

İNEK SÜTLERİNDEN İZOLE EDİLEN STAPHYLOCOCCUS EPİDERMİDİS SUŞ-  
LARININ ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARI ÜZERİNE  
BİR ARAŞTIRMA

Ömer Akay<sup>1</sup>

Müjgan İzgür<sup>2</sup>  
Banur Uslanoğlu<sup>4</sup>

Hatice Ayhan<sup>3</sup>

An investigation on antibiotic susceptibility of *Staphylococcus epidermidis* strains  
isolated from bovine milk.

**Summary:** A total of 193 milk samples were examined bacteriologi-  
cally and 56 *Staph. epidermidis* strains were isolated. Identification of staphy-  
lococci was made on the basis of catalase test, coagulase test, DNase test, clum-  
ping factor, O/F test for glucose and mannitol and also for morphological and  
cultural characteristics. The cultures which were Gram positive cocci with cat-  
alase positive, coagulase, DNase and clumping factor negative and utilized  
glucose aerobically and anaerobically and not utilized mannitol anaerobically  
were considered as *Staph. epidermidis*.

In this study, the sensitivity of 56 *Staph. epidermidis* strains to chloramphenicol, ampicillin, tetracycline, colistin sulphate, neomycin, penicillin, streptomycin and kanamycin were studied according to the method described by Kirby-Bauer. The resistance of *Staph. epidermidis* strains to chloramphenicol, ampicillin, tetracycline, colistin sulphate, neomycin, penicillin, streptomycin and kanamycin were 14.3 %, 20.8 %, 21.5 %, 100 %, 23.6 %, 23.3 %, 9 % and 0.0 % respectively.

**Özet:** Bu çalışmada, çeşitli kaynaklardan sağlanan 193 süt örneği *Staph. epidermidis* yönünden incelenmiş, bu sütlerden izole ve tanımlanmış 56 *Staph. epidermidis* suşunun 8 farklı antibiyotiğe (kloramfenikol, ampisilin, tetrasiklin, kolistin sülfat, neomisin, penisilin, streptomisin ve kanamisin) karşı dirençlilik durumları araştırılmıştır. İncelenen *Staph. epidermidis* suş-

1 Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Bakterioloji Bilim Dalı, Ankara.

2 Yrd. Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Bakterioloji Bilim Dalı, Ankara.

3 Araş. Gör., A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

4 Araş. Gör., 100. Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Bakterioloji Bilim Dalı, Van.

larının % 14.3'nün kloramfenikol'e, % 10.8'nin ampisilin'e % 21.5'nin tetrasiklin'e, % 100'nün kolistin sülfat'a, % 23.6'sının neomisin'e, % 23.3'nün penisilin'e, % 9'nun streptomisin'e dirençli ve tümünün ise kanamisin'e duyarlı oldukları belirlenmiştir.

