

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI**

**AYDIN İLİNDE BULUNAN YUMURTACI TAVUKLARDA
İNDİKATÖR BAKTERİLERİN İDENTİFİKASYONU VE
ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

GÖKHAN EGE

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Osman KAYA**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-15007 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Gökhan EGE tarafından hazırlanan “**Aydın İlinde Bulunan Yumurtacı Tavuklarda İndikatör Bakterilerin İdentifikasyonu ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi**” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18/01/2016

Üye(Tez Danışmanı): Prof.Dr. Osman KAYA

ADÜ



Üye : Prof.Dr. Şükrü KIRKAN

ADÜ



Üye : Prof.Dr. Ergün Ömer GÖKSOY

ADÜ



Üye : Prof.Dr. Hasan Hüseyin HADİMLİ

SÜ



Üye : Prof.Dr. Ahmet ÜNVER

ÇOMÜ



ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora tez konusunun seçimi ve çalışmaların yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen, tez danışmanım Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Osman KAYA' ya ve çalışmalarımda desteklerini gördüğüm Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Şükrü KIRKAN, Yrd. Doç. Dr. Uğur PARIN'a, tüm Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve Araştırma Görevlilerine, İncir Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü' nde beraber görev yaptığım mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. İndikatör Bakteriler	2
2.1.1. Genel Mikrobiyal İndikatörler	2
2.1.2. Fekal İndikatörler	2
2.1.3. İndeks ve Model Organizmalar	2
2.2. <i>Escherichia coli</i>	3
2.3. <i>Enterococcus spp</i>	9
2.4. Antibiyotiklere Keşfi, Antibiyotiklere Dirençli Suşların Gelişmesi ve Antibiyotikleri Yasaklanması	12
2.4.1. Biyokimyasal Faktörler	16
2.4.1.1. Antibiyotiklerin İnaktivasyonu	16
2.4.1.2. Hedef Bölgenin Modifikasyonu	17
2.4.1.3. Effluks Pompaları ve Dış Membran Geçirgenliğindeki Değişim Sonucu Direnç Gelişmesi.....	18
2.4.1.4. Alternatif Bir Metabolik Yolun Kullanılması	18
2.4.2. Genetik Faktörler.....	18
2.4.2.1. Mutasyonlar.....	18
2.4.2.2. Horizontal Gen Transferi	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Gereç	21
3.1.1. Besiyerleri	21
3.1.1.1. Enterococcel Agar	21

3.1.1.2. % 5 Koyun Kanlı Agar.....	22
3.1.1.3. EMB Agar	22
3.1.1.4. Muller-Hinton Agar.....	23
3.1.2. Biyokimyasal Testler.....	23
3.1.2.1. PYR Testi	23
3.1.2.2. Mannitol Fermentasyonu.....	23
3.1.2.3. Sorbitol Fermentasyonu	23
3.1.2.4. L-Arabinoz Fermentasyonu.....	23
3.1.2.5. IMViC Testi	23
3.1.3. Boyalar	24
3.1.4. Antibiyotik Diskleri.....	24
3.2. Yöntem	24
3.2.1. Örneklerin Alınması ve Kültürü.....	24
3.2.2. IMViC Testi	25
3.2.2.1. İndol Testi	25
3.2.2.2. Metil Red-Voges Proskauer Testi	25
3.2.2.3. Sitrat Testi	25
3.2.3. Katalaz Testi.....	25
3.2.4. PYR Testi	26
3.2.5. Mannitol Testi	26
3.2.6. Sorbitol Testi.....	26
3.2.7. L-Arabinoz Testi	26
3.2.8. Antibiyogram	26
4. BULGULAR	28
4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları.....	28
4.2. Antibiyogram Bulguları	28
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	33
KAYNAKLAR.....	34
ÖZGEÇMİŞ	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

A/E	Bağlanma ve yıkımlama (attaching and effacing)
APEC	Avian patojenik <i>E. coli</i>
cAMP	Siklik adenzin monofosfat
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
CFU	Koloni forming unit
Col V	Kolisin V geni
EAEC	Enteroaggrative <i>E. coli</i>
EMB	Eozin metilen blue
EHEC	Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EIEC	Enteroinvasiv <i>E. coli</i>
EPEC	Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ETEC	Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
ExPEC	Ekstrapatojenik <i>E. coli</i>
IPEC	Intestinal patojenik <i>E. coli</i>
LB	Labil toksin
MR	Metil Red
NMEC	Yeni doğarlarda menenjite neden olan <i>E. coli</i>
PBP	Penisilin-bağlayıcı protein
PYR	Pyrolidonly-Beta Naphilamide
SePEC	Septisemiye neden olan <i>E. coli</i>
SPF	Specific Pathogen Free
ST	Stabil toksin
STEC	Shiga toksijenik <i>E. coli</i>
TSH	Isıya Duyarlı Hemaglutinasyon (Temperature Sensitive Agglutination)
UPEC	Üropatojenik <i>E. coli</i>
VP	Voges Proskauer
VTEC	Verotoksijenik <i>E. coli</i>

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>E. coli</i> grup ve patotiplerinin şematik sunumu.....	6
Şekil 2. Antibiyotiklerin Keşfi.....	12
Şekil 3. Kazanılmış Antibiyotik Direnci	16

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. <i>Enterococcus</i> spp. fermentasyon özellikleri	11
Tablo 2. Yıllara Göre Antibiyotiklerin Büyütme Faktörü Olarak Kullanımının Yasaklanması	14
Tablo 3. Örneklerde bulunan toplam bakteri sayıları.....	28
Tablo 4. Elde edilen izolatların antibiyotik duyarlılık oranları	29

ÖZET

AYDIN İLİNDE BULUNAN YUMURTACI TAVUKLARDA İNDİKATÖR BAKTERİLERİN İDENTİFİKASYONU VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Ege G. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Aydın, 2016

Dünya kanatlı endüstrisinde *Escherichia coli* ve *Enterococcus* spp. enfeksiyonları sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Antibiyotikler yasaklanmadan önce büyümeyi destekleyici yem katkı maddeleri olarak kanatlı endüstrisinde kullanılmaktaydılar. Fakat gelişen antibiyotik direnci ve artan kamuoyu baskısına bağlı olarak yemlerde kullanılmaları yasaklanmıştır. Araştırmamız ile birlikte Türkiye’de kanatlı patojenik *Escherichia coli* (APEC) ve *Enterococcus* sp. suşlarının antibiyotik dirençlilik durumlarının ortaya konulması hedeflenmiştir. Böylece olası vakalarda etkin antibiyotiklerin seçimi zaman kaybetmeden tedavinin gerçekleştirilmesi açısından faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu tez kapsamında *E. coli*, *E. faecium*, *E. fecalis*’ in izolasyonunun yapılması ve Penisilin-novobiosin, Tetrasiklin, Enrofloksasin, Trimethoprim-sulfamethoksazol, Florfenikol, Amoksisilin-klavulanik asit, Gentamisin ve Kanamisin’e karşı antibiyotik dirençlilik düzeylerinin saptanması amaçlanmıştır. Bu araştırmada Aydın ilindeki yumurtacı tavuk kümeslerinden toplanan 200 adet kloakal svap örneğinin 21 (% 10)’ından *E. fecalis*, 24 (% 12)’ünden *E. faecium*, ve 40 (% 20)’inden *E. coli* izolasyon ve identifikasyonu biyokimyasal ve karbonhidrat fermentasyontestlerine göre gerçekleştirilmiştir. Antibiyogram sonuçlarına göre *E. fecalis*’in tetrasiklin ve kanamisin’e, *E. faecium*’un kanamisin’e, *E. coli*’nin ise penisiline novobiosin’e yüksek oranda dirençli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, penisilin novobiosin, amoksisilin-klavulanik asit ve gentamisin’e *E. fecalis*’in, penisilin novobiosin ve amoksisilin-klavulanik asit’e *E. faecium*’un, florfenikol ve gentamisin’e karşı *E. coli* izolatlarının tamamının duyarlı oldukları sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, *E. faecium*, *E. fecalis*, bakteri izolasyonu, antibiyotik direnci

ABSTRACT

THE IDENTIFICATION OF INDICATOR BACTERIA AND DETERMINATION OF THEIR ANTIBIOTIC SENSITIVITY IN LAYING HENS IN AYDIN PROVINCE

Ege G. Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Department of Microbiology, PhD Thesis, Aydın, 2016.

Poultry frequently encountered to *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. infections all around the world. Before the recent prohibition of on the antibiotic, feed additives as a growth promoter have been widely used in poultry industry. However, the development of antibiotic resistance problem and the public concern have lead to a complete prohibition on the dietary. It is necessary to well define the current status of antibiotic resistant concerning the isolates of *Escherichia coli* (APEC) and *Enterococcus* spp. Thus, it would be beneficial to determinate the efficient therapeutic antibiotic so as to cure the disease induced by infection. The scope of this study is the isolation of *E. coli*, *E. faecium*, *E. faecalis* and identification of the potential antibiotic resistance against Penicillin-novobiocin, Tetracycline, Enrofloxacin, Trimethoprim-sulfamethoxazol, Florfenicol, Amoxicillin Clavulanic acid, Gentamicin and Kanamycin are the scope of this study. In this study, 21 (10 %) *E. faecalis*, 24 (12 %) *E. faecium* and 40 (20 %) *E. coli* isolation and identification were made from a total of 200 cloacal samples which were collected from hen laying poultry houses, upon biochemical properties and carbohydrate fermentation tests. According to antibiogram test results it was revealed that, *E. faecalis* was highly resistant to tetracyclin and kanamycin, *E. faecium* was was highly resistant to kanamycin and *E. coli* was was highly resistant to penicilin novobiocin. Besides, it was revealed that *E. faecalis* was totally susceptible to penicilin novobiocin, amoxycillin clavulanic acid and gentamicin, *E. faecium* was totally susceptible to penicilin novobiocin and amoxycillin clavulanic acid, *E. coli* isolates were totally susceptible to florfenicol and gentamicin.

Key Words: *E. coli*, *E. faecium*, *E. faecalis*, bacteria isolation, antibiotic resistance

1.GİRİŞ

Patojen mikroorganizmaların tespitinin zor ve pahalı olması enterik kökenli bakterilerin indikatör olarak kullanılmasına neden olmuştur (Crane, 1980). İndikatör bakterilerden olan *Escherichia coli* ve *Enterococcus* spp. her hayvanda bulunabilen kommensal bakterilerdir. Bu bakterilerin antibiyotiklere dirençte rol alan genlere sahip oldukları ve hayvanlar ile insanlarda hastalıklara neden olabilecek patojenik bakterilere bu genleri aktarabilecekleri düşünülmektedir (Anonim 4). Hayvanlardan insanlara antibiyotik dirençliliğinin aktarılabilirliğini ilk kez Swann ve ark (1969) bildirmiştir. Antibiyotiklerin bilinçsizce kullanılmasına bağlı olarak dirençliliğin geliştiği düşünülmektedir (Usui ve ark, 2014). Bakterilerin antibiyotiklere dirençliliği biyokimyasal veya genetik yolla kazandığı düşünülmektedir (Çiftçi ve Aksoy, 2015). Antibiyotiklere karşı bakterilerce direnç gelişmesi hem veteriner hekimlikte hem de beşeri hekimlikte hastalıkların tedavisinde bir sorun haline gelmiştir.

Geçmişten günümüze kanatlılarda *E. coli* ve *Enterococcus* spp. enfeksiyonları ve antibiyotik dirençliliği ile çalışmalar yürütülmüştür. Usui ve ark (2014), yürütmüş oldukları bir çalışmada *E. coli*, *E. fecalis* ve *E. faecium*'un farklı antibiyotiklere olan dirençliliklerini belirlemeye çalışmışlardır. Araştırmacılar *E. coli* izolatlarının çalışmada kullanılan 10 antibiyotikten 8'ine, *E. fecalis*'in 10 antibiyotikten 8'ine, *E. faecium*'un ise 10 antibiyotikten 9'una dirençli olduklarını bildirmişlerdir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İndikatör Bakteriler

Patojenik mikroorganizmalar insanlarda ve hayvanlarda hastalıklara neden olabilmektedirler. Çok sayıda patojen bakterinin bulunması ve bunların düzensiz olarak saçılmalarından dolayı direkt tespit edilmeleri zordur (Anonim 5). Bu amaçla indikatör bakteriler patojenlerin varlığını veya yokluğunu ortaya koyabilmek için kullanılmaktadırlar. Hayvanların bağırsak florasının doğal konakçısı olan indikatör bakteriler antibiyotiklere dirençlilik genlerinin zoonotik patojenlere aktarılmasına neden olabileceklerinden dolayı da önem arz etmektedirler (Caprioli ve ark, 2000). Ayrıca indikatör organizmalar analiz maliyetlerini ve karşılaşılabilecek karmaşıklıkları azaltmaktadırlar (Anonim 2). İndikatör mikroorganizmalar 3'e ayrılırlar.

2.1.1. Genel Mikrobiyal İndikatörler

Bir işlemin etkinliğini göstermek için kullanılan bir grup organizmayı ifade ederler. Bu amaçla toplam koliform sayısı genel mikrobiyal indikatör olarak kullanılmaktadır.

2.1.2. Fekal İndikatörler

Fekal kontaminasyon varlığını ortaya koyabilmek için kullanılan mikroorganizmalardır. Örneğin *E. coli*'nin fekal indikatör olarak kullanılmasıdır.

2.1.3. İndeks ve Model Organizmalar

Patojenlerin varlığını ortaya koyabilmek için kullanılan bir grup ya da türleri ifade etmektedirler. Salmonella etkenleri için *E. coli*, insanlardaki enterik virüsler için ise F-RNA kolifajları indeks organizmalar olarak kullanılmaktadırlar (Anonim 5).

Sıklıkla kullanılan indikatör bakterilerden total koliformlar, fekal koliformlar, *E. coli* ve *Enterococcus* sp. sıcak kanlı hayvanlar, vahşi ortamda yaşayan hayvanlar, evcil hayvanlar, çiftlik hayvanları ve insanların normal bağırsak florası ve dışkılarında yaygın olarak bulunmaktadırlar (Anonim 5).

İndikatör bakterilerin seçilmelerinde belli başlı kriterler kullanılmaktadır. Bunlar:

1. Sıcakkanlı hayvanların normal bağırsak florasında bulunabilmelidirler.
2. Patojenlerin varlığında bulunabilmelidirler.
3. Patojenlerden daha fazla sayıda bulunmalıdırlar.
4. Patojen mikroorganizmaların çevresel faktörlere olan direncine benzerlik göstermelidirler.
5. Organizma dışında ürememelidirler.
6. Kolay, hızlı ve ucuz metotlar kullanılarak tespit edilebilmelidirler.
7. İndikatör mikroorganizmalar patojenik olmamalıdırlar (Bitton, 2005).

