

Diyarbakır Yöresinde Subklinik Mastitisli İneklerde Etken İzolasyonu ve Duyarlı Antibiyotiklerin Belirlenmesi

Simten YEŞİLMEN,* Nihat ÖZYURTLU,** Servet BADEMKIRAN**

*Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır

**Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji ABD, Diyarbakır

Özet

Bu çalışmada Diyarbakır yöresinde bulunan ineklerde subklinik mastitislere neden olan etkenlerin izolasyonu ve identifikasyonu ile bunlara etkili antibiyotiklerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplam 300 sağmal inek California Mastitis Testi (CMT) ile mastitis yönünden muayene edildi. CMT pozitif bulunan 134 inekten alınan toplam 268 süt örneğinin mikrobiyolojik incelemesinde 29 (%10,82) örnekte herhangi bir bakteri üremezken 239 (%89,18) süt örneğinden 66 (%24,63) *Staphylococcus aureus*, 30 (%11,19) *Staphylococcus epidermidis*, 20 (%7,46) *Staphylococcus haemolyticus*, 27 (%10,07) *Streptococcus agalactiae*, 10 (%3,73) *Streptococcus dysgalactiae*, 5 (%1,87) *Streptococcus uberis*, 10 (%3,73) *Bacillus spp.*, 23 (%8,58) *Escherichia coli*, 10 (%3,73) *Enterobacter cloacae*, 10 (%3,73) *Enterobacter faecalis*, 5 (%1,87) *Klebsiella pneumonia*, 5 (%1,87) *Pseudomonas aeruginosa*, 8(%2,99) *Diplococcus spp.*, 10 (%3,73) *Candida spp.* izole. İzole ve identifiye edilen bakterilere karşı yapılan antibiyogram testinde en etkili antibiyotiklerin Cefoperazone-Sulbactam, Cefoxitin ve Ampicillin olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Mastitis, İnek, Mikroorganizma, Antibiyotik Duyarlılık Testi.

The Isolation of Subclinical Mastitis Agents and Determination of the Sensitive Antibiotics in Dairy Cows in Diyarbakır Province

Abstract

The aim of this study was to isolate and identify the microorganisms leading to subclinical mastitis in Diyarbakır province and to determine their susceptibility to antibiotics. A total of 300 cows were examined for mastitis by CMT. A total of 268 milk samples collected from CMT positive 134 cows were tested microbiologically. From these milk samples, 29 (10,82%) had no bacterial growth, 239 (89,18%) microorganisms isolated and identified. Isolated microorganisms were 66 (24,63%) *Staphylococcus aureus*, 30 (11,19%) *Staphylococcus epidermidis*, 20 (7,46%) *Staphylococcus haemolyticus*, 27 (10,07%) *Streptococcus agalactiae*, 10 (3,73%) *Streptococcus dysgalactiae*, 5 (1,87%) *Streptococcus uberis*, 10 (3,73%) *Bacillus spp.*, 23 (8,58%) *Escherichia coli*, 10 (3,73%) *Enterobacter cloacae*, 10 (3,73%) *Enterobacter faecalis*, 5 (1,87%) *Pseudomonas aeruginosa*, 8(2,99%) *Diplococcus spp.*, 10 (3,73%) *Candida spp.*, 5 (1,87%) *Klebsiella pneumonia*. The most effective antibiotics were Cefoperazone-Sulbactam, Cefoxitin and Ampicillin.

Key Words: Mastitis, Cow, Microorganisms, Antibiotic sensitivity test.

Giriş

Süt inekçiliğinde ekonomik açıdan önemli olan mastitis, çeşitli irritan etkilere karşı meme bezinin gösterdiği yangısal bir tepki olup, meme dokusunda yıkımlanma ile karakterizedir (1-4). Subklinik mastitis, klinik yönden fark edilebilen ancak, lokal ve sistemik belirti göstermeden

seyreden ve sütte lökosit sayısında artışa neden olan, patojen etkenlerin izolasyonu ve bazı biyokimyasal değişimlerin belirlenmesi ile tanımlanabilen meme yangısı türüdür (5-8).

