

## ELAZIĞ' DA TÜKETİME SUNULAN TAZE BEYAZ PEYNİRLER İLE TULUM PEYNİRLERİNDE *BRUCELLA spp'* NİN VARLIĞI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Bahri PATIR, Ahmet H. DİNÇOĞLU

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi:24.04.2000

### **Studies on the Existence of *Brucella* spp. in Fresh White Cheese and Tulum Cheese Marketed in Elazığ**

#### **SUMMARY**

In this study, presence of *Brucella* spp. were investigated in fresh white cheese and tulum cheese marketed in Elazığ. For this purpose 30 samples of white and 55 samples of tulum cheese were investigated.

In one of the white cheese samples 3.33% and in one of tulum cheese 1.18% *Brucella* spp. were observed. In the strains isolated from these two samples *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* spp. were distinguished using identification methods. The species were found  $3.4 \times 10^5$  cfu/g and  $4.6 \times 10^2$  cfu/g using the plate counting method.

It is concluded that; white and tulum cheese produced from raw milk contain considerable amounts of *Brucella* spp. and therefore these types of cheese have potential hazards to public health. It is also concluded that these types of cheese must be produced using modern techniques such as pasteurisation, starter cultures and sufficient store condition.

**Key words:** *Brucella* spp, tulum cheese, fresh white cheese.

#### **ÖZET**

Bu araştırmada, Elazığ'da tüketime sunulan taze beyaz peynirler ile tulum peynirlerinde *Brucella* etkenlerinin varlığı incelendi. Bu amaçla, 30 adedi beyaz peynir, 55 adedi de tulum peyniri olmak üzere toplam 85 adet örnek kullanıldı.

Çalışmada, biri beyaz peynir örneğinde (%3.33) diğeri ise tulum peynirinde (%1.18) olmak üzere toplam 2 örnekte (%2.35) *Brucella* spp. ne rastlandı.

İki örnekten izole edilen suşların *Brucella abortus* ve *Brucella melitensis* spp.i olduğu identifikasiyon yöntemleriyle saptandı. Adı geçen türlerin plak sayım metodunda sırasıyla  $3.4 \times 10^5$  kob/g ve  $4.6 \times 10^2$  kob/g miktarlarında olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, çiğ sütten üretilen taze beyaz peynirler ile tulum peynirlerinin *Brucella* etkenlerini önemli sayılabilen düzeylerde içerdikleri, bu nedenle halkın sağlığı açısından potansiyel bir risk taşıdıkları ve bu ürünlerin üretiminde teknolojinin öngördüğü işlemlerin (pastörizasyon, starter kültür kullanımı, uygun muhafaza koşulları vs.) uygulanmasının zorunlu olduğu kanaatine varıldı.

**Anahtar kelimeler:** *Brucella* türleri, tulum peyniri, taze beyaz peynir.

## GİRİŞ

İnsan sağlığı daima bir şekilde münasebette bulunduğu hayvanlar ve bunlardan elde edilen ürünlerin sağlığı ile yakından ilgilidir. Hayvanlardan insanlara, insanlardan da hayvanlara geçen hastalıklar ve enfeksiyonlar olarak tanımladığımız zoonozlar halk ve hayvan sağlığı açısından daima tehdit oluşturan etkenlerdir (6,14,24).

Günümüzde insan ve hayvan sağlığını yakından ilgilendiren 150 den fazla zoonoz olduğu bilinmektedir. Ancak bunlardan yaklaşık 50 tanesinin oluşturduğu hastalıkların insan sağlığı yönünden ciddi problemler yarattığı ileri sürülmektedir (6,14).

Önemli zoonoz hastalıklardan olan Brucellosis, daha çok evcil hayvanlarda görülür ve hastalık hayvancılık sektöründe büyük ekonomik kayıplara neden olur. Ancak insan sağlığı için de büyük önem arz etmekte ve zoonotik hastalık olarak dünyada güncellliğini hala korumaktadır. Malta humması olarak da bilinen bu hastalığa daha çok Akdeniz ve Batı Asya ülkeleri ile Güney Amerika'da rastlanır. *Brucella* etkenleri bazı koşullarda besinlerle insanlara kolaylıkla geçebilir. Etkenin başlıca kaynağı hastalıklı hayvanların sütleri ve bu sütlerden yapılan süt ürünleridir. Brucellosis insanlara; direkt kontak, alimenter ve inhalasyon şekli olmak üzere 3 yolla bulaşmaktadır. Hastalık insanlarda başlıca baş ağrısı, ateş ve halsizlikle kendini gösterir. Sonuçta; artritis, ovaritis, orchitis ve düşük gibi spesifik semptomlarla komplike olabilir. Etken *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* ve *Brucella suis*' dir (3,12,16,38).

