

İSHALLİ TAYLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLER VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

ISOLATION OF BACTERIAL AGENT FROM DIARRHEA WITH FOAL AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY

Ayşe Ebru Borum

Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ,Balıkesir

Yazışma Adresi:

Ayşe Ebru Borum

Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ,Balıkesir /
Türkiye

E posta: ebruborum@balikesir.edu.tr

Gönderim Tarihi :26 Ekim 2017

Kabul Tarihi: 11 Ocak.2018

doi : [10.5505/bsbd.2018.45822](https://doi.org/10.5505/bsbd.2018.45822)

Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi

ISSN: 2146-9601

e-ISSN: 2147-2238

bsbd@balikesir.edu.tr

www.bau-sbdergisi.com

ÖZET

GİRİŞ ve AMAÇ: Taylardaki ishal vakaları ölüme kadar giden ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir Bu çalışmada, ishali taylardan bakteriyel etkenlerin izolasyonu ve izolatların bazı antibiyotiklere in vitro duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlandı. **YÖNTEM ve GEREÇLER:** ishali toplam 58 taydan fekal svap örnekleri alındı. Etkenler konvansiyonel yöntemlerle izole ve identifiye edildi. İzole edilen bakterilerin agar disk difüzyon testi ile antibiyotik duyarlılıkları belirlendi.

BULGULAR: Tüm örneklerden 68 suş izole edildi. Örneklerden karışık kültür 9 (%13.23), saf kültür ise 59 (%86.76) adet üredi. Bu mikroorganizmalar içinde en fazla *Citrobacter* spp. (%44.11) üredi. Daha sonra sırası ile *Escherichia coli* (%30.88), *Klebsiella oxytoca* (%8.82), *Staphylococcus* spp. (%5.88), *Micrococcus luteus* (%4.41), *Streptococcus zooepidemicus* (%1.47), *Acinetobacter calcoaceticus* (%1.47) ve *Pseudomonas aeruginosa* (%1.47) üredi. Bu bakteriler üzerine en etkili antibiyotikler sırası ile nitrofurantoin, enrofloksasin, ampicilin-sulbactam, gentamisin ve amoksisilin-klavulanik asit olarak belirlendi.

TARTIŞMA ve SONUÇ: Ekonomik olarak oldukça değerli olan tayların mutlaka ishallerinin kontrol altına alınması ve etkenin belirlenerek gerekli antibiyotik ve destek tedavisinin uygulanması oldukça önemlidir. Bu konuda daha çok yapılacak araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik duyarlılığı, fekal svap, ishal

SUMMARY

INTRODUCTION: Diarrhea in foal can cause serious infections to death. In this study, the determination of microorganisms and antibiotic susceptibility of isolated bacteria in fecal swab samples collected from foals with diarrhea were aimed.

METHODS: Sixty-eight strains were isolated from all of samples. The agents were isolated and identified with conventional methods.

RESULTS: The organisms were isolated in pure culture from 59 (86.76%) samples and were isolated in mixed culture from 9 (13.23%) samples. *Citrobacter* spp. (44.11%) was the most frequently isolated agent. Also, *Escherichia coli* (30.88%), *Klebsiella oxytoca* (8.82%), *Staphylococcus* spp. (5.88%), *Micrococcus luteus* (4.41%), *Streptococcus zooepidemicus* (1.47%), *Acinetobacter calcoaceticus* (1.47%), and *Pseudomonas aeruginosa* (1.47%) were isolated, respectively. This bacterial agents were found susceptible nitrofurantoin, enrofloxacin, ampicillin-sulbactam, gentamycin, amoxicillin-clavulanic acid, respectively.

DISCUSSION AND CONCLUSION: It is very important to apply the necessary antibiotic and supportive treatment to determine the cause of the fever which is very economically valuable and to control the diarrhea. There is a need for further research in this regard.

Keywords: Antibiotic sensitivity test, fecal swab, diarrhea

GİRİŞ

Yazılı kaynaklar incelendiğinde, diğer evcil hayvanlara göre taylardaki ishal etkenleri konusunda daha az sayıda çalışmanın olduğu dikkati çekmektedir. Yeni doğan ve emen taylarda ishale sebep olan yeni etkenler keşfedilmiştir. Bakteriyel kültür bu etkenleri belirlemede öncelikli uygulanan yöntemdir. Taylardaki ishal vakaları ölüme kadar giden ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir¹.

