



Isolation of Some Aerobic Bacteria and *Mycoplasma* spp. from Goat Milk with Clinical and Subclinical Mastitis

Samet KOLTAŞ Ziya İLHAN

Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Van, Turkey

Received: 02.02.2016

Accepted: 20.02.2016

SUMMARY

In this study, it was aimed to isolate some aerobic bacteria and *Mycoplasma* species from the milk samples collected from the goats with clinical and subclinical mastitis. A total of 188 milk samples were collected from the 5 different goat farms. Of the 188 samples, 13 (6.9%) were clinical mastitis and 175 (93.1%) were subclinical mastitis that was evaluated by California mastitis test (CMT). Of the 188 samples, 135 (71.8%) were positive and 53 (28.2%) were negative by bacteriological culture. When CMT and culture results were compared, of the 184 CMT positive milk samples, 135 (73.3%) were positive and 49 (26.7%) were negative by culture. As pure culture, 34 (25.1%) milk samples were positive for *Staphylococcus aureus*, 21 (15.5%) for coagulase negative staphylococci (CNS), 18 (13.3%) for *Micrococcus* spp., 9 (6.6%) for *Streptococcus* spp., 5 (3.7%) for *Staphylococcus epidermidis*, 4 (2.9%) for *Escherichia coli*, 1 (0.7%) for *Enterococcus columbae*, 1 (0.7%) for *Pasteurella multocida*, 1 (0.7%) for *Enterococcus* spp., 1 (0.7%) for *Listeria* spp., 1 (0.7%) for *Klebsiella* spp., 1 (0.7%) for *Enterobacter* spp., 1 (0.7%) for fungus. *Mycoplasma* spp. were not isolated from any of the tested samples. The results of this study can be summarized as follows: i) when CMT and culture results (49 samples tested positive by CMT, but negative by culture) were compared by two proportion method, statistical relationship between CMT and culture was statistically significant ($P < 0.001$). So, the CMT was not enough to give reliable results for the pre-detection of subclinical mastitis in goats; ii) the ideal planting method applied to goat's milk was seen as after 10 min centrifugation at 4000 rpm was streaked from the pellet by cotton swab; iii) the isolation rate from the milk samples with clinical mastitis is higher than the milk samples with subclinical mastitis; iv) the majority of the streptococci belong to serogroup D; v) the most prevalent isolated bacteria from both the milk samples with clinical mastitis and the milk samples with subclinical mastitis were *S. aureus* and CNS.

Key Words: Bacterium, Goat, Isolation, Mastitis, *Mycoplasma* spp.

ÖZET

Klinik ve Subklinik Mastitisli Keçi Sütlerinden Bazı Aerobik Bakteri ve *Mycoplasma* spp. İzolasyonu*

Bu çalışmada, Van ve Hakkâri yöresinde yetiştirilen klinik ve subklinik mastitisli keçi sütlerinden bazı aerobik bakterilerle, mikoplazmaların izolasyonu amaçlandı. Çalışma kapsamında, 5 farklı işletmede barınan 13 (%6.9) adeti klinik, California mastitis testi (CMT) ile yapılan değerlendirmeye göre ise 175 (%93.1) adeti subklinik mastitisli olan toplam 188 adet keçiden alınan aynı sayıdaki süt örneği incelendi. İzolasyon sonuçları toplam olarak değerlendirildiğinde, 188 adet süt örneğinin 135'inden (%71.8) kültür pozitif sonuç alınırken, 53 (%28.2) örnekten ise her hangi bir bakteri üremesi olmadı. CMT ve kültür sonuçları karşılaştırıldığında, CMT pozitif 184 süt örneğinden 135'i (%73.3) kültür ile de pozitif sonuç verirken, 49'u (%26.7) ise negatif sonuç verdi. Saf kültür olarak gerek klinik mastitisli gerekse subklinik mastitisli keçi sütlerinden en yüksek oranda 34 (%25.1) *Staphylococcus aureus* üredi. Bunu takiben saf kültür olarak örneklerin 21'inden (%15.5) koagulase negatif stafilkokoklar (KNS), 18'inden (%13.3) *Micrococcus* spp., 9'undan (%6.6) *Streptococcus* spp., 5'inden (%3.7) *Staphylococcus epidermidis*, 4'ünden (%2.9) *Escherichia coli*, 1'inden (%0.7) *Enterococcus columbae*, 1'inden (%0.7) *Pasteurella multocida*, 1'inden (%0.7) *Enterococcus* spp., 1'inden (%0.7) *Listeria* spp., 1'inden (%0.7) *Klebsiella* spp., 1'inden (%0.7) *Enterobacter* spp. ve 1'inden (%0.7) ise maya izole edildi. İncelenen örneklerin hiç birinden *Mycoplasma* spp. izole edilmedi. Sonuç olarak; i) CMT ve bakteriyolojik kültür sonuçları Z oran testine göre karşılaştırıldığında; CMT pozitif, kültür negatif (49 örnek) sonuçlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P < 0.001$) belirlendi ve bu nedenle, CMT'nin keçilerdeki subklinik mastitislerin ön teşhisinde yeteri düzeyde güvenilir sonuç vermediği, ii) keçi sütlerine uygulanan ideal ekim yönteminin, 4000 rpm'de 10 dk santrifüj işleminden sonra "tortudan svabla yapılan yayma yöntemiyle ekim" olduğu, iii) klinik mastitisli süt örneklerinden, subklinik mastitisli örneklere göre daha yüksek oranda bakteri izole edildiği, iv) izole edilen streptokokların büyük çoğunluğunun D serogrubuna ait oldukları, v) mastitisli keçi sütlerinden en yüksek oranlarda *S. aureus* ile KNS'in izole edildiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Bakteri, İzolasyon, Keçi, Mastitis, *Mycoplasma* spp.

