

Subklinik Mastitisli Keçi Sütlerinden Aerobik Bakterilerin İzolasyonu

Ziya İLHAN¹ İbrahim TAŞAL² Süleyman SAĞCAN³ Hasan SOLMAZ⁴

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, Van, Türkiye

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji AD, Van, Türkiye

³ Kilis Tarım İl Müdürlüğü, Kilis, Türkiye

⁴ Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, Hatay, Türkiye

Geliş Tarihi: 25.02.2011

Kabul Tarihi: 16.03.2011

ÖZET

Bu çalışmada, 148 adet subklinik mastitisli keçi sütü örneğinden aerobik bakteri izolasyonu amaçlandı. Konvansiyonel yöntemlere göre yapılan değerlendirmede, örneklerin 69'undan (%46.6) aerobik bir bakteri izole edilirken, 79'undan (%53.4) ise her hangi bir bakteri üremesi olmadı. Kültür pozitif örneklerin 42'sinden (%60.8) koagulaz negatif stafilokoklar (KNS), 11'inden (%15.9) *Staphylococcus aureus*, 11'inden (%15.9) *Escherichia coli*, 2'sinden (%2.9) *Corynebacterium* spp., 1'inden (%1.4) *Streptococcus* spp., 1'inden (%1.4) *C. pseudotuberculosis* ve 1'inden (%1.4) ise *Aeromonas* spp. izole edildi. Sonuç olarak, subklinik mastitisli keçi sütlerinden en yüksek oranda KNS izole edildi.

Anahtar Kelimeler Subklinik mastitis, Keçi, Aerobik bakteri, İzolasyon

Isolation of Aerobic Bacteria from Goat Milk with Subclinical Mastitis

SUMMARY

In this study, it was aimed to detect the aerobic bacteria from the goat milk with subclinical mastitis. Milk samples were obtained from the 148 goats and the samples were investigated by classical bacteriological culture methods. Bacteriological cultures were positive in 69 (46.6%) of 148 samples. Bacterial strains isolated from the milk samples were 42 (60.8%) coagulase negative staphylococci (CNS), 11 (15.9%) *Staphylococcus aureus*, 11 (15.9%) *Escherichia coli*, 2 (2.9%) *Corynebacterium* spp., 1 (1.4%) *Streptococcus* spp., 1 (1.4%) *C. pseudotuberculosis* and 1 (1.4%) *Aeromonas* spp. In conclusion, CNS is the most frequently isolated bacterium from the goat milk with subclinical mastitis.

Key Words Subclinical mastitis, Goat, Aerobic bacterium, Isolation

GİRİŞ

Keçi sütü endüstrisi, özellikle de keçi sütünden üretilen peynir ve dondurma sektörü, son yıllarda dünyanın birçok bölgesinde önemli düzeyde gelişme gösteren bir gıda sektörü olarak görülmektedir. Bazı üstün özellikleri nedeniyle koyun ve sığır sütlerinden farklı olan keçi sütü, ülkemizde de son zamanlarda artan oranlarda bazı süt ürünlerinde kullanılmakta ve beğenilerek tüketilmektedir. Küresel ısınmaya bağlı olarak coğrafi şartların giderek kötüleşmesi, keçi endüstrisinin gelecekteki önemini muhtemelen daha da artıracaktır.

Kilis keçisi, Güney Doğu Anadolu Bölgesinde, daha çok Kilis ve Gaziantep bölgelerinde yetiştirilen ve nesli koruma amacıyla destekleme kapsamına alınmış bir ırktır (Anonim). Sütçü bir ırk olan Kilis keçilerinde laktasyon süresi 210-260 gündür. Süt verimi ortalama 200-260 kg olup, iyi bakım-besleme yapıldığında verim 400-500 kg olabilmektedir (Özder, 2006).

Mastitisler; akut, kronik, gangrenöz ve subklinik gibi değişik formlarda görülmektedir. Yapılan çalışmalarda, subklinik mastitis oranının keçilerde %15.6-66 arasında değiştiği görülmektedir (Conreras ve ark., 2003, Santos Neto ve ark. 2009; Virdis ve ark., 2010). Mastitisli sütlerdeki değişiklikleri belirlemeye yönelik birçok test geliştirilmiş olup, bunlardan en fazla California mastitis

testi (CMT) kullanılmaktadır (Ebrahimi ve ark., 2007; Leach ve ark., 2008). Diğer mastitis türlerinde olduğu gibi subklinik mastitisin de teşhisinde kültür yöntemi "gold standart" olarak kabul edilmektedir (Poutrel ve Lerondelle, 1983; Leach ve ark., 2008; Santos Neto ve ark., 2009).