Etken; Gram (-), kok, kokobasil yada çomak şeklinde hareketsiz, aerob bir bakteridir.  $0.5\text{--}0.7\text{ }\mu\text{m}$  çapında ve  $0.6\text{--}1.5\text{ }\mu\text{m}$  uzunluğunda olan bu bakteri tek, çift, kısa zincir yada küçük gruplar halinde bulunurlar. *Brucella abortus*'un bazı biyotipleri ile *Brucella ovis*' in özellikle ilk izolasyonlarında ilave olarak  $\text{CO}_2$  ve  $\%2\text{--}5$  oranında seruma ihtiyaç gösterirler. Serum dekstroz agarda koloniler; şeffaf, kabarık, yüzeyi parlak ve kenarları düz bir şekilde gelisirler. Işıktı aydınlatıldığında soluk bal renginde görülürler. Optimum üreme sıcaklığı  $37^\circ\text{C}$  dir. Ancak  $20\text{--}40^\circ\text{C}$  arasında da üreyebilirler. Optimum pH ise 6.6-7.4'dür. Katalaz test pozitif, oksidaz test ise çoğunlukla pozitif olup negatif suşlar bulunabilir. Isıya duyarlı olan bu bakteri,  $60^\circ\text{C}$  de 10-15 dakikada tahrif olur (8,12,38).

Brucellosis'in insanlara bulaşmasında enfekte hayvanlardan elde edilen süt ve süt ürünlerinin büyük payı vardır. Bilhassa çiğ südden yapılan taze beyaz peynirler ile tulum peynirleri bu yönde önemli rol

oynamaktadırlar (11,15,24,37). Ülkemizde, özellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerimizde üretilip satışa sunulan gerek beyaz peynir gerekse tulum peynirlerinin önemli bir miktarı, evlerde ya da küçük işletme ve mandıralarda çiğ südden elde edilmektedir. Bu peynir çeşitlerimizin üretim şekilleri yörelere göre nispeten farklılık arz etmektedir. Ancak, taze beyaz peynir yapımında, çoğunlukla sütler süzüldükten sonra  $25\text{--}32^\circ\text{C}$  arasında mayalanmakta ve oluşan pihti süzek adı verilen bez torbalar içeresine alınarak peynir suyunun çıkması sağlanmaktadır. Bu işlem sonunda elde edilen teleme taze olarak tüketime sunulmaktadır. Tulum peyniri ise elde edilen taze beyaz peynirlerden yapılmaktadır. Şöyle ki, taze peynirler elle iyice ufalandıktan sonra, bez torbalar yada çuvallar içeresine doldurularak baskıya alınmakta ve suyunun yeterince çıkması sağlanmaktadır. Sonra tekrar elle ufanarak  $\%4\text{--}5$  oranında tuz ilave edilmekte ve tulum yada plastik bidonlara sıkıca doldurularak soğuk hava depolarında yada ev mahzenlerinde birkaç ay olgunlaşmaya terk edilmektedir (1,36).

Brucellosis'in dünyada süt ve süt ürünleri ile bulaşmasının önemi birçok araştırmacı tarafından vurgulanmıştır. A.B.D.'de konu ile ilgili yapılan bazı araştırmalarda (23,28), Brucellosis olgularının yaklaşık  $\%15$ 'inde bulaşma nedeninin pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri olduğu bildirilmektedir. İnal (19) ise, insanlarda gözlenen abortus bang' in  $\%60$ 'ının Brucellosis'e yakalanan hayvanlarla temas sonucunda,  $\%40$ 'ının ise hastalıklı hayvanların sütlerinin içilmesi veya bu sütlerden hazırlanan ürünlerin tüketilmesi ile oluştuğunu belirtmiştir.

Ülkemizde, süt ve süt ürünlerinde *Brucella*'ların varlığını saptamak için bazı araştırmalar yapılmıştır. Bu amaçla, Sert ve Kivanç (33), 24 adet civil ile 18 adet taze lor peyniri üzerindeki çalışmalarında, bu ürünlerden *Brucella* etkenlerini izole edememişlerdir. Benzer olarak Ayaz' da (5), 1986 Yılı'nda yaptığı çalışmasında, Ankara'daki süt fabrikaları ve süper marketlerden temin ettiği 94 adet beyaz peynir numunesinde *Brucella* saptayamamıştır. Buna karşılık Mert (22), Ankara yöreni peynirlerinde *Brucella* etkenlerinin  $\%19.33$  oranında olduğunu bildirmiştir. Bu araştırmada identifiye edilen türlerin  $\%90$ 'ının *Brucella melitensis*,  $\%10$ 'un ise *Brucella abortus* olduğu belirlenmiştir. Tunçbilek (37), Ankara'daki semt pazarları ile marketlerde satılan peynirler üzerinde yaptığı çalışmada, 100 adet taze beyaz peynir numunesinin 3'ünde *Brucella melitensis*, 1'inde *Brucella abortus* identifiye etmiştir. Sancak ve ark. (31), Van' da tüketime sunulan otlu peynirlerinden aldığı 40 adet

numunede *Brucella* türlerinin varlığını araştırmış ve numunelerin 6'sında *Brucella melitensis*, 1'inde ise *Brucella abortus* tespit etmişlerdir. Sarısayın ve Eroğlu (32) ise, Marmara ve Trakya bölgelerinde üretilen tereyağı, krema ile bunlardan hazırlanan 260 adet pasta ve dondurma örneğinde *Brucella* etkenlerini izole etmeye çalışmışlar, ancak hiçbir örnekte etkeni saptayamamışlardır.

