

İstanbul'daki süt ve süt ürünlerinde *Brucella* türlerinin varlığının araştırılması

Riham Mohamed Hamid MOHAMED¹

Ayla ÜNVER ALÇAY²

Geliş tarihi / Received: 15.06.2020

Düzeltilerek geliş tarihi / Received in revised form: 05.07.2020

Kabul tarihi / Accepted: 11.07.2020

Öz

*Bruselloz büyük ölçüde ekonomik kayıplara yol açabilen, aynı zamanda halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından da oldukça tehlikeli bir hastalıktır. Bu hastalığın önemi göz önünde bulundurulduğunda, süt ve süt ürünlerinde tanımlanması hayati önem taşımaktadır. Bu çalışmada İstanbul / Beylikdüzü semtinde açıkta satışa sunulan toplamda 100 adet süt ve süt ürünü (25 adet çiğ süt, 45 adet peynir, 15 adet tereyağ ve 15 adet kaymak) *Brucella* spp. varlığı yönünden araştırılmıştır. Örneklerden *Brucella* spp. izolasyon ve identifikasyonu için, kültür, biyokimyasal testler, süt ring testi, aglütinasyon reaksiyonu testleri kullanılmıştır. Süt ring testinde 4 adet pozitif sonuç elde edilmiş ancak bunlarda *Brucella* spp. izole edilememiştir. Yüz adet numunedan izole edilen şüpheli kolonilerden biyokimyasal testler ve aglütinasyon testleriyle son olarak beş adedi belirlenmiş, ancak İstanbul Pendik Veteriner*

¹ İstanbul Aydın Üniversitesi, Gıda Güvenliği ABD, Yüksek lisans Öğrencisi ,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8541-9318>

² Dr. Öğr. Üyesi, İstanbul Aydın Üniversitesi, ABMYO, Gıda Teknolojisi Programı,

aylaalçay@aydin.edu.tr; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3254-155X>

DOI: 10.17932/IAU.ABMYOD.2006.005/abmyod_v15i59003

Kontrol Enstitüsü'nde yapılan doğrulamada hiçbiri Brucella spp. olarak tanımlanmamıştır. İncelenen hiçbir örnekte Brucella tespit edilmemiş olması nedeniyle, İstanbul / Beylikdüzü semtinde rastgele örnekleme ile seçilen, süt ve ürünlerinin Brucella yönünden güvenilir olduğu ve halk sağlığı açısından bir tehdit oluşturmadığı söylenebilir. Daha önce Türkiye'de yapılmış çok sayıda araştırmada bu mikroorganizmanın süt ve süt ürünlerinde düşük de olsa tespit edilmiş olması dikkate alındığında, Brucella enfeksiyonlarının ciddiyeti açısından, daha fazla numune alınarak araştırmanın genişletilmesi ve araştırmalara devam edilmesi faydalı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Brucella spp., çiğ süt, peynir, kaymak, tereyağı*

Investigation of the presence of *Brucella* species in milk and dairy products in istanbul

Abstract

Brucellosis is a highly dangerous disease that can lead to economic losses and is also dangerous for public health and food safety. Given the importance of this disease, its identification in milk and dairy products is vital. In this study, the existence of Brucella spp. was investigated in 100 milk and dairy products (25 raw milk, 45 cheese, 15 butter and 15 cream) taken from Istanbul / Beylikdüzü district. For the isolation and identification of Brucella spp. samples, culture, biochemical tests, milk ring test, agglutination reaction tests were used. In the milk ring test, 4 samples were found to be positive. However, Brucella spp. could not be isolated in these 4 samples. Five of the suspect colonies isolated from one hundred samples were determined with biochemical tests and agglutination tests, but none of them was not confirmed as Brucella spp. by the Istanbul Pendik Veterinary Control Institute. Since Brucella was not detected in any of the samples examined, it was determined that the milk and dairy products, which were selected by random sampling in Istanbul / Beylikdüzü district, are reliable in terms of

Brucella detection and do not pose a threat to public health. When considered to be low in these microorganisms detected in the milk and milk products in many research previously held in Turkey, In terms of the severity of *Brucella* infections, it will be useful to expand the research by taking more samples and to continue the research.

Key Words: *Brucella* spp., Raw milk, cheese, cream, butter

Giriş

Brucella bakterisi; Akdeniz Humması, Malta Ateşi, Peynir Hastalığı, Mal Hastalığı gibi çeşitli isimle anılan enfeksiyona yol açan ve halk sağlığı açısından da ciddi tehlikelere sebebiyet veren zoonotik bir türdür. Hastalık ilk kez 1887 senesinde Dr. Sir David Bruce tarafından Malta adasında, İngiliz bir askerin dalağından izole edilmiştir. Başlıca bulaşma şekli temas ve gıda kaynaklı olanlardır. İyi pişirilmemiş etlerin tüketilmesi ve bütünlüğü bozulmuş deriden veya mukozadan doğrudan temasla ya da urogenital salgılarıyla kontamine tozların solunmasıyla bulaşabilir. Enfekte hayvanlarla direkt temas olmasa dahi, süt ürünleri veya sütün kendisinin tüketilmesi de bu hastalığa yakalanmaya sebep olabilir. Hayvancılık ile uğraşan insanlar yüksek risk altında sayılmaktadır. Bulaşmada en yüksek riskli meslek grupları, laboratuvar çalışanları, çiftçiler, veteriner hekimler, çobanlar ve kasaplar olarak sayılabilir (Erol ve ark., 2011; Thakur ve ark., 2012). Laboratuvar çalışanları için başlıca bulaşma yolu inhalasyondur (Alp-Çavus, 2015).

Hastalığın başlıca bulaşma şekli, düşük yapan hayvanlarda doğum esnasında gelen akıntılar olduğundan, enfekte hayvanların diğer sağlıklı olanlardan ayrı tutulması kontaminasyonunun engellenmesi için gereklidir. Meralarla ve alet edevatlarla hastalığın yayılmasını engellemek adına ayrıca dikkat ve özen gösterilmelidir. Kontamine olduğu düşünülen gübreyi kullanmaktan en az 3 ay çekinilmelidir (Karadal ve ark., 2016; Cengiz ve Dolapçı, 1997).

Brucella cinsi mikroorganizmalar, *Rhizobiaceae* grubunun, *Prateobactereaceae* sınıfının α -alt grubunda yer alan, Gram negatif, hareketsiz, sporsuz, flagellasız, 0.6-1.5 μm boyunda, 0.5-0.7 μm genişliğinde kısa çomak, kok

veya kokobasillerdir (Stackebrandt ve ark., 1988, Aras ve ark., 2009). Somatik A ve M antijeni ayrıca bir yüzeyel L zarf antijeni bulunur (Arda, 2000). Hastalığa sebep olan *Brucella* cinsinin başlıca türleri; *B. melitensis* (3 Biyotip, koyun, keçi, sığırlarda), *B. abortus* (9 biyotip, koyun, keçi, sığır, domuzlarda), *B. suis* (5 biyotip, koyun, domuz ve keçilerde), *B. ovis* (koçlarda epididimit etkenidir), *B. neotomae* (*Neotoma lepida* isimli bir çöl faresinden izole edilmiştir, insanlarda ve evcil hayvanlarda hastalık yaptığı gözlemlenmiştir) ve *B. canis* (insanlarda ve köpeklerde brucelloz hastalığı yapar) olarak sayılabilir. Bu başlıca altı tür ve bu türlere ait 15 biyovaryant varlığı bilinmekte iken, son yıllarda *Brucella* cinsine *B. pinnipedia*, *B. cetaceae*, *B. microti*, *B. inopinata* ve *B. papionis* olmak üzere yeni türler dahil edilmiştir (Erdoğan ve ark., 2018). *B. neotomae* ve *B. ovis* insanlarda hastalık yapmaz ve birer biyotipi bulunmaktadır. Vakaların büyük bir çoğunluğu en belirgin ve hastalık yapıcı olan *B. melitensis* yüzünden olmaktadır. Hastalık yapıcılık açısından bu türün ardından *B. suis* gelmektedir. *B. abortus* ise insanlarda *B. melitensis* ve *B. suis*'e göre daha hafif enfeksiyonlara yol açmaktadır. İnsanlarda *B. neotomae*, *B. ovis* ve *B. suis* biyotip 2'ye bağlı hiçbir bulaşma görülmemiştir. *B. canis* ve *B. abortus* biyotip 5 ise insanlarda çok nadir enfeksiyona neden olmuştur (Taşçı, 2004; Aslan, 2015).

