

Çiğ İnek Sütlerinden İzole Edilen Koliform Grubu ve *Staphylococcus aureus* Bakterilerinin Tanımlanması¹⁾

Uz. Biyolog Hürriyet YALÇIN, Dr. Salih ÖZDEMİR

Prof. Dr. H. Yusuf GÖKALP, Prof. Dr. Ahmet KURT

Atatürk Üni., Zir. Fak., Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü — ERZURUM

ÖZET

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi pilot süt fabrikasına, 6 farklı yöreden gelen sütlerden, değişik zamanlarda toplam 48 adet süt örneği alınarak koliform grubu bakteri ve *Staphylococcus aureus* yönünden analiz edilmiştir. Bu süt örneklerinden izole edilen 456 koliform suşundan 82'si *Escherichia coli* tip I, 37'si *E. coli* tip II, 16'sı *E. freundii*, 167'si *Enterobacter aerogenes* ve 33'ü de *E. cloacea* olarak tanımlanmıştır. 121 suş ise tanımlanamamıştır.

İzole edilen 96 adet *S. aureus* suşundan 42'sinin hemolize-koagülaz (+ +), 36'sinin (+ -), 18'inin de (- +) olduğu saptanmıştır.

SUMMARY

Identification of Coliform Group and *S. aureus*, Isolated from Raw Cow Milks.

Total 48 milk samples coming to Atatürk University Agricultural Dairy Plant from 5 different villages and the University dairy herd were analyzed for their coliform bacteria and *Staphylococcus aureus*. Total 456 coliform bacteria were isolated and identified. Among the identified coliform bacteria, 82 typical *Escherichia coli*, 37 atypical *E. coli*, 16 *E. freundii*, 167 *Enterobacter aerogenes* and 33 *E. cloacea* were identified. 121 coliform bacteria could not be identified and stated as the other coliform groups.

Total 96 *S. aureus* bacteria were isolated. In *S. aureus* bacteria 42 of them had given hemolysis - coagulation tests (+ +), 36 (+ -) and 18 (- +).

1. GİRİŞ

Koliform grubu bakteriler aerobik, fakültatif anaerobik, gram negatif, sporsuz, çubuk şekilli ve şekerlerden gaz oluşturabilen bakterilerdir. Bu bakteriler süt ve mamüllerinin kalitesini bozması yanında, insan sağlığını da

olumsuz yönde etkilemektedir. Koliform grubu bakterilerin gıdalarda fazlaca bulunması gıdanın dışı kaynakları ile kontamine olduğuna ve gıdada diğer patojen bakterilerin de bulunabileceğine işaret sayılmaktadır (NICKERSON ve SINSKEY, 1974; FRAZIER ve WESTHOFF, 1978).

Diğer taraftan, koliform grubu bakterilerin bazı türleri sindirim sistemi dışına çıktığında patojen tesir göstererek, çeşitli hastalıklara da sebep olabilmektedir. Bunlardan *Enterobacter aerogenes*'in bazı suşları idrar yolu enfeksiyonlarına, *Escherichia coli*'nin bazı serolojik tipleri de, yeni doğan bebeklerde ishal salgısına neden olabilmektedir (AKMAN ve GÜLMEZOĞLU, 1980).

Ülkemizde, bilhassa kırsal kesimde tereyağı ve peynir üretiminde kullanılan sütte pastörizasyon işlemi yapılmamaktadır. Bu durumda, çiğ sütte mevcut olan mikroorganizmaların büyük çoğunluğu, üretilen mamüle geçmektedir. Bu mikroorganizmalar içerisinde, *E. coli* ve *E. aerogenes* laktozu parçalayarak gaz oluşturmakta ve beyaz peynirde şişme meydana getirebilmektedir. Bazen de, peynir içinde oluşan gaz peynirin teneke içerisinde parçalanmasına da neden olabilmektedir.

Staphylococcus aureus'da sütte bulunabilen patojen bir bakteridir. Ayrıca, son 10 yıl içinde, süt endüstrisi gelişmiş ülkelerde mastitise neden olduğu için üzerinde fazlaca durulmaktadır (HAHN, 1990). Aynı zamanda *S. aureus*'un bazı suşları enterotoksin oluşturarak insan sağlığına zararlı etki yapabilmektedir.