Peynirlerde *Brucella* etkenlerinin yaşam süresi; peynirin türü, yapım teknolojisi, etkenin sayısı, yağ oranı, tuz konsantrasyonu, pH'sı, ambalaj şekli ve muhafaza sıcaklığı gibi faktörlere bağlı olarak değişir (10,30,37). Ünel ve ark. (39), %10 tuzlu salamurada ve 4 °C de muhafaza edilen peynirlerde, *Brucella melitensis*'in 8-9 hafta kadar canlılığını muhafaza ettiğini saptamışlardır. Karasoy (20), *Brucella melitensis* ile enfekte çiğ koyun sütlerinden yapılan ve %7 oranında tuz ihtiiva eden salamurada olgunlaşmaya bırakılmış peynirlerde 46 gün, %17'lik salamurada olgunlaştırılan peynirlerde ise 30 gün süreyle etkenin canlı kalabildiğini bildirmiştir. Rammel (27), *Brucella* suşlarının peynirdeki yaşam sürelerinin farklı olduğunu; picorina peynirinde 90 gün sonra, feta peynirinde ise 14-16. günlerde etkenin izole edilebildiğini saptamıştır. Yine Cosseddu ve Pisanu (13), *Brucella melitensis* ile enfekte keçi sütü peynirlerini olgunlaşmanın 10. 45. ve 50. günlerinde bakteriyolojik incelemeye tabi tuttuklarını, sonuçta; 45. ve 50. günlerde mikroorganizmanın yok olduğunu belirtmişlerdir. Öztürk ve Nazlı (25), *Brucella melitensis* ile deneysel olarak enfekte sütlerden ürertilen tulum peyniri örneklerinde, olgunlaşmanın 21. gününe kadar yapılan analizlerde bu mikroorganizmayı tespit ettiğini bildirmiştir.

Yurdumuzda özellikle Doğu ve Güney Doğu Anadolu bölgesinde oldukça fazla miktarlarda üretilen taze beyaz peynir ile tulum peynirlerinin büyük çoğunluğu hijyenik olmayan şartlarda, ilkel yöntemlerle çiğ sütten üretilmekte ve pazarlanmaktadır. Dolayısıyla bu peynir çeşitlerimiz, halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturmaktadır (26,34,35).

Bu çalışma, Elazığ İli'nde satışa sunulan şavak taze beyaz peyniri ile tulum peynirinde *Brucella* etkenlerinin varlığını saptamak amacıyla yapıldı.

## MATERIAL VE METOT

### Materyal

**Örneklerin alımı :** Peynir örnekleri, Elazığ'da tüketime sunulan satış yerlerinden temin edildi. Eylül 1998 ile Ekim 1999 tarihleri arasında 30 adedi taze

beyaz peynir, 55 adedi ise şavak tulum peyniri olmak üzere toplam 85 adet örnek alındı. Örnekler, steril örnek alım kavanozlarına en az 200 g alınarak laboratuvara getirildi ve aynı gün içinde analizi yapıldı.

### Metot

#### Örneklerin Deneyler İçin Hazırlanması :

Peynir örnekleri, aseptik koşullar altında steril bir spatula ile iyice karıştırıldı. Karışımından 5 g alınarak bir parçalayıcının (Bühler 51800/00) özel kabında tartıldı. Örneğin üzerine steril %2'lük sodyum sitrat çözeltisinden 45 ml koyularak parçalandı. Böylece örneğin 10<sup>-1</sup> (1/10) süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyonu 10 dakika beklettiğten sonra 1/4 gücündeki Ringer çözeltisi kullanılarak örneğin diğer seyreltileri 10<sup>-6</sup> ya kadar hazırlandı (18).

**Kullanılan Besiyeri ve Hazırlanışı :** *Brucella* mikroorganizmalarının izolasyonu için seçici vasat olarak serum-dekstroz agar kullanıldı. Serum-dekstroz agar besiyerinin hazırlanmasında temel vasat olarak da *Brucella* agar tercih edildi. Temel vasatin litresine filtrasyonla sterilize edilmiş 50 ml inaktive at serumu ile 40 ml (%25 w/v) D-glukoz ilave edildi. Ayrıca *Brucella* harici mikroorganizmaların üremesini engellemek için bu besiyerine 25 IU/ml bacitracin, 100 µg/ml cycloheximide, 20 µg/ml vancomycin, 5 µg/ml nalidixic asit, 5 IU/ml polymyxin B sulfate ve 100 IU/ml miktarında nystatin ilave edildi. Karışımı sağlanan vasat aseptik şartlarda steril petri kutularına döküldü ve 37 °C de 24-48 saat inkübe edilerek, inkübasyon süresinin sonunda kontaminasyon yönünden incelendi (3,7,17).