İnsanlarda enfeksiyonun inkübasyon süresi 1-3 hafta arası değişkenlik gösterse bile bazen 6 yahut 7 hafta sürmektedir. *Brucella* semptomlar açısından tüm hastalıkları taklit edebilen bir hastalık kümesidir. Hastalık birden fazla organa etki ettiğinden farklı klinik şekillerde gözlemlenebilir. İnsanlarda, sıkça gözlemlenen semptomlar olarak, ateş, eklem ağrısı, zayıflama, halsizlik, terleme, güç kaybı, gündelik işleri yapamama ve sonucunda verimsizliğe bağlı ekonomik yönden olumsuz etkilenme sayılabilir. Ateş, özellikle *Brucella melitensis* enfeksiyonlarında 10-15 gün içerisinde 38-39 °C, bazen daha uzun ateşli olmayan bir müddetten sonra yeni bir akım halinde nükseder (Ondülan Ateş). Klinik olarak; kronik, subakut, subklinik ve akut bir gidişat tespit edilir. Hastalık çoğunlukla öğleden sonra artış gösteren bitkinlik, atralji, myalji, iştahsızlık, ateş ve gece yarısından sonra artan aşırı terleme ile devam eder (Eren, 2004; Cengiz, 2007). Yaklaşık %5-15 oranında akut, subakut veya kronik menenjit, meningoensefalit, poliradikülonevrit, miyelit ve kranyal

sinir tutulumu gibi tablolar şeklinde nörolojik tutulum görülmekte ve bu durum nörobruzelloz olarak isimlendirilmektedir (Bodur ve ark., 2003).

Hayvanlardaki etkisi ise daha ziyade kilo kaybı ve yavru atımı olmakla birlikte ekonomik zarara da sebep olmaktadır. Hastalık, hayvanlarda 6-8 aylık iken düşüklere veya doğum sonrası ölümlere sebep olması açısından yavru atma hastalığıdır. Bir diğer belirtileri ise mastitis (meme yangısı) ve topallıktır (Cengiz, 2007; Eren, 2004).

Hayvan atıklarında çevreye 1000 ile 10000 milyar aralığında bakteri yayılmaktadır. Bu bakteri sayısı 60.000 ile 600.000 arasında gebe hayvanı enfekte etmeye yeterlidir (Saddique ve ark., 2019). Tehlikenin ciddiyetini rakamlar desteklemektedir. Enfeksiyonlu bir hayvandan elde edilen süt veya et *Brucella* bakterilerinin taşıyıcısı konumundadır. Şehirlerde satılan, ısıtılmış işlem görmemiş süt ve süt ürünleri *Brucella* taşıma riski altındadır. Atık yapmış bir hayvan taşıyıcı statüsünde sayılıp vücudundaki *Brucella* etkenleri meme bezine yapışır ve süt sağma esnasında dışarı saçılır. Bu şekilde sağılan ürünlerin oral olarak kaynatılmadan tüketilmesi, sindirim yoluyla hastalığın bulaşmasına neden olur.

Brucellozun tüm dünyada ve Türkiye’de yaygınlığı ve gıda güvenliği açısından önemi dikkate alınarak yapılan bu çalışmada, İstanbul’da rastgele örnekleme ile seçilen bir ilçede açık halk pazarlarından ve yerel marketlerden alınan, açıkta satılan süt ve süt ürünlerinde (çiğ sütte, kaymak, peynir ve tereyağında) *Brucella* bakterisinin varlığını belirlemek amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem

Süt ve süt ürünleri örnekleri

Bu çalışmada, İstanbul / Beylikdüzü’nde açık halk pazar yerleri (Beylikdüzü Pazarı, Gürpınar Pazarı, Beygah Pazarı) ve yerel marketlerde açık olarak satılan süt ürünlerinde *Brucella* varlığını araştırmak amacıyla 45 adet, peynir, 25 adet süt, 15 adet tereyağı ve 15 adet kaymak olmak üzere toplam 100 adet ambalajsız açık satılan numune 17.03.2019 – 2.12.2019 tarihleri arasında temin edilmiştir.

Yöntem

Örneklerden *Brucella* spp. izolasyon ve tanımlanması için: Fenotipik testler, süt ring testleri, aglütinasyon reaksiyonu testleri yapılmıştır (Cengiz, 2007; Eren, 2004).

Süt ring testi

Bir saha tarama testi olarak faydalanılan bu testin prensibi sütle çıkartılan antikorların saptanmasıdır. Steril tüpe 1 ml süt numunesinden konulmuş ve sütün üzerine bir damla SRT Antijeni (Süt Ring Testi Antijeni, TC Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, Marka /Seri Numara: SRT/01/17) karıştırılarak bir saat 37 °C'de inkubatörde bekletilmiştir. Sütün üst yüzeyinde mavi halka oluşumu pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Arda, 1990).

Numunelerin ekime hazırlanması

Her bir numuneden 25-gram tartılarak stomacher poşetine konulmuştur. Numune 75 mL steril Fizyolojik Tuzlu Su (FTS, steril %0.85 Sodyum Klorür çözeltisi (Merck 1.06404.1000)) ile sulandırılmıştır. Steril poşetlerindeki numuneler homojenizatör cihaz (Stomacher, Easy MIX, T2AL250V) ile homojen hale getirilmiştir.

Ekim, izolasyon ve identifikasyon

Her stomacher poşetindeki numuneden, *Brucella* Selective Supplement (Himedia FD161) eklenmiş *Brucella* Agar (Himedia M074) besiyerine 2 paralel ekim şeklinde 0,5 mL aktarılarak drigalski spatülü ile yayılmıştır. Paralel ekimlerin ikişer adeti aerobik ve mikroaerofilik şartlarda 37 °C'de yedi gün inkübe edilmiştir. Üreyen şüpheli koloniler pasajlanarak saflaştırıldıktan sonra MacConkey (Merck, 105465.0500) Agar besiyerine aktarılmıştır. 37 °C'de yedi gün inkübe edilmiş ve laktoz pozitif (pembe) koloniler elenmiştir. Ancak laktoz negative (renksiz) koloniler için diğer testlerin yapımına devam edilmiştir. Şüpheli kolonilere katalaz testi uygulanmıştır. Çıkan sonuçlarda negatif olanlar elenmiş ve pozitif olanlar ise oksidaz testine tabii tutulmuştur. Oksidaz testi yapılırken sonuçlar değişken ya da pozitif olduğunda testlere devam edilmiştir. Şüpheli koloniler Simmons Citrate Agar (Merck VM323501) tüplerine pasajlanmıştır. 37 °C'de yedi

gün inkübe edilmiştir. Bir haftanın sonunda çıkan sonuçlar eğer pozitif ise elenmiş, negatif ise hareket testine geçilmiştir. Hareket testi için her bir numuneye ikişer tüp Motility Test Medium (BBL- Ref:211436/Lot:6131860) hazırlanmıştır ve ayrıca mikroskopik muayene yapılmıştır. MacConkey Agar besiyerinden alınan koloniler bu tüplere inokule edilmiştir. Bir tüp 37 °C’de diğer tüp ise 20 °C’de yedi gün inkübe edilmiştir. Sonuçlar eğer 37 °C’de ve/veya 20 °C hareketli ise izolat elenmiştir. Ancak, 37 °C ve 20 °C’de hareketsiz ise üreaz testi yapılmıştır. Ürea Agar’a (Himedia, M112) yapılan ekimler 37 °C’de yedi gün inkübe edilmiştir, sonuçlar pozitif olduğu takdirde hemoliz testine geçilmiştir. Hemoliz testi için hazır kanlı agar (SP-1021) kullanılmıştır. MacConkey Agar besiyerinden alınan kolonilerden kanlı agara ekim yapılmış ve 37 °C’de yedi gün inkübe edilmiştir. Hemoliz sonucu pozitif ise izolat elenmiş ancak negatif ise aglütinasyon testine geçilmiştir. Aşağıda uygulanan tüm testlerin yapılışı özetlenmiştir:

Gram boyama

Öze ile FTS’den steril %0.85 Sodyum Klorür çözeltisi (Merck 1.06404.1000) alınarak lam üzerine damlatılmış ve bakteri kolonisinin FTS içerisinde yayılması sağlanmıştır. Yayma kurutulduktan sonra üç defa alevden geçirilerek tespit işlemi yapılmıştır. Üç dakika boyunca kristal violetde bekletilerek su ile yıkanmıştır. Lamaların üzerine lugol çözeltisi eklenerek bir dakika boyunca bekletilmiştir. Lamalar bolca distile su ile yıkanarak arındırılmış ve 15-30 saniye aralığında etil alkolde bekletilerek dekolarizasyon işlemi yapılmıştır. Lamalar bol distile suyla yıkanmış ve bir dakika boyunca safraninde (sulu fuksin) bekletilerek tekrar yıkanmış ve kurutma işleminin ardından immersiyen yağı damlatılmıştır. 100X objektifinde mikroskop altında incelenmiştir (Kara, 2011; Dolapçı, 2016). *Brucella* spp., mikroskopta, gram negatif kokobasil olarak görülmektedir (Kara, 2011; Dolapçı, 2016).

