

**KULUÇKA MAKİNALARINDA ÖLEN VEYA KABUK ALTI KALAN KAZ
EMBRİYOLARINDA MİKROBİYOLOJİK ARAŞTIRMALAR**
Microbiologic Investigations on Goose Embryos Died in Hatching-Tray and in Shells

Fuat AYDIN*

Salih OTLU **

Mitat ŞAHİN**

Oktay GENÇ**

Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 1995, 1(1-2): 55-58

ÖZET

Bu araştırma Kars Kazcılık Üretim İstasyonunda kuluçkaya konan ve inkübasyon süresi sonunda yumurtada ölen veya kabuk altı kalan kaz embriyolarından bakteriyel (aerob ve anaerob) ve mikotik etkenlerin saptanması amacıyla yapıldı. Çalışma için 3 kuluçka çıkımı sonunda kuluçkahaneden 280 yumurta toplandı. Yumurtaların 106 tanesi dölsüz 54 tanesi de kokuşmuş olduğu için değerlendirilmeye alınmadı. Araştırma 32'si kabuk altı ölüm, 88'i de kabuktan çıkamadan ölen toplam 120 adet embriyo üzerinde yapıldı. Yapılan mikrobiyolojik çalışmalar sonucunda 64 E.coli (%50.79), 7 Enterobacter sp. (% 5.55), 17 Staphylococcus sp. (% 13.49), 8 Proteus mirabilis (% 6.34), 12 Micrococcus sp. (% 9.52), 5 Enterococcus sp. (% 3.96), 8 B.cereus (% 6.34), 4 Ps.aeruginosa (% 3.17), 1 Citrobacter sp. (% 0.79) olmak üzere toplam 126 bakteri suşu izole ve tanımlanmıştır. Araştırmada tam anaerobik ve mikotik etkenler izole edilemedi. Çalışmada

kuluçkalanmış kaz yumurtalarında dışkı orijinli mikroorganizmalar yüksek oranda izole edilmiştir. Bu sonuç damızlık sürülerin sağlıklı yetiştirilmesi, damızlık yumurtaların hijyen kurallarına göre toplanıp saklanması, dezenfekte edilmesi ve kuluçkahane hijyeninin titizlikle uygulanmasının bakteri ve mantar kontaminasyonunun önlenmesi ve bakteriyel nedenlere bağlı embriyo ölümlerinin azaltılmasında yararlı olacağını göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Kaz embriyosu, bakteriyel ve mikotik etken, izolasyon, tanımlama.

SUMMARY

This study was carried out on the aerobic, anaerobic bacterial and mycological content of the embryos died during incubation periods of 28-30 days in Kars Goose Reproduction Station. A total of 280 goose eggs were used in the study. The 106 of eggs were non-embryonated, 138 of eggs were died in hatching tray and

remaining 36 of eggs were died in shells. A hundred twenty out of 174 embryonated eggs were used in microbiological examination and remaining 54 eggs were putrified and discarded. According to the results of this study, 64 E.coli (%50.79), 7 Enterobacter sp.(%5.55), 17 Staphylococcus sp. (% 13.49), 8 Proteus mirabilis (%6.34), 12 Micrococcus sp. (%9.52), 5 Enterococcus sp. (%3.96), 8 B. cereus (% 6.34), 4 Ps. aeruginosa (% 3.17) and 1 Citrobacter sp. (%0.79) (a total of 126 microorganisms) were isolated and identified. No strict anaerobic bacteria and mycotic agents were isolated in this study. According to the results; we believe it may be useful to breed healthy parent stock, to keep the eggs with hygiene measures and to follow hatchery hygiene measures hardly for the eradication of bacterial contamination.

Key words: Goose embryos, bacterial and mycotic agents, isolation and identification.