**Brucella spp. nin sayımı ve izolasyonu :** Hazırlanan dilüsyonların her birinden aseptik şartlar altında 0.1'er ml. alındı ve önceden hazırlanarak kurutulmuş serum dextrose agar besiyerine, uygun bir cam baget (Drigalski spatülü) yardımıyla yayma yöntemi ile ekimleri yapıldı. Çift seri hazırlanan plakların bir serisi %10 CO<sub>2</sub> içeren etüve, diğeri de normal atmosfer şartlarında çalışan 37 °C lik etüve yerleştirildi ve 3-5 gün süreyle inkübasyona alındı. Inkübasyon süresi içerisinde plaklar kolonilerin gelişimi yönünden incelendi. Oluşan koloniler izole edilerek morfolojik yönden incelendi ve identifikasiyon işlemlerine başvuruldu. Bu süre içerisinde koloni oluşumu görülmeyen plaklar inkübasyonun 10. gününe kadar bekletildi (2,3,7,12,17,38).

### Kültürlerin Karakterizasyonu

**Morfolojik karakterler :** İzole edilen kültürlerin Gram reaksiyonu ve genel morfolojileri

(şekil, büyülüklük, diziliş) Hucker' in modifiye ettiği Gram boyama metodu ile hazırlanmış preparatlarda saptandı. Kolonilerin genel görüşleri, büyülüklükleri, renk ve şekilleri ise izole edildikleri serum dekstroz agar plaklarında belirlendi (2,3,18,38).

#### Biyokimyasal karakterler

**Mac Conkey agarda laktozun fermentasyonu:** Kültürden, tüplere dağıtılarak hazırlanan Mac Conkey agar delme yöntemiyle ekimi yapıldı.  $37^{\circ}\text{C}$  de inkübasyona bırakılan tüpler 10 gün boyunca kontrol edildi. Besiyerinde renk değişiminin meydana gelmesi pozitif reaksiyon olarak nitelendirildi (4).

**Kanlı agarda hemolizis :** Taze kültürden kanlı agar tek koloni düşecek tarzda ekimleri yapıldı ve  $37^{\circ}\text{C}$  de 1-7 gün süreyle inkübe edildi. Koloni etrafında hemoliz alanı oluşup oluşmadığı her gün gözlendi. Hemoliz oluşturan kültürler *Brucella* türleri yönünden negatif olarak değerlendirildi (3,4).

**Glukoz ihtiva eden agarda asit oluşumu :** Bu test için Hugh ve Leifson' un modifiye besiyeri kullanıldı. Taze kültürden 2 adet Hugh ve Leifson ortamına ekildi ve  $37^{\circ}\text{C}$  de 1-15 gün inkübe edildi. Bu süre zarfında besiyerindeki değişimler asitlik oluşumu yönünden incelendi. Asit oluşumu *Brucella* türleri yönünden negatif olarak değerlendirildi (3,4).

**Hareketlilik kontrolu :** 22 ve  $37^{\circ}\text{C}$  de inkübe edilen kültürlerin hareketlilik muayenesi asılı damla yöntemi ile yapıldı. Hareketli görülen etkenler *Brucella* yönünden negatif olarak kabul edildi (3,4).

**Oksidaz deneyi :** Kati besiyerinde üretilen şüpheli koloniler üzerine tetrametil-p-fenilendiamin ayıracından damlatıldı. Birkaç dakika içinde koyu mor renk gösteren koloniler oksidaz pozitif olarak kabul edildi (4).

**Üreaz deneyi :** 48 saatlik kültürden hazırlanan kesif süspansiyondan 1 ml alınarak, 1ml miktarlarında tüplere dağıtılmış olan ürea brotha ilave edildi. İnoküle tüpler  $37^{\circ}\text{C}$  deki su banyosunda inkübe edildi. 15, 30 ve 60. dakikalarda tüpler üreaz üretimi yönünden kontrol edildi. Pembe rengin oluşumu pozitif olarak kabul edildi. 60 dakika sonunda negatif olan tüpler 3-4 saat süreyle, saat başı kontrol edilerek pembe rengin oluşumu bakımından incelendi (12).

**Nitrat reduksiyonu :** Durham tüpü içeren nitratlı buyyon besiyerlerine mikroorganizma ekildikten sonra  $37^{\circ}\text{C}$  de 2-7 gün inkübe edildi. Üreme görülen tüplere Griess-Ilosvay'ın A ve B ayıraçlarından 1 ml miktarlarında kondu ve renk

değişimi gözlendi. Birkaç dakika içerisinde kırmızı rengin oluşumu pozitif olarak kabul edildi. Negatif tüplere ise çok az miktarda toz çinko ilave edildi ve kırmızı renk oluşumu negatif, renk değiştirmeyen tüpler de pozitif olarak değerlendirildi. Bu durumda meydana gelen gaz nitrojen Durham tüpleri vasıtasiyla, amonyak oluşumu da Nessler ayıracı ile belirlendi (4,9).