GİRİŞ

Keçiler, kurak ve bitki örtüsü fakir coğrafi alanlarda beslenebilen ve bu bölgeleri diğer ruminant türlerine göre çok daha iyi değerlendirebilen kanaatkâr hayvanlardır. Bu hayvanlar, kırsal alanda yaşayan ve coğrafi şartları tarıma ve diğer ruminant yetiştiriciliğine uygun olmayan arazilerde yaşayarak, belki de toplumun en alt gelir düzeyine sahip insanlar için önemli bir geçim kaynağı olarak görülmektedir. Genel olarak keçi sütü inek sütüne benzemekle birlikte, daha düşük oranda süt yağı, laktoz ve protein içermektedir. Besin değeri oldukça yüksek olan ve özellikle çocuklarla yaşlıların beslenmesinde temel besin maddelerinden biri olan sütün, beklenen etkilerini gösterebilmesi için temiz ve sağlıklı olarak tüketilmesi gerekmektedir.

Mastitis genel olarak, memenin deriyi içermeyen glandüler dokusunun yangısı olarak tanımlanmaktadır. Mastitis; süt veriminin azalmasına, sütün yapısı ve kalitesinin bozulmasına, memenin körelmesine, bazı vakalarda tedavi edilmediğinde annenin ölümüne, süt emen yavrulara hastalığın bulaşmasına neden olabilen ve tüm dünyada yaygın olarak görülen önemli bir enfeksiyondur (Stuhr ve Aulrich 2010). Değişik şekillerde sınıflandırılan mastitislerin en önemli formları, klinik ve subklinik mastitislerdir. Subklinik mastitis, meme dokusunda henüz klinik olarak gözlemlenebilen bir değişiklik oluşmadan ve ancak özel testlerle ortaya konulabilen bir meme enfeksiyonudur. Alınan çeşitli önlemlere rağmen gerek klinik gerekse subklinik mastitisler dünyanın birçok bölgesinde süt verimi için yetiştirilen sığır, koyun ve keçilerde yaygın olarak görülen önemli bir enfeksiyondur (Ekin 1998; Bergonier ve ark. 2003; Ekin ve Gurturk 2006; Contreras ve ark. 2007; İslam ve ark. 2011; Najeeb ve ark. 2013).

Mastitislerin bakteriyel etiyolojisi dikkate alındığında, ruminant mastitislerinden 100'den fazla mikroorganizmanın izole edildiği, fakat bunların çok azının klinik mastitislerden sorumlu olduğu ifade edilmektedir (Bergonier ve ark. 2003; Quinn ve ark. 2011). Örneklerden en fazla izole edilen ajanlar arasında *Staphylococcus aureus*, çeşitli koagülaz negatif stafilkoklar (KNS), *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *Escherichia coli*, çeşitli *Mycoplasma*, *Enterococcus*, *Pasteurella*, *Enterobacter*, *Listeria*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Kebsiella*, *Pseudomonas* türleriyle çeşitli mikotik ajanlar bulunmaktadır (Contreras ve ark. 2007; Quinn ve ark. 2011; İslam ve ark. 2012; Athina ve ark. 2015).

