

**SAĞLIKLI HAYVANLARDAN ALINAN SÜT ÖRNEKLERİNDE POTANSİYEL PATOJENLER VE ÇOKLU ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ: *STREPTOCOCCUS* SPP. SUŞLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Nisa Sipahi<sup>\*1</sup>, Cansu Çelik Doğan<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Düzce Üniversitesi Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veterinerlik Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü

Geliş/Received: 30.05.2023; Kabul / Accepted: 22.08.2023; Online baskı / Published online: 31.08.2023

Sipahi, N, Doğan Çelik, C. (2023). Sağlıklı hayvanlardan alınan süt örneklerinde potansiyel patojenler ve çoklu antibiyotik dirençliliği: *Streptococcus* spp. suşlarının değerlendirilmesi. GIDA (2023) 48 (5) 952-962 doi: 10.15237/gida.GD23065

Sipahi, N, Doğan Çelik, C. (2023) Presence of the potential pathogens and multiple antibiotic resistance in milk from healthy animals: Evaluation of *Streptococcus* spp. strains. GIDA (2023) 48 (5) 952-962 doi: 10.15237/gida.GD23065

**ÖZ**

Çiğ sütün içerdiği mikroorganizma çeşitliliği ve bunların direnç profili potansiyel olarak insan sağlığı ve gıda endüstrisi için bir tehlike arz etmektedir. Bu çalışmada sağlıklı hayvanlardan elde edilen süt örneklerinin patojen ihtivası yönünden incelenmesi, sütün yaygın kontaminantı *Streptococcus* spp. prevalansının ve antibiyotik direnç profillerinin araştırılması amaçlanmıştır. 249 süt örneğinden *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus faecalis* ve *Macroccoccus caseolyticus* olmak üzere 358 izolat elde edilmiştir. Streptokok prevalansı %24.58 olarak tespit edilmiştir. Streptokok izolatlarının en fazla aminoglikozid sınıfına dirençli olduğu, ardından sırasıyla kinolon, tetrasiklin, makrolid, beta laktam, nitrofuran ve fenikole karşı direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum çiğ süt tüketiminin gıda kaynaklı enfeksiyon için potansiyel bir risk olabileceğini göstermiştir. Bu nedenle tüketicilerin pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinden kaçınması, çiğ sütün antibiyotik direnci yönünden daha fazla izlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması gerektiği düşünülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Antibiyotik direnci, *Streptococcus* spp., süt, patojen, halk sağlığı

**PRESENCE OF THE POTENTIAL PATHOGENS AND MULTIPLE ANTIBIOTIC RESISTANCE IN MILK FROM HEALTHY ANIMALS: EVALUATION OF *STREPTOCOCCUS* SPP. STRAINS**

**ABSTRACT**

The variety of microorganisms contained in raw milk and their resistance profile potentially pose a danger to human health and the food industry. This study was aimed to investigate pathogen content of milk samples obtained from healthy animals and the prevalence of *Streptococcus*, a common contaminant of milk, and antibiotic resistance profiles. In total, 358 isolates, including *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus faecalis* and *Macroccoccus caseolyticus*, were obtained from 249 milk samples. The prevalence of streptococci was found 24.58%. Streptococcal isolates were found most resistant to the aminoglycoside class, followed by quinolone, tetracycline, macrolide, beta lactam, nitrofuran and phenicol resistance respectively.

\*Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author:

✉: sipahi.nisa@gmail.com

☎:(+90) 850 800 8181

☎:(+90) 380 542 1103

Nisa Sipahi; ORCID no: 0000-0001-8915-3545

Cansu Çelik Doğan; ORCID no: 0000-0002-9508-7473

This situation has shown that the consumption of raw milk can be a potential risk for foodborne infection. Hence, it was thought that consumers should avoid unpasteurized milk and dairy products, monitor raw milk more in terms of antibiotic resistance, and take the necessary precautions.

**Keywords:** Antibiotic resistance, *Streptococcus* spp., milk, pathogen, public health

### GİRİŞ

Süt ürünleri diğer hayvansal gıda ürünleri gibi, insan beslenmesinde önemli bir role sahiptir. Çünkü içerdiği vitamin, mineral ve protein açısından oldukça zengin bir gıdadır. Bununla birlikte ülke ekonomilerinde de önemli bir yere sahip ticari bir üründür (Miclean vd., 2019).

Sütün mikrobiyal yükü ilk sağıldığında düşük olmasına karşın içerdiği mikroorganizma çeşitliliği önemlidir. Çünkü hayvansal gıda kaynaklı hastalıklar için süt önemli bir bulaş kaynağıdır. Bununla birlikte çiğ süt mikrobiyotası çiftlik ortamını yansıtmaktadır. Dolayısıyla çiğ sütlerden elde edilen mikrobiyal yükün bilinmesi ve mikroorganizmaların tanımlanması, sadece toplum sağlığı açısından önemli değil, aynı zamanda hayvan sağlığı ve süt verimi açısından da oldukça önemli bir konudur (Sezener vd., 2019; Sharun vd., 2021; Başar ve Heperkan, 2021).

Sütte en çok izole edilen tür *Staphylococcus aureus*'tur. *S. aureus*'tan sonra sağlığı tehdit eden en önemli fırsatçılar *Streptococcus* türleridir. Bu iki tür aynı zamanda hayvanlarda süt verimini olumsuz etkileyen mastitis hastalığında neden olmaktadır. Mastitis hayvanlarda meme bezinin yangısı olmakla birlikte süt kalitesini de olumsuz etkileyen bir durumdur (Sharun vd., 2021). *Streptococcus agalactiae* en yaygın rastlanan streptokok türüdür. *S. agalactiae* biyofilm oluşturarak konaktaki yerinde ısrarcı olmakta ve aynı zamanda meme bezine kolonize olmaktadır (Delibaş ve Türkyılmaz, 2018; Cheng ve Han 2020; Chiesa vd., 2020). Ayrıca *S. agalactiae* (Grup B streptokoktur), insan bağırsak yolunun ve vajinasının bir komensalidir. Bununla birlikte yenidoğanlarda ve yaşlılarda, potansiyel olarak ölümcül enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojendir (Sorensen vd., 2019). Sütte oldukça yaygın rastlanılan *Streptococcus* spp. türleri sadece mastitis etmeni değil genel anlamda bulaşıcı ve çevresel patojenler olarak sınıflandırılmaktadır. Konak üzerinde yaşayanları sığırlar arasında sağım yoluyla bulaşabilmekte ve zoonoz özellik göstermektedir. Çevresel olan türleri ise konakçı dışında yaşamını sürdürüp

ineğin çevresindeki normal mikrobiyotanın bir parçasıdır ve yine insan sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturmaktadır (Cheng ve Han, 2020; Kabelitz vd., 2021).