**Sitrat kullanımı :** Tüplerde bulunan Simmon'un citrat agar besiyerlerine kültürlerden delme yöntemiyle ekimler yapıldı ve  $37^{\circ}\text{C}$  de 2-7 gün inkübe edildi. Besiyerinde mavi renk ve çizgi şeklinde üremenin görülmesi pozitif olarak değerlendirildi (4).

**Katalaz test :** Deney tüpünde bulunan 1 ml. kültürü 1 ml. hidrojen peroksit (10 vol. konsantrasyon) ilave edildi. Tüpte gaz kabarcıklarının görülmesi pozitif olarak değerlendirildi (2,18).

**Lam aglutinasyon testi :** Lam üzerine öze yardımıyla alınan şüpheli kolonilerin üzerine bir damla fizyolojik tuzlu su ilave edilerek dilüe edildi. Bunların üzerine de birer damla monospesifik A ve B serumlarından eklenerek mevcut çökelme reaksiyonu gözlemlendi (2,38).

**$\text{CO}_2$  gereksinimi :** Kültürlerin steril tuzlu su ile hazırlanan süspansiyondan serum dextrose agar içeren iki yatkı agar tüpüne inokülasyon yapıldı. Tüplerden biri normal, diğeride %10 oranında  $\text{CO}_2$  içeren  $37^{\circ}\text{C}$  deki etüvde 2-3 gün süreyle inkübe edildi. Üremelerin görüldüğü tüpler pozitif olarak değerlendirildi (2,3,38).

**Thionin ve basic fuchsinde üreme:** Thionin ve basic fuchsinin %0.1'luk stok solüsyonları hazırlandı. Bu stok solüsyonlardan temel vasatta son konsantrasyonları 1/25.000, 1/50.000 ve 1/100.000 olacak şekilde ilave edildi. Steril pamuk eküyonlar sıvi kültürlerde daldırıldı ve belirtilen konsantrasyonlardaki thionin ile basic fuchsini içeren vasatların yüzeyine bir hat şeklinde sürülerek inoküle edildi. Plaklar çift seri olarak hazırlandı ve inoküle edilen plakların yarısı normal, yarısı da %10  $\text{CO}_2$  içeren  $37^{\circ}\text{C}$  deki etüvlere yerleştirilerek 3-4 gün süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda plaklar üreme yönünden incelendi (2,3,18,38).

**$\text{H}_2\text{S}$  oluşumu :** Test edilecek olan kültürler, serum dekstroz agar içeren yatkı agar tüplerine inoküle edildi. %10'luk kurşun asetata batırılmış olan kağıt şeritler vasata değimeyecek şekilde tüplerin içerisine yerleştirilerek kapakları kapatıldı

Tablo 1. *Brucella*'ya Benzerlik Gösteren Diğer Gram (-) Mikroorganizmalar ile *Brucella* Türlerinin Karakteristik Özellikleri (2,3,12)

Testler	Br. abortus	Br. suis	Br. melitensis	Br. ovis	Br. neotomae	Br. canis	Bord. bronchi-septica	Camp fetus	Moraxella	Achinetobacter	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Morfoloji	düzgün	düzgün	düzgün	pürüzlü	düzgün	pürüzlü	Küçük kokobasil	vibrio benzeri	Diplokokkoid		Çubuk
Koloni	k ü	ç ü	k	k o	k o	a b	s i l				a
Mikroskopik	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MacConkey Agarda	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a
Laktozun fermentasyonu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kanlı agarda hemoliz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glikoz içeren agarda asit üretimi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
37 °C de hareket	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22 Cde hareket	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oksidaz test	+c	+c	+c	+c	+c	+c	+c	+c	+c	+c	+
Üreaz test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrat reaksiyonu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sitrat kullanımı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a

a: Pozitif yada negatif türler bulunabilir.

b: Fermentasyon görülebilir.

c: Bazi suşlar negatif olabilir.

Her kültür için bu şekilde hazırlanan iki tüpten birisi normal, diğeri de %10 CO<sub>2</sub> içeren 37 °C deki etüve yerleştirilerek 4 gün süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kurşun asetath kağıtların uç kısmında H<sub>2</sub>S oluşumuna bağlı olarak siyahlaşmanın meydana gelip gelmediği kontrol edilerek değerlendirildirildi (2,3,12).

**Türlerin ayırımı:** İzole edilen *Brucella* kültürlerinin karakteristik özellikleri ile ayırmalarına ait testler Tablo 1 ve 2' de belirtilemiştir.

## BULGULAR

Bu çalışmada; incelenen toplam 85 adet (30 adet taze şavak beyaz peyniri ve 55 adet tulum peyniri) peynir örneğinin 2'sinde (%2.35) *Brucella* spp. izole edildi. İzole edilen bu mikroorganizmaların dağılımı taze beyaz peynirlerde 1 (%3.33), şavak tipi tulum peynirinde ise 1 (%1.18) olarak gözlemlenmiştir.

İki numunededen izole edilen *Brucella* spp. nin biri *Brucella abortus*, biri de *Brucella melitensis* olarak identifiye edildi.

