

BRUCELLA CANIS ÜZERİNDE SEROLOJİK İNCELEMELER

Ersin İstanbulluoğlu\*

Serdar Diker\*\*

Serologic studies on *Brucella canis*.

**Summary:** Serum samples of 134 healthy, pet and stray dogs of various ages and both sexes were tested by 2-Mercaptoethanol Tube Agglutination Test (2ME-TAT) on a random basis for *Brucella canis* antibodies. The final serum dilutions corresponded to 1:50, 1:100 and 1:200 respectively. Sera giving reactions in dilutions of 1:200 were considered seropositive.

2ME-TAT results were positive for 9 dogs (6.7%). Of 134 sera tested, 44 (32%) had titers of 1:50, 27 (20%) had titers of 1:100. The reactor rate among the stray dogs was 12% compared to reactor rate of 3.5% for the pet dogs.

*Br. canis* infection in dog in Turkey is reported for the first time.

**Özet:** Çeşitli yaşlarda, her iki cinsten sağlıklı 134 ev ve sokak köpeğinin serumları *Br. canis* antikorları yönünden 2-Merkaptoetanol Tüp Aglütinasyon Testi (2-ME-TAT) ile incelendi. Final serum sulandırılmaları sırasıyla 1:50, 1:100 ve 1:200 olarak yapıldı. 1:200 sulandırmada pozitif reaksiyon veren serumlar, pozitif olarak kabul edildi.

2ME-TAT sonuçları 9 köpek için pozitif (%6.7) bulundu. İncelenen 134 adet serumun 44 (%32)'ü 1:50 sulandırmada, 27 (%20)'si 1:100 sulandırmada pozitif bulundu. Sokak köpekleri arasındaki reaktör oranı %12 bulunmasına karşın, ev köpeklerinde bu oran %3.5 olarak saptandı.

**Giriş**

*Brucella* familyasına ait yeni bir tür olan *Brucella canis* ilk kez 1966 yılında A.B.D.de Carmichael tarafından köpek brusellozisinin

\* Doç.Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

\*\* Arştr. Gör; A. Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

etkeni olarak izole edilmiştir (4). Mikroorganizmanın ilk kez tanımlanmasından günümüze kadar geçen zaman süreci içerisinde birçok ülkede de *Br.canis* infeksiyonlarının varlığı bildirilmiştir (1,2,7,8,11,14,17,18,19,21). Bu araştırmalar sırasında insanların da *Br.canis* infeksiyonlarına duyarlı oldukları ortaya konmuştur (3,5,12,13,15). İnfeksiyonun zoonotik yönden önemi ilk kez 1967'de bir kadının peritoneal apsesinden etkenin izole edilmesi ile anlaşılmış, infekte bir köpekten bulaşma yolu ile oluşan insanlardaki ilk olgu 1972'de saptanmıştır (16). İnfeksiyonun bu gün için köpek sahipleri, köpek bakıcıları, laboratuvarında çalışanlar ve veterinerler arasında görüldüğü çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (3,5).

*Br.canis* dişi köpeklerde yavru atma ve vaginitise, erkek köpeklerde orşitis, epididimitis ve kısırlığa neden olmakta, insanlarda ise ateş, bitkinlik ve eklem ağrıları gibi klinik belirtilerle ortaya çıkmaktadır (3,5,10).

Bakteriyemi devresinin dışında mikroorganizmanın izolasyonunun güç olması nedeniyle *Br.canis* infeksiyonlarının tanısında çoğunlukla 2-Merkaptoetanol Tüp Agglütinasyon Testi (2-ME-TAT) gibi duyarlı serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır (6,10).

Bu araştırmanın amacı, Ankara ilindeki köpeklerde *Br.canis* infeksiyonlarının insidensini serolojik olarak incelemektir.

### Materyal ve Metot

*Serum Örnekleri*: A.Ü. Veteriner Fakültesi Kliniklerine getirilen çeşitli ırk, yaş ve cinsiyette 84 ev köpeğinin ve 50 sokak köpeğinin kan örnekleri toplandı. Usulüne uygun olarak ayrılan serumlar incelemeye kadar -20°C de saklandı.

*2-Merkaptoetanol Tüp Agglütinasyon Testi (2ME-TAT)*: Çalışmada kullanılan ME-TAT, USDA-Diagnostic Reagent Section, Veterinary Services Laboratory, Ames, Iowa, USA tarafından geliştirilen yöntemle yapıldı. Gerekli olan *Br.canis* antijeni ve kontrol serumları aynı laboratuvarında, Dr. G.M.Brown'dan sağlandı.