GİRİŞ

Kars yöresinde hem etinden hem de tüyünden yararlanılacak şekilde ailesel düzeyde yoğun olarak kaz yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bu yörede halkın kaz palazı ihtiyacını karşılamak amacıyla Kars

Tarım İl Müdürlüğüne bağlı bir Kazcılık Üretim İstasyonu kurulmuştur. Bu istasyonda yılın Nisan ve Haziran ayları arasında kuluçkalan yumurtalardan çıkan kaz palazları halka dağıtılmaktadır.

Tavuk, hindi, ördek ve kaz gibi kanatlı yetiştiriciliğinde kuluçkahane hijyeni verimlilik açısından oldukça önemli bir yer tutmaktadır (2,11). Kuluçkalamanın değişik aşamalarında görülen embriyo ölümleri ve yumurtadan çıkamama üzerine etkilenen birçok olumsuz faktör vardır(2,7,12,14). Genel-

*:Doç.Dr., KAÜ. Vet. Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars

** : Araş.Gör., KAÜ. Vet. Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars

likle yoğun yetiştiriciliği yapılan tavuk, hindi ve ördek türünün kuluçkalarda oluşan embriyonik ölümleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır (3,6,7,8,9,12,15). Kaz yetiştiriciliğinin yapıldığı ülkelerde de konu ile ilgili olarak değişik çalışmalar mevcuttur (5,9). Kuluçkada oluşan embriyo ölümleri polifaktöryel bir durum göstermekte ve bu mikrobik ve mikrobik olmayan faktörler olarak 2 grupta toplanmaktadır. Mikrobik faktörleri bakteriler (*E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *B.cereus*, *Salmonella sp.*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Micrococcus sp. vb.*), virüsler (Newcastle, Lenfoid leucosis, EDS 76 vb.) ve mantarlar (*Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Mucor sp.*, *Candida sp.* gibi) oluşturmaktadır (2,3,12,16).

Embriyonik ölümlere neden olan nonmikrobial faktörler ise ısı, ışık, nem, hayvanların yaşı, beslenme, yumurta kalitesi, kuluçkahane ve yumurta hijyeni gibi etkenlerdir. Bunlar "manejman hataları" olarak da nitelendirilmektedirler (2). Bu çalışma Kars Kazcılık Üretim İstasyonunda kuluçkalandıktan sonra yumurtada ölen veya kabukaltıkalan kaz embriyolarından bakteriyel (aerob ve anaerob) ve mikotik etkenlerin izolasyon ve identifikasyonu amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Yumurtalar: Bu çalışmada Kars Tarım İl Müdürlüğüne bağlı Kars Kazcılık Üretim İstasyonu'ndan sağlanan ölü embriyolu yumurtalar ile kabuğu delememiş ve/veya delmesine rağmen yumurtadan çıkamamış embriyolu Fransız beyaz kaz ırkına ait yumurtalar materyal olarak kullanıldı. Araştırmada Nisan-Haziran 1995 tarihleri arasında kuluçka çıkımı sonunda toplanan 280 yumurta değerlendirildi. Çalışmada Kars Kazcılık Üretim İstasyonunda kuluçkalan yumurtaların çıkım günleri belirlenerek, yumurtalar 28-30 günlük kuluçkalanmış durumda iken temin edildi. Bu yumurtaların yapılan kontrollerinde 106'sının dölsüz, 36' sının kabuk altı ölüm ve 138'inin de embriyonik ölüm olduğu belirlendi. Yumurtaların kuluçkalandığı her partide alınan yumurta sayısı, yumurtaların durumu, dölsüz ve kokuşmuş yumurta sayısı hakkındaki bilgiler Tablo-1'de gösterildi.

Mikrobiyolojik yoklamalar embriyolu toplam 174 yumurtanın 54'ü kokuşmuş olduğu için 120'si üzerinde yapıldı.