Mastitisin etiyolojisi, epidemiyolojisi ve izole edilen bakterilerin çeşitli antibiyotiklere *in vitro* duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla Türkiye ve dünyanın farklı bölgelerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Türkiye'de yapılan bir çalışmada, 350 keçiden alınan 700 süt örneği test edilerek, 60'nın (%8.6) subklinik mastitisli olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerin 30'undan (%50) koagulaz negatif stafilokok (KNS), 11'inden (%18.3) *Candida* spp., 9'undan (%15) *Streptococcus* spp., 7'sinden (%11.7) *Staphylococcus aureus*, 1'er (%1.6) adedinden ise *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. ve *Corynebacterium* spp. izole edildiği bildirilmiştir (Aydın ve ark., 2009). Brezilya'da yapılan bir çalışmada, 180 keçi sütünün 120'si (%66.6) CMT ile pozitif bulunmuş ve bunların 68'sinden (%55.2) bakteri izole edildiği ifade edilmiştir (Santos Neto ve ark., 2009). İran'da yapılan çalışmada ise 400 süt örneğinden 21'i (%5.2) CMT ile pozitif bulunmuş ve bunların 14'ünden (%66.6) KNS, 11'inden (%47.6) *Mycoplasma* spp., 4'ünden (%19) non-hemolitik streptokok türleri ve

3'ünden (%14.2) ise *S. aureus* izole edildiği rapor edilmiştir (Ebrahimi ve ark., 2007).

Sığır ve koyun mastitisleriyle ilgili dünyanın farklı bölgelerinde ve Türkiye'de birçok çalışma yapılmış olmakla birlikte, keçi mastitisleriyle ilgili fazla sayıda çalışmanın olmadığı görülmektedir. Bu çalışmada, nesli koruma amacıyla destekleme kapsamına alınmış bir ırk olan Kilis keçilerinde, yaygın bir sorun haline gelen subklinik mastitis olgularının etiolojisini ortaya koymak amacıyla aerobik bakteri izolasyonu amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada incelenen süt örnekleri, Kilis ilinde 3 farklı aile işletmesinde yetiştirilen, aynı merayı paylaşan ve yaşları 2-7 arasında değişen Kilis keçilerinden alındı. Toplam 1470 adet keçinin bulunduğu sürüyü temsilen seçilen hayvanların sütleri, CMT ile test edildi. CMT pozitif sonuç veren 148 hayvandan alınan aynı sayıdaki süt örneği, çalışmanın materyalini oluşturdu.

Örnek alınmadan önce meme başları %70'lik alkolle temizlendi. CMT pozitif tespit edilen meme loplarından steril kapaklı plastik tüplere ortalama 8-10 ml süt örneği alındı. Örnekler soğuk zincirde ve kısa sürede, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalına ulaştırıldı.

İzolasyon ve İdentifikasyon

Süt örnekleri iyice homojenize edildikten sonra % 5 koyun kanlı agar (Oxoid, CM0271, Basingstoke, England) ve MacConkey agara (Merck, 1.05465, Darmstadt, Germany) ekimleri yapılarak, 37°C'de ve aerobik koşullarda, 24-48 saat inkübe edildi. Üreyen bakterilerin identifikasyonu konvansiyonel yöntemlere göre yapıldı (Bisping ve Amtsberg, 1988; Quinn ve ark., 1994; Aydın ve ark., 2006).

BULGULAR

İncelenen 148 süt örneğinin 69'undan (%46.6) aerobik bakteri izole edilirken, 79'unda (%53.4) ise her hangi bir üreme gözlenmedi. Kültür pozitif örneklerin 42'sinden (%60.8) KNS, 11'inden (%15.9) *S. aureus*, 11'inden (%15.9) *E. coli*, 2'sinden (%2.9) *Corynebacterium* spp., 1'inden (%1.4) *Streptococcus* spp., 1'inden (%1.4) *C. pseudotuberculosis* ve 1'inden (%1.4) de *Aeromonas* spp. izole ve identifiye edildi (Tablo 1).