Üreme görülen plaklarda yapılan sayım sonucunda *Brucella abortus*  $3.4 \times 10^5$  kob/g, *Brucella melitensis* ise  $4.6 \times 10^2$  kob/g miktarlarında tespit edildi.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya Sağlık Teşkilatı' nın (40) verilerine göre, dünya ülkelerinde Brucellosis' den yılda 500.000 civarında insan etkilenmektedir. Türkiye'de ise, 1980-1990 yıllarını kapsayan raporda (29)

belirtilen bu dönemin sonuna doğru Brucellosis vakalarında bir artış olduğu ve enfeksiyona yakalanma oranının 100.000 de 8.69' a ulaştığı bildirilmektedir.

Elazığ ili ve çevresinde üretilerek satışa sunulan taze beyaz peynirler ile tulum peynirlerinde *Brucella* spp. nin varlığını ve sayısal yoğunluğunu tespit etmek amacıyla yapılan bu çalışmamızda, incelenen 30 adet beyaz peynir numunesinin birinde *Brucella abortus*, 55 adet şavak tipi tulum peynirinin yine birinde *Brucella melitensis* izole edildi.

Konu ile ilgili olarak süt ve süt ürünleri üzerinde yapılan çalışmalarla; incelenen örneğin türüne, örnek sayısına ve kullanılan mikrobiyolojik yöntemlere vs. bağlı olarak, *Brucella* spp. lerin bu ürünlerde tespiti hakkında farklı sonuçlar bildirilmiştir. Şöyledir ki; Sarısayın ve Eroğlu (32), çalışmalarında *Brucella* etkenini saptayamamalarını, incelenen ürünlerin (tereyağı, krema, pasta ve dondurma) yapımında kullanılan sütün pastörize edilmesine bağlamışlardır. Ayaz (5) ise, Ankara'daki süper market ve süt fabrikalarından temin ettiği numunelerde *Brucella* etkeni saptayamamıştır. Araştırmacı, bu durumun Ankara'da satılan beyaz peynirlerde *Brucella* etkenlerinin bulunmadığı anlamına gelmediğini, yetersiz numune alımı ve özellikle süper marketlerde fabrika peynirlerinin satılma ihtimalinin yüksek olmasına bağlı olabileceğini savunmuştur. Buna karşılık Mert' in (22), aynı bölgede yaptığı çalışmasında incelediği peynirlerde %19.33 oranında *Brucella* etkeni tespit etmiştir. Yine Tunçbilek' in (37), Ankara'daki semt pazarları ile süper marketlerden elde ettiği taze beyaz peynir numunelerinin 3' ünde *Brucella melitensis*,

**Tablo 2. *Brucella* Soyunda Bulunan Türlerin Ayırımı (2,3,12)**

Türler	CO <sub>2</sub> ihtiyacı	H <sub>2</sub> S üretimi	Boyalarda Üreme Özelliği			Monospesifik Serum Aglutinasyonu		
			<u>Thionin</u>			<u>Basic Fuchsin</u>		
	A	B	C	A	B	C		
Br. melitensis	-	-	+	+	+	+	+	+
Br. abortus	+ <sup>a</sup>	+	-	+ <sup>b</sup>	+ <sup>b</sup>	+ <sup>c</sup>	+ <sup>c</sup>	-
Br. suis	-	+	+ <sup>d</sup>	+	+	-	-	-
Br. neotomae	-	+	-	-	+	-	-	-
Br. ovis	+	-	+	+	+	+	+	-
Br. canis	-	-	+	+	+	-	-	-

A: 1/25.000    B: 1:50.000    C: 1/100.000

a: *Brucella abortus* biyotip 1,2,3 ve 4 ilk izolasyonlarında CO<sub>2</sub>' e ihtiyaç gösterirler.

Biyotip 9 ise pozitif yada negatif olabilir.

b: *Brucella abortus* biyotip 1, 2 ve 4 negatif.

c: *Brucella abortus* biyotip 2 negatif.

d: *Brucella suis* biyotip 2 negatif.

e: *Brucella suis* biyotip 3 ve 4 pozitif.

l'inde *Brucella abortus* saptamış ve kontamine peynir numunelerinin tamamının çiğ sütten yapıldığını fosfataz testi ile ortaya koymuştur. Sancak ve ark.'nın (31), Van otlu peynirlerinde yaptıkları çalışmada da 40 numunenin 7'sinde *Brucella spp.* ini izole etmişlerdir.

Bahsedilen bu çalışmalardan, ülkemizde üretilen peynirlerde *Brucella* etkenlerinin değişik oranlarda bulunduğu ve bu ürünlerin tamamının yada büyük bir kısmının çiğ sütlerden yapıldığı (22,37) anlaşılmaktadır. *Brucella'*ların insanlara bulaşma şeklinin direkt kontakt, kontamine ürünlerle (süt, peynir vs.) alimenter ve infeksiyöz aerosoller ile inhalasyon yollarıyla olduğu bilinmektedir. Bu araştırmamızda ve adı geçen diğer araştırmalarda (22,31,37) çeşitli peynirlerde elde edilen bulgular göz önüne alındığında, hastalığın bulaşma yollarından olan alimenter bulaşma yolunun önemi ortaya çıkmaktadır.

