektedir (Jordan ve ark., 2015). Bakteriye ait suşların epidemiyolojik farklılıklarının geleneksel hızlı tespiti için fenotipik ve genotipik karakterizasyonlar kullanılarak filogenetik ve alt tiplendirme alanlarında birçok yöntem mevcuttur (Koudelka ve ark., 2019; Wagner ve Allerberger, 2003; Ward ve ark., 2004). Bu yöntemler arasında moleküler tabanlı olarak tek lokus dizisi tiplendirme, multilokus dizisi tiplendirme, genomik hibridizasyon, sınırlı parça uzunluk polimorfizmi, genomların yeni nesil dizilimi yöntemleri izolatların ilişkisi incelemektedir (Moura ve ark., 2017; Rychli ve ark., 2014). Bu yöntemler bir salgının içerisinde yer alan suşları ve dahil olmayan diğer türlerin spesifik olarak belirlenmesi ve izlenmesi için güvenilir bir yoldur (Aalto-Araneda ve ark., 2019).

Alt tiplendirmeye dayalı olarak, *L. monocytogenes* suşları birbirinden farklı ancak örtüşen ekolojik nişlere sahip en az 4 genetik grup veya evrensel soy olarak kategorize edilmektedir (Linke ve ark., 2014; Orsi ve ark., 2011). Soy I suşları klonaldır. 1/2b, 3b, 3c ve 4b serotiplerini içerir ve klinik insan vakalarından en fazla gözükten serotiplerdir. Soy II suşları yatay gen transferinden dolayı daha çok çeşitlilik göstermektedir. 1/2a, 1/2c ve 3a serotiplerini içerir ve genellikle gıda ile

ilişkili ortamlardan izole edilmektedir. Doğal ortamlarda yaygınlık göstermektedir. Sıklıkla listeriosisli hayvan ve sporadik insan vakalarından elde edilmektedir (Gray ve ark., 2004; Linke ve ark., 2014; Ramaswamy ve ark., 2007; Wiedmann, 2002). Soy III ve IV suşları nadirdir. Genel olarak hayvansal gıda üretiminde yer alan hayvanlardan izole edilir ve insan klinik vakalarında minimum düzeylerde karşılaşılmaktadır (McCollum ve ark., 2013). Gıdalardaki ve gıda ile ilgili ortamlardaki Soy II suşlarının üstünlüğü, gıda tesislerinde ve ekipmanlarında hayatta kalma ve kalıcılık kapasitesinin artması ile doğru orantılıdır (Lomonaco ve ark., 2015).

ABD’de dilimlenmiş ve işlenmiş hindi eti ile ilişkili 2000 yılında, 1/2a *L. monocytogenes* Soy II türünün neden ulusal bir salgınla karşılaşıldığı bildirilmiştir. Geriye dönük kontrol çalışmasında, enfeksiyon kaynağı olarak bir bitki tanımlamıştır. Aynı tesiste 1988’de bir listeriosis vakası görülmüştür ve bunun sonucu bakteri tesiste en az 12 yıldır devamlılığını sağladığı sonucuna varılmıştır (Olsen ve ark., 2005; Orsi ve ark., 2011).

Listeriosis insidansının çoğu gelişmiş ülkelerde milyon kişi başına 2 ile 4 vaka arasında değiştiğine inanılmaktadır (Malley ve ark., 2015). Farklı ülkelerdeki mevcut listeriosis insidansı demografik değişikliklerden etkilenebilmektedir. Genel olarak, küresel nüfus yaşlanmaktadır ve özellikle gelişmiş ülkelerde yaşam beklentisi daha yüksektir. Böylelikle yaşlı bireylerin kronik rahatsızlıklara sahip olma şansı daha yüksektir ve gıda kaynaklı listeriosis için riskli grup olarak kabul görmektedir. Bu sebeple yaşlı nüfusun yoğunluğu listeriosis vaka sayılarını doğrudan etkilemektedir (Lahou ve ark., 2015; Swaminathan ve Gerner-Smidt, 2007). Avrupa ve ABD’de listeriosisin hamile kadınlarda ve yaşlı bireyleri etkilediği, bireylerin altta yatan hastalıklarından dolayı daha çok acı çektiği ve ölüm oranlarının yüksekliği gözlenmiştir (Lahou ve ark., 2015). Çağdaş yaşam tarzının neden olduğu hazır gıda tüketim kalıpları ve son yıllardaki gıda piyasasında artan popülerlik ile rahatlık avantajıyla her yaş grubunun tüketimi için üretilen hazır gıdalar salgınlarda önemli bir faktördür (Alía ve ark., 2020). Sosyoekonomik koşullar ve gıda kaynaklı listeriosis ile ilişkili yapılan çalışmalarda, 60 yaş ve üzeri

kişilerde ve ekonomik olarak yoksun, yerel hizmetlerden yiyecek alan, ülkenin temel ihtiyaç hizmetlerinden mahrum bölgelerinde yaşayan insanlarda listeriosis görülme sıklığının en yüksek olduğu bildirilmiştir (Gillespie ve ark., 2010). Salgınlar coğrafi bölgeye göre değişiklik göstermektedir. Yapılan araştırmada San Fransisco'daki vaka sayısı oranları Oklahoma'daki sayının iki katıdır (Nguyen-the ve Carlin, 1994). Los Angeles'da 1986 yılında ise hamile bireylere ait en yüksek vaka sayısı gözlemlenmiştir (Schlech ve Acheson, 2000). Bölgedeki vakaların her yıl toplam sayısının 3'te 1'inin hamile bireylerde görülmüş ve bu bireylerden izole edilen serotipler %43 4b, %35 1/2b ve %20 1/2a oranlarında tespit edilmiştir (Abdellaoui ve ark., 2020).

Salgınlara karışan en yaygın gıdalar arasında kabuklu deniz ürünleri, peynir, et ve et ürünleri ve çiğ olarak tüketilen ya da minimum işlem görmüş çiftlik ürünleri olan meyve ve sebzelerdir (EFSA, 2018). Listeriosis'in gıda kaynaklı bir hastalık olabileceğine dair ilk ikna edici kanıt 1981'de Kanada'daki denizcilik illerinde (Prince Edward Island, Nova Scotia ve New Brunswick) ticari olarak hazırlanmış lahana salatasından kaynaklanmıştır (Madhavi, 2018; Schlech ve Acheson, 2000). Bu illerde 6 aylık bir süre içinde 34 gebelik ile ilişkili vaka ve hamile olmayan yetişkinlerde 7 vaka meydana gelmiştir. Canlı doğan bebeklerin ölüm oranı %27, yetişkinlerde ölüm oranı %28,6 olarak kayıtlara geçmiştir (Koutsoumanis ve ark., 2020; Olaimat ve ark., 2018). Vaka ve kontrol hastaları arasında yapılan bir araştırmada, vaka hastalarının salgının başlangıcından önceki 3 ay boyunca lahana salatası tüketme olasılığının yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bir hastanın buzdolabından temin edilen lahana salatası, epidemik suşun serotipi olan ve hastanın kanından izole edilen *L. monocytogenes* suşu serotip 4b için pozitif sonuç vermiştir (Hadjilouka ve ark., 2018; Painter ve Slutsker, 2007). Lahana salatası; lahana ve havuç ile hazırlanmış, toptancılardan ve yerel çiftçilerden temin edilmiştir. Üretim süreci incelendiğinde, lahana salatasında kullanılan lahananın yetiştirildiği çiftlikte koyun sürüsünün de olduğu ve koyunlarda listeriosis vakalarının meydana geldiği bildirilmiştir. Ayrıca, lahanaların yetiştirildiği tarlalarda taze koyun gübresi uygulanmış olduğu da belirtilmiştir. Kontamine edilen lahanalar kış ve ilkbahar boyunca barakada saklanmış ve *L. monocytogenes*'in

çoğalması potansiyel olarak arttırmıştır. Listeriosis'i gıda kaynaklı bir hastalık olarak belirlemenin yanı sıra bu salgın pışmemiş sebzelerin bir enfeksiyon kaynağı olma potansiyelini de vurgulamıştır (EFSA, 2013; Koutsoumanis ve ark., 2020). Listeriosis görülen 20 kişide 26 ay boyunca izolatlar serotiplendirilmiş, 9'unda %33 oranında serotip 4b'den kaynaklandığı bildirilmiştir. Hastaların 10'unda bağışıklığın baskılanmış olduğu belirtilmiş ve hastalar içerisindeki 5 kişi ölmüştür (Garner ve Kathariou, 2016).

Tektaş'da 2010 yılında 7 ay süren ve 5 hastaneyi kapsayan bir listeriosis vakası meydana gelmiş, salgınla ilgili 10 hasta belirlenmiş ve salgının *L. monocytogenes* sebebiyetli olduğunu doğrulayan örneklerin ilk toplanma tarihinden itibaren 3 ay içinde 5 hastanın öldüğü kayıtlara geçmiştir. Bu 5 hastanın 2'sinin ölümünde ikincil enfeksiyon olarak *L. monocytogenes* bulunurken, diğer 3 hastanın ölüm belgelerinde anlık veya ikincil enfeksiyon nedeni olarak tanımlanmıştır. Hastaların tıbbi geçmişleri kontrol edildiğinde hastalığın kuluçka döneminde bir bakım hastanesini ziyaret ettikleri gözlemlenmiştir. Tüm hastaların birden fazla hastanede sağlanan bir gıda maddesinden listeriosis aldığı hipotezine yol açmıştır. Hastaneler üzerinde yapılan ankette 5 hastanenin aynı dağıtıcıyı kullandığı belirlenmiş ve salgın vakalarının 9'unun ürün işleme tesisi ile bağlantısı belirlenmiştir. Bu hastaneleri ziyaret eden veya kabul edilen hastalar listeriosis'in kuluçka döneminde tesisin doğranmış kerevizini tüketmiştir. Şirket 2011'de kapatılmış ve başka bir vaka tespit edilmemiştir. Tesiste kullanılan kerevizler başka bir eyalette yetiştirilmiş, ülke çapında dağıtılmıştır (Gaul ve ark., 2013).

ABD tarihindeki en kötü gıda kaynaklı listeriosis salgını, Kolorado'da 2011 yılında gerçekleşmiştir. Bu salgının temeli Kolorado'daki tek bir çiftlikteki kavunlar ile bağlantılıdır. Raporlara göre 143 hastaneye yatış, 33 ölüm ve 1 düşük kayıtlara geçmiştir. Ayrıca 28 eyalette 147 enfekte kişi bildirilmiştir (CDC, 2014).

Listeriosis insidansını tahmin etmek zordur ve tahminler sporadik vakaları tanımlamak üzere kullanılan yöntemlere bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir (Painter ve Slutsker, 2007). Uygun sürveyans sistemlerine sahip

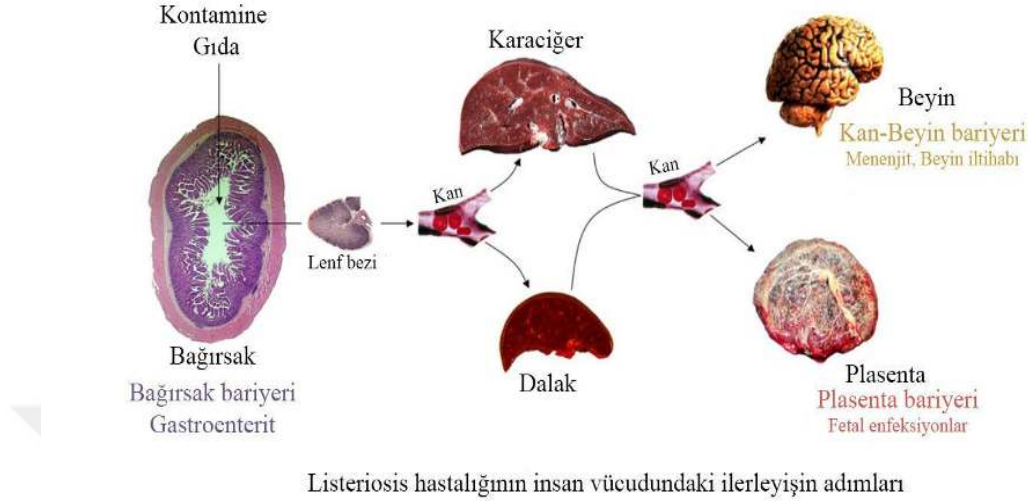
lkelerde bile, sadece hastaneye yatmayı gerektiren invazif *L. monocytogenes* enfeksiyonları rapor edilmektedir (Todd ve Notermans., 2011). ABD’de sporadik listeriosis vakalarının tahmini bir sayı elde etmek için gönüllü hastalık bildirimi ve hastaneden taburcu etme verileri kullanılmıştır (Barth ve ark., 2009). Mead ve ark. (1999), listeriosis vakalarının gerçek sayılarının rapor edilen sayılardan iki kat daha fazla olduğunu varsayımda bulunmuşlardır. Bu varsayımlara göre yılda 2518 vaka, 2322 hastaneye yatış ve 506 ölüm mevcuttur (Doumith ve ark., 2004). İngiltere ve Galler’de yılda tahmini olarak 194 vaka olduğu tahmin edilmekte, 2000 yılında ise 194 hastaneye yatış ve 68 ölüm kayıtlara geçmiştir (Schlech ve Acheson, 2000). Ulusal orandaki farklılıklar, her ülkede vaka tespiti ve raporlama için kullanılan yöntemler bağlamında yorumlanmalıdır. İnsidansları tahmin ederken tutarlı bir vaka kontrol çalışması olmadan, salgınları değerlendirmek ve ülkeler arası oranları karşılaştırmada zorluk yaşanmaktadır (Painter ve Slutsker, 2007).

Genel olarak sporadik insan listeriosis vakalarından çeşitli *L. monocytogenes* alt tiplerinin sorumlu olduğu ortaya konulmuştur. İnsanlarda gözlenen hastalık ile ilişkili alt tiplerin çoğu veya bir kısmı gıda işleme ve doğal ortamlardan izole edilmiştir (Ferreira ve ark., 2014; Lomonaco ve ark., 2015). Çiftlik ortamları, gıda işleme ortamlarının da *L. monocytogenes* ile kontamine olmasına hizmet etmektedir (ILSI, 2005; Kathariou, 2002).

2.5. *Listeria* İnfeksiyonlarının Patogenezi

Gastrointestinal sistem, *L. monocytogenes*’in konağa girişinin ana kapısıdır (Low ve Donachie, 1997; Radoshevich ve Cossart, 2018). Listeriosis hastalığının insan vücudundaki ilerleyişi şekil 2.4’de gösterilmektedir. Diğer olası enfeksiyon yolları arasında kontamine gıda yoluyla enfeksiyonu edinen anneden transplasental dikey geçiş ile yavruya aktarımı ve deri yoluyla doğrudan bulaşma (zellikle enfeksiyona sahip hayvanların genital salgılarına maruz kalan bireylerde) yer almaktadır (González-Zorn ve ark., 1999; Holah ve ark., 2002; Vázquez-Boland ve ark., 2001). Ayrıca geviş getiren hayvanlarda, gıda kaynaklı bazı listeriosis formlarında hücreden hücreye yayılma ve kranial sinirler aracılığıyla ağızdan,

nazofarenksten ve hatta gözdeki sinir terminallerinin invazyonu da enfeksiyon edinim yolları arasındadır (Radoshevich ve Cossart, 2018).



Şekil 2.4. Listeriosis hastalığının insan vücudundaki ilerleyişi (Lecuit, 2007).

L. monocytogenes'in gastrointestinal sistem aracılığıyla bağırsak mukozasından alınarak konakçıda enfeksiyon oluşturmada 2 mekanizmanın sorumlu olduğu bildirilmektedir. Birincisi mikrovillinin emici epitelini kaplayan enterositlerin doğrudan istilasına ile bağırsak hücrelerinde enfeksiyon gelişmesi; ikinci geçiş yolu peyer plaklarında makrofaj hücreleri tarafından fagositozunu içermektedir (Corr ve ark., 2006; Drolia ve Bhunia, 2019).

Makrofajlar ve epitel hücreleri, memeli konak hücreleri ile *L. monocytogenes*'in etkileşimini incelemeye yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca diğer konakçı hücreler arasında; nötrofiller, dendritik hücreler, hepatositler, fibroblastlar, glial hücreler ve endotelial hücrelerde görev yaptığı bilinmektedir (Bierne ve ark., 2007). Makrofajlar, *L. monocytogenes*'i yutar, ancak normalde fagositik olmayan hücreler tarafından bakterinin özümsemesi üzerine, patojen olan bakteriye özgü faktörler tarafından tetiklenir. Bu özümseme olayının yanı sıra bakteri fagositik veya fagositik olmayan memeli hücrelerindeki yaşam döngüsü aynıdır (Wagner ve Mclauchlin, 2008). Bakteriye hapseden mikrovillilerin emisyonu ve bakteri yüzeyinin konak hücre plazma membranı ile karakterize olan fermuar

benzeri fagositoz yolu ile giriş gerçekleşmektedir. Sonrasında patojen, gözenek oluşturuucu hemolisin, listeriolisin ve 2-fosfolipazın bileşik etkisiyle parçalanarak zara bağlı bir vakuolde görünmektedir. Sitoplazmaya salınan bakteriler, bu konakçı hücreden karbonhidrat elde etmesi için taşıyıcıları kullanarak çoğalırken, fagozomda kalanlar öldürülmekte ve sindirilmektedir (Lamond ve Freitag., 2018; Radoshevich ve Cossart, 2018). Hücre içi replikasyonun başlamasıyla birlikte patojen hücresel kompleksinin aktivasyonu yoluyla konak aktin filamentlerinin çekirdeklenmesindeki yüzey proteinlerini indüklenmektedir. Kutupsal bir kuyruğun oluşumu ve bakteriyi sitoplazma boyunca hareket ettiren itici bir kuvvet üretilmektedir. Plazma zarına ulaşan bu bakteriler ucunda bakteri bulunan yalancı ayaklı benzeri yapıların oluşumunu indükleyerek dışarı itmektir. Bir istilacı yalancı ayaklar, komşu hücreler tarafından alınmaktadır. Oluşan vakuoller, rekombinant listeriolisin O (LLO) ve fosfolipazlar tarafından parçalanır, bakteri yeni enfekte olmuş konak hücrelerine salınarak yeni bir replikasyon ile aktin bazlı hareketlilik döngüsü başlatmaktadır. Bu olay hücreden hücreye doğrudan istila mekanizması olup bakteriyi konakçı kompartmanından ayırmadan, immun sistemden ve fagositozdan koruyarak konakçıdaki diğer dokulara yayılımını sağlamaktadır (Ferreira ve ark., 2014; Khelef ve ark., 2006; Lamond ve Freitag, 2018; Radoshevich ve Cossart, 2018).