İneklerde yapılan çalışmalarda subklinik mastitislerin diğer mastitislere oranla daha fazla şekillendiği ve % 3-26 oranında süt

kaybına neden olduğundan ekonomik kayıplar açısından klinik mastitislerden daha önemli olduğu bildirilmiştir (5,7,9).

Mastitislerin oluşumunda birçok mikroorganizma rol oynasa da subklinik mastitislerin % 95'i stafilokok ve streptokoklar tarafından oluşturulur (10). Değişik yazarlar (11,12) tarafından yapılan çalışmalarda bu oranlar benzer biçimde % 96-97 olarak bildirilmektedir. Yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda stafilokok ve streptokok etkenlerine bağlı subklinik mastitis oranı belirgin biçimde fazla olmasına rağmen koliform bakteriler, *Corynebacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, bazı mantar ve mayalar da başlıca mastitis etkenlerindedir (13-16).

İneklerde klinik mastitislerin tedavisi güç olduğundan, asıl önemli olan subklinik mastitisleri ortaya çıkarmaktır (17). Subklinik mastitis teşhisinde kimyasal ve mikrobiyolojik birçok test kullanılmaktadır (4,7,18). Son yıllarda somatik hücre sayısının (SHS) belirlenmesini esas alan testler gittikçe önem kazanmaktadır. Sütteki SHS'nin belirlenmesinde dolaylı hücre sayısı artışı gösteren California Mastitis Testi (CMT) yardımıyla (5,7,15) ineklerde % 90'dan daha fazla oranlarda subklinik mastitislerin tanısı ortaya konulabilmektedir (5,19).

Ülkemizde subklinik mastitisli ineklerde yapılan bazı çalışmalarda *S. aureus*'un % 27,7-63,6, *S. agalactiae*'nin % 1,9-15,1, *E. coli*'nin % 0-10,4, *C. pyogenes*'in % 0-8,3 oranlarında izole edildiği rapor edilmiştir (2,6,13,20,21).

Ülkemizin çeşitli bölgelerinde subklinik mastitis etkenlerinin belirlenmesi ve bunların antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması için birçok çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmada, şimdye kadar Diyarbakır ve çevresinde yetiştirilen sütçü ineklerde çalışılmamış olan subklinik mastitise neden olan başlıca etkenlerin belirlenmesi ve bunlara karşı etkili antibiyotik türlerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmanın materyalini, Diyarbakır ili ve çevresindeki süt işletmelerinde beslenen, toplam 300 adet inek oluşturdu. Değişik ırk ve laktasyon dönemindeki ineklerde tespit edilen 1200 subklinik meme lobu değerlendirmeye alındı. Meme loblarındaki subklinik mastitis

olgusu CMT ve mikrobiyolojik test yöntemiyle analiz edildi. CMT sonuçları Schalm ve ark.,'nın (15) tarif ettiği yönteme göre yapıldı. Test sonuçlarına göre, pozitif sonuç veren 134 ineğin 268 meme loblarından aseptik şartlarda meme başları % 70'lik etil alkollü pamuk ile silindikten sonra birkaç sıkım süt dışarı atılarak ve dışarıdan herhangi bir bulaşma olmadan steril tüplere 10 ml süt örneği alındı. Süt örnekleri soğutucu kap içerisinde Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına iletilerek etken izolasyon ve identifikasyonu yapıldı.