Besiyerleri: *Aerobik etkenler için:* Aerob etkenlerin izolasyon ve identifikasyonu amacıyla zenginleştiril-

Tablo-1. Her kuluçka çıkımı sonunda toplam alınan yumurta sayısı, yumurtaların durumu, dölsüz ve kokuşmuş yumurta sayısı.

| | Embriyonik ölüm | Kabukaltı ölüm | Dölsüz yumurta | Toplam |
|--------|----------------------|-------------------|----------------|--------|
| I | 15* 19 --- 4** | 11 14 --- 3 | 45 | 78 |
| II | 3 6 --- 3 | 6 6 --- 0 | 33 | 45 |
| III | 70 113 --- 43 | 15 16 --- 1 | 28 | 157 |
| Toplam | 88 138 --- 50 | 32 36 --- 4 | 106 | 280 |

* : Mikrobiyolojik yoklamaya tabi tutulan yumurta sayısı.

** : Kokuşmuş olduğu için değerlendirilmeyen yumurta sayısı.

miş kanlı agar (% 7 defibrine koyun kanlı Blood Agar Base No 2), Nutrient agar, Nutrient buyyon, serumlu buyyon, EMB agar, Mc Conkey agar, Baird Parker medium, Edward's medium, TSI agar, SIM medium, SS agar, Rappaport Vasiliadis Enrichment Broth kullanıldı (1,2,4).

Anaerobik etkenler için: Bu amaçla zenginleştirilmiş kanlı agar (% 7 defibrine koyun kanlı Blood Agar Base No.2) ve kıymalı buyyon kullanıldı (1,2,4).

Mikotik etkenler için: Mikotik etkenlerin izolasyon ve identifikasyonu için SDA (Saboraud Dextrose Agar, penisilin + streptomisin ilaveli) kullanıldı (1,4).

İzolasyon ve identifikasyon çalışmaları :

1- Aerobik etkenler: Her kuluçka çıkımı sonunda toplanan yumurtalar laboratuvara getirilerek yumurtaların dış muayeneleri (çatlak, kırık, delik, kirli, kabuk yapısı vb.) yapıldıktan sonra etrafı tentürdiyod ile silinerek, steril pens ve makas yardımıyla hava kesesi tarafından açıldı. Yumurtalar açıldıktan sonra embriyoların büyüklüğü, sarı kesesinin durumu, tüylenme, organ ve embriyolarda görülen patolojik bozukluklar değerlendirildi. Yumurtadan çıkamayan veya delmesine karşın içeride kalan embriyolar dışarı alınarak bunların karaciğer ve sarı keselerinden aseptik koşullarda zenginleştirilmiş kanlı agara ekimleri yapıldı. Ekimi yapılan ortamlar 37°C'de 24-48 saat süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda besiyerinde oluşan kolonilerin makroskobik

ve mikroskopik muayeneleri yapıldı. Katı besiyerinde üreyen bu kolonilerden daha sonra hem sıvı hem de amaca yönelik olarak ilgili katı besiyerine geçildi (1,2, 4,7,16).

Daha sonra bu izolatların identifikasyonu için; karbonhidrat fermentasyonu, H₂S, ürease, nitrat reduksiyonu, oksidaz, katalaz, MR, VP, O/F, Clumping faktör, koagülaz, hareket muayenesi, esculin hidrolizi gibi rutin identifikasyonda kullanılan testlerden yararlandı. Testlerde, izole edilen mikroorganizmaların 24-48 saatlik taze saf buyyon kültürlerinden yararlandı (1,2,4,10).

2- Anaerobik etkenler: Embriyoların karaciğerlerinden ve yumurta sarılarından aseptik koşullarda kanlı agara ve kıymalı buyyona ekimleri yapıldı. Ekimi yapılan ortamlar anaerobik olarak (Anaerocult A, Merck 2.5 litrelik jar) 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda, anaerob etkenlerin incelenmesinde aerob etkenler için yapılan izolasyon ve identifikasyon işlemleri uygulandı (1,4).

3- Mikotik etkenler: Embriyoların karaciğer ve sarı keselerinden SDA'a ekimler yapıldı. ekim yapılan ortamlar 22°C'de 7-10 gün süreyle nemli olarak inkübe edildi (1,4).