2ME-TAT özeltle aşağıdaki şekilde uygulandı. Örnek serumlar 10 mm × 100 mm ebatlarındaki 3 tüpe 0.04, 0.02 ve 0.01 ml. miktarlarında konulduktan sonra, her tüpe ayrıca 0.1 M 2-Mercaptoethanol ve %0.6 formalin içeren %3.5 NaCl solusyonundan 1 er ml. eklendi. Stok antijenden, formüllü tuzlu su içinde %0.2 bakteri hücresi içeren

solusyon hazırlanarak tüplere 1 er ml. miktarında konuldu. Sonuçta, serum sulandırılmaları 1:50, 1:100 ve 1:200 oldu. Tüpler çalkalandıktan sonra 37°C de 48+3 saat bekletildi. Bu sürenin sonunda süpernatant sıvısı berraklaşan tüpler pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi. 1:200 sulandırmada olumlu reaksiyon veren serumlar sero-pozitif olarak kabul edildi. Her testte olumlu ve olumsuz kontrol serumları kullanıldı.

### Bulgular

2ME-TAT sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. İncelenen 134 adet serumun 9'u (%6.7) seropozitif bulundu. 44 serum (%32) 1:50 sulandırmada, 27 serum (%20) 1:100 sulandırmada olumlu reaksiyon verdi.

Tablo 1: Bir.canis 2ME-TAT sonuçlarının çeşitli sulandırmalarda dağılımı.

Serum sulandırması	Pozitif Reaksiyon		Sonuç
	Adet	(%)	
1:50	44	%32	NEGATİF NEGATİF POZİTİF
1:100	27	%20	
1:200	9	%6.7	

84 ev köpeğine ait serumların 3(%3.5)'ü sero-pozitif bulunmasına karşın, 50 sokak köpeğinin 6(%12)'si sero-pozitif bulundu. Abort yapmış bir dişi köpek ve orşitisli erkek ev köpeğinin dışında kalan hayvanların yaş, cinsiyet ve geçmişleri ile ilgili kayıtlar olmadığı için sero-pozitif bulunan bu köpeklerin durumları ile ilgili ayrıntılı bir değerlendirme yapılamadı.

### Tartışma ve Sonuç

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Br.canis infeksiyonları yeni bir zoonoz olarak tanımlanmaktadır (3,5,12,13,15). Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda köpeklerdeki Br.canis antikorlarının dağılımı değişik oranlarda bulunmuştur. A.B.D. de yapılan araştırmalarda Boebel, Thiermann ve Wooley, infeksiyon sıklığını sırası ile %6.7, %8.6 ve %9 bulmuşlardır (1,18,21). Japonya'daki köpekler üzerinde yapılan araştırmalarda Ueda incelenen örneklerin %3.6'sını, Wada %2.8'ini Br.canis infeksiyonları yönünden pozitif bulmuşlardır

(19,20). Meksika'da yapılan bir araştırmada ise Flores-Castro %28 gibi yüksek bir oran bildirmiştir (7).

Araştırmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, Türkiye'de Br.canis enfeksiyonlarının varlığı ilk kez ortaya konmaktadır ve çalışmamız ile diğer ülkelerde elde edilen veriler arasında bir paralellik vardır.

Köpeklerin kökenleri göz önüne alındığında, Fredrickson, Br. canis'e karşı oluşan antikor titrelerinin sokak köpeklerinde cv köpeklerine oranla 3.5 kat daha fazla bulunduğunu bildirmiştir (8). Brown, sokak köpeklerindeki enfeksiyon oranını %9 bulmasına karşın, ev köpeklerindeki oranı %1 olarak saptamıştır (2). Saegusa ise, ev ve sokak köpeklerinin ag ütinin titreleri arasında önemli bir farkın bulunmadığını bildirmiştir (14). Araştırmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, Br.canis enfeksiyonlarının Türkiye'deki oranı sokak köpeklerinde daha yüksektir ve bu veriler diğer ülkelerde yapılan çalışmalardan elde edilen veriler ile uyum göstermektedir.

Ülkemizde küçük hayvan koruyucu hekimliğinin yeteri derecede gelişmemesi ve sokak köpekleri ile de gerektiği gibi mücadele edilmemesi nedeniyle birçok zoonozun yanı sıra Br.canis enfeksiyonları da halk sağlığımız için problem yaratacak niteliktedir. Gelecekte, insan ve hayvan popülasyonlarında yapılması gerekli olan geniş kapsamlı çalışmalar ile ülkemizdeki Br.canis enfeksiyonlarının gerçek insidensi ortaya konmuş olacaktır.