Bütün CMT pozitif subklinik örneklerden mikrobiyolojik izolasyon amacı için Kanlı Agar, Mac Conkey Agar ve Sabouraud Dextrose Agar kullanıldı. Süt örnekleri homojenize edildikten sonra örneklerden 0,01 ml alınarak besiyerlerine ekimleri yapıldı. Besiyerleri 37°C'de aerobik koşullarda 24-72 saat inkübe edildi. İzole edilen mastitis etkenlerinin identifikasyonunda klasik biyokimyasal testler ve D-Phoenix Otomatik Mikrobiyoloji İdentifikasyon Sistemi üretici firmanın talimatlarına uygun olarak kullanıldı (BD Phoenix™ Automated Microbiology System, BD Diagnostic Instrument Systems, Sparks, MD, USA).

İzole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri Cefazolin, Ciprofloksacin, Clindamycin, Erythromycine, Gentamicin, Ofloxacın, Oxacillin, Rifampin, Tetracycline, Trimethoprim+Sulphamethoxazole, Vancomycin kullanılarak üretici firmanın talimatlarına uygun olarak D-Phoenix Otomatik Mikrobiyoloji İdentifikasyon Sisteminde yapıldı (BD Diagnostic Instrument Systems, Sparks, MD, USA).

Phoenix ID/AST paneli

BD Phoenix™ 100 Otomatik Mikrobiyoloji İdentifikasyon Sistemi bakterilerin hızlı identifikasyonu (ID) ve antimikrobiyel duyarlılık testleri (AST) için tasarlanmış bir cihazdır. Bu sistemde 100 identifikasyon ve antimikrobiyel duyarlılık testi gerçekleştirilebilmektedir. Sistemin ID kısmı bakteri tiplendirmesini saptamak için bir seri konvansiyonel, kromatojenik ve florojenik biyokimyasal maddeler içerir. Phoenix AST metodu buyyon tabanlı mikrodilüsyon testi olup antimikrobiyel duyarlılık ölçümünde kullanılmaktadır. Cihazın ID kısmında kurutulmuş kimyasal substratlı 45 kuyu ve 2

floresans kontrol kuyusu vardır. AST kısmında ise kuru antimikrobiyel ajanları içeren 84 kuyu ve üreme kontrol kuyusu içerir. Cihaz, hazırlanan saf kültürlerin üretici firmanın kullanım talimatlarını uygun olarak cihaza yerleştirilmesi ve tam otomatik sistemle değerlendirilmenin yapılması şeklinde çalışmaktadır.

Bulgular

Araştırmamızın materyalini değişik ırk ve laktasyon dönemindeki ineklerde tespit edilen 268 subklinik mastitisli meme lobu oluşturdu. Meme loblarındaki mastitis CMT ve mikrobiyolojik testlerle tespit edildi. CMT sonucu pozitif saptanan 268 meme lobundan alınan örneklerin 239 (% 89,18)'unda üreme olmuş, 29 (% 10,82) adedinde ise üreme olmamıştır. İdentifikasyon sonucunda subklinik mastitislerde en fazla üreyen mikroorganizma *S. aureus* (% 24,63) olarak tespit edildi. Çalışmada tespit edilen diğer mikroorganizmalar ve oranları Tablo 1'de görülmektedir. Çalışma sonucu identifiye edilen mikroorganizmalara karşı bulunan duyarlı antibiyotikler ise Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. Subklinik mastitisli sütlerde üreyen mikroorganizmalar.

İzole edilen patojen	Sayı	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	66	24,63
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	30	11,19
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	20	7,46
<i>Streptococcus agalactiae</i>	27	10,07
<i>Streptococcus uberis</i>	5	1,87
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	10	3,73
<i>Bacillus spp.</i>	10	3,73
<i>Escherichia coli</i>	23	8,58
<i>Enterobacter cloacae</i>	10	3,73
<i>Klebsiella pneumonia</i>	5	1,87
<i>Pseudomonas auriginosa</i>	5	1,87
<i>Enterobacter faecalis</i>	10	3,73
<i>Diplococ spp.</i>	8	2,99
<i>Candida spp.</i>	10	3,73
Üreme olmayan	29	10,82
Toplam	268	100

