

İshalli Sığırlardan *Vibrio Cholerae*'nın İzolasyonu ve Antibiyotiklere Duyarlılığı

Ebubekir CEYLAN¹, Hanifi KÖRKOCA², Hamza BOZKURT²,
Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU², Mustafa BERKTAS²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Van

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van

Özet: Çalışmada 60 ishalli sığır ait gaita örneği *Vibrio cholerae* yönünden incelendi. Klasik yöntemler kullanılarak kültürleri yapılan gaita örneklerinden izole edilen şüpheli suşların kesin identifikasiyonu ile antimikrobiyal ajanlara duyarlılıklarının belirlenmesinde Sceptor Gram Negatif ID paneller (Becton Dickinson, USA) kullanıldı.

Çalışmaya alınan 60 gaita örneğinden bir adet (%1.7) *V. cholereae* suşu izole edildi. Yapılan antimikrobiyal duyarlılık testi sonucunda izole edilen *V. cholerae* suşunun amikasin, amoksisilin-klavulanat, aztreonam, sefoperazon, sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, siprofloksasin, gentamisin, imipenem, tetrasiklin, tikarsilin-klavulanat, tobramisin ve trimetoprim-sulfametoksazole duyarlı, ampisilin, ampisilin-sulbaktam, sefazolin, piperasillin ve tikarsiline ise dirençli olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: *Vibrio cholerae*, inek, antibiyotik, izolasyon.

Isolation of *Vibrio cholerae* and its susceptibility to antibiotics in cattle with diarrhea

Abstract: Feces samples of 60 cattle with diarrhea were investigated for *Vibrio cholerae*. Sceptor Gram Negatif ID panels were utilized in order to identify suspected strains isolated from feces samples cultured using classical techniques and to determine their susceptibility to antimicrobial agents. Only one *Vibrio cholerae* (1.7%) strain was isolated from feces samples of 60 cattle with diarrhoea. Antimicrobial susceptibility test results indicated that *V. cholerae* is susceptible to amikacin amoxicillin-clavulanate, aztreonam, cefoperazone, cefotaxime, cefotetan, ceftazidime, ceftriaxone, cefuroxime, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, tetracycline, ticarcilline-clavulanate, tobramycin and trimethoprim-sulfamethoxazole; and resistant to ampicillin, ampicillin-sulbactam, cefazolin, piperacillin and ticarcilline.

Key words: *Vibrio cholerae*, cattle, antibiotic, isolation.

GİRİŞ

Vibrio cinsi, *Vibrionaceae* familyası içinde yer almaktta olup bu cins içerisinde yer alan, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. metschnikovii*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. fluvialis*, *V. anguillarum*, *V. logei* türleri insan ve su hayvanlarında infeksiyonlara neden olmaktadır (1). *Vibrio cholerae* gram negatif, bir ucunda tek flagella ile hareketli, kıvrık, çomak şeklinde

bir bakteridir (2). Vibriolar somatik (O) ve flagella (H)抗jenlerine sahiptirler. Her bir türde H抗jenleri benzer olup, O抗jenlerinde önemli farklılıklar gözlenmektedir. Bu farklılıklar *V. cholerae* suşlarının O抗jenlerine göre 150'den daha fazla serogruba ayrılmasına neden olmaktadır. Bu serogruplar içerisindeki O1 ve O139 serogrupları kolera enfeksiyonu etkeni olarak bilinmektedir (3, 4). Vibriolar

İshalli Sığırlardan *Vibrio Cholerae*'nın

oksidaz ve katalaz pozitif olup, sitratta ürerler, H₂S yapmazlar. Üreaz negatif, indol pozitif olup nitratları nitrite çevirirler. Voges Proskauer (VP) reaksiyonu *V. cholerae* biyotip *cholerae*'da negatif, biyotip *eltor*'da pozitiftir. Lizin ve ornitin dekarboksilaz enzimleri vardır. *V. cholerae*'nın karbonhidratlara etkisi değişiktir. Glukoz, maltoz, mannoz, sükroz ve mannitole 1-2 günde etkiyerek asit oluşturur, ancak gaz oluşturmaz. Lakteza geç etki ederler (5).

V. cholerae suşlarının kloramfenikol, streptomisin, kanamisin, gentamisin, tetrasiklin, ampisilin, sefalotin gibi antibiyotiklere duyarlı oldukları bilinmektedir (6).

Çalışma, insan ve hayvanlarda ağır gastroenteritlere yol açan *V. cholerae*'nın bölgemizdeki ishalli sığırlarda etken olup olmadığından ve antimikrobiyal ajanlara duyarlılığının araştırılması amacıyla planlanmıştır.

