



<http://dx.doi.org/10.17776/cumuscij.289956>

## **Listeria Standart Suşlarının Zamana Bağlı Biyofilm Oluşturma Kapasiteleri**

Emine DİNÇER, Uğur TUTAR

*Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Sivas*

Received: 06.02.2017; Accepted: 17.04.2017

**Özet.** Mikroorganizmalar doğada çevresel stres koşullarına karşı biyofilm formasyonu gibi çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmektedirler. Biyofilmler mikrobiyal hücrelerin yüzeylere güçlü adhezyonu sonucu oluşan sessil organizasyonlardır. Biyofilm ile ilişkili hücreler ekzopolisakkarit, protein ve DNA'dan oluşan ekstraselüler matriks tarafından korunmaktadır. Gıda endüstrisinde, biyofilm oluşumu çürükçül ve patojenik mikroorganizmaların gıda yada gıda yüzeylerine tutunma olasılığından dolayı hijyen ve güvenlik sebepleri ile istenmemektedir. Gıda kökenli patojen mikroorganizmalar, gıda endüstrisinde her yıl önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Gıda patojenleri arasında oldukça önemli sayılan, yirminci yüzyılın ikinci yarısında ortaya çıkmış olan *Listeria monocytogenes* gıda, çevresel ve klinik örneklerde yaygın olarak bulunmaktadır. Gram pozitif bir bakteri olan *L. monocytogenes* insanlarda gıda kökenli hastalık olan listeriosis oluşumundan sorumludur. Birçok çalışma *Listeria* türlerinin çeşitli gıdalar ile temasta biyofilm oluşturduğunu ve ekstraselüler polimerik bileşikleri ürettiğini göstermektedir. Biyofilmler antimikrobiyal ajanlara karşı daha dirençli oldukları için *Listeria* türlerinin farklı yüzeylerde biyofilm oluşturma kapasitesi gıda endüstrisi için büyük önem taşımaktadır.

Çalışmamızda *Listeria* standart suşlarının zamana bağlı biyofilm oluşturma kapasitelerinin araştırılması ve konuyla ilgili literatüre katkı sağlanması hedeflenmiştir. Çalışma için 3 farklı *Listeria* türüne ait 4 standart suş kullanılmıştır. Kullanılan kültürler *L. monocytogenes* ATCC 7644, *L. monocytogenes* ATCC 19111, *Listeria ivanovii* ATCC 19119 ve *Listeria innocua* 6a33090dur. Biyofilm oluşumu 96 kuyucuklu plaklar içerisinde, Christensen ve arkadaşları tarafından önerilen mikropalak metodu modifiye edilerek araştırılmıştır. Çalışmada, 6, 12 ve 24 saatlik inkübasyon sonrasında zayıf biyofilm oluşumu gözlemlenirken, 48 saatlik inkübasyon sonunda bütün standart strainlerde orta dereceli biyofilm oluşumu tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak, biyofilm oluşumu ve zaman arasındaki ilişkinin incelenmesi sonucunda, 48 saatlik inkübasyondan sonra biyofilm oluşumunda artış gözlemlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyofilm, *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, Listeriosis

## **Biofilm Formation Capacity of Listeria Standard Strains Depended On Time**

**Abstract.** In nature, microorganism have developed a variety of mechanisms of resistance to environmental stresses, such as the formation of biofilms. Biofilms are sessile organizations of microbial cells with a strong adherence to surfaces. Biofilm-associated cells are protected by an extracellular matrix consisting of exopolysaccharides, proteins and DNA In food industry, biofilm formation is undesirable for hygienic and safety reasons due to the possible attachment of food spoilage or pathogenic microorganisms to food or food surfaces. *Foodborne pathogenic microorganism have caused the loss of millions dollars in the food industry each year. Listeria monocytogenes*, which is emerged as an important foodborne pathogen in the latter part of the 20th century, is widely found in food, environmental and clinical samples. *Listeria monocytogenes* a Gram-positive bacterium that is responsible for causing the foodborne disease listeriosis humans. Several studies have

\* Corresponding author. Email address: eminedincer26@gmail.com

demonstrated that *Listeria* species is able to form biofilms and produce extracellular polymeric substances on various food contacts. Since biofilms are more resistant to antimicrobial agents, the capability of *Listeria* species to form biofilms on different surfaces poses a major concern for the food industry.