ERGÜLLÜ (1984), bir araştırmasında çiğ inek sütünden izole ettiği 942 adet koliform suşunun 186'sının *E. aerogenes* ve 517'sinin de *E. coli* olduğunu belirlemiştir. BARBARO ve

1) Araştırma, Atatürk Üni. Araştırma fonunda (proje No: 90/1) desteklenmiştir.

ark., (1984) ise, pastörize süt örneklerinden izole ettiği 325 koliform suşunun % 13,65'inin *E. coli* tip I, % 14,4'ünün *E. aerogenes*, % 23,8'inin *E. cloacea* ve % 19,8'inin de *Klebsiella* cinsi içinde yer aldığını tesbit etmişlerdir. WEBER ve HAMANN (1981) ise, 186 süt numunesinden izole ettikleri koliform suşlarında *E. coli* ve *E. aerogenes* sayısının birbirine yakın olduğunu saptamışlardır. Mısır'da yapılan bir araştırmada ise, 64 koliform suşunun % 48'inin *E. coli* olduğu ve % 31'inin de *Enterobacter* cinsi içinde yer aldığı belirlenmiştir (ABOUL-KHIER ve ark., 1989).

VARADARAJ ve NAMBU DRIPAD (1983) bazı *S. aureus* suşlarının *E. coli* ve *E. aerogenes*'in bulunduğu ortamda gelişip, enterotoksin üreterek sağlık problemi ortaya çıkarabileceğini bildirmişlerdir.

2. MATERYAL VE METOT

Materyal

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi süt fabrikasına Ziraat Fakültesi süt sığır sürüsü ve Erzurum'a yakın köylerden (Gez, Dutçu, Karagöbek, Haydari köyleri ile Sanayi mahallesi) gelen sütlerden 48 adet süt örneği aseptik şartlara dikkat edilerek usulüne uygun olarak alınmıştır. Süt örnekleri Ocak başından, Haziran ortasına kadar her 15 günde bir alınmıştır. Örnekler, hemen laboratuvara getirilerek mikrobiyolojik analizlere tabi tutulmuştur.

Metot

Süt örneklerinden 1 ml alınarak 9 ml steril saf suya aktarılmış ve 10^{-1} 'lik dilüsyonlar

hazırlanmıştır. Bunlardan da uygun seyreltiler yapılmıştır.

Koliformların sayımı ve ön ayırımı Violet Red Bile Agar'da yapılmıştır. Bunun için 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} 'lük dilüsyonlardan çift petri plakına 1'er ml aktarılmış ve agar ilavesinden sonra $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48 ± 3 saat inkübe edilmiştir. Oluşan 0,5 mm'den daha büyük kırmızı renkli koloniler sayılmış ve dilüsyon faktörü ile çarpılarak sonuca gidilmiştir. Daha sonra bu kolonilerden 8-10 adet arasında steril öze ile alınarak yatkı Nutrient Agar'a aktarılmıştır. Ekim yapılan tüpler $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48 ± 3 saat inkübe edilmiş ve böylece saf kültürler hazırlanmıştır (HAUSLER, 1974).

Saf kültürlerden, içinden durham tüpü bulunan Brom Kresol Morlu Laktoz Broth'a ekim yapılmış ve $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48 ± 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda asit ve gaz oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, gram boyama yapılarak gram (—) çubuk şeklindeki bakterilerin saf kültür halinde görülmesi pozitif olarak değerlendirilmiş ve ve tanımlamaya geçilmiştir (AKMAN, 1961).

Bu koliform grubu bakterilerin tanımlanması ise, indol, metil kırmızısı, Voges-Proskauer ve sitrat testleri (İMVİC) uygulanarak yapılmıştır. Yapılan İMVİC testleri sonunda, elde edilen bulguların değerlendirildiği teşhis anahtarı Tablo 1'de verilmiştir. Bu teşhis anahtarı ile tanımlanamayan koliformlar ise, diğer koliform grubu bakteriler olarak verilmiştir (TEATCHER ve CLARCK, 1973; ARDA, 1981).

