

40926

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Doç.Dr.Müzeyyen Mamal Torun

**ÇEŞİTLİ FİRMALARA AIT PASTÖRLENMİŞ SÜT
ÖRNEKLERİNDEN BAKTERİLERİN AYRIMI VE
TANIMI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Yüksek Lisans Tezi

Biyolog Atike Doğan

İstanbul - 1994

TEŞEKKÜR

Yetişmemde emeği geçen ve bilim sevgisini aşıl原因 sayın hocam Prof.Dr.Ekrem Kadri Unat'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans eğitimime başladığım günden itibaren yetişmemde büyük emeği geçen, çalışmalarımnda yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm, değerli bilgilerinden yararlandığım, Anabilim Dalı Başkanı sayın hocam Prof.Dr.Ayhan Yücel'e teşekkürü bir borç bilirim.

Birlikte çalışmaya başladığımızdan bu yana bana destek olan, araştırmalarımaya yön veren, yoğun çalışmalarını yanında kıymetli zamanını harcayarak bana yol gösteren, değerli bilgilerini aktaran danışman hocam Doç.Dr.Müzeyyen Mamal Torun'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim ve tezim süresince destek ve yardımlarını gördüğüm Prof.Dr. Kemal Altaş'a, Prof.Dr.Yaşar Bağdatlı'ya, Doç.Dr.Mustafa Samastı'ya, Y.Doç.Dr.Recep Öztürk'e, Y.Doç.Dr.Behzat Çalışır'a ayrı ayrı teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında destek ve yardımlarını esirgemeyen eşim ve çocuklarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin yazılışında emeği geçen Dr.Orhan Derman'a teşekkür ederim.

Ayrıca araştırmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Nutullah Yıldız'a, Dr.ErolÖzen'e ve besiyeri odasında çalışan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|------------------------------|--------------|
| GİRİŞ _____ | 1 |
| GENEL BİLGİLER _____ | 3 |
| GEREÇ VE YÖNTEM _____ | 39 |
| BULGULAR _____ | 73 |
| TARTIŞMA _____ | 80 |
| SONUÇ _____ | 95 |
| ÖZET _____ | 96 |
| SUMMARY _____ | 98 |
| KAYNAKLAR _____ | 100 |

G İ R İ Ő

Hayvan kökenli bir salgı olan süt, yavru için en uygun içerikte üstün bir besindir. Sütün değeri üretiminden tketickiye ulaşana kadar pek çok faktör tarafından etkilenmektedir. Sanayileşmenin, teknoloji ve bilimdeki gelişmelerin süte yansıyan olumsuz yönleri de küçümsenecek gibi değildir.

Süt çok çeşitli hastalık etkenleri taşıyabilmektedir. İnfeksiyonlar çoğunlukla çiğ süt ve çiğ sütten yapılan ürünlerle oluşmaktadır. Süte mikroplar infeksiyonlu hayvanlardan, insanlardan, kullanılan su ve kaplardan yahut çevreden bulaşmaktadır.

İnfeksiyonlu hayvanlardan süt vasıtasıyla; sığır tipi tüberküloz, Brusella, Listeria, Salmonella bakterileri, Q humması etkeni, Streptokok, Stafilokok, Campylobacter jejuni, Yersinia enterocolitica, Corynebacterium ulcerans gibi mikroplar insana geçebilmektedir(85).

Süt, sağlıklı hayvanlardan temiz Şartlarda alınsa bile sütle çalışan portrler tarafından kontamine kirlenebilmektedir. Bu Şekilde tifo, paratifo, dizanteri, tüberküloz, bulaşıcı hepatit, poliyomiyelit ve diğer enterovirus enfeksiyonları, kene ensefalitleri, toksoplazmoz bulaşabilmektedir(85).

Yukarıda bildirilen, sütle bulaşan pek çok infeksiyonun önlenmesi için sütlere belirli ısı uygulamaları yapılarak (Pastörleme-Ultra High Temperature = UHT) dayanıklı hale getirildikten sonra tüketicide sunulmaktadır(67).

İnsan sağlığı açısından çok önemli olan bu besin maddesinin kontrolu için, ülkemizde uygulanan tüzük ve yönetmelikler vardır. Bunlar Gıda Maddeleri Tüzüğü (GMT) ve Türk Standartları Enstitüsü Belgesi (TSE)'dir.

1990 yılında Anabilim Dalımızda yapılan bir araştırmada İstanbul'da tüketilen pastörlenmiş sütlerin Gıda Maddeleri Tüzüğü ve Türk Standartları Enstitüsü'nün "T.S.1019" numaralı pastörize süt standardına uygun olup olmadığı araştırılmış ve ancak % 11.1'ini GMT ve TSE'ye uygun olduğu tespit edilmiştir(85).

Biz buradan yola çıkararak değişik firmalar tarafından üretildikten sonra İstanbul'da tüketime sunulan pastörlenmiş sütlerin içeriklerinde ilgili bakterilerin varlığı açısından G.M.T. ve T.S.'na uygun olup olmadıkları- nı araştırmak amacı ile bu çalışmayı yapmayı uygun gördük.

GENEL BİLGİLER

Bu bölümde önce süt ve pastörleme hakkında bilgiler verildikten sonra sütte bulunabilen *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas cinsi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria cinsi* gibi önemli bazı bakteriler hakkında genel bilgilere yer verilecektir.

Süt, memeli hayvanların süt bezlerinin salgısı olup yavrularının beslenmesine yarayan ve tarihin en eski dönemlerinden beri insanlarca kullanılan çok değerli bir besindir. İnsanlar; inek, manda, koyun, keçi rengeyiği ve bazen at sütü ... içmişler ve bunlardan tereyağı, peynir, kaymak, yoğurt.... gibi ürünler hazırlamışlardır(68).

İnek sütünün içeriğinde ortalama % 87,5 su % 3,7 yağ, % 3,2 kadar protein (başlıca kazein ve laktalbumin), % 4.75 laktaz, % 0.7 kalsiyumca zengin ,demirce fakir tuzlar vardır. Ayrıca sütte fosfolipidler, kolesterol boyalar, gazlar..dan başka A,B, B₂, B₅, C, D, E, K niacin ve pantotetik asit gibi vitaminler bulunmaktadır.

Çeşitli tür ve ırkdaki hayvanlarının sütlerinin içerikleri arasında farklar vardır(131).

Diğer yandan süt, mikroplar için çok uygun bir besiyeridir, onların üremesini sağlayan besin maddelerini taşıdığı gibi pH'sı da 6,7-6,9 arasıdır(67).

Süte, hayvandan gelenlerden başka çevreden de mikroplar karışabilmektedir. Bu sonuncular arasında hayvanın derisinden, dışkılarından, topraktan, kaplardan, havadan gelenler ve sütle uğraşan insanlardan bulaşabilir(49,103).

Süt sağlam hayvanların meme bezlerinden steril olarak alınır, fakat daha süt borularında iken mikroplanmağa başlar, içine bir çok saprofit karışır; ayrıca çeşitli başka maddeler, söz gelimi böcek kıran gibi bazı ilaçlarda ulaşabilir.

İnsanda hastalık yapmayan, fakat süt ve süt ürünlerini etkileyebilen mikroplar arasında Lactobacillus, Streptococcus, Enterococcus, Leuconostoc, Pseudomonas, koliform bakteriler, Proteus, Bacillus, Clostridium, Alcaligenes, Flavabacterium, Corynebacterium... türleri, ayrıca mayalar ve küflerde vardır(131).

Bunlar arasında asit yapanlar (Streptococcus lactis, S.cremoris, Lactobacillus casei, L.plantorum, L.brevis, L.formontum, Microbacterium lacticum, M.luteus, M.vorians, M.freudenreichii, Koliform bakteriler) Lipoliz yapanlar (Pseudomonas fluorescens, Candida lipolytica....), proteoliz yapanlar (Bacillus subtilus, B.cereus, Proteus ve Pseudomonas türleri, Streptococcus liquefacions....) ayrılabilir(67).

Üremeğe uygun koşullarda mikropların etkisiyle, süt ekşir, kokuşur, lezzeti, görünümü ve rengi değişir. Sözelimi Streptococcus cremoris ile acılaştır, Pseudomonas aeruginosa ile mavileşir, Serratia marcescens ile kırmızılaşır(67).

Sütte bulunan patojen mikroplardan *Mycobacterium bovis*, *Brucella* türleri, *Coxiella burnetii*, ayrıca ineklerin memesinden *Streptococcus agalactiae*, *S.zooepidemicus* ve diğer bazı streptetokoklar, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* bakterileri sayılabilir. Toprak, su, yiyecekler ve dışkıdan *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* ve *campylobacter* türleri de süte ulaşır(20,114).

Bu sayılan sebeplerle çiğ süt içilmemeli, sütü bozan veya insanda hastalık yapan mikroplar tehlikesiz hale getirilmelidir. Bu amaçla en sık pastörleme kullanılır. Bu yöntemde esas, özel aletlerle sütün her yerinin 100°C'nin altında ısıtılması ve sonra derhal 10°C'nin altına düşürülerek soğutulmasıdır(131).

Fransız şarabının bozulmasını önlemek üzere Pasteur tarafından bulunan bu metod, bir sterilizasyon değil, bir dezenfeksiyon vasıtasıdır. Pastörlenmiş sütte hastalık yapıcı mikroplar, mesela tüberküloz ve bruselloz etkenleri öldürülür, fakat varsa bakteri sporları canlı kalır. Sütle bulaşan hastalıkların etkenleri, spor yapmadığından 63-66°C'de yarım saat veya 71,6-80°C'de 15 saniyede ölürler. 63°C'de yarım saat ısıtılan sütte Q Humması ve listeriyoz etkenlerinin hepsi ölmeyebilir; bununla beraber canlı mikrop sayısı infeksiyon yapamayacak kadar azalır(67).

Sütü pastörleme amacı ile kullanılan belli başlı yöntemler şunlardır(67).

1- Devamlı pastörleme: Bu yöntemde süt 62-65°C'de 30 dakika süreyle pastörlenir. Bu sırada tüm patojen mikroorganizmalar öldürüldüğü gibi, sütün özellikleri de çok iyi korunmuş olur. Bu pastörleme şeklinde sütün bütün mikrop sayısında % 90 arasında, bir azalma meydana gelir. Sütteki mikroorganizmaların cinsi ve ısıya olan dirençlerine göre etki derecesi değişik olmaktadır. Devamlı pastörleme yöntemi hem pahalı hem de fazla yere ihtiyaç gösteren bir sistem olduğundan birçok ülkede uygulanmamaktadır.

2- Kısa zamanda pastörleme: Bu yöntemde süt, 71-74°C'de 40 saniye süreyle pastörlenir. Paslanmaz çelikten yapılmış üzeri oluklar ve yivlerle bezenmiş plakalar arasından en çok 3 mm kalınlığında bir tabaka oluşturacak şekilde akıtılan süt, bu sırada pastörlenmiş olur. Sıcak su ile sağlanan ısı, bu plakalar kanalıyla süte intikal ettirilmiş olur. Plakalar, cihazlar içersinde sık olarak yerleştirilmiş olup bir paket manzarasını verir ve sütün akışı boyunca mümkün olduğu kadar fazla ısı yüzeyi ile temasını sağlar. Sıcak muhafaza sisteminde boru veya plaka sistemi, sütün ortalama 40 saniye ısı ile temasını sağlar. Süt bu bölümden, yine plakalar paketinden oluşan kısma geçer. Bu bölüm, soğutma bölümüdür. Plakaların bir tarafından, soğutulması gereken sıcak süt akıp geçerken, öte yüzeyinden ısıtılmak üzere sisteme sevk edilen soğuk süt geçer. Bu yöntemle, ısıdan en iyi şekilde yararlanılmış olur. Süt, belirli bir basınç altında cihazdan geçirilir. Genel mikrop sayısı ele alındığında, çiğ süte oranla % 98 azalma sağlanır.

3- Yüksek ısı ile pastörleme: Bu pastörleme şeklinde süt, en az 85°C'de en çok 1 dakika süreyle pastörlenir. Yüksek ısı uygulaması sonucu mikroorganizmaların öldürülme oranı % 99.5 olur. Buna rağmen yüksek ısının bir olumsuz yönü olarak ısıda azalma ve çoğalmalar sık meydana gelmekte ve pastörlemenin sonucu her zaman güvenilir olamamaktadır. Pastörleme işlemi sırasında herhangi bir aksaklık veya sonradan oluşan bir kirlenme pastörlenmiş bu sütleri tehlikeli hale getirebilmektedir.

4- Santrifüj ve ultra viyole ışınlama yöntemiyle (soğuk yöntem) sütlerin pastörlenmesi: Çiğ sütün yüksek santrifüjlerden geçirilerek mikroorganizmalardan arındırılmasına çalışılmıştır. Bütün bu çabalara rağmen patojen ve saprofit karakterli mikroorganizmaları tam olarak süttten ayırmak mümkün olamamıştır. Soğuk uygulamalardan diğeri olan ultra viyole ışınlarıyla pastörleme ise mikroorganizmalar üzerinde etkili olmasına rağmen, sütte meydana getirdiği ileri derecede koku ve lezzet değişikliklerinden dolayı kullanım alanı bulamamıştır. Her iki metod da geliştirilerek ideal bir şekilde konulabilirse, şüphesiz ki ısıyla pastörlemenin yerini alacaktır.

Kaide olarak pastörlenen sütler vakit kaybedilmeden soğutulur.

Bu amaçla +4°C yeterlidir. Daha düşük ısı dereceleri de uygulanabilir.

İşletmenin koşullarına bağlı olarak pastörlenerek soğutulmuş sütler fabrikalarda 24 saat saklanabilir. Soğuk tutulmuş süt 25.000 litrelik silindir şeklinde ve paslanmaz malzemedan imal edilmiş büyük tanklarda tutulur. Sütler bu tanklardan dolun makinalarına sevk edilir.

Pastörlenmiş sütler a) açık süt, b) ambalajlanmış süt şeklinde piyasaya sunulur(67).

a) Açık süt:

Bu amaçla, pastörlenmiş süt 20 veya 40 litrelik güğümlere doldurulur. Satış yerlerine getirilen güğümler içerisindeki süt 1/4, 1/2 ve 1 litre miktarlar halinde pazarlanır.

b) Ambalajlanmış süt:

Ambalajlanarak piyasa verilen süt, bugün birçok ülkede açık pastörize süt satımının yerini almış bulunmaktadır. Bu amaçla süt, şişelerde veya tetrapak'tan yapılmış kutularda piyasaya verilir. Şişe ve paketleme masrafları dolayısıyla sütün bu şekilde satılması tüketici için, açık satılan süte oranla, biraz daha pahalı olmakla beraber, kirlenme açısından daha emindir. Bugün süt fabrikalarda şişelerden daha yaygın biçimde yararlanılmaktadır. Kirlenmiş olarak süt fabrikalarına geri dönen şişeler, büyük temizleme makinalarında bütün yabancı maddelerinden ve mikroorganizmalarından arındırılmaktadır. Şişeler, tüketicinin beğenisini kazanacak bir ambalaj malzemesi olmaları yanında işletme ekonomisi ve pazarlama tekniği açısından bazı olumsuzluklar da taşımaktadır(67).

Şişelerin başlıca sakıncaları şunlardır:

- Çabuk kırılırlar
- Tüketimden sonra tekrar süt fabrikasına nakledilmeleri gerekir.
- Temizlenmeleri masraflıdır
- Bazen küçük cam parçacıkları süt içersine düşebilir
- Müşteri için şişenin taşınması bir külfet olup, alındığı yere geri verilmesi gerekir.

Şişelerin bu sakıncaları, son yıllarda, karton paketleme malzemesine rağbeti arttırmıştır(67).

Ambalajlanmış pastörize sütler +4°C'de saklanmalı ve 48 saat içinde tüketilmelidir(131).

Türk Standartlarında (T.S.-119 Temmuz 1971) 85°C'de 15 saniye ısıtma pastörleme olarak kabul edilmiştir(125).

Sütü tehlikesiz hale getirmek için aşırı ısı da kullanılır, (U.H.T= Ultra-high-temperature), U.H.T. işleminde 135-150°C'de uygun yöntemde sütü su buharıyla ısıtarak yapılır. Bu süt homojenlenmiş, içinde canlı patojen mikrop bulunmayan, oda sıcaklığında uzun süre bozulmayan, normal tat ve kıvamda olması gereken bir süttür(67).

Süt herçeşit kirlenmeye ve hileye uğrayabilen değerli bir besin maddesi olduğundan dolayı kontrolü ile ilgili yurdumuzda 24 yasa, 6 tüzük ve 3 yönetmelik bulunmaktadır .Bu işle Sağlık Bakanlığı, Belediyeler, Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Sanayii ve Ticaret Bakanlığı ilgilenmektedir ve Türk Standartları Enstitüsü (T.S.E) bazı standartlar hazırlamıştır(131).

Pastörlenmiş sütleri Türk Standartları Enstitüsü A ve B olarak ikiye ayırır. A sınıfı sütlerin ml'sinde 20.000'den fazla, B sınıfı sütlerin 1 ml'sinde 40.000'den fazla bakteri olmamalıdır. Gıda Maddeleri Tüzüğünde pastörlenmiş sütlerin 1 ml'sinde toplam bakteri sayısı 40.000'den, koliform grubu bakterilerin sayımı 10'dan fazla olmamalı, Escherichia coli veya patojen mikrop toksinlerini içermemelidir(131).

Süt ve süt ürünlerinde fosfotaz, pastörlemenin gerektiği gibi yapıp yapılmadığını ve pastörlenmiş süte çiğ süt katılıp katılmadığını ortaya çıkarmak için kullanılmaktadır.

Çiğ sütte bulunan fosfotaz, sütte bulunabilen hastalık yapıcı sporsuz bakterilerden daha fazla ısıya dayanır.

Sütler fizik ve kimya özellikleri bakımından incelendikleri gibi mikrobiyoloji bakımından da muayene edilirler. Bu sonucu için sütlerde mikrop sayısı belirlenir, ayrıca koliform bakterilerle belirli hastalık yapıcı mikroplar aranır.

Şimdi önce Gram (-) bakteriler olan Enterobacteriaceae üyelerinden, daha sonra da Gram (+) bakterilerden, pastörlenmiş sütlerde aradığımız patojen bakteriler hakkında genel bilgiler verilecektir.

Escherichia coli:

Bu bakteri 1885'de Theodor Escherich (1857-1911) tarafından ishali süt çocuklarının dışkısından elde edilmiştir. İnsan ve hayvan bağırsaklarında bulunur. Buna koli basili de denir(130).

Bu bakteri Enterobacteriaceae yelerinin morfoloji özelliklerine sahiptir. Ortalama 1-3/0,6 μm (canlı iken 2.6/1.1,5 μ) byklgnde bir omakıktır. Hareketli kökenlerde kirpikler, bazı kökenlerde kapsül ve mikrokapslms yapılar bulunur, ayrıca tüycükler de bulunabilir(130).

DNA'sında G+C miktarı % 50-51 mol kadardır(130).

37°C'de Endo besiyeri, eozin metilen mavisi agar (EMB) besiyerinde rer. KCN'li besiyerinde remez. Endo besiyerinde laktozu paraladığından kırmızı madenimsi parlak koloniler yapar. Katalazlı fakat oksidazsızıdır(130).

Buyyonda önce yaygın bir bulanıklık sonra dipte çöküntü yapar, bazen üstte de ince bir zar geliştirir. Melibiozu ve adonitolu fermentleme, beta hemoliz, ramnozu fermentleme, lizin dekarboksilaz yapımı, hareket, laktoz, rafinoz ve sukrozu fermentleme özelliklerine göre 80 kadar biyotipe ayrılmıştır(130). Escherichia colinin biyokimyasal özellikleri izelge 1'de gösterilmektedir.

Bu bakterinin bazı kökenleri enterotoksin, fibrinolizin musinoz, hemaglutinin ve hemolizin oluştururlar. Bu hemolizinler i ve dış olarak iki çeşittir. Hücre içi hemolizine alfa hemolizin, hücreye bağlı olana beta-hemolizin denmiştir(130).

E.coli 55°C'de 1 satte, 60°C'de 15 dakikada ölür; fakat daha dirençli kökenler de vardır(130).

E.coli'de 52 çeşit H ve 162 çeşit O ve 100 çeşit K antijeni ayrılmıştır(130).

Bağırsağın hareketsiz Gram (-) bakterilerin O antijeniyle kendi antikorlarının birleşmesini zorlaştıran ısıya dayanmayan antijenlerin varlığına 1942'de dikkati çeken Braun ve Unat bunlar için genel bir simge olarak Oλ işaretini kullanmışlardır. 1943'de L antijenini bildiren Kauffmann daha sonra yayınlanan ve başlıca ısıya dayanma derecesine göre ayrılan A ve B antijenlerini de kapsamak üzere K antijeni adını önerdi. K simgesi kapsül kelimesinden alındı(130).

Bu bakteri insan ve hayvanların barsaklarında bulunmaktadır. Süt çocuklarında, çocuklarda ve bazen erişkinlerde sürgünlere sebep olabildiği gibi idrar yolları, safra yolları infeksiyonlarına, peritonite, apendisite ve muhtelif yerlerde irinli yangılara, menenjitte ve sepsis'e de etken olabilir(130):

Sürgüne sebep olan kökenleri üç gruba ayrılır(91).

- Enterotoksin yapanlar,
- Bağırsak hastalandıranlar,
- Bağırsağa salgıyanlar

Bu bakteri streptomisin kloromfenikol ampisilin gibi antibiyotiklere iyi cevap verebilir. Fakat en iyisi etkili ilacın bir antibiyogramda bulunmasıdır(130).

Çizelge 1 : Enterobacteriaceae ailesindeki cinslerin belli başlı özellikler(130)

| | <i>Escherichia</i> | <i>Prostigella</i> | <i>Shigella</i> | <i>Edwardsiella</i> | <i>Salmonella</i> | <i>Arizona</i> | <i>Citrobacter</i> | <i>Klebsiella</i> | <i>Enterobacter</i> | <i>Hatnia</i> | <i>Serratia</i> | <i>Proteus</i> | <i>Morganella</i> | <i>Providencia</i> | <i>Yersinia</i> |
|------------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|---------------------|-------------------|----------------|--------------------|-------------------|---------------------|---------------|-----------------|----------------|-------------------|--------------------|-----------------|
| Hareket (37°C) | D | - | - | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | D | - |
| KCN ile üreme | - | - | - | - | - | - | D | D | + | + | + | + | + | + | - |
| Glikozdan gaz | + | - | - | + | + | + | + | D | + | + | d | + | + | D | - |
| Asetoin yapımı(37°C) | - | - | - | - | - | - | - | d | + | + | + | + | - | - | D |
| Beta-galaktosidoz | + | d | d | - | - | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + |
| Laktoz | D | d | d | - | - | D | D | D | D | - | D | - | - | - | - |
| Sakroz | D | D | d | - | - | - | d | + | + | d | + | D | d | D | D |
| Mannitol | + | + | D | - | + | + | + | + | + | + | + | - | - | D | + |
| Adonitol | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - | D | - | - | D | - |
| Arabinoz | + | + | D | - | + | + | + | + | + | + | D | - | - | - | + |
| Dulsitol | D | D | d | - | D | - | D | d | - | - | - | - | - | - | - |
| İnozitol | - | - | - | - | d | - | - | + | D | - | D | - | - | d | - |
| Salisin | D | d | - | - | - | - | D | + | + | - | + | d | - | d | D |
| Sorbitol | + | + | D | - | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | d |
| Sitrattan yararlanma | - | - | - | - | + | + | + | D | + | + | + | d | - | D | d |
| H ₂ yapımı | d | - | - | + | D | + | D | - | - | - | - | + | + | D | - |
| İndol yapımı | + | + | D | + | - | - | D | d | - | - | - | d | + | D | D |
| Jelatini eritme | - | - | - | - | - | g | - | - | d | - | + | + | - | - | - |
| Üreyi parçalama | - | - | - | - | - | - | d | D | d | - | - | + | + | d | - |
| Fenilalanini aminsizleştirme | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - |
| Lizin dekarboksiloz | D | d | - | + | + | + | - | D | D | + | + | - | - | - | - |
| Ornitin dekarboksiloz | D | D | D | + | + | + | D | - | + | + | D | D | + | - | d |

Açıklamalar: +: % 90-100 olumlu sonuç, -: % 90-100 olumsuz sonuç, D: Değişik, fakat % 50 ve daha fazla olumlu, d: Değişik, fakat % 50'den azı olumlu, g: Geç olarak olumlu.

Yersinia enterocolitica:

Bergey's Manual'in 8. baskısında insan veba hastalığının etkeni olan *Pasteurella pestis*'in de içinde yer aldığı üç *Pasteurella* türüne *Yersinia* adı verilmiştir ve *Enterobacteriaceae* içine alınmıştır. 1894'de bugün *Yersinia pestis* olarak bilinen mikroorganizmayı ilk tanımlayan Fransız bakteriologu Alexander Yersen'in adı bu bakteri cinsine verilmiştir(77).

Yersinia türlerinin biyokimya özellikleri her ne kadar *Enterobacteriaceae* üyelerininkine benzerse de Gram boyamasında küçük kokobasil-ler olarak görünürler(77).

Yersiniaceae ailesinde *Yersinia* tek cinstir. *Enterobacteriaceae*'ye alınırken *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Yersinia enterocolitica* olarak üç tür şeklinde alınmıştır(77).

1980'de daha önceki *Y. enterocolitica*'nın alt grupları olarak tanımlananların yeni türler olarak tanımlanması önerilmiştir. Bunlar *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia* ve *Y. kristensenii*'dir(77).

Bugün *Yersinia* cinsi içinde 11 tür bulunmaktadır ve bunların özellikleri Çizelge 2'de gösterilmiştir. *Yersinia enterocolitica* 1939'da J.Schleitstein ve M.Coneman tarafından *Bacterium enterocoliticum* adıyla yazılmıştır(77).