Sütte patojenlerin ihtivasi dışında diğer bir önemli konu bakterilerin taşıdığı genetik elementlerdir. Bu noktada hayvanlarda antibiyotik direnç konusu önem kazanmaktadır. Süt üreticiliğinde yaygın antibiyotik kullanımı, hastalık sağaltımında zorluklara sebep olurken sonrasında gıda zincirine girebilecek ve insan sağlığını etkileyebilecek antimikrobiyal dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkma riskini artırmaktadır (Kabelitz vd., 2021). Son yıllarda antibiyotik direnci fazlaca artış göstermiş ve giderek büyüyen bir krize dönmüştür (Skočková vd., 2015; Ahmed 2021). Çünkü bakteriler bu direnç genlerini horizontal ve vertikal olarak türler arası yayabilmektedir (Read ve Woods, 2014; Andersson vd., 2020) ve direnç gelişimi için antibiyotiğe maruz kalmak zaruri bir durum değildir. Dolayısıyla antimikrobiyal direnç sağlayan genlerin aktarımı ve yayılımı sadece çevresel patojenlerle olmamakta aynı zamanda bakteriyel doğal ekosistemler de bu konuda belirleyici olmaktadır (Gueimonde vd., 2013; Sipahi vd., 2019). Bu hususta hayvansal kaynaklı gıdalar ve gıda kaynaklı patojenler direnç genlerinin kaynağı konumundadır. Süt ise buna en iyi örnektir. Çünkü süt çok farklı etmenlerden kontamine olmakta ve hatta kaynatma ya da pastörizasyon işlemleri sonrasında bile bakterilerin ürettikleri bazı genetik ve metabolik ürünler sütte varlığını devam ettirebilmektedir. Bu sebeple süt mikrobiyotasının mevcut durumu ve bu popülasyonun direnç profilinin belirlenmesi önemlidir (Fusco vd., 2020; Güneri ve Kızılyıldırım, 2022).

Antimikrobiyal ajan direncinin potansiyel riskleri, insan sağlığı ve gıda endüstrisinde yaratacağı endişeler üzerinde yoğunlaşmaktadır. Gerçek şu ki antimikrobiyal ajan direnci Dünya üzerinde birçok sektör için yük oluşturmaktadır. Bu çalışmada sağlıklı hayvanlardan elde edilen süt örneklerinde

*Streptococcus* spp. türlerinin varlığının ve antibiyotik direnç profillerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Örneklerin Toplanması ve Kültür

Süt örnekleri direkt olarak sağlıklı görünen hayvanlardan (süt ineklerinden) el ile sağım şeklinde toplanmıştır. İstanbul-Düzce ve çevresinden (Türkiye) toplanan 249 süt örneğinin her biri steril bir falkona sağılmış ve direkt olarak laboratuvara getirilmiştir. Sağım işlemi öncesi meme başı steril su ile yıkanmıştır. Örnekler Haziran - Ekim 2022 tarihleri arasında köy tipi besi çiftliklerinden toplanmıştır. Her bir süt örneği aynı gün %5 defibrine koyun kanı içeren Columbia Agar Base (Condalab, İspanya) besiyerine ekilmiştir. 37°C'de 24 sa inkübasyon sonrası farklı koloniler seçilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Kültür için Tyryptic Soy Agar (TSA), (Merck, Almanya) ve Tyryptic Soy Broth (TSB) (Condalab, İspanya) besiyerleri kullanılmıştır.

### Bakterilerin Tanımlanması

Saflaştırılan kültürlerde sırasıyla Gram boyama, katalaz, oksidaz, oksidasyon/fermantasyon, indol, metil red (MR), voges proskauer (VP) ve sitrat testleri yapılmıştır. Sonrasında identifikasyon için sekans yönteminden yararlanılmıştır. Tüm izolatların katı kültürlerinden alınan kolonilerden DNA ekstraksiyonu TE buffer ile (10mM Tris-HCl ve 1mM EDTA, pH:8.0) kaynatılarak yapılmıştır. İzolatların 16S rRNA gen dizi analizleri için konvensiyonel PCR yönteminden yararlanılmıştır. Çalışmada F- ATT CTA GAG TTT GAT CAT GGC TCA; R-ATG GTA CCG TGT GAC GGG CGG TGT GTA primleri (Brosius vd., 1978) ve PCR mix (K0171 Thermo Scientific) 10 pmol reverse ve forward primerler ile PCR water kullanılmıştır. Termal döngüde ilk denatürasyon 95°C'de 2 dakika, 35 döngü için her döngüde 94°C'de 1 dakika, 50 °C'de 1 dakika, 72 °C'de 2 dakika, son döngüden sonra 72 °C'de 5 dakikada gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri Macrogen firmasına (Wageningen, Hollanda) gönderilerek dizi analizi yapılmıştır. Sonuçların karşılaştırılması BLAST programı kullanılarak GenBank veri tabanı ile yapılmıştır.

### Antibiyotik Direnç Profili

Bu çalışmada *Streptococcus* izolatları sütteki majör patojen olarak değerlendirilmiş ve sadece *Streptococcus* spp. olarak tanımlanan izolatlarda antibiyotik direnç profilleri Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) tarafından önerilen disk difüzyon testi ile belirlenmiştir (CLSI 2019). Çalışmada 8 ayrı sınıftan 21 farklı antibiyotik diski (Bioanalyse, Türkiye) kullanılmıştır. Bunlar; vankomisin (30 µg), penisilin-G (10U), streptomisin (10µg), tetrasiklin (30 µg), kanamisin (30 µg), neomisin (30 µg), nitrofurantoin (300 µg), eritromisin (15 µg), imipenem (10 µg), gentamisin (10 µg), amoksisilin-klavulanik asit (30 µg), ampisilin sulbaktam (20 µg), kloramfenikol (30 µg), siprofloksasin (5 µg), ofloksasin (10 µg), nalidiksik asit (30 µg), seftazidim, (30 µg), sefotaksim (30 µg), aztrenoam (30 µg), sefoksitin (30 µg), oksasilin (1 µg). Test sonuçları duyarlı ve dirençli olarak değerlendirilmiştir.