Dünyanın farklı bölgelerinde keçi mastitisleriyle ilgili yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda, daha çok bakteriyel etkenlerin ortaya konulmasının amaçlandığı görülmektedir. Kenya'da 7 farklı sürüde beslenen değişik ırklara ait 315 adet keçiden alınan 630 adet süt örneği; subklinik mastitis yönünden California mastitis testi (CMT) ve bakteriyolojik kültür yöntemleriyle karşılaştırmalı olarak test edilmiştir. Konvansiyonel yöntemlere göre yapılan değerlendirmede, CMT pozitif 62 örneğin 9'undan (%14.5) her hangi bir bakteri üremesinin olmadığı, 40 (%64.5) örnekten koagülaz pozitif stafilkokların (KPS), 5 (%8.1) örnekten *Actinomyces* türlerinin, 3 (%4.8) örnekten KNS'in, 3 (%4.8) örnekten *Streptococcus* türlerinin ve 2 (%3.2) örnekten ise değişik türden Gram negatif bakterilerin ürediği bildirilmiştir. CMT negatif süt örneklerinin (568 adet) 71'nden (%12.5) KNS'in, 32'sinden (%5.6) *Micrococcus* türlerinin, 9'undan (%1.5) *Acinetobacter* türlerinin, 4'ünden (%0.7) KPS'in, 12'sinden

(%2.1) ise çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin karışık olarak ürediği ifade edilmiştir (Ndegwa ve ark. 2000). Bangladeş'te gerçekleştirilen bir çalışmada, 242 adet keçi incelenmiş ve bunlardan 11'inin (%4.5) klinik, 90'nının (%37.1) ise subklinik mastitisli oldukları belirlenmiştir. Klinik mastitisli hayvanlara ait sütlerin tamamından, subklinik mastitisli hayvanlara ait sütlerin ise 83'ünden (%92.2) kültür pozitif sonuç alındığı bildirilmiştir. İdentifikasyonun konvansiyonel yöntemlere göre yapıldığı çalışmada, örneklerin 55'inden (%58.5) KNS, 8'inden (%8.5) *S. aureus*, 5'inden (%5.3) *Streptococcus* spp., 3'ünden (%3.1) *Bacillus* spp., 7'sinden (%7.4) *E. coli* ve 5'inden (%5.3) ise çeşitli Gram negatif bakterilerin ürediği rapor edilmiştir (İslam ve ark. 2011). Pakistan'da 2 farklı coğrafi bölgede yetiştirilen 300 adet keçiden alınan süt örnekleri, öncelikle subklinik mastitis yönünden whiteside test ile analiz edilmiş ve 90'nının (%30) pozitif sonuç verdiği saptanmıştır. Yapılan izolasyon çalışmasında, örneklerden en yüksek oranda (%61.6) *S. aureus* ve bunu takiben *E. coli* (%10.9), *Streptococcus* spp. (%9.6), *Bacillus* spp. (%6.8), *Pseudomonas* spp. (%6.8) ve *Corynebacterium* spp. (%4.1) izole edildiği ifade edilmiştir (Najeeb ve ark. 2013).

Mastitisle ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de araştırmaların daha çok sığırlarda yapıldığı, koyun ve özellikle de keçilerde çalışmaların oldukça yetersiz olduğu dikkati çekmektedir. Bu çalışmada, Van ve Hakkâri yöresinde yetiştirilen klinik ve subklinik mastitisli keçi sütlerinden bazı aerobik bakterilerle ve mikoplazmaların izolasyonu amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışma kapsamında, Van (4 adet) ve Hakkâri (1 adet) bölgelerinde yetiştirilen 5 farklı işletmede barınan keçiler, veteriner hekimler tarafından klinik olarak muayene edildi. Örnek alınan hayvanların yaklaşık 15-20 gün öncesine kadar herhangi bir antibiyotik almamış olmasına dikkat edildi. Örnekler, her keçiden 1 adet olacak şekilde, klinik mastitisli hayvanların hastalıklı meme loblarından, subklinik mastitisli hayvanların ise her iki meme lobundan alındı. İzolasyon amacıyla klinik mastitisli 13 adet ve subklinik mastitisli 175 adet olmak üzere toplam 188 adet süt örneği uygun şartlarda steril tüplere 8-10 ml miktarında alınarak, kısa sürede ve soğuk zincirde, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına ulaştırıldı (Quinn ve ark. 2011). Gerçekleştirilen bu çalışma için Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığından 30.06.2015 Tarih ve 352 Sayılı yazı ile çalışma izni alınmıştır.

Klinik ve subklinik mastitisli sütlerin belirlenmesi:

Klinik mastitisli hayvanların belirlenmesi amacıyla, veteriner hekim tarafından dikkatli bir şekilde kontrol edilen hayvanlarda, meme bölgesinde görülen yangı semptomlarıyla, sütte görülen değişiklikler dikkate alındı (Quinn ve ark. 2011). Bu bulguları gösteren 13 hayvan klinik mastitisli olarak değerlendirildi. Subklinik mastitisin belirlenmesi amacıyla, ticari test solüsyonuyla CMT uygulandı. Pozitif olgularda jelleşmenin oluşum süresi, kıvamı ve rengi dikkate alındı. Buna göre pozitif örnekler +1, +2 ve +3 şeklinde skorlandı (Ekin 1988).