Patojenin konak canlıya ilk giriş mekanizması farklılık gösterse de, bakteriler giriş sonrası gastrointestinal sistemdeki subepitelyal foliküler dokudaki enflamatuvar odaklarında bulunmaktadır (Jeon ve ark., 2001; Kathariou, 2002). Patojenin birinci hedef organında mezenterik lenf düğümlerinden lenfahematojen yayılım ile ulaştığı dalak ve karaciğer yer almaktadır. Hayvan enfeksiyon modelleri bu durumun oral alım sonrası ilk 24 saatte gerçekleştiğini göstermektedir (Drevets ve Bronze, 2008; Hamon ve ark., 2006; Ryndak ve Laal, 2019). Bakteriyel yükün çoğunluğu karaciğer parankiminde yerleşmektedir. Hepatositler, hem reseptör aracılı içselleştirme hem de hücre içi replikasyon açısından *L. monocytogenes*'e izin vermektedir ve bağırsak translokasyonundan sonraki ikincil çoğalma ana bölgesidir. Bu bölgeler hemen nötrofillerle arkasından makrofajlarla çevrelenerek tipik piyogranülomatoz lezyonlar meydana getirmektedir (Lobel ve

Herskovits, 2016; Povolyaeva ve ark., 2020; Suárez ve ark., 2001). Geriye kalan kısım dalakta lokalize olmaktadır. Etken dalakta hücrelerin apoptozunu indükler, hem yardımcı T hücreleri (CD4) hem de sitotoksik T hücrelerinin (CD8) tükenmesinden dolayı B lenfositlerinde gerileme olmaktadır. Bu durum konakçıda doğuştan gelen bağışıklık sistemini çökerterek bakterinin çoğalıp, büyümesinde ortam yaratmaktadır (Carrero ve ark., 2004; Marco ve ark., 1992; Pamer, 2004; Radoshevich ve Cossart, 2018).

Vücut direnci yeterli olan bir konakçıda CD8 lenfositlerinin varlığının yeterli düzeyde olması birincil hedef organdaki subklinik belirti olan piyogranülomların enfeksiyonun altıncı ve yedinci günlerinde tamamen çözünmesine neden olmaktadır (Pamer, 2004). Patojenin gıdadaki enfektif dozunun yüksekliği göz önüne alındığında, bu subklinik enfeksiyonlar sürekli ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle doğal bağışıklığın etkisi ile düşük bir listeriosis insidansına neden olmaktadır (Hof, 2001). Hücrel immun sistemi zayıf olan konakçılarda birincil bulaşıcı odaklar hızlıca yayılarak, bakterinin kan dolaşımına salınmasıyla sonuçlanmaktadır. Düşük seviyeli bakteriyeminin süresi uzarsa enfeksiyon, sistemik hastalık veya beyin ve fetoplesental lokalize enfeksiyon şeklinde klinik listeriosise dönüşmektedir (Freitag ve ark., 2009; Lamont ve ark., 2011). Bakterinin vücuda yayılımındaki en önemli etkenin enfekte olmuş fagositlerin içinde taşınarak “Truva Atı” mekanizmasını kullanmasıdır (Brockstedt ve ark., 2004; Rengarajan ve ark., 2016). Böylelikle önce bağırsak bariyerini geçer ve ardından birincil hedef organda çoğalır. Son olarak klinik semptom gösterdiği enfeksiyon sürecinde ikincil hedef organındaki birçok engeli geçerek endotelial bariyer ve özellikle beyinde mikrokapilleri ile maternofetal bariyer oluşturmakta ve çoğalma göstermektedir (Scallan ve ark., 2011b). *L. monocytogenes* enfeksiyonunun ciddiyeti ve klinik sonucu; konağın temeldeki durumu ve immünolojik durumu, enfekte edici suşun patojenik özellikleri ve virulansı, gıda ile alınan bakteri sayısına bağlıdır (Cabanès ve ark., 2002; Pillich ve ark., 2015).

Genetik hastalığa, otoimmun hastalığa yatkınlığı olmayan vücut direnci yeterli bireylerde, düşük ile orta dozda *L. monocytogenes* ($\leq 10^5$ kob), bağışıklık

sistemini güçlendirme etkisinden başka bir olaya neden olmamaktadır. Akut ateşli gastroenterit salgınlara neden olan gıdalardaki *L. monocytogenes* yoğunluğu 3×10^1 kob/g ile $1,6 \times 10^9$ kob/g arasında değişiklik göstermektedir (Radoshevich ve Cossart, 2018; Wiernasz ve ark., 2017). Duyarlı kişilerde invaziv hastalığa neden olan bakterinin enfektif dozu tam olarak bilinmemektedir, ancak çok düşük olduğu düşünülmektedir. Bunun nedeni ise bakterinin neden olduğu ateşli gastroenterit insidansının tespitinin zorluğudur. Çünkü ishalli kişilerden alınan dışkı örneklerinde *L. monocytogenes* nadiren kültürlenebilmektedir (Wiernasz ve ark., 2017).

2.6. İnsanlarda Listeriosis ve Klinik Belirtileri

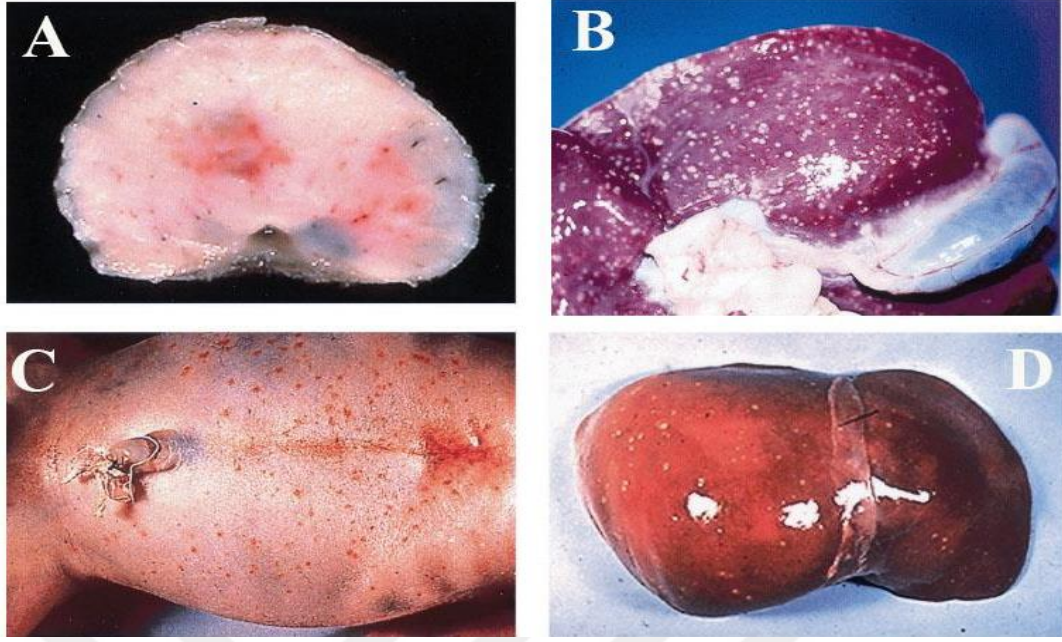
L. monocytogenes, konakçı dokuyu kolonize olabilen ve çoklu sistemi etkileyen invazif bir patojendir (Olaimat ve ark., 2018; Vázquez-Boland ve ark., 2001). İlk olarak 1980'lerde gıda tüketimiyle ilişkili olduğu ve insan listeriosisinin neredeyse tüm vakalarının da gıda kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Muchaamba ve ark., 2020a; Scallan ve ark., 2011b; Vázquez-Boland ve ark., 2017). Listeriosis gıda kaynaklı hastalıkların hastaneye yatışlarının %38'ini, gıda kaynaklı hastalık ölümlerinin %27,6'sını oluşturmaktadır (Hoffmann ve ark., 2012).

L. monocytogenes'in neden olduğu insan listeriosisinde hamile kadınlar, yeni doğanlar ve bağışıklığı baskılanmış yetişkinler yüksek risk grupları arasındadır (Jordan ve ark., 2015; Li ve ark., 2018).

Hamile olmayan yetişkinlerde listeriosis vakalarının %50-70'inde tipik olarak menenjit veya en sık olarak meningoensefalit şeklinde ortaya çıkan merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonu ile ilişkilidir (Liu, 2013; Vissing ve ark., 2019). Erişkinlerde 103 akut bakteriyel menenjit vakalarında yapılan araştırmada *L. monocytogenes*'in vakaların genel olarak %10'unu oluşturduğu ve izole edilen 2. en sık bakteri olduğu gözlemlenmiştir (Hussein ve Shafran, 2000). Hamile olmayan yetişkinler en sık sepsis, menenjit ve meningoensefalit ile hastaneye başvurmaktadır. Semptomlar içerisinde ateş, halsizlik, ataksi, nöbetler ve değişen zihin durumu da yer almaktadır. Diğer patojenlere bağlı menenjitlerin tersine

listeriosisli menenjit hastaların 1/3'ünde başta meningeal belirti göstermez ancak bu tutum hayvanlarda (geviş getirenlerde) daha yaygındır (Li ve ark., 2018; Vissing ve ark., 2019). Ayrıca beyin apsesi listerial MSS enfeksiyonlarının yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (Vázquez-Boland ve ark., 2001). *L. monocytogenes* popülasyonda bakteriyel menenjitin en yaygın 3. nedenidir ve kanser hastaları gibi bazı risk gruplarında bakteriyel menenjit nedenleri arasında ilk sıradadır (Schuppler ve Loessner, 2010; Vázquez-Boland ve ark., 2001).

Yetişkin hastalarda *L. monocytogenes* enfeksiyonlarının en yaygın ikinci bulgusu bakteriyemidir. Bu durum genellikle tedaviye iyi yanıt verir. Prognoz yüksek oranlarda hastanın koşullarına bağlıdır ve akut sepsisemi gelişen ciddi şekilde bağışıklığı zayıflamış bireylerde %70'e varan ölüm oranı bildirilmiştir (Oyinloye ve ark., 2018). Bakteriyemili hastalarda ateş genellikle mevcuttur. Keyifsizlik, yorgunluk ve karın ağrısı gibi spesifik olmayan belirtilerde gözlenebilir. Beyin omurilik üzerinde yapılan testlerde sıvı içerisindeki akyuvar, farklı glikoz ve protein seviyeleri büyük ölçüde değişiklik gösterdiğinden sıvı profili listerial menenjit için ayırt edici özellik taşımamaktadır (Painter ve Slutsker, 2007). Bildirilen vakaların %80 pozitif kan kültürüne sahip olduğu ayrıca %50'sinin de MSS anormallikleri gösterdiği belirtilmiştir (Hussein ve Shafran, 2000; Vissing ve ark., 2019). Ayrıca MSS listeriosis'li olan vakalara ek olarak hastaların çoğu menenjit belirtisi olmaksızın sepsisemi ile hastanelere başvuru yaptığı bildirilmiştir. *L. monocytogenes* enfeksiyonları kardiyovasküler sistem (endokardit (listeriosis'in en yaygın 3. şekli), miyokardit, vaskülit), solunum sistemi (pnömoni, plörit, sinüzit), kas ve iskelet sistemi (artrit, osteomyelit), göz (oftalmitis, konjunktivit), meme bezi (ineklerde mastitis) ve deriye (birincil piyogranülomatoz dermatit) lokalize olabilmektedir (Allcock, 1992; Jennison ve ark., 2017; Doganay, 2003; Muchaamba ve ark., 2020b). *L. monocytogenes*'in hayvanlar ve insanlar üzerindeki patojenik ve klinik etkilerine örnekler Şekil 2.5'de verilmiştir. Hayvan hastahanelerinde görevli, enfekte hayvan ile temas olan bireyler ve kazara patojene maruz kalan laboratuvar çalışanlarında bakteriyemi görülmeyen deri enfeksiyonları da bildirilmiştir (Li ve ark., 2018). İnsanlardaki deri lezyonu bulguları Şekil 2.6'da verilmiştir.



(A) Listerial rombensefalitli bir koyunun medulla oblongata kesiti ve beyin dokusunda açık inflamatuvar lezyonlar; (B) Karaciğer yüzeyi *L. ivanovii* ile deneysel olarak enfekte edilmiş bir kuzuda yaygın piyogranülatöz hepatit piyogranülomlar; (C) Genelleştirilmiş *L. monocytogenes* enfeksiyonu olan ölü doğmuş, granülatozis infantiseptika olarak da bilinen yayılmış piyogranülatöz lezyonların vücut yüzeyi; (D) iç organların yüzeyindeki klinik belirtiler

Şekil 2.5. Hayvanlarda ve insanlarda *L. monocytogenes*'in patolojik ve klinik etkileri (Vázquez-Boland ve ark., 2001).



Şekil 2.6. Bilekte bulunan lezyonlardan alınan kültürde *L. monocytogenes* üremesi (Godshall ve ark., 2013).

Gebe olmayan kişilerde listeriosis ile çeşitli klinik durumlar ilişkilendirilmiştir. Listerial enfeksiyonlarına sahip olan 458 bireyde 1966 ve 1997 tarihleri arasında hastalığın oluşumunda altta yatan koşullar araştırılmıştır. Sonuç olarak; kemoterapi tedavisi (%24), organ ve kemik iliği nakli (%21), alkolizm ve karaciğer hastalıkları (%13), çeşitli immun sistem baskılayıcı ilaçlarla yapılan tedaviler (%11), HIV-AIDS (%8), diyabet mellitus (özellikle tip 1) (%7), otoimmun bozukluklar (%4), hemokramatoz (%1), transplantasyon ve diğer koşullar ile ilişkilendirilmiştir (Vissing ve ark., 2019).

Çeşitli salgın araştırmalarından elde edilen bilgiler üzerine *L. monocytogenes*'in normal konakçılarda ateş ile seyreden bir gastroenterite neden olduğu bilinmektedir (Lecuit, 2007). Gastrointestinal semptom gösteren ilk gastroenterit salgını ve ateş semptomu bir piknikte servis edilen çikolatalı süt tüketimi ile bağlantısı bildirilmiştir (Vázquez-Boland ve ark., 2001). Piknik katılımcıları, *L. monocytogenes* ile yoğun bir şekilde kontamine olduğu tespit edilen çikolatalı süt tüketimi sonrasında 58 kişiden %79'unda ishal, %72'sinde ateş semptomları bildirilmiştir. Ortalama inkübasyon süresi 20 saat olan salgında rol oynayan *L. monocytogenes*'in alt tipi hasta kişilerin dışkılarından ve çikolatalı süttten izole edilerek aynı olduğu gözlemlenmiştir. Salgına karışan bireylerin hiçbirinde kronik bir rahatsızlık, immun yetersizlik durumunun olmadığı belirtilmiş ve invazif listeriosis kanıtı bulunamamıştır (Painter ve Slutsker, 2007). Yapılan bir çalışmada listeriosis vakalarının ortalama 1 gün içerisinde ve en sık bildirilen semptomun ateş; gastrointestinal belirti olarak ise en yaygın semptomun ishal olduğu belirtilmiştir. Ateş ile seyreden gastroenterit salgınlarının bir özelliği, diğer gıda kaynaklı salgınlara kıyasla alışılmadık olarak hastaların yarısında fazla uyku hali ve 3/4'ünde yorgunluk bildirilmiştir (Craig ve ark., 2019; Ooi ve Lorber, 2005).

İnvaziv hastalığa karşı ateşli gastroenterite yol açan faktörler belirsizdir. Duyarlı kişiler invaziv listeriosis için daha yüksek risk altındadır. Ancak hiçbir konakçı risk faktörü invazif olmayan listeriosis ile ilişkilendirilememiştir. Ama

noninvaziv gastroenterite neden olan suşlarda invaziv hastalığa sebep olabilmektedir (Vázquez-Boland ve ark., 2001).

Hamile bireylerde, *L. monocytogenes*'in neden olduğu enfeksiyonlarda fetal kayıp, ölü doğum, erken doğum veya neonetal enfeksiyonlar meydana gelmektedir. Listeriosis hamilelik sürecinin herhangi bir döneminde görülebilmekle birlikte en sık hamileliğin son 3. ayında görülmektedir (Craig ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2012). Yapılan çalışmalarda hamilelik sırasında listeriosis vakalarının %20'si kendiliğinden düşük veya ölü doğum ile sonuçlanmıştır. Geriye kalan gebeliklerin %63'ü neonetal enfeksiyonlar görülmüştür (Zhang ve ark., 2012). Ayrıca ABD'deki 4 hastanede 11 vakadan 6'sında ve İsrail'deki 2 hastaneden 11 vakada 4'ünde erken doğum sebebi olarak listeriosis gösterilmiştir (Schuppler ve Loessner, 2010; Zhang ve ark., 2012). Hamilelik sürecindeki listeriosis vakalarının birçoğu sağlıklı kadınlarda görülmüştür. Literatür taraması ile tanımlanan vakalar arasında bireylerin sadece %4'ünün olası bir predispoze (kortikosteroid kullanımı, diyabetes mellitus, HIV enfeksiyonu) durum mevcuttur (Craig ve ark., 2019; Schuppler ve Loessner, 2010). Ayrıca çoğul gebelik (ikiz gebelik, üçüz gebelik vb.) durumlarındaki kadınlarda tekil gebeliklere göre listeriosis riski daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Jurado ve ark., 1993).