Beslenme alışkanlıklarını ve sosyo-ekonomik nedenlerle insanlarımız bu hastalıkla sıkça karşılaşmaktadır. Yöredeki beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak; örneğin çiğ sütten üretilen

peynirlerin sofrada bulundurulması, peynirli ekmek yapımı vs. gibi tüketim şekilleri sonucu, bölgemiz hastanelerinde bu hastalıktan dolayı her yıl birçok kişi tedavi görmektedir. Beslenme alışkanlığı ile alimenter kaynaklı *Brucella* enfeksiyonları arasında yakın bir ilginin olduğu bildirilmektedir. Genellikle çiğ koyun ve keçi sütlerinden yapılan taze beyaz peynirlerin begeni ile tüketildiği Fransa, Yunanistan, Meksika, Peru, Kuveyt ve İran gibi ülkelerde, alimenter kaynaklı *Brucella* olaylarının %8-100 arasında olduğu belirtilmektedir (16,21).

Bölgemizde alışlagelen yöntemle üretilen taze beyaz peynirler ile tulum peynirlerinin, bölge halkı için Brucellosis yönünden büyük bir tehdit unsuru olarak güncelliğini koruduğu, bu tehdidin ortadan kalkması için tüketici ve üreticilerin bu yönde bilgilendirilmesi gereği, peynir yapımında hijyenik kurallara azami riayet ederek, üretimde kullanılacak sütlerin mutlak suretle pastörize edilmesi ve elde edilen ürünün uygun muhafaza koşullarında ve yeterli süre olgunlaştırıldıktan sonra tüketime arz edilmesi sonucunu ortaya koymaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Akyüz, N. Erzincan (şavak) tulum peynirlerinin yapılışı ve bileşimi. Atatürk Üniv., Zir. Fak. Derg., 1981; 12 (1): 85-111.
2. Alton. G.G., Jones, L. M., Angus, R. D. and Verger, J. M. Techniques for the Brucellosis Laboratory. Inra Paris, 1980.
3. Alton, G.G., Lois, M.J. and Pietz, D.E. Laboratory Techniques in Brucellosis. Second Edition, World Health Organisation, Geneva, 1975.
4. Arda, M. Genel Bakteriyoloji. Ankara Üniv., Vet. Fak. Yayınları. No:342. A.Ü. Basımevi, Ankara, 1978.
5. Ayaz, Y. Ankara piyasasında satılan beyaz peynirlerde Brucellosis etkenlerinin araştırılması. Etlik Vet. Mikr. Enst. Derg., 1986; 5 (10-12): 109-114.
6. Aydin, N. Zoonozlar ve halk sağlığı yönünden önemleri. Vet. Hek. Dern. Derg., 1981; 51(3-4): 40-57.
7. Bancl, M., Mayer,I. and Cohen,A. Isolation, identification and characterisation in Israel *Brucella melitensis* biovar I atypical strains susceptible to dyes and penicillin, indicating the evolution of a new variant. J.of Clinical Microbiology, 1989; 28 (5):1057-1059.
8. Boyd, R. F. and Hoerly, B. G. Basic Medical Microbiology. Fourth Edition, New York, 1991.
9. Carter G.R. Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. Charles C. Thomas, Publisher Springfield.85-90, Margered E. Meyer, Illinois, U.S.A, 1984.
10. Çetin, E. T. ve ark. Türkiye'de insanda Brucellosis insidensinin saptanması. Doğa Tr. J. of Medical Sci., 1990; 14: 324-334.
11. Challoner, K. R., Riley, K. B. and Larsen, R. A. *Brucella melitensis*. Am. J. Emergency Medicine, 1990; 8 (1): 40-42.
12. Corbel, M.J. and Brinley-Morgan.W.J. Genus *Brucella*, In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Krieg,N.R. and Holt,J.G.(Eds.), Volume 1,Williams and Wilkins, Baltimore, 1984; 377-388.
13. Cosseddu, A. M. and Pisanu, S. Survival of *Brucella melitensis* in goat's milk att. Delta Societs Italiana Delle Scienze Veterinaria, 1986; 39 (11): 624-626.
14. Dinçer, B. Veteriner Hekimliğinde Halk Sağlığı. Ders Notları, Ankara Üniv., Vet. Fak., Besin Hijyenisi ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara, 1997.
15. El-Daher, N., Na'was, T. and Qaderi, S. The effect of the pH of various dairy product on the survival and growth of *Brucella melitensis*. Ann. Tro. Med. and Parasitology, 1990; 84 (5): 523-528.
16. Erol, İ. Gıda kaynaklı *Brucella* infeksiyonlarının halk sağlığı yönünden önemi. Üretim, 1997; 3-4: 33-37.