Koliform sözcüğü ilk kez 1880 yılında çomak şeklindeki bakterileri tanımlamak için kullanılmıştır. Koliform bakteriler *Enterobacteriaceae* familyasının bir üyesidir. Bu gruptaki bakteriler *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Citrobacter*'dir. *Enterobacteriaceae* familyasındaki *Salmonella* ve *Shigella* gibi etkenler ise koliform olarak kabul edilmemektedirler (Stevens ve ark, 2003). Koliformlar laktoz fermentasyonu sonucu gaz üretebilmektedirler. Sıcakkanlı hayvanların intestinal sisteminde yaşayan koliform bakteriler genellikle patojenik olmasalar da ortamda bulunmaları fekal kontaminasyonun bir göstergesidir. Halk sağlığı kuruluşları 1920 yılından beri total ve fekal koliformları indikatör bakteri olarak kullanmaktadırlar (Ohrel ve Register, 2006).

E. coli fekal koliformlar içinde yer alan ve indikatör bakteri olarak kullanılan bir türdür. *Enterococcus* spp. de bir diğer indikatör bakteri olup fekal streptokokların bir alt grubudur. Bağırsaktan sıklıkla izole edilebilen Enterokoklar, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans* ve *Enterococcus hirae*'dir (Stevens ve ark, 2003).

2.2. *Escherichia coli*

E. coli, kümes hayvanları, domuzlar, ruminantlar, köpekler, kediler, atlar ve tavşanlar gibi çeşitli evcil hayvan türlerinde enterit ve septisemiye yol açan en önemli patojenlerden biridir. Kanatlılarda lokal ya da sistemik enfeksiyonlara neden olan *E. coli*'yi ilk kez Alman pediyatrist Theodor Escherich izole etmiş ve onu onurlandırmak için *Escherichia* ismi verilmiştir (Songer ve Post, 2015). Kanatlı patojenik *E. coli* (APEC) koliseptesemi, koligranuloma (Hjarre's disease), hava kesesi hastalığı (air sacculitis), koliform selülitis, şişkin baş sendromu, koliform peritonitis, koliform salpingitis, koliform osteomyelit/sinovitis, koliform panoftalmitis ve koliform omfalitis/sarı kese yangısına (yolk sac infection) neden olduğu bilinmektedir (Barnes ve ark, 2003). Bakteriyel kökenli kanatlı hastalıklar arasında kolibasillozun yaygın bir şekilde gözlenen

hastalıklardan birisi olduğu bilinmektedir (Barnes ve ark, 2008). Bindokuzyüzdoksan yıllarında Avrupa'daki yumurtacı tavuk çiftliklerinde septisemiye bağlı ölümler sıklıkla görülen vakalardan olmuştur. (Vandekerchove ve ark, 2004). Ayrıca, 1997-2000 yılları arasında Belçika'da yumurtacı ve etlik piliçlerde APEC'e bağlı şekillenen enfeksiyonlarının sırasıyla % 17.7, % 38.6 oranında olduğu ve antibiyotiklere dirençliliğin de yüksek olduğu saptanmıştır (Barnes ve ark, 2008).

Enterobacteriaceae familyasının bir üyesi olan *E. coli*, gram negatif, 1.1-1.5 x 2.0-6.0 µm boyutlarında, çomak şeklinde olup *Escherichia* genusunun önemli bir üyesidir. *E. coli* fakültatif anaerobik özellikte, peritrik flagellaya sahip hareketli bir bakteridir (İzgür, 2006). Besi yerinde 37°C'de 24 saat inkubasyonun ardından konveks, smooth ve renksiz koloniler oluşturmaktadır. *E. coli* kolonileri MacConkey agarda etrafı çökeltiyle çevrili parlak pembe, eosin-methylene blue (EMB) agarda koyu yeşil-siyah metalik parlak ve tergitol-7 agarda sarı renktedir. Rough koloniler düzensiz kenarlı daha büyük iken, mukoid koloniler kabarık, ıslak, yapışkan özelliktedir. Kanlı agarda hemoliz APEC için sıklıkla görülen karakteristik bir özellik değildir. *E. coli*, glukoz, maltoz, mannitol, ksiloz, gliserol, ramnoz, sorbitol ve arabinozu asit ve gaz oluşturarak fermente eder. MacConkey agarda sorbitol yerine laktoz ilavesi *E. coli* O157:H7'yi diğer *E. coli* türlerinden ayırt etmede yardımcı olmaktadır. Sükroz, salisin, rafinoz ve dulsitolün fermentasyonu ise değişkendir (Barnes ve ark, 2008). İndol ve metil red testleri pozitifken üre, H₂S ve Voges Proskauer testleri genellikle negatiftir. *E. coli* nitrati nitrite indirgeme özelliğine de sahiptir (İzgür, 2006).

E. coli kanatlı hayvanların intestinal florasının doğal konakçısı olsalar da sadece bazı APEC suşları hastalık oluşturma yeteneğine sahiptir. APEC'in neden olduğu çoğu hastalığın çevresel koşullar ve konağa bağlı şekillenen sekonder enfeksiyonlar oldukları bilinmektedir. Bu faktörler elimine edildiği takdirde kolibasillozun kümes hayvanlarında neden olabileceği ekonomik kayıpların büyük oranda azaltılabileceği düşünülmektedir (Dho-Moulin ve Fairbrother, 1999).

Kanatlıların bağırsak içeriğinde 10⁴-10⁷ kob/q *E. coli* bulunmaktadır. Üst solunum yollarına kolonize olabilen *E. coli* deri ve tüylerden de izole edilebilmektedir. Yumurtadan çıkımdan sadece birkaç saat içinde enfeksiyon gelişebilmektedir. APEC suşları tavuk, hindi, ördek ve diğer kanatlıların ekstraintestinal dokularında enfeksiyona neden olabilmektedirler (Dho-Moulin ve Fairbrother, 1999). Dışkı ile kontamine olmuş kümes tozu 10⁶ kob/q *E. coli* ihtiva etmekte ve inhalasyon yoluyla tavuklar tarafından alınarak enfeksiyona neden olabilmektedir (Harry, 1964).

Yumurtacı piliçlerin oophoritis ve salpingitis olgularında *E. coli* yumurtayı kabuk oluşumundan önce enfekte edebilmektedir. Yumurta kabuğunun kontaminasyonu ise kloakadan geçiş esnasında dışkı ile direkt temas sonucu olmaktadır. Ayrıca APEC yumurtadan çıkmadan önce civcivlerin sarı kesesi enfeksiyonuna ve embriyo ölümlerine de neden olabilmektedir. Salpingitis teşhisi koyulan yumurtacı tavuklarda yumurta peritonitisi görülebilmektedir (Barnes ve ark, 2003).

Şişkin baş sendromu etlik piliç yetiştiriciliğinde karşılaşılan kranial ve periorbital ödemlerle karakterize bir sorun olsa da yumurtacı piliçlerde yumurta veriminde % 2-3'lük verim kayıplarına neden olduğu bilinmektedir (Morley ve Thomson, 1984)

Daha çok etlik piliç yetiştiriciliğinde karşılaşılan bir problem olan septisemi poliserositis ile karakterizedir. Koligranulom ise karaciğer, seka, duodenum ve mezenteriyumda granülomlarla ilişkilidir (Barnes ve ark, 2003).

E. coli'nin serolojik sınıflandırılmasında lipopolisakkaritteki O antijeni ile flagelladaki H antijeni esas alınmaktadır. O antijeni serogrubu, H antijeni ise serotipi belirtmektedir. Ayrıca sınıflandırma için kapsüler antijen (K) de kullanılmaktadır (Songer ve Post, 2015).

Somatik O antijenleri lipopolisakkarit yapıda, ısıya dirençli yüzey antijenleridir (İzgür, 2006). Endotoksin olarak bilinen somatik O antijenleri hücre duvarında bulunurlar (Barnes ve ark, 2008). *E. coli*'lerin serogrublendirilmesinde önem taşımakla birlikte aglütinasyon testi ile ortaya konulabilirler (İzgür, 2006).

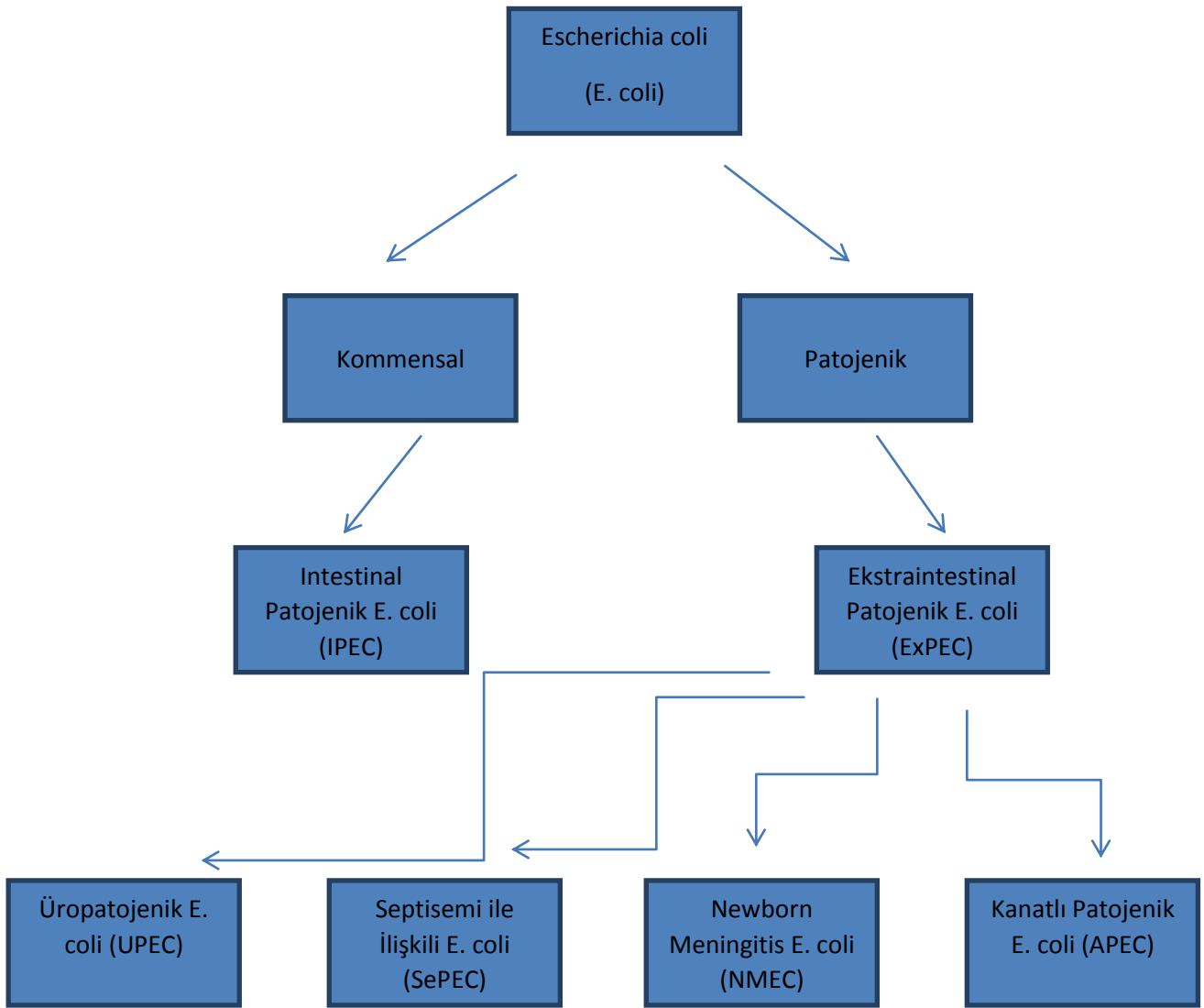
Flagellar H antijeni flagellanın yapısında bulunan farklı tipteki flagellin proteine göre çeşitlilik göstermektedir (Barnes ve ark, 2008). Isıya dayanıksız olan H antijeni aglütinasyon testi ile ortaya konulabilmektedir (İzgür, 2006).

Kapsüler K antijeni polimerik asit yapısındadır. Hücre yüzeyindedirler ve O antijeninin aglütinasyonuna engel olurlar. Isıya duyarlılıklarına göre L, A ve B alt sınıflarına ayrılırlar (Barnes ve ark, 2008).

Fimbrial (Pilus) antijenleri önceden K antijenlerinin L alt sınıfı olarak adlandırılırken yapılan çalışmalar sonucu *E. coli*'nin fimbrialarında yer aldıkları sonucuna varılmıştır (İzgür, 2006). Bakterinin bağırsak epitel hücrelerine azhezyonunda rol alan pilus mannoz duyarlı ve mannoz dirençli olmak üzere ikiye ayrılır (Barnes ve ark, 2008).

Kanatlıların kolibasillozis enfeksiyonlarında genellikle O antijeninin O1, O2, O8, O15, O18, O35, O78, O88, O109 ve O115 serogrubları izole edilmiştir. O1, O2 ve O78 ise sıklıkla izole edilen serogrublardır (Dho-Moulin ve Fairbrother, 1999).

Patojenik *E. coli* türleri enfeksiyon tipine göre intestinal ve ekstraintestinal *E. coli* patotipleri olarak ayrılmaktadır. Diyareye neden olan intestinal patojenik *E. coli* (IPEC)'ler enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroinvazif *E. coli* (EIEC) ve enteroaggregatif *E. coli* (EAEC) olarak sınıflandırılmaktadırlar. Ekstraintestinal patojenik *E. coli* türleri ise kendi içine üropatojenik *E. coli* (UPEC), sepsisemiye neden olan *E. coli* (SePEC), yeni doğanlarda menenjitte neden olan *E. coli* (NMEC) ve kanatlı patojenik *E. coli* (APEC) olarak ayrılırlar (Köhler ve Dobrindt, 2011).



Şekil 1: *E. coli* grup ve patotiplerinin şematik sunumu (Antão, 2010).

Çoğu APEC enfeksiyonu ekstraintestinal kökenli olsalar da, bazı APEC suşlarının ETEC, EPEC, EHEC ve EIEC' ile benzeşen özellikleri bulunmaktadır (Barnes ve ark, 2008).