İzolasyon: Örneklerden kanlı agar (Blood agar base, 1.10886, Merck, Darmstadt, Germany), MacConkey agar (1.05465, Merck), Edwards medium (CM0027, Oxoid,

Basingstoke, England), mannitol salt agar (CM0085, Oxoid), *Mycoplasma* broth (211458, Becton Dickinson, Sparks, USA) ve *Mycoplasma* agara (CM0401, Oxoid) ekimler yapıldı. Kanlı agar ve Edwards medium üretici firmaların önerileri doğrultusunda, %5-7 defibrine koyun kanı ilave edilerek hazırlandı. MacConkey ve mannitol salt agarlar prosedürlerine uygun olarak hazırlanıp, kullanıldı. Ekim yapılan besiyerleri aerobik atmosferde ve 37°C'de, her gün üreme kontrolleri yapılarak 24-72 saat inkübe edildi. *Mycoplasma* broth ve *Mycoplasma* agar üretici firmaların önerileri doğrultusunda, steril edildikten sonra 40-45°C'ye kadar soğutulup, % 15 inaktive at serumu (SR0035C, Oxoid) ve kristalize penisilin (2000 IU/ml) (I.E. Ulugay İlaç Sanayi Türk A.Ş.) eklenerek hazırlandı.

Keçi sütlerinden bakteriyel etkenlerin izolasyonu amacıyla ideal ekim yönteminin belirlenmesi için örneklerden, farklı şekillerde kanlı agara ekimleri yapıldı ve aerobik atmosferde, 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Yapılan uygulama sonrasında ideal ekim yönteminin, süt örneklerinin 4000 rpm 10 dk santrifüj edilmesinden sonra steril svab ile tortudan yayma yöntemiyle yapılan ekim olduğu belirlendi ve çalışma süresince ekimler bu şekilde gerçekleştirildi.

Mikoplazmaların izolasyonu amacıyla santrifüj aşamasından sonra (4000 rpm, 10 dk) steril svablarla tortudan alınan örnekler, svabla birlikte *Mycoplasma* brotha konulup, 37°C'de ve %7 CO₂'li etüvde (MCO-17A1C, Sanyo, Japan), 14 gün inkübe edildi. İnkubasyondan sonra besiyerlerindeki svablarla *Mycoplasma* agara yayma yöntemiyle ekimler yapıldı, 37°C'de ve %7 CO₂'li etüvde, 21 gün inkübe edildi.

İdentifikasyon: Ekim yapılan besiyerlerinde üreyen ve muhtemel mastitis etkeni olarak değerlendirilen bakteriler, konvansiyonel yöntemlere göre identifiye edildi (Aydın ve ark. 2006; Quinn ve ark. 2011). İzole edilen streptokok şüpheli etkenlerin sero gruplandırmasında ticari kitle (Omega Diagnostic Avipath Strep., Scotland, UK) lateks aglutinasyon testi uygulandı. Test üretici firmanın önerisine göre gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analiz: Çalışmaya ait CMT ve bakteriyolojik kültür sonuçları, Z-oran testine göre Minitab (Demo ver. 17.0) istatistik paket programı kullanılarak, analiz edildi (Bağırkan 1993).

BULGULAR

CMT sonuçları: Çalışma kapsamında klinik olarak sağlıklı görünen keçilerden toplanan süt örneklerinin CMT ile analizinde, 175 (%34.9) adetinin pozitif verdiği görüldü ve bu hayvanlar subklinik mastitisli olarak değerlendirildi. Diğer yandan klinik olarak mastitisli oldukları belirlenen hayvanların 11'i (%84.6) CMT ile pozitif sonuç verdi.

Kültür sonuçları: İncelenen 5 farklı işletmenin tamamından kültür pozitif sonuçların alındığı çalışmada, 188 süt örneğinin 135'inden (%71.8) kültür pozitif sonuç alınırken, 53 (%28.2) örnekten ise her hangi bir bakteri üremesi olmadı. Subklinik mastitisli 175 keçinin süt örneklerinin 124'ünde (%70.8) üreme olurken, 51 (%29.2) örnekte ise üreme olmadı. Klinik mastitisli 13 hayvana ait süt örneklerinin 11'inden (%84.7) kültür pozitif sonuç alınırken, 2'sinden (%15.3) ise negatif sonuç alındı.

Toplam 14 farklı cins veya türde etkenin izole edildiği çalışmada, etkenler örneklerin 104'ünden (%77.1) saf kültür olarak, 31'inden (%22.9) ise karışık kültür olarak üredi. Sütlerin 125'inden (%92.5) Gram pozitif (96'sı saf, 29'u karışık), 11'inden (%7.4) Gram negatif (6'i saf, 5'i karışık) bakteriler ürerken, 1'inden (%0.7) ise maya üredi.

Gerçekleştirilen bu çalışmada, incelenen süt örneklerin hiç birinden *Mycoplasma* spp. üremedi. Çalışmaya ait izolasyon sonuçları Tablo 1'de sunuldu.