Hamilelik sırasında enfeksiyona sahip olan kadınlarda gözlenen semptomlar nonspesifik olabilir ve sıklıkla hafif bir hastalık olarak ortaya çıkabilmektedir. Sporadik listeriosis üzerine yapılan vaka-kontrol çalışmalarında; listeriosis enfeksiyonu varlığı tespit edilen bebeklerin annelerinde ateş, baş ağrısı, miyalji veya gastrointestinal semptomların bulunması daha olası bir durum olarak belirtilmiştir (Mead ve ark., 1999). Listeriosisli gebe kadınların birçoğunda ortalama 6 gün süren (1 ile 21 arasında değişen) ateş veya gribe benzer hastalık semptomları bildirilmiştir (Craig ve ark., 2019; Madjunkov ve ark., 2017). Gözlenen ateş ve gribe benzer semptomlar enfeksiyonun bakteriyemi fazı ile ilişkilidir ve tanısal kan kültürlerinin alınması için en uygun zamandır. Yakın tarihli bir vaka serisinde şiddetli sistemik hastalık kanıtı olmayan listeriosisli gebe kadınlardan alınan kan kültürlerinin %37'sinde *Listeria* spp. pozitif sonuç vermiştir

(Zhang ve ark., 2012). Fetusun *L. monocytogenes* ile enfektesinin genel olarak maternal bakteriyemiye takiben transplental geçişten kaynaklandığı düşünölmektedir. Lakin bazı enfeksiyonlarda vajinal kolonizasyon yoluyla da bulaşma meydana gelebilmektedir (Madjunkov ve ark., 2017). Hastalık, gebe kadın ve bebeklerde; rahim içi enfeksiyon, erken doğum, amniyonit (amniyon zarının iltihabı), spontan düşöğ (dışardan müdahaleye gerek kalmaksızın olan düşökler), ölü doğum veya erken başlangıçlı yeni doğan enfeksiyonlarla sonuçlanabilmektedir. Ayrıca yeni doğan enfeksiyonlarına ek olarak koryoamniyonit (hamilelik sırasında rahimdeki fetüsü çevreleyen zarların ve amniyotik sıvının iltihabı) rastlanılmaktadır (Benshushan ve ark., 2002; Lamont ve ark., 2011).

L. monocytogenes'in neden olduğı yeni doğan enfeksiyonu ciddi ve sıklıkla ölüm ile sonuçlanan bir hastalıktır. Yeni doğan listeriosis erken başlangıç ve geç başlangıç olmak üzere 2 klinik foruma ayrılmaktadır (Painter ve Slutsker, 2007).

Erken başlangıçlı yeni doğan listeriosis, rahimde enfekte olan bebeklerde ortaya çıkmaktadır. Genel olarak yaşamın ilk haftasında ortaya çıktığı şeklinde tanımlansa da doğumda veya kısa süre sonrada hastalık görölmektedir. Yeni doğan listeriosis'in %45 ila %70'i erken başlangıç klinik formuna ait olduğı bildirilmiştir (Kaptchouang-Tchatchouang ve ark., 2020; Madjunkov ve ark., 2017). Hastalık genellikle menenjitten ziyade sepsis klinik belirtisi ile kendini göstermektedir (Thatrimontrichai ve ark., 2018). Belirtiler arasında solunum sıkıntısı, ateş ve nörolojik anormallikler bulunmaktadır. Patojen; kan, beyin omurilik sıvısı, orofaringeal sekresyonlar, plasenta, amniyotik sıvı, idrar, konjonktiva, kulak, burun veya boğaz dahil dış bölgelerden izole edilebilmektedir (Zhang ve ark., 2012). Daha az gözlenen belirtiler arasında erken başlangıçlı hastalığı olan bebeklerde karaciğer, dalak, akciğer, böbrek ve beyin dahil olmak üzere birçok iç organda yaygın apse varlığı ve granömler ile karakterize olan granömatöz infantiseptika ile ortaya çıktığı belirtilmiştir (Schuchat ve ark. 1991). Granulomatosis infantiseptica da amniyonit veya mekonyumla lekeli amniyotik sıvı kanıtı mevcut olabilir ve bebek açıkça hasta görölebilmektedir. Bunun yanı sıra bazı durumlarda

bebek sadece zayıf görülebilir ve solunum veya dolaşım yetmezliği geliştirebilmektedir. Yeni doğan erken başlangıçlı hastalık, mekonyum sıvısının aspirasyonu sonucu siyanoz, apse, pnömoni gibi solunum komplikasyonları ile sonuçlanarak komplike haline gelebilmektedir (Painter ve Slutsker, 2007).

Geç başlangıç hastalık formu bir veya birkaç hafta sonra ortaya çıkabilmektedir (Kaptchouang-Tchatchouang ve ark., 2020; Thatrimontrichai ve ark., 2018). Bebekler genellikle sağlıklı ve normal doğum süreci geçiren anne adaylarından doğduğu belirtilmiştir. Erken başlangıçlara kıyasla menenjit görülme olasılığı daha fazladır. Yapılan araştırmada 42 bebekten 39'u geç başlangıç hastalığına sahip olup, bu bebeklerde menenjit gözlemlenmiştir (Madjunkov ve ark., 2017). Geç başlangıçlı yeni doğan enfeksiyonunun kaynağı tam olarak anlaşılmamıştır. Listeriosis'in çoğu gıda kaynaklı olduğundan, kontamine gıdalar, yüksek riskli gıdalarla veya dolaylı temas yoluyla bulaşma gerçekleşebilmektedir. Yeni doğan kreşlerinde geç başlangıçlı hastalık kümeleri tanımlanmıştır. Bunun sebebi ise nozokomiyal (hastane ile ilgili) geçişini akıllara getirmiştir (Dramowski ve ark., 2018; Fullerton ve ark., 2015; Russini ve ark., 2021).

2.7. Yasal Düzenlemeler

ABD'de, tüketime hazır gıdalarda *L. monocytogenes*'in saptanılabilir varlığının (25 gr numunede ≥ 1 kob) bir sağlık tehlikesi olduğu bildirilmektedir (Todd, 2004). Düzenleyici kurumlar (Amerika Yiyecek ve İlaç İdaresi (FDA) ve ABD tarım bakanlığına bağlı Gıda Güvenliği Bilgi Sistemi (USDA-FSIS)) "0 tolerans" olarak adlandırılan bu politika ile *L. monocytogenes* ile kontamine bir gıda ürününün geri çağırılması gerektiği ifade edilmektedir. Çünkü bu ürün taşıyıcı (mevzuata uygun olmayan) ürün olarak nitelendirilmektedir (Gombas ve ark., 2003; Todd, 2004).

Avrupa Birliği Komisyonu'nun *L. monocytogenes* için 1441/2007 sayılı yönetmeliği Tablo 2.5'de ve Türkiye'de Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nin belirli ürünlerdeki *L. monocytogenes* referans limitleri Tablo 2.6'da verilmiştir.

Tablo 2.5. Avrupa Birliği komisyonu'nun *L. monocytogenes* ile ilgili yönetmeliği (EC, 2020).

Gıda Kategorisi	n	c	m	M	Referans Metod	Kriterin geçerli olduğu aşama
Bebekler için tüketime hazır gıdalar ve özel tıbbi amaçlı tüketime hazır gıdalar (a)	10	0	0/25 kob/g		EN/ISO 11290-1	Raf ömrü boyunca piyasaya arz edilen ürünler
<i>L. monocytogenes</i> 'in gelişmesini destekleyebilen, bebeklere ve özel tıbbi amaçlara yönelik olanlar dışındaki, tüketime hazır gıdalar	5	0	100 kob/g		EN/ISO 11290-2	Raf ömrü boyunca piyasaya arz edilen ürünler
	5	0	0/25 kob/g		EN/ISO 11290-1	Gıda, onu üreten gıda işletmecisini n doğrudan kontrolünden çıkmadan önce
<i>L. monocytogenes</i> 'in gelişmesini desteklemeyen, bebeklere ve özel tıbbi amaçlara yönelik olanlar dışındaki, tüketime hazır gıdalar (a,b)	5	0	100 kob/g		EN/ISO 11290-2	Raf ömrü boyunca piyasaya arz edilen ürünler

n: Numune sayısı, c: m ile M limiti arasında değere sahip olmasına izin verilen numune sayısı, m ve M: Limitler, a: *L. monocytogenes*'i ortadan kaldırmak için etkili ısıtma işlemi veya diğer işlemlere tabi tutulmuş olanlar (nihai ambalajlarında ısıtma işlemi görmüş ürünler), taze, kesilmemiş ve işlenmemiş sebze ve meyveler, ekmek, bisküvi gibi paketlenmiş, şişelenmiş içecekler, şekerleme benzeri ürünler, b: pH ≤ 4,4 veya aw ≤ 0,92 olan ürünler, pH ≤ 5,0 ve aw ≤ 0,94 olan ürünler, raf ömrü beş günden az olan ürünler otomatik olarak bu kategoriye ait kabul edilecektir.

Tablo 2.6. Türkiye’de TKG mikrobiyolojik kriterler yönetmeliği’nin belirli ürünlerdeki *L. monocytogenes* referans limitleri (TKG, 2011).

Gıda Kategorisi	n	c	m	M	Referans Metod
Tüketime hazır her türlü salata, şarküteri ürünleri ve soğuk mezeler vb.	5	0	0/25 kob/g-mL		EN/ISO 11290-1
Yıkanmış, doğrama ve paketleme işleminden geçmiş ayrı ayrı veya karıştırılmış çiğ sebzeler ile dondurulmuş veya kurutulmuş sebzeler	5	0	0/25 kob/g-mL		EN/ISO 11290-1
Doğrudan sıkılmış, pastörize edilmemiş, soğukta muhafaza edilmesi gereken, tüketime hazır meyve ve sebze suları	5	0	0/25 kob/g-mL		EN/ISO 11290-1

n: Numune sayısı, c: m ile M limiti arasında değere sahip olmasına izin verilen numune sayısı, m ve M: Limitler

2.8. Koruma ve Kontrol

- Taze ürünlerin yetiştirilmesi, hasat edilmesi, sınıflandırılması, paketlenmesi ve nakliyesi sırasında ürün güvenliğini arttırmak için iyi tarım ve yönetim politikaları uygulanmalıdır.
- Su, hasat sonrası işlemlerde potansiyel kontaminasyonu azaltmada yararlı olsa da aynı zamanda bir kontaminasyon veya çapraz kontaminasyon kaynağıdır. Hasatın yetiştirilmesi, hasat sonrası su kullanımı kontrol ve korumadaki en temel basamaklardandır.
- Tarımda kullanılan su; atık su drenajlarından gelen sular, akış yolunun ilk durağı hayvan çiftliklerinden gelen kirletilmiş su ve geçici kirlenmeye maruz kalmış yüzey sularından olmamalıdır.
- Kuyuların kirlenmeye karşı uygun şekilde inşa edilmesi ve korunması, suların analizlerinin yapıp arıtılması, şüpheli su kaynağından gelen suyun

evre koruma ve halk sağlığı kuruluşları tarafından su kalitesinin ve dışkı kontaminasyonu belirlemek için su kaynaklarının periyodik test edilmesi gibi önemli koruma uygulamaları yapılmalıdır.

- Çiftçilerin kullandığı sıhhi tesisat periyodik olarak kontrol etmeli, sulamada kullanılan ekipmanlar (su depoları, boşaltma tankları, kanallar) ve hasat sonrası kullanılan ekipmanlar (yıkama tankları, hidro soğutucular vb.) sıklıkla temizlenmeli ve sterilize edilmelidir. Su kalitesini korumak için tasarlanmış ekipmanlar (klor enjektörleri, filtreleme sistemleri, geri akış cihazları vb.) kontrol edilmeli ve düzenli periyotlarla bakımı yapılmalıdır.
- Hasata uygun yıkama yöntemleri kullanılmalıdır. Fırçalı yıkama yapılıyorsa fırçaların düzenli temizliği yapılmalıdır. Daldırma, püskürtme, sprey yoluyla gıda ürünleri yıkanmalıdır. Yıkama suyu, yeterli su kalitesini sağlamadan tekrar tekrar kullanılmamalıdır.
- Soğutma işlemlerinde kullanılan su ve buz mikrobiyolojik olarak kontrol edilmelidir. Ayrıca ürünün bozulmaması için kullanılan depo alanlarının hava soğutma ekipmanları ve soğutma alanları periyodik olarak temizlenmeli ve kontrol edilmelidir.
- Çiftçinin tarımda kullanacağı gübreler ilgili otorite tarafından denetlenmiş olup, gübrelerin kullanım için uygunluk seviyelerine ve belgelerine bakılarak alınması ayrıca tarımda kullanılan organik, mineral, mikrobiyal kaynaklı gübrelere dair yönetmeliğe uygun şekilde gübre kullanımı yapılması gerekmektedir.
- Gübrenin doğrudan veya dolaylı olarak sebze ile teması olmamalıdır. Taze sebze tarlaları, tarım arazileri gübre depolama ve işleme alanlarından uzakta olmalıdır. Gübre depolama ve arıtma alanlarındaki akış, sızıntı ve rüzgardan kaynaklanabilecek her türlü kontaminasyon için arazinin eğimi, coğrafi alanı, mevsimsel faktörler göz önüne alınarak tarım yapılmalıdır.
- Gübreleme ve hasat arasında belirli bir zaman dilimi olmalıdır.
- Hayvancılık kaynaklı kontaminasyonu en aza indirmek için evcil hayvanlar tarım alanlarından uzaklaştırılmalıdır.
- Hayvansal atıkların tarım arazilerini kontamine etmemesi için fiziksel engeller (it, tel) kullanılmalıdır. Tarım alanı olarak kullanılan alanlar

yoğun yağış nedeniyle veya atık depolama tesisinden gelen hayvansal atıklardan korunmalıdır. Yoğun tarım alanlarındaki yabani hayvan popülasyonlarında kontrol gerekmektedir.

- Denetçiler, tam zamanlı, yarı zamanlı mevsimlik personel ve üreticinin de dahil olduğu tüm personelin temel hijyen ve sanitasyon kurallarına uymaları sağlamalıdır. Taze ürün ile doğrudan teması olan bireylerin düzenli sağlık kontrolleri yapılmalıdır. Çiftlikteki veya tarım alanlarındaki, gıda ürünleri ile teması olan bireylerin hijyen kurallarına uyması ve uygulaması gerekmektedir.
- Tarım alanında çalışan işçi veya personelin el hijyenine uyması, el hijyeninde kullanılan suyun mikrobiyal kalitesi, el yıkama tekniğine uygun yıkama işlemi, tuvalet olanaklarının tarım arazisine uygun inşa edilmesi ve uygun şartlarda olması önemlidir.
- Açık standlarda müşterilerin ürünlerle temas etmeden önce el hijyeninin sağlanması veya tek kullanımlık eldiven giyilmesi sağlanmalıdır. Açık standlar insan ve hayvan atıklarından uzak bir alanda, zemin ile teması olmayan yükseklikte ve yağış, rüzgar gibi kontaminasyonu destekleyici faktörlerden korunaklı olmalıdır.
- Taze ürünlerin hasat edildikten sonraki muhafaza alanları temizlenmeli, gerekiyorsa dezenfekte edilmeli. Tarım alanı ve depolama alanları kemirgenler, haşere ve kuşlar gibi kontamine edici faktörlerden maksimum derecede arındırılmalıdır. Ürünün hasat ekipmanları, hasat sonrası aktarım ekipmanları ve taşındığı ekipmanlar rutin olarak temizlenmeli, sterilize edilmelidir. Temiz olmayan ambalaj ürünleri kullanılmamalıdır.
- Kontaminasyonu azaltmak için hayvan ve hayvansal ürün taşıyan nakliye arabaları taze ürün taşımadan önce temizlenmeli ve dezenfeksiyonu yapılmalıdır. Ayrıca transfer sürecinde sıcaklık kontrol edilmelidir. Nakliyede görevli personelinde hijyen kurallarına uyması gerekmektedir (FDA, 1998).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu araştırmada Burdur ilindeki farklı semt pazarlarından 2021 yılında nisan ve temmuz ayları arasında tesadüfi örnekleme yöntemiyle alınan her birinden 10'ar adet olmak üzere toplam 90 adet ıspanak (*Spinacia oleracea*), brokoli (*Brassica oleracea italica*), marul (*Lactuca sativa*), maydanoz (*Petroselinum crispum*), roka (*Eruca vesicaria*), semizotu (*Portulaca oleracea*), tere (*Lepidium sativum*), yeşil soğan (*Allium fistulosum*) ve mantardan (*Agaricus bisporus*) oluşan çiğ sebzeler materyal olarak kullanıldı. Alınan sebze örnekleri steril poşetlere konularak soğuk zincir altında laboratuvara getirildi ve 24 saat içinde analize alındı.