Katalaz testi

Şüpheli kolonilere katalaz testi uygulanmıştır. Lam üzerine %3’lük H₂O₂ birer damla damlatılmış ve ortaya çıkan kabarcıklar ile gözle görülebilir gaz çıkışıyla pozitif olarak değerlendirilmiştir. Çıkan sonuçlarda negatif olanlar elenmiş ve pozitif olanlar ise oksidaz testine tabi tutulmuştur (Alton ve ark., 1988; Abdelkareem ve ark., 2011).

Oksidaz testi

Sitokrom c oksidaz enziminin varlığının araştırıldığı bir testtir. Etkenin oksidaz aktivitesinin belirlenmesinde Identification Sticks Oxidase (Bioanalyse, STR00150) kullanılmıştır. Oksidaz çubuğunda çıkan sonuçta mor renk oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Alton ve ark., 1988; Dolapçı, 2016). *Brucella* pp. genellikle oksidaz pozitifdir, ancak *B. ovis*, *B. neotomae* ve bezende *B. abortus*'un bazı suşları negatif sonuç verebilir (Alton ve ark., 1988; Dolapçı, 2016; Aras ve ark., 2009).

Sitrat testi

Bakterinin, tek karbon kaynağı olarak sitratı kullanması araştırılır. Bu amaçla Simmons sitrat agar (Merck, VM323501) besiyeri kullanılmıştır. Şüpheli kolilerden adı geçen besiyerine ekim yapılmış ve 37 °C'de yedi gün inkübe edilmiştir. Bir haftanın sonunda çıkan sonuçlar eğer (+) mavi ise elenmiş, (-) ise identifikasyon çalışmasına devam edilmiştir (Dolapçı, 2016; Aras ve ark., 2009).

Hareket testi

Hareketlilik testi için şüpheli kolonilerden Motility Test Medium (BBL-Ref:211436/Lot:6131860) içeren tüplere iğne uçlu öze ile aktarılmış, inkubasyondan sonra değerlendirilmesi yapılmıştır. Mikroaerofilik koşullarda 37 °C ve 22°C'de 4 gün süreyle, ekim çizgisinde büyüme belirgin olana kadar inkübe edilmiştir. Hareketliliği belirlemek için tüp ışığa tutularak ekim çizgisine bakılmıştır. Pozitif hareketlilik testi, ekim hattından uzayan bulanık bir alanla belirlenir. Negatif bir testte ekim hattı boyunca gelişme görülür ancak, ancak çizgiden çevreye yayılan bir bulanık opak alan yoktur. Ayrıca mikroskobik olarak değerlendirilmiştir. *Brucella* spp., 37 °C ve 20'de °C'de hareketsizdir (Dolapçı, 2016; Aras ve ark., 2009).

Üreaz testi

Üreaz üretimini tespit etmek Ürea Agar için kullanılmıştır (MacFaddin, 1985). Şüpheli, kolonilerinden yoğun bir süspansiyon hazırlayarak, %40 oranında Urea Solution (Himedia, FD048) eklenmiş, Üre Agar (Himedia, M112) besiyeri yüzeyine bir öze dolusu inoküle edilmiş ve Ürea Agar'a yapılan ekimler 37 °C'de yedi gün inkübe edilmiştir. *Brucella* spp. genellikle

ürez pozitifdir, ancak *B. ovis* ve *B. abortus*'un bazı suşları negatif sonuç verebilir (Aras ve ark., 2009).

Kanlı agara ekim ve hemoliz testi

MacConkey besiyerinden alınan kolonilerden kanlı agara (5% Koyun Kanlı Agar, Spesera Sağlık Ürünleri, SP-1021) ekim yapılmıştır. 37 °C'de yedi gün inkübe edilmiştir. Hemoliz sonucu pozitif ise elenmiş ancak negatif, yani hemoliz yoksa diğer testlerin yapımına devam edilmiştir (Aras ve ark., 2009).

Aglütinasyon reaksiyonu

B. melitensis, *B. abortus* ve *B. suis*, A (abortus) ve M (melitensis) olarak isimlendirilen, ısıya dayanıklı, aglütinasyon reaksiyonlarından sorumlu, yüzey antijenlerine sahiptirler. *B. abortus* ve *B. suis*'de A antijeni fazla, M antijeni az, *B. melitensis*'de ise M antijeni fazla, A antijeni az miktarda bulunur (Bilgehan, 2000; Arda, 2000). Bu prensibe dayanılarak geliştirilen aglütinasyon reaksiyonu uygulanmış ve sonuçları bir dakika içinde oluşan aglutinasyon durumuna göre okunarak değerlendirilmiştir. A ve M mono spesifik anti serumları ile A+M *Brucella* anti serumu TC Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü *Brucella* Aşıları ve Biyolojik Madde Üretim Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. İzole edilen her koloni bir mono spesifik sera anti-A, ve anti-M ile karıştırılarak aglütinasyon için incelenmiştir. Çıkan sonuç negatif (-) olduğunda numune elenmiş ancak pozitif (+) olduğunda *Brucella* bakterisinin olduğu sonucuna varılmıştır (Eren, 2004, Savaşan, 2013).

Çizelge 1. İdentifikasyonu Yapılan Beş *Brucella* İzolatının Test Sonuçları.

Numune	Gram Boyama	Kanlı Agarda Hemoliz	MacConkey'de laktoz fermentasyonu	Sitrat kullanımı	Oksidaz	Katalaz	Hareket 20°C	Hareket 37°C	Aglutinasyon		Ürez
									A	M	
Peynir-1	Kokobasil Negatif	Yok	-	-	+	+	-	-	+	+	+
Peynir-2	Kokobasil ve Basil Negatif	Yok	-	-	+	+	-	-	+	+	+
Peynir-3	Basil Negatif	Yok	-	-	+	+	-	-	+zayıf	+zayıf	+
Kaymak	Basil Negatif	Yok	-	-	+	+	-	-	+	+	+
Süt	Basil Negatif	Yok	-	-	+	+	-	-	+	+	+

Doğrulama

Yüz numuneden elde edilen şüpheli koloniler üzerinde yapılan çalışmalar neticesinde izelge 1'de grldği gibi sonuç olarak ortaya çıkan beş koloni, doğrulama amacıyla, usulüne uygun olarak T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne gönderilmiştir.

T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'nde, söz konusu izolatların tür tayinleri standart yöntemlere göre yapılmıştır (Alton ve ark., 1988). Uygulanan yöntemler aşağıda grldği gibidir:

Kullanılan solüsyon ve besiyerleri:

Tüm kullanılan malzemeler T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü tarafından temin edilmiş ve uygulanmıştır.

Serum Dekstroz Agar (SDA)

Boyalı besiyerleri;

- A) Thionin besiyeri
- B) Bazik fuksin besiyeri
- C) Safranin besiyeri

Antibiyotik içeren besiyerleri;

- A) Streptomisin besiyeri
- B) Penisilin besiyeri

Pepton salin solüsyonu;

Akriflavin solüsyonu;

Kristal viyole stok solüsyonu:

1. A Solüsyonu
2. B Solüsyonu

3. Stok Kristal viyole solüsyonu

4. 1/40' lık Kristal viyole solüsyonu

Üre besiyeri (Christensen Medium)

Kurşun asetatlı kâğıtlar

Oksidaz çubuğu

Brucella fajları

Brucella anti serumları

A) A+M *Brucella* poliserum

B) *Brucella* monospesifik A ve M antiserumları

C) *Brucella* Rough (R) antiserum

Doğrulama test prosedürü

***Brucella* genus seviyesinde identifikasyon**

Bu amaçla koloni morfolojisi, Gram boyama, üreme özellikleri, akriflavin testi, oksidaz ve üreaz testi), smooth ve rough kolonilerin ayırımı, poliklonal serum ile lam aglütinasyonu (*Brucella* anti-A+M poliserumu ile lam aglütinasyon testi) ve Polimeraz Zincir reaksiyonu yöntemleri uygulanmıştır. Faj testleri olarak, fajların rutin test dilüsyonunun (RTD) saptanması, Tibilisi faji ve R/C faji ile lizis testi yapılmıştır.