Yersinia enterocolitica Gram (-), fakültatif anaerop, spor oluşturmeyen bir bakteridir. Polimorfizm gösterir ve koko basil şeklinde de görülebilir, 37°C'de hareketsiz fakat 22°C'de hareketlidir(77).

Yersinia enterocolitica kökenlerinin çoğu seçici enterik agarlar üzerinde ürer. 48 saat inkübasyondan sonra McConcey ve SS agar üzerinde küçük laktoz negatif koloniler oluşturur(77).

Çizelge 2 - *Yersinia* cinsindeki türlerin ayırımı(77).

| Biyokimya testleri ve hareket | <i>Y.pseudo-</i> <i>tuberculosis</i> | <i>Y.pestis</i> | <i>Y.entero-</i> <i>colitica</i> | <i>Y.frederik</i> <i>senii</i> | <i>Y.inter-</i> <i>media</i> | <i>Y.kris-</i> <i>tensenii</i> | <i>Y.dobsoni</i> | <i>Y.bercovieri</i> | <i>Y.mollaretii</i> | <i>Y.rohdei</i> |
|----------------------------------|---|-----------------|-------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|------------------|---------------------|---------------------|-----------------|
| İndol | - | - | d(50) | + | + | d(30) | - | - | - | - |
| Ornitin | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Hareket (25°C-28°C) | + | - | + | + | + | + | + | + | + | ds |
| FERMANTASYON | | | | | | | | | | |
| Sukroz | - | - | + | + | + | - | - | + | + | + |
| Ramnoz | + | - | - | + | + | - | + | - | - | - |
| Sellobiyoz | - | - | + | + | + | + | - | + | + | + |
| Sorbitol | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Melibiyoz | + | d(20) | - | - | + | - | - | - | - | d(50) |

Açıklamalar: + % 90 veya daha fazla köken olumlu; - % 90 veya daha fazla köken olumsuz; ds, değerlendirilemeyen sonuçlar; d, değişken anlamında kullanılmıştır. Bütün testler 25°C-28°C arasında yapılmıştır.

Cefsulodin-Irgason-Novobiocin (CIN) agar *Y. enterocolitica* için seçici bir besiyerdir. Bu besiyerinde 25°C'de 18-20 saatlik üretimden sonra, 0,5-1 mm çapında koyu kırmızı boğa gözü görünümünde ve saydam kenarlı *Y. enterocolitica* kolonileri ortaya çıkar. *Yersinia enterocolitica* en iyi dışkı örneklerinden 25°C'de ayrılmaktadır. Dışkı gibi büyük oranda bakteri taşıyan örneklerin enterik besiyerlerine ekilmesinden önce fosfat tamponlu fizyolojik tuzlu suda +4°C'de 1-3 hafta bekleterek, soğuk zenginleştirmeğe tabii tutulması *Y. enterocolitica* ayırımı hızını arttırmaktadır(77).

Yersinia enterocolitica göllerde yaygın olarak bulunmaktadır ve çeşitli hayvanlarda sürgün, limf adenopati, pnömoni ve spontan düşükle seyreden salgınlara sebep olmaktadır(77).

Bu bakteri ile hayvanda oluşan infeksiyonlar insanlara bulaşabilmektedir. Bu infeksiyonlar sindirim sisteminden alınan mikroplu süt ve diğer besinlerle de bulaşabilir(90,121).

Brezilya'da 1991 yılında yapılan bir çalışmada 9 yıl süresinde çiğ süt, pastörize süt, hamburger, peynir, marl gibi çeşitli gıda maddeleri *Yersinia* bakterileri yönünden incelenmiş ve 468 *Yersinia enterocolitica* kökeni ayrılmıştır(43).

Y. enterocolitica infeksiyonlarının en yüksek insidensi 1-4 yaş arasındaki çocuklardadır. İnsanlardaki belli başlı belirtiler bağırsak yangısı ve özellikle terminal ileit özelliğindedir. Sürgün en önemli belirti olabilir karın ağrısı ve ateş bulunabilir. Apendisit şüphesi uyandıran durumlarda operasyon sırasında yangılı appendis, ileit ve mesarika adeniti bulunmaktadır(130).

Pseudomonas aeruginosa:

Gilara; uzun yıllar alan yoğun çalışmalardan sonra değişik fenotip özelliklerine dayanarak Pseudomonas türlerini aşağıdaki şekilde gruplara ayırmıştır(77).

r-RNA Grup I

fluorescent grup

P.aeruginosa

P.fluorescens

P.putida

Stutzeri grup

P.stutzeri

P.mendocina

CDC grup Vb-3

Alcaligenes grup

P.alcaligenes

P.pseudoalcaligenes

Pseudomonas species grup 1

r-RNA Grup II

Pseudomallei grup

P.mallei

P.pseudomallei

P.cepacia

P.gladioli

P.pickettii

r-RNA Grup II

Aciolovorans grup

Comomonas acidovorans

Comammonas terigena

Comomonas testosteroni

Facilis-delafieldii Grup

Acidovorax delafieldii

Acidovorax facilis

Acidovorax temperans

r-RNA Grup IV

Dimuta grup

Çizelge 3 - *Pseudomonas* cinsi bakterilerin özellikleri(77)

| | Oksidaz | Hareket | Diyoverdin | Glikoz | Maltoz | Laktoz | Mannitol | Arjinin | Lizün | NO ₃ -NO ₂ | Üre Hidroliz | ONPG | DNAs | Asetamid | Eskülin | Polimiksin |
|---|---------|---------|------------|--------|--------|--------|----------|---------|-------|----------------------------------|--------------|------|------|----------|---------|------------|
| Cins: Chryseomonas C.cluteola | - | + | - | + | + | - | + | d | - | d | d | + | - | - | + | du |
| Camomonas acidovorans | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | + | - | d |
| Comomonas terrigena | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | ds | du |
| Comomonas testosteroni | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | ds | du |
| Cins: Flavimonas F.oryzihabitans | - | + | - | + | + | - | + | - | - | - | d | - | - | - | - | du |
| Cins: Pseudomonas Fluorescent grup P.aeruginosa | + | + | + | + | d | - | + | + | - | + | d | - | - | + | + | du |
| P.fluorescens | + | + | + | + | d | - | + | + | - | d | d | - | - | - | - | du |
| P.putida | + | + | + | + | d | - | - | + | - | - | d | - | - | - | - | du |
| Pseudomonas stutzeri | + | + | - | + | + | - | d | - | - | + | d | - | - | - | - | du |
| P.Mendacina | + | + | - | + | - | - | - | + | - | + | d | - | - | - | - | - |
| P.alcaligenes | + | + | - | - | - | - | - | - | d | - | d | - | - | - | ds | du |
| P.pseudo alcaligeres | + | + | - | - | d | - | - | - | d | + | - | - | - | - | - | du |
| Grup: Pseudomallei P.pseudomallei | + | + | - | + | + | + | + | + | - | + | d | - | - | - | d | di |
| D.cepacia | d | + | - | + | + | + | + | - | + | d | d | d | - | d | d | di |
| P.gladioli | - | + | - | + | - | - | + | - | - | d | + | + | - | - | - | di |
| P.pickettii | + | + | - | + | d | d | d | - | - | d | + | - | - | - | - | Z |
| Grup: Dimunuta P.dimunuta | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | d | - | - | d |
| P.vesicularis | + | + | - | d | d | - | - | - | - | - | - | d | - | - | + | du |
| P.paucimobilis | + | + | - | - | + | + | - | - | - | - | - | + | - | - | + | du |
| Cins: Sheuanelloi S.putrefaciens | + | + | - | + | d | - | - | - | - | + | - | - | + | - | - | du |
| Cins: Xanthomonas X.maltophilia | - | + | - | + | ++ | + | - | - | + | d | - | + | + | - | + | du |

Açıklamalar: +, % 90'ı veya daha fazlası olumlu; -, % 90'ı veya daha fazlası olumsuz; d, % 11-% 689'u pozitif; ++, kuvvetli olumlu reaksiyon; ds, değerlendirilemeyen sonuçlar; di, dirençli du, duyarlı

Glireli GL: Identification of Glucose-Norfermenting Gram-Negative Rods. New York., (Nord General Hospital, 1990, and Gilard GL: Pseudomonas and related genera. In Balows A: Manual of clinical Microbiology, 5. baskı s: 429-441. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1991).

P.dimita

P.vesicularis

r-RNA Grup V

Xanthomonas maltophila

Nukleik asit homolojisi bilinmeyenler

Pseudomonas benzeri gruplar

I. grupta bulunan *Pseudomonas aeruginosa* toprakta, sulara, dışkıda insan derisinin kıvrımlarında bulunur. Ayrıca hastanelerde anestezi aletlerine, banyo duvarlarına v.s yerleşebilir. Bu bakterinin insanda hastalık yapmasına vücut direncini kıran metabolizma ve kan hastalıkları ve urlar yardım eder. Bağışıklığı baskılayıcı ilaçlarla, kortikosteroid antimetabolit ve antibiyotiklerle uzun süre tedavi görenlerde infeksiyon daha sık görülmektedir(67).

Pseudomonas aeruginosa ile insanda bakteriyemi, kemik ve eklem infeksiyonları, merkez sinir sistemi infeksiyonu, idrar yolu infeksiyonları, solunum yolu infeksiyonları, deri ve yumuşak doku infeksiyonları, sindirim yolu infeksiyonları (Nekrotizan enterokolit, epidemik ishal, shoughai ateşi) gelişebilir. Bu infeksiyonlar çeşitli vasıtalarla ve gıdalarla bulaşabilir(99).

Aeromonas cinsi:

Aeromonas cinsi bakterilerin ilk ayırımı çoğunlukla Sanarelli (1891)'ye atfedilmekle birlikte, Aeromonas cinsini ilk ayıran olasılıkla Zimmermann (1890)'dır. Zimmermann, Chemnitz'de içme suyundan ayırdığı bu bakterilere "Bacillus punctatus" adını vermiştir. Sanarelli ise, "Bacillus hyrophilus fuscus" adını verdiği bu bakterinin soğuk ve sıcak kanlı hayvanlara aşılmasıyla septisemi ve hastalık oluşturduğunu bildirmiştir. Daha sonra, bu bakteriye "Bacterium punctatum", "Achromobacter punctatum" adları verilmiş ve bu bakteriler, "Pseudomonas punctata" adı altında Pseudomonas cinsine aktarılmıştır. Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology'nin ilk baskısında bu bakteri, "Proteus hydrophilus3" adıyla yer almıştır. Aynı kitabın altıncı baskısında, Proteus cinsinden çıkartılmış ve Pseudomonas cinsine sokulmuştur. 1936 yılında Kluyver ve van Niel tarafından Aeromonas cinsi olarak sınıflandırılmışlar ve bu kitabın 1957 yılındaki yedinci baskısında Aeromonas cinsi olarak yer almışlardır(100).

İnsan çevresi ve hastalıkları ile ilişkili olarak Aeromonasları ilk kez, Aitken ve ark. bildirmişlerdir. Koch koyutlarını (postulat) tamamlayan insanda ilk infeksiyon 1955 yılında, Hill ve ark. tarafından septisemi ve metastatik miyozit sebebiyle ölen bir kadında tanımlanmıştır. Bu bakteriye, Müller tarafından "Vibro Jamaicensis" adı verilmiştir. Daha sonra bu bakteri Cosalitz tarafından Aeromonas cinsine sokulmuştur(8,69,100).

Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology'nin 1984 yılına ait son baskısına göre, Aeromonas cinsi vibriaceae ailesi içinde yer almaktadır(100). Bununla birlikte, DNA-RNA homoloji çalışmalarının sonuçlarına göre, Colwell ve arkadaşları Aeromonasların bazı özellikleri ile Enterobacteriaceae, vibrionaceae ailelerinden farklı olduklarını ve bunların Aeromonadaceae ailesi altında toplanmalarını önermişlerdir(35).

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin 1984 baskısına göre Aeromonas cinsi 4 türden oluşmaktadır: A.hyrophila, A.sobria, A.caviae, A.salmonicida (psikrofil olan bu tür salmonicida, achromogenes ve

masoucida alt türlerine ayrılmıştır(100). Ancak bu gruba 1989 yılında bir alt tür daha eklenmiştir. *A.salmoncida* subsp. *smithia*(77).

Bu türler fenotip özelliklerine göre ayrılmışlardır ve birden fazla genatürü (ya da DNA homoloji grubunu) kapsamaktadırlar. Molekül tekniklerinin gelişmesi ve daha yaygın olarak kullanılmasıyla *Aeromonas* cinsi 13 homoloji grubuna (genatür) ayrılmıştır. Ancak bu genotürlerin tümünü fenotip özelliklerine göre tanımlamak mümkün olmamaktadır. Klinik örneklerden ayrılan kökenlerin ideal fenotip özellikleri göstermemeleri de işi daha da zorlaştırmaktadır(27,30,32).

Aeromonas cinsinde yeni tanımlanan türler:

- 1- *Aeromonas media*: 1983 yılında Allen ve ark. tarafından tanımlanmıştır(6). İnsanda hastalık yaptığı santanamayan bu türün mezofil, hareketsiz oluşu ve glikozdan gaz oluşmaması ayırd edici özellikleridir. Feno türü DNA homoloji grubu 5 B'de yer almaktadır. Geno türü olarak ise, DNA homoloji grupları 5A ve 5B'de yer almaktadır(12).
- 2- *Aeromonas veronii*: 1987 yılında Hickman-Branner ve ark. tarafından klinik örneklerden ayrılarak tanımlanmıştır(61). Ornitin dekarboksilaz pozitif oluşu ayırd edici özelliğidir. Feno türleri DNA homoloji grupları 10'da [DNA homoloji grubu 11 veronii benzeri (veronii-like) olarak adlandırılmaktadır] yer alırken, geno türleri 8 ve 11. gruplarda yer almaktadır(100). Fenotip özelliklerinden dolayı homoloji grubu 8'de yer alan, *A.veronii* biyotip *sabria*, homoloji grubu 10'da yer alan *A.veronii* biyotip *veronii* (ornitin dekarboksilaz olumlu) olarak ayrılmaktadır(61).
- 3- *Aeromonas Schubertii*: 1988 yılında Hickman-Brenner ve arkadaşları tarafından klinik örneklerden ayrılarak tanımlanmıştır(61). Mannitol negatif oluşu ayırdedici özelliğidir. Feno ve geno türleri DNA homoloji grubu 12'de yer almaktadır(100).

- 4- *Aeromonas eucrenophila*: 1988 yılında Shubert ve Hegazi tarafından tanımlanmıştır(109). Çevre örneklerinde bulunan bu psikrofil tür, insanda hastalık oluşturmamaktadır. Feno ve geno türleri DNA homoloji 6'da yer almaktadır(100).
- 5- *Aeromonas jandaei*: 1991 yılında Camahan ve arkadaşları tarafından klinik örneklerden tanımlanmıştır(32). Daha önce DNA homoloji grubu 9'da yer alan geno tür olan bu yeni tür, sukroz eskülin ve sellobiyoz (-) oluşuyla ayrılmaktadır(32).
- 6- *Aeromonas trota*: 1991 yılında Camahan ve arkadaşları tarafından Güney ve Güneydoğu Asya'da dışkı örneklerinden ayrılarak tanımlanmıştır(31). Eskülin, arabinoz (-) ve ampisiline duyarlı oluşu ile ayrılmaktadır. Bu tür DNA homoloji grubu 13'te yer almaktadır(31).

Aeromonas cinsi bakteriler 0.3-1.0 μm eninde 1.0-4.4 μm boylarında, yuvarlak uçlu, Gram (-) çomakçıklardır. Tek tek ya da kısa zincirler halinde bulunabilirler. Genellikle bir kutuplu kamçı ile hareket ederler. Ancak, *A. media* hareketsizdir. Genç kültürlerde, katı besiyerlerinde bakteriyi kaplayan kamçılar oluşabilir. Fakültatif anaeropturlar, *Aeromonas* cinsi bakteriler mikrobiyolojik laboratuvarındaki rutin besiyerlerinde kolaylıkla ve bol olarak ürerler. Glikozu ve bazı karbonhidratları parçalayarak, asit ve gaz oluştururlar. Oksidaz ve katalaz (+) dir. *Aeromonas* cinsi bakterileri diğer türlerden ayıran özellikler tablo 4'de gösterilmiştir. Nitratları nitritlere indirgerler. En uygun üreme ısıları, 22-28°C arasındadır. Mezofil olanlar 10-40°C arasında üreyebilirken, psikofil olanlar ancak 37°C'nin altında üreyebilirler. Üremeleri, % 0-4 NaCl yoğunluklarında ve pH 4.5-9'dur. Müeller-Hinton agar besiyerinde, 2,4-diamino-6,7-diizopril pteridin (0/129)'nin 10 ya da 150 μg 'lık disklerine duyarlılık göstermezler. Amilaz, DNaz, esteraz, peptidaz, arilamidaz ve başka hidrolitik enzimler yaparlar. DNA'ların guanin+ sitozin içeriği % 57-63 mol.dür. Başlıca hücre yağ asitleri, heksadekanik, heksadesenik, oktadesenik asitlerdir. Ayrıca 3 hidrosimiristik asit ve nadiren 3-hidroksipentadekanik asit de buluna-

bilir(100). *Aeromonas* cinsi bakterilerin oksidaz (+) olan *Plesiomonas*, *Vibrio* ve *Pseudomonas* cinslerinden farkları tablo 4'de *Aeromonas* cinsi bakterilerin türlere göre dağılım özellikleri tablo 5'de gösterilmektedir.

Çizelge 4 : Oksidaz (+), Gram (-) çomakcıkların özellikleri(100)

| <i>Karakteristik Özellikler</i> | | <i>Aeromonas</i> | <i>Plesiomonas</i> | <i>Vibro</i> | <i>Pseudomonas</i> |
|---------------------------------|--------|------------------|--------------------|--------------|--------------------|
| 0/129 | 10 µg | - | +/- | +/- | - |
| duyarlı | 150 µg | - | + | + | - |
| Glukoz Fermentasyonu | | + | + | + | - |
| İnositolden Asid | | - | + | - | ds |
| Mannitolden Asid | | + | - | + | ds |
| Jelatin sıvılaştırma | | + | - | + | +/- |
| TCBS'de üreme | | - | - | + | - |
| Na'a gereksinim ve uyarılması | | - | - | + | - |

Açıklamalar:

- + = Kökenlerin çoğu olumlu
- = Kökenlerin çoğu olumsuz
- +/- = Değişken sonuçlar
- ds = Değerlendirilemeyen sonuçlar

Çizelge 5 : *Aeromonas* cinsi bakterilerin türlere göre dağılımı(77).

| Bakteri | Dekorboksilaz | | | | | | | | | | Fermentasyon | | | | |
|-----------------------------------|------------------|---------|---------|-------|-------|----------------|-------|---------|---------|---------|---------------|------------|--------|----------|----------|
| | B-hem.koyun kanu | Oksidaz | Hareket | DNase | İndol | Vogesproskauer | Lizin | Ornitin | Arjinin | Estülün | Glukozdan gaz | L-Arabinoz | Sukroz | Mannitol | İnositol |
| A.hydrophila grup A.hydrophila | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | - |
| A.caviae Grup A.caviae | - | + | + | + | + | - | - | - | + | + | - | + | + | + | - |
| A.media | ds | + | - | + | d | - | - | - | + | + | - | + | - | ds | ds |
| A.sobria Grup A.sobria | + | + | + | + | + | + | + | - | + | - | + | d | + | + | - |
| A.veronii | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | - | + | + | - |
| A.janddei | + | + | + | ds | + | + | + | - | + | - | + | - | - | + | - |
| A.schubertii | d | + | + | + | - | d | + | - | + | - | - | - | - | - | - |

Açıklamalar:

+= Kökenlerin % 90'nı veya daha fazlası olumlu

-= Kökenlerin % 90'nı veya daha fazlası olumsuz

d= kökenlerin % 11-% 89 olumlu

ds= değerlendirilemeyen sonuçlar

Aeromonas cinsi bakteriler çevre sularında yaygın olarak bulunabilmektedir.

Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan çalışmalar Aeromonas cinsi bakterilerin genellikle tatlı sularda, ayrıca yeraltı ve yüzeysel sularda bulunduğunu göstermektedir(62). Aeromonas sellüliti ve diğer sindirim sistemi dışı infeksiyonlar, havuzlar, göller veya diğer tatlı sularda yüzen veya bu sulara başka türlü maruz kalan insanlarda olur. Genellikle kaynaklardan (kuyulardan) dezenfekte edilmemiş tatlı su içme; Birleşik Devletlerde Aeromonasdan ileri gelen barsak infeksiyonlarının bir sebebi olmakta ve aeromonasların ılık suda artması ile bağlantılı olarak yazın ishaller hastaların dışkılarından daha sıklıkla üretilmektedir. Aeromonas türlerinin durgun ve kıyı sularından, kabuklulardan, çiftlik hayvanlarından ve marketlerdeki sebzelerden de ayrılabilirdiği, böylece bunların bazen bir infeksiyon kaynağı olarak yardımcı olabileceği bildirilmiştir(62).

Bu konu ile ilgili İsveçte yayınlanan bir kitapta Aeromonas cinsi bakterileri sebzelerden, süttten, yumurtadan, etten, taze deniz ürünlerinden ayrıldığı bildirilmektedir(3).

Avustralya'da yapılan bir çalışmada 150 ciğ sütte 1 yıl süre ile aeromonas cinsi bakteriler aranmış, Aeromonas hydrofila ve A.sobria'nın et, süt ve sebze de doğal patojen bakterileri olarak bulunabileceği belirtilmiştir(65).

Campylobacter jejuni:

Campylobacter türleri mikroaerofil ve kapnofildir. Spiral şeklinde kıvrık bakterilerdir ve kutupta bulunan bir kamçı ile hareket ederler. DNA homoloji çalışmalarında bu bakterilerin vibriolara bağlantısız oldukları gösterilinceye kadar, Vibrio türleri ile birlikte sınıflandırılmıştır. Halen tanımlanan Campylobacter türleri arasında bile genotip ve fenotip çeşitlilikleri vardır. C.jejuni, Campylobacter cinsi içinde bulunan en önemli insan patojenidir(29).

Campylobacter türlerinin büyük bir çoğunluğunun en önemli kaynağı vahşi ve evcil hayvanlardır. Bu hayvanların bağırsaklarında bu bakteri sıklıkla bulunmaktadır, ayrıca sığır, koyun ve domuz gibi hayvanlarda önemli taşıyıcıdırlar. Bunların yanısıra tavuklar, hindiler ve su kuşlarında bulunabilirler. Süpermarketlerde satılan kanatlıların % 50'si sığır ve domuz etlerinin % 5'i *Campylobacter* organizmaları ile kirlenmiş olarak bulunmuştur. Bu bakteriler ısıtılmaya karşı duyarlıdır. İnfeksiyon az pişirilmiş et tüketimi ile veya mutfak kaplarının ve yüzeylerinin bu bakteri ile bulaşmasıyla da kazanılabilmektedir. Kanatlılar çok önemli bir kaynaktır ve yapılan çeşitli çalışmalar sporadik infeksiyonların % 50 ile % 70'nin bu kaynak ile ilgili olduğunu göstermektedir. Pastörlenmemiş süt tüketimi sporadik veya epidemik vakalarla sonuçlanabilmektedir. Dezenfekte edilmiş veya usulüne uygun dezenfekte edilmemiş sular da bu infeksiyonlar için bir vasıta olabilmektedir(19).

C.jejuni ve ilişkili bakterilerin turistik sürgünlerinin, başlıca sebebi olduğu yazılmıştır(19).

C.jejuni'nin ayrılması için çeşitli besiyerleri tarif edilmiştir(77).

Çizelge 6 : *Campylobacter jejuni* için seçici besiyerleri(77).

| <i>Besiyerinin adı</i> | <i>Besiyerinin aslı</i> | <i>Katılan kimyasal maddeler</i> |
|--|---|--|
| Butzlerin seçici besiyeri | Sıvı tiyoglikolat besiyeri | % Agar % 10 koyun kanı 25.00 iü/l Basitrasin 5 mg/l Novobiocin 10.000 iü/l Kolistin 15 mg/l Sefalotin 50 mg/l Aktidion |
| Blaser besiyeri (Campy-BAP) | Burcella agar baz (Bacton Dickinson Mikrobiology Sytems, Cockeysvill, MD) | % 10 koyun kanı 10 mg/l Vankomisin 5 mg/l Trimetoprim 2500 iu/l Polymyxin B 15 mg/l Sefalotin 2 m/l Amphotericin-B |
| Preston <i>Campylobacter</i> Seçici besiyeri | Besleyici et suyu 2 Coxoid CM 67) 90 1,2 Yeni Zelanda Agarı | % 5 Saponin ile eritilmiş at kanı 10 mg/ml Trimethoprim 51 u/ml Polymxin-B 10 mg/ml Rifampin 100 mg/ml Sikholeksimid |
| Kömürlü, kanlı seçici besiyeri | Kolombiya agar bazı (GIBCO) | Aktif kömür (OXOID) 0,032 g/l Hematin 0,1 g/l Sodyum piruvat 20 mg/l Vancomycin 32 mg/l Setoperazine 100 mg/l Sikloheksimid |

Campylobacter jejuni üretimi için uygun besiyerlerine ekimler yapıldıktan sonra 42°C'de ve mikroaerofil ortamda bekletilir. Mikroaerofil ortam olarak(77);

Leuchtefeld ve arkadaşlarının bildirdiği, Hava boşaltımı tekrar doldurumu

Anaerobik bir jardan % 75 oranında hava boşaltılır ve basınçla % 10 CO₂ ve % 80 N₂ gazı doldurulur. 6 adet besiyeri içeren Petri bir jar içinde üretime bırakılır.

Hebert ve arkadaşlarının bildirdiği, hava boşaltımı ve tekrar doldurulması

Anaerobik jardan havanın % 75'i değiştirilmiş bir ısıtma metodu basınçlı ile değiştirildi. Bu işlem iki kez tekrarlandı ve 15 inch civa basıncına getirildi. Daha sonra üzerine % 10 CO₂ ve % 90 azot, atmosferik basınçla dolduruldu. Jarın yarısından biraz fazlasını petri ler doldürmüştür.

