

# KOYUN MASTİTİSLERİ ÜZERİNDE MİKROBİYOLOJİK İNCELEMELER\*

Mehmet ATEŞ<sup>1</sup>, Osman ERGANİŞ<sup>2</sup>, Osman KAYA<sup>3</sup>, Mehmet ÇORLU<sup>4</sup>

## Microbiologic Studies on Mastitis in Sheep

**Summary :** This investigation was performed on 800 milch sheep belonged two state farm in Konya region. Sheep were examined by clinical procedures and tested with California Mastitis test (CMT). Milk samples taken from sheep with mastitis (CMT scores, ++/+++ ) were cultured in aerobic, microaerophilic and anaerobic conditions for bacteriological and mycological examination bacteria isolated and identified were tested against Ampicillin, Streptomycin, Tetracyclin, Penicillin, Kanamycin, Erythromycin, Gentamycin and Chloramphenicol discs (Difco).

In this area, in the mammary glands of 13.5 % of the tested sheep, mastitis was detected. Although the rates of clinical mastitis was 0.75 percent, subclinical mastitis in sheep was 12.75 percent.

Microbiologic isolation were succeeded from (75.0 %) 81 samples of 108 mastitic milk. But, there was mix infection in 8 samples.

The percent values of isolated microorganisms were found as below : 57.3 % Staph. aureus, 9.0 % for E. coli, 7.9 % for Bacillus ssp. 5.0 % for B. cereus, 5.0 % for C. pyogenes (Actinomyces pyogenes), 3.4 % for Str. agalactiae, 3.4 % for C. pyogenes (Actinomyces pyogenes), 3.4 % for Str. agalactiae, 3.4 % for K. pneumoniae, 3.4 % for Candida albicans, 2.2 % for B. subtilis, 1.1 % for Str. dysgalactiae and 1.1 for Enterobacter ssp.

In antibiotic susceptibility tests, Staph. aureus isolates were found to be sensitive to Tetracyclin, Chloramphenicol and Erythromycin, at the rates of 76.0 %, 58.0 % and 38.0 %, respectively. E. coli strains were sensitive to Streptomycin (100 %) and Tetracyclin (100 %), C. pyogenes strains were sensitive at the rates of 100 %, 80.0 % and 80.0 %, for Penicillin, Streptomycin and Chloramphenicol, respectively.

**Özet:** Bu çalışma, Konya yöresindeki iki devlet kurumuna ait 800 sağlıklı koyun üzerinde yapıldı. Hayvanlar, California Mastitis Test (CMT) ile ve klinik olarak muayene edilerek, klinik ve subklinik mastitisli memeler tespit edildi. CMT bulguları ++ ve +++ olan memelerden alınan süt örnekleri aerobik, mikroaerofilik ve anaerobik olarak bakteriyolojik ve mikolojik yönden incelendi. Ayrıca izole ve tanıya edilen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları saptandı. Antibiyotiklere duyarlılık testlerinde; Ampisilin, Streptomisin, Penisilin, Kanamisin, Eritromisin, Gentamisin, Tetrasiklin ve Kloramfenikol diskleri (Difco) kullanıldı.

Bölgede CMT ile taranan 800 koyunun 108'i (% 13.5) mastitisli olarak saptandı. Bu 108 koyunun 102'si (% 12.75) subklinik, 6'sı (% 0.75) klinik mastitisli bulundu.

Mastitisli süt örneklerinin 81'inden (% 75.0) patojen mikroorganizmalar üretildi. Süt örneklerinin 8'inde miks infeksiyon tespit edildi. İzole edilen mikroorganizmaların yüzde oranları sırasıyla; Staph. aureus 57.3, E. coli 9.0, Bacillus ssp 7.9, B. cereus 5.0, C. pyogenes (Actinomyces

pyogenes) 5.0, Str. agalactiae 3.4, K. pneumoniae 3.4, Candida albicans 3.4, B. subtilis 2.2, Str. dysgalactiae 1.1 ve Enterobacter ssp. 1.1 olarak saptandı.

Antibiyogram testlerinde Staph. aureus; Tetrasiklin'e % 76.0, Kloramfenikol'e % 58.0 ve Eritromisin'e % 38.0, E. coli; Streptomisin ve Tetrasiklin'e % 100, C. pyogenes; Penisilin'e % 100, Streptomisin ve Kloramfenikol'e % 80.0 oranında duyarlı bulundu.