Tablo 2. İdentifiye edilen mikroorganizmalara karşı bulunan duyarlı antibiyotikler

Antibiyotik İsimleri	İzole edilen patojen					
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. uberis</i>	<i>S. dysgalactiae</i>	<i>E. coli</i>
Ampicillin	I	S	S	S	S	I
Amoxicillin+Clavulanate	R	R	S	S	S	R
Tetracycline	R	R	I	I	I	R
Ampicillin	R	I	R	R	R	R
Gentamicin	R	R	R	R	R	R
Erythromycin	R	I	R	I	I	R
Kanamycin	R	R	R	R	R	R
Cefoperazone-Sulbactam	S	S	S	S	S	I
Cefoxitin	S	S	S	S	S	S
Ofloxacin	R	R	R	R	R	R
Penicillin G	R	R	R	R	R	R

I; orta duyarlı antibiyotikler, R; Dirençli antibiyotikler, S; Duyalı antibiyotikler

Tartışma

Süt inekçiliğinde sıklıkla görülen mastitis ülkemiz hayvancılığında büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Özellikle subklinik mastitisler diğer mastitislere oranla daha 40-50 kat fazla görüldüğünden, erken teşhis edilmesi ve uygun olan tedavi yönteminin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır (9). Ülkemizde yapılan çalışmalar sonucu farklı subklinik mastitis görülme oranları bildirilmiştir. Kırıkkale’de % 54,37 (22), Şanlıurfa’da % 72,4 (23), Afyon’da % 43,7 (24), Konya’da % 23 (25), Kars’ta % 15,78 (17), Elazığ’da % 8,2 (26) oranında subklinik mastitislere rastlandığı bildirilmiştir. Sunulan çalışmada, CMT bulgularına göre subklinik mastitis oranı % 89,18 bulundu bu değer diğer çalışmaların çoğundan yüksek olduğu gözlemlendi. Bu durumun, örneklerin birçoğunun aile tipi işletmelerden alınması, yetiştiriciler tarafından sağım hijyeni ve kurallarına uyulmaması ve bölgesel farklılıklardan kaynaklanabileceği kanısına varıldı.

Birçok araştırmacı tarafından subklinik mastitislerde en fazla *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* ve *E. coli* mastitis etkeni olarak bildirilmiş olup, sunulan çalışmanın bulgularıyla paralellik göstermektedir (3,9,27). Çalışmada en yüksek oranda (% 24,63) izole edilen *S. aureus*, tüm dünyada subklinik mastitis vakalarında en sık görülen etken olarak bildirilmektedir (3,22,23,27,28).

Subklinik mastitislerin tedavisinde iyileşme uygulanan antibiyotiğe, uygulama şekline ve süresine bağlı olarak değişmektedir. Bu vakalarda tedavide en etkili yöntem, antibiyogram sonucuna dayanılarak etkili olan antibiyotiğin meme içine lokal olarak uygulanmasıdır. Parenteral uygulanan antibiyotiğin bu tip mastitislerde etkisiz kaldığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (6,18).

Yapılan çalışmalar sonucu subklinik mastitislerde izole edilen etkenlerin tedavisinde kullanılacak antibiyotikler dirençlilik bakımından farklılıklar göstermektedir (17,23,28).