Kolonilere polivalan (A+M) anti-*Brucella* serumu kullanılarak lam aglütinasyon testi uygulanmış ve oksidaz aktivitesinin belirlenmesinde Oxidase test stripleri kullanılmıştır. Yeni hazırlanmış *Brucella* spp. kültüründen bir koloni oksidaz çubuğuna değdirilerek 2 dakika beklendikten sonra sribin mor renge dönüşmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir. Üre solüsyonu (%39) kullanılarak üre besiyeri hazırlanmış ve Üreaz Testi (Christensen's Metodu) uygulanmıştır. Besiyerinin pembe renge dönüşmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Savaşan, 2013). Tür tayinininde, kültürün koloni morfolojisi önem taşıdığından, koloniler 45°C'lik oblik ışıktaki stereoskopik mikroskopla görüntülenmiştir. Daha sonra aynı amaçla akriflavin solüsyonu ile kolonilerin aglütinasyon özellikleri değerlendirilmiştir ve kolonilerin hepsinin S tipi koloni olup olmadığı gözlenmiştir. Rough (R) ve smooth (S)

kolonilerin ayırımı için ayrıca kristal viyole solusyonu kullanılmıştır. Tbilisi fajı ve R/C fajı ile lizis değerlendirmesi yapılmıştır. Yatık Trypticase soy agar tüplerinde üreyen suşlar agar yüzeyinden yıkanarak toplanmış ve Mac Farland 4'e göre yaklaşık 1×10^9 /ml bakteri bulunacak şekilde ayarlanarak suspansiyon hazırlanmıştır. Her bir bakteri suspansiyonundan steril bir svab ile agar yüzeyine yapılan ekimlerin üzerine 20-30 µl Tbilisi ve R/C fajları damlatılmıştır. Petriler kurduktan sonra %5-10 CO₂ içeren ortamda ve aerobik olarak 37 °C'de, 24 saat inkübe edilerek sonuçlar lizis durumuna göre değerlendirilmiştir (Gürbilek ve ark., 2014).

Tür ve biyotip tanısında kullanılan yöntemler

izolatların cins düzeyinde tanımlanması amacıyla, karbondioksit (CO₂) gereksinimi ve hidrojen sülfür (H₂S) üretimi, tiyonin ve bazik fuksin varlığında üreme, A ve M monospesifik anti-serumlar ile aglutinasyon, Safranin O içeren besiyerinde üreme testleri yapılmıştır.

İzolatların karbondioksit (CO₂) gereksinimi tesbiti için, koloniler SDA besiyerlerine ekilmiş ve hem aerobik hem de %5 CO₂'li ortamda 5-8 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üreme (koloni sayısı) açısından değerlendirilerek, CO₂'e gereksinim duyup duymadığını ortaya koyulmuştur. İzolatların Hidrojen Sülfür (H₂S) üretim özellikleri kurşun asetat strip metodu ile incelenmiştir. H₂S üretimi tesbiti için, kurşun asetatlı kâğıt şeritler, besiyerine temas etmeyecek şekilde, tüp kenarı ile vidalı kapak arasına sıkıştırılarak yerleştirilmiştir. Birinci tüpler %5-10 CO₂ içeren etüvde, diğerleri ise aerob koşullarda 37°C'de, 4 gün süreyle inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon süresi sonunda sonuçlar, üreme durumlarına ve kurşun asetatlı kâğıtlarda oluşan renk değişikliğine göre değerlendirilmiştir. Süre sonunda kâğıtlarda siyahlaşma olması H₂S üretimi açısından pozitif kabul edilmiştir. Sonuçlar üreme durumlarına göre değerlendirilmiştir. A ve M Monospesifik Anti-serumlar ile aglutinasyon testi için, her bir suştan alınan bir öze dolusu yoğun kültür 0.25 ml fizyolojik tuzlu su içinde suspense edilmiştir. Bir lam üzerine A ve M monospesifik anti-serumlardan birer damla konularak üzerlerine birer damla incelenecek suşun suspansiyonundan eklenmiş ve reaksiyon sonuçları bir dakika içinde oluşan aglutinasyon durumuna göre değerlendirilmiştir (Gürbilek ve ark., 2014).

Safranin-O, tiyonin ve bazik fuksin varlığında üreme deneyi için, inkübasyon süresinin sonunda oluşan koloniler pepton-salin ile agar yüzeyinden yıkanarak toplanmış ve yaklaşık 1×10^9 /ml bakteri bulunacak şekilde suspansiyon hazırlanmıştır. Her bir bakteri suspansiyonundan steril bir svab ile test ve kontrol şuşlarının tiyonin ve bazik fuksinin içeren besiyerine ekimleri yapılmıştır. İzolatlar tiyonin (1/50.000), bazik fuksin (1/50.000), safranin-O (1/10.000) içeren SDA besiyerlerine birbirine paralel yatay şeritler halinde inoküle edilmiş ve 37 °C’de, %5-10 CO₂’ li ortamda inkübe edilmiştir. İzolatlar, 5-6 günlük inkübasyon süresini takiben besiyerlerinde üreme durumuna göre değerlendirilmiştir (Savaşan, 2013; Gürbilek ve ark., 2014).

Bulgular

Yüz numune üzerinde yapılan çalışmalarda elde edilen izolatlardan on iki tanesi şüpheli olarak tespit edilmiştir. On iki koloniye ilk etapta yapılan testler sonucunda altı koloni elenerek son beş şüpheli koloni kalmıştır. Bu beş şüpheli koloni doğrulamak amacıyla TC Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü’ne gönderilmiş ancak identifikasyon ve doğrulama kısmında belirtilen testlerin uygulanması sonrasında *Brucella* bulgusuna rastlanılmamıştır.

Tartışma

Sığırlarda kısırılık, süt veriminde azalma ve yavru atımına neden olduğundan ciddi ekonomik kayıplara yol açabilen *Brucelloz* insanlara da bulaşarak halk sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır. Gelişmiş olan birçok ülkede az rastlanan bir hastalık olan *Brucelloz*, ülkemizde olduğu gibi gelişmeye devam eden diğer ülkelerde ve hayvancılık bölgelerinde hala önemini korumaktadır.

Bu araştırmada, yüz numuneden soyutlanan izolatların hiçbiri *Brucella* olarak identifiye edilememiştir. *Brucella* cinsi bakteri antijenlerinin *Yersinia enterocolitica* O9, *Franciella tularensis*, *Vibrio cholera*, *E. coli* O116 ve O157, *Xanthomonas maltophilia* gibi bakteriler ile çapraz reaksiyon verdiği saptanmıştır. Aglütinasyon testlerinde çapraz reaksiyonlar, sonuçların yorumlanmasını güçleştirebilir (Corbel, 1989; Kılıç ve ark., 2013; Dabanlıoğlu, 2005). Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü’ne gönderilmiş olan izolatların, *Brucella* spp. olarak identifiye edilmemiş olmasının sebebi aglütinasyonda

yanlış pozitif reaksiyon olarak yorumlanabilir.

rn bazında tek tek incelediğimizde, ülkemizde farklı yerlerindeki, çeşitli peynir örneklerinden *Brucella* spp. tesbitine yönelik yapılan araştırmalarda etkenin izole edilemediği, yapılan birçok araştırma ile bildirilmiştir (Ayaz, 1986; Sert ve Kıvanç, 1984; Parlakgl, 1993; Yıldırıncı, 1993; Türütoğlu ve ark., 2001; Ataş ve ark., 2007; Gulbaz ve Kamber, 2016; Karadal ve ark., 2016). Bu çalışmada ve geçmişte yapılan birçok araştırmada etkenin peynirlerden izole edilememiş olmasının nedeni, hammadde olarak kullanılan sütün mikroorganizma kontaminasyonu olmaması, peynir üretim sürecinde yapılan işlemler ve uzun peynir olgunlaşma süresi olabilir.

Türkiye'de ve diğer ülkelerde peynir örnekleri ile yapılan araştırmalarda, *Brucella* spp. izolasyon yapılmış olanlarda, oranlar %2-%22,5 aralığında saptanmıştır (Erdoğdu ve ark., 2018; Altun ve ark., 2017; Kara, 2011; Kale, 2009; Ataş ve ark., 2007; ngr ve ark., 2006; Alim ve Tomul, 2005; Eren, 2004; Gulluce ve ark., 2003; Budağıc, 2003; Kasımoğlu, 2002; Kalender ve ark., 2001; Patır ve Dinçoğlu, 2001; Namin, 1990; Sancak ve ark., 1993; Mert, 1984.). Kale tarafından, 2009 yılında Burdur'da 100 taze peynir üzerinde yapılan çalışmada yedisinde (%7) *Brucella* spp. izole edilmiş ve bunların 5 tanesi (%10) *B. abortus* ve 2 tanesi ise (%4) *B. melitensis* olarak identifiye edilmiştir. Altun ve ark. tarafından, 2017 yılında şanlıurfa'da 80 taze peynir üzerinde yapılan çalışmada ELISA yöntemiyle %16,25, PCR yöntemiyle ise %22,5 oranında *Brucella* spp. identifiye edilmiştir. ngr ve ark., tarafından 2006 yılında Elazığ'da yapılan çalışmada 40 peynir örneğinde immunomagnetic separation PCR yöntemiyle %5 *Brucella* spp. izole edilmiştir. Budağıc'ın 2003 yılında Kayseri'de yaptığı çalışmasında 100 adet beyaz peynir numunesinin 13'nde Brucelloz etkenleri saptanmıştır. Pozitif 13 numunenin 12'si *B. melitensis*, 1 tanesi ise *B. abortus* olarak saptanmıştır. Gulluce ve ark., 2003 yılında Erzurum'da yaptığı araştırmada 120 adet beyaz peynirde, ELISA yöntemi ile %21,66 *B. abortus* antijeni saptamıştır. Ataş ve ark.'nın, 2007 Sivas ilinde yaptığı çalışmada, 135 peynir numunesinden %5,9 *Brucella* izole edilmiştir. Bu izolatlardan dört tanesi (%2,9) *B. melitensis* dört tanesi ise (%2,9) *B. abortus* olarak tiplendirilmiştir. Alim ve Tomul, Sivas'ta 2003 yılında 42 peynir örneğinde, 3 tanesinde