### Literatür

- 1- Boebel, F.W., Ehrenford, F.A., Brown, G.M., Angus, R.D. and Thoen, C.O. (1979): *Agglutinins to Brucella canis in stray dogs from certain counties in Illinois and Wisconsin*. J.Am.Vet.Med.Ass., 175: 276-277.
- 2- Brown, J., Blue, J.L., Wooley, R.E., Dreesen, D.W. and Carmichael, L.E. (1976): *A serologic survey of population of Georgia dogs for Brucella canis and an evolution of the slide agglutination test*. J.Am. Vet. Med. Ass., 169: 1214-1216.
- 3- Carmichael, L.E., Flores-Castro, R. and Zoha, S. (1980): *Brucellosis caused by Brucella canis: An update of infection in animals and in humans*. WHO/BRUC./80: 361, WHO/ZOON./80.135.
- 4- Carmichael, L.E. (1966): *Abortion in 200 beagles*. J.Am.Vet.Med. Ass., 149: 1126.
- 5- Currier, R.W., Raithel, W.F., Martin, R.J. and Potter, M.E. (1982): *Canine brucellosis*. J.Am.Vet.Med.Ass., 180: 132-133.

- 6- **Flores-Cactro, R. and Carmichael, L.E.** (1978): *Canine brucellosis, current status of methods for diagnosis.* Cornell Vet.68: 76-88.
- 7- **Flores-Cactro, R. and Segura, R.** (1976): *A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in Mexico.* Cornell Vet. 66:347-352.C
- 8- **Fredrickson, L.E. and Barton, C.E.** (1974): *A serologic survey for canine brucellosis in a metropoliten area.* J.Am.Vet.Med.Ass., 165: 987-989.
- 9- **Galphin, S.P.** (1977): *A serologic survey for Brucella canis in dogs in a military base.* J. Am.Vet.Med.Ass., 171: 728-729.
- 10- **Hubbert, N.L., Bech-Nielsen, S. and Barta, O.** (1980): *Canine brucellosis: comparison of clinical manifestations with serologic test results.* J.Am.Vet.Med.Ass., 177: 168-171.
- 11- **Myers, D.M. and Varela-Diaz, V.M.** (1980): *Serological and bacteriological detection of Brucella canis infection of stray dogs in Moreno, Argentina.* Cornell Vet., 70: 258-265.
- 12- **Polt, S.S. and Schaefer, J.** (1982): *A microagglutination test for human Brucella canis antibodies.* Am. J. Clin. Pathol. 77: 740-744.
- 13- **Ramacciotti, F.** (1978): *Aislamiento de Brucella canis efectuado por prima vez en la republica Argentina con transmision humana.* Rev. Med.Vet., 59: 69-73.
- 14- **Saegusa, J., Udea, K., Goto, Y. and Fujiwara, K.** (1978): *A survey of Brucella canis infection in dogs from Tokyo area.* Jap.J.Vet.Sci., 40: 75-80.
- 15- **Serikawa, T., Muraguchi, T. and Yamada, J.** (1981): *A survey for serum agglutinins to Brucella canis in women.* Jap.J.Publ.Hlth. 27: 329-334.
- 16- **Swenson, R.M., Carmichael, L.E. and Cundy, K.R.** (1972): *Haman infection with Brucella canis.* Ann. Intern.Med., 76: 435-438.
- 17- **Taylor, D.J.** (1980): *Serological evidence for the presence of Brucella canis infection in dogs in Britain.* Vet. Rec., 106: 102-103.
- 18- **Thiermann, A.B.** (1980): *Brucellosis in stray dogs in Detroit.* J. Am. Vet. Med. Ass., 177: 1216-1217.
- 19- **Ueda, K., Saegusa, J., Fujiwara, K., Muto, S., Okada, K., Hasegawa, A., Saegusa, S. and Usui, K.** (1974): *Detection of Brucella canis infection in dogs from Tokyo area.* Jap. J. Vet.Sci., 36: 539-542.
- 20- **Wada, T., Handa, S. and Mohri, S.** (1979): *Serological survey on agglutinins to Brucella canis in dogs of the Kyushu district.* Jap.J.Vet.Sci., 41: 339-341.
- 21- **Wooley, R.E., Brown, J., Shotts, E.B., Blue, J.L. and Dreesen, D.W.** (1977): *Serosurvey of Brucella canis antibodies in urban and rural stray dogs in Georgia.* Vet. Med.Small Anim.Pract., 72: 1581-1584.

