

**TAVUKLARDAN İZOLE EDİLEN ESCHERICHIA COLI SUŞLARININ BİYOKİMYASAL, COLICINE, LİZOJENİK KAREKTERLERİ VE ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIK ORANLARI ÜZERİNDE İNCELEMELER**

**Serdar Diker\***

**Ersin İstanbulluoğlu\*\***

**Studies on some Charecteristics of Escherichia coli Strains Isolated from Hens**

**Summary:** A total of 35 *Escherichia coli* strains isolated from hens were examined for their biochemical and lysogenic activity, colicine and hemolysin production, sensitivity to several antibiotics. 100 per cent of strains fermented glucose, lactose, mannitol. All isolates were  $H_2S$  and urease negative. It was found that 94.3 per cent of strains were indol positive. Most of the strains (83.0 %) were found to be motile and all the strains were nonhemolytic. 14.2 per cent of the strains were lysogenic and colicinogenic *Escherichia coli*.

The percentage of strains sensitive to carbenicilline, chloramphenicol, streptomycine, ampicilline, tetracycline were 94.3 %, 71.0 %, 57.0 %, 42.0 %, 11.0 % respectively. All isolates were resistant to penicilline, oxytetracycline and rifamycine.

The possible role and significance of *Escherichia coli* strains of hens origin in the epizootiology of plasmid transfer were discussed.

**Özet:** Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsü tavuk hastalıkları teşhis laboratuvarına 1979 yılı içinde gelen 46 adet çeşitli ırk ve yaşlardaki canlı tavukların kloakalarından izole edilen 35 *E. coli* suşunun biyokimyasal özellikleri, colicine karakterleri, lizojenik özellikleri ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılık oranları incelendi.

\* A.Ü. Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsü, Asistan

\*\* A.Ü. Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsü, Doç. Dr.

*İzole ve identifiye edilen suşlar % 100 glukoz, laktoz, mannitol pozitif, H<sub>2</sub>S ve üre negatif, % 94.3 indol pozitif bulundu. İncelenen suşlardan % 83'ü hareketli olup, % 97.2'side gaz oluşturdu. Hemoliz yapan suşa raslanmadı.*

*Disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinde incelenen E. coli suşlarının % 94.3 ü carbenicilline, % 71 i chloramphenicole, % 57 si streptomycine, % 42 si ampicilline, % 11 i tetracycline duyarlı, % 100 ü penicilline, rifamycine, oxytetracycline dirençli bulundu.*

*Suşların % 14.2 sinin colicine sentezleme yeteneğine sahip oldukları, yine % 14.2 sinin lizojenik karakter taşıdığı saptandı.*

*Elde edilen sonuçların ışığında tavuklardaki kolibasillosis infeksiyonlarının kontrolü ve yemlere katılan antibiyotikler nedeniyle barsak florasındaki mikroorganizmaların bunlara karşı gösterdikleri duyarlılık üzerine etkisi tartışıldı.*

## Giriş

Son yıllarda yapılan çeşitli araştırmalarla, hayvanların insanlar için zararlı etkileri olan birçok patojenik mikroorganizmaya konakçılık ettiği ortaya konulmuştur. Bu zararlı etki iki şekilde olmaktadır. Birincisinde, zoonoz hastalık etkenleri hayvanların bulunduğu ekosistemdeki insanlara direk temas yolu ile veya dolaylı olarak geçerek hastalık oluşturmaktadır. İkincisinde ise, gıdalarla alınan ve plazmid taşıyan hayvan orijinli bakteriler insan sindirim kanalına ulaşmakta ve bu ortamda çoğalarak yapılarındaki plazmidlerin bazılarını sindirim kanalındaki diğer mikroorganizmalara konjugasyon yolu ile aktararak bu mikroorganizmaların "antibiyotiklere direnç" gibi yeni özellikler kazanmalarına neden olmaktadır.

Yukarıda açıkladığımız nedenler dolayısı ile diğer ülkelerde olduğu gibi yurdumuzda da hayvansal orijinli mikroorganizmaların karakterlerinin ortaya konmasında halk sağlığı yönünden yararlar vardır.

Bu çalışmamızın amacı tavuklardan izole edilen E. coli suşlarının biyokimyasal ve lizojenite özelliklerini, colicine karakterlerini ve çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılık oranlarını belirlemektir.