(%7,1) ve 2004 yılında 47 taze peynir örneğinin ise 4 tanesinde (%8,5) *Brucella* spp. saptamıştır. Patır ve Dinçoğlu, (2001) Elazığ'da yaptıkları çalışmada, topladıkları 30 adet beyaz peynir numunesinin %3,3'ünde, 55 adet tulum peyniri numunesinin ise %1,8'inde *Brucella* spp. tespit etmiştir. Kalender ve ark., 2001 Elâzığ, Erzincan ve Tunceli'den 78 adet taze tulum peyniri örneğinin %20,5'inde *Brucella* spp. izole etmiştir. Bu numunelerden %81,3'ünü *B. melitensis* ve %18,7'sini *B. abortus* olarak tanımlamıştır.

Sancak ve ark., tarafından 1993 yılında Van'da yapılan çalışmada, 40 adet taze Van otlı peynirinde %17,5 oranında *Brucella* spp. izole edilmiştir. Bu numunelerden %15'inde *B. melitensis*, %2,5'inde ise *B. abortus* saptanmıştır. Tunçbilek'in, 1984 yılında Ankara'da yaptığı çalışmasında 100 adet beyaz peynirden %4 *Brucella* spp. izole edilmiştir. Bu numunelerden %1'i *B. abortus*, %3'ü *B. melitensis* olarak saptanmıştır. Namin'in, 1990 yılı İstanbul'daki bazı semtlerde 100 adet numune üzerinde yaptığı çalışmada sekiz adet peynirde *Brucella* spp. saptanmıştır. Bunlardan beş tanesi *B. abortus*, üç tanesi ise *B. melitensis* olarak saptanmıştır. Ayaz, tarafından 1986 yılında Ankara'da yapılan çalışmada toplanan 94 peynir numunesinin hiçbirinde *Brucella* spp. tespit edilememiştir. Sert ve Kıvanç, tarafından 1984 yılında Erzurum'de yapılan çalışmada, 30 adet peynir numunesinden hiçbirinde *Brucella* spp. saptanmamıştır. Mert'in, 1984 yılında Ankara'da yapılan çalışmasında beyaz peynirlerde %19,3 oranında *Brucella* spp. belirlenirken, bunların %10'u *B. abortus*, %90'ı ise *B. melitensis* olarak tespit edilmiştir. Erdoğan ve ark.'nın araştırmasında (2018), Kayseri'de konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle, 100 adet beyaz peynir ve 100 adet salamura peynir, *Brucella* spp. yönünden incelenmiş ve peynir örneklerinin ikisinden (%2) *Brucella* spp. saptanırken, salamura peynir örneklerinden *Brucella* izolasyonu yapılamamıştır. Elde edilen izolat, *Brucella melitensis* biyotip 3 olarak belirlenmiştir.

Dünya'da ise peynir örneklerinde yapılan tüm çalışmalar incelendiğinde peynirlerdeki pozitif çıkma oranı oldukça yüksektir (%7,5-%21,7) (Acedo ve ark., 1997; Miyashiro ve ark., 2007; Abbas ve Talei, 2010; Tantillo ve ark., 2001). Abbas ve Talei'nin, 2010 yılındaki çalışmasında Irak'ta 100 peynir numunesinden *Brucella* incelemesi yapılmıştır. Sonuç olarak peynirlerden 3 tane *B. abortus* ve 5 tane de *B. melitensis* tanımlanmıştır. Miyashiro

ve ark., 2007 yılında Brezilya'da, 192 peynir üzerinde yaptıkları çalışmada, 37 örnekte (%19.27) *Brucella* saptanmıştır. Tantillo ve ark., 2001 yılında İtalya'da, PCR tekniği ile yapmış olduğu çalışmada 46 taze peynir örneğinde %21,7 *Brucella* spp. tesbit edilmiştir. Acedo ve ark. tarafından, 1997 yılında Meksika'da yapılan çalışmada 335 peynir numunesinde %7,5 *Brucella* spp. bulunmuştur.

Peynirden yüksek oranda *Brucella* saptanmış olmasının sebebi, yüksek düzeyde *Brucella* içeren sütlerin yeterli ısıl işlem uygulanmadan hammadde olarak kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca peynirin üretim prosesi, olgunlaşma süresi, örnekleme büyüklüğü ve yöntemi, izolasyon yöntemleri gibi birçok neden izolasyon oranı üzerinde etkili olabilmektedir. *Brucella* türlerinin insanlara bulaşmasında çiğ süttten yapılmış ve olgunlaşmadan tüketilen peynirler büyük öneme sahiptir (Alton ve ark 1988). Çiğ süttten yapılmış, %20 tuz içeren salamurada peynirde *Brucella* spp.'nin 35-40 gün (12°C'de) canlı kalabildiği bildirilmiştir (Plommet ve ark., 1988). Sancak ve ark (1993), Van otlı peynirlerinde *B. melitensis*'in 40 gün kadar canlı kalmasını salamuradaki tuz konsantrasyonuna bağlamışlardır. Karasoy (1961) *B. melitensis* içeren koyun sütleri ile üretilen, %7 tuzlu salamurada olgunlaştırılan beyaz peynirlerde mikroorganizmanın 46 gün, ancak % 17 tuz içeren salamurada olgunlaştırılan peynirlerde 30 gün canlı kaldığını belirlemiştir. Tüketicilerin potansiyel brusellozis riskine maruz kalmalarını engellemek için peynirlerin 60 günlük olgunlaşma sürecinin yeterli olacağı bildirilmiştir (Claessens ve Ring 1996). Dolayısıyla peynirlerde *Brucella* varlığı, süte uygulanan ısıl işlem ve diğer işleme teknikleri yanında peynirin bileşimine katılan maddeler ve olgunlaşma süreci ile de ilişkilidir.

Yapmış olunan, İstanbul'daki bu çalışmada 25 çiğ süt örneğinden süt ring testi ile 4 adet (%16) pozitif sonuç elde edilmiş, ancak sütlerin hiçbirinden *Brucella* izole edilememiştir. Bu araştırmada da olduğu gibi *Brucella* varlığının belirlenmesi üzerine benzer bazı çalışmalar da yapılmıştır Türütoğlu ve ark.'nın, 2001 yılında Burdur'da yapılan çalışmasında 101 farklı inekten 404 adet, 113 farklı koyundan 226 süt numunesi temin edilmiş ve süt ring testi yöntemiyle inek sütlerinden 40 tanesinde (%17,7) koyun sütlerinin ise 12 tanesinde (%3) *Brucella* spp. saptanmıştır. Kenar, tarafından, 1990

yılında yapılan çalışmada süt ring testi yöntemiyle numunelerde %13,93 Konya’da, %0,92 Kayseri’de, %24,15 Niğde’de ve Nevşehir’de ise %3 oranında *Brucella* spp. pozitifliği saptanmıştır. Dubey ve ark., tarafından 2017 yılında Hindistan’da yapılan araştırmada, 85 süt örneğinden 23’ü (%27.05) Süt Ring testi ile *Brucella* antikorları için pozitif bulunmuştur. Ayrıca toplam 168 örneğin (145 süt ürünleri ve 23 (süt ring testi pozitif süt örneği)), 14’ü PCR ile pozitif olarak saptamışlardır. Ancak çalışmasında süt ring testi pozitif olan bazı numunelerde *Brucella* izole ve tanımlenememiştir. Bunun nedeni; aglütinasyonda yanlış pozitif reaksiyonu veya bunun yanında çiğ süt kontaminasyonu da olabilmektedir. (6) Al-Mariri, 2015 yılında, 2002-2007 yılları arasında kapsayan Suriye’de 2372 süt numunesi üzerinde uzun süreli çalışma gerçekleştirmiştir. Sonuç olarak 1352 numunenin %57’si Süt Ring testi ile *Brucella* antikorları için pozitif bulunmuştur, ancak 596 (25%) örnek PCR ile ve bakteriyolojik izolasyon yöntemleri pozitif olarak neticelenmiştir. Bu yapılan araştırmamızda da da süt ring testi pozitif olan numunelerde *Brucella* izole ve tanımlenememiş olması yukarıda bahsedilen çalışmalarla benzerdir.