Yenidoğan taylarda ishal yaygın bir sorundur. Neredeyse tüm taylar yaşamlarının ilk haftasında bakteriyel, viral veya paraziter nedenli ishal olurlar. Yaşamlarının ilk 5-15 günlük döneminde ve beklenen ilk östrus döneminde ishal oluşabilir. Bu dönemdeki ishal "tayların ısı diarezi" olarak isimlendirilir. Genellikle tayların davranışlarında bir azalma, farklılaşma olmaz, ancak yaşamlarının ilk 2 ayında ishalin 20 günden fazla sürmesi nedeni ile taylar iyi gelişemez. Yenidoğan taylarda aerob ve fakültatif anaeroblar dışkılarında belirlenmiştir. Katı yiyecekler verilmeden önce bağırsaklarında selülotik bakteriler kolonize olmuştur. İntestinal mikroflora ekzojen bakterilerin kolonize olması ve patojen bakteriler için bir bariyer oluşturur¹. Taylarda ishalin parazitik sebepleri genellikle *Strongyloides westerni* ve *Strongylus vulgaris* ile viral sebebi rotavirustur. Bakteriyel etkenler içinde en fazla *Salmonella* spp. sorumlu tutulmaktadır. Genellikle tayların yaşamlarının ilk 8 günü önemlidir. Taylar zayıflar, dehidredir, ileri aşamada etken kan dolaşımına girerek laminitise sebep olur. *Clostridium (C.) perfringens* tip A, B ve C, 7 günlükten küçük tayları etkiler. Günlük taylarda ölümcül ishal sebebi olan bu etkenler, kanlı ishale neden olmaktadır. Derhal veteriner hekim müdahalesine ihtiyaç duyar. *C. difficile* ise 3 günlükten küçük taylarda kanlı ishal ve ani ölümlere sebep olur^{1, 2}. Eğer tay 3 günden küçük ise beslenemiyor, depresif ve kanlı bir ishali varsa derhal veteriner hekime haber verilmelidir. Eğer tayda ısı ishali varsa ve yaşı 32 aydan büyük ise parlak, aktif, hareketli ve beslenebiliyorsa kontrol altında tutularak destekleyici tedaviler uygulanmalıdır².

Bu çalışmada, ishali taylardan fekal svaplar alınarak etken izolasyonu ve identifikasyonu yapılmış, etkenlerin *in vitro* antibiyotik duyarlılıkları incelenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM :

Çalışmada materyal olarak daha önce tedavi uygulanmamış 58 adet taydan alınan fekal svap örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler kısa sürede ve soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılmıştır.

İzolasyon:

Fekal svap örneklerinden kanlı agar (Merck 1.10886), ampisilinli kanlı agar, *Campylobacter* agar (Oxoid CM0689), EMB agar (Oxoid CM0069), XLD agar (Oxoid CM0469) ve brilliant green agara (Oxoid CM 0263) ekimler yapılarak, uygun şartlarda inkube edilmiştir.

Aeromonas spp.

Fekal svap örnekleri alkalın peptonlu suya (pH 8.4) konarak, 28 °C'de 18-24 saat bekletildi. 10 mg/lt. ampisilin içeren ampisilinli kanlı agara ekim yapılarak, 37 °C'de 24 saat aerobik koşullarda inkube edildi. Oksidaz ve katalaz pozitif olan koloniler TSB'ye ekilerek 37 °C'de 24 saat inkube edildi^{3,4}.

Campylobacter spp.:

Selektif suplementli *Campylobacter* agara ekim yapılarak, mikroaerofilik koşullarda 1-2 gün, 37-42°C'de inkube edildi. S-tipli, non-hemolitik koloniler identifiye edildi⁵.

Salmonella spp.:

Fekal svap örnekleri tetrathionat broth'da (TTB) 41°C'de 24 saat inkube edildi. İnkubasyon sonrası XLD ve brilliant green agara ekimler yapıldı. 37°C'de aerobik şartlarda 24 saat inkube edildi.