Brucella bakterileri

Brucella bakterileri memelilerin parazitleridir, insan ve hayvanlarda bruselloza sebep olurlar.

Brucella melitensis 1887'de Bruce tarafından, Brucella abortus 1897'de Bang ve Stribolt tarafından, Brucella suis ise 1914'de Traum tarafından ayrılmışlardır(130).

Katı besiyerinde 48 saatlik üretimden sonra beliren koloniler küçük, yarı saydam ve yarı kubbelidir(130). Kùltürler eskidikçe kolonin rengi kahverengimsi olur(37).

Brucella bakterileri şekerleri fermentlemezler, ancak oksitleyici metabolizma olabilir. B.melitensis H₂S yapmaz, B.abortus ve B.suis H₂S yaparlar. B.suis'in ise Danimarka kökeni H₂S yapmaz(130).

Bu bakteriler çeşitli hücrelerde endoparazitlerdir. B.abortus, melitensis ve suis'in S şekilleri insan, kobay, hamster ve tavşanlarda patojendir(130).

Çeşitli özelliklerine göre B.abortus 9, B. melitensis3, B.suis ise 4 biyotipe ayrılır(130).

Bruselloz (Dalgalı Hummo, Malta Humması)

İnsan brusellozu *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* ve *Brucella suis* ile husule gelen, şekli ve devamı bakımından çok çeşitli bir ateşle, terlemelerle, ağrılarla, dalak büyümesi ve bazen karaciğer büyümesi ile kendini gösteren bir zoonozdur(130).

Etken, insan vücuduna deriden ve sindirim yolundan girer, fakat giriş kapısı solunum yolu ve göz konjunktiv de olabilir(130).

İnsandan insana bruselloz bulaşması nadirdir. Bruselloz şehirlerden çok köy ve kırlık yerlerin hastalığıdır. Bruselloza mezbaha işçilerinde, hayvan kesicilerde etle çalışan işçilerde ve veterinerlerde daha çok raslanır. Bu bakterilerle laboratuvar infeksiyonları da görülebilmektedir(130). Bruselloz erişkinlerde daha sık görülür. İnfeksiyonu atlatanlarda ikinci bir infeksiyon görülebilir. Hücre aracılığı ile olan bağışıklık önemlidir(40).

Staphylococcus aureus:

0,8-1 μ m büyüklüğünde, genellikle çapları 1 μ m'den ufak koklardır, kümeler yapabildikleri gibi irinde veya sıvı besiyerinde diplokoklar, 2-3 koklu kısa zincirler de yapabilirler, Gram (+) tirlirler, fakat fagositlerde yutulmuş veya ölü stafilokoklarda Gram (-) de olabilirler(130).

Stafilokoklar bugünkü klasik sıralamalarında çeşitli özelliklerine göre yirmiiki türe ayrılmışlardır. Micrococcaceae ailesi içerisinde tıp bakımından önemli olan tek cinstir(115).

S.aureus, koagülaz oluşturan tek türdür ve bu özellik *Staphylococcus aureus*'u belirleyen başlıca özelliktir(76).

Tüm *S.aureus* kökenleri koagülaz enzimi oluştururlar. Stafilokoagülaz, insan, tavşan ve at plazmalarında bulunan koagülaz-reakting-faktör'ü aktive eden, hücre dışı bir enzimdir. Stafilotrombin de denen bu kompleks klinik olarak trombinden ayırt edilemez ve fibrinojeni fibrine dönüştürerek plazmayı pıhtılaştırır(50,72,75,132).

Staphylococcus aureus ile diğer stafilokok türlerinin birbirinden ayırımı için çeşitli testlerden yararlanılmaktadır.

Sığırlarda mastit etkeni olan stafilokoklar (genellikle 42D faj tipi) besin zehirlenmesi yapabilmektedir.. Bunlar sığır sütünde yüksek sayılara ulaşabilmektedir .Böyle sütler çiğ içildiğinde yahut peynir yapıldığında gıda zehirlenmesi yaparlar(114) ve önceden enteretoksin oluşursa pastörlenmeye rağmen zehirlenme ortaya çıkabilir(51).

Bacillus cereus ve *Staphylococcus aureus* besin zehirlenmelerinde kuluçka dönemi en kısa olan mikroorganizmalardır. Ağız yoluyla alındıktan birkaç saat sonra hastalık meydana gelebilmektedir(74). *S.aureus*'dan ileri gelen besin zehirlenmelerinde kuluçka süresi 1-6 saattir.

Çeşitli stafilokok kökenlerinden antijen özelliği gösteren farklı yedi hücre dışı koagülaz enzimi tesbit edilmiştir. Fakat bu enzimin gösterdiği tek patojen rol fagositozu engellemek için organizmayı fibrin ile örtmektir. Böylece normal serumun bakterilere karşı koyucu etkinliği önlenmektedir. Koagülaz varlığı, bir stafilokok kökeninin patojenliği hakkında kesin bulgu olmasına rağmen, koagülazın olmayışı patojenliğin olmadığını göstermez. Çünkü, koagülazı olmayan kökenlerin de suşların infeksiyonlara sebep olduğu bilinmektedir(50,72,75,132).

S.aureus hücre dışına salınan stafilokagülaz enziminden başka, kümeleyici faktör denen, ortama salınmayan, hücre yüzeyinde yer alan bir proteine sahiptir. Bu plazmadaki fibrinojeni direkt olarak fibrine dönüştürebilir. Stafilokagülaz yapımıyla, kümeleyici faktör oluşturma arasında sıkı bir bağlantı vardır(2).

Lam testi kümeleyici faktörü tesbit eden bir tarama işlemidir. Çabuk sonuç verir ve tüp testinden daha ekonomiktir. Bu test ile yalancı pozitiflik seyrek görülmesine rağmen, % 10-15 oranında yalancı negatif sonuç alınabilir. Bundan dolayı, negatif sonuç veren tüm lam testlerine, daha kesin sonuç veren tüp testi uygulanmalıdır(130).

Lam testi için farklı plazmalar kullanılabilir. Tavşan plazması kolay elde edildiğinden dolayı en uygun plazmadır. Bazı koagülaz (-) kökenler proteazları çok miktarda ürettiği için protrombini trombine dönüştürerek plazmayı pıhtılaştırabilir ve pseudokoagülaz oluşturabilir. Bu sebeple koagülaz testinde heparin ve hirüdin gibi proteaz inhibitörleri kullanılarak yalancı koagülaz önlenir(132).

Bazı koagülaz (+) kökenler de pseudokoagülaz oluşturabilir. Etilediamintetraasetad (EDTA) içeren plazma, sitratlı plazmadan daha uygundur. Çünkü, *Enteroccus feacalis*, *Pseudomonas* ve *Serratia* cinsleri sitratı kullanarak sitratlı plazmayı pıhtılaştırabilir. Fakat EDTA üzerinde etkili olamazlar ve yalancı pozitif reaksiyonlar önlenir(63).

Patojen stafilokoklar tarafından üretilen ve tüm *S.aureus* kökenlerinin hücre duvarında bulunan yapı protein A'dır. *Staphylococcus aureus*'un bir hücre duvarı proteinine sahip olduğu 1940 yılında Verwel tarafından açıklanmıştır. Daha sonra Jensen buna protein A demiştir(50). Protein A IgG molekülünün Fc kısmı ile reaksiyona girerek bir pseudoimmun reaksiyon oluşturur(48). Protein A'nın varlığı ile koagülaz aktivitesi arasında sıkı bir ilişki vardır. Antifagosit özelliklerinden dolayı bakteri virulansını arttırır(48,72).

Bazı *S.aureus* kökenlerinde protein A hücre duvarına bağlanmaz ve tümü hücre dışına salgılanır. Bu durum özellikle metisilline dirençli kökenlerde görülür. Streptomisin, chloramphenicol gibi antibiyotikler protein A'nın sentezini engeller(92).

Staphylococcus aureus, genellikle insan derisinde, burun ve diğer müközalarda ve çeşitli yiyeceklerde bulunur. Sağlıklı kişilerde S.aureus taşıyıcılık oranı % 10-40 arasındadır(4).

Staphylococcus aureus'un sebep olduğu önemli infeksiyonlardan bazıları; fronkül, karbunkul, impetigo, toksik epidermal nekroz, pnömoni, osteomyelit, meninjit, enterotoksin ile olan gıda zehirlenmesi, enterokolit, ameliyat sonrası ve yara infeksiyonları, ürogenital infeksiyonlar ve toksik şok sendromudur(11).

S.aureus enterotoksiniyle gastroenterite sebep olan bakterilerdendir. Sulu bir ishal görülür(10).



Listeria Bakterileri:

Listeria monocytogenes 1926'da Murray, Webb, Swann tarafından tavşanlardaki monositoz hastalığının etkeni olarak bildirilmiştir. Klasik kitaplarda 1929 yılında Danimarkalı Nyfield tarafından da bu bakterinin insanlarda hastalık yaptığı yayınlanmıştır(9,130).

Listeria cinsindeki bakteriler 0.4-0.5 μm çapında ve 0.5-2 μ uzunluğunda, sporsuz, kapsülsüz, oda sıcaklığındaki kültürlerde hareketli, Gram (+) çomakçıklardır. Üremeleri için en uygun sıcaklık 30-37°'dir(130). Ayrıca 2-42°C arasında üreyebilirler(130). pH ortalama 7.4-7.8 ise de pH 9.6'ya kadar varan kalemilikte bile ürerler. Ancak ortamın asitliği 5 ve daha altına düşerse 2-3 günde ölürlere(130,131).

Bunlar oksijene ilgisine göre aeropluktan, fakültatif anaeropluga kadar değişik bir durum gösterirler(107).

Özel besiyerlerinde (*Listeria* agar'da) 0.2-0.4 mm çapında, ufak, sarı, saydam, üstten basık ve düzgün kenarlı koloniler yaparlar. Bu koloniler saydam besiyerinde, yandan verilen ışıpta mikroskopta incelenirse mavimsi yeşil renkte görünürler(130).

Listeria bakterileri; Katalaz (+), oksidaz (-), metil kırmızısı ve Voges-Proskauer reaksiyonları (+) dir. İndol ve H₂S oluşturmazlar, sitratı yararlanmazlar, nitratı nitrite indirgemezler (*L.murrayi* hariç). Jelatini eritmez, nişasta ve üreyi hidrolize etmez; fakat eskülin ve hippuratu hidrolizler(111).

Listeria kökenleri, antibiyotiklerin bir çoğuna duyarlıdır. *Listeria* bakterileri in vitro deneylerde, ampicillin, neomycin, novobiocin, carbenicillin, cephaloridine, chloramphenicol, erythromycin, ticarcilin, azlocillin, daha az olmak üzere chlortetracycline, oxytetracycline, tetracycline, gentamycin, kanamisin, nitrofurantoin, penisillin G ve streptomysin'e, trimetoprim-sülfametoksazol'e duyarlıdır. Ampisilin-sulbaktam ikilisi ampisil-

lin'e dirençli kökenlerde bile in vitro etkili bulunmuştur. Buna karşılık kolistin sülfat, nalidiksik asit, polymiksin B ve sulfonamidlere dirençlidir(36,94,126).

Listeria bakterileri +4 derecede üreyebilmekte ve 3-4 sene bu ısıda canlı kalabilmektedir(38,45,54,120,123).

İnsanda *L.monocytogenes* ile oluşan infeksiyonlar gebelerde, yenidoğanlarda ve bağışıklık sistemi herhangi bir sebeple baskılanmış erişkinlerde daha sık olarak görülmektedir(5,71,106).

L.monocytogenes, *brucella*, *salmonella* ve mikobakteriler gibi zorunlu olmayan bir hücre içi parazitidir. Makrofajların içine yerleşip çoğalabilirler. *L.monocytogenes*'e karşı dirençte timusa bağımlı T limfosit aktivitesi ve makrofajlar önemli rol oynamaktadır(73,106,130).

Listeria cinsi, Bergeys Manual of Systematic Bakteriology'de (1986) 5'tür olarak gösterilmiştir. Bu beş tür, *L.monocytogenes*, *L.innocua*, *L.ivanovii*, *L.seeligeri*, *L.welshimeri*'dir. Genomları bakımından bu 5 tür ayrı olmasına rağmen ileri derecede fenotipik benzerlikler göstermektedir(111).

Bu 5 türden başka Bergeys'in Manual'inde *Listeria* cinsi içinde kalan 3 tür daha vardır. Bunlar *L.denitrificans*, *L.grayi* ve *Listeria murrayi*'dir. *L.grayi* ve *listeria murrayi* *Listeria* cinsi içinde bırakılmıştır. 1987'de *L.denitrifans*, *Jonesia* adında ayrı bir tür olarak gösterilmiştir(73).

Serolojide *L.denitrificans*, *L.grayi*, *L.murayi* *Listeria* cinsi üyelerinden farklıdır(111).

Listeria cinsi içinde *L.monocytogenes*, *L.ivanovii* ve *listeria seeligeri* hemoliz yapmalarına rağmen yalnızca *listeria monocytogenes* ve *listeria ivanovii* patojendir. Hemoliz olayı farklı *Listeria* türleri arasındaki ayrımı ortaya çıkarmak için genellikle kullanılmaktadır(17,41,133).

Listeria bakterilerinin değişik ısı işlemleri karşısında nasıl etkilendikleri konusunda çok sayıda araştırmacı tarafından farklı sonuçlar bildirilmiştir(22,26,38).

Araştırmacıların bir kısmı *Listeria* bakterilerini yok etme işlemi için pastörlenmeyi güvenilebilir bir yöntem olarak görürken(22,26,38), diğer bir kısmı da bu bakterilerin pastörleme sıcaklığına dayanıklılık gösterdiklerini bildirmişlerdir(45,71).

Lovlet 1988'de süt ürünlerinden *L.monocytogenes*'in ayırıldıması için akrifilavin, nalidiksik asit ve sikloheksimid içeren zenginleştirilmiş buyyonu ve değiştirilmiş McBride agarını kullanmıştır(82).

Çizelge 7 : *Listeria* türlerine ait serovarlara dağılımı(119)

| Serovarlara | <i>L.monocytogenes</i> | <i>L.seeligeri</i> | <i>L.welshimeri</i> | <i>L.inocua</i> | <i>L.ivanovi</i> |
|---------------|------------------------|--------------------|---------------------|-----------------|------------------|
| 1/2 a,b,c | +++ | +++ | + | | |
| 3 a,b,c | ++ | ++ | | | |
| 4a,ab,b,c,d,e | +++ | + | + | + | |
| 6a,b,A.S | | ++ | ++ | +++ | |
| 5 | | | | | +++ |

+: 1 ile 10 köken

++: 11 ile 50 köken

+++ : 50'den daha fazla köken

A.S: Anlaşılmayan serovarlara

Çizelge 8 : Çeşitli *Listeria türlerinin bazı ayırtedici özellikleri*^{a,b}(111).

| | <i>L.monocytogenes</i> | <i>L.innocua</i> | <i>L.seeligeri</i> | <i>L.welshimeri</i> | <i>L.hramonii</i> | <i>L.grovi</i> | <i>L.marroyi</i> | <i>L.denticulatus</i> |
|---|------------------------|------------------|--------------------|---------------------|-------------------|----------------|------------------|-----------------------|
| Düzensiz boyama | - | - | - | - | - | - | - | + |
| β -hemoliz | +c | - | + | - | +d | - | - | - |
| <i>St.aureus</i> ile yapılan CAMP testi | +c | - | + | - | - | - | - | - |
| <i>Rho.equi</i> ile yapılan CAMP testi | - | - | - | - | + | - | - | - |
| ASID oluşumu | | | | | | | | |
| <i>L.Arabinoz</i> | - | - | - | - | - | - | - | + |
| <i>Dekstrin</i> | (d) | - | - | - | (d) | + | + | + |
| <i>Galaktos</i> | (d) | - | - | - | (d) | + | + | + |
| <i>Glikogen</i> | - | - | - | - | - | - | - | + |
| <i>Laktose</i> | (d) | + | - | - | + | + | + | + |
| <i>D.L.İksoz</i> | - | - | - | - | - | + | + | - |
| <i>Mannitol</i> | - | - | - | - | - | + | + | - |
| <i>Melezitoz</i> | (d) | (d) | - | - | (d) | - | - | - |
| <i>Melibitoz</i> | - | - | - | - | - | - | - | + |
| α -Mezil-D-Glukosid | + | + | - | - | + | + | + | - |
| α Mezil-D.Mannoizid | + | + | -f | + | - | - | (d) | - |
| <i>L.Ramnoz</i> | + | (d) | - | (d) | - | - | - | - |
| <i>Sorbitol</i> | (d) | - | - | - | - | - | - | - |
| Eriyebilir nişasta | - | - | - | - | - | + | + | + |
| <i>Sukroz</i> | - | (d) | - | - | (d) | - | - | + |
| <i>D-Ksiloz</i> | - | - | + | + | + | - | - | + |
| <i>Voges-Proskauer</i> | + | + | + | + | + | + | + | - |
| <i>Hidroliiz</i> | | | | | | | | |
| <i>Selluloz</i> | - | - | - | - | - | - | - | + |
| <i>Hippurat</i> | + | + | - | - | + | - | - | - |
| <i>Nişasta</i> | (d) | (d) | - | - | + | - | - | - |
| <i>Fosfataz</i> | + | + | - | - | - | - | - | - |
| <i>Nitrat redüksiyonu</i> | - | - | - | - | - | - | + | + |
| <i>Fareler için patojenik</i> | + | - | - | - | + | - | - | +? |

Açıklamalar: a: Chatelain ve Second, 1966; Coiling ve ark., 1983; Friedler ve Seger, 1983; Rocourt ve Grimont, Seeliger, 1981; Seeliger ve Welshimer, 1974; Stuart ve Welshimer, 1973, 1974; Welshimer ve Meredith, 1971; Wetzler ve ark., 1968; Wilkonson ve Jones, 1977 tarafından elde edilen istatistik sonuçları.

(d): Kökenlerin % 11.89'u pozitif, c: *L.monocytogenes*'in bütün kökenleri β -hemoliz oluşturmaz; *L.vanovii* kökenleri tarafından oluşturulan geniş β -hemoliz zonu; e: incelenen 30 kökenden, bir köken pozitif sonuç vermedi; f: incelenen 10 kökenden bir köken pozitif sonuç verdi (Rocourt ve Grimont, 1983).

Bannerman ve Bille akriflavin ve seftozidim eklenerek hazırlanan besiyerinin, McBride agarı ile karşılaştırmasını yapmışlar, süt ve süt ürünlerinde bu yeni besiyerinin daha çabuk sonuç verdiğini göstermişlerdir(13).

Listeriyozun anneden çocuğa bulaşması dışında genellikle bulaşma, sindirim yolundan besinlerle olmaktadır. Bakteri sindirim sistemi ve vaginada yerleşmektedir(85).

Potel (1954) adlı bir araştırmacı a tipi mastitisli bir ineğin sütünden *Listeria monocytogenesis*'i ayırmış ve bu ineğin sütünü ien bir gebe kadında vakitsiz ikiz bebek ölümü meydana gelmiştir. Annenin içtiği çiğ süt ile bu ineğin sütünden elde ettiği *Listeria monocytogenes*'in aynı serotipte olduğunu grmştir. Bu vak'a *Listeria* infeksiyonunun sütle geçtiğini gösteren kesin bir delil olmuştur(56,110).

Mycobacterium cinsi:

19. yüzyıla kadar tüberkülozun sebebi bilinmiyordu. 4 Aralık 1865'te Willemin, tüberkülozun bulaşıcı hastalık olduğunu bildirmiş ve 1868'de tavşanlara bulaştırmıştır. 1882'de Robert Koch etkeni ortaya çıkarmış, 1884'te kültürünü yapıp, bu kültür bakterileri ile deney hayvanlarında tüberküloz oluşturabileceğini göstermiştir. R.Koch 1890'da basil ekstresi, yani tüberkülini hazırlayıp, tüberkülozlularda geç aşırı duyarlılığı, bağışıklığı ve kendi adıyla anılan olayı açıklamıştır(42,105,112,130).

Calmette ve Guerin'in 1900-1921, yılları arasındaki çalışmalarında BCG aşısını bulmaları koruyucu hekimlik açısından çok önemli bir keşif olmuştur(131).

Bu bakteriler 1.10/0,2-0,6 μm büyüklüğünde çomakçıklardır, bazen farklı biçimde görülebilirler. Hareketsiz ve sporsuzdurlar. Aerop bakterilerdir ve optimal 37°C'de ürerler. Üremeleri için değişik besiyerleri kullanılır. Katı besiyeri olarak en çok karışık organik bir besiyeri olan Löwenstein-Jensen besiyerinde ürerler. Besiyerinde tüberküloz mikroplarının kolonilerinin gözle görülebilir bir hale gelebilmesi için 37°C'de 2-3 hafta bekletilmesi gereklidir. Üremenin hızı, besiyerine ve ekilen mikrobun miktarına bağlıdır(76,97,130).

Tüberküloz mikropları Ehrlich-Ziehl-Neelsen yöntemi veya benzerleriyle boyanırsa kırmızı renkte görünürler. Mycobacterium türleri asitli alkole dirençlidirler ve Gram (+) olurlar. Hücre duvarının % 60 kadarcığını lipidler oluşturmaktadır. Aside dirençlilik "lipid engeli ilkesi" ile açıklanmaktadır(130).

Mide özsuyu tüberküloz mikropları üzerine zararlıdır. Tüberküloz mikrobu alkolün etkisine hassastır(130).

Verem mikrobu sütte 60°C'de 15-20 dakika ölür, damlacık çekirdeğinde 8-10 gün canlı kalır(97).

Sığır tipi tüberküloz bakterileri geçmiş yıllarda başlıca sütle bulaşmaktaydı, inek sütünün temiz ve güvenilir hale getirilmesi Avrupa ve diğer ülkelerde çok geç bir dönemde elde edilen bir başarı olmuştur. Sütün pastörlenmesi bu problemi büyük ölçüde halletmiştir. Bununla beraber gelişmiş ülkelerde hastalısız sığırların yetiştirilmesi çok daha köklü bir çözüm geliştirmiştir. 1960'lı yıllardan beri Batı ülkelerinde tüberkülozsuz hayvanlar yetiştirilmektedir(67).



GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇLER

Bu araştırma Ocak 1994 - Mayıs 1994 tarihleri arasında ve farklı firma tarafından değişik zamanlarda üretilen ve İstanbul'un çeşitli semtlerinde tüketime sunulan 70 pastörlenmiş süt örneği kullanılarak Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılmıştır.

Pastörlenmiş süt örnekleri market ve bakkallardan satın alınarak en kısa sürede laboratuvara getirilmiş ve birkaç saat içinde deneylere alınmıştır. Bu sütlerin firmalara göre dağılımı Çizelge 9'da gösterilmiştir.

Çizelge 9 : İncelediğimiz sütlerin firmalara göre dağılımı

| <i>Üretici kuruluş</i> | <i>Ürün ambalajı</i> | <i>Örnek Sayısı</i> |
|------------------------|----------------------|---------------------|
| A firması | Şişe süt, | 24 |
| B firması | Şişe süt, kutu süt | 23 |
| C firması | Şişe süt, kutu süt | 23 |

Araştırmamızda pastörlemenin kontrolü için fosfataz testi uygulanmış, pastörlenmiş sütlerin 1 ml'de bulunan toplam bakteri sayısı ile, koliform bakteri sayısı belirlenmiş ve çeşitli patojen bakteriler aranmıştır.

Bakterilerin üretilmesi ve tanımı için aşağıda bildirilen besiyerleri ve ayıraçlar kullanılmıştır.

A. ÜRETİM BESİYERLERİ

- 1- Ana balıklı buyyon
- 2- Değiştirilmiş maya özlü sütlü agar besiyeri
- 3- Balıklı Teepol'lu laktozlu besiyerleri
- 4- Agar besiyeri
- 5- Kanlı agar besiyeri
- 6- Çukulatamsı agar besiyeri
- 7- GN (Gram Negatif) buyyon
- 8- Endo besiyeri
- 9- MacConkey agarı
- 10- Salmonella Shigella (SS) agar
- 11- CIN agar
- 12- Campylobacter besiyeri
- 13- Listeria sıvı çoğaltıcı - seçici besiyeri: Değiştirilmiş talyum asetat - Seftazidimli Besiyeri
- 14- Listeri katı seçerek - ayırtıcı besiyeri: Değiştirilmiş Trypaflovin - Nalidik - Asitli Besiyeri
- 15- Maya özlü eğri çukulatamsı agar.
- 16- Brucella çoğaltıcı sıvı besiyeri
- 17- Brucella seçici - ayırtıcı katı besiyeri
- 18- Löwenstein - Jensen besiyeri

B- TANIM BESİYERLERİ

- 1- C (Cerrahpaşa) besiyeri
- 2- D (Dektroz) besiyeri
- 3- Karbonhidratlı besiyerleri
 - a) Glikozlu besiyeri
 - b) Diğer karbonhidratlı besiyerleri
 - c) D-Ksiloz ve L-Ramnoz besiyeri
- 4- Değiştirilmiş Klark-Lups besiyeri
- 5- Nitratlı buyyon

- 6- Simmons agarı
- 7- Fenil alanin desominaz deneyi için besiyeri
- 8- Dekarboksilaz buyyonu
- 9- Kristenson besiyeri
- 10- Eskülinli besiyeri

C. AYIRAÇLAR

- 1- Fosfotaz ayracı
- 2- İndol ayracı
- 3- H₂S ayracı
- 4- Katalaz ayracı
- 5- Oksidaz ayracı
- 5- Oksidaz ayracı
- 6- Nitrat ayracı
- 7- Voges-Prauskauber ayracı (Koblentz ayracı)
- 8- Metil kırmızısı

D- ÜRETİM BESİYERLERİ

1- Anabalıklı buyyon (130).

Bu besiyeri balığın bütün vücudunu kendi enzimlerine hazmettirerek hazırlanır.