Tablo 1. Kültür pozitif subklinik mastitisli keçi sütlerinden izole edilen aerobik bakteriler

Table 1. Bacterial isolates from culture positive milk samples of goat milk with subclinical mastitis

İzole edilen bakteriler	Pozitif örnek sayısı (%)
KNS	42 (60.8)
<i>S. aureus</i>	11 (15.9)
<i>Escherichia coli</i>	11 (15.9)
<i>Corynebacterium</i> spp.	2 (2.9)
<i>Streptococcus</i> spp.	1 (1.4)
<i>C. pseudotuberculosis</i>	1 (1.4)
<i>Aeromonas</i> spp.	1 (1.4)
Toplam	69 (46.6)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Keçi yetiştiriciliğinin en önemli sağlık sorunlarından biri olan mastitislerden en fazla bakteriyel etkenler sorumlu tutulmaktadır (Bergonier ve ark., 2003). Keçi mastitisleriyle ilgili dünyanın farklı bölgelerinde önemli çalışmalar yapılmıştır. White ve Hinckley (1999), ABD'de 2911 adet keçiden aldıkları süt örneklerinde mastitis prevalansını %36.4 (n: 1061) olarak belirlediklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, mastitisli süt örneklerinin 406'sından (%38.2) *Staphylococcus* spp., 117'sinden (%11) *S. aureus*, 43'ünden (%4.1) *Streptococcus* spp., 17'sinden (%1.6) *E. coli* ve 13'ünden (%1.2) ise *Pseudomonas* spp. izole ettiklerini bildirmişlerdir. İtalya'da yapılan bir çalışmada, sağımı elle yapılan 8 farklı süt keçisi işletmesinde yetiştirilen ve klinik olarak sağlıklı görünen 1500 keçiden alınan 3000 süt örneği, bakteriyolojik yönden analiz edilmiştir. Örneklerin 469'u (%15.6) kültür pozitif sonuç vermiş ve bu hayvanlar, koloni sayıları dikkate alınarak yapılan değerlendirmede subklinik mastitisli olarak tanımlanmıştır. İzolatların 415'i (%88.5) KNS, 25'i (%5.3) *S. aureus*, 4'ü (%0.9) *Micrococcus* spp. ve 21'i (%4.4) ise çeşitli Gram negatif bakteriler olarak identifiye edilmiştir (Virdis ve ark., 2010). Bu çalışmada, kültür pozitif örneklerin 42'sinden (%60.8) KNS, 11'inden (%15.9) *S. aureus*, 11'inden (%15.9) *E. coli*, 2'sinden (%2.9) *Corynebacterium* spp., 1'inden (%1.4) *Streptococcus* spp., 1'inden (%1.4) *C. pseudotuberculosis* ve 1'inden (%1.4) ise *Aeromonas* spp. izole edildi. Bu bulgular, keçi mastitislerinin etiolojisinde çoğunluğu Gram pozitif olan farklı cins ve türden birçok bakterinin sorumlu olduğunu göstermektedir.

Keçilerin meme dokusu infeksiyonlarından en fazla stafilokok türleri sorumlu tutulmaktadır (Contreras ve ark., 1999; Bergonier ve ark., 2003; Moroni ve ark., 2004; Santos Neto ve ark., 2009). White ve Hinckley (1999) ABD'de kültür pozitif mastitisli keçi sütlerinin %49.2'sinden, Virdis ve ark. (2010) İtalya'da %94.7'sinden, Aydın ve ark. (2009) Türkiye'de %61.6'sından *Staphylococcus* spp. izole ettiklerini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada ise kültür pozitif örneklerin %76.8'inden *Staphylococcus* spp. izole edildi. Stafilokoklarla ilgili bu yüksek izolasyon oranları, söz konusu bakterilerin keçi mastitislerinin önemli etkenlerinden biri olduğunu göstermektedir.

