

## İNEK SÜTLERİNİN HAREKETLİ AEROMONAS TÜRLERİ YÖNÜNDE İNCELENMESİ

### THE DETECTION OF MOTILE AEROMONAS SPECIES IN COW MILK

Mustafa ALIŞARLI

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van

**ÖZET:** Bu çalışmada, çiğ sütte hareketli Aeromonas türlerinin bulunma sıklığını ortaya koymak ve ilk sağılan sütün kontaminasyondaki rolünü belirlemek amaçlanmıştır. Bu amaçla, 100 adet sağmal inekten direkt el sağımı ile alınan süt örnekleri incelenmiştir. İncelenen örneklerin 8 tanesinde (%8) *Aeromonas* spp. izole edilmiş olup bunlardan 3'ü (%37,5) hareketli Aeromonas olarak belirlenmiştir. Hareketli Aeromonas'ların 2'si (%66,6) *A. hydrophila* ve 1'i (%33,3) *A. caviae* olarak tanımlanmıştır. Bu araştırmanın verileri, süt işletmelerine tanker ve güğümlerle getirilen çiğ sütlerden sağlanan örneklerdeki araştırma bulgularıyla kıyaslandığında daha düşük bulunmuştur. Bu da, eğer sağım sonrası hijyen kurallarına gerekli özen gösterilmezse çiğ sütün Aeromonas'lar ile kontaminasyon riskinin yüksek olacağını göstermektedir.

**ABSTRACT:** The scope of this study was to determine the availability frequency of motile *Aeromonas* spp. in raw milk and to investigate the role of first milking milk in contamination. Milk samples collected from 100 lactating cows by directly hand milking were used as material. *Aeromonas* spp were isolated as motile *Aeromonas*. 2 (66,6%) of them were identified *A. hydrophila* and the last one (33,3%) was identified as *A. caviae*. In this study, the availability frequency of motile *Aeromonas* spp was lower compared with the samples arrived in containers to the factories. These results confirm that the lack of hygiene rules after milking raises the contamination risks of raw milk with *Aeromonas*.

### GİRİŞ

*Aeromonas* cinsi, Vibrionaceae familyasına ait olup kesin olarak tanımlanmış iki alt gruptan oluşmaktadır. İlk grup psikrofilik ve hareketsiz *Aeromonas*'ları (*A. salmonicida* grubu), ikinci grup ise mezofilik ve hareketli *Aeromonas*'ları (*A. hydrophila* grubu) kapsar. *A. salmonicida* grubu insanlar için patojen değildir, ancak balıklarda hastalıklar oluşturarak sektör de ciddi ekonomik kayıplara neden olurlar. *A. hydrophila* grubu insanlar için patojen olarak kabul edilmektedir (POLUMBO ve ark., 1992; POPOF, 1984; ADAMS ve MOOS, 1995).

*Aeromonas*'lar, süt ve süt ürünlerinde ilk Witter tarafından 1961 yılında psikrotrof bakteriler olarak dikkate alınmıştır (KIELWEIN, 1971). Oportünist "fırsatçı" özellikte olan hareketli *Aeromonas*'ların (*A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*), birçok ülkede özellikle yaz aylarında 5 yaşın altındaki çocuklarda, yaşlılarda ve immun sistemi zayıf olan insanlarda gastroenteritis ile seyreden enfeksiyona neden olduğu bilinmektedir (ABEYTA ve ark., 1986; WADSTRÖM ve LJUNGH, 1991; ALTWEG ve ark., 1991; SINELL, 1992; ADAMS ve MOOS, 1995). Klinik semptom olarak hafif diare ve ateş, karın ağrısı ve bulantı görülürken, kusma çoğunlukla rapor edilmemiştir (BAUMGART, 1993; ADAMS ve MOOS, 1995). Patojenite mekanizmaları kesin olarak bilinmemekle birlikte (CHAIL, 1990), *A. hydrophila* ve *A. sobria* gıda zehirlenmesine neden olan patojen bakteri olarak kabul edilmektedir (MORGAN ve WOOD, 1988; MAJEED ve MacRAE, 1991). Hareketli *Aeromonas*'ların düşük sıcaklıklarda da gelişme yeteneğinde olması araştırmacıların dikkatini çekmiştir (BEUCHT, 1991; ADAMS ve MOOS, 1995).