EVGİL HAYVANLARDAN İZOLE EDİLEN ESCHERICHIA COLI SUŞLARININ  
TRIMETHOPRİM-SULPHAMETHAXOLE VE COLİSTİN'E DİRENÇLİLİK VE  
R-FAKTÖR ÖZELLİKLERİ ÜZERİNDE İNCELEMELER

Müjgan İzgür\*

Ersin İstanbulluoğlu\*\*

**Studies on trimethoprim-sulfamethoxazole-colistin resistance and R-Factor characteristics of escherichia coli isolated from farm animals.**

**Summary:** *Two hundred-one Escherichia coli isolated from faecal specimens of healthy and infected farm animals were tested for resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMZ) and 156 E.coli strains were examined for resistance to colistin. Beside this, presence of TMP-R factor, SMZ-Rfactor and Colistin-R factor were investigated in resistant E.coli strains.*

*Eleven of 201 (5.2%) E.coli isolates were found resistant to TMP-SMZ. One out of 11 and 4 out of 11 E.coli strains were able to transfer TMP-R factor and SMZ-R factors to recipient E.coli strains respectively.*

*Of 156 E.coli strains 11 (7.05 %) were found resistant to colistin. Infectious R-factors were demonstrated in two resistant strains.*

*The results of investigation showed that intestinal floras of farm animal in Turkey have contained low concentrations of tremethoprim-sulfamethoxazole and colistin resistant E.coli strains yet.*

**Özet:** *Normal ve hastalıklı hayvanların dışkı örneklerinden izole edilen 201 Escherichia coli suşunun trimethoprim-sulfamethoxazole ve colistin'e direnç durumu saptanmış ve bu dirençliliğin ne oranda "bulaşıcı tip" olduğu incelenmiştir.*

*İncelenen 201 E.coli suşunun 11'i (5.2) trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMZ) dirençli bulmuştur. Dirençli suşlardan birinin TMP, dördünün SMZ için aktarılabilir tip direnç özelliği (RTF-Faktör) taşıdıkları belirlendi.*

\* Dr. med. vet., A.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

\*\* Doç.Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

*Colistin'e dirençliliği incelenen 156 E.coli suşundan 11'i (%7.05) bu antibiyotiğe dirençli bulundu. Dirençli suşlardan ikisi bu özelliği duyarlı E.coli suşlarına aktarabildi.*

*Bulgularımız yurdumuzda Veteriner Hekimlik alanında yeni kullanılmaya başlanan kematerapötiklere karşı hayvanların barsak florasında düşük oranda dirençli E.coli bulunduğunu ortaya koymaktadır.*

### Giriş

1885 yılında Theobald ESCHERİCH tarafından genel özellikleri belirlenen Escherichia coli insan ve hayvanlarda çeşitli infeksiyonlara neden olmaktadır (17). Bu infeksiyonların sağıtımında antibiyotiklerden yararlanılmaktadır. Fakat son yıllarda yapılan araştırmalarla mikroorganizmaların çeşitli antibiyotiklere direnç kazandığı tesbit edilmiştir (1,8,9,18). Veteriner Hekimlikte ise antibiyotikler sağıtım amacının yanısıra düşük dozlarda koruyucu ve anabolizan olarak hayvan yemlerine de katılmaktadır. Yapılan araştırma sonuçlarına göre, kloramfenikol, streptomisin, eritromisin, tetrasiklin gibi antibiyotiklerin E.coli üzerine etkilerinin gittikçe azaldığı anlaşılmaktadır (8,9,18). E.coli suşlarının kazanmış olduğu bu direncin aktarılabir bir özellikte olduğu çeşitli araştırmalarla ortaya konulmuştur (3,13).

İnsan gıdası olarak kullanılan çeşitli hayvansal ürünlerle bulaşabilen bu dirençli mikroorganizmalar, insanlarda da dirençli bir floranın şekillenmesine neden olmakta ve insan sağlığını tehdit etmektedirler (10,12).

Bu araştırmada, ülkemizde Veteriner Hekimlik alanında yeni kullanılmaya başlanan TMP-SMZ ile colistin'in hayvansal kökenli E.coli suşları üzerine etkisi ve mevcut dirençliliğin ne oranda aktarılabir plazmidler tarafından kontrol edildiği incelenmiştir.

### Materyal ve Metot

*İncelenen Suşlar:* Denemelerde TMP-SMZ için çeşitli hayvan orijinli toplam 201, Colistin için yine çeşitli hayvan orijinli toplam 156 E.coli suşu kullanıldı.

*Antibiyogram Testleri:* İncelenen E.coli suşlarının antibiyogram testleri DST agar (Oxoid) kullanılarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapıldı. Ayrıca TMP-SMZ ve Colistin'e dirençli E.coli

suşlarının kloramfenikol, ampisilin, gentamisin, kanamisin, ve nalidiksik asit antibiyotik diskleri ile bu antibiyotiklere karşı duyarlılıkları araştırıldı.

**Konjugasyon Denemeleri:** TMP-SMZ'e dirençli olan *E.coli* suşlarının MIC değerleri 10 mcg/ml., 100mcg/ml. ve 1000mcg/ml. TMP içeren McConkey agar plaklarında yapıldı (21). SMZ dirençliliğini belirlemek için 10 mcg/ml.SMZ içeren McConkey agar plakları kullanıldı.