## Giriş

Büyük ekonomik kayıplara yol açan mastitis, çeşitli nedenlere bağlı meme dokusunun bir yangısı olup, süt kalitesinin değişmesi ve miktarının azalması ile karakterizedir. Toplum beslenmesinde gıda sorunlarının arttığı çağımızda, süt ve süt ürünlerine de ihtiyaç büyük oranda artmıştır. Bu nedenlerle, tüm ülkelerde ve bir hayvancılık-tarım ülkesi olan yurdumuzda mastitis'e yol açan etkenlerin araştırılması ve özellikle enfeksiyöz karakterdeki mastitis'lerin çeşitli antibiyotiklerle sağaltımını amaçlayan çalışmalar yoğunlaşmıştır (1, 3, 5, 13, 19, 30, 32). Bazı araştırmacılar *Staph. epidermidis*'in önemli meme enfeksiyonlarına neden olduğunu kabul etmişlerdir (11, 21, 23, 29). Ancak, patojenik ve non-patojenik suşların birbirinden ayrımı oldukça zordur (13). Sandvik ve Brown (24) *Staph. epidermidis*'in mastitis oluşturmadığını, ancak sütte bir lökositosis ve enfekte loplarda süt üretiminin düşmesine neden olduğunu, Brown (7) gerçekleştirdiği bir araştırmada ise, mikrokokkaska familyası içinde yer alan Gram pozitif, koagulaz negatif ve hemoliz oluşturmeyen stafilokok suşlarını meme enfeksiyonunun bir etkeni olarak saptadıklarını ve bu etkenleri *Staph. aureus* fajları ile de tiplendiremediklerini bildirmişlerdir. Forbes ve Hebert (11) mastitis'li 23 memeden steril olarak alınan 71 süt örneğinden *Staph. epidermidis* izole ettiklerini ve bu bulgulara dayanarak *Staph. epidermidis*'in meme enfeksiyonuna neden olabileceğini ve *Staph. epidermidis*'in oluşturduğu meme enfeksiyonu sırasında lökosit sayısının arttığını açıklamışlardır. Wesen ve ark. (29) mastitis'li sütler ile yaptıkları çalışmalarında % 50.2 oranında *Staph. epidermidis* izole ettiklerini, izolasyon ile CMT reaksiyonu arasında bir ilişkinin bulunduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra yapılan araştırmalar ile de benzer sonuçlar elde edilmiş ve *Staph. epidermidis*'in mastitis'e neden olan etkenlerden biri olduğu görüşü kuvvetlenmiştir (10, 16, 20). Dinchere ve Bailiozov (9) klinik veya subklinik mastitis'li ineklerden alınan süt örneklerinden *Staph. aureus*, koagulaz negatif *Staph. epidermidis* izole etmişler ve *Staph. aureus* gibi koagulaz negatif stafilokoklarında mastitis etkeni olabileceğini bildirmişlerdir. Köhler ve Sonnoilidis (15) mastitis şüpheli ineklerden alınan süt örneklerinden

*Staph. aureus*'un yanısıra; koagulaz negatif, mannitol'ü anaerobik fermente etmeyen, genellikle hemoliz oluşturmeyen *Staph. epidermidis* suşları izole ettiklerini yaptıkları çalışmada açıklamışlardır. Baba ve ark. (4)'na göre de, *Staph. epidermidis* süt kalitesinin bozulmasında, diğer birçok bakteri türüne nazaran daha büyük önem taşımaktadır. Yapılan çalışmalarda somatik hücre sayısının fazlalığı ile bu sütlerden izole edilen *Staph. epidermidis* suşları arasında bir korelasyonun bulunduğu saptanmıştır (27, 28). Fukata ve ark. (12) da, koagulaz negatif stafilkokların mastitis'li ineklerin sütlerinden sıkça izole edilmekte olduğunu çalışmalarında ortaya koymuşlardır.

*Staph. epidermidis*'lerin mastitis etkeni olabileceklerinin belirlenmesinden sonra, mikroorganizmaların antimikrobiyal maddelere duyarlılık ve dirençlilik durumları üzerinde çalışmalara başlanmıştır (13, 18, 22). McDonald ve Anderson (18) modifiye Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi ile *Staph. aureus* ve koagulaz negatif stafilkokların sırası ile ampisilin'e % 23.6, % 59.6; basitrasin'e % 99.6, % 95.3; karbenisilin'e % 71.2, %98.5; sefazolin'e % 99, % 99.6; kloramfenikol'e % 96.8, % 99.8; neomisin'e % 96.4, % 98.1; streptomisin'e % 68.7, % 71.4 ve vankomisin'e % 100, % 100 duyarlı olduklarını saptamışlardır. Türkiye'de Arda ve İstanbulluoğlu (2) gerçekleştirdikleri bir çalışmada, sığırlardan izole edilen 17 *Staph. epidermidis* suşunun % 41.1'nin penisilin'e, % 17.6'sının kloramfenikol'e, % 17.3'nün tetrasiklin'e, % 5.8'nin ise ampisilin, gentamisin, eritromisin, streptomisin, kanamisin ve rifamisin'e duyarlı, Ulusoy ve ark. (26) ise, sığır mastitis'lerinden ayırdıkları 6 *Staph. epidermidis* suşunun % 16.6'sının ampisilin'e, % 40'nın kanamisin'e, % 66.6'sının kloramfenikol'e, % 33.3'nün neomisin, penisilin ve tetrasiklin'e, % 50'sinin streptomisin'e ve % 100 'nün kolistin sülfat'a dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, inek sütlerinden izole ve identifiye edilen *Staph. epidermidis* suşlarının çeşitli antibiyotiklere karşı dirençlilik durumları incelenmiştir.