MATERIAL VE METOT

Ishalli 60 sığır çalışmanın materyalini oluşturdu. Bu ishalli 60 sığırından alınan gaita örnekleri *V. cholerae* yönünden incelendi.

Steril eküvyonlarla toplanan gaita örnekleri alkali peptonlu su (pH:9) içerisinde laboratuvara getirilerek 37 °C'de bir gece aerobik şartlarda inkübe edildi. Buradan TCBS (tiyosülfat, sitrat, bile, sükroz agar) (Oxoid) besiyerine pasajlandı. Aerop koşullarda bir gecelik inkübasyondan sonra, opak sarı renkli şüpheli kolonilere oksidaz testi uygulandı. Oksidaz aktivitelerini belirlemek için "N,N-Dimethyl-p-phenylen diammonium dichloride" emdirilmiş dört nolu Watman kağıtları kullanıldı. Oksidaz pozitif bakterilerin Gram boyamaları yapıldı. Oksidaz pozitif, gram negatif kıvrık çomak şeklindeki bakterilerin kesin identifikasiyonları ve antimikrobiyal duyarlılıklarının ortaya konulması amacıyla Sceptor (Becton Dickinson-USA) Gram-negatif ID paneller kullanıldı. *V. cholerae* olarak identifiye edilen bu suşa Voges Proskauer (VP) testi uygulandı. VP testi negatif olarak tespit edilen bu suşun *V.*

cholerae biyotip *cholerae* olduğu belirlendi (7).

BULGULAR

Çalışmada kapsamında incelemeye alınan 60 gaita örneğinden 1 (%1.7) *V. cholerae* suşu izole edildi. *V. cholerae* olarak identifiye edilen bu suşa VP testi ugulandı. VP reaksiyonu negatif olarak tespit edilen bu suşun *V. cholerae* biyotip *cholerae* olduğu saptandı. İzole edilen *Vibrio cholerae* suşunun biyokimyasal özellikleri Tablo 1'de, antimikrobiyal ajanlara duyarlılığı ise Tablo 2'de verilmiştir.

TARTIŞMA

V. cholerae O1 serogrup suşları koleranın nedenidir ve epidemik/pandemik infeksiyon potansiyeline sahiptirler. Halbuki O1 serogrubu dışındaki sporadik gastroenteritis ve ekstraintestinal infeksiyonlara neden olurlar (8). Son zamanlarda O139 serogrubunun da insanlarda epidemik koleraya neden olduğu ortaya konulmuştur (9).

Hindistan ve Bangladeş'te sağlıklı çiftlik hayvanlarından O1 serogrubu dışındaki suşların da izole edilmesine rağmen, O1 serogrubu dışındaki suşların hayvanlarda hastalıkla ilişkisini bildiren az sayıda görüş vardır (10, 11).

Fain Binda ve ark. (12), sığırlarda, *V. cholerae* O1 serogrubu dışındaki suşların ani ölümle sonuçlanan iki salgınla ve bir kronik diyare ile ilişkisini tespit ettiklerini bildirmiştir. Hollanda'da bir sığır diyaresinden O1 serogrubu dışındaki suşun izole edildiği bildirilmiştir (11).

Çakar ve ark. (13), 31 *V. cholerae* suşlarının %55'inin ampisiline, %94'ünün sefotaksime, %61'inin tetrasikline, %77'sinin kloramfenikole, %100'ünün ofloksasine ve siprofloksasine duyarlı olduklarını, Emekdaş ve ark. (14) ise, *V. cholerae* suşlarının kloramfenikole %88, seftriaksona %82, sefoperazon ve piperasilline 81, tetrasikline %80, ampisiline

%13, ampisiline/sulbaktam'a ise %65'nin duyarlı olduğunu, ve %87 oranındaki direncinin önemli olduğunu vurgulamışlardır. Çalışmamızda izole edilen suşun siprofloxasine duyarlı, ampisiline dirençli olması, daha önce yapılan iki çalışmanın bulgularıyla uyum göstermektedir (12, 13). Bununla birlikte gerek yurtçi gerekse yurtdışı literatür taramalarında sığirlarda yapılan sınırlı sayıda çalışmaya rastlandığından bulguları yeterince tartışma olanağı bulunamamıştır.