Ülkemiz’de çiğ süt ve süt ürünleri örnekleri ile yapılan bazı araştırmalarda *Brucella* spp. varlığı saptanamamıştır. Altun ve ark., 2002 Ankara’da 300 adet çiğ süt üzerinde yapılan çalışmanın hiçbirinde *Brucella* spp. tespit edilememiştir. *Brucella* spp. tesbit edilen çalışmalarda ise bu durum; %1 ile %28,8 (Erdoğan ve ark., 2018; Gulbaz ve Kamber, 2016; Abdelkareem ve ark., 2011; Altun ve ark., 2017; Eren, 2004; Adıgüzel, 2001) arasında değişmektedir. Altun ve ark., 2017 yılında Şanlıurfa’da 178 adet çiğ süt (48 inek süt, 65 koyun süt, 65 keçi süt) yaptığı çalışmada ELISA tekniği ile sırasıyla %16,6, %6,1, %6,1, PCR tekniği ile %18,75, %7,6, %6,1 *Brucella* saptamıştır. Gulbaz ve Kamber, tarafından 2016 yılında Kars’ta 215 çiğ süt numunesi ile yapılan çalışmada 4 (%1,86) numunede PCR yöntemiyle *Brucella* spp. belirlenmiştir. Abdelkareem ve ark., 2011 yılı Trakya’da 75 farklı inekten alınan sütleri incelediğinde üç tanesinde (%4) *Brucella* spp. saptamıştır. İzolatların biri *B. melitensis* diğer ikisi *B. abortus* olarak tanımlenmiştir. PCR incelemelerinin sonucunda toplam 75 numunenin 17 (% 22,66)’sinde *Brucella* spesifik DNA belirlenmiştir. Adıgüzel tarafından 2001

yılında Erzurum'de yapılan çalışmada toplam 560 çiğ süt numunesinden %17 oranında *Brucella* spp. izolasyonu yapılmıştır. Erdoğan ve ark.'nın araştırmasında 2018, Kayseri'de konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle, 100 çiğ süt *Brucella* spp. yönünden incelenmiş ve süt örneklerinin birinde (%1) *Brucella* spp. saptanırken, elde edilen izolat, *Brucella abortus* biyotip 1 olarak belirlenmiştir.

Dünya'da ise süt örneklerinde %25'e varan oranda *Brucella* saptanmıştır (İslam ve ark., 2019; Lindahl-Rajala ve ark., 2017; Ashrafganjooyi ve ark., 2017; Jamali ve ark., 2016; Mugizi ve ark., 2015; Ali, 2014; Abbas ve Aldeewan, 2009; (6) Al-Mariri, 2015). Örneğin; İslam ve ark.'nın 2019 yılında Bangladeş'te 115 süt üzerinde yaptığı çalışmada, iki numunede (%1,7) *Brucella* spp. saptanmıştır. Ashrafganjooyi ve ark.'nın 2017 yılında, İran'da 700 süt numunesi ile yaptığı çalışmada, %1,28 oranındaki numunede *Brucella* spp. belirlenmiştir. Tacikistan'da 564 süt ile yapılan çalışmada, %10,3 numunede *Brucella* spp. belirlenmiştir (Lindahl-Rajala ve ark., 2017). Acedo ve ark., 1997 yılında tarafından Meksika'da yapılan çalışmada, 289 süt örneğinden %2.4 oranında *Brucella* spp. pozitif saptanmıştır.

Jamali ve ark.'nın 2016 yılı İran'ın Yazd bölgesinde, bakteriyolojik izolasyon yöntemleri ile 198 çiğ süt numunesi ile yapılan çalışması sonucunda 4 numunede *B. abortus*, 1 numunede *B. melitensis* saptanmıştır. Mugizi ve ark., 2015 yılında Uganda'da 207 süt üzerinde yapılan çalışmasında, on bir (%5,3) numunede *Brucella* spp. saptanmıştır. Ali, tarafından 2014 yılında Irak'ta yapılan çalışmada 120 adet süttten %9,16 *Brucella* spp. tespit edilmiştir. Abbas ve Aldeewan, 2009 yılında yayınladığı makalesinde; Irak'ta 420 süt numunesi üzerinde çalışma yürütmüş ve numunelerin %14,7'si yani 62 tanesi pozitif çıkmıştır. Bu numunelerden 33 tanesi *B. abortus*, 25 tanesi ise *B. melitensis* olarak sonuçlanmıştır, (%24'ü) Süt Ring testi ile *Brucella* antikorlarının 102 tanesi pozitif bulunmuştur.

Türkiye'de ve diğer ülkelerde kaymak ve tereyağ örnekleri ile çok az sayıda çalışma yapıldığı görülmektedir ve tüm çalışmalar incelendiğinde, bu çalışmada olduğu gibi pozitif çıkma oranı oldukça (%0 -%1) düşüktür (Gulbaz ve Kamber, 2016; Abbas ve Talei, 2010; Sarısayın ve Eroğlum, 1987). Gulbaz ve Kamber, tarafından 2016 yılında Kars'ta 50 tereyağ

numunesinde *Brucella* spp. hiç saptanmamıştır. Abbas ve Talei'nin 2010 yılında yapılan çalışmasında ise Irak'ta 100 krema üzerinde *Brucella* spp. incelemesi yapılmıştır. Sonuç olarak kremalardan 1 tane (%1) *B. abortus* identifiye edilmiştir. Sarısayın ve Eroğlum, 1987 yılında Marmara ve Trakya bölgesinde topladıkları 260 adet tereyağ ve kaymak numunesinden hiçbirinde *Brucella* spp. tespit edilememiştir.

Sonuç

Bu araştırma İstanbul/Beylikdüzü'nde Pazar yerleri ve dükkânlarda açık olarak satılan süt ürünlerinde *Brucella* riskini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Yapılan tüm çalışmalar sonucunda Beylikdüzü'nde satılan süt ve süt ürünlerinde *Brucella* bakterisine rastlanmamış olması sevindiricidir.

Son yıllarda üretici ve tüketicilerin zihniyeti ve bilgi düzeyleri değişmiştir; genel olarak satın aldıkları çiğ süt ürünlerini kullanmadan önce ısıtmak veya pastörize etmeleri konularında bilgi sahibi oldukları söylenebilir. Bu durum *Brucelloz* düzeyinde azalmaya neden olan bir faktördür. Buna ek olarak bulaşıcı hastalıklarla mücadele eden program ve yöntemlerde bir artış olmuştur ve bunların tümünün, *Brucelloz* hastalığının insidans oranının azalmış olmasının nedenleri olarak düşünülebilir.

Çalışmalar esnasında da görüldüğü üzere semt pazarlarında ve sokaklarda markasız, etiketsiz süt ürünleri satılmaya devam etmektedir. Açık satılan sütlerin ve sokak sütçülerinin ürünlerinin izlenebilirliği ve resmi otoritelerce denetimi sağlanmalıdır. Geçmiş dönemlerde ortaya çıkan vakalarla tehlikelerin boyutlarını hem ekonomik hem de sosyolojik açıdan gözlemlemek mümkündür. *Brucella*'nın dikkat çeken en önemli özelliklerinden birisi de hastalığın uzun süre antibiyotik kullanımı ile zor tedavi edilebiliyor olmasıdır. Bu açıdan da bakıldığında *Brucella* konusundaki farkındalığın artırılması adına konuya dair yapılan çalışmalarla halkın bilinçlenmesi ve gerekli tedbirlerin alınması açısından daima gündemde kalması gerekmektedir.

Geçmişten bugüne ülkemizde *Brucella* ile ilgili yapılan diğer çalışmalarını incelediğimizde, alınan süt, peynir, tereyağı ve kaymak gibi numunelerde bu mikroorganizmanın saptanmış olması halen geleneksel usuller ve hijyenik olmayan ortamlarda çiğ sütün tehlikelerine aldırış edilmeden süt ve süt

rnleri üretimine ve satışına devam edildiğini göstermektedir.

Türkiye ve dünyanın farklı lkelerinde *Brucella* ile ilgili yapılan diğer çalışmalara bakıldığında alınan numune sayısı her ne olursa olsun pozitif olarak sonuçlanan tek bir numunenin dahi hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı açısından büyük felaketlere neden olabileceği aşıkrdır. Kendimiz ve gelecek kuşaklar için her an tehlike ve risklerin farkında olup konuyla ilgili tedbirlerin ve önlemlerin alınması gerekmektedir.