Subklinik mastitislerde; Hadimli ve Uçar (29) Amoksisilin+Klavulonik asit kombinasyonu, Wilson (10) Erythromycin, Amoxicillin ve Cloxacillin’le, Dinç ve ark., (30) ise Enrofloxacin uygulamasıyla değişik oranlarda iyileşme sağladıklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada izole edilen bakterilere uygulanan antibiyogram sonucu tablo 2’de sunulmuştur. Bu sonuca göre; *Staphylococcus spp.* Ampicillin, Cefoperazone-Sulbactam, Cefoxitin grubu; *Streptococcus spp.* Amoxicillin+Clavulanate, Ampicillin, Cefoperazone-Sulbactam, Cefoxitin grubu; *E.coli* Cefoxitin grubu antibiyotiklere duyarlı bulunurken, izole edilen bütün etkenlerin penisilinle dirençli olduğu görülmüştür. Diğer araştırmacılar tarafından izole edilen etkenlerin antibiyotik duyarlılık oranları arasındaki farklılıkların bölgesel suş dağılımının farklılığı ve bilinçsiz kullanılan ilaçlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, mastitisin Diyarbakır yöresinde halen süt sığırcılığının önemli sorunlarından biri olduğu ve izole edilen mastitis etkenlerinin genel olarak Cefoperazone-Sulbactam, Cefoxitin ve Ampicillin grubu antibiyotiklere duyarlı olduğu sonucuna varıldı.

Kaynaklar

- 1- Baştan A. (2010). İneklerde meme sağlığı ve sorunları. Kardelen Ofset Matbaacılık, Ankara.
- 2- İzgür H, Kılıçoğlu Ç. (1984). İneklerde subklinik mastitislerin sağaltımları üzerine çalışmalar. Doğa Bilim Dergisi, D1, 8(3); 252-256.
- 3- White EC, Hinckley LS. (1999). Prevalance of mastitis pathogens in goat milk. Small Ruminant Research, 33; 117-121.
- 4- Blowey R, Edmondson P. (1995). Mastitis Control in Dairy Herds. Farming Press Books, Ipswich, United Kingtom.
- 5- Alaçam E, Tekeli T, Erganiş O, İzgi N. (1989). İnek ve mandalarda subklinik mastitislerin tanısı, etkenlerin izolasyonu ve bunlara karşı etkili antibiyotiklerin belirlenmesi. S.Ü. Vet Fak Derg., 5(1); 91-101.
- 6- Alaçam E, Tekeli T, Sezen Y, Erganiş O. (1986). Sütçü ineklerin subklinik mastitislerinde Cefoprazone’un etkisi üzerinde çalışma. S.Ü. Vet Fak Derg., 2(1); 65-74.
- 7- Rişvanlı A, Kalkan C. (2002). Sütçü ineklerde yaş ve ırkın subklinik mastitisli memelerin sütlerindeki somatik hücre sayıları ile mikrobiyolojik izolasyon oranlarına etkisi. YYÜ Vet. Fak. Derg., 13(1-2); 84-87.
- 8- Özyurtlu N. (2011). İneklerde mastitisin ekonomik ve sağlık açısından önemi. Dicle Üniv Vet Fak Derg, 1(5); 36-38.
- 9- Şimşek H, Aksakal M. (2005). Subklinik mastitisli ineklerde bazı hematolojik değerlere E vitamininin etkisi. F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi, 19(1); 63-67.
- 10- Wilson CD. (1971). Mastitis Control. Agriculture, 78(5); 208-214.
- 11- Chander S, Baxi M. (1975). Diagnosis and treatment of subclinical mastitis in cows. Indian Ve. J., 52(4); 275-281.
- 12- Hunter AC, Jeffery DC. (1975). Subclinical mastitis in suckler cows. Vet. Rec., 96; 442-447.
- 13- Arda M, İstanbulluoğlu E. (1979). Mastitislere neden olan aerob, anaerob ve mantarların izolasyonu, identifikasyonu, bunlara karşı etkili antibiyotik ve fungusitlerin saptanması. AÜ Vet. Fak. Derg., 26(3-4); 14-29.
- 14- Doğaneli MZ, Alaçam E. (1977). Sağım ve Mastitis. Türk Vet. Hek. Dern. Derg., 47(3); 1-39.
- 15- Schalm OW, Carrol EJ, Jain NC. (1971). Bovine mastitis. Lea-Febiger Comp., Philadelphia.
- 16- Yıldız A. (2003). Laktasyondaki subklinik ve klinik mastitisli sütçü ineklerde Lincomycin-Neomycin kombinasyonu ile meme içi tedavinin etkinliği. F.Ü. Sağlık Bil. Derg., 17(1); 65-69.
- 17- Şahin M, Çolak A, Otlu S, Aydın F, Genç O, Güler MA, Oral H. (1997). Kars yöresi ithal Simental ineklerinde subklinik ve klinik mastitislerin görülme oranları ve etkili antibiyotiklerin belirlenmesi. Kafkas Üniv Vet Fak Derg., 3(1); 49-55.
- 18- Baştan A. (2002). İneklerde meme hastalıkları. Hatipoğlu Basım ve Yayım san., Ankara.
- 19- Alarawi AA, Pollak EJ, Laben RC. (1979). Genetic analysis of California Mastitis Test records. I. Ceded tests. J. Dairy Sci., 62(7); 115-124.
- 20- Alibaşoğlu M, Doğaneli MZ, Keskintepe H. (1969). Süt ineklerinde mastitislerin insan ve hayvan sağlığı yönünden araştırılması. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 16(2); 122-145.
- 21- Tekeli T, Baysal T, Gökçay Y. (1985). İneklerde subklinik mastitislerin kuru dönemde penisilin+streptomisin