## Gereç ve Yöntem

*E. coli suşları*: A.Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsü tavuk hastalıkları teşhis laboratuvarına 1979 yılı içinde getirilen farklı ırk ve yaşlardaki 46 tavuğun kloakalarından steril ekuv-

yonlar ile alınan materyalden izole ve identifiye edildi. Colicine arama testlerinde kullanılan indikatör *E. coli* suşu (*E. coli* 711 col + ve ve 711 col-) Dr. Mishane (USA)'den sağlandı.

*Besi yerleri*: McConkey agar (Difco) ve kanlı agar (% 10 koyun kanı içeren) besi yerleri mikroorganizmaların izolasyonunda kullanıldı. Lizojenite ve colicine yapımının ortaya konmasında trypticase soy agar (BBL) ve hemolizin oluşturma yeteneğinin incelenmesinde kanlı agar besi yerlerinden yararlandı.

*Biyokimyasal özellikler*: İzole edilen suşların biyokimyasal özelliklerinin ortaya konmasında Lassen (5)'in üçlü tüp yönteminden yararlandı. Usulüne uygun olarak yapılan ekimlerden sonra tüpler 37°C de 24 saat inkubasyona bırakıldı. Bu süre sonunda tüplerde oluşan çeşitli reaksiyonlar değerlendirilerek suşların identifikasyonu yapıldı.

*Antibiyotik duyarlılık testleri*: Gülhane Askeri Biyoloji Enstitüsünden sağlanan diskler yardımı ile Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapıldı. Bakterilerin penicilline, carbenicilline, chloramphenicol, streptomycine, tetracycline, oxytetracycline, ampicilline, rifamycine karşı duyarlılıkları incelendi.

*Colicine yapımı*: İzole edilen *E. coli* suşlarının colicine yapma yeteneğinde olup olmadıkları Linton (6) yöntemi ile incelendi. Özetle, *E. coli* suşları trypticase soy agar plakları üzerine ayrı ayrı saç örgüsü şeklinde bükülmüş steril bir öze yardımı ile hat şeklinde ekildikten sonra 35° C de bir gece inkubasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda üreyen mikroorganizmalar kloroform buharının etkisinde bir saat bırakılarak inaktive edildi. Bu işlemden sonra üreyen mikrop kolonileri steril bir lam yardımı ile agar plağı üzerinden kazınarak dışarı alındı. Kloroformla inaktivasyon işlemi 30 dakikalık bir süre için ikinci defa uygulandı ve petri kutularının kapakları yarı açık durumda bırakılarak (15 dakika süre ile) kloroformun tamamen uçması sağlandı. Daha sonra steril iğne uçlu bir öze yardımı ile test suşlarının üreme hattına dikey olarak Col V tipi colicine'e duyarlı olan indikatör suşun (*E. coli* 711 Col V) 24 saatlik buyyon kültüründen ekimler yapıldı. Ekim yapılan petri kutuları 37° C de 24 saat inkubasyona bırakıldı. Test suşunun üreme hattı ile indikatör suşun üreme hattının kesiştiği yerde bir önlem bölgesinin (inhibition zone) oluşumu pozitif olarak kabul edildi.

*Lizojenik suşların belirlenmesi*: Lizojenik karakterdeki *E. coli* suşlarının ayırımında Heller ve Drabkin (2)'in yönteminden yararlandı. 0.02 M CaCl<sub>2</sub> ve 20 mcg/ml nalidixic acid içeren trypticase soy

agar (BBL) plakları üzerine E. coli K12 lac<sup>-</sup> nal<sup>-</sup> col<sup>-</sup> suşunun (kürsümüz kültür koleksiyonundan sağlanmıştır ) 24 saatlik buyyon kültüründen 0.2 ml miktarında damlatıldıktan sonra steril bir cam baget yardımı ile düzgün bir şekilde yayıldı. Bu şekilde hazırlanan agar plaklarına E. coli test suşlarının buyyon kültürlerinden spot inokülasyonlar yapılarak 39° C de bir gece inkubasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda lizojenik etkinin varlığı incelendi.