Hareketli *Aeromonas*'lar hayvansal kaynaklı gıdalarda (balık, tavuk, kırmızı et, çiğ süt, peynir, dondurma vs.) bulunmaktadır (ADAMS ve MOOS, 1995; MELAS ve ark., 1999; KÜPLÜLÜ ve SARİMEHMETOĞLU, 2000). Konuyla ilgili olarak yapılan çalışmalarda, *Aeromonas* türleri çiğ süt ve pastörize süt örneklerinden de değişik oranlarda izole edilmiştir (KIELWEIN, 1971; GRAY ve ark., 1990; İBRAHİM ve MacRAE, 1991; KIROV ve ark., 1993; MELAS ve ark., 1999). Ülkemizde yapılan çalışmalarda, gerek çiğ ve gerekse pastörize sütte hareketli *Aeromonas* türlerinin bulunduğu belirlenmiştir (AKAN ve ark., 1996; TAYAR, 2001; SARİMEHMETOĞLU ve ark., 1998).

Bu çalışmada, sağımın başında ilk sağılan sütte hareketli *Aeromonas* türlerinin bulunma sıklığını ortaya koymak ve bu sütün kontaminasyondaki rolünü belirlemek amaçlanmıştır.

### MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada, Van ili çevresindeki 5 farklı çiftlikten 100 sağmal süt ineğine ait 100 adet çiğ süt örneği materyal olarak kullanılmıştır. Süt örnekleri, aseptik koşullarda direkt el sağımı ile Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF)'nin önerdiği şekilde alınmıştır (DU TOIT, 1998). Aseptik koşullar altında temin edilen yaklaşık 200 ml süt örnekleri soğuk zincir altında (Ice box, 32 l, Ice pack Frizet Mod. T350) laboratuvara getirilmiş ve aynı gün içinde analiz edilmiştir.

**Zenginleştirme aşaması:** Örnekler aseptik koşullarda iyice karıştırıldıktan sonra her bir süt örneğinden 10 ml alınarak 90 ml alkali peptonlu suya (pH: 8.4) ilave edilmiş ve 28°C'de 18-24 saat bekletilmiştir.

**İzolasyon ve identifikasyon aşaması:** Zenginleştirme işleminden sonra homojenizattan 1 öze dolusu alınarak Ampicillin Selective Supplement (Oxoid SR136E) ilave edilmiş *Aeromonas* Agar Base'e (Oxoid CM833) çizme yöntemiyle ekimleri yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Burada gelişen koyu yeşil merkezli, yeşil renkteki koloniler şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Gelişen 5 tipik koloni saflaştırmak ve identifikasyon işlemleri için, Nutrient Agar'a (Oxoid, CM3) koloniler tek düşecek şekilde ekilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyon sonucunda, koloniler morfolojik ve gram boyama yapılarak saflıkları kontrol edilmiştir. Nutrient Agar'da gelişen kolonilere gram boyama, katalaz ve oksidaz testi, SİM'de üreme, oksidasyon/fermentasyon (O/F) testi, mannitol fermentasyonu, vibriostatik ajan O/129'a dirençlilik, indol ve DNase testleri uygulanarak, bu kolonilerin hareketli *Aeromonas* olup olmadıkları değerlendirilmiştir. Hareketli *Aeromonas* olarak identifiye edilen kolonilere de, D-glikozdan gaz oluşumu, eskulin hidrolizasyonu, salisin ve arabinoz fermentasyonu, ve sisteinden H<sub>2</sub>S oluşumu testleri uygulanarak tür identifikasyonu yapılmıştır (POPOFF, 1984).

### BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, sağmal ineklerden direkt olarak alınan süt örnekleri hareketli *Aeromonas*'ların bulunma sıklığı yönünden incelenmiştir.

Doğal durumlarda süt direkt meme bezinden yavrunun ağız boşluğuna ulaştığından, süte çevreden mikrobiyal bir kontaminasyon pratik olarak mümkün olmamaktadır. Bununla birlikte yine de meme bezini terk eden süt steril olmayıp, 100 ila 1000 bakteri/ml içermektedir (KIELWEIN, 1985). Bu bakteriler de, daha önceden meme bezine veya meme boşluğu kanalına ulaşan bakterilerdir. Bu KIELWEIN (1985) tarafından çiğ sütün *sekretorik kontaminasyonu* olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle sağım esnasında memeden ilk sağılan sütün atılması; başlangıç sütünün yüksek bakteri içermesinden dolayı değil, bununla birlikte meme kanalı ağızında bulunan kirlerin uzaklaştırılması açısından da oldukça önemlidir (KIELWEIN, 1985).