- kombinasyonu ile sağıtımı üzerine araştırmalar. S.Ü. Vet. Fak. Derg., 1(1); 71-79.
- 22- Macun HC, Yağcı İP, Ünal N, Kalender H, Sakarya F, Yıldırım M. (2011). Kırıkkale’de Belirlenen Subklinik Mastitisli İneklerde Etken İzolasyonu ve Antibiyotik Direnç Durumu. Erciyes Üniv Vet Fak Derg, 8(2); 83-89.
- 23- Tel OY, Keskin O, Zonturlu AK, Arserim Kaya NB. (2009). Şanlıurfa yöresinde subklinik mastitislerin görülme oranı, aerobik bakteri izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. FÜ Sağ Bil Vet Derg, 23(2): 101-106.
- 24- Kuyucuoğlu Y, Uçar M, (2001). Afyon bölgesi sut ineklerinde subklinik ve klinik mastitislerin görülme oranları ve etkili antibiyotiklerin tespiti. Vet Hek Mikrobiyol Derg,1:19-24.
- 25- Bozkır M. (1985). Konya ve yoresindeki sut ineklerinde klinik ve subklinik mastitis olgularından aerob patojenik etken izolasyonu ve identifikasyonu ile bunlara etkili antibiyotiklerin tespiti. Etlik Mikrob Enst Derg, 5(8-9): 104-138.
- 26- Gülcü HB, Ertaş HB, 2004. Elazığ yöresinde mezbahada kesilen ineklerde mastitisli meme loblarının bakteriyolojik incelenmesi. Turk J.Vet Anim Sci, 28: 91-94.
- 27- Bademkiran S, Yeşilmen S, Gürbulak K. (2005). Sütçü ineklerde günlük sağım sayısının klinik mastitis ve süt verimi üzerine etkisi. YYÜ Vet. Fak. Derg., 16(2); 17-21.
- 28- Ak S, Horoz H, Ilgaz A (2000). Trakya bölgesinde sığır mastitisinden sorumlu bulaşıcı ve çevresel bakteriyel etkenler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. İstanbul Üniv Vet Fak Derg, 26(2):353-365.
- 29- Hadimli HH, Uçar M. (1999). Klinik ve subklinik mastitislerin sağıtımında amoksisilin+klavulonik asitin etkinliği. Hayv. Araş. Derg., 9; 65-70.
- 30- Dinç DA, Erganiş O, Güler M, Uçan US. (1991). İneklerin subklinik mastitislerinde Baytril’in etkisi. Hayv Araş Derg., 1; 13-17.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Simten YEŞİLMEN

**Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır**

e-mail: simten@dicle.edu.tr