### Çoklu Antibiyotik Direnci

Yukarıda bahsedilen kinolon, nitrofuran, beta laktam, aminoglikozid, glikopeptid, tetrasiklin, kloramfenikol ve makrolid gruplarından farklı antibiyotikler kullanılmıştır. Test edilen antibiyotiklerden 3 ve daha fazlasına karşı direnç gösteren izolatlar çoklu antibiyotik dirençli olarak kabul edilmiştir (de Jong vd., 2018).

### BULGULAR VE TARTIŞMA

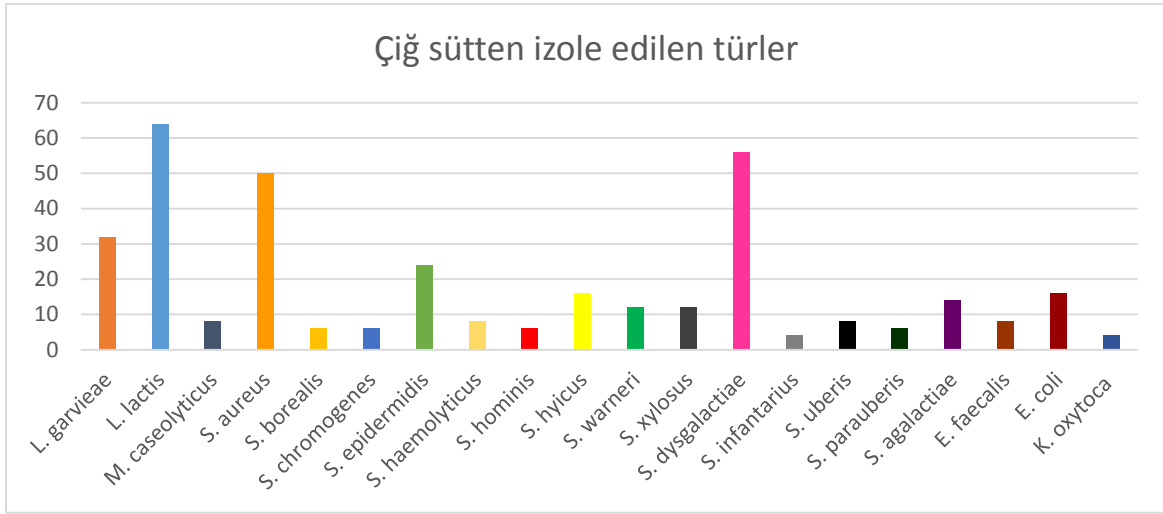
Çiğ süt tüketiminin artan popülaritesine ilişkin olası faydaları konusunda tartışmalar devam etmektedir. Bununla birlikte, çiğ sütün patojen bakterilerle kontamine olması durumunda süt kaynaklı hastalıklara yakalanma riski nedeniyle Gıda ve İlaç İdaresi ve Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri gibi düzenleyici veya halk sağlığı kuruluşlarının önemli endişeleri bulunmaktadır. Hatta kaynatma veya diğer işlemler sonrasında bile bakterilerin ürettikleri bazı genetik ve metabolik ürünlerin sütte varlığını devam ettirmesi sağlık açısından risk teşkil ettiği bildirilmektedir (Lucey, 2015).

### Süt Örneklerinden Elde Edilen İzolatlar

Süt, mikroorganizmaların gelişmesi için oldukça uygun bir ortamdır ve sütün mikrobiyal yükü ne

oranda ise bozunma hızı da o oranda artmaktadır (Başar ve Heperkan 2020). Dolayısıyla sağlıklı hayvanlardan toplanan çiğ süt örneklerinin mikrobiyotasının bilinmesi hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı açısından potansiyel riski ortaya koyduğundan oldukça önemlidir. Bu çalışmada sağlıklı görünen hayvanlardan toplanan 249 süt örneğinden *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus faecalis* ve *Macrococcus caseolyticus* olmak üzere toplam 358 izolat elde edilmiştir. En yüksek %17.87 oranda *L. lactis* elde edilmiştir. Sonrasında en yüksek olarak *S. dysgalactiae* %15.64

ve %13.96 *S. aureus* suşları izole edilmiştir. En önemli çevresel etkenlerden *E. coli* %4.46 ve *S. epidermidis* %6.7 oranında tespit edilmiştir. Çalışmada toplam elde edilen izolatların %23.46'sı *Streptococcus* spp. olarak tanımlanmıştır. Diğer bir deyişle 5 farklı türden toplam 88 adet *Streptococcus* spp. türüne rastlanmıştır. *Streptococcus* spp.'nin türe göre tespiti şu şekilde olmuştur: Bunlar *S. dysgalactiae* (n=56), *S. agalactiae* (n=14), *S. uberis* (n=8), *S. infantarius* (n=4), *S. parauberis* (n=6) şeklindedir. Elde edilen izolatların türe göre dağılımı Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Çiğ sütlerden izole edilen bakterilerin türe göre izolat sayısı (n)  
Figure 1. Number of isolates of bacteria isolated from raw milk by species (n)

Çalışmada izole edilen türlerin büyük çoğunluğu fırsatçı patojen özelliğindedir. Bu patojenlerin neden olabileceği subkronik mastitis ise bir süre hiçbir semptom vermeden gelişebilir ve çiğ süt kalitesini insan tüketimi için olumsuz etkileyebilir. Ayrıca yüksek oranda fırsatçı ajan içeren sütler, diğer gıdaların (peynir yoğurt gibi) eldesi için prosese uygun değildir (Guzmán-Luna vd., 2022). Bu çalışmaya benzer şekilde semptom göstermeyen ve sağlıklı görünen hayvanlardan alınan süt örneklerinde Cervinkova vd. (2013) başta koagülaz negatif stafilokok olmak üzere (%53.5), sırasıyla diğer oranında streptokok türlerini (%11.7) (*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* and *S. uberis*) ve diğer potansiyel patojenleri tespit ederken Sorge vd. (2021) süt örneklerinden yüksek oranda *L. lactis*, *L. garvieae*, *E. faecalis*, *E.*