Süt örneklerinden izole edilen 9 adet streptokok suslarından ticari kitle yapılan sero gruplandırma sonuçları tablo 2'de sunuldu.

Tablo 1. Çalışma kapsamında incelenen mastitisli keçi sütlerinden izole edilen aerobik bakteriler

Table 1. Aerobic bacteria isolated from the milk samples with mastitis

Bakteri	Klinik mastitis n (%)	Subklinik mastitis n (%)	Toplam n (%)
<i>S. aureus</i>	5 (45.4)	29 (23.3)	34 (25.1)
KNS	3 (27.2)	18 (14.5)	21 (15.5)
<i>Micrococcus</i> spp.	-	18 (14.5)	18 (13.3)
<i>Corynebacterium</i> spp.	-	10 (8.1)	10 (7.4)
<i>Streptococcus</i> spp.	-	6 (4.8)	6 (4.4)
<i>S. epidermidis</i>	1 (9.1)	4 (3.2)	5 (3.7)
<i>E. coli</i>	-	4 (3.2)	4 (2.9)
<i>E. columbae</i>	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>P. multocida</i>	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>Enterococcus</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>Listeria</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>Klebsiella</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>Enterobacter</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
Maya	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>S. aureus</i> + KNS	1 (9.1)	11 (8.8)	12 (8.8)
<i>S. aureus</i> + <i>Micrococcus</i> spp.	-	3 (2.4)	3 (2.2)
<i>S. aureus</i> + <i>E. coli</i>	-	3 (2.4)	3 (2.2)
<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus</i> spp.	-	2 (1.6)	2 (1.4)
<i>S. aureus</i> + <i>Enterococcus</i> spp.	-	2 (1.6)	2 (1.4)
KNS + <i>Micrococcus</i> spp.	1 (9.1)	1 (0.8)	2 (1.4)
KNS + <i>Enterococcus</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
KNS + <i>E. coli</i>	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>S. aureus</i> + KNS + <i>E. coli</i>	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>S. aureus</i> + <i>Corynebacterium</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>Micrococcus</i> spp. + <i>Corynebacterium</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>S. aureus</i> + KNS + <i>Streptococcus</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
Toplam	11(84.6)	124(70.8)	135(71.8)

CMT ve bakteriyolojik kültür sonuçlarının karşılaştırılması: Klinik ve subklinik mastitisli hayvanlara ait sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, CMT pozitif 184 hayvandan (9'u klinik, 175'i subklinik mastitisli) 135'i (%73.3) kültür pozitif, 49'u (%26.7) ise negatif sonuç verdi. Klinik mastitisli 13 hayvana ait süt örneklerinden 9'u (%69.2) CMT ile pozitif sonuç verirken, 4'ü (%30.8) ise negatif sonuç verdi. Klinik mastitisli ve CMT pozitif 9 hayvana ait örneklerin tamamı kültür ile de

pozitif sonuç verirken, subklinik mastitisli 175 hayvana ait süt örneklerinin 124'ü (%70.9) kültür pozitif, 51'i (%29.1) ise negatif olarak değerlendirildi.

Tablo 2. Mastitisli keçi sütlerinden izole edilen streptokok suşlarının serogruplandırılması

Table 2. Serogrouping of streptococci isolated from the goat milk with mastitis

İzolat no	Serogrup					
	A	B	C	D	F	G
1	+			++		+
2		+		+		
3			+	++		
4				+		
5				+		
6				+		
7	+			+		
8				+		+
9			+++			

+: Zayıf pozitif, ++ : Pozitif, +++: Güçlü pozitif

İstatistiksel analiz sonuçları: CMT ile pozitif olarak değerlendirilen, ancak kültür ile negatif sonuç veren 49 adet süt örneği dikkate alındığında, iki yöntem arasındaki farkın istatistiksel bakımdan önemli olduğu görüldü ($P < 0.001$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

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 muhtemelen giderek kötüleşecek olması, daha olumsuz çevre ve iklim şartlarında barınabilen bu hayvanlara bağlı süt endüstrisinin gelecekte önemini muhtemelen daha da arttıracaktır (İlhan ve ark. 2011).