Konjugasyon denemeleri Akman (2)a göre yapıldı ve alıcı suş olarak *E.coli K12 Nal<sup>r</sup> lac<sup>-</sup>* suşu kullanıldı. Konjugasyon besiyeri olarak kullanılan McConkey agarlara 10 mcg/ml. TMP+30 mcg/ml. nalidiksik asit, 10 mcg/ml. SMZ+30 mcg/ml. nalidiksik asit ve 10 mcg/ml. Colistin+30 mcg/ml. nalidiksik asit katıldı.

### Bulgular

TMP-SMZ ve Colistin'e dirençli olan *E.coli* suşlarının hayvan orijinlerine göre dağılımı Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1: TMP-SMZ'e dirençli olan *E.coli* suşlarının orijinleri ve dağılımları (% olarak)

Orijini	Dirençli suş sayısı ve (%)	Suş No.	Oran(%)*
Sığır(21)	6 (%28.5)	6S,8S,13S,26S 58S,62S	2.9
Koyun(115)	2 (%1.7)	4K,106K	0.9
Tavuk(65)	3 (%4.6)	6T,14T,25T	1.4
Toplam(201)	11		5.2

\* Toplam suşlara göre hesaplanan (%) ler.

Tablo 2: Colistin'e dirençli *E.coli* suşlarının orijinleri ve dağılımları (% olarak)

Orijini	Dirençli suş sayısı ve (%)	Suş No.	Oran(%)*
Sığır(21)	3 (%14.2)	3S,58S,61S	1.6
Koyun(115)	8 (% 6.9)	4K,22K,101K, 111K,114K,138K, 158K,183K	5.4
Tavuk(20)	-		-
Toplam(156)	11		7.0

\* Toplam suşlara göre hesaplanan (%)ler.



Tablo 1'de görüldüğü üzere, sığır orijinli 21 E.coli suşunun 6 adedi (%28.5), koyun orijinli 115 E.coli suşunun 2 adedi (%1.7) ve tavuk orijinli 65 E.coli suşunun 3 adedi (%4.6) TMP-SMZ'e dirençli bulundu. TMP-SMZ'e dirençli olan toplam 11 E.coli suşunun yalnızca 2 tanesi colistine dirençli bulundu (E.coli suşu No.158 S ve 4 K).

İncelenen sığır orijinli 21 E.coli suşunun 3'ü (%14.2), koyun orijinli 115 E.coli suşunun 8'i (%6.9) Colistin'e dirençli bulundu, tavuk orijinli suşlar arasında Colistin'e dirençli E.coli suşuna raslanılmadı (Tablo 2).

Tablo 3'de belirtildiği gibi TMP-SMZ'e dirençli 11 E.coli suşundan 6'sı (%54.5) 10 mcg/ml. TMP'e, 3'ü (%27.2) 100 mcg/ml. TMP'e ve 1'i (%9.1) 1000 mcg/ml. TMP'e dirençli bulundu. Ayrıca, 9 suşun (%81.8) 10 mcg/ml. SMZ'e dirençli olduğu gösterilmiştir.

Tablo 3: Çeşitli MIC değerlerinde TMP-SMZ'e dirençli E.coli suşları.

Suş No	TMP (10 mcg/ml)	TMP (100 mcg/ml)	TMP (1000 mcg/ml)	SMZ (10 mcg/ml)
6S	—	—	—	—
8S	+	+	—	+
13S	+	+	—	+
26S	—	—	—	+
58S	—	—	—	+
62S	—	—	—	+
4K	+	—	—	—
106K	+	—	—	+
6T	+	+	+	+
14T	—	—	—	+
25T	+	—	—	+
Toplam	6	3	1	9

(+): Dirençli E.coli suşları

(—): Duyarlı E.coli suşları

TMP-SMZ, Colistin ve diğer antibiyotikler yönünden aktarım deneylerine tabi tutulan E.coli suşlarının konjugasyon sonuçları Tablo 4'de gösterilmiştir. İncelenen dirençli suşlardan 5 tanesinin bulaşıcı tipte R-faktör taşıdığı ve bu suşlardan 3'nün sahip oldukları direnç özelliğini blok halinde alıcı suşa aktardığı saptandı.

### Tartışma ve Sonuç

Veteriner Hekimlik alanında çeşitli antibiyotiklerin koruyucu, tedavi edici ve anabolizan amaçlar ile uzun süreden beri kullanılmasının, bu antibiyotiklere dirençli bir bakteri populasyonunun oluşma-

Tablo 4: Konjugasyon denemelerinde verici ve alıcı suşların antibiyogram test sonuçları.