Mastitisli keçi sütleriyle ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, stafilokok türleri içinde en fazla KNS'ların izole edildiği ve izolasyon oranının %50-88.5 arasında değiştiği görülmektedir (Conreras 1999; Bergonier ve ark., 2003; Moroni ve ark., 2004; Ebrahimi ve ark., 2007; Aydın ve ark., 2009; Virdis ve ark., 2010). İtalya'da yapılan bir çalışmada kültür pozitif subklinik mastitisli keçi sütlerinin %88.5'inden (Virdis ve ark., 2010), İran'da %66.6'sından (Ebrahimi ve ark., 2007), Türkiye'de ise %50'sinden (Aydın ve ark., 2009) KNS izole edildiği bildirilmiştir. Bu araştırmada da, subklinik mastitisli süt örneklerinden en yüksek oranda (%60.8) KNS izole edildi. Bu bulgular, keçi mastitislerinin etiolojisinde ve mücadelesinde KNS'ların önemini göstermektedir. Bazı araştırmacılar, memede gelişen yangıya bağlı olarak sütteki somatik hücre sayısındaki artışla birlikte, süt veriminde de azalmaya neden olmasından dolayı KNS'ları, persiste subklinik mastitis etkenleri olarak isimlendirmektedir (Dulin ve ark., 1983; Conreras ve ark., 1999; Moroni ve ark., 2004; Virdis ve ark., 2010). Ancak bu görüşten farklı olarak KNS'ların, meme derisinden veya sağıcının elinden orijin

alabileceğine de dikkat çekilmektedir (Ryan ve Greenwood, 1990).

Stafilokoklar içinde en patojen tür olan *S. aureus*, diğer evcil memelilerde olduğu gibi keçilerde de akut, subakut, kronik ve gangrenöz mastitislere neden olmaktadır (White ve Hinckley, 1999; Santos Neto ve ark., 2009). Diğer yandan bu etkenin meme içi antibiyotik uygulamalarına slime faktör, biyofilm oluşturma ve intrasellüler özelliği nedeniyle sıklıkla direnç gösterdiği ve böylece sütle atılarak, sürüdeki diğer hayvanlar için önemli risk oluşturduğu bildirilmektedir (Sears ve ark., 1987; White ve Hinckley, 1999). *S. aureus*'un mastitisli keçi sütlerindeki izolasyon oranı ortalama %4.1-14.7 arasında değişmektedir (White ve Hinckley, 1999; Conreras ve ark., 2003; Ebrahimi ve ark., 2007; Aydın ve ark., 2009; Virdis ve ark., 2010). Bu çalışmada, kültür pozitif örneklerin %15.9'undan *S. aureus*'un izole edilmiş olması diğer çalışmalarla (Hunter, 1984; East ve ark., 1987; Ebrahimi ve ark., 2007; Aydın ve ark., 2009) benzerlik göstermekte olup bu veriler, *S. aureus*'un keçi mastitislerindeki önemini göstermektedir.

Keçi mastitisleriyle ilgili olarak *S. agalactiae* dışındaki streptokok türlerinin çevresel patojenler oldukları, nadiren bazı türlerin keçilerde kronik mastitise neden olabileceği bildirilmektedir (White ve Hinckley, 1999). Çalışmamızda sadece 1 (%1.4) örnekten *Streptococcus* spp. izole edildi ve yapılan değerlendirmede (CAMP, eskulin ve Na-hippurat testleri), etkenin *S. agalactiae* olmadığı belirlendi (Hunter, 1984; Manser, 1986, White ve Hinckley, 1999).

Mastitisli keçi sütlerinden Gram negatif bakteriler, Gram pozitif bakterilere göre daha düşük oranlarda izole edilmektedir (Manser, 1986; Ryan ve Greenwood, 1990; White ve Hinckley 1999; Ebrahimi ve ark., 2007; Virdis ve ark., 2010). Bu çalışmada, örneklerin %15.9'undan *E. coli* ve %1.4'ünden *Aeromonas* spp. izole edildi. Bu bakteriler, süt örneklerinden izole edilen çevresel patojenler olarak değerlendirilebileceği gibi, saf olarak izole edilmelerinden dolayı keçi mastitislerinin primer etkenleri olarak da nitelendirilebilir.

Subklinik mastitisli keçi sütlerinden izole edilen bakteri türleri ve izolasyon oranları çeşitli faktörlere bağlı olarak önemli farklılıklar göstermektedir. Bunun muhtemel nedenleri arasında hayvanların yetiştirilme şekilleri, yaşları, sağım teknikleri ve uygulanan hijyen yöntemleri sayılabilir. Gerçekleştirilen bu çalışmada, subklinik mastitisli keçi sütlerinden çoğunluğu Gram pozitif olan ve bunlardan daha az oranda bazı Gram negatif aerobik bakteriler izole edildi. Örneklerden en yüksek oranda (%60.8) ise KNS'lar izole edildi. Sonuç olarak, keçi mastitisleri ile mücadelede KNS'ların dikkate alınmasının gerekli olduğu düşünüldü.