The purpose of the present study was to investigate biofilm formation capacity of *Listeria* standard strains depended on time and to contribute literature. For the investigation, was used 4 standard *Listeria* stains which are belong to 3 different *Listeria* species. Used cultures are *L. monocytogenes* ATCC 7644, *L. monocytogenes* ATCC 19111, *Listeria ivanovii* ATCC 19119 and *Listeria innocua* 6a33090. Biofilm formation were determined in 96-well tissue culture plates with a microtiter plate assay (MP) described by Christensen et al. with modifications. After the 6, 12 and 24 hour incubation was observed weak biofilm formation whereas moderate biofilm formation was revealed for all standard strains after 48 hour incubation. Accordingly this, as a result of the investigation to relationship between biofilm formation and time, were observed that increasing to biofilm formation after 48 hour incubation.

**Keywords:** Biofilm, *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, Listeriosis

---

### 1. GİRİŞ

*Listeria* cinsi, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri* ve *Listeria grayi* olmak üzere toplamda 6 türden oluşmaktadır [1, 2]. *Listeria* cinsi genomundaki düşük G+C oranında dayanılarak gram pozitif bakterilerde *Clostridium* cinsinin yan dalı olarak kabul edilmektedir. Mikroskopik olarak incelendiğinde kısa basil formunda (0,5 X 2,0 µm) görülen organizmalar sporsuz ve 20-25 °C’de hareketlidirler. Sahip oldukları polar kamçı sayesinde takla hareketi ile ilerlemektedirler. Aerobik ve fakültatif anaerobik olarak gelişim göstermektedirler. Optimum gelişim sıcaklıkları 30-37°C olmakla birlikte birçok bakteri türünün aksine buzdolabı sıcaklığı olan 4-10 °C’de çoğalabilirler [1, 3].

Günümüzde, *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii* patojen olarak kabul edilmektedir. *L. monocytogenes* insanlarda, *L. ivanovii* ise diğer memelilerde hastalık etmeni olarak bilinmektedir. Bununla birlikte çeşitli raporlarda *L. seeligeri* ve *L. ivanovii* türlerinin insanlarda hastalığa yol açtığı ileri sürülmüştür [3]. *Listeria* nedeniyle görülen hastalıklar genel olarak ‘listeriosis’ olarak adlandırılmaktadır. Bu mikroorganizmanın sebep olduğu klinik sendromlar arasında bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda zehirlenme (sepsis), beyin dokusunda iltihaplanma (meningoensefalit), ateşli bağırsak iltihaplanması (gastroenteritis) bulunmaktadır [4]. Listeriosis hastalığının semptomları gribe benzerdir, ancak menenjit, septisemi, düşük ya da yeni doğanda listeriosis gibi çeşitli komplikasyonlarla sonuçlanmaktadır. Özellikle hamile bayanlarda doğum kanalı ile mikroorganizmanın fetusa geçiş durumu ya da düşüğe sebebiyet vermesi *Listeria* cinsini daha önemli hale getirmektedir [3, 5, 6]. Günümüzde insanlarda görülen listeriosis enfeksiyonlarının neredeyse tamamının gıda kökenli olduğu bilinmektedir. Özellikle 1980-2000’li yıllar arasında gıda ürünlerinin tüketilmesi ile ilişkili olarak listeriosis salgını meydana geldiği görülmektedir. Diğer gıda kökenli hastalıklarla kıyaslandığında listeriosis oluşum sıklığı daha düşük düzeyde görülmekle birlikte kayıt altına alınmış salgınlarda ölüm oranı oldukça yüksek olup %30 civarındadır [3, 6, 7, 8].

Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalar, sıcaklık, pH, basınç gibi çeşitli çevresel stres faktörlerine karşı oldukça dirençli olduğu bilinen *Listeria* türlerinin aynı zamanda biyofilm oluşturma ve ekstraselüler polimerik maddeler (EPS) üretme yeteneğinde olduğunu göstermiştir [9]. Özellikle gıda üretim sistemlerinde *L. monocytogenes* türünün karışık mikrobiyal flora içeren biyofilm içerisinde gelişim gösterebildiği ve bu durumun gıda kontaminasyonlarının ana kaynağını oluşturduğu literatürde mevcuttur. Bu nedenle *Listeria* türlerinin biyofilm oluşturma yetenekleri gıda sektörü açısından önem

arz etmektedir [10]. Çalışmamızda *Listeria* standart suşlarının zamana bağlı biyofilm oluşturma kapasiteleri gözlemlenerek konuyla ilgili literatüre katkı sağlanması hedeflenmiştir.

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### Materyal

Çalışmada, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *L. monocytogenes* ATCC 19111, *L. ivanovii* ATCC 19119 ve *L. innocua* 6a33090 olmak üzere 3 farklı *Listeria* türüne ait dört standart suş kullanılmıştır. Kullanılan *Listeria* standart suşları ticari olarak temin edilmiş olup, liyofilize haldeki kültürler Fraser Broth'ta (Merck) 30°C' de bir gece inkübe edilerek canlandırılmış, ardından 0.1 mL örnek alınarak 10 mL Fraser Broth (Merck) ortamına inokülasyon yapılmış ve 37°C de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi tamamlanan kültürlerden Palcam Agar ortamına çizgi ekim yapılarak, 24-48 saat süre ile 37°C de inkübasyon sonrasında kültürlerin gram boyama ile saflık kontrolü yapılmıştır [11]. Kullanılan test mikroorganizmaları, analizlerden önce stoktan çıkarılarak canlandırılmış, saflık kontrolü yapılmış ve iki kez kültüre alındıktan sonra testlerde kullanılmıştır.

### Biyofilm Aktivitesinin Belirlenmesi:

Çalışma için aktif hale getirilmiş kültürler % 1 (w/v) glukoz ilave edilmiş tryptic soy broth (TSB) içerisinde 37°C de bir gece inkübasyona tabi tutulmuştur. Ardından iki kez aktive edilen kültürlerin yoğunluğu 0.5 Mcfarland eşeline uygun olarak ayarlanmıştır. Yoğunluk ayarı yapılan kültürlerden 200 µl alınarak 96 kuyucuklu mikrotiter plaklara transfer edilmiştir. Plaklar 37°C de sırası ile 6, 12, 24 ve 48 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon süresi bitiminde besiyeri dökülerek, kuyucuklardaki planktonik hücreleri uzaklaştırmak amacıyla plaklar steril PBS solüsyonu ile yıkanmış ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruma işleminden sonra plaklar 200µl %1 kristal viyole çözeltisi ile 15 dakika boyunca boyanmış, ardından tekrar PBS solüsyonu ile yıkanmıştır. Son olarak kuyucuklara %95'lik etanol çözeltisi ilave edilerek kristal viyole çözdürülmüş ve ELISA okuyucuda 550 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur. Negatif kontrol olarak bakteri süspansiyonu ilave edilmemiş TSB kullanılmıştır.

Suşların biyofilm oluşturma kapasiteleri;  $OD_{kontrol} > OD_{test}$  grubu (biyofilm oluşturmayan),  $OD_{kontrol} < OD_{test}$  grubu  $< 2 * OD_{kontrol}$  (zayıf biyofilm),  $2 * OD_{kontrol} < OD_{test}$  grubu  $< 4 * OD_{kontrol}$  (orta dereceli biyofilm),  $4 * OD_{kontrol} < OD_{test}$  grubu (güçlü biyofilm) formülüne göre değerlendirilmiştir. [9, 12-14]. Yapılan tüm çalışmalar 3 tekrarlı gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar ortalama değerler temel alınarak verilmiştir.