Verici Suş		Alıcı Suş	
Suş no.	Direnç şeması	Suş no.	Direnç Şeması
58S	SMZ, Co, Chl, Amp, Er	K12(58S)	SMZ, Co, Chl, Er
158K	Co, Chl, Er	K12(158K)	Co, Chl, Er
6T	TMP, SMZ, Er	K12(6T)	TMP, SMZ, Er
14T	SMZ, Chl, Amp, Er	K12(14T)	SMZ, Chl, Er
25T	SMZ, Er	K12(25T)	SMZ, Er

(TMP): Trimethoprim, (SMZ): Sulphamethaxol, (Co): Colistin,  
(Er): Eritromisin, (Chl): Khloramfenikol, (Amp): Ampisilin

sına neden olduğu ve bu dirençli bakterilerin insan ve hayvan sağlığını tehdit ettiği çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur (15,16,21).

Smith, İngiltere'de 1979 yılına kadar düşük düzeyde olan TMP'e dirençli E.coli oranında bu yılda görülen önemli yükselmeyi, bu antibakteriyel maddenin sulfafurazol ile devamlı olarak kullanılması sonucu oluşan seleksiyona bağlamaktadır (16). Diğer bazı araştırmacılar ise TMP dirençliliğinin sulfanomid dirençliliği ile değilce, streptomisin-spektinomisin dirençliliği ile ilişkisi olduğunu iddia etmektedirler (3,7). Diğer bir deyimle bakteriye TMP dirençliliğini veren gen, ya SMZ direnç özelliğini taşıyan plazmiddir veya streptomisin-spektinomisin direnç özelliğini taşıyan plazmidin yapısında bulunabilmektedir. İngiltere'nin yanısıra İtalya, Fransa gibi diğer Avrupa ülkelerinde de TMP-SMZ'e dirençli enterobakteri suşlarının oranlarında artışların olduğu bildirilmektedir (3). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, TMP-SMZ'e dirençli 11 suştan 1'i (%1) TMP ve 4'ü (%36.3) SMZ için aktarılabilir direnç özelliği taşımaktadırlar. Oldukça yüksek oranda olan bulaşıcı tip SMZ dirençliliğinin TMP'e dirençli E.coli populasyonlarının oluşumuna etkisi ancak gelecek yıllarda yapılacak çalışmalar ile ortaya konulabilecektir.

Çalışmamızda, SMZ-Er direnç özelliği %36 oranında dirençli suş tarafından alıcı bakteriye aktarılmıştır. Eritromisin insan hekimliğinde çok kullanılan bir antibiyotik olduğu için TMP-SMZ kombinasyonunun Veteriner Hekimlikte kullanılmasının eritromisine dirençli E.coli florasının oluşumuna etkisi, halk sağlığı yönünde incelenmesi gerekli bir konu olarak ortaya çıkmaktadır.

İnsanlarda klinik olgulardan izole edilen enterobakteri suşlarının TMP dirençliliği hemen hemen tüm Avrupa ülkelerinde gün geçtikçe artmaktadır.

İngiltere'de 1975 yılında yapılan bir incelemede, idrar yollarından izole edilen patojenik suşların %8'i **TMP**'e dirençli bulunmuştur. 1967 yılında yapılan araştırmada ise bu oran %11'e yükselmiştir (3). İtalya'da yapılan incelemelerde **TMP-R**-plazmid taşıyan patojenik enterobakterilerin oranı 1973 te %1.6, 1974 de % 1.9, 1975 de %7.1 bulunmuştur (3). Ülkemizde periyodik taramalar düzenli olarak yapılmadığı için bakterilerin çeşitli antibiyotiklere karşı gösterdikleri dirençliliğin değişme durumu sağlıklı olarak gözlenememektedir. **TMP-SMZ**'nin ülkemizde yeni kullanılmaya başlandığı yıllarda Tezok ve ark. (19), klinik olgulardan izole ettikleri 276 *E.coli* suşunun **TMP-SMZ**'e %46.2 oranında dirençli olduklarını açıklamışlardır. Bu dirençlilik oranı Avrupa ülkelerinde elde edilen sonuçlardan çok yüksektir. **TMP-SMZ** dirençliliği aynı plazmid üzerinde bulunabilmekte ise de, çoğunluk **TMP** dirençliliği streptomisin-spektinomisin dirençliliği ile birlikte bulunmaktadır. Tezok ve ark. nın belirledikleri yüksek dirençlilik oranını, ülkemizde uzun bir süreden beri koruyucu ve tedavi amacıyla yaygın kullanımın oluşturduğu seleksiyon baskısına bağlayabiliriz.

Simth (16), streptomisin-spektinomisin-trimetoprim plazmidlerin konjugatif plazmid ile olduklarını ve **TMP-SMZ** kullanımının bugünkü düzeyde devam ettiği takdirde yakın bir gelecekte dirençli bakteri sayısının "direnç özelliğini" insan ve hayvanlar için patojen olan mikroorganizmalara çok sıklıkla aktarabilecek bir düzeye geleceğini ileri sürmektedir.