Sindirim yoluyla alınan ETEC suşları fimbria ya da diğer adezinler aracılığıyla jejunumun distali ve ileumun proximaline kolonize olmaktadır. Bazı ETEC suşları villuslarda atrofiye neden olabilmekte ve olgular bakteriyemi ile sonuçlanabilmektedir (DebRoy ve Maddox, 2001). ETEC tarafından üretilen toksinlerin 2 fraksiyonu bulunmaktadır. Bunlar stabil ve labil toksinlerdir. Stabil toksin (ST) ısıya dayanıklı olup labil toksin ise (LT) ısıya dayanıksızdır. ST, tip A (STa) ve tip B STb) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. STa bağlanıp hücreye girerek siklik guanozin monofosfatın (cGMP) intraenterosit düzeyini arttırmakta, klor iyonu salgısını uyarmakta ve/veya sodyum ve klor iyonu emilimini engellemekte ve ishale yol açmaktadır. STb'ler bağırsak epitelini zedeleyerek epitel hücre kaybına ve villus atrofisine neden olmaktadır. LT, siklik adenozin monofosfat (cAMP) üretiminde artış, klorür iyonu ve suyun salgılanmasını takiben sulu ishale neden olmaktadır (Songer ve Post, 2015).

Bağlanma ve yıkımlama (attaching and effacing, A/E) olarak bilinen lezyonlar EPEC' ler için karakteristik bir özelliktir (Kaper, 1994). EPEC enfeksiyonları bakterilerin epitel hücre zarına bağlanması ve bakteriyel mikrokolonilerin oluşması ile başlamaktadır. Bağlanma bir bakteri dış membran proteini olan, *eae* olarak kodlanan intimin ve enterosit zarına yapışarak intimin için reseptör görevini üstlenen *tir* aracılığıyla olmaktadır. Yapışma ve mikrovillilerin yok olmasının nedeni bakterilerin enterositlere yapışması ve mikrovillüslerin zarar görmelerinden kaynaklanmaktadır. EPEC'in bağlanmasında ki bir diğer unsurun ise intraenterosit kalsiyum düzeyindeki artışlara bağlı olduğu bildirilmektedir. Bu gibi değişiklikler sodyum ve klorür iyonu absorpsiyonunu engelleyip, enterositler tarafından klorür iyonu salgısının uyarılmasına neden olmaktadır (Songer ve Post, 2015).

Birçok EHEC suşu *Shigella dysenteriae* O1 sitotoksinine benzeyen Shiga toksini sentezlerler. EHEC, Shiga toksijenik *E. coli* (STEC) veya verotoksijenik *E. coli* (VTEC) olarak adlandırılmaktadır. EPEC' de olduğu gibi EHEC suşları bir plazmid üzerinde Shiga toksin genlerine sahiptirler ve EPEC' e benzer şekilde intimin aracılı bir yolla bağlanmaktadır. Ayrıca bu plazmid üzerinde hemolizin geni ve enterosit yok etme (LEE) lokusu da bulunmaktadır. Bu gen dizisi sayesinde bakteri enterositlerin apikal zarına yapışmakta ve mikrovillüslere zarar vermektedir. EHEC Shiga toksinleri Stx1 ve Stx2 olarak ikiye ayrılmaktadır (Songer ve Post, 2015).

EAEC bağırsak hücrelerine bağlanabilme, enterotoksin üretebilme ve enflamasyonu başlatabilme özelliğine sahiptir. EAEC, insanlarda Hep-2 hücrelerine ve hücre kültür plaklarında

abiyotik yüzeylere bağlanabilmektedir. Bu koşullarda EAEC kolonileri ışık mikroskobu altında yığılmış tuğlaları andırmaktadırlar (Okhuysen ve DuPont, 2010)

EIEC insanlarda dizanteri formunda ishale olgularına neden olan olmaktadır ve EIEC non-motil olma özellikleri ile bilinirler. Lizini dekarboksilasyonu ve laktozu fermentasyonu EIEC için negatiftir. APEC'in virulasında adezinler, ısıya duyarlı hemagglutinin, demir bağlayıcı sistem, kolisin, kapsül, serum direnci, toksinler ve diğer virülans faktörler rol almaktadır. Çoğu bakteride olduğu gibi APEC'lerin yüzeyinde de pilus ve fimbria olarak bilinen yapılar bulunmaktadır. Pilus bakteriyel konjugasyonda, fimbria ise bakterinin hücre yüzeyine yapışmasında rol oynamaktadır. Pilus fimbriaya göre daha uzun olup konjugatif pilus tüp benzeri bir yapının içinde pilin proteinlerinden oluşmaktadır. Bu yapı sayesinde bakteri konjugasyon esnasında genetik materyalini aktarabilmektedir (Hobot, 2001).

Kanatlıların üst solunum yollarına adezyondan sorumlu olan Tip 1 fimbria, spesifik antiserumlar ve D-mannoz ile inhibe olabilmektedir (Gyimah ve Panigraphy, 1988). La Ragione ve ark (2000), yaptıkları bir *in vitro* çalışmada Tip 1 fimbria'nın kanatlıların epitel hücrelerine adezyonundan sorumlu olduğunu ve APEC' in SPF civcivlerde kolonizasyon ve invazyonunda öneminin olduğunu ortaya koymuşlardır.

E. coli' nin hücre duvarında bulunan ve ince yapıda olan curly fimbria (Olsén ve ark, 1993) bakterinin erken kolonizasyonundan ve konakçı dışında canlı kalabilmesinden sorumludur (Olsén ve ark, 1994). Curly fimbria'nın ekspresyonundan *csgBAC* ve *csgDEFG* sorumludur. *csgA* fimbrial subuniti kodlarken, *csgB* için gerekli olan proteini kodlamaktadır (La Ragione ve Woodward, 2002). Maurer ve ark (1998), yaptıkları bir çalışmada tüm APEC suşlarında *csgA* geninin varlığını tespit etmişlerdir.

Pap geni tarafından kodlanan P-fimbria daha çok insanların üriner sistem enfeksiyonlarından sorumlu *E. coli* (UPEC) suşlarında tanımlanmıştır (Hull ve ark, 1981). Yapılan çalışmalar P fimbria'nın memelilerin böbreklerine kolonizasyonunda rol alarak akut pyelonefrit olgularında böbreklerin hasarına neden olduğunu ortaya koymuştur (Lane ve Mobley, 2007). NMEC ve APEC suşlarında da UPEC'de olduğu gibi P fimbria mevcuttur. Knöbl ve ark (2004)'nın yaptığı bir çalışmada bakterilerin P fimbria aracılığıyla iç organlara kolonize olduklarını, civcivlerde septiseminin şekillendiğini ve 1 günlük yaştaki civcivler de ölümlerin olduğunu bildirmişlerdir.

APEC suşlarında identifiye edilen diğer adezinler AC/1 ve tip 1 benzer fimbria' dır (La Ragione ve Woodward, 2002). Yersushalmi ve ark (1990)'nın bildirdiğine göre AC/1 fimbria *in vivo* ve *in vitro* ortamda adezyonda önemli bir rol almaktadır.

Polisialik asit yapısında olan K1 kapsül bakterinin konakçı savunmasını geçmesinde rol alan önemli bir virulans faktördür (Bliss ve ark, 1996). Bree ve ark (1989), yürütmüş oldukları bir çalışmada kanatlı O2K1 izolatlarında K1 antijenini tanımlamışlar ve virulansda rol aldığını ortaya koymuşlardır.

Bazı APEC suşları labil (LB) ve stabil (SB) enterotoksinlere benzer toksinler (Smith ve Gyles, 1969) ile Shiga-toksini (Stx) olarak bilinen verotoksin üretebilmektedir (O'Brien ve ark, 1977). Salvadori ve ark (2001) APEC'in tavukların embriyo fibroblastları ile böbrek hücrelerinde sitotoksik etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar bu etkinin *Helicobacter pylori*'nin salgıladığı toksinle benzerlik gösterdiğini belirtmişlerdir (Salvadori ve ark, 2001).

Isıya duyarlı hemagglütinasyon (TSH) molekülü, APEC suşları tarafından ekspres edilen bir proteindir. *tsh* gen tarafından kodlanan TSH 26 °C'de eritrositlerin hemagglütinasyonuna neden olurken, 42 °C'de bu özelliğini yitirmektedir (Provence ve Curtiss, 1994). Maurer ve ark (1998), kanatlı kökenli klinik izolatların % 46'sında *tsh* geninin varlığını tespit etmiştir. Dho-Moulin ve ark (1997)'nin yürütmüş oldukları bir başka çalışmada da izolatların % 91'inin *tsh* geni yönünden pozitif olduğunu ve suşların patojenik olduklarını bildirmişlerdir.

Demir bağlayıcı sistem özellikle organizma içinde APEC'in düşük miktarlarda demir varlığında üreyebilme ve hayatta kalabilmesinde rol almaktadır (Dho ve ark, 1984). Dho ve ark (1984), düşük demir konsantrasyonu ile APEC üremesi ve 1 günlük yaştaki civcivlerde gözlenen mortalite arasında pozitif korelasyon olduğunu ortaya koymuşlardır.

Mellata ve ark (2003), yaptıkları bir çalışmada serum dirençliliğinin virulans ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışma sonucunda serum dirençliliğinin APEC suşlarının patojenitesinde rol aldığını ve bakterinin iç organlara kolonize olabilmek için kullanmış olduğu bir mekanizma olduğunu sonucuna varmışlardır.

Çoğu APEC suşu kolisin V genini taşıyan (Col V) plazmidlere sahiptir (Wray ve Woodward, 1997). Blanco ve ark (1997b) yaptıkları bir çalışmada kolisinin patojenite rol aldığını ortaya koymuşlardır.

2.3. *Enterococcus* spp.

Enterococcus 1984 yılına kadar *Streptococcus* cinsi içinde yer alan Lancefield serolojik sınıflandırmada D grubunda bulunan koklar olarak bilinmekteydiler. Schleifer ve Kilpper-Balnz 1984 yılında bu bakterileri *Enterococcus* cinsi olarak ayırmışlardır. (Anonim 1).

Enterococcus spp. kanatlılarda bulunabilen ve dünya genelinde yayılım gösteren bir bakteridir. Enterokoklar evcil hayvanlarda enterit, septisemi, mastitis, solunum ve üriner sistem hastalıklarına neden olan bakteriler olarak bilinmektedirler. Enfeksiyonlar evcil hayvanlardan tavuklarda endokardit şeklinde görülmektedir (Songer ve Post, 2015). *Enterococcus* spp. kanatlı hayvanların doğal konakçısıdır. Ayrıca kanatlıların yaşadıkları çevre ve doğada da bulunabilmektedirler. Her ne kadar *Enterococcus* spp. kanatlıların bağırsak sisteminin doğal konakçısı olsalar da sadece birkaç enterokok türü kanatlı altlığından izole edilebilmektedir (Barnes ve ark, 2008).

Enterokoklar gram pozitif, yuvarlak, kok, diplokok veya kısa zincirler halinde bulunan, hareketsiz, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob bakterilerdir (Barnes ve ark, 2008). Çoğunlukla α ve γ hemolitik olan Enterokok türlerinin % 80'i Lancefield serolojik D grubunda yer almaktadırlar (Songer ve Post, 2015). Biyokimyasal testlerden katalaz negatiffir ve şekerleri fermente edebilirler (Barnes ve ark, 2008). Gram pozitif bakterilere kıyasla geliştirildikleri besiyerinde daha fazla üreme faktörüne gereksinim duymaktadırlar (Anonim 1).

Enterococcus spp. pek çok bakterinin üreyemediği alkali pH (pH 9.6)' da üreyebilmektedir. Ayrıca düşük oksidasyon-redüksiyon potansiyeli (O/R) olan ortamlarda da çok iyi gelişebilmektedirler. Sodyum azid, safra tuzu ve sodyum klorüre dayanıklı oldukları bilinmektedir. *Enterococcus* cinsinde yer alan türler % 40 safra tuzu ve % 3 NaCl ihtiva eden besiyerlerinde üreyebilirken, *Enterococcus faecalis* ve *E. faecium* tuza dirençli olduklarından % 6.5 tuz bulunan besiyerlerinde de üreme özelliği göstermektedirler (Anonim 1).

E. faecalis ve *E. faecium* fermantasyon yoluyla laktik asit üreten bakteri olduklarından bazı peynirlerin üretiminde starter kültür olarak gıda sanayisinde kullanılmaktadırlar (Anonim 1). Enterokoklar gıda endüstrisinde kullanılan ısıtma, kurutma, dondurma gibi işlemler ve dezenfektanlara karşı dirençlidirler. Bu sebepten dolayı özellikle işlem görmüş gıdalarda koliform bakterilere göre daha iyi bir fekal kontaminasyon indikatörü özelliğine sahiptirler (Anonim 1).

Evcil hayvanların patojeni olan Enterokok türleri *E. avium*, *E. durans*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. porcinus*, *E. ratti*, *E. villorum* olarak sıralanırlar. *E. avium*, *E. faecium* ve *E. gallinarum* kuşlarda septisemiye, *E. durans* erişkin kedilerde ishal, kuşlar ve buzağılarda septisemiye, köpek, at ve domuz yavrularında yeni doğan septisemisine, *E. faecalis* kuşlarda septisemiye, sığırlarda mastite, kanaryalarda kronik trakeite, köpeklerde üriner sistem enfeksiyonlarına, *E. hirae* psittasin kuşlarda septisemi, civcivlerde büyümede durma, septisemi, ensefalit, yavru kedilerde hepatik, pankreatik enfeksiyona, *E. porcinus* yavru domuzlarda yeni

doğan isheline, *E. ratti* yeni doğan sıçanlarda ishale, *E. villorum* yeni doğan domuz yavrularında enterite, diğer *Enterococcus* spp. ise evde beslenen kuşlarda şakak kemiği ve alt çeneye ait eklem artritine neden olmaktadır (Songer ve Post, 2015). Kanatlılarda sıklıkla izole edilen Enterokok türleri mannitol, sorbitol, L-arabinoz, sükröz ve rafinoz fermentasyon özellikleri ile kristal viyole ihtiva eden MacConkey agar da ürememeleri ile ayrılmaktadırlar (Wages, 1998). *Enterococcus* spp. kanlı agarda gamma holizin olmaması, safra eskülünde siyah çökeltinin olması ve PYR (pyrolidonyl-beta-naphthalamide) agarda üremenin pozitif olması ile diğer bakterilerden ayrılmaktadır (Barnes ve ark, 2008).