GRAY VE ARK. (1990) inceledikleri siğir sütlerinden %25 oranında, İBRAHİM ve MacRAE (1991) 150 süt örneğinin 40'ından (%27) ve KIROV ve ark. (1993) 72 süt örneğinin 43'ünden (%59,7) *Aeromonas spp.* izole etmişlerdir. KIELWEIN (1971) incelediği 277 pastörize süt örneğinin 27'sinde (%9) *Aeromonas* bulmuştur. (FREITAS ve ark. (1993) 35 pastörize süt örneğinin 10'undan (%28,5) hareketli *Aeromonas* izole etmişlerdir. SCHWEIZER ve ark. (1995) tarafından İsviçre'de yapılan bir araştırmada hareketli *Aeromonas*'ların oranı %14 olarak bulunmuştur. MELAS ve ark. (1999) inceledikleri 138 çiğ süt örneğinin 22'sini (%15,9) *A. hydrophila*, 18'ini (%13) *A. caviae* ve 5'ini (%3,6) *A. sobria* olarak identifiye etmişlerdir.

Ülkemizde çiğ süt (AKAN ve ark., 1996; TAYAR, 2001) ve pastörize sütlerde (SARİMEHMETOĞLU ve ark., 1998) hareketli *Aeromonas* türlerinin varlığı üzerine az sayıda araştırma vardır.

AKAN ve ark. (1996), süt işletmelerinden aldıkları 80 adet çiğ sütün 23'ünden (%28,7) hareketli *Aeromonas* türleri izole ettiklerini ve bunların 15'inin (%65,3) *A. hydrophila*, 7'sinin (%30,4) *A. sobria* ve 1'inin de (%4,3) *A. caviae* olduğunu bildirmişlerdir.

TAYAR (2001), bir süt işletmesine getirilen çiğ sütlerden aldığı 175 adet süt örneğini hareketli *Aeromonas*'lar yönünden incelenmiş ve örneklerin 44'ünden (%25,14) hareketli *Aeromonas* izole etmiştir. İzole

edilen suşların 22'sini (%50) *A. hydrophila*, 14'ünü (%31,81) *A. sobria* ve 8'ini (%18,18) *A. caviae* olarak tanımlanmıştır.

SARİMEHMETOĞLU ve ark. (1998), Ankara'da tüketime sunulan 100 adet pastörize süt örneğini incelemiş ve örneklerin %19'unun hareketli Aeromonas ile kontamine olduklarını belirlemişlerdir. Hareketli Aeromonas'ların %68,4'ünü *A. caviae*, %21'ini, *A. hydrophila* ve %10,5'ini *A. sobria* olarak tesbit etmişlerdir.

Bu çalışmada süt örneklerinden izole edilen hareketli Aeromonas türlerinin dağılımları Çizelge 1'de toplu olarak sunulmuştur.

Çizelge 1. Süt Örneklerinden İzole Edilen Hareketli Aeromonas Türlerinin Dağılımları

Süt örnekleri	Aeromonas spp.	İzole edilen türler	
		Hareketli Aeromonas spp.	A. hydrophila A. caviae
Toplam (n =100)	8/100 (%8)	3/8 (%37,5)	2/3 (%66,6) 1/3(%33,3)

Bu araştırmada, incelenen örneklerin 8'inden (%8) Aeromonas türleri izole edilmiş olup bunların 3'ü (%37,5) hareketli Aeromonas olarak belirlenmiştir.

Hareketli Aeromonas'ların 2'si (%66,6) *A. hydrophila* ve 1'i (%33,3) *A. caviae* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 1). Bu araştırmanın sonuçları; izole edilen Aeromonas türleri arasında *A. hydrophila*'nın dominant olduğu yönündeki çalışmalarla (AKAN ve ark., 1996; TAYAR, 2001; MELAS ve ark., 1999) uyum göstermektedir. Ancak araştırmada elde edilen sonuçlar hareketli Aeromonas'ların bulunma sıklığı yönünden karşılaştırıldığında diğer araştırmacıların (İBRAHİM ve MacRAE, 1991; KIROV ve ark., 1993; SCHWEIZER ve ark., 1995; AKAN ve ark., 1996; TAYAR, 2001) sonuçlarından oldukça düşük bulunmuştur. Hatta, pastörize sütler ile yapılmış çalışmaların (KIELWEIN, 1971; FREITAS ve ark., 1993; SARİMEHMETOĞLU ve ark. 1998) bulgularından dahi düşük çıkmıştır.