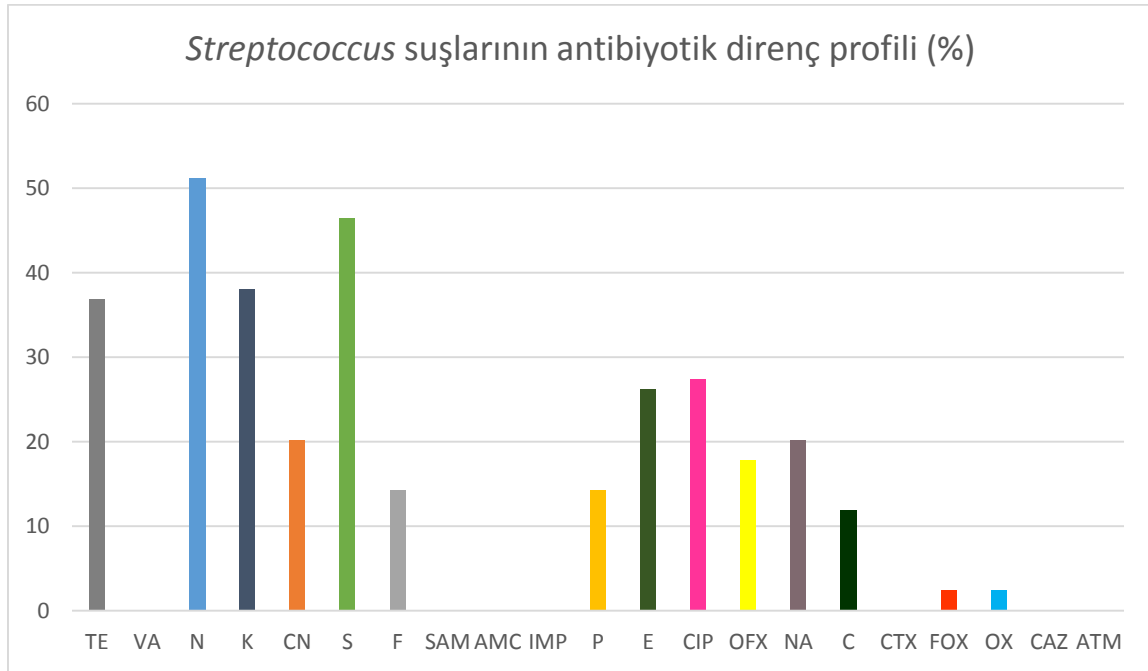
*faecium*, *S. uberis* tespit etmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada 735 süt örneği incelenmiş ve toplam 64 (% 8,71) izolat streptokok olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada 22 izolat *S. agalactiae*, 13 izolat *S. dysgalactiae* ve 29 izolat *S. uberis* olarak tespit edilmiştir (Tian vd., 2019).

#### İzolatların Antibiyotik Direnç Profilleri

Dünya çapında sütün yaygın kontaminantı olan streptokok türleri sahip olduğu virülans faktörleri ve antimikrobiyal direnç genleri aracılığıyla insan sağlığı için tehdit oluşturmaktadır (Pérez vd., 2020). Bu çalışmada toplanan süt örneklerinin aerob bakteriyel mikrobiyotası tespit edilmiş olup sadece streptokok türlerinin antibiyotik direnç profili araştırılmıştır. Bu çalışmada tespit edilen *Streptococcus* spp. izolatlarının antibiyotik

duyarlılıklarının daha önce kaydedilen sonuçlarla nispeten benzerlik gösterdiği görülmektedir. Çalışmada en yüksek oranda neomisin (%51.19) direnci görülmüştür. Bunu sırasıyla streptomisine (%46.42), kanamisine (%38.09) ve tetrasikline (%36.9) karşı tespit edilen direnç oranları izlemiştir. En düşük direnç sefoksitin (%2.38) ve oksasiline (%2.38) karşı görülmüşken, vankomisin, ampisilin-sülbaktam, amoksisilin-klavulanik asit, imipenem, sefotaksim, seftazidim ve aztrenoama karşı dirençli suş tespit edilmemiştir. Tüm *Streptococcus* spp. suşlarında tespit edilen direnç profili Şekil 2'de gösterilmiştir. En önemli patojen olan *S. agalactiae* için bu direnç durumu yine en yüksek olarak neomisine karşı

görülmüş ve buna göre toplam 56 *S. agalactiae* izolatının 32'sinde direnç saptanmıştır. Benzer şekilde streptomisine 30, kanamisine 29, tetrasikline 25, siprofloksasine 22, eritromisine 17, penisiline 11, ofloksasine ve nalidiksik aside 13, tetrasikline 10, nitrofurantoin ve kloramfenikole karşı 7, sefoksitin ve oksasiline karşı 2'şer izolatta direnç tespit edilmiştir (Çizelge 1). Çalışmada sadece 2 farklı *S. dysgalactiae* suşunda beta laktam grubu antibiyotiklere (FOX ve OX) karşı direnç gözlenmiştir (Çizelge 2). Bu iki suş ayrıca test edilen antibiyotiklerin %66'sına karşı dirençli olarak tespit edilmiştir. Diğer suşların tür içindeki direnç dağılımları Çizelge 2 ve 3'te verilmiştir.



Şekil 2. *Streptococcus* spp. izolatlarının antibiyotik direnç profili: TE: Tetrasiklin, VA: Vankomisin, N: Neomisin, K: Kanamisin, CN: Gentamisin, S: Streptomisin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampisilin-sülbaktam, AMC: Amoksisilin-klavulanik asit, IMP: Imipenem, E: Eritromisin, CIP: Siprofloksasin, OFX: Ofloksasin, NA: Nalidiksik asit, C: Kloramfenikol, CTX: Sefotaksim, FOX: Sefoksitin, OX: Oksaslin, CAZ: Seftazidim, ATM: Aztrenoam.