Tablo 1: *Enterococcus* spp. Fermentasyon Özellikleri (Barnes ve ark, 2008)

	Mannitol	Sorbitol	L-arabinoz	Sükröz	Rafinoz
<i>E. faecalis</i>	+	+	-		
<i>E. faecium</i>	+	-	+		
<i>E. avium</i>	+	+	+		
<i>E. durans</i>	-	-	-	-	-
<i>E. hirae</i>	-	-	-	+	+

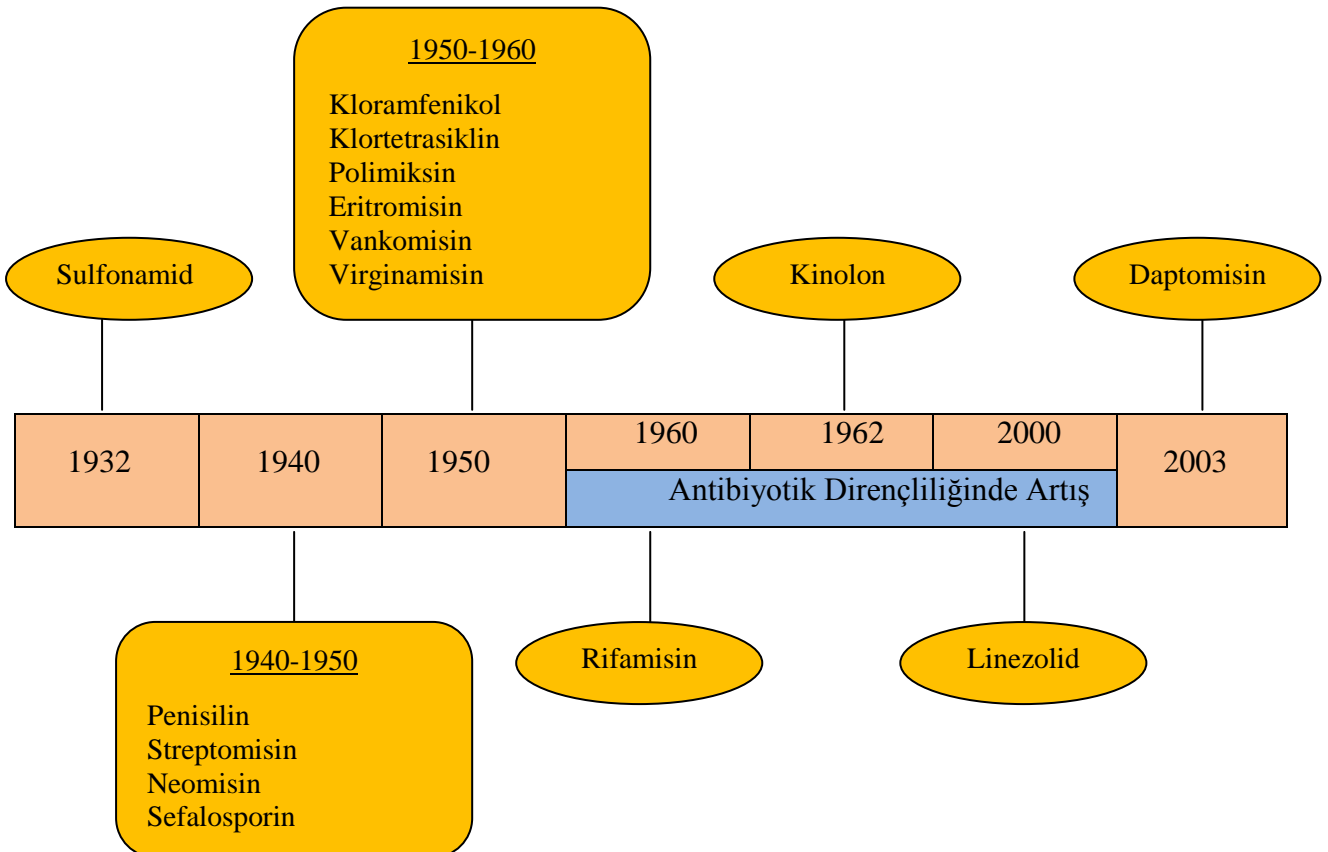
Enterococcus spp. enfeksiyonları akut ve subakut/kronik formda seyretmektedir. Akut formda septisemi, depreseyon, letarji, diyare, yumurta veriminde azalma gibi klinik semptomlar gözlenirken, subakut/kronik formda topallık, canlı ağırlıkta azalma ve kranial bölgede tremorlarla seyredebilmektedir (Barnes ve ark, 2008). Bulaşma oral veya aerosol yolla olabildiği gibi konvansiyel yetiştiriciliğin yapıldığı kafeslerde barındırılan tavuklarda deri yaralanmaları sonucu da enfeksiyon meydana gelebilmektedir. *E. faecalis* aerosol bulaşmaya bağlı tavuklarda akut septisemiye neden olabilmektedir. Fekal kontaminasyon sonucu *Enterococcus* spp. embriyonik ölümlere neden olabildiği gibi kuluçkadan çıkım esnasında civcivlerin yumurta kabuğunu penetre edememesine neden olabilmektedir (Alaboudi ve ark, 1992). Enterokoklar genç civcivlerde beyinde nekroz ve ensefalomalaziye neden olabilmektedir (Barnes ve ark, 2008). *Enterococcus* türleri deneysel olarak intravenöz yolla verildiği takdirde patojenik olabilmektedirler (Abdul Aziz ve Sukhon, 1996). *Enterococcus* türleri ve enterik enfeksiyonlar eşzamanlı oldukları takdirde veya dirençli *Enterococcus* spp.'lerin bağırsak villuslarını

penetrasyonu sonucu septisemi ya da bakteriyel endokardit gelişebilmektedir (Barnes ve ark, 2008).

2.4. Antibiyotiklerin Keşfi, Antibiyotiklere Dirençli Suşların Gelişmesi ve Antibiyotiklerin Yasaklanması

Mikrobiyal ilaç dönemi 1928 yılında Alexander Fleming'in petri kabında *Penicillium notatum* olarak tanımlanmış bir mantar tarafından *Staphylococcus aureus*'un öldürüldüğünü rastlantısal olarak keşfetmesiyle başlamıştır. Sonrasında sarı bir toz olarak izole edilen penisilin 2. Dünya Savaşı'nda antibakteriyel bir bileşik olarak kullanılmıştır (Demain ve Sanchez, 2009). Sulfonamidlerin keşfi ise 1935 yılında Domagk ve ekibi tarafından yapılmıştır. Sonraki yıllarda da yeni antibiyotikler keşfedilmiş ve bu dönem altın çağ olarak adlandırılmıştır. 1944 yılında *Streptomyces griseus* bakterisinden streptomisin izole edilmiştir. Sonrasında ise kloramfenikol, tetrasiklin, makrolid ve glikopeptidler keşfedilmiştir. Nalidiksik asit ve kinolonlar 1962'de, karbapenem ve monobaktamlar ise 1983 yılında bulunmuştur. 1990 yılından sonra yeni antibiyotiklerin keşfinde azalma olmuştur (Saga ve Yamaguchi, 2009).

Şekil 2. Antibiyotiklerin Keşfi (Wright, 2007; Davies ve Davies, 2010)



Kanatlı beslemede antibiyotiklerin büyüme destekleyici etkileri ise 1940'lı yıllarda keşfedilmiştir (Castanon, 2007). Antibiyotiklerin kanatlı yemlerinde kullanılması sonucu canlı ağırlıkta artış sağlanacağını ilk kez Moore ve ark (1946) bildirmiştir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) 1951'de antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanılacaklarını onaylamıştır (Jones ve Ricke, 2003). Geçmişte yem katkı maddesi olarak yumurtacı ve etlik piliç yemlerine katılan antibiyotikler bağırsak bütünlüğünün sağlanması ve modern hibritlerin genetik potansiyellerinden maksimum seviye de yararlanılması amacıyla kullanılmaktaydılar (Bozkurt ve ark, 2008).

İlk kez Starr ve Reynolds (1951), deneysel amaçlı streptomisin ihtiva eden yem karması ile beslenen hindilerde antibiyotik direncinin olduğunu bildirmişlerdir. Barnes (1958), tetrasiklinlerin büyütme faktörü olarak kullanılmasına bağlı olarak tavuklarda antibiyotik direncinin olduğunu belirtmiştir. Hayvanlardan insanlara antibiyotik dirençliliğinin aktarılabilirliğini ilk kez Swann (1969) bildirmiştir. Antibiyotiklerin kullanılmaya başlanılmalarından kısa bir süre sonra antibiyotiklere dirençli bakterilerin varlığı anlaşılmıştır. Penisilinlerin kullanıma girmeleri ile birlikte 1948 yılında penisilin dirençli *Staphylococcus aureus* izole edilmiştir (Barber ve Rozwadowska-Dowzenko, 1948). Aynı yıl *Mycobacterium tuberculosis*'in streptomisine dirençli oldukları anlaşılmıştır (Crofton ve Mitchison, 1948). 1950'li yıllara gelindiğinde *Escherichia coli*, *Shigella* spp. ve *Salmonella enterica*'nın (Watanabe, 1963) antimikrobiallere dirençlilik kazandığı anlaşılmıştır. 1960 yıllarda da geniş spektrumlu β -laktamaz enzimi üreten *Enterobacteriaceae* familyasının, vankomisine dirençli *Enterococcus* spp.'nin, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'un ve çoklu direnç gösteren *Acinetobacter baumannii*'nin antibiyotiklere direnç kazandıkları doğrulanmıştır (Cantas ve ark, 2013).

Antibiyotiklerin çok uzun bir süre bilinçsizce yem katkı maddesi olarak kullanılmaları dirençli bakterilerin gelişebileceği ve hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerin yetersiz kalacağı düşüncesinin oluşmasına neden olmuştur (Castanon, 2007). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) (1997) ve Avrupa Birliği Komitesi (Economic and Social Committee of the European Union) (1998) hayvan beslemede kullanılan büyüme destekleyici antibiyotiklerin gıda veya farklı yollarla insan sağlığı açısından sorunlara neden olabileceğini bildirmişlerdir. Bakterilerin antibiyotiklere direnç kazanması hayvanların olduğu kadar insanların hayatını da olumsuz etkileyeceği düşünülmektedir. Çünkü antimikrobiallere direnç kazanmış zoonotik bakteriler insanlarda da enfeksiyonlara neden olabilmektedirler. Çeşitli enfeksiyonlara neden olabilen bakteriler bağırsağa kolonize olabilmekte ya da sindirim sisteminin doğal konakçısı olan bakterilere

dirençlilik genlerini aktarabilmektedirler. Ayrıca zoonotik karakterdeki dirençli bakteriler çevreye dışıyla yayılabilmektedirler (Anthony ve ark, 2000).

Avrupa Birliği Komisyonu artan antibiyotik direncine bağlı olarak büyüme ve performansı destekleyici olarak hayvan yemlerinde kullanılan antibiyotiklerin 1 Ocak 2006 yılından itibaren kullanımını yasaklamıştır (Anonim 3). Ülkemizde ise antibiyotiklerin kullanımını 21 Ocak 2006 (resmi gazete:sayı:26056) tarihinden itibaren tamamen yasaklamıştır.

Tablo 2. Yıllara Göre Antibiyotiklerin Büyütme Faktörü Olarak Kullanımının Yasaklanması (Anonim 5, Anonim 6)

1986	İsveç	Antibiyotiklerin büyütme faktörü olarak kullanılmasının yasaklanması
1995	Danimarka	Avoparcin'in yasaklanması
1995	Norveç	Avoparcin'in yasaklanması
1997	Avrupa Birliği	Virginamisin ve Avoparcin'in yasaklanması
1998	Danimarka	Virginamisin'in yasaklanması
1998	Danimarka	Antibiyotiklerin büyütme faktörü olarak kullanılmasının yasaklanması
1999	Avrupa Birliği	Tylosin, virginamisin, spiramisin ve basitrasinin yasaklanması
1999	Avrupa Birliği	Olaquindoks ve karbadoks'un yasaklanması

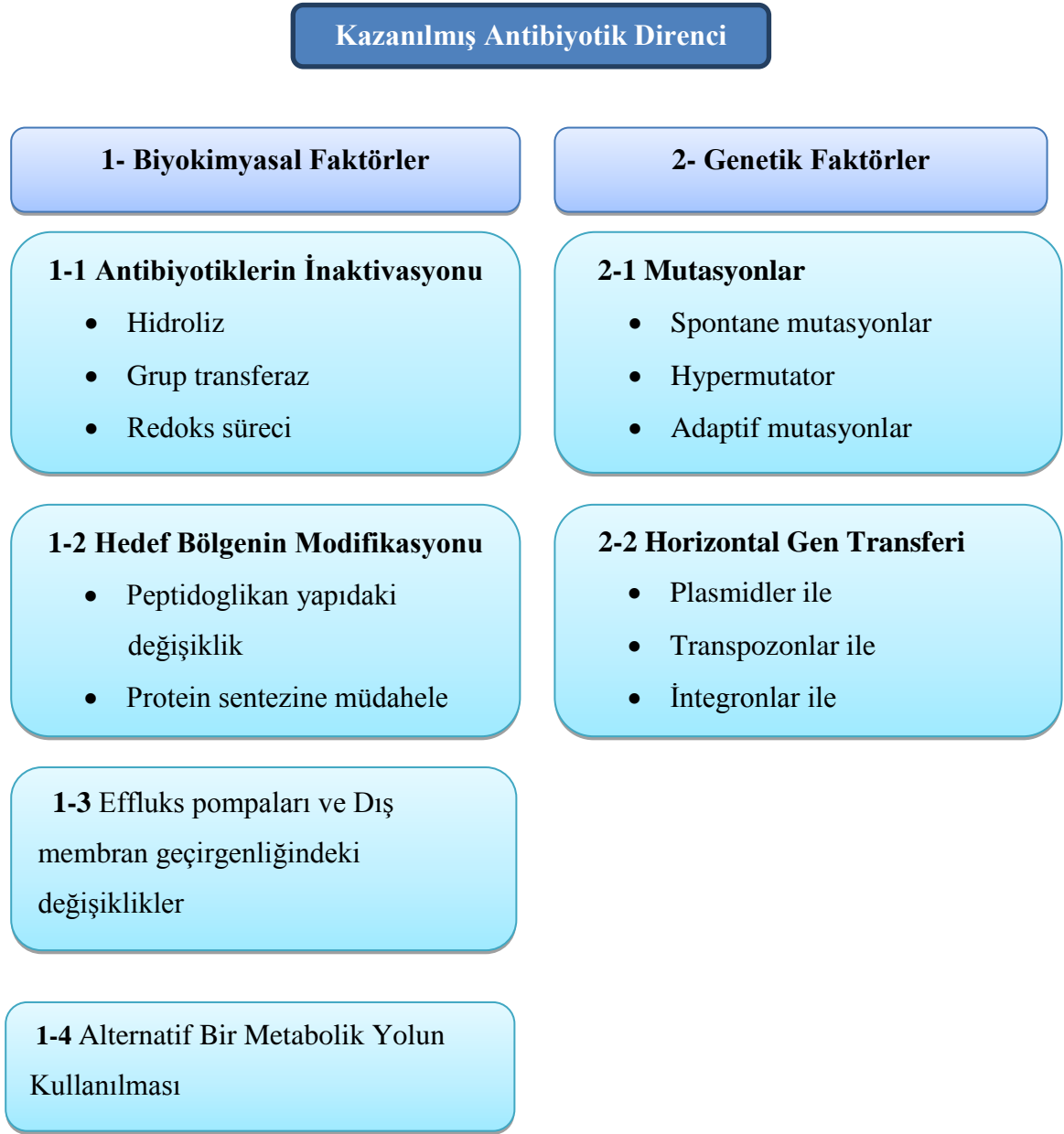
Alexander Fleming 1945 yılında Nobel ödülünü alırken yaptığı konuşmada “laboratuvar ortamında bakterilerin kendilerini öldürmeyen dozlarda antibiyotiklere maruz kalmaları sonucu zamanla direncin gelişebileceğini ve aynı durumun vücutta da oluşabileceğini” ifade etmiştir (Anonim 4). Bakterilerin zamanla antibiyotiklere direnç kazanması tüm dünyada endişe duyulmasına neden olmuştur. Çünkü bu sorun çözülemezse hastalıkların tedavinde güçlükler yaşanacağını düşünülmesine yol açmıştır. Bunu sonucu olarak araştırmacılar antibiyotik direncinin temelini araştırmaya odaklanmışlardır (Krašovec ve Jerman, 2003).