BULGULAR

Kars Kazcılık Üretme İstasyonunda Nisan-Haziran 1995 tarihleri arasında 3 kuluçka çıkımı sonunda alınan toplam 280 yumurtanın yapılan muayenelerinde 138'inin embriyonik ölüm, 36'sının kabuk altı ölüm ve 106'sının da dölsüz olduğu belirlenmiştir. Baktériyolojik ve mikolojik yoklamaya tabi tutulan 120 adet embriyolu yumurtadan (88'i embriyonik ölüm, 32'si ise kabuk altı ölüm) izole ve identifiye edilen etkenler Tablo-2'de gösterilmiştir.

Birinci kuluçka çıkımı sonunda alınan yumurtaların ekimi yapılan 26'sından 10 E.coli (% 41.66), 2 Enterobacter sp. (%8.33), 2 Proteus mirabilis (% 8.33), 2 Micrococcus sp. (%8.33), 4 Staphylococcus sp. (%16.66), 1 Enterococcus sp. (%4.16), 2 Bacillus cereus (%8.33), 1 Ps. aeruginosa (%4.16) olmak üzere toplam 24 bakteri suşu izole edilmiştir. İki embriyodan izolasyon yapılamamıştır.

İkinci kuluçka çıkımı sonucu alınan 12 adet yumurtanın ekimi yapılan 9'undan 6 E.coli (% 66.66), 2 Staph. aureus (%22.22), 1 Bacillus cereus (%

11.11) olmak üzere toplam 9 mikroorganizma izolasyonu yapılmıştır.

Tablo-2. Her kuluçka çıkımında alınan ve mikrobiyolojik yoklamaya tabi tutulan embriyolu yumurta sayısı, izole edilen mikroorganizmaların sayıları ve türleri.

| Etken adı | I | II | III | Toplam(%) |
|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------|
| | (26 Emb. yumurta) | (12 Emb. yumurta) | (85 Emb. yumurta) | |
| E.coli (%50.79) | 10 | 6 | 48 | 64 |
| Enterobacter sp. | 2 | - | 5 | 7 (%5.55) |
| Proteus mirabilis | 2 | - | 6 | 8 (%6.34) |
| Micrococcus sp. | 2 | - | 10 | 12 (%9.52) |
| Staphylococcus sp. | 4 | 2 | 11 | 17(%13.49) |
| Enterococcus sp. | 1 | - | 4 | 5 (%3.96) |
| Bacillus cereus | 2 | 1 | 5 | 8 (%6.34) |
| Ps.aeruginosa | 1 | - | 3 | 4 (%3.17) |
| Citrobacter sp. | - | - | 1 | 1 (%0.79) |
| | 24 | 9 | 93 | 26 (%100) |

Üçüncü kuluçka çıkımından alınan 157 yumurtanın mikrobiyolojik yoklaması yapılan 85'inden 48 E.coli (%51.61), 5 Enterobacter sp. (% 5.55), 6 Proteus mirabilis (%6.45), 10 Micrococcus sp. (% 10.75), 11 Staphylococcus sp. (%11.82), 4 Enterococcus sp. (%4.30), 5 Bacillus cereus (% 5.55), 3 Ps. aeruginosa (% 3.22), ve 1 Citrobacter sp. (%1.07) olmak üzere toplam 93 mikroorganizma izole edilmiştir. Bu partide E.coli + Micrococcus sp., E.coli + Enterococcus sp., E.coli + Staphylococcus sp. şeklinde miks izolasyonlar yapılmıştır.