## 3. BULGULAR

Yapılan çalışmada *Listeria* türlerinin biyofilm aktivitelerinin zamana bağlı değişimini gözlemek için, identik koşullarda gerçekleştirilen çalışma 6, 12, 24 ve 48 saat için ayrı ayrı gerçekleştirilmiş ve her bir zaman dilimi ilk etapta kendi içinde değerlendirilmiştir.

## Listeria Standart Suşlarının Zamana Bağlı Biyofilm Oluşturma Kapasiteleri

**Tablo 1.** 6 saat sonunda suşların biyofilm oluşturma yetenekleri

	I	II	III	Ortalama	
<i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119	0.135	0.148	0.130	0.13±0.305	ZAYIF
<i>Listeria innocua</i> 6a 33090	0.109	0.115	0.106	0.10±0.005	ZAYIF
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	0.235	0.086	0.078	0.12±0.08	ZAYIF
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	0.137	0.122	0.099	0.13±0.02	ZAYIF
Kontrol	0.073	0.075	0.083	0.07±0.005	
I, II, III: 6 saat sonunda OD550 nm' de ölçülen absorban değerleri					

**Tablo 2.** 12 saat sonrasında suşların biyofilm oluşturma yetenekleri.

	I	II	III	Ortalama	
<i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119	0.229	0.225	0.195	0.20±0.01	ZAYIF
<i>Listeria innocua</i> 6a 33090	0.175	0.241	0.172	0.18±0.01	ZAYIF
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	0.132	0.122	0.114	0.12±0.01	ZAYIF
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	0.176	0.177	0.186	0.17±0.005	ZAYIF
Kontrol	0.128	0.111	0.079	0.10±0.01	
I, II, III: 12 saat sonunda OD550 nm' de ölçülen absorban değerleri					

**Tablo 3.** 24 saat sonrasında suşların biyofilm oluşturma yetenekleri.

	I	II	III	Ortalama	
<i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119	0.261	0.230	0.191	0.22±0.03	ZAYIF
<i>Listeria innocua</i> 6a 33090	0.189	0.182	0.179	0.18±0.005	ZAYIF
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	0.203	0.215	0.169	0.19±0.02	ZAYIF
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	0.327	0.241	0.316	0.29±0.04	ORTA
Kontrol	0.116	0.113	0.145	0.12±0.01	
I, II, III: 24 saat sonunda OD550 nm' de ölçülen absorban değerleri					

**Tablo 4.** 48 saat sonrasında suşların biyofilm oluşturma yetenekleri

	I	II	III	Ortalama	
<i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119	0.346	0.449	0.667	0.48±0.10	ORTA
<i>Listeria innocua</i> 6a 33090	0.389	0.343	0.352	0.35±0.002	ORTA
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	0.345	0.404	0.345	0.36±0.03	ORTA
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	0.395	0.469	0.329	0.39±0.07	ORTA
Kontrol	0.116	0.113	0.145	0.12±0.01	
I, II, III: 48 saat sonunda OD550 nm' de ölçülen absorbans değerleri					

Tablo 1, Tablo 2, Tablo 3 ve Tablo 4'de sırası ile 6, 12, 24 ve 48 saat sonrası OD<sub>550</sub> nm' de elde edilen absorbans değerleri ve suşların biyofilm oluşturma yeteneklerinin değerlendirmesi yer almaktadır. Buna göre 6 ve 12. saatlerin sonunda tüm suşların zayıf biyofilm oluşturduğu gözlemlenirken, 24. saat sonunda *Listeria monocytogenes* ATCC 19111 suşunun orta dereceli diğer suşların ise yine zayıf biyofilm oluşturduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, 48 saatlik inkübasyon sonrası biyofilm yapısının tüm örneklerde orta düzeye olduğu belirlenmiştir.