E. coli izolasyonu amacıyla EMB ve koyun kanlı agar kullanıldı⁶.

Clostridium spp.:

Fekal svaplar cooked meat mediuma inokule edilerek, 37°C'de anaerobik koşullarda 24-72 saat inkube edildi.

İdentifikasyon:

İzole edilen etkenler konvansiyonel yöntemlere göre identifiye edildi. Bu amaçla katı besiyerinde üreyen etkenler öncelikle makroskopik morfoloji ve hemoliz bakımından kontrol edildi. Basit ve Gram boyama yöntemleriyle mikroskopik morfolojileri tanımlandı. Bunu takiben katalaz, oksidaz, hareket, H₂S, eskulin, sitrat, %6 NaCl'de üreme, SIM besiyerinde üreme, glukoz, sukroz, galaktoz, salisin, mannitol, arabinoz ve glukozla oksidasyon-fermentasyon testleri, MR/VP ve indol testleri uygulandı^{3,4,7,8}.

Antibiyotik Duyarlılık Testi:

Bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri Mueller Hinton Agar (Oxoid)'da Kirby-Bauer disk difüzyon testi ile Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI, 2013) kriterlerine göre yapıldı ve değerlendirildi. Test amacıyla, amoksisilin-klavulanik asit (Oxoid, 30 µg), enrofloksasin (Oxoid, 5 µg),

gentamisin (Oxoid, 10 µg), oksitetrasiklin (Oxoid, 30 µg), trimetoprim-sulfametoksazol (Oxoid, 25 µg), ampicillin-sulbactam (Oxoid, 20 µg), nitrofurantoin (Oxoid, 50 µg), Cephalothin (Oxoid, 30 µg), streptomycin (Oxoid, 25 µg) ve penicilin G (Oxoid, 10 µg) diskleri kullanıldı.

BULGULAR

İzolasyon Sonuçları:

Test edilen 58 örneğin 49'undan (%86.76) saf kültür, 9'undan (%13.23) ise karışık kültür olarak üredi. İzole edilen etkenler, 30'u (%44.11) *Citrobacter* spp., 21'i (%30.88) *E. coli*, 16'sı (%8.82) *K. oxytoca*, 4'ü (%5.88) *Staphylococcus* spp., 3'ü (%4.41) *Micrococcus luteus*, 2'si (%3.77) *Acinetobacter calcoaceticus*, 1'i (%1.47) *Streptococcus zooepidemicus* ve *P. aeruginosa* olarak tanımlandı. Örneklerin hiç birinden *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Aeromonas* spp. ve *Campylobacter* spp. üremedi. *Citrobacter* türleri *C. amaloniticus*, *C. diversus* ve *C. freundii*, *Staphylococcus* türleri ise *S. epidermidis* ve *S. aureus* olarak tanımlandı.

Antibiyotik Duyarlılık Testi:

İzole edilen etkenlerin antibiyotik duyarlılık test sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. *Citrobacter* spp. türleri enrofloksasin (%76.66), nitrofurantoin (%83.33), ampicilin-sulbactam (%70), amoksisilin-clavulanik asit (%63.33) ve gentamisin'e (%60) duyarlı bulundu. *E. coli* enrofloksasin (%90.47), nitrofurantoin (%85.71), ampicilin-sulbactam (%71.42), amoksisilin-clavulanik asit (%80.95) ve gentamisin'e (%80.95) duyarlı bulundu.

TARTIŞMA

İlk 5-15 günlük dönemde taylarda ısı dairesi görülmesi %75-80 oranında normal olarak kabul edilmektedir. Bunun farklı sebepleri vardır. Artan ince bağırsak hipersekresyonu ile henüz olgunlaşmamış kolona zarar verebilen ısı ve elektrolitin absorbe edilememesi, beslenme yemine geçiş ile oluşan normal mikrofloraya yanıt ve süt ikame yemleri ile beslenen taylarda ishal gelişir. Taylar genellikle iştahlı, kondüsyonu iyidir, hafif sulu ishal görülür. Dışkı pH'ı 5'tir. Tayların ısı ishalinden sonra fekal kompozisyonu yetişkin atın fekal mikroflorasına dönüşür⁹.