Dünya'nın farklı bölgelerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde, subklinik mastitislerin ön teşhisinde en fazla CMT'in kullanıldığı görülmektedir. Söz konusu yöntemin güvenilirliğini belirlemek ve hastalığın bakteriyel etiolojisini ortaya koymak amacıyla, Yunanistan'da, klinik olarak sağlıklı görünen 324 adet keçiden alınan süt örnekleri CMT ve kültür yöntemleriyle analiz edilmiştir. CMT ile pozitif değerlendirilen 208 örneğin 116'sı (%55.7) kültür ile de pozitif sonuç verirken, 92'si (%44.3) negatif sonuç vermiştir. Diğer yandan CMT ile negatif olan 116 örneğin 72'si (%62.1) kültür ile de negatif bulunurken, 44'ü (%37.9) ise pozitif bulunmuştur (Athina ve ark. 2015). Gerçekleştirilen bu çalışmada, CMT ile pozitif olarak değerlendirilen 184 hayvandan 135'i (%73.3) kültür ile pozitif sonuç verirken, 49'u (%26.7) ise negatif sonuç verdi. Klinik mastitisli ve CMT pozitif 9 (%69.2) hayvana ait süt örneklerinin tamamı kültür ile de pozitif sonuç verirken, CMT pozitif olan ve böylece subklinik mastitisli olarak değerlendirilen 175 hayvana ait süt örneklerinin 124'ü (%70.9) kültür pozitif, 51'i (%29.1) ise negatif sonuç verdi. Klinik mastitisli 9 ve subklinik mastitisli 124 hayvana ait süt örneklerinin hem CMT hem

de kültür ile pozitif sonuç vermeleri ve mastitisin teşhisinde kültür yönteminin "gold standart" olarak kabul edilmesi, bu hayvanların gerçekten bakteriyel nedenli mastitisli oldukları şeklinde yorumlanabilir. Mastitisin teşhisinde "gold standart" olarak kabul edilen ve bu çalışmada da uygulanan bakteriyolojik kültür yöntemine ait sonuçlar dikkate alındığında, fazla sayıdaki CMT pozitif örneğin (49 örnek, %26.7), kültür ile negatif sonuç verdiği görüldü. CMT ile pozitif olarak değerlendirilen, ancak kültür ile negatif sonuç veren 49 adet süt örneği dikkate alındığında, iki yöntem arasındaki farkın istatistiksel bakımdan önemli olduğu görüldü ($P < 0.001$). Bu veri dikkate alınarak, CMT'nin keçilerdeki subklinik mastitislerin ön teşhisinde yeteri düzeyde güvenilir sonuç vermediği düşünüldü. Ancak, konuyla ilgili daha sağlıklı yorumlar yapabilmek için farklı keçi ırklarına ait çok daha fazla sayıda örneğin incelenmesi faydalı olabilir.

Keçi mastitislerinden çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler izole edilmektedir. Etkenler, Gram özelliklerine göre değerlendirildiğinde, vakalardan daha çok Gram pozitif bakterilerin izole edildiği görülmektedir. Toplam 324 adet süt örneğinin kullanıldığı bir çalışmada, örneklerin 166'sından kültür pozitif sonuç alındığı, bunların %84.3'ünün Gram pozitif, %15.7'sinin ise Gram negatif etkenler olduğu görülmektedir (Athina ve ark. 2015). Başka bir çalışmada, incelenen 242 adet süt örneğinin kültür pozitif sonuç verenlerin %75.5'inden Gram pozitif, %24.5'inden ise Gram negatif bakteriler olduğu görülmektedir (Islam ve ark. 2011). Gerçekleştirilen bu çalışmada, kültür pozitif 135 örneğin %92.5'inden Gram pozitif, %7.4'ünden ise Gram negatif bakteriler üredi. Konuyla ilgili literatür verileriyle (Islam ve ark. 2011; Athina ve ark. 2015) benzerlik gösteren bu durum, diğer hayvanlarda olduğu gibi, keçi mastitislerinin etiolojisinde de, Gram pozitif etkenlerin rolünü göstermesi bakımından önemli olarak değerlendirilebilir.

Yapılan çalışmalarda, keçi mastitislerinden en yüksek oranda *S. aureus*'un izole edildiği görülmektedir (Manser 1986; Bergonier ve ark. 2003; Contreras ve ark. 2007). Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada, 5 farklı sürüye ait 510 adet keçi arasından CMT ile subklinik mastitisli oldukları saptanan, 115 adet keçiye ait süt örnekleri stafilkoklar yönünden kültür yöntemiyle analiz edilmiştir. Örneklerin 23'ünden (%20) pozitif sonuç alınmıştır. Yapılan identifikasyon çalışmasında izolatların 14'ünün (%60.8) *S. aureus*, 9'unun (%39.1) ise *S. epidermidis* olduğu rapor edilmiştir (Ebrahimi ve ark. 2004). Ruminantlarda hem klinik hem de subklinik mastitislerden en yüksek oranda izole edilen etkenlerden biri olan *S. aureus* (Contreras ve ark. 2007), Van ve Hakkâri yöresindeki keçilerde yapılan bu çalışmada da klinik ve subklinik mastitisli keçi sütlerinden gerek saf kültür olarak (34 örnek, % 25.1) gerekse karışık kültür olarak (25 örnek, %18.5) en yüksek oranda (toplam 59 örnek, %43.7) izole edildi. Bu durum, söz konusu etkenin keçi mastitisleriyle mücadele ve kontrol programlarının oluşturulmasında dikkate alınmasının gerekli olduğunu göstermektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, subklinik keçi mastitislerinden KNS'nin daha yüksek oranlarda izole edildiği bildirilmektedir (Stuhr ve Aulrich 2010). Keçi sütlerinden en yüksek oranda *S. epidermidis* ve *S. caprae*'nin ile izole edildiği görülmektedir (Maisi 1984; Contreras ve ark. 1997; Contreras ve ark. 2007; Stuhr ve Aulrich 2010). *S. epidermidis* hariç, diğer KNS'nin tür düzeyinde identifiye edilmediği bu çalışmada, incelenen örneklerden ikinci en yüksek oranda (saf kültür 21 örnek, %15.5; karışık kültür 17 örnek, %12.6; toplam 38 örnek, %28.1) diğer KNS izole edildi. Bu etkenlerin mastitis