ığ süt önemli bir bruselloz kaynağıdır. Süt pastörize edildiğinde risk ortadan kalkar. Kayıt dışı sektörden alınan gıda ürünleri resmi sağlık ve güvenlik uygulamalarından kaçmakta, böylece brusellozun topluma yayılmasını artırmaktadır. Düşük sıcaklıkta ısıl işlem görmüş veya çığ süt kullanılarak üretilen, ayrıca olgunlaşmadan satışa sunulan köy tipi beyaz peynirlerin ciddi risk oluşturabileceği konusunda yetiştiriciler, üreticiler, satıcı ve tüketiciler eğitilmelidir. Hayvan sağlığı, sağım hijyeni, üretim koşulları gibi faktörlere dikkat edilmediği durumlar Bruselloz riskine yol açabilmektedir. Bu açıdan geleneksel yöntemler kullanarak küçük çapta ve yerel üretim yapan işletmelerin bilinçlendirilmesi etkili bir faaliyet olacaktır. Veterinerlik, halk sağlığı uzmanları, vahşi yaşam/koruma meslekleri, gıda teknologları/mühendisleri gibi konuyla ilgili tüm profesyonellerin katılımıyla Tek Sağlık yaklaşımı, Brusellozun kontrol edilmesi için doğru yönde atılmış bir adım olacaktır. Bu işbirliğini geliştirmek, benimsemek ve duyurmak çok önemlidir.

Kaynaklar

- [1] Abbas, B. A., Talei, A.B. (2010). Isolation, identification and biotyping of *Brucella* spp. from milk product at Basrah Province. *Basrah Journal of Veterinary Research.*, 9(1), 152-162.
- [2] Abbas, B.A., Aldeewan A.B. (2009). Occurrence and epidemiology of *Brucella* spp. in raw milk samples at basrah province. *Bulgatian Journal of Veterinary Medicine*, 12(2), 136-142.
- [3] Abdelkareem, A. A., İkiz, S., Ak, S. (2011). Trakya yöresinde yetiştirilen sığırların sütlerinde *Brucella* türlerinin varlığının bakteriyolojik ve moleküler yöntemlerle karşılaştırılması olarak araştırılması. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 37(1), 23-34.
- [4] Acedo, E., Diaz, M.E., Leon, A.B. (1997). Incidence of *Brucella* spp. in raw milk and fresh regional cheese. *Aliment*; 281: 57-60.
- [5] Adıgüzel, A. (2001). *Erzuruma Bağlı Bazı Köylerden Toplanan Sütlerde Brucella Abortus Antikorlarının Araştırılması*. (Yayınlanmamış yüksek lisans tezi). Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [6] Al-Mariri, A. (2015). Isolation of *Brucella melitensis* strains from Syrian bovine milk samples. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 18(1), 40-48. DOI: 10.15547/bjvm.842.
- [7] Alp-Çavus, S. (2015). Brusellozda mesleki risk: Türkiye'de görmezden geldiğimiz bir sorun/ the occupational risk of Brucellosis: An ignored problem in Turkey. *KLİMİK Dergisi*, 28(3), 95.
- [8] Alton, G. G., Jones, L. M., Angus, R. D., & Verger, J. M. (1988). *Techniques for the Brucellosis Laboratory*. 13-61, Institut National de la recherche Agronomique (INRA), Paris.
- [9] Aras, Z., Ateş M., Uçkun, S.U. (2009). *Brucella* suşlarının identifikasyonu ve biyotiplendirilmesi. *Eurasian Journal of Veterinary*, 51-59.
- [10] Arda, M. (2000). *Klinik Mikrobiyoloji*. Genişletilmiş 2. Baskı Medisan Yayın Serisi.
- [11] Arda, M. (1990). *Hayvanlarda Brusellozis*. 24. Türk Mikrobiyolojisi

- Kongresi Erciyes Üniversitesi Matbaası. Kayseri 1990 s. 89-103.
- [12] Alim, A. & Tomul, Z.D. (2005). Investigation of *Brucella* in the fresh cheese samples sold at the bazaars of district in Sivas Center, Turkey. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 39: 219-23.
- [13] Aslan, S. (2015). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Brucella* İzolatlarının Epidemiyolojik Özelliklerinin Multi-Locus Variable Number Tandem Repeat Tanalysis ve Pulsed Field Gel Elektrophoresis Yöntemleri ile Tesbiti. Yayınlanmamış doktora tezi). TC. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji, Anabilim Dalı Adana.
- [14] Altun, B., Besler, T., Ünal, S. (2002). Ankara'da satılan sütlerin değerlendirilmesi. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 11(2), 45-55.
- [15] Altun, S. K., Yiğın, A., Gürbilek, S. E., Gürbüz, S., Demirci, M., Keskin, O., & Tel, O. Y. (2017). An Enzyme-linked immunosorbent assay for *Brucella* specific antibody and real-time PCR for detecting *Brucella* spp. in milk and cheese in Sanlıurfa, Turkey. *Pakistan Veterinary Journal*, 37(1), 39-42.
- [16] Ali, A.N. (2014). Diagnosis of *Brucella melitensis* infection in goats milk by milk ring test and Polymerase chain reaction. *Magazin of Al-Kufa University for Biology*, 6(1): 2073-8854.
- [17] Ataş, M., Poyraz Ö., Alim A., Ataş A. ve Çelik A. (2007). Sivas İl Merkezi'nde satışa sunulan taze ve salamura beyaz peynirlerin *Brucella* bakterileri yönünden incelenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, Cilt 64, Say (2):9-14.
- [18] Ashrafganjooyi, S.H., Saedadeli, N., Alamian, S., Khalili, M. & Shirazi, Z. (2017) Isolation and biotyping of *Brucella* spp. from sheep and goats' raw milk in southeastern Iran. *Tropical Biomedicine*, 34(3): 507–511.
- [19] Ayaz, Y. (1986). Ankara piyasasında satılan beyaz peynirlerde brucellosis etmenlerinin araştırılması. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Enstitüsü Dergisi*, 1986; 5: 109-16.
- [20] Bilgehan, H. (2000). *Klinik Mikrobiyoloji*. Barış Yayınları Fakülteler

Kitabevi 181-205.

- [21] Bodur, H., Erbay, A., Akinci, E., Colpan, A., Cevik, M. A., Balaban, N. (2003). Neurobrucellosis in an endemic area of Brucellosis. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 35(2), 94-97.
- [22] Budağıc, K. (2003). Kayseri İlinde çiğ sütlerden yapılan taze beyaz peynirlerde *Brucella* spp. aranması. (Yayınlanmamış doktora tezi). İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, İstanbul.
- [23] Cengiz, A.T., Dolapçı G.İ. (1997). *Brucella*'ların özellikleri ve *Brucelloz*'da tanı yöntemleri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, Cilt 50, Sayı 1.
- [24] Cengiz, M., (2007). *Brucelloz: 76 Olgunun Değerlendirilmesi*. Şişli Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, İstanbul.
- [25] Claessens, I., Ring, C. (1996). Survival times for *Brucella* in soft cheese. *Molk Zeitung Welt Milch*, 50:33-34.
- [26] Corbel, M.J. (1989). Microbiology of the genus *Brucella*. In: Young EJ, Corbel MJ, ed. *Brucellosis: clinical and Laboratory Aspects*, Florida USA: Crc Pres Inc: 54-67.
- [27] Dabanlıoğlu, B. (2005). Erzincan İli ve Yöresinde *Brucelloz* Seroprevalansı ve Seropozitif Olguların Klinik Bulgularla İlişkisi. (Yayınlanmamış doktora tezi). Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- [28] Dolapçı, İ. (2016). *Bakterilerde İzolasyon, Tanı ve İdentifikasyon Yöntemleri*. Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD.
- [29] Dubey, P., Patel, K. B., Patel, B. K., Chauhan, H. C., Chandel, B. SÇ, Patel, S. S., ve Rajgor, M. (2017). Molecular detection of *Brucella* organism from milk and milk products. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 1086-1091.
- [30] Erdoğan, S., Abay S., Aydın F. (2018). Çiğ Süt ve Peynirlerden *Brucella* spp. İzolatların Fenotipik ve Moleküler Yöntemler ile Biyotiplendirilmesi.

- Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kırşehir/Türkiye.
Journal of Faculty of Veterinary Medicine, 15(2), 94-102.
- [31] Eren, E. (2004). *Afyon Bölgesinde Toplanan Süt ve Peynir rneklerinden Brucella Türlerinin Saptanması*. (Yayınlanmamış yüksek lisans tezi). Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [32] Erol, İ, Eyigör A., Ayaz, D., Soyutemiz, E., alıcıoğlu, M. (2011). *Gıda Güvenliğinin Temel Prensipleri*. 2. Baskı. ISBN 978-975-06-1062-2. Anadolu Üniversitesi.
- [33] Gulbaz, G., Kamber, U. (2016). The detection of *Brucella* bacteria with PCR and bacteriological method in raw milk and some of the dairy products which are consumed in Kars. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. *Veterinary Medicine*, 73(1), 127-132.
- [34] Gürbilek, S. E., Baklan, E. A., & Aksoy, H. Y. (2014). Türkiye'de 2007 ve 2008 yılları arasında izole edilen Brusella suşlarının identifikasyonu ve faj duyarlılıklarının saptanması. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 3(2), 67-72.
- [35] Gulluce, M., Adiguzel, A., Algur, O.F. (2003). Detection of *Brucella* antigens in different cheese in the Erzurum area by ELISA. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 33:356-360.
- [36] Islam, S., Giuliano Garofolo, G., Sacchini, L., Dainty, A.C., Khatun, M., Sukumar Saha, S. & Islam, A. (2019). First isolation, identification and genetic characterization of *Brucella abortus* biovar 3 from dairy cattle in Bangladesh. DOI: 10.1002/vms3.193 *Veterinary Medicine and Science*, 5(4), 556-562.
- [37] Jamali, F., Emad S. ve Mosadegh A. (2016). Prevalence of *Brucella* species in raw milk produced in the industrial and traditional production units in Yazed. *International Journal of Medical Laboratory*, 3(3), 191-197, İnan.
- [38] Kale, A.S. (2009). Burdur Yöresinde Tüketime Sunulan Taze Peynir ve

Peynirlerde *Brucella* spp. Varlığı. (Yayımlanmış Yüksek Lisans Tezi). Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

- [39] Kara, R. (2011). Geleneksel Bir Peynir: Afyon Tulum Peynirinin Karakterizasyonunu ve Deneysel Olarak İnokule Edilen *Brucella abortus* ve *Brucella melitensis* Suşlarının Üreme ve Canlı Kalma Yeteneklerinin Araştırılması. (Yayımlanmış doktora tezi.) TC. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar. Article.
- [40] Kasımoğlu, A. (2002). Determination of *Brucella* spp. in raw milk and Turkish white cheese in Kırıkkale. *Deutsche Tierartzele Wochenschrift*; 109: 324-6.
- [41] Karadal, F., Ertaş Onmaz, N., Bağcı C., Yıldırım, Y., AL S., Abay, S. (2016). Niğde İlinde Satışa Sunulan Koyun-Keçi Sütü ve Peynirlerinde *Brucella melitensis* ve Biyotiplerinin Araştırılması. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13(2), 101-108.
- [42] Karasoy, M.H. (1961). Brusellosis'li koyunlardan elde edilen sütlerle yapılan peynirlerde *Brucella melitensis*'in dayanma süresi üzerine araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8: 105-12.
- [43] Kalender, H., Celal, Ö. Arslan, N. (2001). Taze tulum peynirlerinden izolasyonu. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 31(3-4): 184-186.
- [44] Kılıç, S., Çelebi, B., Bayram, Y., Çitil, B. (2013). *Francisella tularensis* antikorları ile *Brucella* çapraz reaksiyonlarının araştırılması. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70(2): 65-70.
- [45] Kenar, B. (1990). Konya, Nevşehir ve Kayseri illerinde koyun ve sığır brusellozisinin Ser-survey epidemiyolojik araştırılması. *Veterinarium*, 1: 34-37.
- [46] Lindahl-Rajala, E., Hoffman, T., Fretin, D., Godfroid, J., Sattorov, N., Boqvist, S. & Lundkvist, A. (2019). Detection and characterization of *Brucella* spp. in bovine milk in small-scale urban and peri-urban farming in Tajikistan. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(3), 53-67. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005367>.

- [47] Miyashiro, S., Eliana Scarcelli, E., Piatti, R.M., Campos, F.R., Vialta, A., Keid, L.B., Dias, R.A. & Genovez, M.E. (2007). Detection of *Brucella abortus* DNA in illegal cheese from São Paulo and Minas Gerais and differentiation of b19 vaccinal strain by means of the Polymerase Chain Reaction (PCR). *Brazilian Journal of Microbiology*, 38:17-22 ISSN 1517-8283.
- [48] Mugizi, D.R., Muradrasoli, S., Boqvist, S., Erume, J., Nasinyama, G.W., Waiswa, C., Mboowa, G., Klint, M., & Magnusson, U. (2015). Isolation and molecular characterization of *Brucella* isolates in cattle milk in Uganda. *BioMed Research International*, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2015/720413>.
- [49] MacFaddin, J. F. (1985). Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, Vol. 1, Williams and Wilkins, Baltimore, Md.
- [50] Mert, A. (1984). *Ankara Yöresinde Pazarlanan Taze Beyaz Peynirlerde Brucella'ların Varlığı Üzerinde Araştırma*. (Yayınlanmamış doktora tezi). Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [51] Namin, A.S. (1990). *İstanbul'da Bazı Semt Pazarlarına Toplanan Beyaz Peynir Örneklerinde Brucella Bakterilerinin Aranması*. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi) İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Halk Sağlığı Ana Bilim Dalı İstanbul.
- [52] Öngör, H., Çetinkaya, H., Karahan, M. & Bulut, H. (2006). Evaluation of immunomagnetic separation-polymerase chain reaction in direct detection of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* from cheese samples. *Foodborne Pathogens and Disease*, 3: 245-50.
- [53] Parlakgöl, D. (1993). *Brucella ve Listeria bakterilerini peynirden ayırabilmek için balıklı besiyerinin geliştirilmesi ve İstanbul'da satılan peynirlerde bu bakterilerin araştırılması*. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*; 23(4):239-43.
- [54] Patır, B., Dinçoğlu, A.H. (2001). Elazığ'da tüketime sunulan taze beyaz peynirler ile tulum peynirlerinde *Brucella* spp. varlığı üzerinde

araştırmalar. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 15: 15-22.

- [55] Plommet, M., Fensterbank, R., Vassal, L., Auclair, J., Mocquot, G., Vachot, J.C., Courault, M., Musset, D. (1988). Survival of *Brucella abortus* in ripened soft cheese made from naturally infected cow's milk. *Le Lait*, INRA 68(2): 115-20.
- [56] Saddique, A., Ali, S., Akhter, S., Khan, I., Neubauer, H., Melzer, F., Khan, A.U., Azam, A., El-Adawy, H. (2019). Acute febrile illness caused by *Brucella abortus* infection in humans in Pakistan. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16, 4071.
- [57] Sert, S., ve Kıvanç, M. (1984). Erzurum piyasasında tüketime sunulan beyaz peynirlerin hijyenik kaliteleri üzerine bir araştırma. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15(3-4): 79-89.
- [58] Sancak, Y.C., Boynukara, B., Yardımcı, H. (1993). Van otlu peynirlerinde brucella'ların varlığı ve dayanma süresi üzerine bir araştırma. *Veterinarium*, 4 (1), 1-3.
- [59] Savaşan, S. (2013). Sığır ve koyun abortlarından *Brucella* spp. izolasyonunda farklı selektif besiyerlerinin karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [60] Stackebrandt, E., Murray, R. G. E., Truper, H.G. (1988). "Proteobacteria classis nov., a name for the phylogenetic taxon that includes the "Purple Bacteria and Their Relatives"". *International Journal of Systematic Bacteriology*, 38 (3): 321–325. Doi:10.1099/00207713-38-3-321.
- [61] Sarısayın, F., Eroğlum, M. (1987). Marmara ve Trakya bölgesinde üretilen tereyağ, krema (kaymak) ile bunlardan yapılan pasta ve dondurmanın insanlardaki *Brucella* enfeksiyonu yönünden kontrolü. *Pendek Veteriner Bakteriyoloji ve Seroloji Enstitüsü. Dergisi*, Ayrı baskı, cilt: x sayı: 1.
- [62] Tantillo, G., Di Pinto, A., Vergara, A., Buonavoglia, C. (2001). Polymerase chain reaction for the direct detection of *Brucella* spp. in milk and cheese. *Journal of Food Protection*, 64; 164-7.
- [63] Taşçı, F. (2004) Gıda Kaynaklı *Brucellosis* ve Önemi. *Uludağ Üniversitesi*

Veteriner Fakültesi Dergisi, 23, 1-2-3: 137-142.

- [64] Tunçbilek, M. (1984). Ankara Piyasasında Satılan Taze Peynirlerin Brucellosis Riski Yönünden İncelenmesi. (Yayınlanmamış yüksek lisans tezi.) Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [65] Türütoğlu, H., Mutluer, B., Uysal, Y. (2001). Burdur Bölgesinden toplanan süt ve peynirlerin *Brucella* enfeksiyonu yönünden incelenmesi. Tübitak VHAG-100 V 007, Burdur. Tübitak Araştırma Projesi; 1-36.
- [66] Thakur, S. D., Vaid, R. K., Panda, A. K., Saini, Y. (2012). Marine mammal Brucellosis: a new dimension to an old zoonosis. *Current Science*, 902-910.
- [67] Yıldırcı, G. (1993). *İstanbul* Piyasasında Satışa Sunulan Tulum Peynirlerinde Brucella Etkenlerinin Mevcudiyeti zerine Araştırmalar (Yayınlanmamış doktora tezi). İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.