Towner (20), infekte idrardan 1024 mcg/ml. **TMP**'e dirençli bir *E.coli* suşu izole etmiş ve dirençliliğin koromozomal olarak yerleşmiş bir trimetoprim-spektinomisin transpozonundan ileri geldiğini saptamıştır. Araştırmacı, ilacın yaygın kullanımı sonucu **TMP**'e karşı kromozomal ve plazmid kökenli direnç özelliğini taşıyan bakteri sayısında son yıllarda önemli artışların görüldüğüne dikkati çekerek, plazmidlere bağımlı **TMP** dirençliliğinin plazmidlerin zaman zaman bakteri dışına atılmasıyla kaybolabileceğine, fakat kromozomal olarak yerleşen transpozonların hem bakteriyi **TMP**'e karşı devamlı dirençli kılacağını, hemde hücreye yeni giren plazmidlerin yapısına da katılarak, bu plazmidlerin aktarıldıkları bakterilerin **TMP**'e dirençli hale getireceğini ileri sürmektedir.

**TMP-SMZ** nin Veteriner Hekimlikte yaygın kullanımının hayvanların immun sistemi üzerine zararlı bir etkisinin olup olmadığı da detaylı olarak incelenmesi gerekli bir sorundur. Hayvan hastalıkları

ile yapılan mücadelede aşılama yolu ile yapılan koruyucu hekimlik uygulamalarının önemli bir yeri vardır. Gaylerde ve Sarkany(6), TMP-SMZ'nin in vitro lenfosit transformasyonunu engellediğini rapor etmişlerdir. Salter(14), TMP-SMZ'in farelerde deri allograft atılımlarını geciktirdiğini, Arvilommi ve ark.(4) ise TMP-SMZ uygulamalarının insanlarda tetanoz toksoidine karşı humoral immün yanıtı baskıladığını açıklamışlardır. Yukarıda çeşitli araştırmalar ile açıklanan TMP-SMZ nin immunosupresif etkisinin ülkemizde Veteriner Hekimlikte kullanılan çeşitli aşılarından beklenen koruyucu özellikler üzerine ne denli etkin olduğu incelenmesi gereken önemli bir konudur.

Yurdumuzdaki çiftlik hayvanların popülasyonununun 100.000.000 nun üzerinde olduğu göz önünde bulundurursak, hayvanlarda kontrolsüz TMP-SMZ kullanımının yakın gelecekte ve insan hayvan varlığımız için ciddi sorunlar yaratacak nitelikte görülmektedir.

Colistin, ülkemizde veteriner hekimlik alanında henüz kullanılmayan bir antibiyotik olup, laboratuvarımızda yaptığımız antibiyogram test sonuçlarına göre hayvan orijinli E.coli ve Salmonella suşları bu antibiyotiğe yüksek oranda duyarlıdır. Aden ve ark.(1), sürgünlü buzağı ve domuz yavrularının dışkılarından izole edilen enterobakteri suşlarının çeşitli antibiyotiklere dirençlilik özelliklerini incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre suşların tümü, kloramfenikol, nitrofurantoin ve nalidiksik asite duyarlı bulunmuştur. Yoon ve ark.(22), çeşitli hayvan türlerinin dışkılarından izole edilen 116 Salmonella suşunun tamamının karbenisilin, gentamisin ve colistine duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Hayvanlarda bulunan çeşitli antibiyotiklere dirençli bakterilerin insanlara kolayca bulaşabileceği ve bu direnç özelliğinin insanlar için patojen olan bakterilere kolayca aktarılabilceği çeşitli araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir (5,11).

Colistin, ülkemizde insan hekimliğinde 10 yıla yakın bir süreden beri kullanılmaktadır. Hayvanların doğal barsak florasında bulunan E.coli suşlarının bu antibiyotiğe ne oranda dirençli olduklarını saptamak amacıyla incelenen 156 suştan %7'si colistine dirençli bulunmuştur. Diğer ülkelerde elde edilen veriler incelendiğinde bu oran oldukça yüksektir. İlaç ülkemizde veteriner hekimlikte tedavi amacıyla veya anabolizan olarak kullanılmadığı için, mevcut yüksek dirençlilik oranı diğer bir antibiyotikğin oluşturduğu seleksiyon sonucu

şekillenebilir. Colistin dirençliliğinin gelecek yıllarda bir artış gösterip göstermeyeceği, varsa, bu seleksiyona neden olan diğer antibiyotiklerin belirlenmesi üzerinde çalışılması gerekli sorunlardır.