vakalarından yüksek oranlarda izole edilmesi, söz konusu etkenlerin meme bölgesine iyi derecede adapte olduklarının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Beslenme uzmanları ve diyetisyenlerin önerileri dikkate alındığında (Nergiz Ünal ve Besler, 2012), keçi sütüne olan talebin gelecekte daha da artacağı düşünülebilir. Artan süt ihtiyacını karşılamak amacıyla, halen yapılmakta olan intansif keçi yetiştiriciliği muhtemelen gelecekte daha da artacaktır. Bu hipotezden hareketle, KNS hayvanlar arasından direkt ya da indirekt bulaşma yollarıyla daha kolaylıkla bulaşarak, çok daha önemli enfeksiyonlara neden olabilecektir.

Stafilokoklar kadar yüksek oranlarda olmamakla birlikte, mastitisli keçi sütlerinden farklı türden streptokoklar da izole edilmektedir. Kenya'da yapılan bir çalışmada CMT ile pozitif sonuç veren 62 adet keçi sütünün bakteriyolojik analizinde, 3'ünden (%4.8) *Streptococcus* spp. ürettiği rapor edilmiştir (Ndegwa ve ark. 2000). Bangladeş'te yapılan bir çalışmada ise test edilen 101 adet keçi sütünün 5'inden (%5.3) *Streptococcus* spp. ürettiği ifade edilmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, Aydın ve yöresinde barınan 116 adet keçiden alınan 232 adet süt örneği, kültür yöntemiyle test edilerek, örneklerin 24'ünden (%10.3) *S. agalactiae* ürettiği bildirilmiştir (Keskin ve ark. 2011). Gerçekleştirilen bu çalışmada, 6 (%4.4) örnekten saf kültür olarak, 3 (%2.2) örnekten ise karışık kültür olarak *Streptococcus* spp. üremesi gerçekleşti. Ticari kitle yapılan serogrublendirmede, izolatların en fazla D serogrubunda olduğu saptandı (Tablo 2). Bu bulgu, Van ve Hakkâri bölgelerinde yetiştirilen keçilerdeki mastitis vakalarından en fazla grup D streptokokların sorumlu olduğunu göstermesi bakımından önemli olarak değerlendirilebilir.

Keçi mastitislerinin en önemli bakteriyel etkenlerinden biri de mikoplazmalardır. Küçük ruminantlarda mastitise neden olan mikoplazma türlerinin başında *M. capricolum* subsp. *capricolum*, *M. mycoides* subsp. *mycoides*, *M. agalactiae* ve *M. putrefaciens* gelmektedir (Quinn ve ark. 2011). Dünya'nın değişik bölgelerinde, mastitisli keçi sütlerinde değişik oranlarda farklı mikoplazma türleri izole edilmiştir (Contreras ve ark. 2003; Bandeira ve ark. 2008). Bu çalışma kapsamında incelenen 188 adet süt örneğinin hiç birinden mikoplazma cinsine ait her hangi bir etken izole edilmedi. Bu durum, incelen hayvanların gerçekten bu bakteriden arı olmalarıyla ilgili olabileceği gibi, nazlı üreyen mikoplazmalarla ilgili bu çalışmada uygulanan izolasyon yönteminin yetersizliği ile de ilgili olabilir. Van ve Hakkâri bölgelerindeki keçi mastitislerinde mikoplazmaların öneminin ortaya konulması bakımından, farklı izolasyon yöntemlerinin uygulandığı ve daha fazla sayıda örneğin test edileceği çalışmaların yapılması, faydalı olacaktır.