3.2. *Listeria* Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar

Tablo 3.1. Kültürel izolasyonda kullanılan besiyerleri ve katkı maddeleri

Besiyeri ve Katkı Adı	Firma ve Ürün Numarası
Half Fraser Broth	Oxoid, CM0895
Half Fraser Broth Supplement	Oxoid, SR0166E
Fraser Broth Base	Oxoid, CM0895
Fraser Supplement	Oxoid, SR0156E
ChromoCult® <i>Listeria</i> Agar (Base) acc. Ottavani ve Agosti	Merck, 1.00427.0500
ChromoCult® <i>Listeria</i> Agar Selective Supplement	Merck, 1.00432.0010
ChromoCult® <i>Listeria</i> Agar Enrichment Supplement	Merck, 1.00439.0010
<i>Listeria</i> Selective Agar Base Oxford Formulation	Oxoid, CM0856
<i>Listeria</i> Selective Supplement Oxford Formulation	Oxoid, SR0140
Tryptone Soya Agar	Oxoid, CM0131
Yeast Extract	Oxoid, LP0021B
S.I.M Medium	Oxoid, CM0435
Columbia Agar Base	Merck, 1.10455.0500
Nutrient Broth	Oxoid, CM0001

3.3. Kültürel Yöntem ile İzolasyon

Bu çalışmadaki *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu ISO 11290-1:2017 (ISO, 2017) standardına göre yapıldı. Analiz için 25 g sebze örnekleri steril stomacher torba içine alındı, üzerine 225 mL half Fraser broth (Oxoid CM0895) eklendi ve stomacher cihazında (IUL Masticator) iki dakika homojenize edilerek 30 ± 1 °C'de 25 ± 1 saat etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda kültürden 0,1 mL alınarak ikinci selektif sıvı zenginleştirme besiyeri olan Fraser broth'a (Oxoid CM0895) eklendi ve 37 ± 1 °C'de 24 ± 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucu elde edilen ön zenginleştirme kültüründen iki selektif katı besiyerine çizme yöntemi ile ekim yapıldı. Birinci ekim işlemi *Listeria* selektif agar cc. Ottaviani ve Agosti besiyerine (Merck 1.00427.0500) ekim yapıldı ve 37 °C'de 48 ± 2 saat inkübasyona bırakıldı. Besiyerinde üreyen opak bir hale ile çevrili mavi-yeşil koloniler tipik *L. monocytogenes* kolonileri ve opak hale olmayan mavi-yeşil koloniler ise *Listeria* spp. olarak değerlendirildi. Stres koşullarında, özellikle asit stresine maruz kalan bazı *L. monocytogenes* suşları çok zayıf bir hale gösterebilir veya hiç hale oluşturmamaktadır. İkinci selektif agar olarak Oxford agara (Oxoid CM0856) ekim yapıldı ve 37 ± 1 °C'de 24 ± 2 inkübasyona bırakıldı. Oxford *Listeria* selective agarda 2-3 mm çapında siyahımsı yeşil kahverengi siyah zonlu çökük merkezli koloni oluşturma *L. monocytogenes* kolonileri olarak değerlendirildi. Selektif katı besiyerlerinde üreyen şüpheli koloniler selektif olmayan %0,6'lık Yeast Extract içeren Tryptone Soy Agara (TSA-YE) çizim yapılarak 37 ± 1 °C'de 24 ± 3 saat inkübasyona bırakıldı.

3.4. Morfolojik ve Biyokimyasal Analizler

Şüpheli kolonilere; Gram boyama, oksidaz testi, %3'lük hidrojen peroksit ile katalaz testi, SIM agarda hareketlilik, indol ve sülfür testleri, %5'lik koyun kanı içeren Columbia Agar'da beta hemoliz testi ve karbonhidrat testleri uygulandı.

3.4.1. Gram Boyama

Gram boyama için %0,6'lık Yeast Extract içeren Tryptone Soy Agar'da üreyen şüpheli kolonilerden preparat hazırlandı, kurutuldu ve ateşte fiksasyon ile tespit edildi. Hazırlanan preparat kristal violet ile 2-3 dakika boyandı ve boya döküldü. Ardından lugol solüsyonu konarak 1-2 dakika beklenildi ve boya döküldü. Absolute alkol ile renksiz oluncaya kadar dekolore edildikten sonra distile su ile yıkandı ve daha sonra safranin ile 5-10 saniye boyandı. Son olarak kurutma kağıdı ile kurulanalarak mikroskop altında incelendi. Mor renkle boyanmış Gram pozitif, kısa çubuk ya da kokobasil tarzında görünen bakteri hücreleri şüpheli *Listeria* spp. olarak değerlendirildi (Arda, 2006).

3.4.2. Oksidaz Testi

Taze hazırlanan oksidaz solüsyonu (%1 tetrametil-p-fenilendiamin), petri içindeki steril edilmiş kuru kurutma kağıdı üzerine damlatıldı. Daha sonra TSA-YE (Oxoid CM131)'da üremiş olan bir ya da birkaç şüpheli koloni kağıt üzerine sürüldü ve pembeden mora kadar renk değişiminin gözlenmesi pozitif olarak değerlendirildi (FDA, 2020a).

3.4.3. Katalaz Testi

TSA-YE (Oxoid CM131) besiyerinde üreyen 24 saatlik kültürden öze yardımıyla alınan bir koloniyi temiz bir lam üstüne alınarak üzerine %3'lık H₂O₂ damlatıldı. Birkaç saniye içerisinde gaz oluşumu (O₂ çıkışı) pozitif olarak değerlendirildi (FDA, 2017).

3.4.4. SIM Agarda Hareketlilik, İndol ve Sülfür Testleri

Şüpheli *Listeria* kolonilerinden SIM besiyerine (Oxoid CM0435B) iğne uçlu öze ile ekim yapılarak 25 °C'de 7 güne kadar inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda şemsiye tarzındaki üreme pozitif reaksiyon ve siyah renk değişimi gözlenmediği için sülfür negatif olarak değerlendirildi (FDA, 2017). SIM agarda

hareketlilik testi pozitif olan suşlara kovacs ayracından 0,5 mL eklendi ve 2 dakika içerisinde renk değişimi olmayan tüplerde indol negatif olarak değerlendirildi (FDA, 2020b).

3.4.5. Beta Hemoliz Testi

Şüpheli koloniler %5'lik koyun kanı içeren Columbia Agar'a (Merck, 1.10455.0500) çizme yöntemiyle ekimi yapılarak 35 ± 2 °C'de 24 ± 2 saat inkübasyona bırakıldı. Petriler parlak ışık altında incelendi. Dar, açık ve hafif hemoliz bölgesi olanlar hemoliz pozitif olarak değerlendirildi (FDA, 2017).

3.4.6. Karbonhidrat Fermentasyon Testi

Her bir tüpe 0,4 mL Phenol Red Broth (Merck, 110987) besiyeri dağıtıldı. Önceden %10'luk hazırlanan ve steril edilen şeker solüsyonlarından (dekstroz, maltoz, mannitol, ramnoz, ksiloz ve sorbitol) 0,5'er mL ilave edildikten sonra şüpheli koloniden öze ile ekim yapıldı ve 37 ± 1 °C'de 6 gün inkübasyona bırakıldı. Oluşan renk değişimlerine göre testler değerlendirildi (Harrigan, 1998).

3.5. Kültürel Yöntem ile Elde Edilen *L. monocytogenes*'in PCR ile Doğrulanması

3.5.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu

Genomik DNA izolasyonu, GeneJET Genomik DNA Purifikasyon Kit (Thermo Scientific, K0721)'e göre yapıldı.

- Lysis buffer (20 mM Tris-HCl, pH 8,0, 2 mM EDTA, %1,2 Triton X-100) hazırlandı ve analizden hemen önce buffer içine 20 mg/mL lizozim eklendi.
- Suşlar 5 mL TSB bulunan tüp içine 30 µL ekim yapıldı ve bir gece inkübe edildi.
- Canlandırılan suşlar ependorf tüpleri içine 1,5 mL aktararak 7997 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst kısımdaki süpernatant kısmı atıldı. Dipte

kalan pellet üzerine 180 µL lysis buffer eklenerek resüspanse edildi. Sonra 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

- Sonraki adımda 200 µL lysis solüsyonu ve 20 µL proteinaz K eklenerek vortekslendi. Sonra delikli köpük içine yerleştirilerek 56 °C su banyosuna 30 dakikalık süre için inkübasyona bırakıldı. Bu süre içinde 8 dakikada bir 3 kere vortekslendi.
- Bu işlemin ardından 20 µL RNase A solüsyonu eklendi ve vortekslendi. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Bunun üzerine 400 µL %50'lik etanol eklendi ve vortekslendi.
- Hazırlanan lizat, kit içerisinde bulunan GeneJET Genomik DNA Saflaştırma kolonuna takılı olarak bulunan toplama tüpüne aktarıldı ve 8760 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüjlenen tüplerin alt kısmı yani içinden akan çözeltiyi içeren toplama tüpü atıldı ve yerine GeneJET Genomik DNA Saflaştırma kolonu'na 2 mL'lik yeni bir toplama tüpüne takıldı.
- Etenol eklenmiş yıkama solüsyonu olan 500 µL wash buffer I eklendi ve 10115 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Bu santrifüjden sonra tüplerin alt kısmını (içinden akan çözeltiyi içeren toplama tüpü) kısmını atmadan önce altındaki sıvı boşaltıldı ve saflaştırma kolonuna toplama tüpüne geri yerleştirildi.
- GeneJET Genomic DNA saflaştırma kolonuna 500 µL wash buffer II (etanol ilave edilmiş olarak) eklenerek 12500 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Saflaştırma kolonunda tortu görülmesi durumunda, toplama tüpünü boşaltılıp, kolon maksimum hızda 1 dakika tekrar santrifüj edildi.
- Akan çözeltiyi içeren toplama tüpü atıldı ve GeneJET Genomic DNA saflaştırma kolonu steril bir 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
- Genomik DNA'yı saflaştırmak için GeneJET Genomic DNA saflaştırma kolon membranının merkezine 200 µL elution buffer eklendi ve 2 dakika oda ısısında inkübe edildi. Sonra 10115 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Saflaştırma kolonu atıldı ve saflaştırılmış DNA'yı kullanana kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

3.5.2. PCR Analizi

Biyokimyasal testler sonucunda *Listeria* şüpheli olarak tespit edilen izolatların PCR ile doğrulanması yapıldı. PCR analizinde şüpheli *L. monocytogenes* suşlarının genetiğinin doğrulanması için *monoA-B* (371 bp) gen bölgesine bakıldı. Virulens genlerinde ise flagella oluşumundan ve yüzeye yapışmasında etkili olan *flaA* (363 bp) geni ve biyofilm oluşumu üzerine pozitif rol oynayan *luxS* (208 bp) gen bölgeleri incelendi. Tablo 3.2’de PCR analizinde kullanılan primerler verildi. PCR analizleri için pozitif kontrol olarak *L. monocytogenes* ATTC 7644 suşu kullanıldı.

Primerleri hazırlarken; üretici firmanın prospektüsüne göre belirlenen miktarda Forward ve Reserve primer bulunan tüplerin içine DNase free su konuldu ve pipetleme yapılarak karıştırıldı. Forward ve Reserve stok solüsyonları hazırlanmış oldu. Bu stok solüsyonlardan steril ependorf tüpüne 10 µL alınarak üzerine 90 µL ultra saf su eklenerek 100 µL’lik 24 saatlik kullanıma hazır primer numuneleri oluşturuldu.

PCR karışımının hazırlanması için; ekstrakte edilen DNA’lar PCR tüplerinin herbirine 3 µL koyuldu. Her DNA’nın üzerine eklenen miks için steril bir ependorf tüpüne 6 µL ddH₂O (steril nükleaz içermeyen su), 0,5 µL Forward Primer, 0,5 µL Reverse Primer ve 10 µL master miks (Taq polimeraz, nükleotidler (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), KCl, (NH₄)₂SO₄, MgCl₂, kırmızı boya, yoğunluk reaktifi, güçlendirici ve stabilize edici katkı maddeleri) ilave edilerek her DNA örneği için toplamda 17 µL olacak şekilde karışım hazırlandı. Hazırlanan miksten 17 µL alınarak ekstrakte edilen DNA’ların bulunduğu PCR tüplerinin herbirine ilave edilerek 20 µL’ye tamamlandı ve pipetleme yapılarak karıştırıldı. PCR karışımı hazır duruma getirildi.

Agaroz jel hazırlamak için 1,5 gram agaroz tartılıp, şişeye koyularak üzerine 100 mL distile su ilave edildi. Isıtıcı karıştırıcıda tamamen çözündürülerek kaynatıldı, 50 °C’ye gelince 5 µL DNA boyası (Etidyum Bromür) koyularak karıştırıldı. Daha sonra taraklar yerleştirilerek kalıba döküldü ve donduruldu. Bu

amaç için PCR cihazı kullanılarak elde edilen amplifikasyon ürünleri elektroforez tankında (Nyx Teknik Voltronix-V37, Taiwan) 100 volt akımda yürütüldü ve UV-transilluminatör (UV transiluminator T12621D, Taiwan) aracılığıyla bant oluşumu gözlemlendi.

Tablo 3.2. PCR analizinde kullanılan primerler

Primer Adı	Primer dizisi (5' → 3')	Primer boyutu (bp)	Kaynak
<i>mono</i>	F:5'-CAAACCTGCTAACACAGCTACT-3'	371	Bubert ve ark., 1992
<i>A-B</i>	R:5'-GCACTTGAATTGCTGTTATTG-3'		
<i>luxS</i>	F:5'-GGAAATGCCAGCGCTACACTCTTT-3'	208	Warke ve ark., 2017
	R:5'-ATTGCATGCAGGAAGTTCTGTCTGC-3'		
<i>flaA</i>	F:5'-GCGCAAGAACGTTTAGCATCTGGT-3'	363	Warke ve ark., 2017
	R:5'-TTGAGTAGCAGCACCTGTAGCAGT-3'		

Amplifikasyon Termal Cyclers'da (Gene Max Tc-S-B) yapıldı. PCR analizinde *L. monocytogenes* suşlarının genetik doğrulaması için *monoA-B* (371 bp) primerleri için 94 °C'de 4 dakikada ilk denatürasyon, sonra 30 döngü olarak 94 °C'de 45 saniye denatürasyon, 55 °C'de 30 saniye primer bağlanması, 72 °C'de 10 dakika primer uzaması olarak gerçekleştirildi ve bu işlemler sonunda ampliconlar bir sonraki aşamaya kadar 4°C'de bekletildi (Bubert ve ark., 1992).

luxS (263 bp) ve *flaA* (363 bp) patojenite genleri için ise başlangıç denatürasyonu 94 °C'de 2 dakika, sonra 35 döngü olacak şekilde 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, 58 °C'de 30 saniye primer bağlanması, 72 °C'de 7 dakika primer uzaması olarak gerçekleştirildi ve ampliconlar bir sonraki aşamaya kadar 4 °C'de Termal Cyclers'da (Gene Max Tc-S-B) bekletildi (Warke ve ark., 2017).

3.6. İstatiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesi, Minitab Sürüm 16 istatistik yazılımı (Minitab, 2011) kullanılarak tamamlayıcı istatistikle gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

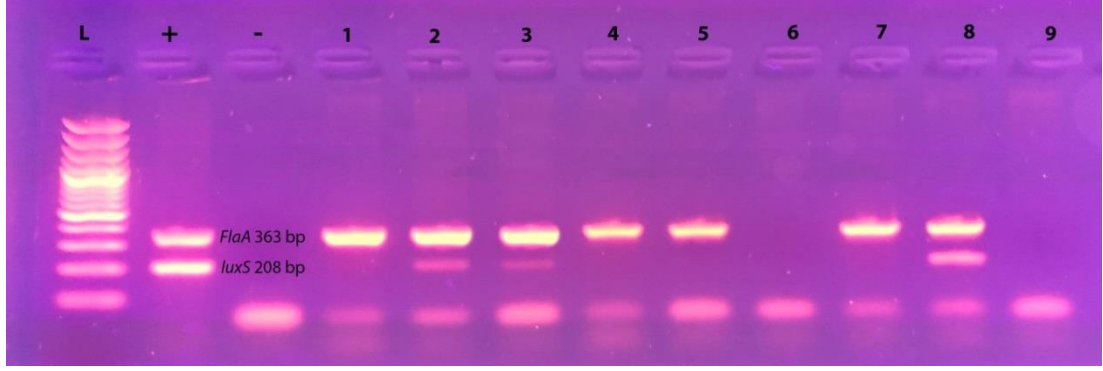
Sebze örneklerinden izole edilen *Listeria* izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal analiz sonuçları Tablo 4.1’de verildi. Kültürel yöntem ile izolasyon yapılan toplamda 90 örneğin 9’unda (%10) *Listeria* spp. şüpheli olarak izole edildi. Biyokimyasal testlerde 9 izolatta *Listeria* spp. pozitif olarak değerlendirildi ve PCR analizinde ise 9 izolattan 7’sinde (%77,77) *Listeria* spp. doğrulandı. Yeşil soğandan alınan 10 örnekten 4’ünde (%40), ıspanaktan alınan 10 örnekten 2’sinde (%20), maydanozdan alınan 10 örnekten 1’i (%10) *Listeria* spp. belirlendi. Diğer analiz edilen brokoli, roka, tere, mantar, marul ve semizotu örneklerinde ise *Listeria* türlerinin negatif olduğu saptandı.

Tablo 4.1. *Listeria* izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal analiz sonuçları

No	Örnek Kodu	Gram Boyama	Katalaz	Oksidaz	Sülfür	İndol	Hareket	Hemoliz
1	IS-1	+	+	-	-	-	+	+
2	IS-6	+	+	-	-	-	+	+
3	MY-1	+	+	-	-	-	+	+
4	YS-4	+	+	-	-	-	+	+
5	YS-5	+	+	-	-	-	+	+
6	T-4	+	+	-	-	-	+	+
7	YS-8	+	+	-	-	-	+	+
8	YS-10	+	+	-	-	-	+	+
9	R-10	+	+	-	-	-	+	+

1: Ispanak 1. örnek, 2: Ispanak 6. örnek, 3: Maydanoz 1. örnek, 4: Yeşil soğan 4. örnek, 5: Yeşil soğan 5. örnek, 6: Tere 4. örnek, 7: Yeşil soğan 8. örnek, 8: Yeşil soğan 10. örnek, 9: Roka 10. örnek.