Tablo 1. Koliform Grubu Bakterilerin İMVİC Testi Teşhis Anahtarı

İMVİC Testleri	Tanımlanan Koliform Grubu Bakteriler				
	<i>E. coli</i> Tip I	<i>E. coli</i> Tip II	<i>E. freundii</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. cloacea</i>
İndol	+	—	+	—	+
Metil Kırmızısı	+	+	+	±	—
Voges - Proskauer	—	—	—	±	+
Sitrat	—	—	+	+	+

S. aureus bakterilerinin sayımı ve izolasyonu; süt örneklerinden hazırlanan 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} 'lük dilüsyonlardan 2'şer petri kutusuna 1'er ml aktarılıp, üzerlerine **Staphylococcus Medium 110** besiyerinden dökülerek yapılmıştır. Petri kutuları $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 ± 3 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyeri üzerinde, düzgün kenarlı, altın sarısı renkteki koloniler **S. aureus** olarak belirlenmiştir. Bu kolonilerden şansa bağlı olarak 2'şer örnek seçilerek hemoliz ve koagülaz testine tabi tutulmuştur (LELOĞLU ve ERDOĞAN, 1979).

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

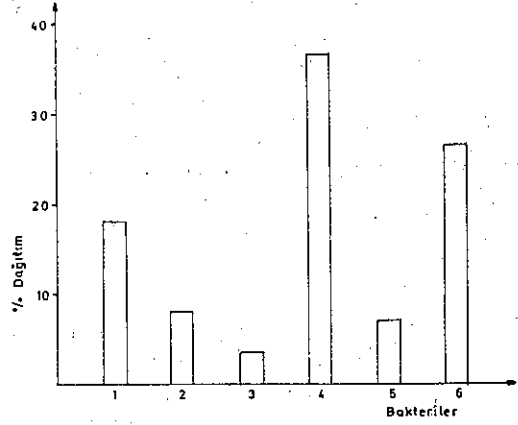
3.1. Koliform Grubu Bakteri Sayısı

İncelenen çiğ inek sütlerinde koliform grubu bakteri sayısı; $1,5 \times 10^5$ — $2,5 \times 10^6$ adet/ml arasında değişmiş, ortalama $5,4 \times 10^5$ adet/ml olarak tesbit edilmiştir. Süt örneklerinin alındığı bölgeler arasında önemli ($P < 0,05$) farklılık olmazken, örnekleme peryotları arasındaki fark önemli ($P < 0,05$) bulunmuştur. Ocak ve Şubat aylarında alınan numunelerde en düşük koliform sayısı belirlenmiş, bu sayı Nisan ayında ise en yüksek düzeye ulaşmıştır. Bu durum, ilkbahar aylarında karların erimesiyle birlikte dışkı kaynaklarının içme sularına fazlaca karışması ile izah edilebilmektedir.

3.2. Koliform Grubu Bakterilerin Tanımlanması

456 adet koliform grubu bakteri izole edilmiştir. Tanımlanan koliform suşları ve dağılım oranları Şekil 1'de verilmiştir. Bu bakterilerden 82'sinin (% 18,0) **E. coli** tip I, 37'sinin (% 8,1) **E. coli** tip II, 16'sinin (% 3,5) **E. freundii**, 167'sinin (% 36,6) **E. aerogenes** ve 33'ünün de (% 7,2) **E. cloacea** olduğu saptanmıştır. 121 (% 26,6) koliform suşu ise, tanımlanamayarak diğer koliform grubu bakteriler olarak gruplandırılmıştır.

Şekil 1'den de görüldüğü gibi, süt örneklerinde en yüksek sayıda **E. aerogenes** izole edilmiş, **E. freundii** ise en düşük sayıda bulunmuştur. Bu sonuç, çiğ süttten yapılan peynirlerde fazla sayıda **E. aerogenes** bulunabilme ihtimaline de işaret etmektedir. Bu bakteri, ortamdaki laktozu hızla parçalayarak, **E. coli**'nin



Şekil 1. Çiğ inek sütünden izole edilen koliform grubu bakteriler ve dağılım oranları

Not : Bakteriler; 1) **E. coli** tip I, 2) **E. coli** tip II, 3) **E. freundii**, 4) **E. aerogenes**, 5) **E. cloacea**, 6) Diğer koliform suşları.

oluşturduğu miktardan daha fazla gaz oluşturmakta ve beyaz peynir tenekelerinin şişmesine de neden olabilmektedir (İLERİ, 1964). Bundan dolayı beyaz peynir yapımında sütte patojen mikroorganizmalarla birlikte koliform grubu bakterilerin de öldürülmesi şarttır. Bu durum peynir yapılacak sütlerin pastörize edilmesi gereğini ortaya çıkarmaktadır.