**Tablo 5.** *Listeria* türlerinde zamana bağlı biyofilm formasyonu

	6. saat	12. saat	24. saat	48. saat
<i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119	0.13(zayıf)	0.20(zayıf)	0.22(zayıf)	0.48(orta)
<i>Listeria innocua</i> 6a 33090	0.10(zayıf)	0.18(zayıf)	0.18(zayıf)	0.35(orta)
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	0.12(zayıf)	0.12(zayıf)	0.19(zayıf)	0.36(orta)
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	0.13(zayıf)	0.17(zayıf)	0.29(orta)	0.39(orta)
Kontrol	0.07	0.10	0.12	0.13

Tablo 5' de suşların zamana bağlı olarak biyofilm formasyonları incelendiğinde 6, 12 ve 24. saatlerde zayıf biyofilm oluşumu gözlenmekte ise de absorbans değerlerinin zamana bağlı olarak artış gösterdiği saptanmıştır. Kontrol grubunun absorbans değerindeki artış zamana bağlı olarak dikkate değer bir değişim göstermezken, suşlarda görülen değişim *L. ivanovii* ATCC 19119 ve *L. innocua* 6a 33090 suşlarında 6 ve 12. saat arasında, *L. monocytogenes* ATCC 7644 ve *L. monocytogenes* ATCC 19111 suşlarında 12 ve 24. saat arasında oldukça dikkat çekicidir.

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Mikroorganizmalar doğada çevresel stres faktörlerine karşı dirençli olabilmek için biyofilm oluşturma gibi çeşitli mekanizmalar geliştirmektedir. Mikroorganizmaların birbirlerine ve bir yüzeye bağlanarak meydana getirdikleri koloniler ile bu kolonilerin ortama saldıkları ekstraselüler polimerik substratların (EPS) birlikte oluşturdukları yapı biyofilm olarak adlandırılmaktadır [15].

Biyofilm oluşumu gıda endüstrisinde, gıda ve gıda ile ilişkili yüzeylere patojen yada gıdalarda bozulmaya yol açan mikroorganizmaların tutunma olasılığını arttırdığı için, hijyen ve güvenlik

## Listeria Standart Suşlarının Zamana Bağlı Biyofilm Oluşturma Kapasiteleri

açısından istenmeyen bir özelliktir [10]. Gıda işletmelerinde kullanılan sistemlerin yapısı, zaman içinde aşınmaya uğraması, yüzeylerde bulunan mikroskobik gıda kalıntılarının mikrobiyal yükleri gibi nedenlerden dolayı işletmelerde çevre ve halk sağlığı açısından büyük risk oluşturan biyofilm oluşumu kaçınılmaz hale gelmektedir [16].

Gıda işletim sistemlerinde mikrobiyal kontaminyasyonu engellemek amacıyla üretim sürecinde kullanılan yüzey ve ekipmanlar çeşitli dezenfektanlar ile temizlenmekte ve kontaminasyon olasılığı alınan önlemler ile minimum düzeye indirgenmeye çalışılmaktadır. Bununla birlikte kullanılan dezenfektanların ve koruyucuların etkinliği mikroorganizmaların planktonik formlarına yönelik olarak seçilmektedir. Oysa biyofilm içinde bulunan sesil formların daha dirençli yapılar olduğu günümüzde çeşitli araştırmalar ile belirlenmiştir [17, 18, 19].

Spektrofotometrik yöntem ile biyofilm oluşum tayini günümüzde daha çok 96 kuyucuklu steril plaklar kullanılarak Christensen metodu olarak bilinen yöntem temel alınarak belirlenmektedir [14]. Çalışmamızda 3 farklı *Listeria* türünün standart suşlarının zaman ile biyofilm oluşumu arasındaki ilişkisi spektrofotometrik yöntem ile incelenmiş ve 48 saatlik inkübasyon sonrasında biyofilm oluşumunun orta düzeyde olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle 24. saatten sonra biyofilm oluşumundaki artış, organizmanın üreme döngüsü ve generasyon zamanı göz önüne alındığında beklenen bir sonuçtur. Borucki ve ark (2003) tarafından yapılan bir çalışmada *L. monocytogenes* türüne ait 6 serotipin zayıftan güçlüye doğru değişen farklı düzeylerde biofilm oluşturabildiğini ifade etmişlerdir [20]. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda *Listeria* türlerine ait bazı suşların çeşitli üretim alanları ve malzemeler üzerinde biofilm oluşturabildiği, bu durumun önemli sağlık sorunlarına yol açabileceği ifade edilmiştir [21-23].