Araştırmada tam anaerob ve mikotik etken izolasyonu yapılamamıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Kars Kazcılık Üretme İstasyonunda kuluçkalanan ve 28-30 günlük inkübasyondan sonra toplanan (3 kuluçka çıkımı) ölü veya yumurtadan çıkamayan kaz embriyolarından aerob, anaerobik bakteriyel ve mikotik etkenler araştırıldı. Araştırmada üç kuluçka çıkımı sonunda elde edilen toplam 280 yumurta değerlendirildi. Bunlardan 106'sı dölsüz -54'ü kokuşmuş olduğu için mikrobiyolojik yoklama yapılmadı. Mikrobiyolojik yönden incelenen 88'i embriyonik ölüm, 32'si kabuk altı ölüm olmak üzere toplam 120 kaz embriyosundan 126 aerob mikroorganizmanın izolasyonu yapıldı. Çalışmada 64 E.coli (%50.79), 7 Enterobacter sp. (%5.55), 8 Proteus mirabilis (%6.34), 12 Micrococcus sp. (% 9.52), 17 Staphylococcus sp. (%13.49), 5 Entero-

coccus sp. (%3.96), 8 *B.cereus* (%6.34), 4 *Ps. aeruginosa* (%3.17) ve 1 *Citrobacter* sp. (%0.79) izole ve identifiye edildi. Kuluçkalanmış kaz yumurtalarındaki embriyonik ölümlerle ilgili olarak yapılan çalışmalar genellikle sınırlı olup kaz yetiştiriciliğinin yapıldığı ülkelerde olduğu görülmektedir. Nitekim Cubillos ve ark. (5) inkübasyona bırakılan ve yapılan kontroller sonucu inkübasyonun değişik dönemlerinde kuluçkadan çıkarılan 115 kaz yumurtasının bakteriyolojik yoklamasında yumurtaların % 35.65'inden bakteriyel etkenler izole edildiğini ve bu etkenlerin başında *E.coli* (%46.34), *Staphylococcus* (%31.70) ve *Alcaligenes*'in (%19.51) bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar izole ve identifiye edilen bakterilerin % 54.75'inin gram negatif basil, % 11.73'ünün gram pozitif basil ve %33.50'sinin gram pozitif kok olduğunu belirtmişlerdir. Yine Glünder ve Hinz (9) 26 döllü kaz yumurtasının bakteriyolojik yoklamasında 3 *E.coli*, 1 *Aeromonas hydrophila*, 1 *Aeromonas hydrophila* ve *E.coli*, 1 *Moraxella anatipestifer* ve *Lactobacillus* sp., 6 *Moraxella anatipestifer* izole etmişlerdir. Gajdzis (8) 600 ölü kaz embriyosunun mikrobiyolojik yoklamasında *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* ve *Aspergillus fumigatus* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada 120 adet kaz embriyosunun 118'inden (%98.33) aerob bakteriyel etkenler ayrılmıştır. Araştırmamızda izole ve identifiye edilen mikroorganizmaların büyük çoğunluğunun dışkı orijinli olduğu, izole edilen mikroorganizma türleri ve izolasyon oranlarının tavuk, hindi ve ördek türlerinde embriyonik ölümlerden sıklıkla izole edilen mikroorganizmalar ile büyük oranda benzer olduğu görülmektedir. Dışkı ve toprak ile bulaşık yumurtaların kuluçkaya konduğunda, dışkı ve toprakta bulunan mikroorganizmaların inkübasyonda yumurta kabuğundan içeriye penetre olmasıyla embriyoyu infekte ettiği ve embriyonik ölümlere neden olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (6,13,16). Nitekim, Uysal (16) sağlık koşulları düzgün çiftliklere ait materyaller üzerinde yaptığı bir çalışmada az miktarda etken izole ettiğini bildirmiştir. Enterobakterilerin yanında gram pozitif bakterilerden olan *Stafilokok*'ların da bu tarzda infeksiyona neden olduğu saptanmıştır (2,7). Yine tel kafeste yetiştirilen tavukların yumurtalarının, yerde yetiştirilen tavukların yumurtalarına oranla daha az mikroorganizma ihtiva ettiği ve kuluçkalandıktan sonra embriyonik ölümlerin daha az olduğu bildirilmiştir (2,7,12).

Sonuç olarak, kaz yumurtalarında görülen embriyonik ölümlerde enterobakterilerin yüksek oranda izole edilmesi embriyonik ölümlerde mikrobik neden-

ler ile yumurta ve kuluçkahane hijyeninin önemli olduğunu göstermektedir. Bunun yanında kaz yumurtalarında embriyonik ölümlere neden olan diğer ısı, ışık, nem, beslenme gibi faktörlerin araştırılmasının da yararlı olacağı kanısındayız.