### Literatür

- 1- **Aden, D.P., Reed, N.D., Underdahl, N.R. and Mebus, C.A.** (1969): *Transferable drug resistance among Enterobacteriaceae isolated from cases of neonatal diarrhea in calves and piglets.* Appl.Microbiol., 18: 961-964.
- 2- **Akman, M.** (1977): *Bakteri genetiği.* Cumhuriyet Üniv.Yayn., No.1, Ayyıldız matbaası, Ankara.
- 3- **Amyes, S.G.B.** (1979): *Trimethoprim resistance determined by resistance plasmids.* Microbiological, 2: 289-315,
- 4- **Arvillomi, H., Vucris, M. and Salmi, A.** (1972): *Immunosuppression by cotrimexazole.* Br.Med.J., 3:761-762.
- 5- **Clarck, C.H.** (1980): *The dangers of continuous antibiotic feeding in animals.* Auburn Vet., 36:79-81.
- 6- **Gaylerde, P.M. and Sarkany, I.** (1972): *Suppression of thymidine uptake of human lymphocytes by co-trimoxazole.* Br.Med.J., 3: 144-146.
- 7- **Hedges, R.W., Datta, N. and Fleming, M.P.** (1972): *R factors conferring resistance to trimethoprim but no sulphonamides.* J.Clin.Microbiol., 73: 573-575.
- 8- **İstanbulluoğlu, E.** (1978): *Septicaemia neonatorumlu buzağılardan izole edilen E.coli suşlarının biyokimyasal, serolojik, enterotoksijenik, antibiyotiklere duyarlılık, bulaşıcı tip plazmid (I<sub>g</sub>G, I<sub>g</sub>A, I<sub>g</sub>M) miktarları üzerinde incelemeler.* Doçentlik tezi.
- 9- **İzgür, M.** (1981): *Sağlıklı koyunlardan izole edilen E.coli suşlarının çeşitli özellikleri üzerinde incelemeler.* Doktora tezi.
- 10- **Janson, G.L., Fasen, E., Jodal, U. and Kaijer, B.** (1977): *Characteristics of antibiotic resistant E.coli in the rectum of healthy school children.* J.Med. 10:299.
- 11- **Lebek, G.** (1979): *Nutritive antibiotic additives in animal feeding stuffs-a further form of environmental pollution.* Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 168: 562-567.
- 12- **Levy, S.B., Fitzgerald, G.B. and Macone, A.B.** (1976): *Changes in intestinal flora of farm personnel after introduction of a tetracycline-supplemented feed on a farm.* New England J.Med., 295:583.
- 13- **Pohl, P. and Lauren, J.** (1981): *Resistance and pathogenic plasmids.* C.E.C. Seminer. Brussel, 15-16 October, National Inst.Vet.Res., Brussel, 9-189.
- 14- **Salter, A.J.** (1973): *The toxicity profile of trimethoprim/sulphamethoxazole after for years of widespread use.* Med. J.Aust., 1: 70-74.
- 15- **Smith, W. and Tucker, J.F.** (1978): *The effect of antimicrobial feed additives on the colonization of the alimentary tract of chickens by Salmonella typhimurium.* J.Hyg., 80: 217-231.

- 16- **Smith, W.** (1980): *Antibiotic resistance E.coli in market pigs in 1956-1979: the emergence of organisms with plasmid-borne trimethoprim resistance.* J.Hyg., 84: 467-477.
- 17- **Sojka, W.J.** (1965): *Escherichia coli in domestic animals and poultry.* Commonwealth Agr.Burcoux, Farnham Royal Buck, England.
- 18- **Swann, M.M.** (1969): *Report on the joint committee on the use of antibiotics in animal husbandry and veterinary medicine.* Cmnd 4190, HMSO, London.
- 19- **Tezok, F., Kurtar, K., Birol, K. and Onur, E.** (1971): *Çeşitli etkenlerle oluşan insan infeksiyonlarında bactrimin terapötik etkisi üzerinde bir araştırma.* Mikrobiyoloji Bülteni, Cilt 5:83-100.
- 20- **Towner, K.J.** (1981): *A clinical isolate of E.coli owing its trimethoprim resistance to a chromosomally-located trimethoprim transposon.* J.Antimicrob. Chemoth., 7: 157-162.
- 21- **West, B. and White, G.** (1979): *A survey of trimethoprim resistance in the enteric bacteria flora of farm animals.* J.Hyg., 82:481-488.
- 22- **Yoon, Y.D., Kim, J.M., Kim, D.S. and Kmi, B.H.** (1981): *Antimicrobial drug susceptibility of Samonella isolated from various animals.* Kor.J.Vet.Publ. 5:19-24.

Yazı 21.1.1983 günü alınmıştır.

Received on 21.1.1983