İzolatların patojenitede önemli olan *luxS* ve *flaA* genlerini araştırmak için multipleks PCR yöntemi uygulandı. Yapılan analizde 9 izolatın 4’ünde (1 adet ıspanak, 3 adet yeşil soğan) sadece *flaA* geni bulunurken, 3’ünde (ıspanak, maydanoz, yeşil soğan) *luxS* ve *flaA* genleri bulundu ve 2 tanesinde (tere, roka) 2 geninde negatif olduğu saptandı ve Şekil 4.1’de gösterildi.



L: 100 bp DNA ladder, **+**: Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* ATTC 7644), **-**: Negatif kontrol (Distile su), **1:** Ispanak 1. örnek, **2:** Ispanak 6. örnek, **3:** Maydanoz 1. örnek, **4:** Yeşil soğan 4. örnek, **5:** Yeşil soğan 5. örnek, **7:** Yeşil soğan 8. örnek, **8:** Yeşil soğan 10. örnek.

Şekil 4.1. *luxS* (208 bp) ve *flaA* (363 bp) gen bölgeleri elektroforez sonuçları

5. TARTIŞMA

İnsanların daha sağlıklı yaşama olan ilginin artması nedeniyle yeme alışkanlıklarında değişimler görülmüş ve son yıllarda yeşil yapraklı sebzelere ve bunlardan hazırlanan tüketime hazır salatalara talep artmıştır. Beslenme açısından bakıldığında sebzeler; vitaminler, mineraller, antioksidanlar, lifler, biyoaktif bileşikler açısından zengin ve düşük kalorili önemli gıdalardır (Taban ve Halkman, 2011). Potansiyel sağlık üzerine faydaları yanında bir dezavantaj olarak çiğ yeşil yapraklı sebzelerin *L. monocytogenes* gibi insan sağlığında olumsuz etkileri olan gıda kaynaklı patojenlerin bulaşmasında önemli araçlar olarak kabul edilmektedir (Losio ve ark., 2015).

Sebzeler, yetiştirilme koşulları nedeniyle bitki örtüsü, toprak, gübre ve sulama suyundan kaynaklanan kontaminasyonlara aşırı derecede duyarlıdır. Üretimden tüketime kadar olan gıda zincirinde *L. monocytogenes* potansiyel kontaminasyon kaynaklarını oluşturmaktadır. Genellikle sebzeler yeterli olmayan hijyenik koşullarda ve ıslak olarak pazarlarda satışa sunulmaktadır. Ayrıca her hangi bir ısıtma işlemi görmeden çiğ olarak ya da salata gibi gıda ürünlerinde karışım olarak kullanılmakta ve tüketilmektedir. Bu nedenle sebzelerde *Listeria* spp. varlığı açısından ciddi riskler oluşabilmektedir.

Bu araştırmada Burdur yerel semt pazarından 2021 yılında nisan ve temmuz aylarında alınan ıspanak, brokoli, marul, maydanoz, roka, semizotu, tere, yeşil soğan ve mantar olmak üzere çiğ sebzelerin her birinden 10 adet toplam 90 adet örnek materyal olarak kullanıldı. Bu örneklerin 7 tanesinde *Listeria* spp. izole edildi. Yeşil soğan'ın 4'ü (%40), ıspanak'ın 2'si (%20) ve maydanoz'un 1'i (%10) *Listeria* spp. ile kontamine bulundu.

Türkiye'de ve birçok ülkede yapılan çalışmalar, sebzelerde değişik *Listeria* türleri ile kontamine olduğunu ortaya koymaktadır. Yapılan bir çalışmada, brokoli, tatlı yeşilbiber, soğan, mantar ve bezelyede 1/2 a, 1/2 b ve 4b serotiplerinin ısıtma direnci belirlenmiş ve en yüksek değer bezelyeden elde edilmiştir. Brokoli, havuç,

karnabahar gibi sert sebzeler ısıt ışleme karşı daha dayanıklı olduğu ve bakterinin ylık sıcaklıktan uzun zaman etkilenmediği bildirilmiştir (Mazzotta, 2001).

Szabo ve ark. (2000), tarafından Avustralya'da 3 perakende sipermarket zincirinden satın alınmış ve 8 aylık bir sfire boyunca her haftanın bir gfindede bir salata uturetim testinden temin edilmiş 120 adet paketlenmiş, kesilmiş marul numuneleri izerinde *Listeria*, *Aeromonas* ve *Yersinia* varlığı araştırılmıştır. İncelenen 6rneklerin %2,5'inde *L. monocytogenes* izole edilmiştir. Perakende siper marketlerinden temin edilen 6r6nlerin 1'inde (%1,666), salata uturetim tesislerinden alınan 6r6nlerin 2'sinde (%3,333) *L. monocytogenes* saptanmıştır.

Lee ve ark. (2007), Bursa'da ihracata y6nelik sebze işleyen 6eşitli işletmelerden 37 adet dondurulmuş biber, 4 adet domates, 2 adet 6ilek, 1 adet bezelye, 1 adet soğan ve 1 adet br6ksel lahanası olmak 6zere 46 sebze 6rneğinde *L. monocytogenes* varlığını belirlemek amacıyla FDA tarafından 6nerilen izolasyon ve identifikasyon metodunu kullanmışlardır. Dondurulmuş biberlerin 3 6rneğinde (%8,1) *L. monocytogenes*, 15 6rneğinde (%40,5) *Listeria* spp. tespit etmişlerdir. Ayrıca 2 dondurulmuş 6ilek 6rneğinde (%100) ve dondurulmuş 1 br6ksel lahanası 6rneğinde (%100) *Listeria* spp.'nin varlığı belirlemişlerdir.

Cengiz ve Ayta6 (2008) Ankara 6evresinde yetiştirilen 6iç olarak t6ketilen yeşil yapraklı sebzeler ISO-11290 stadandardına g6re analiz edilmiş ve izolatlara PCR y6ntemi uygulanmış, y6zey proteini olan internalin genine bakılmıştır. Besiyerlerinde izole edilen 300 adet *Listeria* spp. zon oluşumuna yeteneklerine g6re 72 adedi olası *L. monocytogenes* olarak belirtilmiş ve DNA izolasyonunu takiben PCR ile aktif gen b6lgesi'nin 66đaltılması 6zerine 72 izolatdan 33'6nde (%45,83) *L. monocytogenes*'in virulansından sorumlu *inlA* geninin se6ilen b6lgesini i6erdiği g6zlenmiştir.

Campos ve ark. (2013), Portekiz'de 5 b6lgede bulunan sipermarket zincirlerinden alınan meyve ve sebze 6rneklerinde *L. monocytogenes* varlığının belirlenmesini ISO 11290 protokol6ne g6re yapmışlardır. 6rnekler arasında 26 adet yaprak, 10 adet havu6, 9 adet yaprak ve havu6 karışımı ve 9 adet havu6, yaprak ve

mısır karışımı bulunmakta olup, her numuneden 25 gram alınarak protokole uygun şekilde numuneler hazırlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu tüketime hazır olan sebzelerde ve karışımlarda mikrobiyolojik parametreler ile *L. monocytogenes* varlığına rastlanılmamıştır.

Soni ve ark. (2014), Hindistan'ın Varanasi şehrinde bulunan Hindistan Sebze Araştırma Enstitüsü'ne (IIVR) ait tarım çiftliğinden 400 örnek üzerindeki *L. monocytogenes* varlığı araştırılmıştır. Örnekler 20'şer adet olmak üzere patlıcan, lahana, brokoli, karnabahar, sümbül fasulye, palak, domates, sakız kabağı, kırmızıbiber ve börülce sebzelerinden oluşurken; geriye kalan örnekler ise her sebzenin yetiştirildiği topraktan 20'şer adet olacak şekilde alınarak analiz edilmiştir. *L. monocytogenes* sebze örneklerinin 20 (%10)'sinde bulunurken, toprak örneklerinin 10 (%5)'unda tespit edilmiştir.

Zhu (2015), Yeni Zelanda'da bulunan organik çiftliklerde yetiştirilen taze ürünlerdeki *L. monocytogenes* prevalansını inorganik çiftliklerle karşılaştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada geleneksel çiftlik, kompost (hayvan gübresinden ve atıklarından kompost üretimi ve tarımda kullanılması) çiftlik ve mahsul-hayvancılık rotasyonlu çiftlik olmak üzere 3 farklı alandan örnek toplanmıştır. Toplanan örneklerin 78'i taze sebze (lahana, ıspanak, pakchoi (çin lahanası), maydanoz), 12'si toprak numunesi, 8'i su numunesi olmak üzere 98 numune çalışmada kullanılmıştır. Alınan 78 örneğin 62 örneğinde %79,5'inde *Listeria* spp. gözlenirken, *L. monocytogenes* saptanmamıştır. Çiftliklerden alınan tüm toprak örnekleri pozitif, tüm su örnekleri ise negatif olduğu bildirilmiştir. Sebze örneklerinde ise *Listeria* varlığı en çok geleneksel çiftliklerden alınan örneklerde görülürken en az ise kompost çiftliklerden alınan örneklerde tespit edilmiştir. Ayrıca perakende mağazalarından toplanan örneklerde *Listeria* spp. miktarının yüksekten aza doğru sırasıyla marul, salatalık, lahana ve havuç olduğu bildirilmiştir.

Byrne ve ark. (2016), tarafından Brezilya'nın kuzeydoğusundaki Salvador bölgesinde yer alan yerel bir süpermarket ve fast food satış noktalarında 45'i çiğ sebze, 35'i dondurulmuş sebze ve 54'ü tüketime hazır sebze (salatalar) olmak üzere

132 örnek toplanmış ve *L. monocytogenes* varlığı araştırılmıştır. Ardından PCR testi yapılarak, 45 örnekten 1'inde (%2,22) çiğ sebzelerde ve 54 örnekten 3'ünde (%5,56) tüketime hazır sebzelerde (salatalar) olmak üzere 4 örnekte (%3,0) *L. monocytogenes* izole edilmiştir.

Goni ve ark. (2016), çalışmalarında Malezya'da toplanan 16 çeşit sebzedden (yeşil amarant, kırmızı amarant, kişniş, su ıspanağı, kanatlı fasulye, küçük su biberi, fesleğen, marul, nane, yeşil soğan, gotu kola (pegaga), ulam raja, salata, hardal çiçekleri, su teresi, su kerevizi) oluşan 405 adet sebze örneği ISO-11290 standardına göre analiz etmişler ve ardından PCR uygulamışlardır. Analiz edilen örneklerin 84'ünde (%21) *Listeria* spp. saptanmıştır.

Ajayeoba ve ark. (2016), Güneybatı Nijerya'da bulunan 6 eyaletin yalnızca tüketime hazır sebzelerinin satışı ile tanınan geleneksel pazarlarından sırasıyla yağışlı olan Temmuz ve Eylül 2012 ve kurak olan Kasım 2012 ile Ocak 2013 tarihleri arasında toplanan salatalık, lahanada, havuç, domates, marul sebzelerinden oluşan örneklerde *L. monocytogenes* varlığının tespiti için bir çalışma yapmışlardır. Her bir sebzedden 10 gram olmak üzere her pazar da 3 farklı satıcıdan 10 gramlık numuneler alınmış ve pazarbaşına bir sebze için toplamda 30'ar gramlık numune örnekleri toplanmıştır. Toplamda 555 örnekten 244'ünde *L. monocytogenes* belirlenmiştir. Sebzelerde ki varlığı ise lahanada 69 örnekte (%28,28), havuçta 22 örnekte (%9,02), salatalık 57 örnekte (%23,36), marul 48 örnekte (%19,67) ve domateste 48 örnekte (%19, 67) *L. monocytogenes* bulunmuştur.

Leong ve ark. (2017), İrlanda'da 54 küçük gıda işletmesinin katıldığı araştırmada, işletmelerin her 2 ayda bir gönderdiği hem gıda hem de çevre örneklerinden ISO-11290 standardına göre analiz ederek *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. Patojenin doğrulanması ve serogrupların tanımlanması için mltipleks PCR kullanılmış ve tüm izolatlarda Pulsed-Field jel elektroforezi (PFGE) analizi yapılmıştır. Gıda örneklerinin toplamında *L. monocytogenes* oranı %4,2 iken, çevresel örneklerde %3,8 olarak belirlenmiştir.

Moravkova ve ark. (2017), yaptıkları bir çalışmada Avrupa birliğinin 10 ülkesinde yer alan 32 üreticiden bir yıllık süre içerisinde toplanan 175 hazır sebze örneğinde *L. monocytogenes* varlığını incelemişlerdir. Analizler, ISO 11290 standartlarına göre hazırlanan standart kültürler, ISO-11290’da belirtilen birleşik örnek hazırlama standartlarına uygun birleşik kültürler ve PCR tekniği kullanılmıştır. Kesilmiş yeşil yapraklı sebzeler ve salatalarda toplanan örneklerin standart kültür analizinde 97 örneğin 2’sinde (%2,1), birleşik kültür analizinde 4 örnekte (%4,1) ve PCR tekniği ile 1 örnekte (%1,9) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Ayrıca dondurulmuş sebzelerden alınan 43 numuneden ise standart kültür analizlerinin 9’unda (%20,9), birleşik kültür analizlerinde 15 (%54,9) ve PCR tekniği ile 3’ünde (%7) oranında *L. monocytogenes* saptanmıştır.

Li ve ark. (2017), Batı Virginia’daki çiftçi pazarlarından toplanan domates, yeşilbiber, salatalık, kavun ve ıspanaktan oluşan 212 taze üründe yapılan analizler sonucunda örneklerin %50’sinde *Listeria* spp. belirlerken, PCR ile yapılan doğrulama analizleri sonrasında örneklerin %3,78’inde *L. monocytogenes* saptamıştır.

Chen ve ark. (2018), Çin’de bulunan kırsal pazar, açık hava pazarı ve büyük süpermarketlerden temin edilen 237’si paketli, 428’i pakteli olmayan toplamda 665 adet mantar örneğini Çin Ulusal Gıda Güvenliği Standartlarına göre analiz etmişler ve taze mantar örneklerinin 141’inde (%21,2) *L. monocytogenes* saptamışlardır.

Kljujev ve ark. (2018), Orta Sırbistan Bölgesi’ndeki tarım arazilerinden ve plastik seralardan temin edilen toplam 43 adet (16 adet domates, 13 adet tatlı biber, 2 adet lahana, 1 adet acı biber, 1 adet salatalık, 5 adet patates, 4 adet havuç ve 1 adet maydanoz) sebze örneğini ISO-11290 standardına göre analiz etmişleridir ve doğrulama için PCR tekniği kullanmışlardır. Toplam örneklerin %25,58’inde *Listeria* spp. saptanırken, 1 havuç örneğinde (%0,43) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir.

Kara ve ark. (2019), Afyonkarahisar ilinde tüketime sunulan market ve pazarlardan toplanan 70 adet taze marul örneğini *L. monocytogenes* varlığı ISO

11290-1'e göre analiz etmişler ve analiz sonucunda, 70 adet taze marul örneğinin 1 (%1,43)'inde *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, incelenen marul örneklerinin patojen bakterileri içerdiği ve mikrobiyolojik kalitesinin düşük seviyede olduğu belirlenmiştir.

Kyere ve ark. (2020), Yeni Zelanda Palmerston'daki iki marketten 2019 yılında eylül ve ekim aylarını kapsayan 5 haftalık bir süre boyunca toplamı 60'ı paketli ve 40'ı paketli olmayan 100 marul örneği toplamışlar ve ISO 11290 standardına göre analiz etmişlerdir. Örneklerde paketli örneklerin 7 tanesinde (%11,666) *L. monocytogenes* tespit edilmişken, paketli olmayan örneklerde *L. monocytogenes* saptanmamıştır.

Samad ve ark. (2020), tarafından Pakistan'ın farklı bölgelerinde yer alan sokak satıcıları ve perakendecilerinden 600 tanesi et, tavuk eti ve süt örnekleri, 200'ü ise 100 adet taze salata ve 100 adet taze sebze örneği olmak üzere toplamda 800 gıda örneği Çin Ulusal Gıda Güvenliği Standartlarına göre analiz edilmiştir. Taze salatadan alınan 100 adet örneğin 2'sinde (%2) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Taze olan 100 sebze örneğinde ise *L. monocytogenes* saptanmamıştır.

Kanada'da 2011 yılında ülke genelinde perakende olarak satılan 5691 taze kesilmiş meyve ve 5379 taze kesilmiş sebze örneği analiz edilmiş, 24 adet meyve (%0,51) ve 13 adet sebze örneğinde (%0,34) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Health Canada, 2011).

Bu araştırma sonucu elde edilen bulgular *Listeria* spp. yönünden değerlendirildiğinde; Goni ve ark. (2016), Kljujev ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmaların sonuçlarının bu çalışmadaki verilere kıyasla daha düşük olduğu tespit edildi.

Bu çalışmada toplanan örneklerden *L. monocytogenes* izole edilmemiş olup, Campos ve ark. (2013), Kyere ve ark. (2020), Samad ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Ajayeoba ve ark. (2016), Byrne ve ark. (2016), Cengiz ve Aytaç (2008), Chen ve ark. (2018), Health Canada (2011), Kara ve ark. (2019), Kyere ve ark. (2020), Leong ve ark. (2017), Li ve ark. (2017), Moravkova ve ark. (2017), Samad ve ark. (2020), Soni ve ark. (2014), Szabo ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen verilerde *Listeria* spp. oranları ile bu çalışmada bulunan *Listeria* spp. oranları kıyaslandığında, diğer çalışmadaki verilerin yüksek olduğu tespit edildi. Yapılan araştırma sonuçlarının, diğer araştırmaların sonuçlarından farklı olmasının; mevsim faktörleri, coğrafik konum, örnek hammadesi farklılıkları, hammadde üretim ve muhafaza koşulları, personel hijyeni, nakliyyede ve satıştaki çapraz kontaminasyon, satış personelinin örnek ürünlerin üzerindeki etkisi gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

L. monocytogenes, ciddi halk sağlığı ve ekonomik etkileri olan zoonotik, gıda kaynaklı bir patojendir. *L. monocytogenes* dahil olmak üzere gıda kaynaklı patojenler, halk sağlığı için ciddi bir tehdit ve dünya çapında sosyo-ekonomik kalkınmanın önünde önemli bir engel olmaya devam etmektedir.