### Materyal ve Metot

*Suşlar* : Denemede incelenen 56 *Staph. epidermidis* suşu Etlik Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü ve Polatlı Devlet Üretim Çiftliğinden sağlanan toplam 193 süt örneğinden izole edilmiştir (Tablo - 1).

Tablo 1. İzole ve identifiye edilen Staph. epidermidis suşlarının kaynakları, sayıları ve oranları.

Orijin	Süt sayısı	Staph. epidermidis	
		Sayı	%
Etlik Vet. Kont. Araşt. Enst.	130	49	37.7
Polatlı Devt Üretim Çiftliği	63	7	11.3
Toplam	193	56	29

*Tavşan plazması*: Stafilokokların koagulaz testinde liyofilize tavşan plazması (Sigma) kullanılmıştır.

*Besi yerleri*: Suşların izolasyon ve identifikasyonu için zenginleştirilmiş kanlı agar, nutrient agar, nutrient buyyon, DNase agar, brom krezol purpul'lu O/F besi yerlerinden, antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesinde ise TSB ve DST agardan yararlanılmıştır.

*Antibiyotik diskleri*: İzole ve identifiye edilen Staph. epidermidis suşlarının antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının saptanmasında ampisilin, kanamisin, kloramfenikol, kolistin sülfat, neomisin, penisilin, streptomisin tetrasiklin (Oxoid-Multodisk) kullanılmıştır.

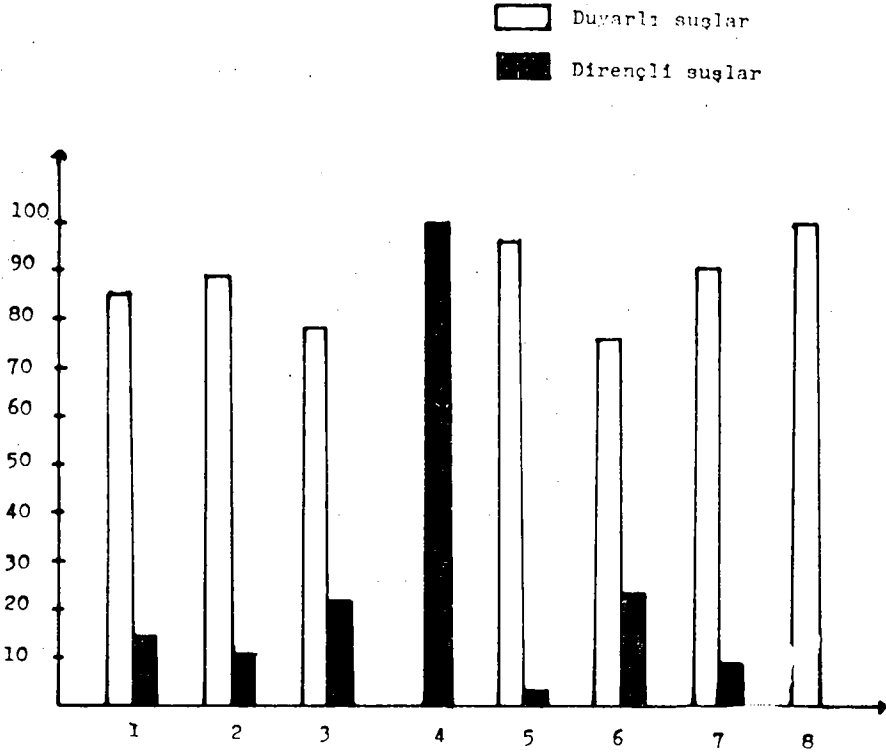
*Morfolojik ve kültürel karakterleri*: İzole edilen 56 suşun kanlı agar, nutrient buyyona ekimleri yapılmış, 37°C de 24 saat inkube edildikten sonra bu ortamlarda üreme durumları ile aynı kültürlerden preparatlar hazırlanarak suşların mikroskopik morfolojileri incelenmiştir. Ayrıca, identifikasyon için CF, koagulaz, DNase, O/F glukoz, manitol anaerob fermentasyon testleri yapılmıştır (14, 17, 25, 31).