Bakteriler antibiyotiklere doğal olarak dirençli olabildikleri gibi sonradan direnç kazanabilmektedirler. İntrinsik direnç olarak bilinen doğal direnç, antibiyotiklerin hedefi olan

yapıları bakterilerin taşımamalarından veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefine ulaşamamasından kaynaklanmaktadır (Eliopoulos, 1992). Penisilin gibi hücre duvarı sentezini inhibe ederek etki gösteren antibiyotiklere karşı *Mycoplasma* spp. doğal olarak dirençlidirler. Makrolidler stoplazmik hedefe ulaşmak ve hücre duvarından geçmek için çok büyük olduklarından Gram negatif bakterilerde makrolidlere karşı doğal dirençlidirler (Çiftçi ve Aksoy, 2015, Eliopoulos, 1992).

Kazanılmış direnç farklı yollarla bakterilerin antibiyotiklerden etkilenmeyecek duruma gelmeleri olarak açıklanmaktadır (Çiftçi ve Aksoy, 2015). Kazanılmış direnç biyokimyasal ve genetik olarak incelenmektedir. Biyokimyasal mekanizma da bakteriler antibiyotiklerin inaktivasyonu, hedef bölgenin modifikasyonu, effluks pompaları ve dış membran geçirgenliğindeki değişikliklere bağlı veya alternatif bir metabolik yolun kullanılması sonucu direnç kazanabilmektedirler. Biyokimyasal mekanizmanın aksine bakteriler mutasyonlara bağlı veya horizontal gen transferi sonucu genetik olarak antibiyotiklere dirençli olabilmektedirler (Džidić ve ark, 2008).

Şekil 3. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları (Džidić ve ark, 2008)



2.4.1. Biyokimyasal Faktörler

2.4.1.1. Antibiyotiklerin İnaktivasyonu

Çoğu antibiyotik ester ve amidazlar gibi hidrolize duyarlı bağlar içermektedir. Hidrolitik amidaz olan β laktamaz penisilin ve sefalosporinlerdeki hidrolize duyarlı bağ olan β laktam halkalarını hedef alarak etkilerini göstermektedirler. Bu enzimler antibiyotikleri antibiyotik molekülünün yüzeyine eklemek suretiyle kimyasal yapısını inaktive ederek etki gösterirler

(Džidić ve ark, 2008). *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis*'de bu tür bir direnç sıklıkla görülmektedir (Bradford, 2001).

Antibiyotiklerin inaktivasyonunda rol alan bir diğer mekanizma grup transferazdır. Bu enzimler fosforil, adenilil ya da asetil grupları antibiyotik (aminoglikozidler, kloramfenikol, streptogramin, makrolidler ve rifampisin gibi) molekülünün yüzeyine ekleyerek ilacın etkinliğini yitirmesine neden olmaktadır (Džidić ve ark, 2008).

Bir diğer direnç mekanizması antibiyotiklerin oksidasyonu ya da redüksiyonudur. Tetrasiklinlerin TetX enzimi ile antibiyotiklerin oksidasyonu redoks sürecine bağlı meydana gelen bir dirençtir (Yang ve ark, 2004).

2.4.1.2. Hedef Bölgenin Modifikasyonu

Bir antibiyotikğin etki gösterebilmesi için bakterideki hedef bölgeyle birleşmesi gerekmektedir. Hedef bölgedeki değişiklikler sıklıkla gözlenen direnç mekanizmalarından birisidir (Lambert, 2005). Hedef bölgenin modifikasyonuna bağlı direnç peptidoglikan yapıdaki değişiklik sonucu ve protein sentezine müdahaleye bağlı meydana gelmektedir (Džidić ve ark, 2008).

Peptidoglikan yapıdaki değişime bağlı meydana gelen direnç penisilin-bağlayıcı proteinlerdeki (PBPs) değişiklik sonucu meydana gelmektedir. PBPs' lerdeki değişikliğe bağlı olarak β -laktam antibiyotiklerin affinitesi azalmakta ve bu grup antibiyotiklere karşı direnç gelişmektedir (Handwerger ve Tomasz, 1986). Hedef molekülün değişmesi sonucu vankomisin ve ampisiline karşı Enterokoklar'ın dirençli hale geldikleri bilinmektedir. Vankomisin Enterokoklar'a da hücre duvarı sentezini engelleyerek etki gösteren bir antibiyotiktir. Hedef bölgede meydana gelen değişim sonucu vankomisinin bağlanması engellenmekte ve direnç gelişmektedir (Hiramitsu, 2001).

Makrolid, linkozamid ve streptogramin B grubu antibiyotikler bakterilerin 50S ribozomal alt ünitesine bağlanarak protein sentezini bloke etmektedirler. Gram pozitif ve negatif bakterilerde görülen MLS(B) tipi dirençte 50S ribozomal alt ünitenin bir komponenti olan 23S rRNA posttranskripsiyonal modifikasyona uğramaktadır (Lambert, 2005).

DNA sentezinde DNA giraz ve tip 2 topoizomeraz enzimleri rol almaktadır. DNA giraz GyrA ve GyrB, tip 2 topoizomeraz ise ParC ve ParE subunitlerinden oluşmaktadır. DNA giraz ve tip 2 topoizomeraz ile etkileşime giren florokinolonlarda görülen dirençte genlerde

mutasyonlar meydana gelmektedir. Mutasyonlara bağılı olarakta antibiyotiklerin bağlanması engellemek ile görevli enzimlerde değişiklikler meydana gelmektedir (Ince ve ark, 2002).

2.4.1.3. Effluks Pompaları ve Dış Membran Geçirgenliğindeki Değişim Sonucu Direnç Gelişmesi

Gram negatif ve pozitif bakterilerde bulunan protein yapıdaki effluks pompaları antibiyotiklerin hücre içinden uzaklaştırılmasında rol almaktadırlar (Pearson ve ark, 1998; Webber ve Piddock, 2003). Effluks pompaları hemen hemen her bakteride bulunmaktadır. Pompa sistemleri kullandıkları enerji kaynağı, transport yolu ve substrat profiline göre 5'e ayrılmaktadırlar. Bunlar; ABC (ATP-Binding Cassette), MFS (Major Facilitator), MATE (Multidrug and Toxic compound Extrusion), RND (Resistance-Nodulation-Division) süper aileleri ve SMR (Small Multidrug Resistance) ailesidir (Putman ve ark, 2000). Effluks pompalarının ekspresyonunda değişiklik olması antibiyotik direncinin artışına neden olmaktadır (Webber ve Piddock, 2003). Gram negatif bakterilerin karakteristik yapısı olan dış membran ise bakteriye seçici geçirgenlik özelliği sağlamaktadır. Dış membranın yapısında bulunan porin proteinlerinde meydana gelen değişikliklere bağılı olarak kloramfenikol, β -laktam ve florokinolonlar gibi antibiyotiklerin girişinde azalma meydana gelmektedir (Nikaido, 2003).

2.4.1.4. Alternatif Bir Metabolik Yolum Kullanılması

Bu tip dirençte genellikle enzimler aracılığı ile alternatif hedefler üretilmektedir. Metilisin dirençli *S. aureus*'un alternatif penisilin bağlayıcı protein üretmesi bu tür dirence örnek verilmektedir. Trimetoprim-sulfametoksazole karşı dirençli suşların gelişmesi bu tür bir mekanizmayla meydana gelebilmektedir (Giedraitienė ve ark, 2011).

2.4.2. Genetik Faktörler

2.4.2.1. Mutasyonlar

Büyüme bağımlı mutasyonlar olarak bilinen spontane mutasyonlar DNA'nın hasarının tamirindeki veya replikasyondaki hataların sonucu olarak rastgele meydana gelmektedir (Krašovec ve Jerman, 2003). Doğada kendiliğinden spontane gelişen kromozomal mutasyonlara bağılı olarak florokinolonlara karşı bakteriler tarafından direnç gelişmektedir. *gyrA* geninin 6

aminoasitinde ya da *parC* genin 3 aminoasitindeki değişikliğe bağlı olarak kinolinlere karşı *E. coli* izolatlarında direnç tespit edilmiştir (Hooper, 1999).

‘‘Hypermutator’’ terimi yüksek oranda mutasyon sıklığını ifade etmek için kullanılmaktadır. Bakteriler bir dizi hata önleme ve hata düzeltme sistemlerine sahiplerdir. *mutS* genindeki mutasyona bağlı olarak replikasyon hatası sonucu meydana gelen DNA uyumsuzluklarını doğrulayan MMR (methyl-directed mismatch repair) sistem de hatalar meydana gelebilmektedir. *E. coli*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*, *H. pylori* ve *S. pneumoniae* de bu tür mutasyon olduğu bildirilmiştir (Chopra ve ark, 2003).

Adaptif mutasyonlar lethal olmayan çevresel bir baskı durumunda meydana gelmektedirler ve bu özelliği ile spontane mutasyonlardan ayrılmaktadırlar. Adaptif mutasyonlar seçici bir baskı olduğunda bölünmeyen ya da yavaş bölünen hücrelerde gözlenmektedirler (Kraşovec ve Jerman, 2003).

2.4.2.2. Horizontal Gen Transferi

Mutasyon olmaksızın genetik materyalin bir bakteriden diğerine aktarılmasına horizontal gen transferi adı verilmektedir. Genetik materyal DNA plazmidi ile aktarılabilirdiği gibi transpozonlar ile de aktarılmaktadır (Kaplan, 2014). Çift iplikçikli ekstrakromozomal DNA molekülü olan plazmidler sefalosporinler, fluorokinolonlar ve aminoglikozidlere dirençliliği sağlayan genleri kodlayabilmektedirler (Bennett, 2008). Transpozonlar ise kendi kendine replike olamayan bu sebepten dolayı plazmid veya bakterifajlar gibi bir replikon üzerinde bulunan DNA dizileridir. Transpozonlar bakteri kromozomunun farklı yerlerine yerleşebilirler veya kromozomdan plazmide, plazmidden plazmide, plazmidden DNA veya bakteriyofaja aktarılabilirler. Antibiyotiklere dirençliliği taşıyan genetik materyal ve plazmid bakteriler arası transdüksiyon, transformasyon ve transdüksiyonla ile aktarılmaktadır (Yüce, 2001). DNA elementi olan integronlar da dirençlilik genlerinin aktarılmasında rol almaktadırlar. İntegronlar ya bakteriyel kromozomlara ya da plazmidlere lokalizedirler (Džidić ve ark, 2008). İntegronlar 2 yapıdan oluşmaktadır. İlk yapı bölge-spesifik rekombinazlar (IntI) ve rekombinasyon bölgelerini (attI) kodlayan geni içeren bölüm, ikincisi ise kaset olarak bilinen hareketli elementlerden oluşan kısımdır. İntegronlar 2 önemli özelliği ile transpozonlardan farklılık göstermektedir. Transpozonlar son kısımlarında direkt ve indirekt tekrarlayan sekanslara sahip olmasına karşın integronlar da antibiyotiklere dirençlilikte rol alan genleri çevreleyen bölümler tekrarlamamaktadır (Boucher ve ark, 2007; Roe ve Pillai, 2003).

Apata (2009), kanatlı kümeslerinden alınan örneklerden izole edilen *E. coli* suşlarının % 97'sinin tetrasikline, % 51' nin ampisiline, % 31' nin piperaciline, % 10' unun siprofloksasin ve ofloksasine dirençli olduğunu bildirmiştir. *Enterococcus* türlerinin ise tetrasiklin, eritromisin ve nitrofurantoine dirençliliği sırasıyla % 80, % 59 ve % 34 olduğu belirtilmiştir (Apata 2009).

Threlfall ve ark (2000), İngiltere ve Galler de yaşayan insanlarda Vero sitotoksik *E. coli* O157 (VTEC O157)'yi izole etmeye ve antibiyotik dirençliliğini belirlemeye çalışmışlardır. Threlfall ve ark (2000)'nın bildirdiğine göre bireylerin % 23'ü VTEC O157 yönünden pozitif ve elde edilen izolatlar antibiyotiklere dirençli bulunmuştur (Threlfall ve ark, 2000).

Sáenz ve ark (2001), yaptıkları bir çalışmada insanlar ve tavukların dışkıları ile gıdalardan *E. coli* izole etmişlerdir. Antimikrobiyal test sonuçlarına göre tavukların dışkıdan izole edilen *E. coli* suşlarının nalidiksik asit, siprofloksasin, gentamisin ve kanamisine dirençlilikleri sırasıyla % 88, % 38, % 40 ve % 38 olduğu belirtilmiştir (Sáenz ve ark, 2001).

Tejedor-Junco ve ark (2004), *Enterococcus* spp.'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi amacıyla sıklıkla kullanılan antibiyotiklerin dirençliliğini tespit etmeye çalışmışlardır. Antibiyogram testi sonucu araştırmacılar enterokok izolatlarının aminoglikozitlere dirençliliğinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Tejedor-Junco ve ark (2004), PCR tekniği yardımıyla yüksek seviyede aminoglikozit kodlayan gen (HLAR) varlığını tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, bağırsak florasının doğal konakçı ve indikatör bakterisi olan *E. coli*, *E. faecium* ve *E. fecalis* türlerinin izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi hedeflenmiştir. *E. coli*, *E. faecium* ve *E. fecalis* intestinal sisteme kolonize olabilmeleri, dışkıyla çevreye saçılabilmesi ve insan sağlığı açısından da risk oluşturabilmeleri açısından önem arz etmektedirler. Bu sebepten dolayı gelişen kanatlı sektöründe karşılaşılabilecek bakteriyel kökenli enfeksiyonlarda tedavi amaçlı doğru antibiyotiklerin seçilmesi üzerinde hassasiyetle durulması gereken bir durumdur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada yumurtacı tavuklardan alınan dışkı örneklerinde indikatör bakterilerden olan *E. coli*, *E. faecium* ve *E. fecalis* izolasyon ve identifikasyonu yapılması amaçlanmıştır. *E. coli*, *E. faecium* ve *E. fecalis* pozitif örneklerin farklı antibiyotiklere karşı duyarlılıkları tespit edilmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçların kanatlı sektöründe karşılaşılabilecek bakteriyel kökenli hastalıkların tedavisinde uygun antibiyotiklerin seçimine katkı sağlaması hedeflenmiştir.