### Giriş

Mastitis, oluşumunda biyosistemdeki konakçı, etken ve çevrenin birbirlerine karşı tesirlerinin rol oynadığı, meme dokusunun yangısal reaksiyonu, sütün fiziksel ve kimyasal özelliklerindeki değişmelerle karakterize polimikrobiyel bir infeksiyondur. Koyun hastalıkları içerisinde mastitisler sıklık derecesine göre sığırlara nazaran daha az görülmesine rağmen, bilhassa akut ve perakut formlarındaki letalite oranının yüksek olması nedeniyle önemli bir yer tutmaktadır. Subklinik mastitisler ise yetersiz bakım ve beslenme şartlarında klinik forma dönüştürebilmeleri nedeniyle koyun sağlığı açısından araştırılması gereken önemli bir olgudur.

Koyun ve keçilerde CMT'nin değerlendirilmesinde; bu hayvanların sütlerinin fizyolojik olarak, sığırlara göre daha fazla somatik hücre içermeleri nedeniyle, mastitis için pozitif değer sayılan sınır kriterlerinde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (19).

Batu ve Fırat (4), Trakya ve Marmara bölgesinde yaptıkları bir çalışmada, koyunlarda % 0.27 klinik, % 9.4 subklinik mastitis tespit etmişlerdir. Baysal ve Kenar (6), Konya ilinde koyunlardaki klinik mastitis olgularını % 1.07, subklinik mastitis olgularını da % 7.05 olarak bildirmişlerdir.

Marsh (15), sporadik olarak görülen koyun mastitislerinde, streptokok'lar, stafilokok'lar, E. coli ve C. pyogenes'in sıklıkla rastlanan etkenler olduklarını bildirmiştir. Butazon ve Mihajloviç (8), mastitis olgularının % 81.0 oranında Micrococcus var. aureus'tan ileri geldiğini, bunun yanında E. coli, C. pyogenes, B. subtilis ve streptokok'ların genellikle rastlanan etkenler olduklarını belirlemişlerdir. Mardari ve ark. (14), Romanya'da mastitisli koyun sütlerinden % 64.8 stafilokok, % 6.7 streptokok, % 9.3 gram-negatif çomak ve % 19.7 antrakoid saptamışlardır. Mettler (16), mastitisli koyunların sütlerinden % 76.6 stafilokok ve pastörella'ları, % 16.7 karışık kültür izole etmiş, % 6.6'sında ise etken izole edememiştir.

Batu ve Fırat (4), mikrop izolasyonu yapılan koyun sütlerinden % 64.3 Staph. aureus, % 19.9 E. coli, % 9.3 antrakoid basiller ve % 6.2 oranında da diğer etkenleri izole etmişlerdir. Baysal ve Kenar (6), koyunlardan aldıkları 341 süt örneğinden, % 12.0 koagulaz pozitif, % 33.7 koagulaz ne-

\* Bu çalışma S.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

1 Yrd. Doç. Dr., Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Konya.

2 Yrd. Doç. Dr., Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Konya.

3 Dr. Arş. Gör. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Konya.

4 Biyolog., Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Konya.

gatif stafilokok'lar, % 6.1 E. coli, % 2.0 C. pyogenes, % 3.2 antrakoid'ler ve % 7.3 Mycoplasma ssp izole etmiş, % 31.7'sinden ise etken izole edememişlerdir.

Bostedt (7), koyun mastitislerinde sağıtımın, olayın şekli ve ağırlığına bağlı olduğunu, buna rağmen sağıtımda en etkili kemoterapötiklerin; sulfonamidler, tetrasiklin, ampisilin, gentamisin ve polimiksin-B olduğunu bildirmiştir.

Bu çalışmanın amacı ise bölgedeki koyun mastitisinin insidensinin çıkarılarak, CMT pozitif sonuç veren süt örneklerinden bakteriyolojik ve mikolojik izolasyon ve identifikasyonların yapılarak, identifiye edilen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıklarının tespit edilmesidir.

### Materyal ve Metot

#### Materyal

Bu çalışma Tarım, Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü ve Altınova Tarım İşletmesi'ne ait 800 adet sağmal koyun üzerinde yapıldı.

Bu hayvanlardan mikrobiyolojik muayene amacıyla CMT pozitif sonuç veren 120 süt örneği alındı. Sütlerin muayenesinde Schaaf (20)'a göre hızlandırılan CMT ayracı kullanıldı.