*Antibiyotik duyarlılık testleri*: Suşların antibiyotiklere duyarlılıkları DST agarda Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemine göre yapılmıştır (6).

### Bulgular

*Morfolojik ve kültürel karakterler*: İzole ve identifiye edilen Staph. epidermidis suşlarının tümü katalaz pozitif, koagulaz, CF ve DNase testleri negatiftir. Ayrıca, denemede kullanılan suşların tümünün glukozu aerob ve anaerob fermente ettikleri, manitol'ü ise anaerob fermente edemedikleri belirlenmiştir.

*Antibiyoqram sonuçları:* Sütlerden izole ve identifiye edilen 56 adet *Staph. epidermidis* suşunun sekiz farklı antibiyotiğe karşı dirençlilik durumları incelendiğinde; kloramfenikol'e % 14.3, ampisilin'e % 10.8, Tetrasiklin'e % 21.5, Kolistin sülfat'a % 100, neomisin'e % 3.6, penisilin'e % 23.3, streptomisin'e % 9 oranında dirençli; suşların tümünün ise kanamisin'e duyarlı oldukları saptanmıştır (Şekil - 1).



Şekil 1. *Staph. epidermidis* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik durumları.

1. Kloramfenikol 2. Ampisilin 3. Tetrasiklin 4. Kolistin sülfat 5. Neomisin 6. Penisilin 7. Streptomisin 8. Kanamisin

### Tartışma ve Sonuç

Büyük ekonomik kayıplara yol açan mastitis'in etiyojisi üzerinde dünyada ve Türkiye'de birçok araştırmalar gerçekleştirilmiştir.

Önceleri patojenik olmadıkları kabul edilen *Staph. epidermidis*'in meme enfeksiyonlarına neden olduğu bu konuda yapılan araştırmalarla açıklanmıştır (8, 10, 11, 12, 16, 23, 29). Brown ve ark. (8) süt örneklerinden izole ettikleri *Staph. epidermidis* suşlarının biyokimyasal, serolojik, morfolojik ve pigmentasyon özelliklerini incelemişler ve bu etkenin mastitis nedeni olabileceğini vurgulamışlardır. Wesen ve ark. (29) 1036 süt örneğinin mastitis oluşturan patojenik mikroorganizmalar yanı sıra, apatojenik etkenler yönünden incelediklerinde; 520 *Staph. epidermidis* suşunu (% 50.2) ayırdıklarını açıklamışlardır. Bu çalışmada, mastitis'li toplam 193 süt örneğinden % 29 oranında *Staph. epidermidis* izole ve identifiye edilmiş ve bulgular bu konuda yapılan araştırmalarla paralellik göstermiştir.

*Staph. epidermidis*'lerin meme enfeksiyonlarına neden oldukları kesinleştikten sonra, diğer bakteriyel enfeksiyonlarda olduğu gibi bu etkenlerin antibiyotiklere duyarlılıkları üzerinde de çalışmalar yapılmıştır (2, 13, 22, 26). Holmberg (13) inek sütlerinden izole ettiği 218 *Staph. epidermidis* suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılığını incelediğinde; 202'sinin ampisilin ve streptomisin'e, 167'sinin kloramfenikol, 213'nün klortetrasiklin, 189'nun neomisin, 195'nin oksitetrasiklin'e, Rahman ve Baxi (22) meme orijinli 111 *Staph. epidermidis* suşunun antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik durumlarını incelediklerinde suşların tümünün neomisin ve kloramfenikol'e, yaklaşık yarısının streptomisin ve tetrasiklin'e duyarlı olduklarını açıklamışlardır. Bu çalışmada, inek sütlerinden izole ve identifiye edilen 56 *Staph. epidermidis* suşunun kloramfenikol'e % 14.3, ampisilin'e % 10.8, tetrasiklin'e % 21.5, kolistin sülfat'a % 100, neomisin'e % 3.6, penisilin'e % 23.3, streptomisin'e % 9 oranında dirençli, suşların tümünün kanamisin'e duyarlı oldukları saptanmıştır.