Kuhl ve ark.¹⁰ tarafından yapılan bir çalışmada doğduğu gün düşük olan *E. coli* sayısı 1 gün sonra artmıştır. İlk 10 günde *Enterococcus* spp., 2-4 haftada *Streptococcus* spp. ve *Staphylococcus* spp. düşük seviyede bulunmuştur. 4 haftalık dönemden sonra bakteriyel flora yetişkin bir atın mikroflorasına dönüşüğü saptanmıştır. Costa ve ark.¹¹

tarafından yapılan çalışmada, ilk 6 aylık dönemde taylara ait dışkı örneklerinden *Clostridium* spp., *Ruminococcus* spp., *Lachnospiraceae*, *Firmicutes* spp., *Gammaproteobacteria* spp., *Lactobacillus* spp., *Sporobacter* spp., *Treponema* spp., *Akkermansia* spp., *Acinetobacter* spp., *E. coli*, *Enterococcus* spp. ve *Staphylococcus* spp. izole ettiklerini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise sağlıklı 37, gastrointestinal problemi bulunan 51 taydan alınan fekal örneklerden rotavirus, coronavirus, *Clostridium difficile*, *Neorickettsia risticii*, *Clostridium perfringens* alpha toxin, *Lawsonia intracellularis*, *Rhodococcus equi*, *Cryptosporidium* spp., ve *Salmonella* spp. izole edildiği bildirilmiştir⁶. At ve katırlarda yapılan bir çalışmada *Hafnia alvei*, *Serratia odorifera*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia vulneris*, *Clostridium clostridioforme*, *Yersinia enterocolitica*, *Sherwinella putraformis* ve *Enterobacter* spp. ürettiği rapor edilmiştir⁵.

Bu çalışmaya ait izolasyon sonuçları diğer çalışmalara ait verilerle karşılaştırıldığında^{6,10,11} yüksek oranda benzer oldukları görülmektedir. Bu durum, taylardaki ishal vakalarının bakteriyel etiolojisinin oldukça kompleks olmasıyla açıklanabilir. Ancak çalışmada izole edilen etkenler "tayların ısı diarezi" olma ihtimalinin yüksek olduğunu göstermektedir. Çünkü ağırlıklı olarak infeksiyöz etkenler izole edilmemiştir.

Yapılan çalışmada nitrofurantoin, enrofloksasin, ampicilin-sulbactam, amoksisilin-klavulanik asit ve gentamisin en etkili antibiyotikler olarak bulunmuştur. Tay ishallerinde etkenin belirlenmesi oldukça önemlidir. Çünkü infeksiyöz ishal etkenleri tayların hem ölümüne sebep olmakta hem de kondisyon ve gelişim yetersizliği oluşturmaktadır. Ekonomik olarak oldukça değerli olan tayların mutlaka ishallerinin kontrol altına alınması ve etkenin belirlenerek gerekli antibiyotik ve destek tedavisinin uygulanması oldukça önemlidir. Bu konuda daha çok yapılacak araştırmalara ihtiyaç vardır.