3.1.Gereç

3.1.1.Besiyerleri

3.1.1.1. Enterococcosel Agar (Difco 297413)

Kazeinin Pankreatik Dijesti	17,0 g
Hayvan Dokularının Peptik Dijesti	3 g
Maya Özü	5 g
Oksgall	10,0 g
Sodyum Klorid	5,0 g
Eskülin	1 g
Ferrik Amonyum Sitrata	0,5 g
Sodyum Azid	0,25 g
Sodyum Sitrata	1,0 g
Agar	13,5 g
Distile Su	1 L

Enterococcosel Agar Enterokokların identifikasyonu amacıyla kullanılmıştır. 42,6 g besiyeri 1 L distile su içinde ısıtılarak eritildi. Besiyeri 121 °C’de 15 dk otoklavda sterilize edildi. Ardından 45°C’ye soğutulan besiyeri steril petri kaplarına dökülmüştür.

3.1.1.2.% 5 Koyun Kanlı Agar (Merck 1.10886)

Nutrient Substrate (kalp ekstraktı ve peptonlar)	20,0 g/L
Sodyum Klorid	5,0 g/L
Agar-agar	15,0 g/L
Distile Su	1 L

40,0 g besiyeri 1 L su içinde ısıtılarak eritildi. Ardından otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edildi. Koyun kanı hemoliz için daha uygun olduğu için sterilizasyon işleminden sonra 45°C’ye soğutulan agara % 5’lik defibrine koyun kanı ilave edilerek karıştırıldı. Steril petri kutularına 12,5 ml döküldü. Hemoliz reaksiyonunun belirgin olabilmesi için pH 6,8’e getirildi.

3.1.1.3. EMB Agar (Merck 1.01347)

Pepton	10,0 g/L
Potasyum Hidrojen Fosfat	2,0 g/L
Laktoz	5,0 g/L
Sükroz	5 g/L
Eosin Y	0,4 g/L
Metilen Mavisi	0,07 g/L
Agar-agar	13,5 g/L
Distile Su	1 L

Besiyeri 36,0 g/L olacak şekilde 1 L su içinde ısıtılarak eritildi. Otoklavda 121 °C’de 5 dakika sterilize edilen besiyeri 45 °C’ye soğutularak steril petri kaplarına döküldü. Selektif ve diferansiyel özellikte olan EMB agar *E. coli*’nin izolasyonu amacıyla kullanılmıştır. Agar bileşimindeki boyalar laktozu fermente edebilen koliform bakteriler ile laktozu fermente edemeyen *Salmonella* kolonilerinin ayrımında kolaylık sağlamaktadır.

3.1.1.4. Muller-Hinton Agar (Merck 1.05437)

Et İnfüzyon	2,0 g/L
Kazein Hidrosilat	17,5 g/L
Nişasta	1,5 g/L
Agar-agar	13,0 g/L
Distile Su	1 L

Dehidre besiyeri 34,0 g/L oranında distile su içine ısıtılarak eritildi. 115 °C’de 10 dk sterilize edilen besiyeri steril petri kaplarına 12,5’er ml döküldü. Daha sonra besiyerleri 45°C’ye soğutularak pH 7,4’e ayarlandı.

3.1.2. Biyokimyasal Testler

3.1.2.1. PYR Testi

Enterokok şüpheli izolatların tespitinde kullanılmıştır.

3.1.2.2. Sorbitol, Mannitol ve L Arabinoz Fermentasyon Testleri

Enterococcus spp. identifikasyonunda kullanılmıştır.

3.1.2.3. IMViC Testi

E. coli identifikasyonu için kullanılmıştır.

3.1.3. Boyalar

Gram boyama (Merck-111885) yapılmıştır.

3.1.4. Antibiyotik Diskleri

Antibiyogram testlerinde Oxoid® firmasına ait penisilin novobiosin (PNV- 40 µg), tetrasiklin (TE- 10 µg), enrofloksasin (ENR- 5 µg), trimetoprim-sülfometoksazol (SXT- 25 µg), florfenikol (FFC- 30 µg), amoksisilin-klavulanik asit (AMC- 30 µg), gentamisin (CN- 10 µg) ve kanamisin (K- 30 µg) tanı diskleri kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Alınması ve Kültürü

Aydın ilindeki 5 farklı yumurtacı tavuk kümesinden 200 adet kloakal svap alınmıştır. Araştırma materyalini oluşturan kloakal svapların hepsi; örneklenecek kümes büyüklüklerinin % 0,25'i hesaplanmak suretiyle ticari yumurtacı tavuk yetiştiren kümeslerden alınmıştır. Soğuk zincir altında transport svaplarında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına getirilen örnekler % 5 koyun kanlı agar ve EMB agara ekilerek 37°C'de 24 sa inkube edilmiştir. Kanlı agarda üreyen kolonilerden öze ile alınarak Enterococcosel agara ekim yapılmış ve 37°C'de 24 sa inkube edilmiştir. EMB ve Enterococcosel agarda üreyen kolonilerden preparatlar hazırlanarak Gram boyama yapılmıştır. Boyama sonucunda belirlenen Gram negatif basillerin olduğu kolonilere İndol, Metil kırmızısı, Voges Proskauer ve Simons Citrate testleri uygulanmıştır. Gram pozitif kokların bulunduğu kolonilere ise katalaz ve PYR testi yapılmıştır. Enterokok türlerinin ayrımı için ise mannitol, sorbitol ve L arabinoz fermentasyon testleri uygulanmıştır (Winn ve ark 2006).

3.2.2. IMViC Testi

3.2.2.1. İndol Testi

Nutrient broth'da 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonucu üreyen kültür üzerine kovaks ayırıcı damlatılmış ve birkaç saniye içerisinde oluşan kırmızı halka *E. coli* pozitif olarak kabul edilmiştir (Bilgehan, 2004).

3.2.2.2. Metil Red-Voges Proskauer Testi (MR-VP)

Glikoz ayrışması sonucu oluşan asit ürünlerin saptanmasında MR testi, nötral ürünlerin saptanmasında VP testi kullanılmıştır. Deney amacıyla iki adet Nutrient broth'a saf kültürden ekim yapıp ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonrasında tüplerden birisine MR ayırıcı, diğerine ise VP ayırıcı damlatılmıştır. MR damlatılan tüpün kırmızı renge dönmesi, VP ayırıcı damlatılan tüpün ise sarı renkte kalması *E. coli* açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2004).

3.2.2.3. Sitrat Testi:

Saf kültürden bir miktar öze alınarak Simmon Sitrat besiyerine ekim yapılarak ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında orjinal yeşil rengin değişmemesi *E. coli* yönünden pozitif olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2004).

3.2.3. Katalaz Testi

Alevden geçirilmiş steril öze yardımıyla besiyerinden koloni alınarak lam üzerine aktarılmıştır. Koloni üzerine bir damla % 3'lük H₂O₂ damlatılarak hava kabarcığı oluşup oluşmadığı gözlenmiştir. Kabarcık olmaması *Enterococcus* pozitif olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2004).

3.2.4. PYR Testi

Bir penset yardımı ile petri kabına koyulan PYR diski steril su ile hafifce nemlendirilmiştir. Steril öze ile Enterococcosel agardan öze dolusu kültür alınarak PYR diski üzerine ezerek sürülmüştür. 2 dk'lık beklemenin ardından parlak pembe veya kiraz kırmızısı renk oluşması *Enterococcus* pozitif olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2004).

3.2.5. Mannitol Fermentasyon Testi

Enterokokların biyokimyasal identifikasyonunda mannitol fermentasyon testi uygulanmıştır. Reaksiyon, mannitolün asit bileşiklere dönüşmesi, böylelikle pH değişimine göre besiyerindeki renk indikatörünün kırmızıdan sarıya dönmesi esasına dayanır. *E. fecalis* ve *E. faecium*, mannitol fermentasyonu açısından pozitifdir (Bilgehan, 2004).

3.2.6. Sorbitol Fermentasyon Testi

Şüpheli izolattan öze ile alınarak önceden hazırlanmış serum fizyolojikte mikroorganizma süspansiyonu hazırlanmıştır. Sonrasında süspansiyondan 1 damla alınarak besiyerine inokülasyon yapılmıştır. Mikroorganizmanın mor renkli sıvı besiyerinin renginin sarıya dönüştürmesi sorbitol pozitif olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2004).

3.2.7. L-Arabinoz Fermentasyon Testi

Şüpheli izolattan öze ile alınarak önceden hazırlanmış serum fizyolojikte mikroorganizma süspansiyonu hazırlanmıştır. Sonrasında süspansiyondan 1 damla alınarak besiyerine inokülasyon yapılmıştır. Mikroorganizmanın mor renkli sıvı besiyerinin renginin sarıya dönüştürmesi L-arabinoz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2004).

3.2.8. Antibiyogram

Bu çalışmada biyokimyasal testler sonucu identifikasyon ayrımı yapılan *E. fecalis*, *E. faecium* ve *E. coli* suşlarının disk difüzyon tekniği ile antibiyotik duyarlılıkları incelenmiştir. Antibiyotik duyarlılık testlerinde penisilin-novobiosin, tetrasiklin, enrofloksasin, trimetoprim-

sulfometoksazol, florfenikol, amoksisilin-klavulanik asit, gentamisin ve kanamisin antimikrobiyel ajanlarını ihtiva eden diskler kullanılmıştır. İdenfite edilen kültürlerin saf kültürlerinden bir öze dolusu alınarak 5 ml Brain-Heart Broth sıvı besiyerine inokulasyon yapıldıktan sonra besiyerleri 37°C'de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. Elde edilen bakteri süspansiyonu 0,5 McFarland bulanıklık derecesine ayarlanmış ve 100 µl alınarak Mueller-Hinton agara ekim yapılmıştır. Ucu alevden geçirilerek steril edilmiş pensetle antibiyotik diskleri agar üzerine uygun aralıklarla yerleştirilmiştir. Besiyerlerinin 37°C'de 24 saat inkube edildikten sonra antibiyotik disklerinin etrafındaki inhibisyon zon çapları ölçülmüş ve bakteriyel etkenlerin antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiştir (CLSI 2012).

4. BULGULAR

4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

Toplam 200 adet kloakal svap örneğinin 21 (% 10) adedinden *E. fecalis*, 24 (% 12) adedinden *E. faecium*, ve 40 (% 20) adedinden *E. coli* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Toplam 115 (% 57.5) örnekte ise bakteriyel üreme saptanmamıştır. Örneklerde bulunan toplam bakteri sayısı Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3. Örneklerde bulunan toplam bakteri sayısı

Türler	İzolasyon Sayısı	Yüzde
<i>E. fecalis</i>	21	10
<i>E. faecium</i>	24	12
<i>E. coli</i>	40	20

4.2. Antibiyogram Bulguları

Bu çalışmada yapılan antibiyogram testi sonucunda bakteriyel izolatlarının penisilin-novobiosin’e duyarlılık oranı % 53, tetrasiklin’e duyarlılık oranı % 59, enrofloksasin’e duyarlılık oranı % 66, trimetoprim-sulfometoksazol’e duyarlılık oranı % 100, florfenikol’e duyarlılık oranı % 87, amoksisilin-klavulanik asit ve gentamisin’e duyarlılık oranı % 95, kanamisin’e duyarlılık oranı % 40 olarak belirlenmiştir. İzole edilen *E. coli* suşları penisilin-novobiosin’e % 100 dirençli olarak saptanmıştır. Antibiyotik duyarlılık oranları Tablo 4’de sunulmuştur.

Tablo 4. Elde edilen izolatların antibiyotik duyarlılık oranları

Antibiyotikler	<i>E. fecalis</i>			<i>E. faecium</i>			<i>E. coli</i>		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Penisilin-novobiosin	21	-	-	24	-	-	-	-	40
Tetrasiklin	5	-	16	15	4	5	30	-	10
Enrofloksasin	10	6	5	14	7	3	32	4	4
Trimetoprim-Sulfometoksazol	16	-	5	16	-	8	30	-	10
Florfenikol	18	3	-	16	8	-	40	-	-
Amoksisilin-klavulanik asit	21	-	-	24	-	-	36	4	-
Gentamisin	21	-	-	20	-	4	40	-	-
Kanamisin	-	2	19	4	4	16	30	-	10

Tür bazında duyarlılıklara bakıldığında ise *E. fecalis*'in penisilin-novobiosin'e duyarlılığı % 100, tetrasiklin'e % 24, enrofloksasin'e % 48, trimetoprim-sulfometoksazol'e % 76, florfenikol'e % 86, amoksisilin-klavulanik asit'e % 100, gentamisin'e karşı % 100 olarak bulunmuş olup, kanamisin'e ise *E. fecalis*'in % 90 dirençli olduğu sonucuna varılmıştır.

E. faecium'un penisilin-novobiosin'e % 100, tetrasiklin'e % 63, enrofloksasin'e % 58, trimetoprim-sulfometoksazol'e % 67, florfenikol'e % 67, amoksisilin-klavulanik asite % 100, gentamisin'e % 83 ve kanamisin'e % 17 duyarlı olduğu sonucu elde edilmiştir.

E. coli'nin tetrasiklin'e % 75, enrofloksasin'e % 80, trimetoprim-sulfometoksazol'e % 75, florfenikol'e % 100, amoksisilin-klavulanik asit'e % 90, gentamisin'e % 100 ve kanamisin'e % 75 duyarlı bulunurken, penisilin-novobiosin'e ise % 100 dirençli olduğu belirlenmiştir.

5.TARTIŞMA

Gelişen antibiyotik dirençliliğinin halk sağlığı açısından önemli bir sorun olduğu bilinen bir gerçektir. Gıdalar aracılığıyla hayvanlardan insanlara dirençli bakterilerin geçebileceği ile ilgili birçok hipotez ortaya atılmıştır (Harisberger ve ark, 2010).