17. Farrel, I. D. The Development of a new selective medium for the isolation of *Brucella abortus* from contaminated sources. Res. Vet. Sci., 1974; 16: 280-286.
18. Harrigan, W. F. and McCance, M. E. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology., Revised ed. Academic Press, London, 1976.
19. İnal, T. Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi. Final Ofset A.Ş., İstanbul, 1990.
20. Karasoy, M. Brucellosisli koyunlardan elde edilen sütlerle yapılan peynirlerde *Brucella melitensis'* in dayanma süresi üzerinde araştırmalar. Ankara Univ., Vet. Fak. Derg., 1961; 8 (1): 105-112,
21. Manes,G. Epidemiological situation of Brucellosis in the Mediterranean Countries. Develop.Biol.Standards, 1984; 56: 739-747.
22. Mert, A. Ankara Yöresinde Pazarlanan Taze Peynirlerde *Brucella'* ların Varlığı Üzerinde Araştırmalar. Doktora tezi, Ankara Univ., Sağlık Bil. Enstitüsü, Ankara, 1984.
23. Mikolich, D. J. and Boyce J. M. *Brucella* species, In: Principle and Practice of Infectious Diseases. Mandell, G.L., Douglas, R.G. and Bennett, J.(Eds.), 3<sup>rd</sup> Edition, Churchill Living Stone Inc., New York, 1990; 1735-1739.
24. Özgümüş, N. Sütle insanlara geçebilen zoonozlar. Ege Univ., gıda Müh. Derg., 1992; 6 (2): 89-90.
25. Öztürk, G. Y. ve Nazlı, B. Deneysel olarak enfekte edilen sütle yapılan tulum peynirlerinde *Brucella melitensis'* in mevcudiyeti Üzerine araştırmalar. Pendik Vet. Mikr. Derg., 1996; 27 (2): 123-140.
26. Patur, B., Güven, A. ve Arslan, A. Şavak salamura beyaz peynirlerinde bazı patojen mikroorganizmaların varlığı Üzerine araştırmalar. İstanbul Univ., Vet.Fak.Derg., 1998; 24 (1): 45-54.
27. Rammel, C. G. *Brucella* in dairy products. A review. Aust. J. Dairy Technol., 1967; 22: 40-43.
28. Roux, J. Public health importance of Brucellosis, In: International Symposium on Brucellosis. Demirözü, K. ve Mete, K., (Eds.), İstanbul Publication of Pendik Research and Control Institute of Animal Diseases, 1988; 84-89.
29. Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı. Zoonoz Hastalıklar Yıllık İstatistikleri. T.C. Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı, Ankara, 1991.
30. Salem, A. A., Nour, M. A., Shawkat, M. E. and Fayed, A. A. Viability of *Brucella abortus* in White Cheese. Vet. Med. J., 1977; 25: 215-220.
31. Sancak, Y.C., Boynukara, B. ve Yardımcı, H. Van otlu peynirlerinde *Brucella'* ların varlığı ve dayanma süresi üzerine bir araştırma. Veterinarium, 1993; 4 (1): 1-3.
32. Sarısayın, F. ve Eroğlu, M. Marmara ve Trakya bölgesinde üretilen tereyağ, krema (kaymak) ile burlardan yapılan pasta ve dondurmanın insanlardaki *Brucella* enfeksiyonu yönünden rolü. Pendik Vet. Bak. ve Ser. Enst. Derg., 1978; 10 (1): 22-29.
33. Sert, S. ve Kıvanç, M. Taze civil ve lor peynirleri Üzerinde mikrobiyolojik çalışmalar. Gıda Derg., 1985; 10 (5): 287-291.
34. Tekinşen, O.C. ve Çelik, C. Şavak peynirinde *Staphylococcus'* lar ve *Micrococcus'* lar. Ankara Univ., Vet. Fak. Derg., 1979; 26 (3-4): 47 - 63.
35. Tekinşen, O.C., Patır, B. ve Alkan, M. Şavak peynirinde koliform grubu mikroorganizmalar üzerine araştırmalar. Selçuk Univ., Vet. Fak. Derg., 1993; 9 (2): 8 - 12.
36. Töral, A.R. Elazığ Bölgesi Peynirlerinde Kimyevi Araştırmalar. Güven Matbaası, Ankara, 1969.
37. Tunçbilek, M. Ankara Piyasasında Satılan Taze Peynirlerin Brucellosis Riski Yönünden incelenmesi. Ankara Univ., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 1992.
38. United States Department of Agriculture. Laboratory Procedures for Isolating, identifying and Typing *Brucella*. USDA, APHIS, NVSL, P.O.Box 844, Ames, IA 50010, 1985.
39. Ünel, S., Williams, C. F. and Stableforth, A. W. Balıkesir bölgesinde süt krema imalathane ve köylü beyaz peynirlerinde *B. melitensis'* in kalma süresi. Pendik Mikrobiyoloji Enst. Derg., 1968; 2 (1): 67-72.
40. World Health Organisation. Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis. Sixth Report, WHO Technical Report Series, No.740, Geneva, 1896.