Sonuç olarak, çeşitli yetiştirmelere ait mastitis yönünden CMT testi ile pozitif bulunan toplam 193 süt örneğinden 56 *Staph. epidermidis* suşu izole edilmiş, bu etkenin mastitis'in etiyolojisinde rol aldığı ve antibiyogram testinde de sahada kullanılan antibiyotiklere karşı düşük düzeyde de olsa bir dirençliliğin bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca, etiyolojik açıdan yöresel olarak gerçekleştirilen bu çalışmada; *Staph. epidermidis*'in mastitis oluşumundaki rolünün tam açıklığa kavuşturulması için, hücre sayımı, süt verimi ve sütün kimyasal yoklaması ile, belirli periyotlarda bu etkenin karşı antibiyogram testini de kapsayan araştırmalara gereksinim olduğu ortaya konulmuştur.

## Kaynaklar

1. **Arda, M. ve İstanbulluoğlu, E.** (1979). *Mastitis'lere neden olan aerob, anaerob ve mantarların izolasyonu, identifikasyonu, bunlara karşı etkili olan antibiyotik ve fungusidlerin sap-tanması.* A.Ü. Vet. Fak. Derg., 26 (3-4): 14-29.
2. **Arda, M. ve İstanbulluoğlu, E.** (1981). *Mastitis'lere sebep olan aerobik, anaerobik ve mikroaerofilik bakterilerin izolasyon ve identifikasyonları üzerinde çalışmalar.* Doğa Bilim Derg., Vet. Hayv./Tar. Orm. 5: 125-130.
3. **Aydın, N. ve Çoşkuner, M.R.** (1983). *Ankara bölgesinde klinik ve subklinik mastitis'lere neden olan aerobik mikroorganizmaların ve mantarların izolasyon, identifikasyon ve antibiyotik-lere karşı duyarlılıklarının saptanması üzerinde çalışmalar.* Etlik Vet. Kont. Araş. Enst. Derg., 5 (4-5): 7-28.
4. **Baba, E., Fukata, T. and Matsumoto, H.** (1980). *Bacteriophage typing of coagulase negative staphylococci isolated from bovine milk.* Bull. Univ. Osacha. 32: 69-75.
5. **Batu, A., Duvak, Ö. ve Fırat, G.** (1979). *Marmara ve Trakya bölgesi ineklerinde klinik ve subklinik mastitisler ve etkenleri ile bu etkenlerin antibiyotiklere duyarlılıklarının tesbiti üzerinde araştırma.* Pendik Vet. Kont. Araş. Enst. Derg., 1: 25-40.
6. **Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.L. and Turck, M.** (1966). *Antibiotic sus-ceptibility testing by a standardized single disc method.* J. Clin. Pathol., 45: 493-496.
7. **Brown, R.W.** (1973). *Intramammary infections produced by various strains of Staph. epidermidis and Micrococcus.* Cornell Vet., 63 (4): 630-645.
8. **Brown, R.W., Sandvik, O. Scherer, B.K. and Rose, D.L.** (1967). *Differentiation of strains of Staph. epidermidis isolated from bovine udders.* Gen. Microbiol., 47: 273-287.
9. **Dinçhere and Bailiozov, D.** (1976). *Characteristics of Staph. epidermidis isolated from the udder of cows with mastitis.* Veterinarnomeditsinsti Nauki., 13 (4): 127-133.
10. **Forbes, D.** (1970). *The pathogenic significance of various intramammary infections.* Brit. Vet. J., 126: 260-267.
11. **Forbes, D. and Hebert, C.N.** (1968). *Studies in the pathogenesis of staphylococcal mastitis.* Vet. Rec., 20: 69-73.
12. **Fukata, T., Babo, E., Matsumoto, H.** (1981). *Bacteriophage typing of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine milk.* Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B. 33: 41-47.
13. **Holmberg, O.** (1973). *Staphylococcus epidermidis isolated from bovine milk.* Acta Scand. Vet. Suppl., 45: 1-144.
14. **Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V. R. and Simmer, H.M.** (1979). "Diagnostic Microbiology" J.B. Lippincott Company. Philadelphia. Toronto.
15. **Köhler, E. and Sonnoilidis, G.** (1977). *Staphylococci of the udder in cattle.* Deut. tierarztl. Wschr., 84 (4): 130-132.
16. **Kume, T., Hiramure, T. and Murase, N.** (1970). *Bacterial flora of milk in cows affected with clinical and so-called latent mastitis.* Bull. Nat. Inst. Anim. Hlth., 61: 37-44.