Sütlerin mikrobiyolojik muayenesinde; bakteriyel izolasyon besiyerleri olarak Blood Agar Base (Oxoid), macconkey Agar (Gibco) ve Mycoplasma Agar Base (Oxoid), fungal izolasyon için Saborraud Dextrose Agar (Difco) kullanıldı. Bakteriyel identifikasyon besiyerleri olarak; MacConkey Agar, Lassen'in Üçlü Tüp besiyeri (13), Modifiye Edwards besiyeri (21), Sodyum Hippurat Besiyeri (3) ve tavşan plazması kullanıldı.

Identifiye edilen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılık testlerinde Difco antibiyogram diskleri (Ampisilin, Streptomisin, Tetrasiklin, Penisilin, Kanamisin, Eritromisin, Gentamisin ve Kloramfenikol) kullanıldı.

#### Metot

##### California Mastitis Testi (CMT) :

Memelerin mastitis yönünden kontrolü amacıyla kullanılan CMT'i Schalm ve ark. (21)'na göre yapılarak değerlendirildi. Ancak değerlendirmede tek pozitif skor veren sütler de negatif olarak kabul edildi.

##### Sütün Mikrobiyolojik Muayenesi :

Aseptik şartlarda toplanan süt örnekleri % 7 koyun kanlı agar, Mac-Conkey Agar ve Mycoplasma Agar Base'e ekilerek aerobik, anaerobik ve mikroaerofilik ortamlarda 37°C'de 24-72 saat inkube edildi. Mantar izolasyonu için Saborraud Dextrose Agar'a ekilerek oda ısısında bir hafta tu-

tuldu. Üreyen mikroorganizmalar klasik yöntemlere göre (1, 2, 3, 9, 11, 13, 18, 21) identifiye edildi.

##### Antibiyotiklere Duyarlılık Testi :

Identifiye edilen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılık testleri Bauer ve ark. (5)'nin Disk Diffüzyon Metoduna göre yapıldı.

##### Bulgular

##### İnfeksiyonun İnsidensi :

Klinik muayene ve CMT'i sonucu 800 koyunun 108'i (% 13.5) mastitisli olarak kabul edildi. Bunların da 6'sı (% 0.75) klinik, 102'si (% 12.75) subklinik mastitisli olarak tespit edildi.

##### İzole Edilen Mikroorganizmalar :

Bakteriyolojik ve Mikolojik ekimler sonucunda 108 süt örneğinin 27'sinde herhangi bir etken izole edilemedi.

Çeşitli mikroorganizmaların izole edildiği 81 süt örneğinin 8'inde ikili miks infeksiyon saptandı. İzole ve identifiye edilen mikroorganizmaların sayıları ve yüzde oranları tablo 1'de sunulmuştur. Buna göre koyun mastitislerinin birincil etkeni olarak Staph. aureus (% 57.3) bulundu.

Tablo 1 : İzole edilen mikroorganizmalar

Mikroorganizma (n = 89)	n	%
Staph aureus	51	57.3
Str. agalactiae	3	3.4
Str. dysgalactiae	1	1.1
C. pyogenes (A. pyogenes)	5	5.6
B. cereus	5	5.6
B. subtilis	2	2.2
Bacillus ssp	7	7.9
E. coli	8	9.0
K. pneumoniae	3	3.4
Enterobacter ssp	1	1.1
Candida albicans	3	3.4

##### Antibiyotiklere Duyarlılık testi Sonuçları :

Mastitisli koyun sütlerinden izole ve identifiye edilen 70 bakteri suşu ile yapılan antibiyogram testi sonuçları tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2 : Antibiyotiklere duyarlılık test sonuçları (% Duyarlı)

Tür	n	Antibiyotikler							
		Ampisilin	Streptomisin	Tetrasiklin	Penisilin	Kanamisin	Eritromisin	Gentamisin	Kloramfenikol
Staph. aureus	50	16.0	36.0	76.0	16.0	2.0	38.0	34.0	58.0
Str. agalactiae	3	100	0.0	0.0	100	0.0	33.3	33.3	0.0
E. coli	7	14.3	100	100	0.0	0.0	14.3	14.3	14.3
C. pyognes	5	40.0	80.0	60.0	100	0.0	40.0	40.0	80.0
B. cereus	5	40.0	20.0	100	0.0	0.0	20.0	20.0	80.0
Toplam	70	22.8	42.8	75.7	22.8	1.4	34.3	32.8	54.2

Buna göre teste tabi tutulan tüm etkenler göz önünde bulundurulduğunda, en etkili antibiyotikler olarak; Tetrasiklin (% 75.7), Kloramfenikol (% 54.2) ve Streptomisin (% 42.8) görülmektedir.

### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada Konya yöresindeki 800 sağmal koyundan alınan CMT pozitif süt örnekleri, bakteriyolojik ve mikolojik yönden muayene edilerek, izole ve identifiye edilen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları tespit edildi.

Batı ve Fırat (4), Trakya ve Marmara bölgesindeki koyunlarda yaptıkları araştırmalarında, % 9.4 subklinik ve % 0.27 oranında da klinik mastitis saptamışlardır. Baysal ve Kenar (6), Konya iline ait 8 ilçe ve 13 köydeki 3627 koyunun % 7.05'inde subklinik, % 1.07'sinde klinik mastitis tespit etmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada ise, 800 sağmal koyunun 108'inde (% 13.5) mastitis tespit edildi. Bunun % 12.75'i subklinik, % 0.75'i ise klinik mastitisli idi.

Butazon ve Mihajloviç (8), Yugoslavya'da mastitisli koyun sütlerinden % 81 *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* ve çeşitli oranlarda; *E. coli*, *C. pyogenes*, *B. subtilis* ve streptokok'ları izole etmişlerdir. Pegreff (17), mastitisli koyun sütlerinden; *Micrococcus ovis*, *P. multocida*, *Staph. albus*, *Str. agalactiae*, *Str. zooepidemicus*, *C. pyogenes* ve *E. coli* izole etmiştir. Fleischer (10), koyun sürülerinin % 48.4'ünden herhangi bir etken izole edemezken, % 34.1'inden nonspesifik mikroorganizmalar ve geri kalanından da, % 3.2 stafilokok, % 8.1 mikrokok, % 4.0 streptokok, % 0.6 pastörella, % 1.4 *E. coli* ve % 0.2 *Ps. aeruginosa* tespit etmiştir.

Batu ve Fırat (4), Mastitisli koyun sütlerinden; % 64.3 *Staph. aureus*, % 19.9 *E. coli*, % 9.3 antrakoid basiller, % 3.5 *S. marcescens* ve % 2.7 oranında da diğer etkenleri izole

etmişlerdir. Baysal ve Kenar (6), mastitisli koyunlardan aldıkları süt örneklerinde; % 12.0 koagulaz pozitif stafilokok'lar, % 33.7 koagulaz negatif stafilokok'lar, % 6.1 *E. coli*, % 2.0 *C. pyogenes*, % 3.2 antrakoid'ler ve % 7.3 *Mycoplasma* ssp. izole etmişlerdir.

Bu çalışmada, alınan 108 süt örneğinin 81'inden (% 75.0) patojen mikroorganizmalar izole edildi. Bu mikroorganizmalar yüzde olarak sırasıyla; *Staph. aureus* 57.3, *E. coli* 9.0, *Bacillus* ssp 7.9, *B. cereus* 5.0, *C. pyogenes* 5.0, *Str. agalactiae* 3.4, *K. pneumoniae* 3.4, *B. subtilis* 2.2, *Str. dysgalactiae* 1.1 ve *Enterobacter* ssp 1.1 olarak tespit edildi. Bu çalışmada *Myoplasma* ssp izole edilemezken, Baysal ve Kenar (6)'ın aynı yörede bu etkeni izole etmeleri, izolasyon odağının tek bir köy olmasına bağlanmıştır.

Bostedt (11), koyun mastitislerinin sağıtımında en etkili kemoterapötiklerin sulfonamid'ler, ampisilin, tetrasiklin, polimiksin-B ve gentamisin olduğunu bildirmiştir.

Yapılan bu çalışmada, *Staph. aureus*; Tetrasiklin'e % 76.0, Kloramfenikol'e % 58.0, Eritromisin'e % 38.0 ve Streptomisin'e % 36.0, *E. coli*; Streptomisin ve Tetrasiklin'e % 100 oranında, *C. pyogenes*; Penisilin'e % 100, Streptomisin ve Kloramfenikol'e % 80 oranında duyarlı bulundu.