Gerçekleştirilen bu çalışmada sonuç olarak; i) CMT ve bakteriyolojik kültür sonuçları Z oran testine göre karşılaştırıldığında; CMT pozitif, kültür negatif (49 örnek) sonuçlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P < 0.001$) ve bu nedenle de CMT'nin keçilerdeki subklinik mastitislerin ön teşhisinde yeterli düzeyde güvenilir sonuç vermediği, ii) keçi sütlerine uygulanan ideal ekim yönteminin, 4000 rpm'de 10 dk santrifüj işleminden sonra "tortudan svabla yapılan yayma yöntemiyle ekim" olduğu, iii) klinik mastitisli süt örneklerinden, subklinik mastitisli örneklere göre daha yüksek oranda bakteri izole edildiği, iv) izole edilen

streptokokların büyük çoğunluğunun D serogrubuna ait oldukları, v) mastitisli keçi sütlerinden gerek saf gerekse karışık olarak en yüksek oranlarda *S. aureus* ile KNS'ın izole edildiği belirlendi.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmayı 2015-SBE-YL231 No'lu proje kapsamında destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine ve istatistiksel analizlerinin yapılmasına yardımcı olan Doç. Dr. Abdullah YEŞİLOVA'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Athina T, Chrissa V, Ilias G, Anastasios T, Ioannis S (2015). Study on the prevalence of subclinical mastitis and the related bacterial flora in the raw milk of primiparous indigenous Greek Goats. *J J Vet Sci Res*, 1(4), 17-22.
- Aydın N, İzgür M, Diker KS, Yardımcı H, Esenal Ö, Paracıoğlu J, Akan M (2006). Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). İlke-Emek Yay, 1. Baskı, s: 5-29, Ankara.
- Bağırkan Ş (1993). İstatistiksel Analiz, Bilim Teknik Yayınevi, İstanbul.
- Bandeira DA, Castro RS, Azevedo EO, Nascimento ER, Melo LSS, Melo CB (2008). Infection by *Mycoplasma agalactiae* in dairy goat herds in the microregions of Cariri in Paraíba State, Brazil. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 60, 5, 1255-1258.
- Bergonier D, De Cremoux R, Rupp R, Lagriffoul G, Berthelot X (2003). Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res*, 34, 689-716.
- Contreras A, Corrales JC, Sanchez A, Sierra D (1997). Persistence of subclinical intramammary pathogens in goats throughout lactation. *J Dairy Sci*, 80, 2815-2819.
- Contreras A, Sierra D, Sanchez A, Corrales JC, Marcoc JC, Paape MJ, Gonzalo C (2007). Mastitis in small ruminants. *Small Rum Res*, 68, 145-153.
- Ebrahimi A, Shams N, Shahrokh S, Mirshokraei P (2004). Characteristics of staphylococci isolated from mastitic goat milk in Iranian dairy herds. *Vet World*, 3, 5, 205-208.
- Ekin İH (1998). İneklerde Subklinik Mastitis Olgularından İzole Edilen Streptokokların Serogrublendirmesi ve Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Ekin İH, Gürtürk K (2006). Characterization of bovine and human group B streptococci isolated in Turkey. *J Med Microbiol*, 55, 517-521.
- İhan Z, Taşal İ, Sağcan S, Solmaz H (2011). Subklinik mastitisli keçi sütlerinden aerobik bakterilerin izolasyonu. *YYÜ Vet Fak Derg*, 22, 89-91.
- Islam MA, Samad MA, Anisur AKM (2011). Bacterial pathogens and risk factors associated with mastitis in black bengal goats in Bangladesh. *Bangl J Vet Med*, 9, 2, 155-159.
- Keskin D, Atay O, Kırkan S, Gokdal O, Tekbıyık S, Kaya O (2011). Detection of *Streptococcus agalactiae* existence within milk samples of hair goats grown in West Anatolia Region. *Agril J*, 6, 1, 31-34.
- Maisi P, Mattila T, Sandholm M (1984). Mastitis whey - a good medium for bacteria? *Acta Vet Scand*, 25, 297-308.
- Manser PA (1986). Prevalence, causes, and laboratory diagnosis of subclinical mastitis in the goat. *Vet Rec*, 118, 552-554.
- Najeeb MF, Anjum AA, Ahmad MUD, Khan HM, Ali MA, Sattar MMK (2013). Bacterial etiology of subclinical mastitis in dairy goats and multiple drug resistance of the isolates. *J Anim Plant Sci*, 23, 1541-1544.
- Ndegwa EN, Mulei CM, Munyua SJ (2000). The prevalence of subclinical mastitis in dairy goats in Kenya. *J S Afr Vet Assoc*, 71, 1, 25-27.
- Nergiz Ünal R, Besler T (2012). Beslenmede Sütün Önemi. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 727, 2. Basım, s: 3-18, Ankara.
- Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, FlizPatrick ES, Fanning S, Hartigan PJ (2011). Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Second Edit, pp: 38-91, Blackwell Science Ltd, Oxford, UK.
- Stuhr T, Aulrich K (2010). Intramammary infections in dairy goats: recent knowledge and indicators for detection of subclinical mastitis. *Landbauforsch*, 4, 267-280.