Tablo 1: İshalli taylardan izole edilen etkenler ve antibiyotik duyarlılığı

	<i>Citrobacter</i> spp. n=30	<i>E. coli</i> n=21	<i>K. oxytoca</i> n=6	<i>Shigelloccoccus</i> spp. n=4	<i>M. luteus</i> n=3	<i>S. zooepidemicus</i> n=1	<i>A. calcoaceticus</i> n=2	<i>P. aeruginosa</i> n=1
**	S	R	S	R	S	R	S	R
ENR	23 (%76.66)	7 (%23.33)	19 (%90.47)	2 (%9.52)	5 (%83.33)	1 (%16.66)	4 (%100)	0 (%0)
CN	18 (%60)	12 (%40)	17 (%80.95)	4 (%19.04)	3 (%50)	3 (%50)	1 (%100)	0 (%0)
AMC	19 (%63.33)	11 (%36.66)	17 (%80.95)	4 (%19.04)	2 (%33.33)	1 (%100)	2 (%100)	1 (%100)
SAM	21 (%70)	9 (%30)	15 (%71.42)	6 (%28.57)	4 (%66.66)	2 (%33.33)	1 (%100)	0 (%0)
SXT	10 (%33.33)	20 (%66.66)	12 (%57.14)	9 (%42.85)	1 (%16.66)	5 (%83.33)	1 (%100)	0 (%0)
N	25 (%83.33)	5 (%16.66)	18 (%85.71)	3 (%14.28)	5 (%83.33)	1 (%16.66)	2 (%100)	0 (%0)
OT	7 (%23.33)	23 (%76.66)	8 (%38.09)	13 (%61.90)	4 (%66.66)	2 (%100)	1 (%100)	0 (%0)
CPT	6 (%20)	24 (%80)	2 (%9.52)	19 (%90.47)	0 (%0)	4 (%100)	1 (%100)	0 (%0)
S	6 (%20)	24 (%80)	2 (%9.52)	19 (%90.47)	0 (%0)	3 (%75)	0 (%0)	0 (%0)
P	1 (%3.33)	29 (%96.66)	1 (%4.76)	20 (%95.23)	0 (%0)	4 (%100)	0 (%0)	1 (%100)

*S: Susceptible, R: Resistant

** ENR: Enrofloxasin, CN: Gentamisin, AMC: Amoksisilin/Klavulanik asit, SAM: Ampisilin/Sulbaktam, SXT: Trimethoprim/Sulfametoksazol, N: Neomisin, OT:

Oksitetrasiklin, CPT: Seftriakson, S: Sterptomisin, P: Penisilin G.

KAYNAKLAR:

1. Lester GD. Infectious Diarrhea in Foals. Proceedings of the Annual Convention of the AAEP 2001, Vol. 47.
2. John J, Roediger K, Schroedl W, Aldaher N, Vervuert I. Development of intestinal microflora and occurrence of diarrhoea in sucking foals: effects of *Bacillus cereus* var. toyoi supplementation. BMC Ve. Res. 2015; 11(34): 2-7.
3. Akan M, Diker KS, Koçak C, Yıldırım M, Bozkurt Ş. Çiğ süttten hareketli aeromonas türlerinin izolasyonu. Gıda, 1996; 21(5): 383-386.
4. İlhan Z, Gülhan T, Aksakal A.: *Aeromonas hydrophila* associated with ovain abortion. Small Rumin Res. 2006; 61(1): 73-78.
5. Derlet RW, Carlson J. An Analysis of Human Pathogens Found in Horse/Mule Manure Along the John Muir Trail in Kings Canyon and Sequoia and Yosemite National Parks. Wilderness Environ Med. 2002; 13(2): 113-118.
6. Slovis NM, Elam ME, Leutenegger CM. Infectious agents associated with diarrhoea in neonatal foals in central Kentucky: A comprehensive molecular study. Equine Vet J. 2014; 46: 311-316. Pass RF. Epidemiology and transmission of Cytomegalovirus. J Infect Dis 1985; 152:243.
7. Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Fitzpatrick ES, Fanning S, Hartigan PJ. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Second Edit., Wiley-Blackwell, West Sussex, UK.(2011).
8. Gülhan T,: Sağlıklı Görünen Hayvanların Dışkılarından İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Biyokimyasal, Enterotoksijenik ve Verotoksijenik Özelliklerinin Belirlenmesi. YYU Vet Fak Dergi. 2003; 14(1): 102-109.
9. Sgorbini M, Nardoni S, Mancianti F, Rota A. Foal-Heat Diarrhea Is Not Caused by the Presence of Yeasts in Gastrointestinal Tract of Foals. J Equine Vet Sci. 2008; 28(3): 145-148.
10. Kuhl J, Winterhoff N, Wulf M, Schweigert FJ, Schwendenwein I, Bruckmaier RM, Aurich JE, Kutzer P, Aurich C. Changes in faecal bacteria and metabolic parameters in foals during the first six weeks of life. Vet Microbiol. 2011; 151: 321-328.
11. Costa MC, Stampfli HR, Allen-Vercoe E, Weese JS. Development of the faecal microbiota in foals. Equine Vet J. 2016; 48: 681-688.