Figure 2. The antibiotic resistance profile of streptococcal isolates: TE: Tetracycline, VA: Vancomycin, N: Neomycin, K: Kanamycin, CN: Gentamicin, S: Streptomycin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampicillin-sulbactam, AMC: Amoxicillin-clavulanic acid, IMP: Imipenem, E: Erythromycin, CIP: Ciprofloxacin, OFX: Ofloxacin, NA: Tetracycline, VA: Vancomycin, K: Kanamycin, CN: Gentamicin, AMC: Amoxicillin-clavulanic acid, IMP: Imipenem, E: Erythromycin, CIP: Ciprofloxacin, OFX: Ofloxacin, NA: Nalidixic acid, C: Chloramphenicol, CTX: Cefotaxime, FOX: Cefoxitin, OX: Oxacilin, CAZ: Ceftazidime, ATM: Aztrenoam.

Sütten izole edilen *Streptococcus* spp. suşlarının antibiyotik direnç profili

Çizelge 1. *S. agalactiae*'nin antibiyotik direncinin tür içinde değerlendirilmesi  
Table 1. Evaluation of antibiotic resistance of *S. agalactiae* within the species

Antibiyotik Direnç Oranları (n=14)					
Antibiotic Resistance Rates					
	n (%)		n (%)		n (%)
TE	5 (35.7)	E	3 (21.4)	SAM	-
VA	-	CIP	1 (7.1)	AMC	-
N	7 (50)	OF	2 (14.2)	IMP	-
K	2 (14.2)	NA	2 (14.2)	P	1 (7.14)
CN	5 (35.7)	C	3 (21.4)	OX	-
S	5 (35.7)	CTX	-	CAZ	-
F	1 (7.1)	FOX	-	ATM	-

TE: Tetrasiklin, VA: Vankomisin, N: Neomisin, K: Kanamisin, CN: Gentamisin, S: Streptomisin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampisilin-sulbaktam, AMC: Amoksisilin-klavulanik asit, IMP: Imipenem, E: Eritromisin, CIP: Siprofloksasin, OFX: Ofloksasin, NA: Nalidiksik asit, C: Kloramfenikol, CTX: Sefotaksim, FOX: Sefoksitin, OX: Oksaslin, CAZ: Seftazidim, ATM: Aztrenoam.

TE: Tetracycline, VA: Vancomycin, N: Neomycin, K: Kanamycin, CN: Gentamicin, S: Streptomycin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampicillin-sulbactam, AMC: Amoxicillin-clavulanic acid, IMP: Imipenem, E: Erythromycin, CIP: Ciprofloxacin, OFX: Ofloxacin, NA: Nalidixic acid, C: Chloramphenicol, CTX: Cefotaxime, FOX: Cefoxitin, OX: Oxacilin, CAZ: Ceftazidime, ATM: Aztrenoam.

Çizelge 2. *S. dysgalactiae*'nin antibiyotik direncinin tür içinde değerlendirilmesi  
Table 2. Evaluation of antibiotic resistance of *S. dysgalactiae* within the species

Antibiyotik Direnç Oranları (n=56)					
Antibiotic Resistance Rates					
	n (%)		n (%)		n (%)
TE	25 (44,6)	E	17 (30,3)	SAM	-
VA	-	CIP	22 (39,2)	AMC	-
N	32 (57,1)	OFX	13 (23,2)	IMP	-
K	29 (51,7)	NA	13 (23,2)	P	11 (19,6)
CN	10 (17,8)	C	7 (12,5)	OX	2 (3,57)
S	30 (53,5)	CTX	-	CAZ	-
F	7 (12,5)	FOX	-	ATM	-

TE: Tetrasiklin, VA: Vankomisin, N: Neomisin, K: Kanamisin, CN: Gentamisin, S: Streptomisin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampisilin-sulbaktam, AMC: Amoksisilin-klavulanik asit, IMP: Imipenem, E: Eritromisin, CIP: Siprofloksasin, OFX: Ofloksasin, NA: Nalidiksik asit, C: Kloramfenikol, CTX: Sefotaksim, FOX: Sefoksitin, OX: Oksaslin, CAZ: Seftazidim, ATM: Aztrenoam.

TE: Tetracycline, VA: Vancomycin, N: Neomycin, K: Kanamycin, CN: Gentamicin, S: Streptomycin, F: Nitrofurantoin, SAM: Ampicillin-sulbactam, AMC: Amoxicillin-clavulanic acid, IMP: Imipenem, E: Erythromycin, CIP: Ciprofloxacin, OFX: Ofloxacin, NA: Nalidixic acid, C: Chloramphenicol, CTX: Cefotaxime, FOX: Cefoxitin, OX: Oxacilin, CAZ: Ceftazidime, ATM: Aztrenoam.

Çizelge 3. Diğer suşların antibiyotik direncinin tür içinde değerlendirilmesi  
Table 3. Evaluation of antibiotic resistance of other strains within the species

	<i>S. infantarius</i> (n=4)	<i>S. uberis</i> (n=6) n(%)	<i>S. parauberis</i> (n=4)
TE	-	-	1 (25)
N	4 (100)	-	-
K	-	1 (16.6)	-
CN	-	2 (33.3)	-
S	4 (100)	-	-
F	3 (75)	1 (16.6)	-
E	-	-	2 (50)
NA	-	2 (33.3)	-

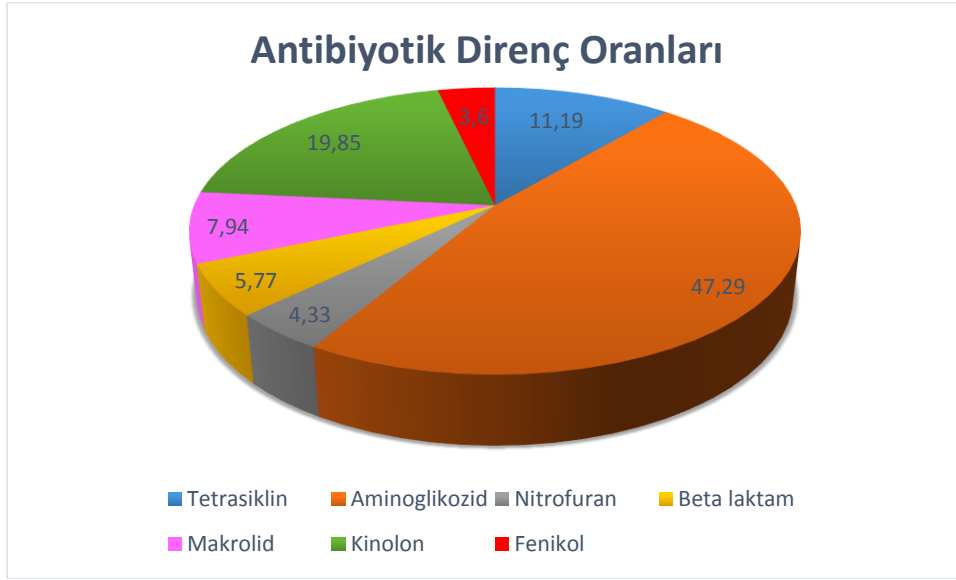
Test edilen diğer antibiyotiklere direnç rastlanmamıştır. O sebeple tabloda verilmemiştir. TE: Tetrasiklin, N: Neomisin, K: Kanamisin, CN: Gentamisin, S: Streptomisin, F: Nitrofurantoin, E: Eritromisin, NA: Nalidiksik asit. There was no resistance to other antibiotics tested. For this reason, it is not given in the table. TE: Tetracycline, N: Neomycin, K: Kanamycin, CN: Gentamicin, S: Streptomycin, F: Nitrofurantoin, E: Erythromycin, NA: Nalidixic acid.