Bu da, örnek alma şekli ve sağım sonrası hijyenik şartlara gösterilen özenden kaynaklanmış olabilir. AKAN ve ark. (1996) ve TAYAR (2001) inceledikleri süt örneklerini süt işletmelerine tanker ve güğümlerle getirilen çiğ sütlerden almışlardır. Sağım ile süt işletmesi arasında, süte kontaminasyon kaynaklarından bir çok bulaşma riski (Sağım esnası hijyen, süzme işlemi, soğutma, taşıma v.b. gibi çevresel faktörler) bulunmaktadır. Hatta ahır pseudomonas ve aeromonasların bir rezervuarıdır (ALBRECHT, 1971). Bunu KIELWEIN (1985) çiğ sütün *postsekretorik kontaminasyonu* olarak tanımlamaktadır.

Bu araştırmada ise süt örnekleri, meme lobları temizlenip aseptik hale getirildikten sonra direkt sağım ile alınmıştır. Bu durum düşük izolasyon oranını açıklar olmasına rağmen, yine de %8'lik oranı açıklamaya yetmez. Bu oranın nedeni, aeromonasların büyük olasılıkla daha önceden meme bezine veya meme kanalına ulaşmış olmasıdır (sekretorik kontaminasyon). Böylece sağımın başında ilk sağılan sütün atılması (KIELWEIN, 1985), sütlerin en azından başlangıç itibarıyla hem Aeromonas'lar ile hem de bir çok patojen bakteriler ile kontaminasyon oranını düşüreceğini göstermektedir.

Ancak, sağımın başlangıcında ilk sağılan süt atıldıktan sonra geriye kalan sütte Aeromonas'ların bulunup bulunmadığı bir araştırma konusudur. Muhtemelen böyle bir araştırma, Aeromonas'ların çiğ süte bulaşma kaynaklarını belirlemede tamamlayıcı olacaktır.

Sonuç olarak; bu araştırmada dikkat çekici olan, araştırma verilerinin süt işletmelerine tanker ve güğümlerle getirilen çiğ sütlerden sağlanan örneklerdeki araştırma bulgularıyla kıyaslandığında daha düşük bulunmasıdır. Bu durum, sütlerin hareketli Aeromonas ile postsekretorik olarak sağım sonrası hijyenik kurallara riayet edilmediği takdirde daha yoğun bir şekilde kontamine olabileceği gibi, sekretorik olarak ta kontamine olabileceğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- ABEYTA, C., KAYSNER, C.A., WEKELL, M.M., SULLIVAN, J.J., STELMA, G. 1986. Recovery of *Aeromonas hydrophila* from oysters implicated in an outbreak foodborne illness. J. Food Prot. 49: 643-646.
- ADAMS, M.R. MOSS, M.O. 1997. Bacterial agents of foodborne illness" *Aeromonas hydrophila*" In: Food Microbiology. ISBN 0-85404-509-0. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. 398 sayfa.
- AKAN, M., DİKER, K.S., KOÇAK, C., YILDIRIM, M. BOZKURT, Ş. 1996. Çiğ sütlerden hareketli Aeromonas türlerinin izolasyonu. Gıda. 21(5): 383-386.