Sonuç olarak, yurdumuzda daha önce yapılan araştırmalarda (4, 6) % 7.05-9.4 arası değerlerde bulunan subklinik mastitislerin, bu çalışmada da % 12.75 olarak tespit edilmesi ve subklinik mastitislerin de ölümle sonuçlanabilecek klinik mastitis formuna dönüşebilmesi ihtimali nedeniyle, koyunların subklinik mastitislerinin, üzerinde önemle durulması gereken bir sorun olarak varlığını ortaya koymaktadır. Ayrıca yerli ve yabancı araştırmaların bir çoğunda (4, 6, 8, 12, 18) koyun mastitislerinin birincil etkeni olarak bildirilen *Staph. aureus*'un bu araştırmada da birincil etken olduğu ortaya konmuştur.

### Kaynaklar

- Arda, M. (1978) Genel Bakteriyoloji. A.Ü. Vet. Fak. Yayın, No. : 342, A.Ü.. Basımevi.
- Aydın, N. (1975). "İneklerde Mastitis" Klinik ve Laboratuvar Teşhis Metotları. Türk Vet. Hek. Dern. Derg. Yayın, No. : 14, Ongun Kardeşler Matbaası, Ankara.
- Bailey, W. and Scott, E. (1966) Diagnostic Microbiology. Mosby. Comp. Sait Louis. 304.
- Batu, A. ve Fırat, G. (1981) Trakya ve Marmara Bölgesinde koyunlarda klinik ve subklinik mastitisler ve etkenleri üzerinde araştırmalar. Doğa Bil. Derg., Vet. Hay./Tar. Orm., 5, 3, 269-274.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. and Turck, M. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J. Clin. path., 45, 493.
- Baysal, T. ve Kenar, B. (1989) Konya ve yöresindeki koyunlarda klinik ve subklinik mastitis olgularından aerob etken izolasyon ve identifikasyonu. Etlik Vet. Mikrobiol. Derg. 6, 4, 55-66.
- Bostedt, H. (1986) Die akute Mastitis beim Schaf. Vet. J., 8, 6-8.
- Butazon, V. et Mihajloviç, S. (1963) Les Mammities Microbiennes. Des Ovins et Des Caprins on Yugoslavi. Buull. of. Epiz., 60, 1041-1050.
- Carter, G.R. (1973) Diagnostic procedures in veterinary microbiology. 3 th. Ed. Charles C. Thomas Publ. Springfield., USA.
- Fleischer, K. (1975). Untersuchungen zur Verbreitung bakteriell bedingter Euterentzündungen beim Schaf. Vet. Med. diss., München.
- Koneman, E.M., Allen, S.D., Dovel, Jr. V. R. and Sommers, H.M. (1983) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 2 th. ed. J.B. Lippincott Company, Philedelphia.
- Landau, M. and Tamarin, R. (1974). Ovine Mastitis Research, 1963-1973. A. Review. Refuah Vet., 31, 3, 134-147.
- Lassen, j. (1975). Rapid identification of gram-negative rods using three-tube methods combined with a dichotomic. Key. Acta. Path. Microbiol. Scand. Sect. B., 83, 525.
- Mardari, A., Perianu, T., Coman. I., Luca, A. et Lauci, E. (1973) Studiul Epizootologic Şi De Laborator Al Mamuteler Subclinice La Ovine. Iaşi, Inst. Agronomic "Ion Ionescu De La Brade".
- Marsh, H. (1958). Newsom's Sheep Diseases, 2 nd. ed. Williams Wilkins, Baltimore.
- Mettler, B. (1986). Untersuchungen zur Keimbelastung von Schafmilch unter besonderer Berücksichtigung der Antibiotikaphylaxe. Diss., Giessen.
- Pegreff, G. (1963). Les Mammities Infectieuses de la Brebis et de la Chevre. Bull. off. Inst. Epiz, 60, 1009-1040.
- Quinlivan, T.D. (1968). Survey observations on ovine mastitis in new Zeland Stud Romney flocks. N.Z. Vet. J., 16, 153-160.

19. Sasshofer, A., Lolbl, A. und Kessler, O. (1987). Erkrankungen bei Schaf und Ziege. 7. Euterentzündungen. Wien. Tierärztl. Mschr. 4, 125-131.
20. Schaaf, A. (1964). Influence of pH and temperature on the Brabant Mastitis Reaction (BMR). J. Compt. Path. Threp., 74, 255.
21. Schalm, O.W., Carrol, E.J. and Jain, N.C. (1971). Bovine Mastitis Lea Febiger, Ist. Ed., Philedelphia.