17. **Mac Faddin, J.F.** (1980). "Biological tests for identification of medical bacteria". 2 th Ed. Williams and Wilkins. Baltimore/London.
18. **Mc Donald, J.S. and Anderson, A.J.** (1981). Antibiotic sensitivity of *Staph. aureus* and coagulase negative staphylococci isolated from infected bovine mammary gland. Cornell Vet., 71: 391-396.
19. **Mc Doland J.S. and Donald J.S.** (1976). *Staphylococcus* isolated from bovine intramammary infections. Amer. J. Vet. Res., 37: 377-381.
20. **Mc Donald, J.S. and Packer, P.A.** (1968). Incidence of intramammary infections during lactation in dairy cattle repeatedly exposed to *Str. agalactiae* and *A. aerogenes*. Amer. J. Vet. Res., 29: 1525-1532.
21. **Munch-Petersen, E.** (1968). Incidence of udder infections arising of various stages of lactation of cows. Aust. Vet. J., 44: 543-549.
22. **Rahman, H. and Baxi, K.K.** (1983). Antimicrobial sensitivity of staphylococci isolated from bovine intramammary infection. Indian J. Anim. Sci., 53 (7): 767-769.
23. **Rose, D.L. and Mc Doland, J.S.** (1973). Isolation and host range studies of *Staphylococcus epidermidis* and *Micrococcus spp.* Amer. J. Vet. Res., 34: 125-128.
24. **Sandvik, O. and Brown, R.W.** (1965). Spectrophotometric characterization of pigments produced by *Staph. epidermidis* strains from bovine udders. J. Bacteriol., 89 (5): 1201-1208.
25. **Terzolo, H.R. and Shimizu, A.** (1979). Biological characters and bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus* isolated from chickens staphylococcosi and commercial balanced chicken food in Argentine. Argentine de Microbiologia. 11 (3): 89-101.
26. **Ulusoy, E., İzgür, M., Akay, Ö., Diker, K.S., Aydın, N., ve Arda, M.** (1983). Mastitis'li inek süllerinden izole edilen mikroorganizmaların idenfitikasyonları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerinde bir araştırma. Vet. Fak. Derg., 32 (2): 358-370.
27. **Ward, G.E., Madl, J.E. and Lyon, R.H.** (1981). Mannitol agar for microbiological diagnosis of bovine mastitis. Amer. Vet. Med. Asso., 178: 1061-1064.
28. **Ward, G.E. and Schultz, L.H.** (1972). Relationship of somatic cells in quarter milk to type of bacteria and production. J. Dairy Sci., 55: 1428-1431.
29. **Wesen, D.P., Luedecke, L.O. and Foster, T.C.** (1968). Relation between California mastitis test reactions and bacteriological analysis of stripping samples. J. Dairy Sci., 51 (5): 579-684.
30. **Wilson, C.D., Richard, M.S., Stevenson, F.J. and Dawies, G.** (1983). The national mastitis survey. A survey of udder infection and related factors in the British dairy herd. Alnwick NE 66 Z PF-UK- Maff Publication.
31. **Ziedt, C.H. and Golde, D.W.** (1970). Deoxyribonuclease-positive *Staphylococcus epidermidis* strains. App. Microbiol., 20 (1): 54-57.
32. **Ziv, G. and Nachman, I.** (1972). An abattoir survey of udder pathogens from culled dairy cows. Refuah Vet., 29: 161-166.