Bu araştırmada Burdur ilindeki farklı semt pazarlarından her birinden 10'ar adet olmak üzere toplam 90 adet ıspanak, brokoli, marul, maydanoz, roka, semizotu, tere, yeşil soğan ve mantardan oluşan çiğ sebze örneği *L. monocytogenes* ve *Listeria* spp. yönüyle analiz edildi ve çiğ sebze örneklerinin 7'sinde (%77,77) *Listeria* spp. tespit edildi. Yeşil soğanın %40'ı, ıspanağın %20'si ve maydanozun %10'u *Listeria* spp. ile kontamine olduğu tespit edilirken, brokoli, roka, tere, mantar, marul ve semiz otu örneklerinde ise *Listeria* spp. belirlenmedi. Burdur ilinde semt pazarında satılan çiğ sebzelerin *L. monocytogenes* belirlenmemiş olması halk sağlığı açısından olumlu bulunurken, *Listeria* spp. bakımından riskli olduğu kanatına varıldı.

Sebzelerin *Listeria* spp. ile kontaminasyonunu önlemek için tedbirler alınması gerekmektedir. Tarladan başlayarak sofraya kadar olan ürünlerde kontaminasyonu azaltmak için; taze ürünlerin yetiştirilmesi, hasat edilmesi, sınıflandırılması, paketlenmesi ve dağıtımında ürün güvenliğini arttırmak için iyi tarım ve yönetim politikaları uygulanmalıdır. Su hasat sonrası işlemlerde potansiyel kontaminasyonu azaltmada yararlı olsa da aynı zamanda bir kontaminasyon veya çapraz kontaminasyon kaynağıdır. Hasatın yetiştirilmesi, hasat sonrası su kullanımı kontrol ve korumadaki temel basamaklardandır. Tarımda kullanılan su; atık su drenajlarından gelen sular, akış yolunun ilk durağı hayvan çiftliklerinden gelen kirlenmiş su ve geçici kirlenmeye maruz kalmış yüzey sularından olmamalıdır. Kuyuların kirlenmeye karşı uygun inşa edilmesi ve korunması, mikrobiyal yükü olma olasılığı olan suların analizlerinin yapıp arıtılması, şüpheli su kaynağından gelen suyun çevre koruma ve halk sağlığı kuruluşları tarafından su kalitesinin periyodik olarak test edilmelidir. Çiftçilerin kullandığı sıhhi tesisatlar periyodik olarak kontrol edilmeli, sulamada kullanılan ekipmanlar (su depoları, boşaltma

tankları, kanallar) ve hasat sonrası kullanılan ekipmanlar (yıkama tankları, hidro soğutucular vb.) sıklıkla temizlenmeli ve sterilize edilmelidir. Ayrıca ürünün bozulmaması için kullanılan depo alanları ve hava soğutma ekipmanları periyodik olarak temizlenmeli ve kontrol edilmelidir. İşçi veya personelin el hijyeni, el hijyeninde kullanılan suyun mikrobiyal kalitesi, uygun el yıkama işlemi, tuvalet olanaklarının tarım arazisine uygun inşa edilmesi sağlanmalıdır. Tarım alanı ve depolama alanları kemirgenler, haşere ve kuşlar gibi kontamine faktörlerden arındırılmalıdır. Kontaminasyonu azaltmak için taze sebzelerin nakliyesinden önce taşımada kullanılan araçlara temizlik ve sanitasyon uygulanmalıdır.



KAYNAKLAR

- Aalto-Araneda M, Lundén J, Markkula A, Hakola S, Korkeala H (2019).** Processing plant and machinery sanitation and hygiene practices associate with *Listeria monocytogenes* occurrence in ready-to-eat fish products. *Food Microbiol.*, **82**, 455-464.
- Abatcha MG, Goni MD, Abbas MA, Jalo IM, Mohammed G (2020).** A review of *Listeria* and *Salmonella*: An update on description, characteristics, incidence, and antibiotic susceptibility. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, **8(11)**, 1232-1249.
- Abdellaoui L, Bouayad L, Bensefia SA, Hamdi TM (2020).** Serotyping and antibiotic sensitivity of *Listeria monocytogenes* isolated from cheeses produced in the region of Algiers (Algeria). *Veterinaria*, **69(1)**, 43-49.
- Ajayeoba TA, Atanda OO, Obadina AO, Bankole MO, Adelowo OO (2016).** The incidence and distribution of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat vegetables in South-Western Nigeria. *Food Sci. Nutr.*, **4(1)**, 59-66.
- Alía A, Andrade MJ, Córdoba JJ, Martín I, Rodríguez A (2020).** Development of a multiplex real-time PCR to differentiate the four major *Listeria monocytogenes* serotypes in isolates from meat processing plants. *Food microbiol.*, **87**, 1-7.
- Allcock JG (1992).** Cutaneous listeriosis. *Vet. Rec.*, **130(1)**, 18-19.
- Allerberger F (2003).** *Listeria*: growth, phenotypic differentiation and molecular microbiology. *FEMS Microbiol. Immunol.*, **35(3)**, 183-189.
- Alvarez MXC (2019).** *Phenotypic and Genomic Assessment of Listeria monocytogenes Virulence*. Thesis of Doctoral Degree North Dakota State University, North Dakota, USA.
- Amusan EE, Sanni AI (2018).** *Isolation and Identification of Listeria monocytogenes in Fresh Croaker (Pseudotolithus senegalensis)*. 8th International Biotechnology Conference, Exhibition and Workshop. 11-13 March Nigeria, p: 6.
- Anon (2014).** Management of pregnant women with presumptive exposure to *Listeria monocytogenes*. Committee Opinion No:164. The American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet. Gynecol.*, **124**, 1241-1244.
- Arda M (2006).** Temel Mikrobiyoloji. 3. Baskı, Ankara: Medisan, s:257-289.
- Aryani DC, den Besten HMW, Hazeleger WC, Zwietering MH (2015).** Quantifying strain variability in modeling growth of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.*, **208**, 19-29.

Aureli P, Fiorucci GC, Caroli D, Marchiaro G, Novara O, Leone L, Salmaso S (2000). An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. *N. Engl. J. Med.*, **342**, 1236-1241.

Barbour AH, Rampling A, Hormaeche CE (2001). Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infect. Immun.*, **69**(7), 4657-4660.

Barth M, Hankinson TR, Zhuang H, Breidt F (2009). *Microbiological spoilage of fruits and vegetables*. In: Doyle MP., Sperber WH (EDS). Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages. Springer Science & Business Media, New York, p: 135-183.

Benshushan A, Tsafirir A, Arbel R, Rahav G, Ariel I, Rojansky N (2002). *Listeria* infection during pregnancy: a 10 year experience. *Isr. Med. Assoc. J.*, **4**(10), 776-780.

Beresford MR, Andrew PW, Shama G (2001). *Listeria monocytogenes* adheres to many materials found in food-processing environments. *J. Appl. Microbiol.*, **90**(6), 1000-1005.

Beuchat LR (1996). Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *J. Food Prot.*, **59**(2), 204-216.

Beuchat LR, Farber JM, Garrett EH, Harris LJ, Parish ME, Suslow TV, Busta FF (2001). Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. *J. Food Prot.*, **64**(7), 1079-1084.

Beuchat LR (2002). Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes. Infect.*, **4**(4), 413-423.

Bierne H, Sabet C, Personnic N, Cossart P (2007). Internalins: a complex family of leucine-rich repeat-containing proteins in *Listeria monocytogenes*. *Microbes. Infect.*, **9**(10), 1156-1166.

Brockstedt DG, Giedlin MA, Leong ML, Bahjat KS, Gao Y, Luckett W, Liu W, Cook DN, Portnoy DA, Dubensky TW (2004). *Listeria*-based cancer vaccines that segregate immunogenicity from toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101**(38), 13832-13837.

Bubert A, Kohler S, Goebel W (1992). The homologous and heterologous regions within the *iap* gene allow genus- and species-specific identification of *Listeria* spp. by polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**(8), 2625–2632.

Byrne VDV, Hofer E, Vallim DC, Almeida RCDC (2016). Occurrence and antimicrobial resistance patterns of *Listeria monocytogenes* isolated from vegetables. *Braz. J. Microbiol.*, **47**(2), 438-443.

Cabanes D, Dehoux P, Dussurget O, Frangeul L, Cossart P (2002). Surface proteins and the pathogenic potential of *Listeria monocytogenes*. *Trends Microbiol.*, **10(5)**, 238-245.

Campos J, Mourao J, Pestana N, Peixe L, Novais C, Antunes P (2013). Microbiological quality of ready-to-eat salads: an underestimated vehicle of bacteria and clinically relevant antibiotic resistance genes. *Int. J. Food Microbiol.*, **166(3)**, 464-470.

Carpentier B, Cerf O (2011). Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *Int. J. Food Microbiol.*, **145(1)**, 1-8.

Carrero JA, Calderon B, Unanue ER (2004). Listeriolysin O from *Listeria monocytogenes* is a lymphocyte apoptogenic molecule. *J. Immunol.*, **172(8)**, 4866-4874.

CDC-Centers for Disease Control and Prevention (2014). *National Enteric Disease Surveillance: Listeria Annual Summary:2012.* <https://www.cdc.gov/listeria/pdf/listeria-annual-summary-2012-508c.pdf> (Erişim Tarihi:15.06.2021).

Cengiz C, Aytaç SA (2008). Bazı gıdalardan izole edilen *L. monocytogenes* İzolatlarının virulanslık özelliğinin moleküler yöntemle belirlenmesi. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs Erzurum, s: 13-16.

Chaturongakul S, Raengpradub S, Wiedmann M, Boor KJ (2008). Modulation of stress and virulence in *Listeria monocytogenes*. *Trends microbiol.*, **16(8)**, 388-396.

Chaves RD, Martinez RCR, Rezende ACB, Rocha MD, Oteiza JM, de Souza Sant'Ana A (2016). Chapter 8:Salmonella and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat leafy vegetables. In: Kotzekidou P. (Eds), Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods. London: Academic Press, p: 123-149.

Chen JQ, Regan P, Laksanalamai P, Healey S, Hu Z (2017). Prevalence and methodologies for detection, characterization and subtyping of *Listeria monocytogenes* and *L. ivanovii* in foods and environmental sources. *Food Sci. Hum. Wellness*, **6**, 97-120.

Chen M, Cheng J, Wu, Q, Zhang, J, Chen Y, Zeng H, Ye Q, Wu S, Cai S, Wang J, Ding Y (2018). Prevalence, potential virulence, and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from edible mushrooms in Chinese markets. *Front. Microbiol.*, **9**, 1711.

Collins MD, Wallbanks S, Lane DJ, Shah J, Nietupski R, Smida J, Dorsch M, Stackebrandt E (1991). Phylogenetic analysis of the genus *Listeria* based on reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **41**, 240-246.

Corr S, Hill C, Gahan CG (2006). An in vitro cell-culture model demonstrates internalin-and hemolysin-independent translocation of *Listeria monocytogenes* across M cells. *Microb. Pathog.*, **41(6)**, 241-250.

Cotter PD, Gaban CG, Hill C (2000). Analysis of the role of *Listeria monocytogenes* F0F1-ATPase operon in the acid tolerance response. *Int. J. Food Microbiol.*, **60(2-3)**, 137-146.

Craig AM, Dotters-Katz S, Kuller JA, Thompson JL (2019). Listeriosis in pregnancy: a review. *Obstet. Gynecol. Surv.*, **74(6)**, 362-368.

da Costa Neto LD (2015). *Safety and Quality Assessment of Ultrasound Treated Lettuce*. Thesis of Doctoral Degree, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, Portugal.

DeLong EF (2002). Microbial population genomics and ecology. *Curr. Opin. Microbiol.*, **5(5)**, 520-524.

Desvaux M, Hebraud M (2006). The protein secretion systems in *Listeria*: inside out bacterial virulence. *FEMS Microbiol. Rev.*, **30(5)**, 774-805.

Doganay M (2003). Listeriosis: Clinical presentation. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **35**, 173-175.

Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P (2004). Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.*, **42(8)**, 3819-3822.

Dramowski A, Lloyd LG, Bekker A, Holgate S, Aucamp M, Reddy K, Finlayson H (2018). Neonatal listeriosis during a countrywide epidemic in South Africa: A tertiary hospital's experience. *S. Afr. Med. J.*, **108(10)**, 818-827.

Drevets DA, Bronze MS (2008). *Listeria monocytogenes*: epidemiology, human disease, and mechanisms of brain invasion. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **53(2)**, 151-165.

Drolia R, Bhunia AK (2019). Crossing the intestinal barrier via *Listeria* adhesion protein and internalin A. *Trends microbiol.*, **27(5)**, 408-425.

EC- European Commission (2020). *Commission regulation (EC) No 2073/2005 of 15 november 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Document 02005R2073-20200308.*

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02005R2073-20200308#E0016>. (Erişim Tarihi: 25.11.2021)

EFSA-European Food Safety Authority (2013). *EFSA explains zoonotic diseases Listeria*. ISBN 978-92-9199-569-1, Italy. <https://www.efsa.europa.eu/en/corporate/pub/factsheetlisteria2014>. (Erişim Tarihi: 19.04.2021).

EFSA-European Food Safety Authority (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA J.*, **13(1)**, 68-70.

FDA (1998). *Guide to minimize microbial food safety hazards for fresh fruits and vegetables.* DC 20204, Washington. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-guide-minimize-microbial-food-safety-hazards-fresh-fruits-and-vegetables> (Erişim Tarihi:15.06.2021).

FDA (2017). *BAM Chapter 10: Detection of Listeria monocytogenes in foods and environmental samples, and enumeration of Listeria monocytogenes in foods.* <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-10-detection-listeria-monocytogenes-foods-and-environmental-samples-and-enumeration> (Erişim Tarihi: 05.07.2021).

FDA (2020a). *BAM R54: Oxidase reagent.* <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-r54-oxidase-reagent#:~:text=This%20is%20the%20preferred%20reagent.&text=Oxidase%20Dpo%20sitive%20colonies%20develop%20a,regent%20is%20toxic%20to%20organisms>. (Erişim Tarihi: 15.07.2021).

FDA (2020b). *BAM R38: Kovacs' reagent* <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-r38-kovacs-reagent>. (Erişim Tarihi: 12.07.2021)

Fenlon DR (1999). *Listeria monocytogenes in the natural environment.* In Ryser ET, Marth EH. (Eds), *Listeria, listeriosis, and food safety*, 2nd ed. Marcel Dekker, New York, p: 21–38.

Feresu SB, Jones D (1988). Taxonomic studies on *Brochothrix*, *Erysipelothrix*, *Listeria* and atypical lactobacilli. *J. Gen. Microbiol.*, **134(5)**, 1165-1183.

Ferreira V, Wiedmann M, Teixeira P, Stasiewicz MJ (2014). *Listeria monocytogenes* persistence in food-associated environments: epidemiology, strain characteristics, and implications for public health. *J. Food Prot.*, **77(1)**, 150-170.

Francis GA, Thomas C, O'beirne D (1999). The microbiological safety of minimally processed vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **34(1)**, 1-22.

Freitag NE, Port GC, Miner MD (2009). *Listeria monocytogenes* from saprophyte to intracellular pathogen. *Nat. Rev. Microbiol.*, **7(9)**, 623-628.

FSAI-Food Safety Authority of Ireland (2011). *Regulatory Review. Annual Report.* <https://www.fsai.ie/WorkArea/DownloadAsset.aspx?id=11463> (Erişim Tarihi 09.05.2021).

Fullerton L, Norrish G, Wedderburn CJ, Paget S, Roy RB, Cane C (2015). Nosocomial neonatal *Listeria monocytogenes* transmission by stethoscope. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, **34(9)**, 1042-1043.

- Garner D, Kathariou S (2016).** Fresh produce associated listeriosis outbreaks, sources of concern, teachable moments, and insights. *J. Food Prot.*, **79(2)**, 337-344.
- Gaul LK, Farag NH, Shim T, Kingsley MA, Silk BJ, Hyytia-Trees E (2013).** Hospital-acquired listeriosis outbreak caused by contaminated diced celery Texas, 2010. *Clin. Infect. Dis.*, **56(1)**, 20-26.
- Genereux M, Breton MJ, Fairbrother JM, Fravalo P, Cote C (2015).** Persistence of indicator and pathogenic microorganisms in broccoli following manure spreading and irrigation with fecally contaminated water: field experiment. *J. Food Prot.*, **78(10)**, 1776-1784.
- Gillespie IA, Mook P, Little CL, Grant KA, McLauchlin J (2010).** Human listeriosis in England, 2001-2007: association with neighbourhood deprivation. *Euro. Surveill.*, **15(27)**, 7-16.
- Godshall CE, Suh G, Lorber B (2013).** Cutaneous listeriosis. *J. Clin. Microbiol.*, **51(11)**, 3591-3596.
- Gombas DE, Chen Y, Clavero RS, Scott VN (2003).** Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *J. Food Prot.*, **66(4)**, 559-569.
- Goni AM, Tan PL, Esah EM, Chuah LO, Rusul G (2016).** Prevalence of *Listeria* species in raw leafy vegetables obtained from wet markets. Conference: 33rd MSM Symposium, 14-17 December Kuala Lumpur/Malaysian, p: 1.
- González-Zorn B, Domínguez-Bernal G, Suárez M, Ripio MT, Vega Y, Novella S, Vázquez-Boland JA (1999).** The smcL gene of *Listeria ivanovii* encodes a sphingomyelinase C that mediates bacterial escape from the phagocytic vacuole. *Mol. Microbiol.*, **33(3)**, 510-523.
- Gorski L, Palumbo JD, Mandrell RE (2003).** Attachment of *Listeria monocytogenes* to radish tissue is dependent upon temperature and flagellar motility. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69(1)**, 258-266.
- Gorski L, Palumbo JD, Nguyen KD (2004).** Strain-specific differences in the attachment of *Listeria monocytogenes* to alfalfa sprouts. *Food Prot.*, **67(11)**, 2488-2495.
- Gray MJ, Zadoks RN, Fortes ED, Dogan B, Cai S, Chen Y, Scott VN, Gombas DE, Boor KJ, Wiedmann M (2004).** *Listeria monocytogenes* isolates from foods and humans form distinct but overlapping populations. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70(10)**, 5833-5841.
- Gustafson RE, Ryser ET (2017).** Thermal inactivation and growth of *Listeria monocytogenes* during production and storage of caramel apples. *Food Control*, **79**, 234-238.