Hamsi, istavrit, Sardalya, uskumru, palamut... gibi balıklar kullanılabilirse de deneylerimizde istavritden hazırladığımız anabalıklı buyyon kullanıldı. Bunların yağsız ve en tazeleri tercih edildi. Balıklar suda iyice yıkandı ve iç organları atılmaksızın kıyma makinasından çekildi. Balık kıyması tartıldı bir balona veya uygun bir kaba kondu. Ağırlığının iki katı % 0.6 sodyum karbonatlı su ilave edildi, karıştırıldı ve içine % 7.5 olacak kadar kloroform katıldı ve 37°C'de 48 saat, arada sırada karıştırılarak hazma uğratıldı.

Bu metodla elde edilen sıvı önce bez torbalardan sonra süzgeç kağıdından süzüldü. HCl ile pH'sı 7.5-7.6'ya ayarlandı. Buğu kazanında 100°C'de bir saat ısıtılarak steril edildi. Tekrar süzgeç kağıdından süzüldü

ve 100°C'de 1 saat veya otoklavda 115°C'de 15 dakika ısıtılarak steril edildi. Serin ve karanlık bir yerde saklandı. Elde edilen bu besiyeri (1/2 balıklı besiyeri) ana balıklı besiyeridir. % 0.5 NaCl'li su ile 5 katı sulandırılarak 1/10 balıklı buyyon, 10 katı sulandırılarak % 1 peptonlu su yerine kullanıldı. Ayrıca diğer bazı besiyerlerini hazırlamak üzere temel bir besiyeri olarak da anabalık besiyerinden faydalanıldı.

| | | | |
|------|--|------|----|
| 1-a) | 1/3 sulandırılmış balıklı buyyon: | | |
| | % 0.3 Fizyolojik tuzlu su | | |
| 1-b) | 1/5 sulandırılmış balıklı buyyon: | | |
| | 1/2 Ana balıklı buyyon..... | 20 | ml |
| | % 0.5 Fizyolojik tuzlu su..... | 80 | ml |
| 1-c) | 1/10 slandırılmış balıklı buyyon: | | |
| | 1/2 Ana balıklı buyyon..... | 10 | ml |
| | % 0,5 Fizyolojik tuzlu su..... | 90 | ml |
| 1-d) | 1/20 Sulandırılmış balıklı buyyon: | | |
| | 1/2 Ana balıklı buyyon..... | 5 | ml |
| | % 0,5 Fizyolojik tuzlu su..... | 95 | ml |
| 1-e) | Tuz içermeyen balıklı buyyon: | | |
| | 1/2 Ana balıklı buyyon..... | 10 | ml |
| | Damıtık su | 90 | ml |
| 1-f) | % 0,6 NaCl'li balıklı buyyon: | | |
| | 1/10 Balıklı buyyon..... | 100 | ml |
| | NaCl..... | 6 | g |
| 2- | Değiştirilmiş maya özlü sütlü agar agar besiyeri(130). | | |
| | Balıklı agar besiyeri..... | 1000 | ml |
| | Süt | 10 | ml |
| | Maya özü..... | 3 | g |
| | pH:7 | | |

1000 ml eritilmiş agara 10 ml süt karıştırarak ve buğu kazanında 100°C'de 1/2 saat ısıtıldıktan sonra 2 g maya özü (veya 100 ml mayadan laboratuarda elde edilen öz) katılarak hazırlandı. pH 7'ye getirilip sterillendirildi. Tüplere 10 (veya 15) ml olarak dağıtıldı. 100°C'de de 1/2 saat ısıtılarak.

3- Balıklı Teepol'lu laktozlu pastörlenmiş sütteki besiyerleri(130)

| | | |
|------------------------------------|---|----|
| Laktoz..... | 5 | g |
| Teepol (ticaretteki sıvıdan)..... | 5 | ml |
| Brom timol mavisi (% 0,4) (pH 7,4) | | |

Yapım: 1/10 balıklı besiyerine teepol ve bromtimol mavisi eklendi. Buğuda 100°C'de 1 saat ısıtılır; içine laktoz katılır ve Durham tüplü tüplere 10 ml olarak dağıtılır. buğuda 100°C'de 30 dakika ısıtılır.

Bu besiyeri pastörlenmiş sütteki koliform bakteri, *Escherichia coli*'yi ve asit, gaz ve indol teşkilini ortaya çıkarmak için kullanılır.

| | | |
|--|------|----|
| 1/10 sulandırılmış balıklı buyyon..... | 1000 | ml |
|--|------|----|

4- Agar besiyeri(130)

| | | |
|---------------------------------------|------|----|
| 1/5 Sulandırılmış balıklı buyyon..... | 1000 | ml |
| Agar agar..... | 20 | g |

Toz veya küçük parçalar halinde agar agar sıcak balık buyyonu içine katılıp eritildi. pH'sı 7.2-7.4'e ayarlanır. Agarın saydam olmasını sağlamak amacı ile sıcaklık 60°C'ye getirilince içine 50 ml suya karıştırılmış bir yumurta akı eklendi. Otoklavda 120°C'de 15 dakika ısıtıldı. Sıcakken süzgeç kağıdından süzülür ve tüplere 5'er ml olarak dağıtıldı. Bu besiyeri bazı bakterilerin saf kültürlerini elde etmek, kökenleri saklamak ve Gram (-) çomakcıkların tanımında kullanıldı.

5- Kanlı agar besiyeri(130).

| | | |
|--|------|----|
| 1/20 sulandırılmış balıklı buyyon..... | 1000 | ml |
| Agar agar..... | 20 | ml |
| Defibrine koyun kanı..... | 20 | ml |
| pH 7.2-7.4 | | |

Agar agar 1/20 balıklı buyyonda ısıtılarak eritildi. pH 7.4'e ayarlandı. Otoklavda 120°C'de 20 dakika steril edildi. 40-45°C'ye soğudunda içine 20 ml koyun kanı ilave edildi ve Petri kutularına döküldü. Bu besiyerinde bakterilerin hemolizleri incelendi ve cAMP deneyi yapıldı.

6- Çukulatamsı agar besiyeri(130).

| | | |
|---------------------------|----|----|
| Agar besiyeri | 15 | ml |
| Defibrine koyun kanı..... | 1 | ml |

pH 7.4'e ayarlanarak

İçinde 15 ml agar besiyeri bulunan tüpler kaynar suda daldırılarak eritir. İçlerine 1 ml defibrine koyun kanı konur. Kaynar suda 1 dakika daha tutulur. Petri kutusuna dökülerek veya tüplere dağıtılıp eğri olarak katılaştırıldıktan sonra kullanıldı.

Eğri çukulatamsı besiyeri; Listeria bakterilerinin saf kültürünün elde edilmesinde ve kökenleri saklamak için kullanıldı. Petri çukulatamsı besiyeri ise; çalışılan süt örneklerindeki bütün bakterilerin genel üretiminde kullanıldı.

7- GN (Gram negatif) buyyonu(130).

| | | |
|--|------|----|
| 1/10 sulandırılmış balıklı buyyon..... | 1000 | ml |
| Glikoz | 1 | g |
| D-mannitol | 2 | g |
| Sodyum sitrat | 5 | g |
| Sodyum dezoksi kolat..... | 0.5 | g |

Suda veya 1/10 balıklı buyyonda katı maddeler eritildi. pH 7.2'ye ayarlandı. Steril tüplere 8-10 ml miktarında dağıtıldı ve buğu kazasında 1000°C'de 1/2 saat sterillendirildi. Salmonella ve Shigella türleri, Proteus ve Pseudomonas kökenlerini üretmek için kullanıldı.

8- Endo besiyeri(130).

| | | |
|--|------|----|
| 1/5 sulandırılmış balıklı buyyon..... | 1000 | ml |
| Bazik fuksin (alkoldeki doymuş er.)..... | 5 | ml |
| Sodyum sülfid (sudaki % 10 eriyiği)..... | 25 | ml |
| Laktoz..... | 10 | g |
| Agar agar..... | 30 | g |

pH: 7.2

Sulandırılmış buyyonun içine agar agar koyulur ısıtılarak eritilir ve diğer maddeler eklendi. karıştırılarak eritildi. Tüplere 15 ml olarak

dağıtıldı. 100°C'de 20 dakika sterilize edildi. Kullanılacağı zaman kaynar suya daldırılarak eritildi. 45°C'ye kadar soğuduktan sonra petri kutularına döküldü. Katılaştırdıktan sonra kullanıldı. Bu besiyeri Salmonella, Shigella ve enterobacteriaceae ailesinde bulunan bakterilerin ayırımı ve tanımında kullanıldı. Escherichia gibi laktozu parçalayan bakteriler kırmızı madenimsi parlak koloniler yaptığı halde laktozu parçalamayanlar besiyerinin rengini kızartmazlar.

9- McConkey agarı(130).

| | | |
|--|-----|----|
| Pepton | 20 | g |
| Safra tuzları (Sodyum torakolat)..... | 5 | g |
| Su | 1 | l |
| Agar | 20 | g |
| Nötral kırmızı (% 50 etanolde % 2) | 3,5 | ml |
| Laktoz (% 10 eriyik)..... | 100 | ml |

Pepton ve safra tuzları suda ısıtılarak eritir, içine agar konur ve 100°C'de 1/2 saat ısıtıldı; pH 7.5'e ayarlandı. İçine laktoz ve nötral kırmızı katılır ve iyice çalkalanır ve eritildi; 100°C'de 1/2 saat ısıtıldı ve 45-50°C'ye soğuyunca Petri kutularına döküldü. Gram (-) bakterilerini ayırmak için kullanıldı.

10- Salmonella Shigella agarı(130).

| | | |
|----------------------------------|-------|----|
| Laktoz..... | 10 | g |
| Safra tuzları..... | 8.5 | g |
| Sodyum sitrat | 8.5 | g |
| Sodyum tiyosulfat..... | 8.5 | g |
| Ferrik sitrat..... | 1,0 | g |
| Agar agar..... | 13,5 | g |
| Nötral kırmızı | 0,025 | g |
| Parlak yeşil (% 0,1 eriyik)..... | 0,33 | ml |
| Balıkli buyyon | 1000 | ml |

pH 7.0

Yukardaki maddeler karıştırılır kaynatılarak eritilir. Otoklavda ısıtılamaz petri kutularına dökülür. Salmonella ve Shigella bakterilerini

ayırmak için kullanıldı.

28.75 g, 500 ml soğuk distile suda CIN agar eritildi. 50°C'ye soğuyunca, CIN agar ana maddeye, 5 ml steril soğuk distile suda eritilmiş Novobiocin içeren liyofillenmiş selektif suplement ilave edildi ve Petrilere döküldü. Bu besiyeri *Yersinia enterocolitica*'yı besinlerden, klinik ve çevre örneklerinden ayırt etmek, sayıca arttırmak için kullanıldı.

12- *Campylobacter jejuni* besiyeri(130).

a) Sıvı besiyeri

Sulandırılmış balıklı buyyon 500 ml

Maya özü 2,5 g

pH: 7.2+0.1

Otoklavda 120°C'de 15 dakika steril edilir. 50°C'ye soğuyunca; Butzler'in seçici antimikrobik supplementi, *campylobacter* üretim supplementi ve birgün önceden derin dondurucuya konulup çözünmüş ve oda sıcaklığına gelmiş 30 ml koyun kanı ilave edildi.

Butzler'in seçici antimikrobik supplementi:

Basitrasin 190 mg + 5 ml Distile suda eritilip hepsi;

Sikloheksimid 5 mg+5 ml Distile suda eritilip hepsi;

Kolistin 5 mg + 10 ml Distile suda eritilip 0,5 ml'si;

Sephazolin 100 mg+8 ml Distile suda eritilip, insülin enjektörü ile 0,1 ml çekilip, distile su ile 0,2 ml'ye tamamlanır ve 0,2 ml'si katıldı.

Campylobacter üretim supplementi:

Sodyum piruvat 125 mg

Sodyum metabisülfid 125 mg

Ferro sülfat 125 mg

Ferro sülfat 7H₂O 125 mg

Üretim supplementi otoklavdan çıkmış 50°C'ye soğumuş besiyerine distile suda eritilmeden direkt olarak konuldu.

a) Katı besiyeri:

Ana Balıklı *Campylobacter* besiyerine, 5 g agar ilave edilir ve sıvı besiyerindeki gibi hazırlandı. Bu besiyerleri *campylobacter jejuni*yi besinlerden klinik ve çevre örneklerinden ayırd etmek amacı ile kullanıldı.

b) *Listeria* sıvı çoğaltıcı seçici besiyeri(118):

1/20 oranında sulandırılan ana balıklı buyyon ve % 0,5 fizyolojik tuzlu su ile hazırlanan besiyeri:

| | | |
|---------------------------------------|------|------|
| 1/20 sulandırılmış balık buyyon | 1000 | ml |
| Maya özü | 5 | g |
| Talyum asetat..... | 2 | g |
| Seftazidim..... | 50 | mg/l |
| Sikloheksimid..... | 100 | mg/l |

1/20 sulandırılmış 100 ml miktarındaki balıklı buyyona 5 g maya özü ve 2 g T.asetat ilavesiyle hazırlanan besiyerinin pH'sı 8.85'a ayarlandıktan sonra 120°C'de 20 dakika otoklanarak sterilize edildi. Besiyeri 60°C'ye kadar soğutulduktan sonra ceftazidime ve cycloheximide ilave edilip karıştırıldı. Soğuduktan sonra steril şartlarda deney tüplerine 10'ar ml olarak dağıtıldı.

Seftazidim'in Hazırlanması (50 mg/l)

100 mg ceftazidime + 0,5 ml distile su karıştırılır. Eğer 1000 ml'lik sıvı besiyeri hazırlanıyorsa bu karışımdan 0,25 ml alınır. Ceftazidime diğer bakterilerin üremesini önlemek için kullanılmıştır(13).

Sikloheksimid'in hazırlanması (100 mg/l):

100 mg Cyclohexidime + 10 ml distile su ilave edilir ve karıştırılır. Eğer 1000 ml'lik sıvı besiyeri hazırlanıyorsa bu karışımın tamamı kullanılır. Cyclohexidime maya mantarlarının üremesini önlemek için kullanıldı(82,120).

Listeria Sıvı çoğaltıcı - seçici besiyeri, *Listeria* bakterilerinin üretilmesi amacıyla kullanıldı.

14- Listeria Katı-Seçerek-Ayırtıcı Besiyeri: Değiştirilmiş ryopflavin-Nalidiksik Asitli Besiyeri(118).

| | | |
|--|------|------------------|
| 1/20 sulandırılmış balıklı buyyon..... | 1000 | ml |
| Maya özü | 5 | g |
| Agar agar..... | 10 | g |
| Defibrine koyun kanı..... | 50 | ml |
| Nalidik asit..... | 40 | $\mu\text{g/ml}$ |
| Akriflavin..... | 10 | $\mu\text{g/ml}$ |

1/20 sulandırılmış 1000 ml miktarındaki balıklı buyyonuna 5 g maya özü ve 10 g agar agar ilavesiyle hazırlanan besiyerinin pH'sı 8.8.5'a ayarlanıp 120°C'de 30 dakika otoklavlandı. Besiyeri 45-50°C'ye kadar soğutulup % 5 koyun kanı ilave edildi ve kaynamakta olan suda 10 dakika tutuldu. 60°C'ye kadar soğutulduktan sonra içersine nalidiksik asit ve acriflavin ilave edilip karıştırıldı ve besiyeri petri kutularına dağıtıldı.

Nalidik Asidin Hazırlanması (40 $\mu\text{g/ml}$)

100 mg Nalidiksit asit, 1 ml % 4'lük NaOH içinde eritildi. Bunun üzerine 9 ml distile su ilave edildi.

Acriflavin'in Hazırlanması (10 $\mu\text{g/ml}$)

10 mg Acriflavin 1 ml distile su içine ilave edilir ve iyice karıştırıldı. Eğer 1000 ml'lik sıvı hazırlanıyorsa bu karışımın tamamı kullanılır.

Listeria katı seçerek-ayırtıcı besiyeri listeria kolonilerinin tanımlanması amacıyla kullanıldı.

15- Maya Özlü Eğri Çukulatamsı Agar(130).

| | | |
|--|------|----|
| 1/20 sulandırılmış balıklı buyyon..... | 1000 | ml |
| Maya Özü | 5 | g |
| Agar agar..... | 10 | g |

pH'sı 7.4'e ayarlanıp 120°C'de 30 dakika otoklavlandı. 45-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra % 5 olacak şekilde koyun kanı ilave edilip kaynamakta olan suda 2 dakika tutuldu. Soğuduktan sonra tüplere dökülüp eğri olarak katılaştırıldı.

16- Brucella çoğaltıcı sıvı besiyeri(131).

1/3 oranında sulandırılan ana balıklı buyyon ve % 0,3 tuzlu su ile hazırlanan besiyeri:

| | | |
|-------------------------|-----|----|
| Ana balıklı buyyon..... | 330 | ml |
| % 0,3'lük tuzlu su..... | 670 | ml |
| Maya özü | 2 | g |
| Glukoz | 1 | g |
| Sodyum sülfat..... | 0,1 | g |

pH'ları 7.0 ± 0.2 'ye ayarlandı, deney tüplerine 5'er ml olacak şekilde dağıtıldı. 120°C 'de 30 dakika otoklavlandı. $50-60^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulduktan sonra sütteki diğer mikropların üremelerini azaltmak amacı ile aşağıdaki antibiotikler ilave edildi.

| | | |
|--|----|----|
| Sikloheksimid (% 1 g'lık eriyikten)..... | 10 | ml |
| Basitrasin (2500 Ü/ml'lik solüsyondan).... | 10 | ml |
| Polimiksin-B (6000 Ü/ml'lik solüs.) | 1 | ml |

Besiyerine katılan antibiyotiklerin hazırlanması:

Sikloheksimid: 1 gram sikloheksimid 100 ml distile suda eritildi. Bu karışımdan 10 ml'si 1000 ml besiyerine ilave edildi.

Basitrasin: Her ml'de 2500 Ü içerecek şekilde distile su ile hazırlanan solüsyondan 10 ml'si 1000 ml besiyerine eklendi.

Polimiksin-B: her ml'de 6000 Ü bulunacak şekilde distile su ile hazırlanan solüsyondan 1 ml'si 1000 ml besiyerine ilave edildi.

17- Brucella Seçici - Ayırtıcı Katı Besiyeri:

| | | |
|-------------------------|-----|----|
| Ana balıklı buyyon..... | 330 | ml |
| % 0,3'lük tuzlu su..... | 670 | ml |
| Maya özü | 2 | g |
| Glukoz | 1 | g |
| Sodyum sülfat..... | 0,1 | g |
| Agar agar..... | 10 | g |

pH 7.0 ± 0.2 'ye ayarlanıp otoklavladıktan sonra $50-60^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutuldu, aşağıda miktarları belirtilen antibiyotiklerden ilave edildi(7). Petri kutularına bölündü.

| | | |
|--|----|----|
| Cycloheximide (% 19'lık eriyikten) | 10 | ml |
| Bacitracin (2500 Ü/ml'lik solüsyondan) ... | 10 | ml |
| Polimiksin-B (6000 U/ml'lik solüs.) | 1 | ml |

18-Löwenstein-Jensen Besiyeri(130).

A. Tuzlar eriyiği

| | | |
|------------------------------------|------|----|
| Bir potasyum fosfat..... | 2.4 | g |
| Magnezyum sulfat..... | 0.24 | g |
| Magnezyum sitrat | 0.60 | g |
| Asparajin..... | 2.60 | g |
| Gliserin..... | 12 | ml |
| Damıtık su | 600 | ml |
| B. Patates unu | 30 | g |
| C. Homogenize tam yumurta..... | 1000 | ml |
| D. Malaşit yeşili (Suda % 2) | 20 | ml |

Bir litrelik bir balona tuzlar, asparajin, gliserun ve su konur, biraz ısıtılarak erimeleri sağlandı; sonra 100°C 'de 1 saat ısıtılarak sterillendirilir. Soğuduktan sonra veya ertesi günü balona 30 gram patates unu konur, kaynayan suyu havi bir kapta devamlı olarak çalkalanıp karıştırıldı. Bu iş patates unu pişmiş bir hal alınca kadar, ortalama 30 dakika sürer. Bundan sonra balon 56°C 'lik su banyosunda bir saat tutulur.

Bu sırada yumurtalar hazırlandı. Bir haftalıktan daha bayat olmayan yumurtaların kabukları % 5 sabun ve sodalı suda ovularak temizlenir ve sonra aynı sıvıda 1/2 saat bırakıldı; bundan sonra akar suda iyice yıkandı, temiz bir bezle kurulandı. Yumurtaların bir ucuna % 2 iyotlu alkol sürülür. Alevde ucu yakılmış bir pensetle kabuk iyotlanan yerinden kırıldı ve içinde boncuklar bulunan steril bir kaba yumurtanın sarısı ve beyazı akıtıldı; heryeri bir oluncaya kadar çalkalanıp, steril gaz bezinden süzülür. Patates unlu 600 ml tuz eriyiğine bir litre yumurta ve sonra malaşit yeşilinin sudaki % 2 eriyiğinden 20 ml konur. Kitle iyice karıştırıldı, steril tüplere beşer ml besiyeri konur, pıhtılaşma aletinde 85°C 'de 45 dakika ısıtılıp eğri olarak katılaştı.

B- TANIM BESİYERLERİ:**1- (Cerrahpaşa) besiyeri(128,129,130).**

Bu besiyeri laktozlu, sukrozlu, mannitli ve tiyosulfatlı yarı sıvı bir besiyerdir.

| | | |
|--|-----|----|
| Balıkli ana besiyeri..... | 20 | ml |
| % 0,5 tuzlu su..... | 100 | ml |
| % 0,5 iki sodyumlu fosfat | | |
| (Na ₂ HPO ₄ , 12 H ₂ O) | 80 | ml |
| Agar agar..... | 1 | ml |
| Bromtimol mavisi eriyiği (% 04)..... | 1 | ml |
| Laktoz..... | 1 | g |
| Sukroz..... | 1 | g |
| Mannit..... | 0,1 | g |
| Sodyum tiyosulfat (suda 1/10) | 2 | ml |

Balıkli ana besiyerinden 20 ml ile % 0.5 tuzlu sudan 100 ml ve % 0,5 (Na₂ HPO₄, 12 H₂O)'ı sudan 80 ml bir balona konur; içine 0,8 gram agar agar ve % 0,4 borrtimol mavisi eriyiğinden 1 ml eklenir. 100°C'de 1 saat ısıtıldı. Sıcakken içine 1 g laktoz, 1 g sukroz ve 0,1 g mannit katıldı, ayrıca sodyum tiyosulfatın 1/10 eriyiğinden 2 ml kanul tüplere 5 ml olarak dağıtıldı ve buğu kazanında 100°C'de 1/2g saat sterillendirilir. Buzdolabında saklandı.

Bu besiyeri hareketin bulunup bulunmadığını, laktoz, sukroz ve mannite etkiyi, H₂S yapımını, ayrıca üzerine Coblenz ayıracı konarak asetoin oluşup oluşmadığını ortaya çıkarmağa yarar.

Adi besiyerinde üremeyen bakteri denemek için % 10-20 asitli C besiyeri şöyle yapıldı:

Tüpteki besiyeri kaynayan suya konarak eritilir ve sonra 60°C'ye kadar soğutulur, içine 1 ml steril asit katıldı, karıştırıldı, dik olarak dondurulur.

Deney:

Yarı katı olan bu besiyerine ekim iğnesiyle batırmak suretiyle denenen bakteriden ekilir. Üzerine % 5 kurşun asetatlı su emdirilmiş ve sonra kurutulmuş beyaz süzgeç kağıdı şeridi, pamukla tüpün arasına tutturulur.

2- D (dekstroz) besiyeri(128,129,130).

| | | |
|---------------------------------------|-----|----|
| Balıklı ana besiyeri..... | 20 | ml |
| % 0,5 tuzlu su..... | 180 | ml |
| Bromtimol mavisi eriyiği (% 0,4)..... | 1 | ml |
| Agar agar..... | 2 | g |
| Dekstroz..... | 2 | g |

İlk üç madde karıştırıldı, 100°C'de 1 saat ısıtıldı ve sonra bunun içine 2 gram dekstroz katılarak eritilir, tüplere 5 ml olarak bölündü. Buğu kazanında 100°C'de 1/2 saat ısıtıldı, dik olarak donduruldu.

Güç eriyen bakterileri denemek için % 10-20 asitli D besiyeri yapıldı:

Tüpteki besiyeri kaynar suda sıvılaştırıldı; 60°C'ye kadar soğutulur, içine 1 ml steril asit konur, karıştırıldı ve dik olarak donduruldu.

Bu besiyeri dekstroza oksidleyici veya fermentleyici etkiyi, asit veya gaz yapımını, asetimetil karbinol yapımını ortaya çıkarmak için kullanıldı.

3- Karbonhidratlı besiyerleri(130).

Deneylerde kullanılan karbonhidratlı ve benzeri olan maddeler şunlardır:

Monosakkarider: Glukoz, D-Ksiloz, L-ramnoz, galaktoz

Disakkaridler: Laktoz, sukroz, maltoz

Polisakkaridler: Dekstrin

Polihidrikalkoller: Mannitol

Glukozidler: Eskülin

a) Glukozlu besiyer

Ana balıklı buyyon..... 20 ml

% 0,5 Fizyolojik tuzlu su..... 100 ml

% 0,5 İki sodyumlu fosfat..... 80 ml

(Na₂ HPO₄, 12H₂O)

Bromtimol mavisi % 0.4 1 ml

(0,49 Bromtimol mavisi + 12.8 ml 0.05 NaOH bir havanda

ezilir ve damıtık su ile hacmi 100 ml'ye tamamlanır)

Glukoz 1 g

Sodyum tiyosulfat (suda 1/10) 2 ml

pH 7.2-7.4

Yukarıda adı geçen ilk dört madde karıştırıldı. 100°C'de 1 saat ısıtıldı. Sıcak iken içen glukoz ve 1/10'luk sodyum tiyosülfat eriyiğinden 2 ml konuldu. Tüplere 5'er ml olarak dağıtıldı ve buğu kazanında 100°C'de 30 dakika steril edildi.