LİTERATÜR

- 1- Arda, M.: Genel Bakteriyoloji. A.Ü. Vet. Fak. Yayını. No: 402 Ankara. 1985.
- 2- Arda, M., Minbay, A., Akay, Ö., Aydın, N., İzgür, M.: Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayınevi. 1994, Ankara
- 3- Bruce, J., Drysdak, E.M.: The Bacteriol Flora of Cantling- Reject and Dead-in- Shell Turkey Eggs. Br. Poult. Sci., 24: 391-395, 1983.
- 4- Carter, G. R., Chenggapa, M.M.: Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology. 4th Ed. Lea and Febiger, 1991.
- 5- Cubillos, A., Monset, L., Montecinos, M.I., Alvarez, C.: Discard Causes for Incubated Geese Eggs. I. Contaminant Bacterial Flora. Zbl. Vet. Med. B, 28: 111- 117, 1981.
- 6- El-Gharib, I., Eldun, A.M.W.K., Bastami, M.A., Wahba, S., Safwat, E.E.A., Hatem, E.: Incidence of Isolation of Microorganisms Leading to Embryonic Mortalities and Reducing Hatchability of Duck Eggs. Vet. Med. J. Giza. 41 (3): 63-65, 1993.
- 7- Erdem, B.: Kuluçkalanmış Yumurtalarda Ölen ve Kabuk Altı Kalan Embriyolardan Aerobik Bakteri İzolasyonu. A. Ü. Sağlık Bil. Enst., Yüksek Lisans Tezi. Ankara, 1991.
- 8- Gajdzis, K.: Prevalance of Disease of the Genital Organs of Duck and Geese in Large Flocks and Analysis of the Effects on Reproduction. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Weterynaria. 42 (157): 7-27 Abst: No. 4511. Vet.Bull. Vol.57.
- 9- Glünder, G., Hinz, K.H.: Isolation of *Moraxella anatipestifer* from Embryonated Goose Eggs. Avian Pathol., 18 (2): 351-355, 1989.
- 10- Lassen, T.: Rapid Identification of Gram Negatif Rods Using a Three-Tube Methods Combined with Dichotomic Key. Acta. Path. Microbiol. Scand. Sect. B., 83: 525-533, 1975.
- 11- Orajaca, L.J.E., Mohan, K.: Aerobic Bacteriel Flora from Dead-in-Shell Chicken Embryos from Nigeria. Avian Dis., 29: 585-589, 1985.
- 12- Quarles, C.E., Gentry, R.F., Breesler, G.O.: Bacterial Contamination in Poultry House and its Relationship to Egg Hatchability. Poult. Sci., 49: 60-66, 1970.
- 13- Reid, W.M., Moag, T.A., Boyd, F.M., Klenckner, A.L., Schmittle, S.C.: Embryo and Baby Chick Mortality and Morbidity Induced by Strain of *Escherichia coli*. Poult. Sci., 40: 1497-1502, 1961.
- 14- Sadek, A., Hassanein, K.M., Abdel Fattah, A.M., Soliman, A.M.: Bacterial Agents Affecting the Hatchability Rate of Turkey Embryos. Assiut Vet. Med. J. 25 (50): 56-63. Abst. No:1098 Vet.Bull., Vol.62, 1991.
- 15- Seviour, E.M., Sykes, F.R., Board, R.G.: A Microbiological Survey of the Incubated Eggs of Chickens and Water-Fowl. Br. Poult. Sci., 13: 549-556, 1972.
- 16- Uysal, Y.: Kuluçka Makinalarında Ölen veya Çıkamayan Tavuk Embriyolarında Mikrobiyolojik Araştırmalar. Pendik Vet. Mikrobiol. Enst. Derg., 15 (1-2): 52-55, 1972.