Yapılan bu çalışmada, sığirlardan izole edilen *V. cholerae* biyotip cholerae suşu sadece biyokimyasal yöntemlerle identifiye edilmiş olup, serotiplendirilmesi yapılamamıştır. Kolera gibi önemli bir hastalığa sebep olan bu etkenlerle ilgili olarak daha ayrıntılı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Ayrıca bölgemizde sığirlardan *V. cholerae*'nın izolasyonu ve antimikroiyal duyarlılığının ortaya konulması ilk defa bu çalışmaya gerçekleştirmiştir. İnsan ve hayvan sağlığı açısından önemli bir patojen olan *Vibrio cholerae* ile ilgili olarak daha kapsamlı çalışmaların planlanması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Diker KS:Vibrionaceae familyası, Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydin N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS, ed: Özel Mikrobiyoloji s 62, 4.baskı, Medisan, Ankara, (1997).
2. Salyers AA, Whitt DD: Cholera (*Vibrio cholera*). In:Bacterial pathogenesis: a molecular approach, Washington DC:ASM Press, pp.141-55, (1994).
3. Shears P:Cholera, Ann Trop Med Parasitol. 88:109-22, (1994)
4. Hase CC, Judson N, Mekalanos JJ: Cholera. In: Lederberg J,ed. Encyclopedia of Microbiology. Vol. 2. San Diego, CA: Academic Press. 789-800, (2000).
5. Erdem B: *Vibrionaceae* , "Ustaçelebi S, ed: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji" kitabında s. 518, Güneş Kitabevi, Ankara (1999).
6. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, 8. baskı, s.89, Fakülteler Kitabevi, İzmir (1993).
7. Carnahan AM, Kaplan RL: *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* and *Campylobacter*, Mahon and Manoselis Jr, eds: Textbook of Diagnostic Microbiology WB Saunders Company Philadelphia. s.492-511, (1995).
8. Janda M, Powers C, Bryant RG, Abbott SL: Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio* spp. Clin. Microbiol. Rew. 1: 245-267 (1988).
9. Albert MJ: *Vibrio cholera* O139, J. Clin. Microbiol. 32: 2345-2349 (1994).
10. Sanyal SC, Singh SJ, Tiwari JC, Sen PC, Marwash SH, Hazarika UR, Singh H, Shimada T, Sakazi R: Role of house-hold animals in maintenance of cholera infection in a community, J. Infect. Dis., 130:575-579 (1974).
11. Visser IJR, Vellema P, Van Dokkum H, Shimada T: Isolation of *Vibrio cholera* from diseased farm animals and surface water in the Netherlands, Vet. Rec. 144:451-452 (1999).
12. Fain Binda JC, Comba E, Pedrana MA, Ananos N: Enfermedades animales asociadas a *Vibrio cholera* non O-1 (NAG), Vet. Argentina 10:310-315 (1993).
13. Çakar D, Dinç E, Ağaç E, Aydin İ, İris N, Şişmeş F, Özgüneş N: *V. cholera* biyotip Eltor suşlarında antibiyotik duyarlılığı, Ankem Derg. 9(2): 134 (1995).
14. Emekdaş G, Kocabeyoğlu Ö, Gün H, Küçükkaaraaslan A: *Vibrio cholera* biyotip Eltor serotip Ogawa suşlarının kemoterapötik duyarlılıkları, Ankem Derg. 4(2):229 (1990).

İshalli Sığırlardan *Vibrio Cholerae*'nın

Tablo 1: İzole edilen *V. cholerea* suşunun biyokimyasal özellikleri.

Oksidaz	+
Katalaz	+
Voges Praskauer (VP)	-
Hareket	+
% 6 NaCl içeren Nutrient brotta üreme	-
Sitrat	-
Polimiksin B	-
Dekstroz	+
Malonat	-
Eskülin	-
β -galaktozidaz (ONPG)	+
Lizin	+
Arjinin	-
Ornitin dekarboksilaz	+
Üreaz	-
H ₂ S	-
İndol	+
Ramnoz	-
Melibioz	-
Mannitol	+
Arabinoz	-
Ksiloz	-
Sukroz	+
Dnase	+
Paranitrofenil fosforil kolin	+
Glisin	-

Tablo 2: İzole edilen *V. cholerae* suşunun antimikrobiyal ajanlara duyarlılık sonuçları.

Antibiyotikler	Duyarlılık
Amikasin	S
Amoksisilin/Klavulanik asid	S
Aztroenam	S
Sefoperazon	S
Sefotaksim	S
Sefotetan	S
Seftazidim	S
Sefriakson	S
Sefuroksim	S
Siprofloksasin	S
Gentamisin	S
İmipenem	S
Tetrasiklin	S
Tikarsilin/ Klavulanik asid	S
Tobramisin	S
Trimetoprim/Sulfametaksazol	S
Ampisilin	R
Ampisilin/sulbaktam	R
Sefazolin	R
Piperasilin	R
Tikarsilin	R

S: Duyarlı, R: Dirençli