Bu besiyeri bakterilerin asit ve gaz oluşturmalarının araştırılması ile birlikte, H₂S yapımının da incelenmesi amacıyla kullanıldı.

Gaz oluşumunu incelemek için bu besiyerinin bulunduğu deney tüplerine bir Durham tüpü konuldu.

b) Diğer karbonhidratlı besiyerleri (Laktoz, Maltoz, Sukroz, Mannitol, Dekstrin, Galaktoz):

| | | |
|--|-----|----|
| 1/10 sulandırılmış balıklı buyyon..... | 100 | ml |
| Bromtimol mavisi (% 0,4)..... | 10 | ml |

pH 7.2-7.4

Buyyon besiyeri ve bromtimol mavisi karıştırıldı. Karbonhidratlar besiyeri içine % 1 oranında konuldu. Tüplere 5'er ml dağıtılarak 100°C'de 30 dakika steril edildi.

Bu besiyerleri bakterilerin laktoz, maltoz, sukroz, mannitol, dekstrin, galaktozdan asit oluşturup oluşturmadıklarını anlamak üzere kullanıldı.

c) D-Ksiloz ve L-Ramnoz besiyerleri

| | | |
|--|------|----|
| 1/20 sulandırılmış balıklı buyyon..... | 1000 | ml |
| Fenol kırmızısı (% 0,4)..... | 10 | ml |

Buyyon ve fenol kırmızısı karıştırıldı. L.Ramnoz (D-Ksiloz) besiyeri içine % 1 oranında ilave edildi. Tüplere 5'er ml olarak dağıtıldı. Kaynayan suda 10 dakika tutularak steril edildi.

Yukarıda yapılışı anlatılan 3-a,b,c karbonhidratlı sıvı besiyerleri içine bakterilerin 24 saatlik buyyon kültürlerinden 0,1 ml ilave edildi. 37°C'de bir hafta bekletildi. Bu süre içinde besiyerinde asit oluşumu sebebiyle meydana gelen son renk pozitif olarak değerlendirildi.

4- Değiştirilmiş Klark-Lups besiyeri

| | | |
|---------------------------------------|------|----|
| 1/5 sulandırılmış balıklı buyyon..... | 1000 | ml |
| Glukoz..... | 5 | g |
| K ₂ HPO ₄ | 5 | g |

Yukardaki maddeler karıştırıldı. Tüplere 5'er ml olarak dağıtıldı. 100°C'de 30 dakika steril edildi. Bu besiyerinde bakterilerin asetoin yapımı ve metil kırmızısı deneyleri incelendi.

5- Nitratlı buyyon (130)

| | | |
|---------------------------------------|-----|----|
| 1/5 sulandırılmış balıklı buyyon..... | 100 | ml |
| Potasyum nitrat..... | 1 | g |
| pH 7.3-7.4 | | |

Maddeler buyyonda eritildi. Tüplere 5'er ml olarak dağıtıldı. 100°C'de 30 dakika steril edildi.

Bu besiyeri nitrat redüktazın varlığını ortaya çıkarmak için kullanıldı.

6- Simmon's agar(130).

| | | |
|--|------|----|
| NaCl..... | 5 | g |
| Mg SO ₄ , 7H ₂ O..... | 0,2 | g |
| (NH ₄) H ₂ PO ₄ | 1,0 | g |
| K ₂ HPO ₄ | 1,0 | g |
| Sodyum sitrat | | |
| (Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ , 5,5 H ₂ O)..... | 2.77 | g |
| Agar agar..... | 20 | g |
| Bromtimol mavisi (% 0,2)..... | 40 | ml |
| Damıtık su..... | 1000 | ml |
| pH 6.8 | | |

Tüplere 5 ml olarak dağıtılır 100°C'de 1/2 saat ısıtıldı, eğri olarak da katılaştırıldı.

Bakteri eğri agardaki 24 saatlik ürününden bir ekim halkası miktarı ekilir. 4 gün içinde renk mavileşirse deney pozitif sayıldı.

7- Fenil alanin deaminaz deneyi için besiyeri(130).

| | | |
|--|------|----|
| DL-Fenilalanin | | |
| (veya L fenilalanin 1g)..... | 2,0 | g |
| Maya Özü..... | 3.0 | g |
| Sodyum klorür..... | 5.0 | g |
| Disodyum fosfat (Na ₂ HPO ₄)..... | 1,0 | g |
| Agar agar..... | 12.0 | g |
| Damıtık su..... | 1000 | ml |

Maddeler ısıtılarak eritilir. Tüplere 4 ml olarak dağıtıldı. Otoklavda 120°C'de 15 dakika veya kazanda 100°C'de 30 dakika ısıtılarak sterilendirilir. Besiyerleri eğri olarak dondurulur. Kullanılmadan önce soğutuldu. Buzdolabında saklandı.

Kullanılacağı zaman 24 saatlik üründen ekilir. 37°C'de 24 saat bırakılır. Üreyen bakteriler üzerine suda % 10 FeCl₃ eriyiğinden 4-5 damla konur, tüp dik tutularak damlaların üreme yüzü üzerinde akışı sağlanır. 1-5 dakika içinde besiyerlerinde ve aşağı toplanan sıvıda yeşil rengin belirmesi olumlu sonucu gösterir.

8- Möller'in dekarboksilaz buyyonları:

| | | |
|------------------------------------|-------|----|
| Pepton (pepsinle elde edilen)..... | 5 | g |
| Sığıretti özü..... | 5 | g |
| Brom krezol moru..... | 0,01 | g |
| Krezol kırmızısı..... | 0,05 | g |
| Glikoz..... | 0,5 | g |
| Piridoksal veya piridoksin..... | 0,005 | g |
| Damıtık su..... | 1000 | ml |
| (pH 6,0) | | |

Bu besiyeri de yukarıdaki besiyerleri gibi hazırlanır ve L-aminoasitler % 1, DL aminoasitler ise % 2 olarak konur.

Aminoasitsiz ve aminoasitli tüplere eğri ağardaki taze üründen az miktarda ekilir. Besiyerinin üzeri 2-3 ml steril parafinle örtülür. 37°C'de üretime konur ve 4 gün gözlenir. Mor rengin belirmesi pozitif reaksiyonu gösterir. Bununla beraber glikozun parçalanmasından sonra renk önce sarıya döner, sonra morlaştı.

9- Değiştirilmiş Christensen besiyeri(130).

| | | |
|--|-------|----|
| 1/5 Sulandırılmış balıklı buyyondan..... | 1000 | ml |
| Pepton | 1.0 | g |
| Sodyum klorür | 5.0 | g |
| Bir potasyum fosfat..... | 2.0 | g |
| Glikoz (suda % 10) | 10.0 | mg |
| Fenol kırmızısı % 0.2'likten | 5 | ml |
| Agar | 20 | g |
| Damıtık su | 1000 | ml |
| Üre (Suda % 20)..... | 100ml | |
| pH 6.8 | | |

Buradaki glikoz ve üreden başkaları suda eritilir. pH 6.8-6.9'a getirilir ve 120°C'de 30 dakika sterillendirildi. Glikoz ve üre eriyikleri süzülerek bakterisizleştirilir ve 50°C'ye kadar soğutulmuş besiyerine katıldı, tüplere taksim edilir ve dipde 1 cm yükseklikte bir dik kısım kalacak tarzda katılaştırıldı.

Katı besiyerinde 18-24 saatlik üründen bol miktarda besiyerine ekilir, fakat dipteki kısma batırılmaz. Bu kısım kontrol olarak kalacaktır.

37°C'de tutulan besiyerinin kızarması üreazın varlığını gösterir.

Burada sonuçlar 6 saat ve 24 saat sonra okunur, olumsuz ise bir hafta daha incelendi.

10- Eskülinli besiyeri(130).

| | | |
|---|------|----|
| 1/20 sulandırılmış ana balıklı buyyon | 1000 | ml |
| Eskülin | 1 | g |
| Amonyum ferrik sitrat | 1 | g |

Yukardaki maddeler karıştırıldı, besiyerinin pH'sı 7.4'E ayarlandı, Tüplere 5'er ml bölündü. 120°C'de 20 dakika steril edildi.

Bu besiyerinde bakterilerin eskülin hidrolizi incelendi. 24 saatlik kültürden besiyerine bir ekim halkası miktarında ekildi. 37°C'de 24 saat bırakıldı. Hidroliz varsa besiyeri siyahlaştı.

C- DENEYLERİMİZDE KULLANILAN AYRAÇLAR

1- Fozfotaz ayracı(130).

A Sıvısı:

| | | |
|-------------------------|------|----|
| Susuz Na karbonat | 3,5 | g |
| Na bikarbonat | 1,5 | g |
| Damıtık su | 1000 | ml |

Yukardaki maddeler karıştırılır. Bu çözelti 3 ay buzdolabında saklanabilir.

B Sıvısı:

| | | |
|--------------------------------------|------|----|
| A tampon sıvısı | 100 | ml |
| Disodyum paranitrofenil fosfat | 0,15 | g |

2- İndol ayracı(130).

İndol oluşumu ortaya çıkarmak için H Braun ve W.Silberstein'in değiştirdiği Erhlich - Prinsheim eriyiği kullanıldı

| | | |
|--------------------------------------|----|----|
| Para-dimetil amino benzaldehit | 5 | g |
| Metanol | 50 | ml |
| Fosfarik asit | 10 | ml |

Yukardaki maddeler karıştırıldı. 5x0,5 cm boyutlarındaki süzgeç kağıtlarına emdirildi. Kurutulduktan sonra kullanıldı.

3- H₂S Ayıracı(130).

H₂S teşkilin görmek için kurşun asetat çözeltisi emridilmiş süzgeç kağıtları kullanıldı.

| | | |
|---------------------|-----|----|
| Kurşun asetat | 10 | g |
| Distile su | 100 | ml |

Çözelti hazırlandıktan sonra 5x0,5 cm boyutlarındaki süzgeç kağıtlarına emdirildi. Oda ısısında beletilerek kurutulduktan sonra besiyerinin bulunduğu tüplerin içine, pamukla cam arasına sıkıştırılarak kullanıldı.

4- Katalaz ayıracı(130).

Katalaz enziminin varlığını göstermek için % 30 H₂O₂ kullanıldı.

5- Oksidaz ayıracı(130).

Oksidaz göstergesi olarak Kovaks ayıracı kullanıldı.

Tetrametil-para-fenilendiamin

| | | |
|---------------------|-----|----|
| Dihidroklorid | 0,1 | mg |
| Distile su | 10 | ml |

Yukardaki maddeler karıştırılarak hazırlandı. Bu ayıraç az zehirli, çok duyarlıdır. Fakat dayanıklı değildir. Bu sebeple hazırlanır hazırlanmaz hemen kullanıldı.

6- Nitrat ayıracı(130).

A.Çözeltisi

| | | |
|-----------------------|------|----|
| Sülfanilik asit | 8 | g |
| Asetik asit (5N)..... | 1000 | ml |

B. Çözeltisi

| | | |
|-----------------------|------|----|
| Alfa naftolamin..... | 5 | g |
| Asetik asit (5N)..... | 1000 | ml |

Yukardaki maddeler ayrı ayrı karıştırılarak A ve B çözeltileri hazırlandı.

7- Voges-Proskaur ayıracı (Coblentz Ayıracı)(130).**A. Çözeltisi**

| | | |
|---------------------|---|----|
| % 85'lik alkol..... | | ml |
| Alfa naftol..... | 5 | g |

B. Çözeltisi

| | | |
|-----------------|-----|----|
| KOH..... | 40 | g |
| Distile su..... | 100 | ml |
| Kreatinin..... | 0,3 | g |

Bu çözeltiler ayrı ayrı hazırlandı.

8- Metil Kırmızısı(????).

| | | |
|----------------------|-----|----|
| Metil kırmızısı..... | 0.1 | g |
| % 95'lik alkol..... | 300 | ml |
| Distile su..... | 200 | ml |

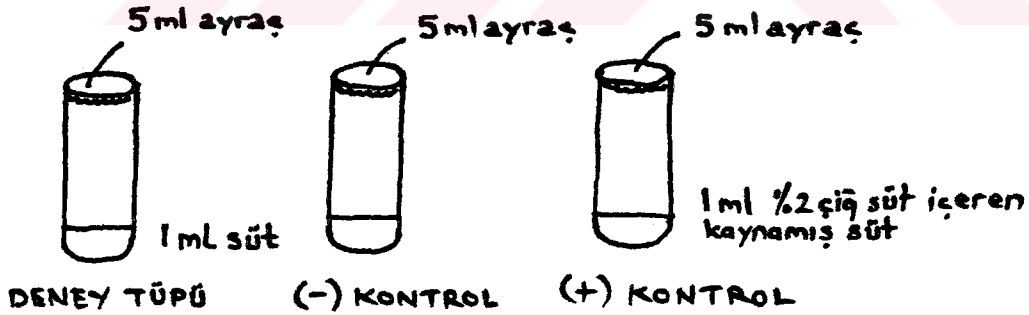
Metil kırmızısı, alkolde eritildikten sonra damıtık su ilave edildi.

DENEYLER

1- Fosfotaz deneyi(131).

Pastörlenmiş sütlerin bakteriyoloji yönünden kontrolü için öncelikle pastörlemenin gerektiği gibi yapıp yapılmadığının incelenmesi gereklidir. Bu amaç ile ve ayrıca pastörlenen süte çiğ süt katılıp katılmadığını ortaya çıkarmak için fosfataz deneyi yapıldı. Bilindiği gibi çiğ sütte bulunan fosfataz, sütte bulunabilen hastalık yapıcı sporsuz bakterilerden daha fazla ısıya dayanmaktadır.

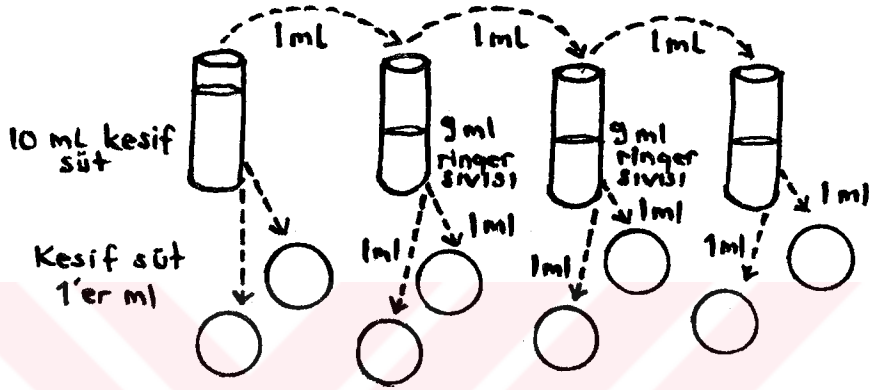
Fosfataz deneyi için üç tane tüp alındı. Deney tüpüne 1 ml süt, 5 ml ayraç, pozitif (+) kontrol tüpüne % 2 çiğ süt konmuş kaynamış süt, (-) kontrol tüpüne aynı miktar kaynamış süt konuldu. Tüplerin üzerine 5 ml ayraç ilave edildi. Lastik bir tıkaçla tüpün ağzı kapanıp alt üst edilerek karıştırıldı. 37°C'de 2 saat benmaride tutuldu. (+) kontrol tüpünde rengin sarardığı, (-) kontrol tüpünde ise beyaz kaldığı tespit edilerek deney tüplerindeki durum değerlendirildi. Pastörlendiği bildirilen sütte fosfataz deneyinin olumlu sonuç vermesi bu sütün yeterli derecede ısıtılmamış olduğunun göstergesi olarak alındı.



2. Canlı bakteri sayısının üretimle bulunması(67,131).

Genel canlı bakteri sayısının belirlenmesinde en iyi sonuçlar plak döküm yöntemi ile alınmaktadır. Bu sebeple biz de canlı bakteri sayımlarında bu yöntemi kullandık. Bu amaçla pastörlenmiş süt örneği steril balonlar içinde Ringer sıvısı (70 gr NaCl+0,25 g KCl+ 0,300 g CaCl₂ + 1000 ml Distile su) ile 1/10, 1/100 ve 1/1000 olarak sulandırıldı. Her

sulandırma için ayrı ipet kullanılarak ikişer Petri kutusuna 1'er ml süt konuldu ve buraya kaynar suda sıvılaştırılmış sonra 50°C'ye kadar soğutulmuş maya özlü sütlü agar besiyerinden 10 ml dökülerek iyice karıştırıldı ve kendi haline bırakılıp katılaşması sağlandı. Ekimlerin yapıldığı Petri kutuları 32°C'de 4 gün tutuldu. Her Petri kutusunda beliren koloniler sayılarak ortalamaları ve sulandırma oranları dikkate alınıp 1 ml sütteki bakteri sayısı belirlendi.



3) Koliform bakterilerin aranması(67,131).

Sütteki koliform bakteriler genellikle pastörlenme ile ölürlür. Bununla beraber pastörlenmenin eksik yapıldığı veya sütün sonradan pislendiği hallerde koliform bakteriler oldukça sık bulunur. Koliform bakterilerin aranması için teepoll'lü laktozlu brom timollü balıklı buyyan besiyeri kullanıldı.

Bu besiyerinde koliform bakterilerin olasılığı ve ön sayımı (presumptive coliform count deneyi yapılmak üzere üç paralel tüp yöntemi kullanıldı. Besiyerimizi içeren üç tane tüpe pastörlenmiş süt örneğinden 10'ar ml, bir başka üç tüpten herbirine aynı sütten 1'er ml ve son üç tüpe de 0.1 ml süt ekilerek her tüpe birer indol kağıdı takıldı. Tüpler 37°C'de 48 saat tutuldu asit ve gaz meydana gelmesi olumlu sonucu gösterdi. Bundan sonra üreme olan tüplerin sayısına ve içine ekilen sıvı miktarına göre McCrady'nin cetvellerinden 100 ml sütteki koliform bakterilerin olasılığı ve muhtemel sayısı, McCrady'in üç paralel tüpte en muhtemel bakteri sayısı (MPN) cetveline göre değerlendirildi (Çizelge 10).

Çizelge 10 : McCrady: 3 paralel tüpte en muhtemel bakteri sayısı (MPN) (67)

| 10 ml. | 1 ml. | 01 ml. | MPN |
|--------|-------|--------|-----|
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0 | 1 | 3 |
| 0 | 1 | 1 | 6 |
| 1 | 0 | 0 | 4 |
| 1 | 0 | 1 | 7 |
| 1 | 1 | 0 | 7 |
| 1 | 0 | 2 | 11 |
| 1 | 1 | 1 | 11 |
| 1 | 2 | 0 | 11 |
| 1 | 2 | 1 | 15 |
| 1 | 3 | 0 | 16 |
| 2 | 0 | 0 | 9 |
| 2 | 0 | 1 | 14 |
| 2 | 0 | 2 | 20 |
| 2 | 1 | 0 | 15 |
| 2 | 1 | 1 | 20 |
| 2 | 1 | 2 | 30 |
| 2 | 2 | 0 | 20 |
| 2 | 2 | 1 | 30 |

| 10 ml. | 1 ml. | 0,1 ml. | MPN |
|--------|-------|---------|------|
| 2 | 2 | 2 | 35 |
| 2 | 2 | 3 | 40 |
| 2 | 3 | 0 | 30 |
| 2 | 3 | 1 | 35 |
| 2 | 3 | 2 | 40 |
| 3 | 0 | 0 | 25 |
| 3 | 0 | 1 | 40 |
| 3 | 0 | 2 | 65 |
| 3 | 1 | 0 | 45 |
| 3 | 1 | 1 | 75 |
| 3 | 1 | 2 | 120 |
| 3 | 2 | 0 | 93 |
| 3 | 2 | 1 | 150 |
| 3 | 2 | 2 | 210 |
| 3 | 3 | 0 | 240 |
| 3 | 3 | 1 | 460 |
| 3 | 3 | 2 | 1100 |
| 3 | 3 | 3 | 1400 |

Asit ve gaz oluşumu görülen tüplerden 1 ml alınarak teepoll'lü laktozlu agar besiyerine, Endo besiyerine ekildi. Burada üreyen kolonilerden saf ürünler elde edilip indol yapımı, metil kırmızısı, asetoin yapımı ve citrattan yararlanma özellikleri (IMVIC) incelendi.

A. IMVIC deneyi:

a) İndol oluşumu: Eğri jeloz besiyerine ekim yapıldıktan sonra Ehrlich-Pringsheim eriyiği emdirilmiş indol kağıdı tüpün üzerine asılarak uçan indol tesbit edildi. Kağıdın renginin kızarması olumlu sonucu gösterdi.

b) Metil Kırmızısı Deneyi: Bakteriler Klark-lubs besiyerine ekildi. 37°C'de 48 saat üretimden sonra tüpün içine 5 damla metil kırmızısı ayracı konuldu karıştırıldıktan sonra sonuç okundu. pH 4,5 veya daha aşağıda olduğu durumlarda olumlu deney sonucu kırmızı renk gelişti, olumsuz sonuçlar deneyde ise besiyerinin sarı rengi değişmedi.

c) Voges-Proskauer deneyi: Bakteriler Klark-lubs besiyerine ekildi. 37°C'de 48 saat üretimden sonra tüpün içine 3 ml Voges A çözeltisi 1 ml Voges B çözeltisi ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra 37°C'de beklendi. 15 dakikada beliren kırmızı renk olumlu sonucu gösterdi.

d) Sitrat deneyi: Saf ürün halindeki bakterilerden Simons agarına ekim yapıldı. 4 gün içinde rengin mavileşmesi olumlu sonucu, değişmemesi ise olumsuz sonucu gösterdi.

Bu deneyler sonunda indol (+), Metil kırmızısı (+), Voges-Proskauer (-), sitrat (-), (IMVIC: ++--) olan bakteriler *Escherichia coli* olarak kabul edildi.

B. Koliform bakteriler dışındaki enterobacteriaceae ailesindeki bakterilerin ayrılması ve tanımı

Süt örneklerinden santrifüj tüpüne 15 ml konularak 3000 devired 20 dakika santrifüjlendi. Dipteki çökeltiden GN buyyonuna, ayrıca McConkey, SS agar besiyerine ve endo besiyerlerine ekimler yapılarak 37°C'de 24 saat bekletildi. Ertesi gün GN buyyonundan tekrar Endo, McConkey, SS agar besiyerlerine ekimler yapılarak bu besiyerleri de 37°C'de 24 saat bekletildi. Bu sürenin sonunda üreyen kolonilerden eğri jeloz, C ve D besiyerlerine ekimler yapıldı. Eğri jeloz besiyerine indol kağıdı, C besiyerine H₂S kağıdı asılarak 37°C'de 24 saat üretime bırakıldı. Bakterilerin C ve D besiyerlerindeki karbonhidratlardan asit ve gaz yapımı ayrıca indol ve H₂S yapımları ve diğer karbonhidratlı besiyerlerine etkileri incelenerek tür tanımı yapıldı (Çizelge 1).

4- Sütte hastalık yapıcı bakterilerin aranması

a) Salmonella bakterilerinin ayrılması ve tanımı

Süt örneklerinden santrifüj tüpüne 15 ml konularak 3000 devirde 20 dakika santrifüjlendi. Dipteki çökeltiden GN buyyona, ayrıca Endo, SS ve Mc Concey agar besiyerlerine ekimleri yapılarak 37°C'de 24 saat bekletildi. Ertesi gün GN besiyerinden tekrar, Endo, SS ve McConcey agar besiyerlerine ekimler yapıldı. Besiyerleri 37°C'de üretime bırakıldı. Bu sürenin sonunda üreyen kolonilerden eğri jeloz C ve D besiyerlerine ekimler yapıldı. Eğri jeloz besiyerine indol kağıdı, C besiyerine H₂S kağıdı asılarak 37°C'de 24 saat üretime bırakıldı. Bakterilerin C ve D besiyerlerindeki karbonhidratlardan asit ve gaz yapımı ayrıca indol ve H₂S yapımları gözönüne alınarak tür tanımı yapıldı (Çizelge 1).

b) *Yersinia enterocolitica*'nın ayırım ve tanımı:

Süt örneklerinden santrifüj tüpüne 15 ml konularak 3000 devirde 20 dakika santrifüjlendi. Dipteki çökeltiden Endo, McConcey ve CIN agar besiyerlerine ekim yapılarak 25°C'de üretime bırakıldı. Ayrıca 2 tane GN buyyona ekilerek biri +4°C diğeri 25°C'de bekletildi.

Endo ve McConcey besiyerlerinde üreyen tek kolonilerden saf ürünler elde edilerek bunların biyokimya özellikleri incelendi. +4°C'de ve 25°C'de bekletilen GN buyyondan 4,7,14 ve 21. günlerde Endo, McConcey ve CIN agar besiyerlerine ekimler yapıldı. Bu besiyerlerinde üreyen kolonilerden saf ürünler elde edildi. Bunların *Y. enterocolitica* olup olmadıkları aşağıdaki özelliklere göre saptandı.