- ALBERCHT, D. 1971. Untersuchungen über das Vorkommen von Pseudomonaden und Aeromonaden in Milchviehställen. Diss. Giessen.
- ALTWEG, M., MARTINETTI-LUCCHINI, G., LÜTHY-HOFFENSTEIN, J., ROHRBACH, M. 1991. *Aeromonas* associated gastroenteritis after consumption of contaminated shrimps. European j. Clin. Microbiol. And Infect. Diseases. 10: 44-45.
- BAUMGART, J. 1993. Aeromonadaen. In: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmittel. Behrs Verlag, Hamburg. Sh: 169-172.
- BEUCHT, L.R. 1991. Behavior of *Aeromonas* species at refrigeration teperature. Int. J. Food Microbiol. 13:217-224.
- CHAIL, M. 1990. Virulence factors in motile *Aeromonas* species. J. Appl. Bacteriol. 69: 1-16.
- DU TOIT, J. 1998. Örnek alma. Çeviri kitap: "Çiğ sütte patojen mikroorganizmaların rolü. Uluslararası Sütçülük Federasyonu Bülteni. No 9405-1994". E.Ü. Ziraat Fak. Yayınları No: 52, 284 sayfa.
- FREITAS, A.C., NUNES, M.P., MILHOMEM, A.M., RICCIARDI, I.D. 1993. Occurence and characterization of *Aeromonas* in pasteurized milk and white cheesa in Rio De Janerio, Brazil, J. Food Prot. 56 (1): 62-65.
- GRAY, S.J., STICKLER, D.J., BRYANT, T.N. 1990. The incidence of virulence factors in mesophilic *Aeromonas* species isolated from farm animal and their enviroment. Epidemiol Infect. 105: 277-294.
- IBRAHIM, A., MacRAE, I.C. 1991. Incidence of *Aeromonas* and *Listeria* spp. In red meat and milk sampels in Brisbane, Australia. Int. J. Food Microbiol. 12: 263-270.
- KIELWEIN, V.G., GERLECH, R., JOHNE, H. 1971. Pseudomonaden und Aeromonaden in Trinkmilch. Arch. für Lebensmittelhyg. 15-19.
- KIELWEIN, G. 1985. Mikrobielle Kontamination der Milch. In: Leitfaden der Milchkunde und Milchhygiene. Pareys Studentexte 11. ISBN 3-489-68416-8, 156 sayfa.
- KIROV, S.M. HUI, D.S. HAYWARD, L.J. 1993. Milk as potential source of *Aeromonas* gastrointestinal infection. J. Food Prot. 56 (4): 306-312.
- KÜPLÜLÜ, Ö., SARİMEHMETOĞLU, B. 2000. Sığırların kıymalarından hareketli aeromonas türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu. Türk J. Vet Anim. Sci. 24: 423-428.
- MAJEED, K.N., MacRAE, I.C. 1991. Experimental evidence for toxin production by *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* in a meat extract at low temperatures. Int. j. Food Microbiol. 12:181-188.
- MELAS, D.S., PAPAGEORGIOU, D.K., MANTIS, A.I. 1999. Enumeration and confirmation of *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, and *Aeromonas sobria* isolated from raw milk and other milk products in northern Greece. J. Food Prot. 62 (5): 463-466.
- MORGAN, D.R., WOOD, L.W. 1988. Is *Aeromonas* sp. A foodborne pathogen? Review of the clinical data. J. Food Safety. 9: 59-72.
- POLUNBO, S.A., ABEYTA, C., STELMA, G. 1992. *Aeromonas hydrophila* group. In: Compendium of methods for teh microbiological examination of fodds: Ed.: Vanderzant, C., Splittstoesser, D.F. American Public Healt Assoc. Washington. 497-515.
- POPOFF, M. 1984. Genus III. *Aeromonas*. Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology. Ed.: Krieg, M.R., Holt, J.G., Williams & Wilkins, Baltimore. Vol 1. 545-548.
- SARİMEHMETOĞLU, B., KÜPLÜLÜ, Ö. KAYMAZ, Ş. 1998. Ankara'da tüketime sunulan pastörize sütlerden hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu. Gıda. 23 (2): 141-145.
- SCHWEIZER, R., KADERLI, M., SPAHR, U. 1995. *Aeromonas hydrophila* in Swiss raw milk. SCHWEIZERisch-Milkwirtschaft. Forschung. 24:9-11.
- SNİELL, H-J. 1992. Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen. In: Einführung in die Lebensmittelhygiene. Verlag Paul Parey. Berlin-Hamburg, 230 sayfa.
- TAYAR, M. 2001. Çiğ sütün hareketli *Aeromonas* yönünden incelenmesi. Vet. Hek. Mikrobiyoloji Derg. 1 (1): 34-38.
- WADSTRÖM, T., LJUNGH, A. 1991. *Aeromonas* and *Plesiomonas* as food and waterborne pathogens. Int. J. Fodd Microbiol. 12:303-312.