Antibiyotik tedavisi, sığır mastitisini ve insan enfeksiyonunu kontrol etmek için önemli bir araçtır; ancak bakteriler kullanılan antibiyotiklere karşı sıklıkla direnç geliştirmektedir (Kou vd., 2021). Emam vd. (2021), çalışmalarında tetrasiklin (%90), ampicilin (%80), rifampin (%60), sülfametoksazol/trimetoprim (%50), gentamisin (%45), eritromisin ve nalidiksik asit (%40), kloramfenikol (%30) ve streptomisine (%25) karşı yüksek direnç gösterdiğini bildirmiştir. Tian vd. (2019) çalışmalarında streptokok izolatlarının tetrasikline karşı en yüksek direnç oranına (% 98.44) sahip olduğunu, oksasilin (% 98.44), penisilin G (% 96.88) ve doksisisiklin (% 96.88) antibiyotiklerine karşı belirtilen oranda dirençli olduğunu ve en düşük direncin ise siprofloksasine karşı geliştiğini (% 1.56) tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada çiğ süttten *S. aureus* suşlarının antibiyotik direnç profili incelenmiş ve en yüksek olarak klindamisin direnci %80, tetrasiklin direnci %16 olarak tespit edilmiştir (Keyvan, 2019). Bu çalışmada klindamisin antibiyotiğine ya da diğer linkosamid grubundan bir antibiyotik test edilmemiştir. Çalışmada seçilen antibiyotikler streptokok suşları ve çiftliklerde yaygın kullanılan antibiyotik grupları düşünülerek seçilmiştir. İleriki çalışmalarda antibiyotik spektrumlarının genişletilmesi faydalı olabilir. Bununla birlikte bu çalışmada yüksek oranda tespit edilen antibiyotik dirençliliğine yemlere takviye olarak antimikrobiyal ajan ilavesi ya da düzensiz ve sık antibiyotik tedavisi neden olmuş olabilir. Çünkü

yapılan çalışmalar veterinerlikte ve tıpta antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı ile antropojenik aktivitelerin çevrede antibiyotik direnç genlerinin dağılımına, bunun da zorluklara neden olduğunu göstermektedir (Berendonk vd., 2015). Güneydoğu Asya'da antimikrobiyal kullanım üzerine yapılan bir araştırmada, yem hariç, bu bölgedeki çiftçilerin kg canlı domuz başına 46 mg farklı antimikrobiyal bileşik ve kg canlı tavuk başına yılda 52-276 mg uyguladığını göstermiştir (Nhung vd., 2016). Yine benzer şekilde tavuk, hindi ve sığır çiftliklerinde verilen antibiyotiklerin %84'nün profilaktik amaçlı verildiği bildirilmiştir (Zalewska vd., 2021). Bunun dışında özellikle büyükbaş hayvan çiftliklerinde yemlerde antibiyotik ilavesi olduğuna ve bunun olumsuz sonuçlarına vurgu yapan çalışmalar da mevcuttur (Companyó vd., 2009; İrkin vd., 2019; Küçükbüğrü ve Acaröz, 2020).

#### Çoklu Antibiyotik Direnç Profili

Toplamda 88 adet *Streptococcus* spp. izolatının %64.28'inde çoklu antibiyotik direnci görülmüştür. İzolatların 2'si 7 ayrı sınıfa, 6'sı 5 farklı sınıfa, 7'si 4 farklı sınıftan antibiyotiğe karşı direnç göstermiştir. 38 izolat ise 3 farklı sınıftan antibiyotiğe karşı dirençli olarak saptanmıştır. En fazla aminoglikozid sınıfına karşı direnç saptanmışken, glikopeptid laktam olmayan antibiyotik vankomisine karşı dirençli izolat görülmemiştir.



Şekil 3. *Streptococcus* spp. izolatlarının antibiyotik sınıflarına göre direnç oranları (%)  
Figure 3. *Streptococcus* spp. resistance rates of isolates according to antibiotic classes (%)

Toplum sağlığı açısından oldukça önemli bir ajan olan antibiyotikler bir yandan sağaltımda başarı sağlarken diğer yandan kullanılan antibiyotiğe karşı bakterilerin dirençli olmasına neden olmaktadır (Sipahi vd., 2013). Bu nedenle çeşitli hayvansal kaynaklı gıdaların incelendiği örneklerde antibiyotik direncine sıklıkla rastlanmaktadır. Süt bu açıdan önemli bir kaynaktır. Saed vd. (2020) incelediği süt örneklerinde izole ettiği streptokok türlerinde en fazla direnci linkozamidlere ve makrolid grubu antibiyotiklere karşı görüldüğü belirtilerek çoklu antibiyotik direncinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada çiğ süttten izole edilen *S. agalactiae* türlerinin %100 oranında en az 3 veya daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (Zhao vd., 2022). Gerçekleştirilen bu çalışmada *S. agalactiae* türlerinin %50'sinden fazlasının ve genel olarak izolatların %64'ünden fazlasının çoklu antibiyotik direnci göstermesi yüksek oranda direnç olarak yorumlanmıştır. Bu durum streptokok enfeksiyonlarının önemini arttırmakta ve insan sağlığı açısından çok büyük risk olarak düşünülmüştür. Çünkü hâlihazırda streptokok enfeksiyonları toplumda önemli enfeksiyonlar oluşturmaktadır. Bu suşların beraberinde yüksek çoklu direnç göstermeleri endişe yaratmaktadır. Yapılan başka bir çalışmada ise süttten izole edilen

*S. uberis* suşlarında oldukça düşük (%6.4) olduğu bildirilmiştir (Magagula vd., 2023). Bu sonuç bizim çalışmamızla *S. uberis*'in tür içi değerlendirmesiyle paralellik göstermektedir. Diğer yandan bu çalışmada *S. dysgalactiae* izolatları *S. uberis*'in aksine yüksek çoklu direnç göstermiştir. Süttten izole edilen bakterilerde yüksek antimikrobiyal ajan direnci görülmesi ise genel olarak toplum sağlığı açısından önemli bir sorundur.