- Hadjilouka A, Koubou V, Paramithiotis S, Mataragas M, Drosinos EH (2018).** Prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 in strawberries in Greece and performance evaluation of the culture media. *Clin. Res. Trial.*, **4(1)**, 1-3.
- Hall JN, Moore S, Harper SB, Lynch JW (2009).** Global variability in fruit and vegetable consumption. *Am. J. Prev. Med.*, **36(5)**, 402-409.
- Hamon M, Bierne H, Cossart P (2006).** *Listeria monocytogenes*: a multifaceted model. *Nat. Rev. Microbiol.*, **4(6)**, 423-434.
- Harrigan WF (1998).** *Laboratory Methods in Food Microbiol.* 3rd Ed, Academic Press. San Digo, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo and Toronto. p:100-120.
- Hartford T, Sneath PHA (1993).** Optical DNA-DNA homology in the genus *Listeria*. *Int. J Syst. Bacteriol.*, **43(1)**, 26-31.
- Health Canada (2011).** *Policy on Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods.* <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/legislation-guidelines/policies/policy-listeria-monocytogenes-ready-eat-foods-2011.html>. (Erişim Tarihi:16.04.2021).
- Hof H (2001).** *Listeria monocytogenes*: a causative agent of gastroenteritis?. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **20(6)**, 369-373.
- Hoffmann S, Batz MB, Morris Jr JG (2012).** Annual cost of illness and quality-adjusted life year losses in the United States due to 14 foodborne pathogens. *J. Food Prot.*, **75(7)**, 1292-1302.
- Holah JT, Taylor JH, Dawson DJ, Hall KE (2002).** Biocide use in the food industry and the disinfectant resistance of persistent strains of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *J. Appl. Microbiol.*, **92**, 111-120.
- Holko I, Urbanova J, Kantikova M, Pastorova K, Kmet' V (2002).** PCR detection of *Listeria monocytogenes* in milk and milk products and differentiation of suspect isolates. *Acta Vet. Brno*, **71**, 125-131.
- Huang L (2009).** Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground beef under isothermal and dynamic temperature conditions. *J. Food Eng.*, **90(3)**, 380-387.
- Huss HH, Jørgensen LV, Vogel BF (2000).** Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. *Int. J. Food Microbiol.*, **62(3)**, 267-274.
- Hussein AS, Shafran SD (2000).** Acute bacterial meningitis in adults, A 12-year review. *Medicine*, **79(6)**, 360-368.

ILSI-International Life Sciences Institute (2005). Achieving continuous improvement in reductions in foodborne listeriosis a risk-based approach. *J. Food Prot.*, **68(9)**, 1932-1994.

ISO-International Organization for Standardization (2017). EN ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. Part 1: Detection method.

Jay JM, (2008). *Modern food microbiology*, Sixth Edition. Springer Science & Business Media, Las Vegas, 485-510.

Jennison AV, Masson JJ, Fang NX, Graham RM, Bradbury MI, Fegan N, Gobius KS, Graham TM, Guglielmino CJ, Brown JL, Fox EM (2017). Analysis of the *Listeria monocytogenes* population structure among isolates from 1931 to 2015 in Australia. *Front. Microbiol.*, **8**, 1-13.

Jeon WB, Cheng J, Ludden PW (2001). Purification and characterization of membrane-associated CooC protein and its functional role in the insertion of nickel into carbon monoxide dehydrogenase from *Rhodospirillum rubrum*. *J. Biol. Chem.*, **276(42)**, 38602-38609.

Jordan K, Leong D, Alvarez-Ordóñez A (2015). *Listeria monocytogenes in the food processing environment*. Springer, New York, 3-41.

Jørgensen F, Stephens PJ, Knøchel S (1995). The effect of osmotic shock and subsequent adaptation on the thermotolerance and cell morphology of *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Microbiol.*, **79**, 274-281.

Jurado RL, Farley MM, Pereira E, Harvey RC, Schuchat A, Wenger JD, Stephens DS (1993). Increased risk of meningitis and bacteremia due to *Listeria monocytogenes* in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin. Infect. Dis.*, **17(2)**, 224-227.

Kaptchouang-Tchatchouang CD, Fri J, De Santi M, Brandi G, Schiavano GF, Amagliani G, Ateba CN (2020). Listeriosis outbreak in south Africa: a comparative analysis with previously reported cases worldwide. *Microorganisms*, **8(1)**, 1-18.

Kara R, Acaröz U, Gürler Z, Soylu A, Küçükkurt O (2019). Taze marul örneklerinde *Escherichia coli* O157 ve *Listeria monocytogenes* varlığının belirlenmesi. *EJOSAT*, **16**, 870-873.

Kathariou S, Pine L (1991). The type strain (s) of *Listeria monocytogenes*: a source of continuing difficulties. *Int. J. Syst. Microbiol.*, **41(2)**, 328-330.

Kathariou S, Kanenaka R, Allen RD, Fok AK, Mizumoto C (1995). Repression of motility and flagellin production at 37 C is stronger in *Listeria monocytogenes*

than in the nonpathogenic species *Listeria innocua*. *Can. J. Microbiol.*, **41**(7), 572-577.

Kathariou S (2002). *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *J. Food Prot.*, **65**(11), 1811-1829.

Kayode AJ, Igbiosa EO, Okoh AI (2020). Overview of listeriosis in the Southern African Hemisphere. *J. Food Saf.*, **40**, 1-22.

Khelef N, Lecuit M, Buchrieser C, Cabanes D, Dussurget O, Cossart P (2006). *Listeria monocytogenes* and the genus *Listeria*. In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer KH., Stackebrandt E. The prokaryotes (Eds). Vol. 4: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria, 404-476.

Kljujev I, Raicevic V, Jovicic-Petrovic J, Vujovic B, Mirkovic M, Rothballer M (2018). *Listeria monocytogenes*-danger for health safety vegetable production. *Microb. Pathog.*, **120**, 23-31.

Koudelka Š, Gelbíčová T, Procházková M, Karpíšková R (2019). Lineage and serotype identification of *Listeria monocytogenes* by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Czech J. Food Sci.*, **36**, 452-458.

Koutsoumanis K, Alvarez-Ordóñez A, Bolton D, Bover-Cid S, Chemaly M, Davies R, De Cesare A, Herman L, Hilbert F, Lindqvist R, Nauta M, Peixe L, Ru G, Simmons M, Skandamis P, Suffredini E, Jordan K, Samplers I, Wagner M, Felicio MTDS, Georgiadis M, Messens W, Mosbach-Schulz O, Allende A (2020). The public health risk posed by *Listeria monocytogenes* in frozen fruit and vegetables including herbs, blanched during processing. *EFSA J.*, **18**(4),46-49.

Kuhn M, Goebel W (1989). Identification of an extracellular protein of *Listeria monocytogenes* possibly involved in intracellular uptake by mammalian cells. *Infect. Immun.*, **57**(1), 55-61.

Kyere EO, Qiu GW, Zain SNM, Palmer J, Wargent JJ, Fletcher GC, Flint S (2020). A comparison of *Listeria monocytogenes* contamination in bagged and un-bagged lettuce in supermarkets. *LWT*, **134**, 110022.

Lahou E, Jacxsens L, Verbunt E, Uyttendaele M (2015). Evaluation of the food safety management system in a hospital food service operation toward *Listeria monocytogenes*. *Food control*, **49**, 75-84.

Lamond NM, Freitag NE (2018). Vertical transmission of *Listeria monocytogenes*: Probing the balance between protection from pathogens and fetal tolerance. *Pathogens*, **7**(2), 52.

Lamont RF, Sobel J, Mazaki-Tovi S, Kusanovic JP, Vaisbuch E, Kim, Uldbjerg N, SK, Romero R (2011). Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. *J. Perinat Med.*, **39**(3), 227-236.

Lecuit M (2007). Human listeriosis and animal models. *Microbes Infect.* **9(10)**, 1216-1225.

Lee S, Çetinkaya F, Soyutemiz GE (2007). İhracata yönelik üretilen bazı gıdalarda *Listeria monocytogenes* varlığının araştırılması. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **33 (2)**, 1-11.

Leong D, Alvarez-Ordóñez A, Jordan K (2014). Monitoring occurrence and persistence of *Listeria monocytogenes* in foods and food processing environments in the Republic of Ireland. *Front. Microbiol.*, **5**, 436.

Leong D, NicAogáin K, Luque-Sastre L, McManamon O, Hunt K, Alvarez-Ordóñez A, Scollard J, Schmalenberger A, Fanning S, O'Byrne C, Jordan K (2017). A 3-year multi-food study of the presence and persistence of *Listeria monocytogenes* in 54 small food businesses in Ireland. *Int. J. Food Microbiol.*, **249**, 18-26.

Li K, Weidhaas J, Lemonakis L, Khouryieh H, Stone M, Jones L, Shen C (2017). Microbiological quality and safety of fresh produce in West Virginia and Kentucky farmers' markets and validation of a post-harvest washing practice with antimicrobials to inactivate *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, **79**, 101-108.

Li W, Bai L, Fu P, Han H, Liu J, Guo Y (2018). The epidemiology of *Listeria monocytogenes* in China. *Foodborne Pathog. Dis.*, **15(8)**, 459-466.

Linke K, Rückerl I, Brugger K, Karpiskova R, Walland J, Muri-Klinger S, Tichy A, Wagner M, Stessl B (2014). Reservoirs of *Listeria* species in three environmental ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.*, **80(18)**, 5583-5592.

Little CL, Gillespie IA (2008). Prepared salads and public health. *J. Appl. Microbiol.*, **105(6)**, 1729-1743.

Liu D, Lawrence ML, Wiedmann M, Gorski L, Mandrell RE, Ainsworth AJ, Austin FW (2006). *Listeria monocytogenes* subgroups IIIA, IIIB, and IIIC delineate genetically distinct populations with varied pathogenic potential. *J. Clin. Microbiol.*, **44(11)**, 4229-4233.

Liu RH (2013). Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Adv. Nutr.*, **4(3)**, 384S-392S.

Lobel L, Herskovits AA (2016). Systems level analyses reveal multiple regulatory activities of Cdy controlling metabolism, motility and virulence in *Listeria monocytogenes*. *PLoS Genet.*, **12(2)**, 1-27.

Locatelli A, Spor A, Jolivet C, Piveteau P, Hartmann A (2013). Biotic and abiotic soil properties influence survival of *Listeria monocytogenes* in soil. *PLoS One*, **8(10)**, 1-7.

Lomonaco S, Nucera D, Filipello V (2015). The evolution and epidemiology of *Listeria monocytogenes* in Europe and the United States. *Infect. Genet. Evol.*, **35**, 172-183.

Losio MN, Pavoni E, Bilei S, Bertasi B, Bove D, Capuano F, Farneti S, Blasi G, Comin D, Cardamone C, Decastelli L, Delibato E, De Santis P, Di Pasquale S, Gattuso A, Goffredo E, Fadda A, Pisanu M, De Medici D (2015). Microbiological survey of raw and ready-to-eat leafy green vegetables marketed in Italy. *Int. J. Food Microbiol.*, **210**, 88-91.

Low JC, Donachie W (1997). A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *Vet. J.*, **153**(1), 9-29.

Ludwig W, Schleife, KH, Whitman WB (2011). *Family III. Listeriaceae fam. nov.* In: Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg NR., Ludwig W., Rainey FA., Whitman, W. B. (Eds.). *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes (Vol. 3)*. Springer Science & Business Media, 244-257.

Lyautey E, Lapen DR, Wilkes G, McCleary K, Pagotto F, Tyler K, Hartmann A, Piveteau P, Rieu A, Robertson WJ, Medeiros DT, Edge TA, Gannon V, Topp E (2007). Distribution and characteristics of *Listeria monocytogenes* isolates from surface waters of the South Nation River watershed, Ontario, Canada. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**(17), 5401-5410.

Madden RH, Hutchison M, Jordan K, Pennone V, Gundogdu O, Corcionivoschi N (2018). Prevalence and persistence of *Listeria monocytogenes* in premises and products of small food business operators in Northern Ireland. *Food Control*, **87**, 70-78.

Madhavi D (2018). A comparative study of conventional and automated culture system [BACTEC] for detection of bacterial infection. *Saudi J. Pathol. Microbiol.*, **3**, 419-422.

Madjunkov M, Chaudhry S, Ito S (2017). Listeriosis during pregnancy. *Arch. Gynecol. Obstet.*, **296**(2), 143-152.

Malley TJ, Butts J, Wiedmann M (2015). Seek and destroy process: *Listeria monocytogenes* process controls in the ready-to-eat meat and poultry industry. *J. Food Prot.*, **78**(2), 436-445.

Marco AJ, Prats N, Ramos JA, Briones V, Blanco M, Dominguez L, Domingo M (1992). A microbiological, histopathological and immunohistological study of the intragastric inoculation of *Listeria monocytogenes* in mice. *J. Comp. Pathol.*, **107**(1), 1-9.

Matto C, Varela G, Braga V, Vico V, Giannechini RE, Rivero R (2018). Detection of *Listeria* spp. in cattle and environment of pasture-based dairy farms. *Pesq. Vet. Bras.*, **38**(9), 1736-1741.

Mazzotta AS (2001). Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in vegetables: evaluation of blanching processes. *J. Food Prot.*, **64(3)**, 385-387.

McCollum JT, Cronquist AB, Silk BJ, Jackson KA, O'connor KA, Cosgrove S, Gossack JP, Parachini SS, Jain NS, Ettestad P, Ibrahim M, Cantu V (2013). Multistate outbreak of listeriosis associated with cantaloupe. *N. Engl. J. Med.*, **369(10)**, 944-953.

McLauchlin J, Mitchell R, Smerdon WJ, Jewell K (2004). *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *Int. J. Food Microbiol.*, **92(1)**, 15-33.

Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Tauxe RV (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.*, **5(5)**, 607.

Miceli A, Settanni L (2019). Influence of agronomic practices and pre-harvest conditions on the attachment and development of *Listeria monocytogenes* in vegetables. *Ann. Microbiol.*, **69**, 185-199.

Minitab (2011). Minitab for windows version release 16, Minitab Inc.

Moravkova M, Verbikova V, Michna V, Babak V, Cahlikova H, Karpiskova R, Kralik P (2017). Detection and quantification of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat vegetables, frozen vegetables and sprouts examined by culture methods and real-time PCR. *J. Food Nutr. Res.*, **5(11)**, 832-837.

Moura A, Tourdjman M, Leclercq A, Hamelin E, Laurent E, Fredriksen N, Van Cauteren D, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Vales G, Tessaud-Rita N, Maury MM, Alexandru A, Criscuolo A, Quevillon E, Donguy MP, Enouf V, de Valk H, Brisse S, Lecuit M (2017). Real-time whole-genome sequencing for surveillance of *Listeria monocytogenes*, France. *Emerg. Infect. Dis.*, **23(9)**, 1462.

Muchaamba F, Stephan R, Tasara T (2020a). β -Phenylethylamine as a natural food additive shows antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat foods. *Foods*, **9(10)**, 1363.

Muchaamba F, Eshwar AK, von Ah U, Stevens MJ, Tasara T (2020b). Evolution of *Listeria monocytogenes* during a persistent human prosthetic hip joint infection. *Front. Microbiol.*, **11**, 1726.

Müller-Herbst S, Wüstner S, Mühlig A, Eder D, Fuchs TM, Held C, Ehrenreich A, Scherer S (2014). Identification of genes essential for anaerobic growth of *Listeria monocytogenes*. *Microbiology*, **160**, 752-765.

Nguyen-the C, Carlin F (1994). The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **34(4)**, 371-401.

NicAogáin K, O'Byrne CP (2016). The role of stress and stress adaptations in determining the fate of the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* in the food chain. *Front. Microbiol.*, **7**, 1865.

Nilsson RE, Ross T, Bowman JP, Britz ML (2013). MudPIT profiling reveals a link between anaerobic metabolism and the alkaline adaptive response of *Listeria monocytogenes* EGD-e. *PLoS One*, **8**, e54157.

Nucera D, Lomonaco S, Bianchi DM, Decastelli L, Grassi MA, Bottero MT, Civera T (2010). A five year surveillance report on PFGE types of *Listeria monocytogenes* isolated in Italy from food and food related environments. *Int. J. Food Microbiol.*, **140**, 271-276.

Oevermann A, Zurbriggen A, Vandeveld M (2010). Rhombencephalitis caused by *Listeria monocytogenes* in humans and ruminants: a zoonosis on the rise?. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.*, **1**, 1-22.

OIE-World Organisation for Animal Health (2014). *OIE (world organisation for animal health) terrestrial manual Listeria monocytogenes*. Paris, France. https://www.researchgate.net/publication/266858383_Listeria_monocytogenes. (Erişim Tarihi: 11.08.2021)

Olaimat AN, Holley RA (2012). Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. *Food Microbiol.*, **32**(1), 1-19.

Olaimat AN, Al-Holy MA, Shahbaz HM, Al-Nabulsi AA, Abu Ghoush MH, Osaili TM, Ayyash MM, Holley RA (2018). Emergence of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes* isolated from food products: a comprehensive review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **17**(5), 1277-1292.

Oliveira M, Guerra M, Bernardo F (2008). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in silages assessed by fluorescent in situ hybridization. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, **60**(1), 267-269.