- Katalaz (+)
- Oksidaz (-)
- Hareket: 37°C'de hareketsiz, 25°C'de hareketli
- Asetoin yapımı: 37°C de (-)
25°C'de (+)
- Glikozdan asit (+), gaz (-)
- İndol (+)
- Lizin dekarboksilaz (-)
- Sitrat (-)
- H₂S (-)
- Fenil alanin (-)
- Ramnoz (-)
- Sukroz (+)
- Sellubioz (+)
- Melibioz (-)

olan bakteriler *Y. enterocolitica* olarak kabul edildi (Çizelge 1 ve 2).

c) *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin ayırımı ve tanımı

Süt örneklerinden santrifüj tüpüne 15 ml konularak 3000 devirde 20 dakika santrifüjlendi. Dipteki çökeltiden Endo besiyerine, GN ekim yapıldı. 37°C'de 24 saat bekletildi. Ertesi gün GN buyyondan tekrar endo besiyerine ekimler yapılarak 37°C'de üretime bırakıldı. Bu sürenin sonunda üreyen kolonilerden saf kültür elde edildi. Bunların *Pseudomonas aeruginosa* olup olmadıkları aşağıdaki özelliklere göre saptandı:

- Balıklı eğri agarda pigment teşkil eden; Kloroformda eriyen mavi-yeşil boya (pyocyanin) oluşturan,
- İndol ve H₂S yapmayan,
- Glikozu gaz yapmadan oksidatif olarak parçalamayan,
- Laktoz, sukroz ve mannitol'e etki etmeyen,
- Yarı katı agarda hareketli,
- Oksidatif testi (+),
- Katalaz testi (+),
- Jelatini hidrolize eden,
- Nitratı indirgeme deneyleri (+)
- Metil kırmızısı testi (+)
- Voges-Proskauer testi (-) olan bakteriler *Pseudomonas aeruginosa* olarak kabul edildi (Çizelge 3).

d) *Aeromonas* cinsi bakterilerin ayırımı ve tanımı:

Gram (-) bakterilerin tanımı yöntemi uygulanan saf kültürden inden (+) olanlar hiç NaCl içermeyen (%0) ve % 6 NaCl içeren buyyon besiyerlerine ekildikten sonra 37°C'de 24 saat üretime bırakıldı. Tuz içermeyen buyyon besiyerinde üreyen fakat % 6 NaCl'lü buyyonda üreyenler (*Vibrionlar* % 6 NaCl konsantrasyonunda ürerler) *aeromonas* cinsi olarak kabul edildi ve tür tayini yapıldı.

24 saatlik saf kültürden aşağıda anlatılan 0/129'un 10 mg ve 150 mg'lık hazırlanmış disklerine duyarlığın dirençli bulunması halinde Çizelge

4'e göre tür tayini yapıldı.

Disklerin hazırlanması

0/129 (2,4-diamino-6,7-di iso propylpteridine phosphat)

- 10 mg'lık disk için 10 ml steril distile su + 10 mg madde
- 150 mg'lık disk için; 10 ml steril distile su + 150 mg madde

e) *Campylobacter jejuninin ayırımı ve tanımı:*

Süt örneklerinden santrifüj tüpüne 15 ml konularak 3000 devirde 20 dakika santrifüjlendi. Dipteki çözeltiden *Campylobacter* üretimi için % 0,5 maya özü ile zenginleştirilmiş Butzler'in seçici antimikrobik suplementi (Basitrasin 25000 IU/l, sikloheksimid 5 mg/l, Kolistin sülfat 10.000 IU/l, Sefazolin sodyum 15 mg/l, Novobiosin 5 mg/l) ve *Campylobacter* üretim suplementi (Sodyum piruvat 0,250 g/l, Sodyum metabisülfid 0,25 g/l, Ferro sülfat 7H₂O 0,250 g/l) ilave edilmiş 1/5 balıklı buyyon besiyerine % 5 oranında dondurulup eritilen koyun kanı ilave edildikten sonra ekim yapıldı. Ekim yapılan besiyerleri anaerop gas-pack (OXOID) içeren katalizörsüz kavanoza yerleştirilip 42°C'de 48 saat üretime kaldırıldı. Sürenin sonunda bu besiyerinden, aynı içerikteki katı besiyerine ekim yapıldı. Petri kutuları anaerop gas-pack (OXOID) içeren katalizörsüz kavonaza konup 42°C'de 48 saat üretime kaldırıldı.

f) *Brucella bakterilerinin ayırımı ve tanımı*

Pastörlenmiş süt örneklerinden santrifüj tüplerine 10'ar ml konularak santrifüj edildi. Üstteki krema kısmından ve alttan toplanan çöküntüden *brucella* çoğaltıcı sıvı besiyerine ekim yapıldı. Besiyerleri 37°C'de karbondioksitli ortamda her hafta *brucella* seçici ayırtıcı katı besiyerine pasajlar alınmak suretiyle altı hafta bekletildi. Hem sıvı hemde katı besiyerleri 37°C'ye ve karbondioksitli ortama kondu.

Sıvı besiyerinden katı seçici besiyerlerine 10. gün ve 20. gün, ikinci ve üçüncü ekimler yapıldı. Ekilen her besiyeri 48-72 saat sonra kon-

trol edildi. Üreyen şüpheli kolonilerden saf kültür elde etmek amacı ile eğri jeloz besiyerlerine ekimler yenilendi(118).

Saf kültürlerden preparat hazırlanarak Gram yöntemi ile boyandı. Mikroskop görünümleri brusella bakterilerine benzeyenlerin biyokimya özellikleri ile hareketli olup olmadıklarına bakılarak değerlendirildi.

g) *Staphylococcus aureus* bakterilerinin ayırımı ve tanımı

Pastörleşmiş süt örneklerinden santrifüj tüplerine 10'ar ml alınarak santrifüj edildi. Çöküntüden bir öze kanlı ve çukulatamsı agar besiyerine ekim yapıldı. 37°C'de 24 saat bekletildikten sonra kanlı besiyerinden ve eğri çukulatadaki şüpheli kolonilerden, Pai besiyerine ekimler yapıldı. 24 saatlik 37°C'de bırakıldıktan sonra, meydana gelen sarı-turuncu kolonilerden lamda plazma koagülaz testi uygulandı. Plazma koagülaz pozitif olanlar s.aureus olarak değerlendirildi.

h) *Listeria* bakterilerinin ayırımı ve tanımı:

Pastörleşmiş süt örneklerinden 2 ayrı santrifüj tüpüne alınarak üst kısımda krema oluncaya kadar santrifüjlendi. Üstteki krema kısmından ve altta toplanan çöküntüden toplam olarak 1 ml olacak şekilde örnek alındı.

Yukarda anlatıldığı gibi hazırlanan örnekler *Listeria* sıvı çoğaltıcı-seçici besiyerine 1'er ml olarak ekildi ve +4°C'ye kaldırıldı. Bu besiyerinden 7 gün sonra *Listeria* katı seçici-ayırıcı çukulatamsı agar besiyerine ilk ekimler yapıldı. Ortalama 5 ile 7 gün arasında, oda ısısında üremeye bırakıldı. Sıvı besiyerleri yine +4°C'ye kaldırıldı.

Listeria katı seçici-ayırıcı çukulatamsı agar besiyerinde üreyen 1-1,5 mm çapında ufak sarı saydam üstten basık ve düzgün kenarlı olan şüpheli kolonilerden maya özlü eğri çukulatamsı agar besiyerine pasajlar alınarak 37°C'de 24-28 saat tutuldu ve saf kültürleri elde edildi. Üreyen bakteri-

lerden Gram preparasyonu hazırlandı. Düzenli boyanan birbirine paralel veya V, Y şekilleri gösteren sporsuz, kapsülsüz ince Gram olumlu çomakçıklar şeklinde görülen bakteriler ileri incelemeye alındı. Bunların 22°C ve 37°C'de hareket özellikleri, katalaz varlığı, eskülini hidrolize etme özellikleri araştırıldı. 22°C'de hareketli, katalaz deneyi olumlu ve eskülini hidrolize eden bakteriler *Listeria* cinsi bakteriler olarak kabul edildi. Bakterilerin bu özellikleri aşağıdaki şekilde araştırıldı.

1- Hareket deneyi

% 0,5 g maya özünü ilave edilen 1/20 sulandırılmış balıklı buyyona bakterilerin, 24 saatlik buyyon kültüründen bir ekim halkası miktarında ilave edildi. Hem 22°C, hem de 37°C olmak üzere 24 saat üretime bırakıldı. Bu üreme sonucunda, çukur lam kullanılarak yapılan mikroskop incelemesinde 22°C'de ve 37°C'de hareket özellikleri değerlendirildi.

2- Katalaz deneyi

Bakterilerin katalaz enzimini göstermek için temiz lama pipetle alınan maya özlü eğri çukulatamsı agar besiyerindeki 24 saatlik bakteri örneği sürüldü. Üzerine bir damla % 30 H₂O₂'den damlatıldı. Karıştırılmadan gaz çıkıp çıkmadığına bakıldı. Gazın çıkması katalaz enziminin varlığını gösterdi.

3- Eskülin deneyi

Bakterilerin maya özlü eğri çukulatamsı ağardaki 24 saatlik ürününden bir ekim halkası miktarı eskülinli balıklı buyyona ekildi 37°C'de 24 saat üretildi. Besiyerinde oluşan siyah renk eskülin hidrolizini gösterdi.

Eğer ilk ekimde *Listeria* cinsi bakteriler ürememiş ise +4°C'de bekletilen sıvı çoğaltıcı seçici besiyerinden ondördüncü günde ikinci ekim yirmibirinci günde üçüncü ekim, yirmisekizinci günde dördüncü ekim alınarak inceleme sürdürüldü.

Listeria cinsine ait olduğu tesbit edilen bakterilerin tür tanımı için aşağıdaki diğer özellikleride incelendi.

4- Oksidaz deneyi

Kovaks ayırıcı ile gösterildi. Bir Petri kutusu içine süzgeç kağıdı konarak ortasına 2-3 damla Kovaks ayırıcı damlatıldı. Maya özlü eğri çukulatamsı agardaki 24 saatlik bakteri kültüründen pipetle alınarak kağıt üzerine sürüldü. Olumlu reaksiyonda koyu renk meydana geldi.

5- Voges-Proskauer deneyi

Klark-lubs besiyerine, bakterilerin 24 saatlik buyyon kültüründen ekildi. 48 saat 37°C'de üretildi. Bu süre sonunda besiyerine 0,6 ml A ve 0,2 ml B olmak üzere Coblentz ayırıcı ilave edildi, karıştırıldı. 15 dakika içinde meydana gelen kırmızı renk olumlu olarak değerlendirildi.

6- Sitrat deneyi:

Bakterilerin karbon kaynağı olarak sitrattan yararlanıp yararlanmadığını ortaya çıkarmak için, bakterilerin maya özlü eğri çukulatamsı agardaki 24 saatlik ürününden az miktarda ekim iğnesi ile ekim yapıldı. 24 saat sonra besiyerinde meydana gelen mavi renk olumlu reaksiyonu gösterir.

7- Nitrat redükleme deneyi

Bakterilerin 24 saatlik buyyon kültüründen bir ekim halkası miktarı tüpün kenarında bastırarak ezmek suretiyle nitratlı buyyona ekildi. 37°C'de 48-72 saat tutuldu. Bu süre sonunda nitrat A ve B ayıraçlarından birer ml miktarında besiyerine ilave edildi. Birkaç dakikada belirtilen kırmızı renk olumlu olarak değerlendirildi.

8- İndol yapımının araştırıldığı deney

Bu deney için bakterinin maya özlü eğri çukulatamsı agar besiyerindeki 24 saatlik saf kültüründen, triptofanca zengin bir besiyeri olan 1/20 sulandırılmış balıklı buyyona, bir ekim halkasıyla tüpün kenarından bastırarak ezmek suretiyle, ekildi. Tüpün üst kısmına Ehrlich-Pringsheim çözeltisi emdirilmiş indol kağıtları asıldı. 24-48 saat 37°C'de üremeye bırakıldı. Bu süre sonunda asılı kağıdın renginin kızarması indolün varlığını gösterdi.

9- Karbonhidratlardan asit ve gaz oluşumunun incelendiği deney:

Bu deney Glukoz, D-Ksiloz, Mannitol, L-Ramnoz, Maltoz, Sukroz, Dekstrin, Galaktoz içeren sıvı karbonhidratlı besiyerleri kullanılarak yapıldı. Bakterilerin 24 saatlik yoğun buyyon kültüründen 0,1 ml miktarı bu besiyerine ilave edildi. 37°C'de bir hafta bekletildi. Bu süre içinde besiyerlerinde asit oluşumu sebebiyle meydana gelen sarı renk (+) olarak değerlendirildi.

10- Hemoliz deneyi

Bakterilerin maya özlü eğri çukulatamsı agar besiyerindeki 24 saatlik kültüründen bir ekim iğnesi miktarında alınan bakteri kültürü % 2 koyun kanlı agar besiyerine çizgi şeklinde ve ayrıca batırma yöntemiyle ekildi. Besiyerleri 37°C'de 48 saat üretime bırakıldı. Bu süre sonunda üreyen bakterilerin çevresinde beta hemoliz bir bölgenin oluşması (+) olarak değerlendirildi.

11- CAMP deneyi

% 2 koyun kanlı agarda şüpheli hemoliz gösteren bakterilerin hemoliz etkilerini belirgin bir şekilde ortaya çıkarmak üzere bu deney yapıldı. S.aureus'un 24 saatlik kültüründen bir ekim halkası miktarı kanlı agar besiyerinin ortasına 1 cm genişliğinde ekildi. Hemoliz etkisi denenen bakterilerin maya özlü eğri çukulataması agar besiyerindeki 24 saatlik kültürlerinden ekim iğnesi ile alınan ürün, bu bakterilere dik olarak ekildi. 48 saat 37°C'de üremeye bırakıldı. Bu süre sonunda iki bakterinin birbirine değdiği yerde artan bir beta hemoliz olumlu olarak değerlendirildi.

j) Mycobacterium cinsi bakterilerinin ayırım ve tanımı:

100 ml pastörleşmiş süt 3000 devirde 1/2 saat santrifüj edildi. Elde edilen çökelti steril fizyolojik tuzlu su ile yıkandı, tekrar santrifüj edildi. Homojenlendirildikten sonra üç tane Löwestein-Jensen besiyerine ekim yapılarak, besiyerleri 37°Cde altı hafta bekletildi.

B U L G U L A R

Pastörlemenin kontrolü için yapılan fosfataz deneyinin incelenen bütün örneklerde (-) olduğu tesbit edilmiştir.

Bu araştırmamızda incelediğimiz 70 pastörlenmiş süt örneğinde bakteri sayımlarının sonuçları 14.000/ml ile 198.000/ml arasında değişmektedir.

Bakteri sayım sonuçlarının firmalara göre dağılım ise: A firması, 22.000/ml - 146.000/ml; B firması 14.000/ml - 148.000/ml; C firması 17.400/ml , 128.000/ml, şeklindedir.

İncelenen bütün pastörlenmiş süt örneklerinin 100 ml'inde 1100'ün üzerinde koliform bakteri bulunmuştur. Üç firmaya ait 70 pastörlenmiş süt örneğinde Enterobacteriaceae ailesine (E.coli, Citrobacter, Yersinia....), Pseudomonas cinsi ile Aeromonas cinsine ait bakterilerle, Staphylococcus aureus ve Listeria cinsi bakteriler üretilmiştir. A firmasına ait pastörlenmiş süt örneklerinden ayrılan bakteriler, tablo 11'de B firmasına ait olanlar tablo 12'de, C firmasına ait olanlar tablo 13'de gösterilmiştir.

A firmasına ait örneklerin inceleme sonuçları Çizelge 1'de, B firmasına ait örneklerin inceleme sonuçları Çizelge 2'de, C firmasına ait olanlar ise Çizelge 3'de gösterilmektedir.

Üç firmaya ait pastörlenmiş süt örneklerinden ayrılan bakterilerin firmalara göre dağılımı (sayı ve yüzde olarak) Çizelge 14'de görüldüğü gibi sütlerde enterobacteriaceae ailesine ait çeşitli cinslerden olmuştur. Üretilen kökenlerin firmalara göre dağılımı aşağıdaki şekildedir.

İncelenen pastörlenmiş süt örneklerinden A firmasına ait 16 *E.coli*, 24 *Citrobacter*, 18 *Enterobacter*, 2 *Proteus*, toplam 60; B firmasına ait sütlerle ilgili olarak 13 *E.coli*, 24 *citrobacter*, 16 *enterobacter*, 5 *proteus*, 2 *yersinia*, toplam 60; C firmasına ait sütlerle ilgili olarak 11 *E.coli*., 12 *citrobacter*, 7 *enterobacter*, 7 *proteus*, toplam 37 köken üretilmiştir.

Her üç firmadaki toplam enterobacteriaceae ailesine ait kökenler, *E.coli* 40, *citrobacter* 60, *enterobacter* 51, *proteus* 14, *yersinia* 2 şeklindedir.

Yersinia enterocolitica B firmasına ait 2 pastörlenmiş süt örneğinden ayrılmıştır. A ve C firmalarında tesbit edilememiştir.

Çizelge 14'de görüldüğü gibi; *Aeromonas* cinsi bakteriler A firmasına ait 4, B firmasına ait 3, C firmasına ait 4 örnekten olmak üzere toplam 11 köken (% 15,7) olarak ayrılmıştır.

70 pastörlenmiş süt örneğinden toplam 11 *aeromonas* cinsi bakterisi ayrılmıştır. Bunların firmalara göre dağılımı tablo 15'de gösterilmiştir.

A firmasına ait örneklerden 1, C firmasına ait örneklerden 1 adet olmak üzere 2 tane *Aeromonas hydrofila*; A firmasından 1 tane ve B firmasından 1 tane olmak üzere 2 tane *Aeromonas caviae*; A firmasından 2, B firmasından 1, C firmasından 3 tane olmak üzere 6 tane *Aeromonas sabria*; B firmasından 1 tane olmak üzere 1 tane *Aeromonas veronii* üretilmiştir.

Çizelge 14 : Pastörlenmiş süt örneklerinden ayırdığımız bakterilerin firmalara göre dağılımı

| AYIRDIĞIMIZ BAKTERİLER | TOPLAM n=70 | A FİRMASI (n=24) | B FİRMASI (n=23) | C FİRMASI (n=23) |
|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | (%) | SAYI (%) | SAYI (%) | SAYI (%) |
| Esherichia coli | 40 % 57,14 | 16 % 66,6 | 13 % 56,52 | 11 % 47,82 |
| Citrobacter | 60 % 85,71 | 24 % 100 | 24 % 104,34 | 12 % 52,17 |
| Enterobacter | 51 % 72,85 | 18 % 75 | 16 % 69,56 | 14 |
| Proteus cinsi | 14 % 20 | 2 % 8,33 | 5 % 21,73 | 7 % 30,43 |
| Yersinia enterocolitica | 2 % 2,85 | - | 2 % 8,69 | - |
| Pseudomonas aureginosa | 4 % 5,71 | 1 % 4,16 | 1 % 4,34 | 2 % 8,69 |
| Aeromonas cinsi | 11 % 15,71 | 4 % 16,66 | 3 % 13 | 4 % 17,39 |
| Staphylococcus aureus | 3 % 4,28 | 1 % 4,16 | 2 % 8,69 | - |
| Listeria cinsi | 2 % 2,85 | 1 % 4,16 | 1 % 4,34 | - |

Çizelge 15

| <i>SÜT ÖRNEKLERİNDEN AYIRDIĞIMIZ AEROMONAS CİNSLERİ</i> | <i>Toplam</i> | <i>A firması</i> | <i>B firması</i> | <i>C firması</i> |
|---|---------------|------------------|------------------|------------------|
| | | 4 | 3 | 4 |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> | 2 | 1 | - | 1 |
| <i>Aeromonas caviae</i> | 2 | 1 | 1 | - |
| <i>Aeromonas sobria</i> | 6 | 2 | 1 | 3 |
| <i>Aeromonas veronii</i> | 1 | - | 1 | - |

Staphylococcus aureus A firmasından 1 B firmasından 2 adet olmak üzere toplam 3 (% 4,28) örnekten ayrılmıştır.

Listeria bakterileri 1 tane A firmasından, 1 tane B olmak üzere 2 örnekten (% 2,85) ayrılmıştır. A firmasından ayrılan kökenin *L.monocytogenes* B firmasından izole ayrılanın *L.innocua* oldukları tespit edilmiştir.

Her üç firmaya ait pastörleşmiş süt örneklerinin hiçbirinde *Salmonella* ve *Shigella*, *campylobacter jejuni* gibi barsak patojenleri ile *Brucella* ve *Mycobacterium* cinsine ait patojenler tesbit edilememiştir

T A R T I Ő M A

Süt ve süt örneklerinde kalite oluşmasında birçok faktörler rol oynayabilir ve bu faktörler imalat birimlerine, mamul madde çeşidine ve ülkelere göre farklılık gösterebilir. Ancak tüm süt sanayini etkileyen ve değişmeyen tek faktör çiğ sütün kalitesidir. Sütün kimya bileşiminin birçok faktörlerin etkisiyle değişmesi ve mikrobiyoloji niteliğinin her an değişken olması, çiğ sütte kalite kontrolünün önemini daha da artırmaktadır(87).

Sütün mikrobiyoloji yönünden kalitesi geniş ölçüde malzemelerin sanitasyon kalitesine ve sütün bulunduğu sıcaklık derecesine bağlı olarak hızlı bir değişim gösterir. Sütte sonradan uygulanan pastörleme, temizleme ve havalandırma gibi işlemler, bozulan mikrobiyoloji kalitesini çok sınırlı olarak etkiler. O halde sağımdan sonra dikkatli davranarak mikrobiyoloji kalitesinin bozulmamasına dikkat etmek gerekir. Üretim birimlerinin bu konuda gösterecekleri duyarlık, bütün süt ürünlerinin kalitesini doğrudan etkiler. Çiğ sütün dayanma gücü, diğer bir anlamda mikrobiyotası çeşitli faktörlerin etkisinde olmakla beraber, kullanılan malzemenin tam anlamıyla steril olması ve sütün hemen 1-5°C'ye kadar soğutulması bu konuda üzerinde durulması gereken en önemli iki faktördür. Bu koşullar yerine getirildiğinde yaklaşık olarak 20 saat sütte mikroorganizmaların üremesi çok zayıf bir olasılıktır(67).

Ayrıca yeni sağılan sütte bir bakterisid etki vardır. Bu etki süt soğutulmadığında 2-3 saat içinde kaybolur. Süt 10°C'ye kadar soğutulursa 24 saat 0°C'ye kadar soğutulursa 48 saatte bakterisid etkinin kaybolmadığı ve bu etkinin çiğ sütte bulunan Laktemin I ve Laktemin II'den meydana geldiği bildirilmektedir(93).

Türk Standartları Enstitüsünün (T.S.E) bildirdiğine göre çiğ sütler (T.S 1018/Temmuz 1971) kalitelerine göre üç sınıfa ayrılırlar(125).

- a) Ekstra: Renk, tat, koku, kıvam ve görünüşü kusursuzdur. Kirlilik derecesi en çok birdir. Toplam bakteri en çok 500.000/ml.dir.
- b) I.sınıf: Renk, tad, koku, kıvam ve görünüşte, belirli bir kusuru yoktur. Kirlilik derecesi en çok 3, toplam bakteri sayısı en çok 2.500.00/ml.dir.
- c) II.sınıf: Renk, tad, koku, kıvam ve görünüşte belirli bir kusuru yoktur. Kirlilik derecesi en çok 8'dir. Toplam bakteri sayısı milimetrede 2.500.000'den fazladır(124).

Ekstra veya birinci sınıf çiğ sütler, doğal biyoloji özelliklerine zarar vermeden patojen mikroorganizmaları öldürmek ve aynı zamanda sütün dayanma süresini uzatmak amacıyla pastörlenir (T.S. 1019) Temmuz 1971(124). Hem mikroorganizmaları öldürmek hem de sütün kendine özgü lezzetinin ve besin değerinin korunması bakımından pastörlemede ısı derecesi ve süresi önemlidir. Kalite ve besin değerini bozmadan sağlığa zararlı mikroorganizmaların öldürülmesi için süt, diğer ülkelerde 62.8°C'de 30 dakika veya 71.7°C'de 15 saniye, ülkemizde 85°C 15 saniye ısıtılır(124).

Pastörlenmiş sütlerle, pastörlemenin kontrolü için fosfataz testi uygulanır. Bu test sütteki ısıya dayanıklı patojen mikroorgnaizmalarla, aynı sıcaklıkta inaktif hale gelen fosfataz enziminin aktivite durumunu açıklayan bir işlemdir. Fosfataz testi pastörlenmiş sütlerde negatif olmalıdır. Fosfataz aktivitesi görülen süt örneğinin çiğ olduğu veya patojen mikroorganizmaların yok edilmesi için yeter dereceye kadar ısıtılmadığı, yahut-

ta pastörlenmiş süte çiğ süt katıldığı sonucuna varılır(125).

İncelenen bütün pastörlenmiş süt örneklerinde fosfataz testinin negatif olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar pastörlemenin yöntemine uygun bir şekilde yapıldığını göstermektedir.

Gıda maddeleri tüzüğüümüzde pastörlenmiş sütlerde; mililitrede toplam bakteri sayısının 40.000, koliform bakteri sayısının da 10'dan fazla olmaması gerektiği, E.coli ve sağlık için zararlı herhangi bir bakteri ve bunların toksinlerinin bulunmaması gerektiği bildirilmektedir. Türk Standartları Enstitüsünün TS 1019 numaralı pastörlenmiş sütler bölümünde bu süttten A ve B sınıfı pastörlenmiş sütler olarak 2 sınıfa ayrılmıştır(125).

A sınıfı pastörlenmiş sütler: Özel cihazlarda temizlenmiş ve homojenlendirilmiş ekstra kaliteli veya birinci sınıf çiğ sütlerin pastörlenmesi ile elde edilirler. Bir mililitresinde 20.000'den çok bakteri bulunmamalı, fosfotaz aktivitesi göstermemeli, metalimsi pişmiş ve okside olmuş ya da gayri tabii bir tad ve koku almamış olmalı, tüketime kadar 10°C'nin altında saklanmalıdır.

B sınıfı pastörlenmiş sütler: Özel cihazlarda temizlenmiş ekstra kaliteli veya birinci sınıf çiğ sütlerin pastörlenmesi ile elde edilir. Bir milimetresinde 40.000'den fazla bakteri bulunmamalı, 0,1 milimetresinde koliform bakteri ve Escheria coli ve sağlık için zararlı herhangi bir bakteri ve bunların toksinleri olmamalı, fosfataz aktivitesi göstermemelidir. Çok belirli pişmiş, metalimsi ve okside olmuş ya da gayri tabii bir tad ve koku almamış olmalı tüketimine kadar 10°C'nin altında saklanmalıdır(125).