### Bulgular

İncelenen 46 kloaka içeriğinin 35 adedinden (% 76) E. coli izole edildi. İzole edilen suşların biyokimyasal özellikleri Tablo-1 de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, incelenen suşların hepsi, birkaç ayrıcalık ile, E. coli için karakteristik olan biyokimyasal özellikleri göstermişlerdir. Glukoz, laktoz, mantinol fermentasyonu, H<sub>2</sub> S oluşumu ve üre testleri en güvenilir kriterler olarak kabul edilmiştir.

İncelenen suşların çeşitli antibiyotiklere karşı gösterdikleri duyarlılık ve dirençlilik özelliklerinin oranları Tablo-2 de gösterilmiştir. Suşların % 100 ü penicilline, rifamycine ve oxytetracycline dirençli bulunmuştur. Carbenicilline % 64.3, chloramphenicol % 71, streptomycine % 57, ampilicilline % 42, tetracycline % 11 oranında duyarlı suş saptanmıştır. Mikroorganizmaların tümü çoğul dirençlilik özelliği göstermişlerdir. Bir suş 8 farklı, iki suş 7 farklı, oniki suş 6 farklı, on suş 5 farklı, yedi suş 4 farklı, üç suş 3 farklı antibiyotiğe karşı direnç göstermişlerdir.

İncelenen suşların 5 adedi (% 14) Col V plazmidi yönünden pozitif bulunmuştur. İzole edilen suşların 5 adedi (% 14) lizojenik karakter göstermiş, hemoliz oluşturan suşa raslanmamıştır.

### Tartışma

Son yıllarda yapılan geniş kapsamlı çalışmalar ile kanatlıların ince ve kalın barsaklarında yaşayan ve normalde saprofitik karakterde olan E. coli'lerin belirli koşullar oluştuğunda çeşitli sistemik ve lokal infeksiyonlara neden oldukları ortaya konmuştur (8). Bu infeksiyonların en önemlisi broiler'lerde görülen koli septisemisidir. Septisemi kadar yaygın olmasada E. coli'lerin neden olduğu eklem yangılarına, osteomyelitis, salpingitis, panoftalmitis ve koli granülomalara iyi bakım ve hijyen şartlarının mevcut olmadığı işletmelerde çok raslanır.

Erişkin kanatlılar portör olup, dışkı ve burun akıntıları ile çevreyi devamlı kontamine ederler. Bu nedenle erişkin hayvanların doğal florasında bulunan *E. coli* suşlarının genel özelliklerini incelemek koli infeksiyonlarının epizootiolojisi bakımından önemlidir. Ayrıca son yıllarda yapılan araştırmalar kromozomal mutasyonların yanı sıra antibiyotiklere karşı dirençliliğin plazmidler diye tanımlanan ekstrakromozomal genetik elementler tarafından sağlandığını ve bu tip dirençliliğin bakteriler arasında konjugasyon yoluyla aktarıldığını ortaya koymuştur (7). Tavukçuluk endüstrisinde gerek fizyolojik, gerekse infeksiyonlardan korunmak amacıyla yemlere antibiyotikler katılmakta ve bu ilaçlar barsak florasındaki duyarlı mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyerek dirençli mikroorganizmaların süratle artmasını sağlamaktadır. Çoğalan mikroorganizmalar kolayca eko sisteme yayılmakta ve uygun şartlarda antibiyotiklere direnç özelliklerini insan ve hayvanlarda infeksiyon oluşturan aynı veya farklı türdeki bakterilere aktarmaktadırlar (7). Bu nedenle erişkin kanatlıların barsak florasında bulunan *E. coli* suşlarının antibiyotiklere duyarlılık durumlarının periyodik olarak incelenmesinde yarar vardır.

İzole edilen suşlar % 89 tetracycline, % 100 oxytetracycline dirençli bulunmuştur. Bu sonuçlar, bu iki antibiyotikğin ülkemizde uzun süredir kontrolsüzce kullanılmasının ne denli zararlı etkiler oluşturduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

Chloramphenicol karşı bulunan % 29 oranındaki direnç üzerinde önemle durulması gereken bir husustur. Çünkü *E. coli*'lerin yapısında bulunan bu direnç özelliği bazı hallerde *S. typhi*'ye aktarılmakta ve adı geçen antibiyotikğin tifo infeksiyonlarındaki faydalı etkisi sınırlandırılmaktadır. Son yıllarda çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalar chloramphenicol dirençli *S. typhi* suşlarının süratle arttığını ortaya koymaktadır (1, 3, 7).