Antibiyotik dirençliliği ile ilgili geçmişten günümüze birçok çalışma yapılmıştır. Chen ve ark (2014), Çin' in 17 farklı şehrindeki yumurtacı kümeslerde yürüttükleri bir çalışmada 1993-2013 yılları arasında enfekte kümeslerden karaciğer, dalak, kan ve dışkı örnekleri olarak *E. coli*' yi izole etmeye çalışmışlar ve elde ettikleri pozitif izolatların farklı antibiyotiklere olan dirençliliklerini belirlemeye çalışmışlardır. Çalışma sonunda *E. coli*'nin ampisiline % 77.2 ve piperasiline % 30, tetrasikline % 90.6, gentamisine % 32.4, trimetoprim-sulfometoksazole ise % 76.9 oranında dirençli oldukları sonucuna varılmıştır (Chen ve ark, 2014).

Blanco ve ark (1997a) ise, hasta ve sağlıklı tavuklardan aldıkları örneklerde antibiyotik dirençliliğini test etmeye çalışmışlardır. Yaptıkları identifikasyon sonucu enfekte sürülerden aldıkları kalp ve karaciğer örneklerinde kolibasilloz varlığını doğrulamışlardır. Ayrıca tespit ettikleri suşların antibiyotiklere duyarlılık oranlarını standart disk difüzyon metodu ile belirlemeye çalışmışlardır. Blanco ve ark (1997a) elde ettikleri bulgulara göre antibiyotikleri 4 gruba ayırmışlardır. Elde edilen verilere göre streptomisin, tetrasiklin, sülfadiazin ve trimetoprim-sulfometoksazolen ilk sırada yer alan grup olmuş ve antimikrobiyal dirençlilik % 67-94 oranında tespit edilmiştir. Blanco ve ark (1997a) ikinci gruptaki antibiyotikleri ampisilin, mezlosilin, piperasilin, nitrofurantoin, nalidiksik asit ve pipemidik asit, üçüncü gruptaki antibiyotikleri sefalotin, neomisin, kanamisin, gentamisin, kloramfenikol ve florokinolonlar, son gruptaki antibiyotikleri ise amoksisilin-klavulanik asid, sefoksitin, sefotaksim, tobramisin, amikasin, kolistin, ve polimiksin B olarak sıralamışlar ve antibiyotiklere dirençliliğin sırasıyla % 36-46, % 12-26 ve % 0-6 olduğunu bildirmişlerdir.

Bogaard ve ark (2002), etlik ve yumurtacı kümesleri, bu işletmelerde çalışanlar da Enterokok türlerini izole etmeye çalışmışlardır. Bogaard ve ark (2002), kümeslerden örnekler almışlar ve buralarda çalışanlardan dışkı örneği vermelerini istemişlerdir. Araştırmacılar almış oldukları örneklerde Enterokok türlerini tanımlamaya çalışmışlardır. Araştırmacılar elde ettikleri bulgulara göre yumurtacı piliçlerin % 96'sının, etlik piliçlerin % 100'ünün, yumurtacı kümeslerinde çalışanların % 100'ünün, etlik piliç kümeslerinde çalışanların ise % 96'sının Enterokok türleri yönünden pozitif olduğunu belirtmişlerdir (Bogaard ve ark, 2002).

Kaya ve ark (2007), tavukların sekumlarından aldıkları örneklerde Enterokokların antibiyotik dirençliliğini tespit etmeye çalışmışlardır. Yapılan çalışmada 3 aylık yaştaki ortalama 2500 gram ağırlığındaki 80 tavuğun hepsinde Enterokok izolasyonu saptamışlardır. Antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesi için ise penisilin, vankomisin, teikoplanin, streptomisin, tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, siprofloksasin ve aminoglikozitlerden faydalanmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre Enterokokların penisilin'e direnci sadece bir suşta tespit edilmiş olup, vankomisin ve teikoplanin'e ise direnç tespit edememişlerdir. Ayrıca seksen suşun % 65'inin streptomisin'e, % 55'inin tetrasiklin'e, % 45'inin eritromisin'e, % 39'unun klindamisin'e, % 9'unun kloramfenikol ve siprofloksasin'e dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Aminoglikozitler'e ise yüksek düzeyde dirençlilik olduğu bildirilmiştir (Kaya ve ark (2007)).

Antibiyotik dirençliliği ile ilgili yapılan bir başka çalışmada ise Yang ve ark (2004), 71 adet tavuktan karaciğer örnekleri almışlardır. Araştırmacılar karaciğer örneklerinden izole ettikleri *E. coli* suşlarının tamamının tetrasiklinler'e dirençli olduğunu, trimetoprim-sulfometoksazol, enrofloksasin, gentamisin ve streptomisin'e dirençliliğinin sırasıyla % 63, % 90, % 30 ve % 80 olduğunu bildirmişlerdir. Amoksisilin-klavulanik asit'e ise bütün izolatların duyarlı olduklarını belirtmişlerdir (Yang ve ark, 2004).

Miles ve ark (2006), tavuklar ile yaptıkları bir çalışmada elde ettikleri *E. coli* izolatlarının antibiyotik dirençliliklerini belirlemeye çalışmışlardır. İzolatların % 71.6'sının enrofloksasin'e, % 17.6'sının tetrasiklinler'e duyarlı olduklarını belirtmişlerdir. Ayrıca bütün izolatların gentamisin'e % 100 oranında duyarlı olduklarını bildirmişlerdir.

EFSA (2015), Avrupa ülkelerinde *E. coli*, *E. fecalis* ve *E. faecium*'un farklı antibiyotiklere karşı dirençliliklerini hazırlamış oldukları bir raporda sunmuştur. Bu rapora göre Fransa'daki kümeslerde *E. coli*'nin gentamisin, tetrasiklin ve streptomisin'e dirençlilikleri sırasıyla % 1, % 65.8, % 36.8, Almanya'da % 8.3, % 35.2, %54.4, İsviçre'de % 0.5, % 23.8, % 15.3, Norveç'de % 2.2, % 7, % 0 olduğu bildirilmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalar, *E. coli*, *E. fecalis* ve *E. faecium*'un farklı antibiyotiklere dirençliliği değişkenlik gösterebildiğini ortaya koymuştur (Anonim 2).

Bu çalışmada ise *E. fecalis*'in penisilin-novobiosin'e duyarlılığı % 100, tetrasiklin'e % 24, enrofloksasin'e % 48, trimetoprim-sulfometoksazol'e % 76, florfenikol'e % 86, amoksisilin-klavulanik asit'e % 100, gentamisin'e % 100 duyarlı bulunmuş ve kanamisin'e ise *E. fecalis*'in % 90 dirençli olduğu sonucuna varılmıştır. *E. faecium*'un penisilin-novobiosin'e % 100, tetrasiklin'e % 63, enrofloksasin'e % 58, trimetoprim-sulfometoksazol'e % 67, florfenikol'e % 67, amoksisilin-klavulanik asit'e % 100, gentamisin'e % 83 ve kanamisin'e % 17 duyarlı olduğu

sonucu elde edilmiştir. *E. coli*'nin tetrasiklin'e % 75, enrofloksasin'e % 80, trimetoprim-sulfometoksazol'e % 75, florfenikol'e % 100, amoksisilin-klavulanik asit'e % 90, gentamisin'e % 100 ve kanamisin'e % 75 duyarlı bulunurken, penisilin-novobiosin'e ise % 100 dirençli olduğu belirlenmiştir. Miles ve ark (2006)'nın bulgularının bizim çalışmamız da elde edilen sonuçlar ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

EFSA (2015)'nin sunmuş olduğu raporda da Fransa, Almanya, İsviçre ve Norveç de *E. coli* suşlarının gentamisin'e dirençlilikleri sırasıyla % 1, % 8.3, % 0.5, % 2.2'dir. Bizim çalışmamızda da elde edilen bütün izolatlar gentamisin'e duyarlı bulunmuştur ve Fransa, Almanya, İsviçre ve Norveç'deki sonuçlarla benzerlik gösterdiği görülmektedir. Tetrasiklin'e karşı saptanan dirençlilik ise Fransa'da % 65.8, Almanya'da %35.2, İsviçre'de % 23.8, Norveç'de ise % 7' dir. Bu çalışma sonunda da tetrasiklinlere dirençlilik % 25 bulunmuştur ve İsviçre'deki sonuçların bizim çalışmamız ile benzerlik gösterdiği gözlenmektedir.

Bu çalışmada *E. faecium*'un tetrasiklin'e dirençliliği % 21 bulunmuş olup ve İsviçre'deki veriler (% 31 dirençlilik) ile benzeşmektedir. Bu çalışmada *E. fecalis*'in ise tetrasiklin'e dirençliliği % 76 tespit edilmiş olup Hollanda'daki (% 80,5) bulgularla benzerlik gösterdiği görülmektedir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada Aydın ilindeki yumurtacı tavuk kümeslerinden toplanan 200 adet kloakal svap örneğinin 21 (% 10)'ından *E. fecalis*, 24 (% 12)'ünden *E. faecium*, ve 40 (% 20)'inden *E. coli* izolasyon ve identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolasyon sonrası yapılan antibiyogram sonuçlarına göre *E. fecalis*'in tetrasiklin ve kanamisin'e, *E. faecium*'un kanamisin'e, *E. coli*'nin ise penisiline novobiosin'e yüksek oranda dirençli olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonunda penisilin novobiosin, amoksisilin-klavulanik asit ve gentamisin'e *E. fecalis*'in, penisilin novobiosin ve amoksisilin-klavulanik asit'e *E. faecium*'un, florfenikol ve gentamisin'e karşı *E. coli* izolatlarının tamamının duyarlı oldukları sonucuna varılmıştır.

E. coli, *E. fecalis* ve *E. faecium* kanatlı hayvanların intestinal sisteminin doğal konakçısı olmaları, dışkı ile çevreye saçılmaları ve antibiyotik direncini diğer bakterilere aktarabilmelerinden dolayı veteriner hekimlikte önem arz etmektedir. Sonuç olarak *E. fecalis*'in neden olduğu enfeksiyonlarda penisilin-novobiosin, gentamisin ve amoksisilin, *E. faecium*'da penisilin-novobiosin ve amoksisilin, *E. coli*'nin neden olduğu enfeksiyonlarda ise gentamisin'in öncelikli olarak tercih edilmesi, karşılaşılan bakteriyel kökenli hastalıkların etkili bir şekilde tedavi edilmelerine olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Abdul Aziz TA, El Sukhon SN.** Serum sensitivity and apathogenicity for chickens and chick embryos of *Escherichia coli* J5 strain. *Veterinary Research* 1996, 27, 267–271.
- Alaboudi AR, Hamed DA, Basher HA, Hassen MG.** Potential pathogenic bacteria from dead-in-shell chicken embryos. *Iraqi Journal Veterinary Science* 1992, 5, 109–114.
- Anonim 1** <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/210011701.pdf>, Erişim tarihi: 12.10.2015.
- Anonim 2** <http://des.nh.gov/organization/commissioner/pip/factsheets/wwt/documents/web-18.pdf>, Erişim tarihi: 12.10.2015.
- Anonim 3** European Commission's web site. http://europa.eu/rapid/press-release_IP-05-1687_en.htm. Erişim tarihi: 12.10.2015.
- Anonim 4** http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1945/fleming-lecture.pdf. Erişim tarihi: 13.10.2015.
- Anonim 5** http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO EMC_ZOO_97.4.pdf Accessed Jun. 2007. Erişim tarihi: 13.10.2015.
- Anonim 6** http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0005/136454/e94889.pdf, Erişim tarihi: 13.10.2015.
- Antão EM.** Identification of Avian pathogenic *E. coli* (APEC) genes important for the colonization of the chicken lung and characterization of the novel ExPEC adhesin I. Doktora tezi, Berlin-Almanya 2010, 139.
- Anthony E, Bogaard VD, Stobberingh EE.** Epidemiology of resistance to antibiotics: Links between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2000, 14(4), 327-355.
- Apata DF.** Antibiotic resistance in poultry. *International Journal of Poultry Science* 2009, 8(4), 404-408.
- Barber M, Rozwadowska-Dowzenko M.** Infection by penicillin-resistant staphylococci. *Lancet*. 1948, 2(6530), 641–644.
- Barnes EM.** The effect of antibiotic supplements on the faecal streptococci (Lancefield group D) of poultry. *British Journal Veterinary* 1958, 114, 333–344.
- Barnes HJ, Nolan LK, Waillancourt JP.** Colibacillosis. In: *Diseases of Poultry* (12 nd ed), Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, USA, 2008, s 691-732.
- Barnes HJ, Waillancourt JP, Gross WB.** Colibacillosis. In: *Diseases of Poultry* (11 nd ed), Iowa State Press; Ames, Iowa, USA, 2003, s 631-652.

- Bennett PM.** Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology* 2008, 153, 347–S357.
- Bilgehan H.** Gram Olumlu Koklar. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Fakülteler Kitabevi, İzmir, TÜRKİYE; 2004. s: 239–68.
- Bitton G.** Wastewater Microbiology (3nd. ed), Wiley-Liss, Hoboken, NJ, 2005, 746.
- Blanco JE, Blanco M, Mora A, Blanco J.** Prevalence of Bacterial Resistance to Quinolones and Other Antimicrobials among Avian Escherichia coli Strains Isolated from Septicemic and Healthy Chickens in Spain. *Journal of Clinical Microbiology* 1997a, 35(8), 2184-2185.
- Blanco JE, Blanco M, Mora A, Blanco J.** Production of toxins (enterotoxins, verotoxins and necrotoxins) and colicins by Escherichia coli strains isolated from septicemic and healthy chickens: relationship with in vivo pathogenicity. *Journal of Clinical Microbiology* 1997b, 35, 2953–2957
- Bliss JM, Garon CF, Silver RP.** Polysialic acid export in Escherichia coli K1: the role of KpsT, the ATP-binding component of an ABC transporter, in chain translocation. *Glycobiology* 1996, 6, 445–452
- Bogaard AE, Willems R, London N, Top J, Stobberingh EE.** Antibiotic resistance of faecal enterococci in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2002, 49, 497-505.
- Boucher Y, Labbate M, Koenig JE, Stokes HW.** Integrons: mobilizable platforms that promote genetic diversity in bacteria. *Trends in Microbiology* 2007, 15(7), 301-309.
- Bozkurt M, Küçükylmaz K, Çath AU, Çınar M.** Growth Performance and Slaughter Characteristics of Broiler Chickens Fed with Antibiotic, Mannan Oligosaccharide and Dextran Oligosaccharide Supplemented Diets. *International Journal of Poultry Science* 2008, 7(10), 969-977.
- Bradford PA.** Extended-Spectrum β -Lactamases in the 21st Century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews* 2001, 14(4), 933–951.
- Bree A, Dho M, Lafont JP.** Comparative infectivity of axenic and specific pathogen free chickens of O2 E. coli strains with or without virulence factors. *Avian Diseases* 1989, 33, 134–139.