Pastörlenmiş sütlere uygulanan mikrobiyoloji testleri özellikle pastörlenme sonrasındaki mikropla kirlenmeyi ortaya çıkarmak için büyük önem taşır. Bunlardan bir tanesi koliform testidir. Bu test malzemelerin kontrolü ve sonradan meydana gelen mikropla kirlenmenin tesbiti açısından çok değerlidir(67).

Çalışmamızda A firmasına ait 24 pastörlenmiş şişe sütü incelenmiştir. Bu örneklerden 10 tanesinde toplam bakteri sayısı 40.000/ml'nin altında (22.00/ml - 39.000/ml arasında), 14 tanesinde 40.000/ml üstündedir, 43.000/ml ile 146.000/ml arasında bulunmuştur. Bu sonuçlar A firmasının pastörlenmiş sütlerin de (toplam bakteri sayısına göre) T.S.E ve G.M.T.'ne uygun örnek sayısının 10 olduğunu göstermektedir (Tablo 16).

B firmasına ait 23 pastörlenmiş şişe ve kutu sütü incelenmiştir. Bu örneklerden 6 tanesinde toplam bakteri sayısı 40.000/ml'nin altında, (14.000/ml - 39.000/ml arasında), 17 tanesinde 40.000/ml'nin üstünde, (41.000/ml - 148.00/ml arasında) bulunmuştur. Bu sonuçlar B firmasının pastörlenmiş sütlerinde (toplam bakteri sayısına göre) T.S.E. ve G.M.T.'ne uygun örnek sayısının 6 olduğunu göstermektedir (Tablo 16).

C firmasına ait 23 pastörlenmiş şişe ve kutu sütü incelenmiştir. Bu örneklerden 10 tanesinde toplam bakteri sayısı 40.000/ml'nin altında (17.000/ml - 36.000/ml arasında)'dır. 13 tanesinde 40.000/ml'nin üstünde 46.000/ml - 142.000/ml bulunmuştur. Bu sonuçlar B firmasının pastörlenmiş sütler0165 (toplam bakteri sayısına göre) T.S.E. ve G.M.T.'ne uygun örnek sayısının 10 olduğunu göstermektedir (Çizelge 16).

Adisababa'da yapılan bir çalışmada; pastörlenmiş ve çiğ sütte sütün alınımından pastörleme işleminin bitimi ve tüketimine kadar üreyen mikroorganizmalar, koloni sayımları araştırılmıştır. Pastörlenmiş sütlerin mezofil aerop total bakteri miktarları 2×10^3 ve 2×10^4 cfu/ml arasında değişmesine rağmen çiğ sütün 5×10^5 ve 5×10^6 cfu/ml arasında değişmektedir. Yapılan araştırmalarda mezofili aerop miktarlar genellikle bildirilen ve kabul olunan değerlerden 100-1000 defa daha fazladır(83).

Pastörlenmiş süt örneklerinin % 70'inde mezofil aerop miktarı 7×10^5 cfu/ml'den daha az çıkmıştır. Pastörlenmiş sütün bekletildiği depolarda koloni sayımı daha yüksek değerler göstermiştir. Sonuç olarak pastörlenmiş sütün bekletildiği depoların ve fıçılardan mikrobiyotasının pastörlenmiş sütün mezofil aerop miktarını 2-4 defa fazlalaştırdığı görülmüştür(83).

Paketdeki pastörlenmiş sütün mezofil aerop miktarı, pastörlemeden paketlenmeye kadar 1×10^4 ile 4×10^6 cfu/ml arasında bir artış göstermektedir(83).

Bütün ülkelerde 1×10^4 cfu/ml'den daha az miktarda mezofil aerop olan bakterileri içeren pastörlenmiş sütler kabul olunabilir bir değerdir. Bu çalışmalarda süt örneklerinin % 86.6'sından daha fazlasının pastörlenmiş sütler için bildirilmiş en yüksek değerden daha düşük bir değerde kirlenme ile ilgili bakteri içerdiği bildirilmiştir(83).

Pastörlenmiş sütlerde ve çiğ sütlerde yüksek sayıda mezofil aerop bakterilerin bulunması süt sağarken veya pastörlemeden sonra mikroplarla kirlenmeyi göstermektedir(68).

Koliform bakteriler yönünden yapılan incelemede her üç firmaya ait pastörlenmiş süt örneklerinin hepsinde ml'de 10'dan fazla koliform varlığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar T.S.E ve G.M.T.'ne uygun değildir (Çizelge 16).

Çizelge 16 : Toplam bakteri sayımı

| <i>Firma</i> | <i>Toplam örnek sayısı</i> | <i>ml'de ortalama toplam bakteri sayısı</i> | <i>100 ml'de ortalama koliform bakteri sayısı</i> | <i>G.M.T. ve T.S.E ye uygunluk</i> |
|--------------|----------------------------|--|---|------------------------------------|
| A | 24 | 10 örnek 40.000/ml'in altında 14 örnek 40.000/ml'in üstünde | Bütün örneklerde ml'de 11'in üstünde | Uygun değil |
| B | 23 | 6 örnek 40.000/ml'in altında 17 örnek 40.000/ml'in üstünde | Bütün örneklerde ml'de 11'in üstünde | Uygun değil |
| C | 23 | 10 örnek 40.000/ml'in altında 13 örnek 40.000/ml'in üstünde | Bütün örneklerde ml'de 11'in üstünde | Uygun değil |

1990 yılında Anabilim Dalımızda yapılan bir araştırmada pastör- lenmiş süt örnekleri mikrobiyoloji açısından incelenmiş(85) ve 26 örnekten yalnızca üç tanesinin (% 11.53) G.M.T ve T.S.E'ne uygun olduğu tespit edilmiştir. 4 yıl sonra yaptığımız bu çalışmada hiçbir pastörlenmiş süt örne- ğinin G.M.T ve T.S.E.'ne uygun olmaması ilginçtir.

Pastörlenmiş sütlerin bulaşmaları, doldurma, taşıyıcı borular ve kapatma düzeyinde oluşabilmektedir. Mikrop kirlenmelerinde görülen kon- taminasyon mikroorganizmaları Enterobacteriaceae ailesinden: Pseudomo- nas, Aeromonas, Acinetobacter, Alcaligenes cinsleri, soğukta saklanan pas- törlenmiş sütleri bozmaları açısından önem taşırlar. Pastörlenmiş sütlerde bu bakterilere rastlanması pastörleme sonrasında bir mikrop kirlenmesine işaret eder. Çünkü bu mikroorganizmalar bilinen pastörleme derecelerinde yok edilirler (Kiewein ve ark. 1969)(67).

Çalışmamızda enterobacteriaceae ve üyelerinin;

A firması % 25.4, B firması % 26.9, C firması % 20,8 olduğu tes- bit edildi.

Bunların türlere göre dağılımı A firmasında: *Esherichia coli* 16 (% 66,6), *Citrobacter freundii* 15 (% 62,5), *Citrobacter diversus* 9 (% 37.5), *Enterobacter* 18 (% 75), *Proteus* cinsi 2 (% 8,33).

B firmasında: *E.coli*, 13 (% 56,52), *Citrobacter frunclii* 15, (% 65,21), *Citrobacter diversus* 9 (% 39,13), *Enterobacter* 16 (% 69,56), *Proteus* cinsi 5 (% 21,73), *Yersinia enterocolitica* 2 (% 8,69).

C firmasında: *E.coli* 11 (% 47.82), *Citrobacter freundii* 7 (% 30,43), *Citrobacter diversus* (% 21,73), *Enterobacter* 17 (% 73,9), *Pro- teus* cinsi 7 (% 30,43).

T.S.E'ye göre G.M.T'ye göre pastörleşmiş sütlerin 0,1 ml'de hiç E.coli bulunmamalıdır(97). İncelediğimiz üç firmaya ait örneklerin hepsinde E.coli'nin üretilmiş olması bunların hepsinin T.S.E ve G.M.T.'ye uygun olmadığını göstermektedir.

Pastörleşmiş sütlerden izole ettiğimiz E.coli kolonilerinin 60°C'de 20 dakika ısıya dayanıklı oldukları tespit edilmiştir.

İncelediğimiz tüm örneklerde - fosfataz testinin negatif olması bunların usulüne uygun pastörize edildiklerini göstermektedir. Ürettiğimiz enterobacteriaceae üyeleri pastörleşme sonrası bulaşmayı göstermektedir. Bu bulaşma yukarıda da bildirildiği gibi doldurma taşıyıcı borular ve kapama düzeyinde oluşabilmektedir. Bu çalışmada pastörleşmiş sütlerin konulacağı kapların (şişe, kutu) süt konulmadan önce mikrobiyolojik incelenme alınması düşünüldü. Ancak bunlar temin edilemediği için böyle bir inceleme yapılmadı. 1970 yılında Mikrobiyoloji Anabilim Dalımızda yapılan çalışmada doldurulmağa hazır pastörleşmiş süt şişelerinde E.coli bakterilerinin bol miktarda tespit edildiği bildirilmektedir(85).

Yaptığımız araştırmada Enterobacteriaceae üyelerinden Y. enterocolitica, B firmasına ait iki süt örneğinden üretilmiştir.

İnceleyebildiğimiz literatürde ülkemizde pastörleşmiş sütlerle yapılan bakteriyoloji çalışmalarında Y. enterocolitica'nın üretildiği bildirilmemiştir.

Yabancı kaynaklara bakıldığında Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir çalışmada pastörleşmiş sütlerin Y. enterocolitica infeksiyonlarının bulaşmasında bir araç olabileceği belirtilmiştir. 1982 yılı Haziran ve Temmuz aylarında Tennessee'e, Arkansas'da bir salgında 172 dışkı kültüründen Y. enterocolitica infeksiyonu bildirilmiş bu olaydan, kullanılan pastörleşmiş sütlerin sorumlu olduğu tespit edilmiştir(33).

1990 yılında İngiltere'de yapılan bir çalışmada şişelenmiş 112 pastörleşmiş süt örneğinin 15'inden *Yersinia* ayrılmış, bunların 5 tanesinin *Yersinia enterocolitica* olduğu bulunmuştur(57).

Brezilya'da 1991 yılında yapılan bir çalışmada 9 yıl süresinde çeşitli gıda maddeleri (çiğ süt, pastörleşmiş süt, hamburger, peynir, marul...) *Yersinia* bakterileri yönünden incelenmiş ve 448 kökenden 21 tanesinin pastörleşmiş sütlerden ayrılan *Y. enterocolitica* olduğu bildirilmiştir(43).

Hughes Avustralya'da yaptığı bir çalışmada pastörleşmiş sütlerden *Yersinia enterocolitica* ayırmış ve pastörleşmiş süt örneklerinin 6 tanesinde koloni sayılarının yaklaşık 108 mikroorganizma/ml olduğunu bildirmiştir(64).

Avustralya'da yapılan bir çalışmada Eylül 1987 ile Ağustos 1988 arasındaki 12 aylık bir sürede pastörleşmiş süt örnekleri incelenmiş 39 örnekten 11'inde *Yersinia enterocolitica* bakterileri üretilmiş ve bunların 9 tanesinin (% 82) *Y. enterocolitica* olduğu tespit edilmiştir(28).

1990 yılında İngiltere'de yapılan bir araştırmada 3 aylık bir sürede bir pediatri koğuşunda ishali olan çocuklardan 19'unda dışkı örneklerinden *Y. enterocolitica* serotipleri üretilerek bu sütlerin infeksiyondan sorumlu olduğu tespit edilmiştir(58).

Yersinia enterocolitica'nın çok fazla miktarda olunca pastörlemeye dayanabilmeleri, buzdolabı ısısında bile çoğalabilmeleri veya pastörleme sonrasında süte bulaşmaları, bu sütleri *Y. enterocolitica* infeksiyonları bakımından tehlikeli hale getirmektedir.

Pseudomonas aeruginosa'nın pastörleşmiş süt örneklerinde bulunması ürünün sağlıklı koşullarda üretilmediğine ve pastörlemeden sonra süte bulaştığına işaret eder(67).

Pseudomonas aeruginosa'nın bir fırsatçı patojen olması sebebi ile özellikle pastörlenmiş sütte beslenen çocukların sağlığı açısından önem taşır(129).

Çalışmamızda: A firmasının pastörlenmiş süt örneklerinden 1 (% 4,16), B firmasından 1 (% 4,34), C firmasından 2 olmak üzere toplam 4 köken ayrılmıştır.

Pseudomonas aeruginosa pastörleme ısısına dayanmamaktadır. Doğada çok yaygın olması sebebi ile pastörlenmiş sütlere kolaylıkla bulaşması söz konusudur(85,130).

1990 yılında Anabilim dalımızda yapılan bir çalışmada 20 pastörlenmiş süt örneğinden 4 tane *Pseudomonas aeruginosa* kökeni elde edilmiştir. Aynı çalışmada pastörlenmiş süt şişelerinin de kirli oldukları bulunmuş süt şişelerinden *Pseudomonas* üretilmiştir(85).

Günümüzde pastörlenmiş sütlerin sağlık şartlarına uygun saklanması ve doldurulması çok önemlidir(85).

Aeromonas cinsi bakterilerin pastörlenmiş sütlerde rastlanması pastörlemeden sonraki bir bulaşmaya işaret eder. İncelediğimiz 70 pastörlenmiş süt örneğinden toplam 11 *Aeromonas* cinsi bakteri üretilmiştir. Bunların firmalara göre dağılımı şöyledir. A firması sütlerinde 1 tane *Aeromonas hydrophila*, 1 *Aeromonas caviae*, 2 *Aeromonas sobria* olmak üzere toplam 4 *Aeromonas* cinsi; B firması sütlerinde 1 *A. caviae*, 1 *A. sobria*, 1 *A. veronii* olmak üzere toplam 4 *Aeromonas* cinsi; C firması sütlerinde 1 *Aeromonas hydrophila*, 1 *A. sobria* olmak üzere toplam 4 *Aeromonas* cinsi.

Elde ettiğimiz *Aeromonas* cinsi bakterilerin ısı deneyleri sonucunda 60°C'de 15 dakikaya tamamının duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Pastörlemenin kontrolü için uyguladığımız fosfataz testlerinin negatif olması ve bakterilerin yukarıda bildirilen ısı derecesine duyarlı

olmaları, bunların pastörlemeden sonraki bir bulaşma olduklarını göstermektedir.

İnceleyebildiğimiz yerli literatürde pastörlenmiş sütlerden Aeromonasların ayrılması ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. yabancı kaynaklara bakıldığında, Rusya'da yapılan bir araştırmada pastörlenmiş sütlerden Aeromonas bakterilerinin izole edildiği bildirilmektedir(55). Ancak kaynağına ulaşılmadığı için çalışma hakkında ayrıntılı bilgi elde edilememiştir.

Araştırmamızda incelediğimiz 70 pastörlenmiş süt örneğinin hiçbirinde Campylobacter jejuni bulunamamıştır. İnceleyebildiğimiz yerli literatürde pastörlenmiş sütlerden C.jejuni ayrılması ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yabancı kaynaklara bakıldığında aynı şekilde pastörlenmiş sütlerde C.jejuninin tespit edilemediği görülmektedir. Ancak çiğ sütlerden bu bakterinin aydıldığına ait çalışmalara rastlanmaktadır.

Çizelge 15: Çeşitli pastörize süt örneklerinden izole edilen Aeromonas bakterilerinin 50-60°C arasında 30'uncu dakikaya kadar olan ısıya dayanıklılık deneyinin sonuçları

| Çalışılan Kökçemler | 50°C | | | | | | 55°C | | | | | | 60°C | | | | | | 65°C | | | | | |
|---------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|---|
| | 5' | 10' | 15' | 20' | 25' | 30' | 5' | 10' | 15' | 20' | 25' | 30' | 5' | 10' | 15' | 20' | 25' | 30' | 5' | 10' | 15' | 20' | 25' | |
| A.Hydrophila | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A.Sobria | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A.caiae | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Açıklamalar:

+: Isıya dayanıklılık deneyi sonucu canlı kalan

-: Isıya dayanıklılık deneyi sonucu yaşamayan

±: Isıya dayanıklılık deneyi sonucu iki deneyden birine canlı kalan

Güney Galler'de yapılan çalışmalar C.jejuni infeksiyonlarının Mayıs ayı içinde arttığını göstermiş bu durum kuşların saldırısına uğrayan şişe sütlerinin tüketilmesine bağlanmıştır. 36 olgunun 32 tanesi 2 kontrol olgusu ile tartışılmış yaş ve yaşama bölgesine göre, C.jejuni infeksiyonları ile kapı önüne bırakılan şişeler arasındaki dışkı, kuşların saldırısına uğrayan süt şişeleri, hastalıktan bir hafta önce, kuşların saldırısına uğrayan şişelerin tüketimi ile infeksiyon arasında ilişki kurulmuştur(117).

Araştırmamızda incelediğimiz 70 pastörlenmiş süt örneğinin hiçbirinde Brucella bakterileri bulunamamıştır. Yerli kaynaklara bakıldığında Anabilim Dalımızda 1991'de yapılan bir çalışmada pastörlenmiş süt örneklerinde aynı şekilde Brucella bakterileri tespit edilememiştir(118).

Pastörlenmiş sütlerde Brucella bakterilerinin üremesinin sebebi bu mikrobun pastörlenme sırasında harap olmamasına bağlanabilir(130).

Araştırmamızda incelediğimiz 70 pastörlenmiş süt örneğinden 3 tane Staphylococcus aureus üretilmiştir. Bunların 1 tanesi A firması, 2 tanesi B firmasının sütlerine aittir.

Staphylococcus aureus 70°C'de 23 saniyede ölür ve buna bağlı olarak pastörlemeye dayanamaz. 3 tane pastörlenmiş süt örneğinden S.aureus kökeninin ayrılması bunların pastörleme sonra bulaşmış olabileceğini düşündürülebilir.

Araştırmamızda incelediğimiz 70 pastörlenmiş süt örneğinin 2 tanesinde Listeria cinsi bakteri üretilmiş, bunların 1 tanesinin A firmasına ait örnekte L.monocytogenes, diğerinin B firmasına ait örnekte L.innocua oldukları tesbit edilmiştir. Yerli kaynaklara baktığımızda 1991 yılında Anabilim Dalımızda yapılan bir araştırmada 37 pastörlenmiş süt örneğinden 8 tane Listeria cinsi bakteri (% 21,62) ayrılmıştır. Bunların 2 tanesinin L.monocytogenes, 4 tanesinin L.innocua, 2 tanesinin L.grayi oldukları tespit edilmiştir(119).

1992 yılında Anabilim dalımızda yapılan bir araştırmada 50 pastörleşmiş süt örneğinin 10 tanesinden *Listeria* cinsi bakteriler ayrılmış bunlardan (% 20) 3 tanesinin *L.monocytogenes*, 1 tanesinin *L.innocua*, 3 tanesinin *L.welshimeri*, 1 tanesinin *L.seeligeri*, 1 tanesinin *L.ivanovii*, 1 tanesinin *L.grayi* oldukları tespit edilmiştir(119).

Bu çalışmalara göre pastörleşmiş sütlerde *Listeria* bakterilerinin bulunması pastörleşmenin bu bakterileri ortadan kaldırmadığını göstermektedir.

Yapılan çalışmalar *Listeria* bakterilerinin pastörleşmeye dayanıklı olabileceğini göstermektedir. Bu sebeple sütte bu bakterilerin yaşama ve çoğalmalarını etkileyen faktörler büyük önem taşımaktadır. WHO, 1988'den itibaren 71,7°C'de 15 saniyelik pastörleşmenin süt içindeki *L.monocytogenes*'e karşı güvenilir bir ısı işlemi olduğunu belirlemiştir. Böyle olmakla beraber çeşitli ülkelerde farklı zamanlarda görülen listeriyöz salgınlarında infeksiyon kaynağının pastörleşmiş sütler olduğu da anlaşılmıştır(106,133).

1983'de Massachusetts'de pastörleşmiş süttten kaynaklanan 49 listeriyöz vakası saptanarak bunların 40'ından *Listeria monocytogenes* ayrılmıştır. *Listeria* bakterilerinin pastörleşmeğe dirençli olabileceğini veya süttün pastörleşmesinden sonra bulaşabileceğini gösteren yayınlar da bulunmaktadır(22,26,38).

1985 yılında İspanya'da (% 32 yağ içeren 78°C'de 5 saniye işlem gören) 28 pastörleşmiş süt örneğinin 6'sından *Listeria monocytogenes* elde edildiği bildirilmiştir. 1985 yılında Atlanta'da yapılan bir araştırmada pastörleşme işlemlerinin yapıldığı tesiste kullanılan 14 süt filtresi örneğinden 2 tane (% 14) *L.monocytogenes* tespit edilmiştir(60).

Pastörleşmiş sütlerden *Listeria* bakterilerinin elde edilmesi, pastörleşme işlemi hakkında veya temizlik konusunda şüphelerin doğmasına yol açmıştır. Böyle bir tesiste pastörleşmiş sütlerin % 20'den fazlasında *Listeria* cinsinden bakteriler elde edildiği yazılmıştır(106).

Bu sonuçlara dayanarak pastörlenmiş sütlerin listeriyoz açısından güvenilir olmadığı kabul edilebilir. *Listeria*'ların pastörlenmeğe dayanabilmesinin sebebi bu bakterilerin makrofaj ve nötrofillerin içersinde bulunmasına bağlı olduğu da sanılmaktadır(68).

Pastörlenmiş sütlerde *Listeria* bakterilerinin bulunması bu bakterilerin ısıya dayanıklılık sorusunun incelenmesini gerektirmiştir. Birçok araştırmacı *Listeria* bakterilerinin ısıya dayanıklılığını incelemek üzere deneyler yapmıştır. 1987 yılında Berkers ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada *Listeria* bakterilerinin 65°C'de 30 dakikalık bir ısıtma süresi sonunda canlı kalan bakterilerin olduğunu bildirmiştir(14).

Anabilim dalımızda *Listeria* bakterileri ile yapılan ısı deneyi sonunda bakterilerin 60°C'de 30 dakikada oldukları tespit edilmiştir(119).

Araştırmamızda incelenen 70 pastörlenmiş süt örneğinin hiçbirinde *Mycobacterium* cinsi bulunmamıştır. Sütlerin pastörlenmesinde uygulanan ısı dereceleri ve etki süreleri, relatif termorezistan bir hastalık etkeni olan *Mycobacterium* türlerinin inaktif hale getirilmesine göre ayarlanır(67).

Pastörleme sırasında herhangi bir aksaklık veya pastörlemeden sonra bir mikropla kirlenme durumu yukarıdaki örneklerde görüldüğü gibi pastörlenmiş sütleri tehlikeli hale getirebilmektedir. Hocamız Prof.Dr.Ekrem Kadri Unat ve Virjin Kasparyan'ın yaptıkları bir çalışmada kabartma yöntemi uygulanan sütlerde *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella typhi*, *S.paratyphi A*, *S.paratyphi B*, *Shilgella schmitzii*, *Sh.flexneri*, *Sh. sonnei*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *P.vulgaris*, *P.rettgeri*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus*, *Brucella abortus*, *B. melitensis* ve *Corynebacterium diphtheriae* kökenlerinin öldüğünü göstermiştir(127).

Sütü ısıtarak kabartma metodu "Türkiye'nin en üst basit köylerinden en modern şehirlerine kadar her tarafta şimdiye kadar kullanılagelmiş-

tir. Bu metod bizim beslenme sistemimizde hiçbir aksaklık yaratmamış ve memleketimizde sütten ileri gelen salgınlar görülmemiştir(127).

Sütü ısıtarak kabarta metodunun diğer bir iyi tarafıda kontrollü olmasıdır. Bilindiği gibi sütün içinde bakterilerin tesiri ile laktoz parçalanır ve meydana gelen laktik asidin miktarı arttıkça gözle bir bozukluk önceden farkedilmez. Fakat süt ısıtılırsa, kesilmek suretiyle bu bozukluk ortaya çıkar. Bu şekilde halk sütün kesilmiş olduğunu da anlar ve bu sütleri içmez. Bu metodun bir üçüncü iyi tarafı da basitliğidir. Sütün ısıtılmasına yarayan bir kapla, bir hareket kaynağından başka hiçbir şeye ihtiyaç yoktur(127).



S O N U Ç

Bu araştırma Ocak 1994-Mayıs 1994 tarihleri arasında üç farklı firma tarafından değişik tarihlerde üretilen ve İstanbul'un çeşitli semtlerinde tüketime sunulan 70 pastörlenmiş süt örneği kullanarak Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Pastörleme kontrolü için sütlere uygulanan fosfotaz testi tüm örneklerde (-) olarak bulunmuştur. Bu pastörleme işleminin usulüne uygun bir şekilde yapıldığını göstermektedir. Ancak pastörleme usulüne uygun bir şekilde yapılmış olmasına rağmen üç firmaya ait pastörlenmiş süt örneklerinin tümü gerek ml'deki total bakteri sayımı, gerekse koliform bakteri sayımı bakımından gıda maddeleri tüzüğü (G.M.T) ve T.S 1019 numaralı pastörlenmiş süt standardına uygunluk göstermediği tespit edilmiştir.

Ayrıca patojen bakteriler yönünden yapılan inceleme sonucunda örneklerde pastörlenmiş sütlerde bulunmaması gereken *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas auruginosa*, *aeromonas* cinsi, *Yersinia enterocolitica* gibi patojenler tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar gösteriyor ki pastörleme işlemi her ne kadar usulüne uygun olarak yapılırsa bile sütlerin şişelere doldurulmasından tüketiciye ulaştırılıncaya kadar herhangi bir kontaminasyon söz konusudur.

Ö Z E T

Bu araştırma Ocak 1994 - Mayıs 1994 tarihleri arasında üç farklı firma tarafından değişik tarihlerde üretilen ve İstanbul'un çeşitli semtlerinde tüketime sunulan 70 pastörlenmiş süt örneği kullanılarak Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Pastörlemenin kontrolü için sütlere uygulanan fosfataz testi tüm örneklerde negatif olarak bulunmuştur.