*L. monocytogenes* ve listeriosis gıda kökenli patojenler içerisinde değerlendirildiğinde, gıda kökenli patojenlerden kaynaklanan bütün hastalıklar arasında küçük bir parçayı oluşturmaktadır. Bununla birlikte ciddi hastalıklara neden olduğundan dolayı büyük önem taşımaktadır. Listeriosis, gıda kökenli hastalıklardan hastaneye yatırılma vakalarının yalnızca % 3,8'ini oluştururken gıda kaynaklı ölümlerin % 27,6'sını oluşturmaktadır [6]. Ölüm oranının yüksek oluşu ve hastalığın ciddiyeti, ayrıca organizmanın buzdolabı sıcaklığında dahi gelişebilme özelliği olmak üzere çeşitli çevresel stres faktörlerine karşı dirençli oluşu organizmanın önemini arttırmakta ve kontrol altına alınmasını zorunlu hale getirmektedir [3,4]. Gerek Türk gıda kodeksi, gerekse uluslararası gıda yönetmelikleri *Listeria* cinsine karşı gıdalarda sıfır tolerans politikası uygulamaktadır. Gıda işletmelerinde önemli sorunlara yol açtığı bilinen *L. monocytogenes* suşlarının farklı düzeylerde biyofilm oluşturabildiği çeşitli araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir. Gıda üretim çevrelerinde biyofilm yapısındaki karışık mikroflora içerisinde gelişebilmesi *Listeria* kontaminasyonunun ana kaynağını oluşturmaktadır. Biyofilm yapıları antimikrobiyal bileşiklere karşı daha dirençli olduğu için *L. monocytogenes* gibi patojenlerinin farklı yüzeylerde biyofilm oluşturma yeteneği ve engellenmesi gıda endüstrisi açısından büyük önem arz etmektedir [9, 10]. *Listeria* türüne ait biyofilm bakterilerinin sanitizer ajanlara karşı planktonik formlarından çok daha fazla dirençli olduklarının bildirildiği bir çalışmadan hareketle, bu mikroorganizma ile mücadelede biyofilm oluşumuna engel olmanın gerekliliği dolayısıyla mikroorganizmaların biyofilm formasyonları ve özelliklerinin araştırıldığı çalışmaların önemi bir kez daha ortaya çıkmaktadır [24].