## SONUÇ

Patojen mikroorganizmaların süttteki varlığının bilinmesi süttün kalitesi ve toplum sağlığı açısından önemlidir. Bu çalışmada incelenen süt örneklerinde bazı patojen suşların yüksek oranda var olduğu görülmüştür. Ayrıca bu çalışmada gerek insan sağlığı gerekse de hayvan refahı ve süt verimi açısından oldukça önemli olan *Streptococcus* spp. suşlarının direnç profili incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *Streptococcus* spp. izolatları nispeten yüksek sayıda çoklu ilaca dirençli olarak belirlenmiştir. *Streptococcus* spp. izolatlarının en yaygın olarak aminoglikozid sınıfına dirençli olduğu, ardından sırasıyla kinolon, tetrasiklin, makrolid, beta laktam, nitrofuran ve fenikole karşı dirençlilik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum süt tüketiminin gıda kaynaklı enfeksiyon için potansiyel bir risk olabileceğini göstermiştir. Bu



nedenele tüketicilerin pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinden kaçınması önerilmektedir. Ayrıca sağlık riskini temsil edebilecek gıdaları tanımak ve gıda kaynaklı enfeksiyonların etkili tedavisini sağlamak için *Streptococcus* spp prevalansının yanı sıra ortaya çıkan antimikrobiyal direncin daha fazla izlenmesi gerekmektedir. Çünkü bakteriyel direnç sürekli bir değişim halindedir ve süt insan besini olarak halk arasında çok önemli bir yere sahiptir.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu çalışmayla ilgili herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

#### YAZAR KATKILARI

Yazarlar (NS ve CÇ) araştırma kaynaklarının elde edilmesinde ve deneylerin yürütülmesinde ortak katkı sağlamıştır. Makalenin yazımı ve revizyonu NS tarafından gerçekleştirilmiştir. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

#### KAYNAKÇA

Ahmed, I. M. (2021). Detection of CTX-M gene in extended spectrum  $\beta$ -lactamases producing Enterobacteriaceae isolated from bovine milk. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 35(2), 397-402. Doi: 10.33899/ijvs.2020.126909.1412

Andersson, D. I., Balaban, N. Q., Baquero, F. (2020). Antibiotic resistance: turning evolutionary principles into clinical reality. *FEMS Microbiol Review*, 44(2), 171-188. Doi: 10.1093/femsre/uaa001

Başar, C. S., Heperkan, Z. D. (2021). Sütün mikrobiyotası ve bozulmasına yol açan önemli bakteriler. *Gıda*, 46(3), 660-668. Doi: 10.15237/gida.GD21034

Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., ... & Martinez, J. L. (2015). Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature reviews microbiology*, 13(5), 310-317.

Brosius, J., Palmer, M.L., Kennedy, P.J., Noller, H.F. (1978). Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 75, 4801-4805. Doi: 10.1073/pnas.75.10.4801

Cervinkova, D., Vlkova, H., Borodacova, I., Makovcova, J., Babak, V., Lorencova, A., Jaglic, Z. (2013). Prevalence of mastitis pathogens in milk from clinically healthy cows. *Veterinarni Medicina*, 58(11), 567-575.

Cheng, W. N., Han, S. G. (2020). Bovine mastitis: Risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments-A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(11), 1699. Doi: 10.5713/ajas.20.0156

Chiesa, L. M., DeCastelli, L., Nobile, M., Martucci, F., Mosconi, G., Fontana, M., Panseri, S. (2020). Analysis of antibiotic residues in raw bovine milk and their impact toward food safety and on milk starter cultures in cheese-making process. *Lwt*, 131, 109783. Doi: 10.1016/j.lwt.2020.109783

CLSI (2019). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 29th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA ABD.

de Jong A, Simjee S, El Garch F ve ark. (2018). Antimicrobial susceptibility of enterococci recovered from healthy cattle, pigs and chickens in nine EU countries (EASSA Study) to critically important antibiotics. *Veterinary Microbiology*, 216, 168-175. Doi: 10.1016/j.vetmic.2018.02.010

Companyó, R., Granados, M., Guiteras, J. ve Prat, M. D. (2009). Antibiotics in food: Legislation and validation of analytical methodologies. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395(4), 877-891. doi:10.1007/s00216-009-2969-4

Delibaş, Y., Türkyılmaz, S. (2018). Detection of Some Bacteriocin Genes in *Enterococcus faecium* Isolates Obtained from Mastitic Bovine Milk Samples. *Van Veterinary Journal*, 29(1).

Emam, A., El-Diasty, M., Abdelkhalek, A. (2021). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* isolated from Raw Milk in Dakahlia Governorate, Egypt. *Zagazig Veterinary Journal*, 49(1), 67-77. Doi: 10.21608/ZVJZ.2021.64186.1131

Fusco, V., Chieffi, D., Fanelli, F., Logrieco, A. F., Cho, G. S., Kabisch, J., Franz, C. M. (2020). Microbial quality and safety of milk and milk products in the 21st century. *Comprehensive Reviews*