KAYNAKLAR

- Anonim.** Hayvancılığın Desteklenmesi Hakkında 2005/8503 Sayılı Bakanlar Kurulu Kararının Uygulama Esasları Tebliği (Tebliğ No: 2006 / 9, 2007/20). Proje Adı: *Halk Elinde Ülkesel Küçükbaş Hayvan Islahı*.
- Aydın N, İzgür M, Diker KS, Yardımcı H, Esendal Ö, Paracıkoğlu J, Akan M (2006).** *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*. Ankara, İlke-Emek Matbaacılık ve Yayıncılık, S: 5-323.
- Aydın İ, Kav K, Çelik HA (2009).** Identification and antimicrobial susceptibility of subclinical mastitis pathogens isolated from hair goats' milk. *J Anim Vet Adv*, 8, 1086-1090.
- Bergonier D, De Cremoux R, Rupp R, Lagriffoul G, Bertlot X (2003).** Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res*, 34, 689-716.
- Bisping W, Amsberg G (1988).** *Colour Atlas for the Diagnosis of Bacterial Pathogens in Animals*. Hannover, Paul Parey Scientific Publishers. PP: 15-338.
- Contreras A, Paape MJ, Miller RH (1999).** Prevalence of subclinical intramammary infection caused by *Staphylococcus epidermidis* in a commercial dairy goat herds. *Small Rum Res*, 31, 203-208.
- Contreras A, Luengo C, Sanchez A, Correles JC (2003).** The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livestock Prod Sci*, 79, 273-283.
- Dulin AM, Paape MJ, Schultz WD, Weinland BT (1983).** Effect of parity, stage of lactation and intramammary infection on concentration of somatic cells and cytoplasmic particles in goat milk. *J Dairy Sci*, 66, 2426-2433.
- East NE, Birnie EF, Farver TB (1987).** Risk factors associated with mastitis in dairy goats. *Am J Vet Res*, 48, 776-779.
- Ebrahimi A, Lotfalian SH, Karimi S (2007).** Drug resistance in isolated bacteria from milk of sheep and goats with subclinical mastitis in Shahrekord district. *IJVR*, 8(1): 76-79.
- Hunter AC (1984).** Microflora and somatic cell content of goat milk. *Vet Rec*, 114, 318-320.
- Leach KA, Gren MJ, Bren JE, Huxley JN, Macaulay R, Newton HT, Bradley AJ (2008).** Use of domestic detergents in the California mastitis test for high somatic cell counts in milk. *Vet Rec*, 163, 566-570.
- Manser PA (1986).** Prevalence, causes and laboratory diagnosis of subclinical mastitis in the goat. *Vet Rec*, 118, 552-554.
- Moroni P, Vellere F, Antonini M, Pisoni G, Ruffo G, Carli S (2004).** Antibiotic susceptibility of coagulase negative staphylococci isolated from goats' milk. *Int J Antimicrob Agents*, 23, 637-640.
- Özder M (2006).** Keçi Irkları In: Keçi Yetiştiriciliği, Kaymakçı M (Ed), 17-40, Metabasım Matbaacılık, Bornova, İzmir.
- Poutrel B, Lerondelle C (1983).** Cell content of goat milk: California mastitis test, coulter counter and fossomatic for predicting half infection. *J Dairy Sci*, 66, 2575-2579.
- Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR (1994).** *Clinical Veterinary Microbiology*. Spain, Wolfe Publishing. PP: 118-345.
- Ryan DP, Greenwood PL (1990).** Prevalence of udder bacteria in milk samples from four dairy goat herds. *Aust Vet J*, 67, 362-363.
- Santos Neto TM, Mota RA, Silva LBG, Viana DA, Lima-Filho JL, Sarubbo LA, Converti A, Portp ALF (2009).** Susceptibility of *Staphylococcus* spp. isolated from goats with mastitis to antibiotics and green propolis extracts. *Lett Drug Des Discov*, 6, 63-68.
- Sears PM, Fettingner M, Marsh-Salin J (1987).** Isolation of L form variants after antibiotic treatment in *Staphylococcus aureus* bovine mastitis. *J Am Vet Med Assoc*, 191, 681-684.
- Virdis S, Scarano C, Cossu F, Spanu V, Spanu C, De Santis EPL (2010).** Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci isolated from goats with subclinical mastitis. *Vet Med Int*, doi: 10.4061/2010/517060.
- White EC, Hinckley LS (1999).** Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. *Small Rum Res*, 33, 117-121.