ERGÜLLÜ (1984) ve WEBER ve HAMANN (1981)'in koliform dağılımları ile ilgili bulguları bu araştırma bulgularından farklı olmakla birlikte, BARBARO ve ark., (1984)'nin bulguları, araştırma bulguları ile paralellik göstermektedir.

3.3. Staphylococcus aureus Sayısı

Süt örneklerinde **S. aureus** sayısı $2,3 \times 10^1$ - $2,8 \times 10^3$ adet/ml arasında değişmiş, ortalama $7,0 \times 10^2$ adet/ml olarak saptanmıştır. **S. aureus** sayısı Dutçu Köyünde en yüksek, Karagöbek Köyünde ise en düşük olarak saptanmıştır. Mayıs ve Haziran aylarında alınan süt örneklerinde **S. aureus** sayısı daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, **S. aureus** sayısının hava sıcaklığının artmasına paralel olarak arttığını göstermektedir.

3.4. *S. aureus* Suşlarının Hemoliz-Koagülaz Test Sonuçları

İzole edilen 96 adet *S. aureus* suşundan 42'sinin (% 43,8) hemoliz-koagülaz sonuçları ($\pm\pm$), 36'sının (% 37,5) ($\pm-$) ve 17'sinin de (% 17,7) ($- \pm$) olarak saptanmıştır. Hemoliz ve koagülaz testlerinin ($\pm\pm$) olması patojenlikte önemli bir göstergedir. Dutçu kö-

yünden alınan sütlerde daha yüksek oranda hemoliz ve koagülaz ($\pm\pm$) reaksiyon gösteren bakteri tanımlanmış, Karagöbek köyünden alınan örneklerde ise bu oran daha düşük olarak saptanmıştır. Genel olarak *S. aureus* sonuçları çiğ süttten yapılan süt mamüllerini tüketen kişiler için bir sağlık problemi ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- ABOUL-KHIER, F.A., EL-BASSIONY, T., GAD-EL-RAD, H., 1989. Incidence of coliform organism in raw milk in Shag City. Dairy Sci. Abs. 48 (10), 673.
- AKMAN, M., 1961. Su, Süt ve Türelerinin Rutin Bakteriyolojik Muayeneleri. Ege Matb., Ankara.
- AKMAN, M., GÜLMEZOĞLU, E., 1980. Tıbbi Mikrobiyoloji, Hacettepe Üniv. Yay., Ankara.
- ARDA, M., 1981. Genel Bakteriyoloji Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay., Ankara.
- BARBARO, D., GENTILI, S.B., GIANELLI, R., PANCINI, R., 1984. Identification of Coliforms isolated from pasteurized milk and from the environment of florencer central dairy. Sci. Abs., 46 (8), 5243.
- ERGÜLLÜ, E., 1984. Süt ve mamüllerinden izole edilen koliform grubu bakterilerin tanımı üzerinde araştırmalar. Gıda 9 (2), 107 - 114.
- FRAZIER, W.C., WESTHOFF, D.C., 1978. Food Microbiology. Hill Book Company, New York, USA.
- HAHN, G., 1990. Staphylococcus aureus und Staphylokokkem Enterotoksine. B. Behr's Verlag, Hamburg.
- HAUSLER, W.J., 1974. Standart Methods for the Examination of Dairy Products. American Public Health Association, Inc., Washington D.C., USA.
- İLERİ, A., 1964. Standart Metotlarla Menşel Hayvani ve Nebati Gıdaların Mikrobiyolojik Kontrolü. Gürsoy Masımevi, Ankara.
- LELOĞLU, N., ERDOĞAN, N., 1979. Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Yay., Erzurum.
- NICKERSON, J.T., SINSKEY, A.C., 1974. Microbiology of foods and food processing. American Elsevier Publishing Company. New York, USA.
- TEATCHER, F.S., CLARCK, D.S. 1973. Microorganisms in Food, University of Toronto Press, Canada.
- VARADARAJ, M.C., NAMBU DRIPAD, V.K.N., 1983. Staphylococcus aureus in association with a few contaminants in a dairy. Dairy Sci. Abs., 36 (2), 142.
- WEBER, H., HAMANN, R., 1981. Determination of coliform bacteria or Enterovacteriaceae for evaluating the hygienic status of raw milk. Dairy Sci. Abs., 43 (9), 710.