- in *Food Science and Food Safety*, 19(4), 2013-2049. Doi: 10.1111/1541-4337.12568
- Gueimonde, M.; Sánchez, B.; G. de los Reyes-Gavilán, C.; Margolles, A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Front Microbiol*, 2013, 4, 202. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00202>
- Guneri, C. O., Kızılyıldırım, S. (2022). Tüketime sunulan çiğ sütlerde *Escherichia coli* O157: H7 araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(3), 441-447. Doi: 10.22312/sdusbed.1202809
- Guzmán-Luna, P., Nag, R., Martínez, I., Mauricio-Iglesias, M., Hospido, A., & Cummins, E. (2022). Quantifying current and future raw milk losses due to bovine mastitis on European dairy farms under climate change scenarios. *Science of the Total Environment*, 833. Doi: 155149. 10.1016/j.scitotenv.2022.155149
- İrkin, R., Batu, Z. ve Özbek, K. (2019). Hayvansal besinlerdeki antibiyotik kalıntılarının insan sağlığına etkileri. *International Aegean Symposium on Innovative Interdisciplinary Scientific Researches Proceedings Book*.
- Kabelitz, T., Aubry, E., van Vorst, K., Amon, T., & Fulde, M. (2021). The role of *Streptococcus* spp. in bovine mastitis. *Microorganisms*, 9(7), 1497. Doi: 10.3390/microorganisms9071497
- Keyvan, E. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarında antibiyotik direnç özelliklerinin tespiti. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*. 2019; 90(1): 9-14.
- Kou, X., Cai, H., Huang, S., Ni, Y., Luo, B., Qian, H., Wang, X. (2021). Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw milk in Northern Xinjiang, China. *Frontiers in Microbiology*, 12, 705947. Doi: 10.3389/fmicb.2021.705947
- Küçükbuğru, N., Acaröz, U. (2020). Gıdalarda antibiyotik kalıntıları ve halk sağlığına etkileri. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 11(3), 161-167. Doi:10.38137/vetfarmatoksbulen.822713
- Lucey, J. A. (2015). Raw milk consumption: risks and benefits. *Nutrition Today*, 50(4), 189. doi: 10.1097/NT.0000000000000108
- Magagula, S., Petzer, I. M., Famuyide, I. M., & Karzis, J. (2023). Biofilm expression and antimicrobial resistance patterns of *Streptococcus uberis* isolated from milk samples of dairy cows in South Africa. *Journal of Dairy Research*, 90(1), 42-46. Doi: 10.1017/S0022029923000158.
- Miclean, M., Cadar, O., Levei, E. A., Roman, R., Ozunu, A., & Levei, L. (2019). Metal (Pb, Cu, Cd, and Zn) transfer along food chain and health risk assessment through raw milk consumption from free-range cows. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(21), 4064. Doi: 10.3390/ijerph16214064
- Nhung, N. T., Cuong, N. V., Thwaites, G., and Carrique-Mas, J. (2016). Antimicrobial usage and antimicrobial resistance in animal production in southeast asia: a review. *Antibiotics* 5:37. doi: 10.3390/antibiotics5040037
- Pérez, V. K. C., da Costa, G. M., Guimaraes, A. S., Heinemann, M. B., Lage, A. P., & Dorneles, E. M. S. (2020). Relationship between virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 792-802. Doi: 10.1016/j.jgar.2020.06.010
- Read, A. F., Woods, R. J. (2014). Antibiotic resistance management. *Evolution, Medicine, and Public Health*, 2014(1), 147. Doi:10.1093/emph/eou024
- Saed, H. A. E. M. R., Ibrahim, H. M. M. (2020). Antimicrobial profile of multidrug-resistant *Streptococcus* spp. isolated from dairy cows with clinical mastitis. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 7(2), 186. Doi: 10.5455/javar.2020.g409
- Sezener, M. G., Findık, A., Ergüden, V. E., Akgöz, S., Gülhan, T., Çiftci, A. (2019). The Determination of Antibiotic Resistances and Some Virulence Genes of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis. *JAES*, 2019, 4.2: 182-187. Doi: 10.35229/jaes.571977
- Sharun, K., Dhama, K., Tiwari, R., Gugjoo, M. B., Iqbal Yattoo, M.; Patel, S. K., Chaicumpa, W. (2021). Advances in therapeutic and management approaches of bovine mastitis: a

- comprehensive review. *Veterinary Quarterly* 41(1), 107-136. Doi: 10.1080/01652176.2021.1882713
- Sipahi, N., Karakaya, E., İkiz, S. (2019). Phenotypic and genotypic investigation of the heavy metal resistance in *Escherichia coli* isolates recovered from cattle stool samples. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 43(5), 684-691. Doi: 10.3906/vet-1903-82
- Sipahi, N., Mutlu, C., Akkan, T. (2013). Giresun İlinde tüketime sunulan bazı balıklardan izole edilen Enterobacteriaceae üyelerinin antibiyotik ve ağır metal dirençlilik düzeyleri. *Gıda*, 38(6), 343-349. Doi: 10.5505/gida.2013.55264
- Skočková, A., Bogdanovičová, K., Koláčková, I., Karpíšková, R. (2015). Antimicrobial-resistant and extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase-producing *Escherichia coli* in raw cow's milk. *Journal of Food Protection*, 78(1), 72-77. Doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-250
- Sørensen, U. B. S., Klaas, I. C., Boes, J., & Farre, M. (2019). The distribution of clones of *Streptococcus agalactiae* (group B streptococci) among herdspersons and dairy cows demonstrates lack of host specificity for some lineages. *Veterinary Microbiology*, 235, 71-79. Doi: 10.1016/j.vetmic.2019.06.008
- Sorge, U. S., Huber-Schlenstedt, R., Schierling, K. (2021). In vitro antimicrobial resistance profiles of *Streptococcus uberis*, *Lactococcus* spp., and *Enterococcus* spp. from quarter milk samples of cows between 2015 and 2019 in Southern Germany. *Journal of Dairy Science*, 104(5), 5998-6012. Doi: 10.3168/jds.2020-19896
- Tian, X. Y., Zheng, N., Han, R. W., Ho, H., Wang, J., Wang, Y. T., Yu, Z. N. (2019). Antimicrobial resistance and virulence genes of *Streptococcus* isolated from dairy cows with mastitis in China. *Microbial Pathogenesis*, 131, 33-39.
- Zalewska, M., Błażejewska, A., Czapko, A., & Popowska, M. (2021). Antibiotics and antibiotic resistance genes in animal manure—consequences of its application in agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 12, 640. Doi: 10.3389/fmicb.2021.610656
- Zhao, Y., Shao, W., Wang, F., Ma, J. (2022). Chen from mastitis milk samples in China. *Journal of Veterinary Research* 66, 581-590. Doi: 10.2478/jvetres-2022-0069