Üç firmaya ait pastörlenmiş süt örneklerinin Gıda Maddeleri Tüzüğü ve Türk Standartları Enstitüsü'ne "T.S 1019 numaralı pastörlenmiş süt standartına" uygun olup olmadığı araştırılmıştır. Tüm örneklerin bu standartlara (ml'deki total bakteri sayımı ve koliform bakterilerin sayısı bakımından) uygun olup olmadığı tespit edilmiştir.

Ayrıca bakteriler yönünden yapılan inceleme sonunda A firmasına ait 24 örnekten E.coli 16 (% 66.6), Pseudomonas aeruginosa 1 (% 4.16), Aeromonas cinsi 4 (% 16,66). -1 A.hydrophyla, 1 A.caviae, 2 A.sobria olarak- Staphylococcus aureus 1 (% 4,16), Listeria monocytogenes 1 (% 4,16) tane ayrılmıştır. B firmasına ait 23 örnekten E.coli 13 (% 56,52), Yersinia enterocolitica 2 (% 8.69) Pseudomonas aeruginosae 1 (% 4.34) Aeromonas cinsi 3 (% 13) (-1. A.caviae, 1 A.sobria, 1 A.veronii

olarak-) *Staphylococcus aureus* 2 (% 8.69), *Listeria innocua* 1 (% 4.34) tane izole edilmiştir. C firmasına ait 23 örnekten *E.coli* 11 (% 47.82), *P.aeruginosa* 2 (% 8.69), *Aeromonas* cinsi 4 (% 17,39) (-1 *Aeromonas hydrophyla*, 3. *A.sobria* olarak,) 4 tane ayrılmıştır.

3 firmaya ait pastörleşmiş süt örneklerinin hiçbirinde *Salmonella* ve *Shigella*, *Campylobacter jejuni* gibi enterik patojenler, *Brucella* ve *Mycobacterium* cinsine ait patojenler tespit edilememiştir.

S U M M A R Y

This investigation has been followed from January 1994-to May 1994 in Cerrahpaşa Medical Faculty, Clinic of Microbiology of Microbiology Science, using 70 pasteurized milk samples produced by three different companies on different dates and sent to be consumed in several quarters of Istanbul.

The fosfatase test applied to milks for the control of pasteurization was found to be negatif in all samples.

These pasteurized milk samples belonging to three companies were investigated if they were in accord to the regulations of nutritious substances and to the number 1019 pasteurized milk standarts of the Institute of Turkish Standarts. All the samples (According to the number of bacteries in a ml and the number of coliform bacteries) were proved not to be in accordance with the standarts.

As a result of the observation made on the aspect of pathogeneus bacteries; Of 24 samples belonging to A company 16 (66.6%) E.coli, 1 (4.16%) Pseudomonas aeruginosa, 14 (16.66%) Acromonas species, (1as A.Hydrophyla, 1as A caviae, 2as A.sobria -) 1 (4.16%) Staph. aureus, 1 (4.16%) Listeria monocytogenes were isolated. Of 23 samples belonging to B company 13 (56.52%) E.coli, 2 (8.69%)

Versinia enterocolitica, 1 (4.34%) *Pseudomonas aeruginosa* 3(13%) *Aeromonas* species (-1as *A.caviae*, 1as *A.sobria* and 1as *A veronii*), 2 (8.69%) *Staph.Aureus*, 1 (4.34%) *Listeria innocuae*, were isolated. Of 23 samples belonging to a company 11 (47.82%) *E.coli*, 2 (8.69%) *P.aeruginosae*, 4 (17.39%) *Aeromonas* species (-1 as *Aeromonas hydrophylo*, 3as *A.sobria*) were isolated.

In none of the pasteurized milk samples of three companies, enteric pathogens like salmonella, shigella and corynobacteria jejuni, *Brucella* and *Mycobacteria* species like pathogeus were not found.

KAYNAKLAR

- 1- Abbott SL, Ceung WK, Kroske-Bystrom S, Malekzadeh T. and Janda JM: Identification of Aeromonas Strains to The Genospecies Level in The Clinical Laboratory. J. Clin. Microbiol. 30:5:1262-1266, 1992.
- 2- Abramson C: Staphylococcal Enzyme. In Cohen JO (ed): The Staphylococci p:187. Wiley-Interscience, New York, 1972.
- 3- Aeromonas and Plesiomonas as Food and Water Borne Pathogens. International Journal of Food Microbiology, 12 (1991) 303-312.
- 4- Aktaş G: Staphylococcus aureus Suşlarının Protein A ve Koagulaz Aktivitelerinin Tanımlanması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 1990.
- 5- Al-Ghazli MR: Isolation Procedure of Listeria Species, İnfeks. Derg. 2:541, 1988.
- 6- Allen DA, Austin B. and Colwell R.R: Aeromonas Media, a new Species Isolated from River Water. Int. J. Sys. Bacteriol. 33:3:599-604, 1983.
- 7- Alton CG, Jones ML, Dietz DE: Laboratory Techniques in Brucellosis, 2.Baskı, WHO, Geneva, 1975.

- 8- Altwegg M. and Geiss HK: *Aeromonas* as a Human Pathogen. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* 16:4:253-286, 1989.
- 9- Anđ Ö, Berkman S, Kocazeybek B, Anđ-Küçüker M: Gebelik ve Listeriyoz. *İnfeks. Derg.* 3:195, 1989.
- 10- **Antibiyotik Bülteni, Cilt: 3, Sayı: 2, 1993.**
- 11- Bailey WR, Scott F: *Diagnostic Microbiology.* Forth Edition, s:162-167, 377, Mosby Company, Saint Louis, 1974.
- 12- Balows A, Hausler Jr, W.J, Herrman K.L, Isenberg H.D. and Shadomy H.J: *Manual of Clinical Microbiology, 5'th. ed., American Society for Microbiology, Washington DC, 1991.*
- 13- Bannerman SE, Bille J: A New Selective Medium for Isolating *Listeria* spp. from Heavily Contaminated Morterial Appl. *Environ. Microbiol.* 54:165, 1988.
- 14- Beckers HJ ve arkadaşları: The Occurence of *L.monocytogenes* in soft cheeses and raw milk and its resistance to heat. *Inf. J. Food.* 4:249, 1987.
- 15- Benjamin V, Parsons K: *Essentials of Medical Microbiology* 3rd ed. s:373, 1986.
- 16- Beumer RR, Cruysen JJ, Birtantie IR: The Occurence of *Campylobacter jejuni* in raw cow's milk. *Microbiology and Hygiene, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands, 1988.*
- 17- Bisping W: Die Listeriose und ihre Milchhygienische Bedeutung Kie-ler Milchwert. *Fors changsberg* s:595, 1957.
- 18- Blaser MJ, Wells JG: *Campylobacter enteridis* in The United States. *Ann. Int. Med.* 98:360, 1983.

- 19- Blazer JM: Gorbach Infection. J.B.Lippincott Company Philadelphia, Sayfa: 596, 1992.
- 20- Borza M: Listeriosis and Milk. N. Engl. J. Med. 312:438, 1985.
- 21- Bradshaw JG, Peeler JT, Corwin JM, Hunt JM, Tiorney JT, Lorkin EP, Twedt RM: Thermal Resistance of *Listeria monocytogenes* in milk. J. Food. Prot. 48:743, 1985.
- 22- Bradshaw JG, Peeler JT, Corwin JM, Hunt JM, Twedt RM: Thermal Resistance of *Listeria monocytogenes* in Dairy Products. J. Food Prot. 50:545, 1987.
- 23- Brigilтта Nile'hn: Studies on *Yersinia enterocolitica*, Acta Path. et Microbiol. Scandinav. 69:83, 1967.
- 24- Buchanan RE and Gibbons NE: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, s:217-243, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1975.
- 25- Buckwald FJ, Ronald AR, Harding GKM, Marrie TJ, Fox L and Cates C: Biotyping of *Escherichia coli* by a Simple multipl-inoculation agar plate techniques. Clin. Microbiol. 10:275, 1979.
- 26- Bunning KV, Crowford RG, Bradshaw JG, Peeler JT, Tierney ST, Twedt RM: Thermal Resistance of Intracellular *Listeria monocytogenes* Cells Suspended in Raw Bovine Milk. App. Environ. Microbiol. 52:1388, 1986.
- 27- Burke V, Robinson J, Atkinson MH and Gracey M: Biochemical Characteristic of Enterotoxigenic *Aeromonas* spp. J. Clin. Microbiol. 15:1:48-52, 1982.

- 28- Butt HL, Gordon DL, Lee Archer T, Moritz A, Merrel WH: Relationship Between Clinical and Milk Isolate of *Yersinia enterocolitica*, Pathology 1991 Apr. 23(2):153-7.
- 29- Butzler JP: Infections With Campylobacterias. Modern Topics in Infection. s:214 MT4. Williams Heinemann Medical Books Limited, London, 1978.
- 30- Carnahan AM, Behram S and Joseph SW: Aerokey II: A Flexible Key For Identification Clinical Aeromonas Species. J. Clin. Microbiol. 29, 12:2843-2849, 1991.
- 31- Carnahan AM, Chakraborty T, Fanning GR, Verma D, Ali A, Janda JM and Joseph SW: *Aeromonas trota* sp. nov., an Ampicillin-Susceptible Species Isolated from Clinical Specimens. J. Clin. Microbiol. 29:6:1206-1210, 1991.
- 32- Carnahan AM and Joseph SW: *Aeromonas* Update: New species and global distribution. *Experientia* 47, 402-403, 1991.
- 33- Carol O, Tacket MD: A Multistate Outbreak of Infectious Caused by *Yersinia enterocolitica* Transmitted by Pasteurized Milk. *Nort Am.* 1992.
- 34- Christie AB: Infectious Disease: 4.Ed. Churchill Livingstone, New York, 1987.
- 35- Colwell DA ad Addock P: Isolation of *Aeromonas* spp. from Water by Using Anaerobic Incubation. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:9, 2138-2140, 1989.
- 36- Coşar G, Tümbay E, İnci R: Susceptibility of *Listeria monocytogenes* to Ampicillin and Ampicillin/Sulbacton Combination in vitro study with disc diffusion test. *İnfeks. Derg.* 2:599, 1988.

- 37- Cruickshank R: Medical Microbiology, II.Baskı, Churchill Livingstone. London, Edinburgh, 1968 (978).
- 38- Doyle MP, Schoeni JL: Selective-Enrichment Procedure for Isolation of *Listeria monocytogenes* from Fecal and Biologic Species. Appl. Environ. Mikrobiol. 51:1127, 1986.
- 39- Doyle MP, Gloss KA, Beery JT, Garcia GA, Pollarel PJ, Schultz RD: Survival of *Listeria monocytogenes* in Milk During High-Temperature, Short-Time Pasteurization. Appl. Environ. Microbiol. 53:1453, 1987.
- 40- Elberg SS: Immunity to Brucella Infection Medicine. 52:339, 1973.
- 41- Erdle E: Zum Vorkommen von Listerien in Käse, Fleisch und Fleischwaren. Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktor Würde der Tierr rztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, 24, 1988.
- 42- Erk M: D nyada ve  lkemizde T berk lozun Tanı ve Tedavisinde Geirilen Evrimler. Klinik Gelişim, 2:558, 1989.
- 43- Falcao DP: Occurrence of *Yersinia* spp. in Foods in Brazil. Int. J. Food. Microbiol. 14(2):179-82, 1991 Nov.
- 44- Fang G, Araujo Y, Guerrant RL: Enteric Infections Associated With Exposure to Animals or Animal Products. Infect. Dis. Clin. North. Am. (3), 681-707, 1991 Sep.
- 45- Fernandez-Garayzabal JF, Dominguez-Rodriguez L, Vasquez Boland JA, Blanco Cancelo JL, Suarez Fernandez G: *Listeria monocytogenes* dans le lait pasteurise. Can J. Microbiol. 32:149, 1986.
- 46- Fernandez Garayzabal JF ve arkadaşları: *L.monocytogenes* in pasteurized milk. Can. J. Microbiol. 32:149, 1986.

- 47- Fleming DW, Cochi SL, McDonald KL ve arkadaşları: Pasteurized Milk as a Vehicle of Infection in an Outbreak of Listeriosis. *New England J. Med.* 312:404, 1985.
- 48- Forsgreen A, Sjöquist J: Protein A from *S.aureus*, VII.Physicochemical and Immunological Characterization, *Acta Path. Microbiol. Scandinav.* 75:466, 1969.
- 49- Foster EM, Welson FE, Speck ML, Doetsch RN, Olson JG, Jr: *Dairy Microbiology*, Prentice-Hall, Inc. New Jersey, 1957.
- 50- Freeman BA: *Burrows Textbook of Microbiology*, 21'st. ed., WB Saunders Co. Philadelphia-London, Toronto, 1973.
- 51- Fuerst R: *Frobisher and Fuerst's Microbiology in Healthy and Disease* W.B.Saunders Co. Philadelphia, 1983.
- 52- Gıda Maddeleri Tüzüğü (GMT).
- 53- Gilbert RJ, Pini PN: Listeriosis and Food-Borne Transmission *Lancet* 1, 473, 1988.
- 54- Golden DA, Beuchat LR, Brackett RE: Direkt Nating Technique for Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. *J. Assoc. off Anal Chem* 71:647, 1988.
- 55- Gralova II: Characteristics of *Aeromonas* Isolated From Dry And Pasteurized Milk. *Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunological.* (5)107-8 1981 May.
- 56- Gray MK: Epidemiological Aspects of Listeriosis. *Amer J. of Public Health* 53:554, 1963.

- 57- Greenwood MH, Hooper WL: Human Carriage of *Yersinia* Spp. *J. Med. Microbiol*, 23:345-8, 1987.
- 58- Greenwood MH, Hooper WL, Redhouse JC: The Sources of *Yersinia* Spp. in Pasteurized Milk. *Public Health Laboratory, Pool General Hospital, London*, 104/3:351-60, 1990 June.
- 59- Harris NY, Kimball TJ, Bennett P, Johnson Y, Wakely D, Nolan CM: *Campylobacter jejuni* enteritis Associated With Raw Goat's Milk. *United States*, 1987.
- 60- Hayes PS, Feeley JC, Graves LM, Ajello GW, Fleming DW: Isolation of *Listeria monocytogenes* From Raw Milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 51:438, 1986.
- 61- Hickman-Brenner FW, Fanning GR, Brenner Don J and Farmer III JJ: *Aeromonas Schubertii*. A New Mannitol-Negative Species Found in Human Clinical Specimens. *J. Clin. Microbiol.* 26:8, 1561-1564, 1988.
- 62- Holmberg SD: *Cholera and Related Illnesses Caused by Vibrio Species and Aeromonas*. *Gorbach Microbiology*, J.B.Lippincott Company Philadelphia, s:605, 1992.
- 63- Howard BJ, Kloos WE: *Staphylococci*. BJ Klass II, SJ Rubin. AS Weissfeld. RC Tiltov (Eds): *Clinical and Pathogenic Microbiology*. s:231, The CV Mosby Co, St.Louis, Washington DC, Toronto, 1987.
- 64- Hughes D: Isolation of *Yersinia enterocolitica* From Milk and a Dairy Farm in Australia. *J. Appl. Bacteriol.* 46:125-30, 1979.
- 65- Ibrahim A, Mac Rae JC: Incidence of *Aeromonas* and *Listeria* spp. in Red Meat and Milk Samples in Brisbane, Australia, 1990.

- 66- International Journal of Food Microbiology 12, 303-312, 1991.
- 67- İnal T: Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi. Final Ofset, s:395, 402, 406, 412, 417, 418, İstanbul, 1990.
- 68- İnal T, Ergün Ö: Süt ve Süt Ürünleri Teknolojisi. Panzehir Yayınları 1. İstanbul, 1990.
- 69- Janda JM, Keitang M and Bottono EJ: Biotyping of Aeromonas Isolates as a Correlate to Polinoating a Species. Associated Disease Spectrum J. Clin. Microbiol. 19, 1:44-47, 1984.
- 70- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA: Review of Medical Microbiology, 7. ed. Appleton and Large Warwolk, 1987.
- 71- Johnston AM: Foodborne Illness. Lancet, 336:856, 1990.
- 72- Joklik W, Willett H, Amos B: Zinsser Microbiology Appleton, Century Crofts, 18th. ed. Connecticut, 1984.
- 73- Jones D: Taxonomy of Listeria. İnfeksiy. Derg. 2:461, 1988.
- 74- Jones D: Foodborne Illness-Lancet 336:1171, 1990.
- 75- Kaplan MH, Tenenbaum MJ: S.Aureus, Cellular Biology and Clinical Application. Am. J. Med. 72:248, 1982.
- 76- Kasımoğlu Ö: Tüberküloz Mikrobiyolojisi. Klimik Dergisi, 2:3, 1989.
- 77- Kloos WE, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: Diagnostic Microbiology, Fourth Edition, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 147-149, 246-248, 1992.

- 78- Krenberg JE: Outbreaks of Listeriosis, Listeria-Contaminated Foods, Mikrobiological Sciences 12:355, 1988.
- 79- Kuijper EJ, Steigerwalt AG, Schoenmakers BSCIM, Peters MT, Zoner HC and Breuner NJ: Phenotypic Characterization and DNA Relatedness in Human Fecal Isolates Aeromonas spp. J. Clin. Microbial 27:132-138, 1989.
- 80- Le Gugon R: Précis de Bactériologie. s:446 G.Dion, Paris, 1961.
- 81- Listeriosis: Lancet, 1:83, 1989.
- 82- Lovett J: Isolation and Identification of Listeria monocytogenes in Dairy Product, J. Assoc. off Anal Chem 71:658, 1988.
- 83- Mahor T, Gashe BA: A Survey of The Microflora of a Raw and Pasteurized Milk and The Sources of Contamination in a Milk Processing Plant in Addis Ababa, Ethiopia, 1989.
- 84- Mamal Torun M: Pseudomonas aeruginosa kökenlerinin piyosin oluşturmalarına göre tiplendirilmesi üzerine çalışmalar. Uzmanlık tezi, İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 1981.
- 85- Mamal Torun M: İstanbul'da Süt ve Yoğurt Sorunu, Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği, Yay.No:7, 1990.
- 86- Martin JB: Infections Due to Campylobacter and Helicobacter Species, Vol.79.
- 87- Metin M: Süt ve Mamullerinde Kalite Kontrolü. Ankara Tic. Borsası Yay. No: 1, s:16, 1977.

- 88- Moon H.Orskov Ruwe Band Sack RR: Les diarrhées à Escherichia coli. Groupe de Travail Scientifique de L'OMS. Bulletin WHO, 58:831, 1980.
- 89- Morse DL, Shayegani M, Gallo RJ: Epidemiologic Investigation of a Yersinia comp. Outbreak Linked to a Food Handler Am. J. Public Health 74:589, 1984.
- 90- Moustardier G: Bactériology Médicale. 4 ème edition. s:261-265, Librarie Maloine S.A.éditeur, Paris, 1972.
- 91- Movitz J: A Study on The Biosynthesis of Protein A in S.Aureus, Eur J. Biochem. 48:131, 1974.
- 92- Nihat Ö: İstanbul Sütlerinde Bakteriyolojik Bir Araştırma. Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1977.
- 93- Nursoy N: Listeriya Bakterilerinin Koyun ve Sığır Dışkılarından Ayrılması İçin Besiyeri Geliştirme Çabaları. Uzmanlık Tezi, İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 1989.
- 94- Olson C, Dunnla Rollins L: Methods for Isolation of Listeria monocytogenes From Sheep. Amer. J. Vet. Res. 14:82, 1953.
- 95- Orskov I, Orskov F, Jann B and Jan K: Serology, Chemistry and Genetics of and K Antigenes of Escherichia Coli. Bacterial Rev. 41:667, 1977.
- 96- Öztürk R: Uzmanlık Tezi. Aktif akciğer tüberkülozlularda Elisa yöntemi ile spesifik IgG ve IgM araştırılması. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 1991.

- 97- Öztürk R, Midilli K, Okyay K, Eroğlu C, Aygün G, Kenani Y, Sarsar A: Çocuk ve Erişkin Yaş Grubu Sürgün Olgularında *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli* Sıklığının Araştırılması, 1994 (Baskıda).
- 98- Pollack M: *Pseudomonas*. Gorbach İnfeksiyon Hastalıkları, s:1502, 1992.
- 99- Popoft M: Genus III *Aeromonas* Kluyue and Van Niel, 1936-388, in Kriog NR and Holt JG (ed). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol:1, page:545-548. Williams-Wilkins Co., Baltimore, 1984.
- 100- Public Health Laboratory Service Study Group *Cryptosporidiosis* in England and Wales: Prevalance and Clinical and Epidemiological Features. *Br. Med.* 300:774-77, 1990.
- 101- Retting PJ: *Campylobacter* Infections in Human beings. *J. Pediat.* 94:855, 1979.
- 102- Richardson GH: *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*. 15. Edit. American Public Health Association. Washington DC, 1985.
- 103- Rocourt J: The Recognition and Identification of *Listeria* Species by Classical Methods. *İnfeks. Derg.* 2:471, 1988.
- 104- Ruhlusaraç İ: Tüberkülozlularda İndirekt Hemaglutinasyon Deneyi ve Değeri. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Parazitoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1980.
- 105- Samastı M: Listeriyoz ve Toplum Sağlığı. *Klinik Gelişim İnfeksiyon Özel Sayısı*. 2:533, 1989.
- 106- Samastı M: Süt ve Yoğurt Sorunu. Bulaşıcı hastalıklarla Savaş Derneği, Yay.No:7, 1990.

- 107- Schonberg A: Prevention and Control of Listeriosis. *Lateks Dergisi*. 2:533, 1988.
- 108- Schubert RHW and Hegozi M: *Aeromonas eucrenophilla* Species nov., *Aeromonas caviae* a Later and Illegitimate Synonym of *Aeromonas punctata*. *Zbl. Bacteriol Parsitenkd. Infektionskr. Hvg. Abst. 1 Reihe A*, 263:34-39, 1988.
- 109- Schulz GG: Untersuchungen über das vorkommen von Listerien in *Rolmich Mh Ved Med*. 22:766, 1967.
- 110- Seeliger HPR, Jones D: *Listeria* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Cilt: II (Edit: Holt JG, Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME'de. Baltimore, William and Wilkins 1235, 1986.
- 111- Sertter F, Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınlarından. 91:32-36, 1972.
- 112- Sewell CM, Claridge JE, Young EJ, Guthrie RK: Clinical Significance of Coagulase-Negative Staphylococci *J. Clin. Microbiol.* 16:236, 1982.
- 113- Sharp SCM: Milkborne Infection. *J. Med. Microbiol.* 29:239, 1989.
- 114- Sneath P, Marr N, Sharpe ME, Holt JG: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2*. Williams-Wilkins, Baltimore (USA) s:1013, 1986.
- 115- Soelinger HPR, Longer B: Methods of Detektion, Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* and Related Species form Clinical Samples. Food and Environmental Sources. *İnfeks. Derg.* 2:607, 1988.
- 116- Southern JP, Smith RMM, Palmer SR: Bird Attack on Milk Bottles. *The Lancet*. Vol.336, 1990.

- 117- Soysal F: Uzmanlık Tezi, Sütlerden Brucella ve Listeria Bakterilerinin Ayrılması İçin Balıklı Besiyeri Geliştirilmesi ve Süt Serumunda Brucella Antikorlarının Varlığının Aglutinasyon Yöntemiyle tesbiti, İstanbul, 1991.
- 118- Sevme R: Sütün Isıtılarak Kabartılması Yöntemi ile Sütlerin Listeriyoz Yönünden Tehlikesiz Hale Getirilip Getirilemeyeceği Üzerine Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 1990.
- 119- Swaminathan B, Hayes RS, Przybyszewski AV: Evaluation of Enrichment and Plating Media for Isolating *Listeria monocytogenes*. J. Assoc. off Anal Chem. 71:664, 1988.
- 120- Tacket CO, Norain JP, Sattin R: A Multistate Outbreak of Infection Caused by *Yersinia enterocolitica* Transmitted by Pasteurized Milk. JAMA 251:483, 1984.
- 121- Topal Ş: Süt ve Ürünlerine İlişkin Mevzuatımız, Uygulamadaki Sorunlar. Animalia Sayı:35, 36, s:30-32, 1990.
- 122- Todd E: Foodborne Illness. Lancet 336:788, 1990.
- 123- TSE Çiğ Süt (TS.1018/Temmuz-1971).
- 124- TSE Pastörize Süt (TS.1019/Temmuz-1971).
- 125- Tümbay E, Anđ Ö, İnce R: Treatment of Human Listeriosis. İnfeksiyon Dergisi 2:497, 1988.
- 126- Unat EK, Kasparyan V: Sütün Isıtılarak Kabartılmasının Dezenfeksiyon Değeri. Mikr. Derg. Tom: XI. NO:3-4, s:72-79, 1958.
- 127- Unat EK: Barsağın Gram (-) Bakterilerinin Çabuk Tanımı İçin Balıklı Besiyeri. Yeni Tıp Alemi. 18:150, 1969.

- 128- Unat EK: Gram (-) Zorunlu Anaerop Olmayan Çomakların Çabuk Tanımına Dair Metodlar. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 4:65, 1974.
- 129- Unat EK: Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, 416-418, 74-81, 1987.
- 130- Unat EK: Temel Mikrobiyoloji s:564, 1992.
- 131- Wegrzynowicz Z, Heczko PB, Jeljazewice J, Neugebaur M, Pulverer G: Pseudocoagulase Activity of Staphylococci, J. Clin Microbiol. 9:15, 1979.
- 132- WHO Working Group: Foodborne Listeriosis. Bull. of WHO 66:421, 1988.
- 133- Zojdel M, Wegrzynowicz Z, Velyaszewicz J, Pulverer G: Mechanism of Action of Staphylocoagulase, Zentralbl Bacteriol Suppl. s:549, 1976.