Olsen SJ, Patrick M, Hunter SB, Reddy V, Kornstein L, MacKenzie WR, Lane K, Bidol S, Stoltman GA, Frye DG, Lee I, Hurd S, Jones TF, LaPorte TN, Dewitt W, Graves L, Wiedmann M, Schoonmaker-Bopp DJ, Huang AJ, Vincent C, Bugenhagen A, Corby J, Carloni ER, Holcomb ME, Woron RF, Zansky SM, Dowdle G, Smith F, Ahrabi-Fard S, Ong AR, Tucker N, Hynes NA, Mead P (2005). Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* infection linked to delicatessen turkey meat. *Clin. Infect. Dis.*, **40**(7), 962-967.

Ooi ST, Lorber B (2005). Gastroenteritis due to *Listeria monocytogenes*. *Clin. Infect. Dis.*, **40**(9), 1327-1332.

Orsi RH, den Bakker HC, Wiedmann M (2011). *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *Int. J. Med. Microbiol.*, **301**(2), 79-96.

Oyinloye MA, David OM, Famurewa O (2018). Pathogenic potential of *Listeria monocytogenes* isolated from cattle faeces in Adoekiti. *African J. Clin. Exp. Microbiol.*, **19(2)**, 104-112.

Pahlow G, Muck RE, Driehuis F, Oude Elferink SJHW, Spoelstra SF (2003). Microbiology of ensiling. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **42**, 31-93.

Painter J, Slutsker L (2007). *Listeriosis in humans*. In: Ryser ET., Marth EH. (Eds), *Listeria, Listeriosis and Food Safety*. Third Edition. CRC Press, New York, p: 85-100.

Pamer EG (2004). Immune responses to *Listeria monocytogenes*. *Nat. Rev. Immunol.*, **4(10)**, 812-823.

Pan Y, Breidt F, Kathariou S (2006). Resistance of *Listeria monocytogenes* biofilms to sanitizing agents in a simulated food processing environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, **72(12)**, 7711-7717.

Parkash V, Morotti RA, Joshi V, Cartun R, Rauch CA, West AB (1998). Immunohistochemical detection of *Listeria* antigens in the placenta in perinatal listeriosis. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, **17(4)**, 343-350.

Petran RL, Zottola EA (1989). A study of factors affecting growth and recovery of *Listeria monocytogenes* Scott A. *J. Food Sci.*, **54(2)**, 458-460.

Pillich H, Chakraborty T, Mraheil MA (2015). Cell-autonomous responses in *Listeria monocytogenes* infection. *Future Microbiol.*, **10(4)**, 583-597.

Pine L, Malcolm GB, Brooks JB, Daneshvar MI (1989). Physiological studies on the growth and utilization of sugars by *Listeria* species. *Can. J. Microbiol.*, **35(2)**, 245-254.

Povolyaeva O, Chalenko Y, Kalinin E, Kolbasova O, Pivova E, Kolbasov D, Yurkov S, Ermolaeva S (2020). *Listeria monocytogenes* infection of bat pipistrellus nathusii epithelial cells depends on the invasion factors inla and inlb. *Pathogens*, **9(11)**, 867.

Pöntinen A (2019). *Determinants of Listeria monocytogenes stress responses*. Thesis of Doctoral Degree, University of Helsinki, Helsinki, Finland.

Prazak AM, Murano EA, Mercado I, Acuff GR (2002). Prevalence of *Listeria monocytogenes* during production and postharvest processing of cabbage. *J. Food Prot.*, **65(11)**, 1728-1734.

Premier R (2010). *Reducing Listeria contamination from salad vegetable farms*. Australia: Horticulture Australia Ltd., p: 45.
<https://ausveg.com.au/app/data/technical-insights/docs/VG07079.pdf> (Erişim Tarihi: 11.08.2021).

Pushkareva VI, Ermolaeva SA (2010). *Listeria monocytogenes* virulence factor Listeriolysin O favors bacterial growth in co-culture with the ciliate *Tetrahymena pyriformis*, causes protozoan encystment and promotes bacterial survival inside cysts. *BMC Microbiol.*, **10**, 26.

Quinlan JJ (2013). Foodborne illness incidence rates and food safety risks for populations of low socioeconomic status and minority race/ethnicity: a review of the literature. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **10**(8), 3634-3652.

Radoshevich L, Cossart P (2018). *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. *Nat. Rev. Microbiol.*, **16**(1), 32-46.

Ramaswamy V, Cresence VM, Rejitha JS, Lekshmi MU, Dharsana KS, Prasad SP, Vijila HM (2007). *Listeria*-review of epidemiology and pathogenesis. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, **40**(1), 4-13.

Ramya V, Patel P (2019). Health benefits of vegetables. *IJCS*, **7**(2), 82-87.

Rengarajan M, Hayer A, Theriot JA (2016). Endothelial cells use a formin-dependent phagocytosis-like process to internalize the bacterium *Listeria monocytogenes*. *PLoS Pathog.*, **12**(5), e1005603.

Rico D, Martin-Diana AB, Barat JM, Barry-Ryan C (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends Food Sci. Technol.*, **18**(7), 373-386.

Rivera-Betancourt M, Shackelford SD, Arthur TM, Westmoreland KE, Bellinger G, Rossman M, Reagan JO, Koohmaraie M (2004). Prevalence of *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in two Rivera geographically distant commercial beef processing plants in the United States. *J. Food Prot.*, **67**(2), 295-302.

Roberts AJ, Wiedmann M (2003). Pathogen, host and environmental factors contributing to the pathogenesis of listeriosis. *Cell. Mol. Life Sci.*, **60**(5), 904-918.

Roberts A, Nightingale K, Jeffers G, Fortes E, Kongo JM, Wiedmann M (2006). Genetic and phenotypic characterization of *Listeria monocytogenes* lineage III. *Microbiology*, **152**, 685-693.

Russini V, Spaziante M, Zottola T, Fermani AG, Di Giampietro G, Blanco G, Fabietti P, Marrone R, Parisella R, Parrocchia S, Bossu T, Bilei S, De Marchis ML (2021). A nosocomial outbreak of invasive listeriosis in an Italian hospital: epidemiological and genomic features. *Pathogens*, **10**(5), 591.

Rychli K, Müller A, Zaiser A, Schoder D, Allerberger F, Wagner M, Schmitz-Esser S (2014). Genome sequencing of *Listeria monocytogenes* “quargel” listeriosis outbreak strains reveals two different strains with distinct in vitro virulence potential. *PLoS One*, **9**(2), e89964.

Ryndak MB, Laal S (2019). *Mycobacterium tuberculosis* primary infection and dissemination: a critical role for alveolar epithelial cells. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **9**, 299.

Ryser ET, Arimi SM, Donnelly CW (1997). Effects of pH on distribution of *Listeria* ribotypes in corn, hay, and grass silage. *Appl. Environ. Microbiol.*, **63(9)**, 3695-3697.

Samad A, Asmat R, Naeem M, Ali H, Mustafa MZ, Abbas F, Raza J, Asmat MT (2020). Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from raw vegetables and meat sold in Quetta, Pakistan. *Pakistan J. Zool.*, **52(2)**, 817-820.

Santorum P, Garcia R, Lopez V, Martínez-Suárez JV (2012). Dairy farm management and production practices associated with the presence of *Listeria monocytogenes* in raw milk and beef. *Span. J. Agric. Res.*, **10(2)**, 360-371.

Santos MI, Cavaco A, Gouveia J, Novais MR, Nogueira PJ, Pedroso L, Ferreira MASS (2012). Evaluation of minimally processed salads commercialized in Portugal. *Food Control*, **23(1)**, 275-281.

Sauders BD, Durak MZ, Fortes E, Windham K, Schukken Y, Lembo Jr AJ, Akey B, Bültgen KK, Wiedmann M (2006). Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* from natural and urban environments. *J. Food Prot.*, **69(1)**, 93-105.

Sauders BD, Overdevest J, Fortes E, Windham K, Schukken Y, Lembo A, Wiedmann M (2012). Diversity of *Listeria* species in urban and natural environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, **78(12)**, 4420-4433.

Sauer JD, Herskovits AA, O’Riordan MX (2019). Metabolism of the gram-positive bacterial pathogen *Listeria monocytogenes*. *Microbiol. Spectr.*, **7(4)**, 1-17.

Savini V, Paparella A, Serio A, Marrollo R, Carretto E, Fazii P (2014). *Staphylococcus pseudintermedius* for CAMP-test. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, **7**, 1733.

Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM (2011a). Foodborne illness acquired in the United States major pathogens. *Emerg. Infect. Dis.*, **17(1)**, 7-15.

Scallan E, Griffin PM, Angulo FJ, Tauxe RV, Hoekstra RM (2011b). Foodborne illness acquired in the United States unspecified agents. *Emerg. Infect. Dis.*, **17(1)**, 16-22.

Schlech 3rd WF, Acheson D (2000). Foodborne listeriosis. *Clin. Infect. Dis.*, **31(3)**, 770-775.

Schuchat A, Swaminathan B, Broome CV (1991). Epidemiology of human listeriosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, **4(2)**, 169-183.

Schuppler M, Loessner MJ (2010). The opportunistic pathogen *Listeria monocytogenes*: pathogenicity and interaction with the mucosal immune system. *Int. J. Inflam.*, 2010, Article ID 704321.

Sergelidis D, Abraham A (2009). Adaptive response of *Listeria monocytogenes* to heat and its impact on food safety. *Food Control*, **20**, 1-10.

Setiani BE, Elegado FB, Perez MTM, Mabesa RC, Dizon EI, Sevilla CC (2015). API *Listeria* rapid kit for confirmatory phenotypic conventional biochemical test of the prevalence *Listeria monocytogenes* in selected meat and meat products. *Procedia Food Sci.*, **3**, 445-452.

Shen J, Rump L, Zhang Y, Chen Y, Wang X, Meng J (2013). Molecular subtyping and virulence gene analysis of *Listeria monocytogenes* isolates from food. *Food microbiol.*, **35(1)**, 58-64.

Sjöman M (2010). *The use of serotyping and PFGE-typing of Listeria monocytogenes in food processing contamination studies and human foodborne infections.* Thesis of Doctoral Degree, University of Helsinki, Helsinki, Finland.

Slavin JL, Lloyd B (2012). Health benefits of fruits and vegetables. *Adv. Nutr.*, **3(4)**, 506-516.

Soni DK, Singh M, Singh DV, Dubey SK (2014). Virulence and genotypic characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from vegetable and soil samples. *BMC Microbiol.*, **14**, 241.

Suárez M, González-Zorn B, Vega Y, Chico-Calero I, Vázquez-Boland JA (2001). A role for ActA in epithelial cell invasion by *Listeria monocytogenes*. *Cell. Microbiol.*, **3(12)**, 853-864.

Sumrall ET, Keller AP, Shen Y, Loessner MJ (2020). Structure and function of *Listeria* teichoic acids and their implications. *Mol. Microbiol.*, **113(3)**, 627-637.

Swaminathan B (2001). *Listeria monocytogenes*. In: M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, ASM Press, Washington, DC, 2001, p: 383–409.

Swaminathan B, Gerner-Smidt P (2007). The epidemiology of human listeriosis. *Microbes Infect.*, **9(10)**, 1236-1243.

Szabo EA, Scurrah KJ, Burrows JM (2000). Survey for psychrotrophic bacterial pathogens in minimally processed lettuce. *Lett. Appl. Microbiol.*, **30(6)**, 456-460.

Taban BM, Halkman AK (2011). Do leafy green vegetables and their ready-to-eat [RTE] salads carry a risk of foodborne pathogens? *Anaerobe*, **17(6)**, 286-287.

Tamang JP, Watanabe K, Holzapfel WH (2016). Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Front. Microbiol.*, **7**, 377.

Tan X, Chung T, Chen Y, Macarisin D, LaBorde L, Kovac J (2019). The occurrence of *Listeria monocytogenes* is associated with built environment microbiota in three tree fruit processing facilities. *Microbiome*, **7(1)**, 1-18.

Tedetti M, Sempéré R (2006). Penetration of ultraviolet radiation in the marine environment. A review. *Photochem. Photobiol.*, **82(2)**, 389-397.

TGK (2011). *Türk gıda kodeksi mikrobiyolojik kriterler yönetmeliği*. Resmi Gazete, 29 Aralık 2011 Perşembe, Sayı: 28157, (3. Mükerrer). <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm>. (Erişim Tarihi: 10.04.2021).

Tienungoon S, Garland C (1995). *The occurrence of Listeria in temperate aquatic habitats*. XII International Symposium on Problems of Listeriosis. Perth, Scotland, p: 145-146.

Thatrimontrichai A, Khunnarakpong N, Techato C, Nakwan N, Nurak A, Sukumal R, Pasee S, Sujjanunt T, Rujeerapaiboon, Prapruettrong A, Supabanpot S (2018). Neonatal Listeriosis with emphasis on Thailand, 1991-2016. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, **49(5)**, 826-834.

Todd ECD (2004). Microbiological safety standards and public health goals to reduce foodborne disease. *Meat Sci.*, **66(1)**, 33-43.

Todd ECD, Notermans S (2011). Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, **22(9)**, 1484-1490

Tolvanen R (2016). *Control of Listeria monocytogenes in the food industry*. Thesis of Doctoral Degree, University of Helsinki, Finland.

Tompkin RB (2002). Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. *J. Food Prot.*, **65(4)**, 709-725.

Troxler R, von Graevenitz A, Funke G, Wiedemann B, Stock I (2000). Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* and *L. welshimeri* strains. *Clin. Microbiol. Infect.*, **6(10)**, 525-535.

Vågsholm I, Arzoomand, NS, Boqvist S (2020). Food security, safety, and sustainability getting the trade-offs right. *Front. Sustain. Food Syst.*, **4**, 16.

Vázquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Domínguez-Bernal G, Goebel W, González-Zorn B, Wehland J, Kreft J (2001). *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin. Microbiol. Rev.*, **14(3)**, 584-640.

Vázquez-Boland JA, Kryptou E, Scotti M (2017). *Listeria* placental infection. *mBio*, **8(3)**, e00949-17.

Vissing NH, Kristensen K, Mønster MB, Møller FT, Knudsen JD, Poulsen A, Ethelberg S, Nygaard U (2019). *Listeria meningitis in danish children 2000–2017: A rare event even in a country with high rates of invasive Listeriosis. Pediatr. Infect. Dis. J., 38(10), 274-276.*

Vivant AL, Garmyn D, Piveteau P (2013). *Listeria monocytogenes, a down-to-earth pathogen. Front. Cell. Infect. Microbiol., 3, 87.*

Vivant AL, Desneux J, Pourcher AM, Piveteau P (2017). Transcriptomic analysis of the adaptation of *Listeria monocytogenes* to lagoon and soil matrices associated with a piggery environment: comparison of expression profiles. *Front. Microbiol., 8, 1811.*

Wagner M, Allerberger F (2003). Characterization of *Listeria monocytogenes* recovered from 41 cases of sporadic listeriosis in Austria by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *FEMS Immunol. Med. Microbiol., 35(3), 227-234*

Wagner M, Mclauchlin J (2008). *Biology.* In: Liu, D. Handbook of *Listeria monocytogenes*. CRC press, p: 3-25.

Wang L, Lin M (2007). Identification of IspC, an 86-kilodalton protein target of humoral immune response to infection with *Listeria monocytogenes* serotype 4b, as a novel surface autolysin. *J. Bacteriol., 189(5), 2046-2054.*

Ward TJ, Gorski L, Borucki MK, Mandrell RE, Hutchins J, Pupedis K (2004). Intraspecific phylogeny and lineage group identification based on the prfA virulence gene cluster of *Listeria monocytogenes*. *J. Bacteriol., 186(15), 4994-5002.*

Warke SR, Ingle VC, Kurkure NV, Tembhurne PA, Prasad M, Chaudhari SP, Barbuddhe SB (2017). Biofilm formation and associated genes in *Listeria monocytogenes*. *IJVSBT, 12(3), 7-12.*

Way SS, Thompson LJ, Lopes JE, Hajjar AM, Kollmann TR, Freitag NE, Wilson CB (2004). Characterization of flagellin expression and its role in *Listeria monocytogenes* infection and immunity. *Cell. Microbiol., 6(3), 235-242.*

Weller D, Wiedmann M, Strawn LK (2015). Spatial and temporal factors associated with an increased prevalence of *Listeria monocytogenes* in spinach fields in New York State. *Appl. Environ. Microbiol., 81(17), 6059-6069.*

Wiedmann M, Bruce JL, Keating C, Johnson AE, McDonough PL, Batt CA (1997). Ribotypes and virulence gene polymorphisms suggest three distinct *Listeria monocytogenes* lineages with differences in pathogenic potential. *Infect. Immun., 65(7), 2707-2716.*

Wiedmann M (2002). Molecular subtyping methods for *Listeria monocytogenes*. *J. AOAC Int., 85(2), 524-532.*

Wiedmann M (2003). An integrated science based approach to dairy food safety. *Listeria monocytogenes* as a model system. *J. Dairy Sci.*, **86(6)**, 1865-1875.

Wiernasz N, Cornet J, Cardinal M, Pilet MF, Passerini D, Leroi F (2017). Lactic acid bacteria selection for biopreservation as a part of hurdle technology approach applied on seafood. *Front. Mar. Sci.*, **4**, 119.

Yu WL, Dan H, Lin M (2007). Novel protein targets of the humoral immune response to *Listeria monocytogenes* infection in rabbits. *J. Med. Microbiol.*, **56**, 888-895.

Zhang Y, Zang GQ, Tang ZH, Yu YS (2012). *Listeria monocytogenes* meningitis in an immunocompetent adult: a case report. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **45(3)**, 410-411.

Zhu Q (2015). *Assessment of Listeria species in fresh produce grown and sold in Canterbury, New Zealand.* Thesis of Master Degree, Lincoln University, New Zealand.