İzole edilen suşların tümü çoğul dirençlilik özelliği göstermişlerdir. En çok görülen dirençlilik modeli Tet Rif Pen Oxytet olarak saptanmıştır.

İncelenen *E. coli* suşlarının % 14 ü kolisinogenik bulunmuştur (Col V tipi). Heller ve Drabkin (2) İsrail'de kanatlı orijinli *E. coli* suşları üzerinde yaptıkları çalışmada patojenite ile kolisinogenite arasında bir ilişkinin bulunduğunu saptamışlardır. Aynı Col V tipi kolisin salgılayan *E. coli* suşlarının çocuklar için patojen olduğuna dair yayınlar vardır.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar, kontrolsüz antibiyotik uygulamalarının gerek insan ve gerekse hayvan sağlığı için zararlı sonuçlar doğurduğunu açıkça ortaya koymakta ve hayvanların insanlar için zararlı etkileri olan bir çok mikroorganizmaya konakçılık ettiği savını desteklemektedir.

Tablo 1. İzole edilen E. coli suşlarının biyokimyasal ve bazı özelliklerinin dağılımı

Test	Suş sayısı		Oranı (%)	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
Glukoz	35	—	100.0	0.0
Laktoz	35	—	100.0	0.0
Mannitol	35	—	100.0	0.0
H <sub>2</sub> S	—	35	0.0	100.0
Üre	—	35	0.0	100.0
Gaz	34	1	97.2	2.8
Hareket	29	6	83.0	17.0
İndol	33	2	94.3	5.7
Kolisinojenite	5	30	14.2	85.8
Lizojenite	5	30	14.2	85.8
Hemoliz	—	35	0.0	100.0

Tablo 2. İzole edilen E. coli suşlarının antibiyotiklere karşı duyarlılık ve dirençlilik oranları

Antibiyotik	Suş sayısı		Oranı (%)	
	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
Carbenicilline	33	2	94.3	5.7
Chloramphenicol	25	10	71.0	29.0
Streptomycine	20	15	57.0	43.0
Ampicilline	15	20	42.0	58.0
Tetracycline	4	31	11.0	89.0
Rifamycine	—	35	0.0	100.0
Penicilline	—	35	0.0	100.0
Oxytetracycline	—	35	0.0	100.0

### Literatür

- 1- **Grant, R.B., Bannatyne, R.M., and Shaipey, A.J.** (1976). *Resistance to chloramphenicol and ampicilline of Salmonella typhimurium in Ontario.* Canada. J. Infect. Dis., 134: 354-361.
- 2- **Heller, E.D., and Drabkin, N.** (1977). *Some characteristics of pathogenic E. coli strains.* Br. Vet. J., 133: 572-578.

- 3- **İstanbulluoğlu, E.** (1978). *Septicaemia neonatorumlu buzağlardan izole edilen Escherichia coli suşlarının biyokimyasal, serolojik, enterotoksijenik, antibiyotiklere duyarlılık, bulaşıcı tiğ plazmid (R-faktör) taşıma özellikleri ile infekte ve normal buzağlardan elde edilen serum örneklerinin immunoglobulin (IgG, IgA) miktarları üzerinde incelemeler.* Doçentlik tezi.
- 4- **Lassen, J.** (1975). *Rapid identification of gram negative rods using a three tubes method combined with a dichotomic key.* Acta. Pathol. Microbiol. Scand., Sect. B, 83: 525-533.
- 5- **Linton, K.B.** (1960). *The colicine typing of coliform bacilli in the study of cross-infection in urology.* J. Clin. Pathol., 13: 168-172.
- 6- **Simth, H.W.** (1975). *Antibiotic resistant bacteria in animals: The danger to human health.* World Poultr. Sci. J., 31: 104-115.
- 7- **Sojka, W.J.** (1965). *Escherichia coli in domestic animals and poultry.* Commonwealth Agr. Bureaux., Farnham Royal Buck, England.

Yazı 19.11.1981 günü alınmıştır.