- Cantas L, Shah SQA, Cavaco LM, Manaia CM, Walsh F, Popowska M, Garelick H, Bürgmann H, Sørum H.** A brief multi-disciplinary review on antimicrobial resistance in medicine and its linkage to the global environmental microbiota. *Frontiers in Microbiology*. 2013, 4(96), 1-14.
- Caprioli A, Busani L, Martel JL, Helmuth R.** Monitoring of antibiotic resistance in bacteria of animal origin: epidemiological and microbiological methodologies. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2000, 14, 295–301.
- Castanon JIR.** History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science* 2007, 86, 2466–2471.
- Chen X, Zhang W, Yin J, Zhang N, Geng S, Zhou X, Wang Y, Gao S, Jiao X.** *Escherichia coli* isolates from sick chickens in China: changes in antimicrobial resistance between 1993 and 2013. *The Veterinary Journal* 2014, 202(1), 112-5.
- Chopra I, O’Neill AJ, Miller K.** The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bacteria. *Drug Resistance Updates* 2003, 6, 137–145.
- CLSI National Committee for Clinical Laboratory Standards (M02-A11).** Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing, Pennsylvania Wayne. 2012, Vol. 32.
- Crane SR, Westerman PW, Overcash MR.** Die-off of fecal indicator organisms following land application of poultry manure. *Journal of Environmental Quality* 1980, 9, 531-537.
- Crofton J, Mitchison DA.** Streptomycin resistance in pulmonary tuberculosis. *British Medical Journal* 1948, 2(4588), 1009–1015.
- Çiftçi A, Aksoy A.** Antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizması. *Journal of Veterinary Science* 2015, 1(2), 1-10.
- Davies J, Davies D.** Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2010, 74(3), 417-433.
- DebRoy C, Maddox CW.** Identification of virulence attributes of gastrointestinal *Escherichia coli* isolates of veterinary significance. *Animal Health Research Reviews* 2001, 1(2), 129-140.
- Demain AL, Sanchez S.** Microbial drug discovery: 80 years of progress. *The Journal of Antibiotics* 2009, 62, 5-16.
- Dho M, Lafont JP.** Adhesive properties and iron uptake abilities in *E. coli* lethal and non-lethal for chicks. *Avian Diseases* 1984, 28, 1016-1025.

Dho-Moulin M, Bree A, Desautels C, Fairbrother JM. Relationship between presence of the *tsh* and *csgA* genes and virulence in avian *Escherichia coli*. In Abstracts of the 97th General meeting of the American Society for Microbiology, American Society for Microbiology, 4–8 May 1997, Miami Beach, FL.

Dho-Moulin M, Fairbrother JM. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Veterinary Research* 1999, 30, 299-316.

Dupont HL, Formal SB, Hornick RB, Snyder MB, Liboati JB, Sheahan DG, Labrec EH, Džidić S, Šušković J, Kos B. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: Biochemical and genetic aspects. *Food Technology and Biotechnology* 2008, 46 (1), 11–21.

Economic and Social Committee of the European Union. 1998. Opinion on resistance to antibiotics as a threat to public health. No. ESC-98-016-EN. http://eescopinions.eesc.europa.eu/EESCopinionDocument.aspx?identifier=ces\anciennes_section\envi\envi471\ces1118-1998_ac.doc&language=EN Accessed Jun. 2007.

EFSA. Scientific report of EFSA and ECDC. EU Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2013. *EFSA Journal*, 2015, 13(2), 4036 .

Eliopoulos GM. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial drugs. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow N, eds. *Infectious Diseases*. Philadelphia: WB Saunders Co, 1992: 280-286.

Giedraitienė A, Vitkauskienė A, Naginienė R, Pavilionis A. Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina (Kaunas)* 2011, 47(3), 137-46.

Gyimah JE, Panigraphy B. Adhesin-receptor interactions mediating the attachment of pathogenic *Escherichia coli* to chicken tracheal epithelium. *Avian Diseases* 1988, 32, 74-78.

Handwerger S, Tomasz A. Alterations in Penicillin-Binding Proteins of clinical and laboratory isolates of pathogenic *Streptococcus pneumoniae* with low levels of penicillin resistance. *The Journal of Infectious Diseases* 1986, 153(1), 83-89.

Harisberger M, Gobeli S, Hoop R, Dewulf J, Perreten V, Regula G. Antimicrobial resistance in Swiss laying hens, prevalence and risk factors. *Zoonoses Public Health*. 2011, 58(6), 377-87.

Harry, E.G. The survival of *E. coli* in the dust of poultry houses. *The Veterinary Record*, 1964, 76, 466-470.

Hobot JA. Bacterial Ultrastructure,. In: M. Sussman (ed), *Molecular Medical Microbiology*, vol. 1. Academic Press, 2001, s 7-32.

- Hooper DC.** Mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Drug Resistance Updates.* 1999, 2, 38–55.
- Hull RA, Gill RE, Hsu P, Minshew BH, Falkow S.** Construction and expression of recombinant plasmids encoding type 1 or D-mannose-resistant pili from a urinary tract infection *Escherichia coli* isolate. *Infection and Immunity* 1981, 33, 933-938.
- Ince D, Zhang X, Silver LC, Hooper DC.** Dual targeting of DNA Gyrase and Topoisomerase IV: Target interactions of Garenoxacin (BMS-284756, T-3811ME), a New Desfluoroquinolone. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2002, 46(11), 3370-3380.
- İzgür M.** Kanatlı Hayvan Hastalıkları, (1. Baskı), İzgür M ve Akan M (Edt), Ankara-Türkiye, 2002, s 55-61.
- İzgür M.** Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). Aydın Nejat, Paracıkoğlu J. (eds). Ankara, 2006, s 109-127.
- Jones FT, Ricke SC.** Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds. *Poultry Science* 2003, 82, 613-617.
- Kaper JB.** Molecular pathogenesis of enteropathogenic *Escherichia coli*. In: Miller VL, Kaper JB, Portnoy DA and Isberg RR (eds), *Molecular Genetics of Bacterial Pathogenesis.*, Washington, DC: ASM Press, 1994, s 173–195.
- Kaplan T.** The Role of horizontal gene transfer in antibiotic resistance. *Eukaryon* 2014, 10, 80-81.
- Kaya S, Çetin ES, Arıkan S, Tetik T, Kesbiç H, Yaşar S.** Tavuklardan izole edilen *E.coli*, Klebsiella ve enterokoklarda antibiotik duyarlılık durumları. *S.D.Ü Tıp Fakültesi Dergisi*, 2007, 14(2), 24-27.
- Knöbl T, Gomes TAT, Vieira MAM, Bottino JA, Ferreira AJP.** Detection of *pap*, *sfa* and *fim* adhesin-encoding operons in avian pathogenic *Escherichia coli*. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine* 2004, 2(2), 135-141.
- Köhler CD, Dobrindt U.** What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*? *International Journal of Medical Microbiology.* 2011, 301(8), 642-647.
- Krašovec R, Jerman I.** Bacterial multicellularity as a possible source of antibiotic resistance. *Medical Hypotheses* 2003, 60(4), 484–488.
- La Ragione RM, Sayers AR, Woodward MJ.** The role of fimbria and flagella in the colonizations, invasion and persistence of *Escherichia coli* O78:K80 in the day-old-chick model. *Epidemiology and Infection* 2000, 124, 351-363.

- La Razione RM, Woodward MJ.** Virulence factor of *Escherichia coli* serotypes associated with avian colisepticaemia. *Research in Veterinary Science* 2002, 73, 27-35.
- Lambert PA.** Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2005. 57, 1471– 1485.
- Lane MC, Mobley HL.** Role of P-fimbrial-mediated adherence in pyelonephritis and persistence of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) in the mammalian kidney. *Kidney International* 2007, 72, 19-25.
- Maurer JJ, Brown TP, Steffens WL, Thayer SG.** The occurrence of ambient temperature-regulated adhesions, curli, and the temperature-sensitive hemagglutinin Tsh among avian *Escherichia coli*. *Avian Diseases* 1998, 42, 106-118.
- Mellata M, Dho-Moulin M, Dozois CM, Curtiss III R., Brown PK, Arné P, Breé A, Desautels C, Fairbrother JM.** Role of virulence factor in resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* to serum and in pathogenicity. *Infection and Immunity* 2003, 71, 536-540.
- Miles TD, McLaughlin W, Brown PD.** Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from broiler chickens and humans. *BMC Veterinary Research* 2006, 2, 7
- Moore PR, Envension A, Luckey TD, McCoy E, Elvehjam CA, Hart EM.** Use of sulfasuxidine, streptothricin and streptomycin in nutritional studies with chick. *The Journal of Biological Chemistry* 1946, 165, 437-441.
- Morley AJ, Thomson DK.** Swollen-head syndrome in broiler chickens. *Avian Diseases* 1984, 28, 238-243.
- Nikaido H.** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2003, 67(4), 593–656.
- O'Brien AD, Thompson MR, Cantey JR, Formal SB.** 1977. Production of a *Shigella dysenteriae*-like toxin by pathogenic *Escherichia coli*. Abstracts Annu. Met. Am. Soc. Microbiology, ASM, Washington, D.C. (Abstr.B103).
- Ohrel Jr. RL, Register KM.** Volunteer Estuary Monitoring: A Methods Manual (2 nd ed), Washington, DC, 2006, 1-396.
- Okhuysen PC, DuPont HL.** Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC): A Cause of Acute and Persistent Diarrhea of Worldwide Importance. *The journal of Infectious Diseases* 2010, 202(4), 503-505.
- Olsén A, Arnqvist A, Hammar M, Normark S.** Environmental regulation of curli production in *E. coli*. *Infectious Agents and Disease* 1994, 2, 272–274.

- Olsén A, Arnqvist A, Hammar M, Sukupolvi S, Normak S.** The RpSo sigma factor relieves H-NS-mediated transcriptional repression of *csgA*, the subunit gene of fibronectin-binding curli in *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology* 1993, 7, 523-536.
- Pearson JP, Delden CV, Iglewski BH.** Active efflux and diffusion are involved in transport of *Pseudomonas aeruginosa* cell-to-cell signals. *Journal of Bacteriology* 1999, 181(4), 1203–1210.
- Provence DL, Curtiss III R.** Isolation and characterization of a gene involved in hemagglutinin by an avian pathogenic *Escherichia coli* strains. *Infection and Immunity* 1994, 62, 1369-1380.
- Putman M, Van Veen HW, Konings WN.** Molecular properties of bacterial multidrug transporters. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2000, 64(4), 672-693.
- Roe MT, Pillai SD.** Monitoring and identifying antibiotic resistance mechanisms in bacteria. *Poultry Science* 2003, 82, 622–626.
- Sáenz Y, Zarazaga M, Briñas L, Lantero M, Fernanda Ruiz-Larrea F, Torres C.** Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from animals, foods and humans in Spain. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2001, 18, 353–358
- Saga T, Yamaguchi K.** History of antimicrobial agents and resistant Bacteria. *Japan Medical Association Journal* 2009, 52(2), 103-108.
- Salvadori MR, Yano T, Carvalho HF, Parreira VR, Gyles CL.** Vacuolating cytotoxin produced by avian pathogenic *Escherichia coli*. *Avian Diseases* 2001, 45, 43-51.
- Smith HW, Gyles CL.** *Escherichia coli* enterotoxin. *Veterinary Research* 1969, 85(24), 694-725.
- Songer JG, Post KW.** Veteriner Hekimlik Mikrobiyolojisi, Anđ Ö. ve Özgür NY. (Edt), Nobel Tıp Kitapevleri, 2015, s 113-120.
- Starr MP, Reynolds DM.** Streptomycin resistance of coliform bacteria from turkeys fed streptomycin. 51st General Meeting, Society of American Bacteriology, s 15–34, 1951, Chicago, IL.
- Stevens M, Ashbolt, N, Cunliffe D.** Recommendations to change the use of coliforms as microbial indicators of drinking water quality. *Australian Government National Health and Medical Research Council* 2003, s 1-43.
- Swann MM.** Report of the joint committee on the use of antibiotics in animal husbandry and veterinary medicine. HMSO, London, 1969.
- Threlfall EJ, Ward LR, Frost JA, Willshaw GA.** The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 2000, 62(1–2), 1–5.

- Usui M, Ozawa S, Onozato H, Kuge R, Obata Y, Uemae T, Ngoc PT, Heriyanto A, Chalemchaikit T, Makita K, Muramatsu Y, Tamura Y.** Antimicrobial susceptibility of indicator bacteria isolated from chickens in Southeast Asian countries (Vietnam, Indonesia, and Thailand). *The Journal of Veterinary Medical Science* 2014, 76(5), 685-692.
- Vandekerchove D, De Herdt P, Laevens H, Pasmans F.** Colibacillosis in caged layer hens: characteristics of the disease and the aetiological agent. *Avian Pathology*. 2004, 33(2), 117-125.
- Wages, DP.** Isolation and Identification of Avian Pathogens, 4th ed. Streptococcosis, In D. E. Swayne, J. R. Glisson, M. W. Jackwood, J. E. Pearson, W. M. Reed (eds.). American Association of Avian Pathologists: Kennett Square, PA, 1998, 58–60.
- Webber MA, Piddock LJV.** The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003, 51, 9–11.
- Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G.** Koneman's Color Atlas And Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott Williams-Wilkins. PA., USA, 2006, s 683-684.
- Wray C, Woodward MJ.** Escherichia coli infections in farm animals. In: Sussman, M (ed), Escherichia coli Mechanisms of Virulence. Cambridge University Press, UK, 1997, s. 49–84.
- Wright GD.** The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nature Reviews Microbiology* 2007, 5, 175–186.
- Yang H, Chen S, White DG, Zhao S, McDermott P, Walker R, Meng J.** Characterization of Multiple-Antimicrobial-Resistant Escherichia coli Isolates from Diseased Chickens and Swine in China. *Journal of Clinical Microbiology* 2004, 42(8), 3483-3489.
- Yang W, Moore IF, Koteva KP, Bareich DC, Hughes DW, Wright GD.** TetX Is a flavin-dependent monooxygenase conferring resistance to tetracycline antibiotics. *The Journal of Biological Chemistry* 2004. 279(50), 52346–52352.
- Yersushalmi Z, Smorodinsky NI, Naveh MW, RON EZ.** Adherence pili of avian strains of E. coli O78. *Infection and Immunity* 1990, 58, 1129–1131
- Yüce A.** Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klimik Dergisi* 2001, 14(2), 41-46.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : EGE, Gökhan
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Sinop/Boyabat 1985
Telefon : 05052548781
E-mail : ege017@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2010

BURSLAR ve ÖDÜLLER:
xxxx

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2011-Halen	İncir Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Kanatlı Yetiştirme ve Besleme Bölümü	Veteriner Hekim