**KAYNAKLAR**

- [1]. Bell C. and Kyriakides, A. LISTERIA, A practical approach to the organism and its control in food. 2 th ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing; 2005: chap 1.
- [2]. Wagner M., McLauchlin J. Biology. In Liu D. (Eds). Handbook of *Listeria monocytogenes*. New York, USA: CRC Press; 2008: 3-25.
- [3]. Gasanov U., Hughes, D., Hansbro, P.M. Methods for the isolation and identification of *Listeria spp.* and *Listeria monocytogenes*: a review. FEMS Microbiology Reviews 2005; 29: 851-75.
- [4]. Schlech W.F. Foodborne Listeriosis. Clinical Infectious Diseases 2000; 31: 770-5.
- [5]. Lorber B. Listeriosis. In Goldfine H., Shen H. (Eds). *Listeria monocytogenes*, Pathogenesis and Host Response. New York, USA: Springer; 2007: 13-31.
- [6]. Painter J., Slutsker L., Listeriosis in Human. In Ryser E.T., Marth E.H. (Eds). Listeria, Listeriosis and Food Safety. New York, USA: CRC Press; 2007: 85-109.
- [7]. Özçelik N. *Listeria monocytogenes*' in tanımı, bulunuşu ve neden olduğu hastalıklar. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi 1994; 1(1): 33-6.
- [8]. O'Connor L., O'Leary M., Leonard N., Godinho M., O'Reily C., Coffey L., Egan, J., O'Mahony, R., The characterization of *Listeria spp.* isolated from food products and the food-processing environment. Letters in Applied Microbiology 2010; 51: 490-8.
- [9]. Slama R.B., Kouidhi B., Zmanta T., Chaieb K., Bakhrouf A., Anti-Listerial and anti-biofilm activities of potential probiotic Lactobacillus strains isolated from Tunisian traditional fermented food. Journal of Food Safety 2013; 33: 8-16.
- [10]. Guerrieri E., de Niederhäusern S., Messi P., Sabia C., Iseppi R., Anacarso I., Bond, M., Use of lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes* in a small-scale model, Food Control 2009; 20(9): 861–5.
- [11]. Bacteriological Analytical Manual (FDA-BAM), Detection and Enumaration of *Listeria monocytogenes* in Food. Available at: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm114664.htm>
- [12]. Esteban J., Molina-Manso D., Spiliopoulou I., Cordero-Ampuero J., Fernández-Roblas R., Foka A., Gómez-Barrena E., Biofilm development by clinical isolates of Staphylococcus spp. from retrieved orthopedic prostheses. Acta Orthopaedica 2010; 81: 674–9.
- [13]. Landeta G., Curiel J.A., Carrascosa A.V., Muñoz R., de las Rivas B., Technological and Safety Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Spanish Dry-Cured Sausages. Meat Science 2013; 95: 272-80.
- [14]. Guidone A., Zotta T., Ross R.P., Stanton C., Rea M.C., Parente E., Ricciardi A., Functional properties of Lactobacillus plantarum strains: A multivariate screening study. LWT-Food Science and Technology 2014; 56: 69–76.
- [15]. Szczepanski S., Lipski A., Essential oils show specific inhibiting effects on bacterial biofilm formation. Food Control 2014; 36: 224-9.
- [16]. Srey S., Jahid I.K., Ha S-D., Biofilm formation in food industries: A food safety concern. Food Control 2013; 31: 572–85.
- [17]. Ceri H, Olson M.E., Stremick C., Read R.R., Morck D., Buret A., The calgary biofilm device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. J ClinMicrobiol 1999; 37: 1771-6.
- [18]. Harveya J., Keenana K.P., Gilmoura A., Assessing biofilm formation by *Listeria monocytogenes* strains. Food Microbiology 2007; 24: 380–92.

- [19]. Sambanthamoorthy K., Feng X., Patel R., Patel S., Parnavitana C., Antimicrobial and antibiofilm potential of biosurfactants isolated from lactobacilli against multi-drug-resistant pathogens. *BMC Microbiology* 2014; 14: 197-205.
- [20]. Borucki MK., Peppin JD., White D., Loge F., Douglas R., Call DR., Variation in biofilm formation among strains of *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69: 7336-42.
- [21]. Stepanović S., Cirković I., Ranin L., Svabić-Vlahović M., Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. *Lett Appl Microbiol* 2004; 38: 428-32.
- [22]. Doijad SP., Barbuddhe SB., Garg S., Poharkar KV., Kalorey DR., Kurkure NV., Rawool DB., Chakraborty T., Biofilm-forming abilities of *Listeria monocytogenes* serotypes isolated from different sources. *PLoS One* 2015; 11: e0137046.
- [23]. Reis-Teixeira FB., Alves VF., de Martinis EC., Growth, viability and architecture of biofilms of *Listeria monocytogenes* formed on abiotic surfaces. *Braz J Microbiol* 2017; 8382(16): 30428-2.
- [24]. Pan Y, Breidt Jr F, Kathariou S, Resistance of *Listeria monocytogenes* Biofilms to Sanitizing Agents in a Simulated Food Processing. *Environment Appl Environ Microbiology* 2006; 72(12): 7711-7.