

ISSN 1016-3573



**VETERİNER KONTROL MERKEZ
ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**
Etlik - ANKARA



ETLİK VETERİNER MİKROBİYOLOJİ DERGİSİ

JOURNAL OF ETLİK VETERINARY MICROBIOLOGY
ANKARA – TURKEY

Cilt/Volume 25 ♦ Sayı/Number 2 ♦ 2014

Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi
Cilt/Volume 25 ♦ Sayı/Number 2 ♦ 2014
Journal of Etlik Veterinary Microbiology
Yılda iki kez yayımlanır / Published two times per year
ISSN 1016-3573

Sahibi

Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Adına
Dr. Özhan Türkyılmaz
Enstitü Müdürü

Editörler Kurulu / Editorial Board

Baş Editör / *Editor-in Chief*

Dr. Özhan Türkyılmaz

Editör Yardımcıları / *Co-Editors*

Dr. Erhan Akçay

Dr. Asiye Dakman

Dr. Ali Erkurt

Dr. Elçin Günaydın

Dr. A. Burak Güngör

Dr. F. İpek Keskin

Dr. Tahsin Onur Kevenk

Dr. Filiz Şen

Adres / Address

Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü

Ahmet Şefik Kolaylı cad. No 23

06020 Etlik - Ankara / TÜRKİYE

Tel. : +90 312 326 00 90 (8 hat)

Faks : +90 312 321 17 55

URL : <http://vetkontrol.tarim.gov.tr/merkez>

E-posta : etlikvetmikrobiyolderg@gmail.com

Hakem Listesi / Referees List*

Prof.Dr. Nazmi Atasoy	Yüzüncüyıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı
Doç.Dr. N. Deniz Ayaz	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Prof.Dr. Bahtiyar Bakır	Gazi Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksekokulu
Prof.Dr. T. Haluk Çelik	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Doç.Dr. K.Semih Gümüşsoy	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Doç.Dr. Serkan İkiz	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Yrd. Doç.Dr. H. Kaan Müştak	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Yrd. Doç. Dr. Mustafa Özkaraca	Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı
Doç.Dr. Mehmet Tuzcu	Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı
Prof. Dr.Murat Yıldırım	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

** İsimler soyada göre alfabetik dizilmiştir ve bu sayıda görev alanlar yazılmıştır.*

ULAKBİM Yaşam Bilimleri ve Türkiye Atıf Dizini veritabanları kapsamında bulunan “çift hakemli” bir dergidir.

Copyright © Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi 2014, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

Basım Tarihi / Publishing Date: Aralık / December 2014, Baskı adedi / Circulation: 500

Tasarım ve Baskı / Printing



Medisan Yayinevi Ltd.Şti.

Çankırı Cad. 45 / 347 Ulus - Ankara, Türkiye

Tel : +90 312 311 24 26 – 311 00 57 medisanyayinevi@gmail.com

İçindekiler / Contents

Araştırma Makalesi / Research Article

Sayfa

Sağlıklı sığırların nazal boşluk flora bakterilerinin moleküler identifikasyonu

Molecular identification of bacteria of flora nasal cavity of healthy calves

Zeynep Eskin, Süheyla Türkyılmaz33

The presence of *Listeria* species in dairy cattle farms in Bandırma province, Turkey

Bandırma ve çevresinde bulunan süt sığırı işletmelerinde *Listeria* türlerinin varlığı

Yavuz Çokal39

Enterokokların önemli virülens faktörleri ve gıdalarda bulunuşu

Important virulence factors of enterococci and presence in foods

Azam Azimi Mahalleh, Muammer Göncüoğlu47

Tavuk ve hindilerde xylazin hidroklorürle premedikasyon etomidat, ketamin hidroklorür ve propofol ile sağlanan anestezinin klinik parametreler açısından araştırılması

A research on chickens and turkeys premedicated with xylazine hydrochloride and anesthesia with etomidate, ketamine hydrochloride and propofol about clinical parameters

Özlem Kardoğan, Abuzer Taş53

Bir hindi sürüsünde belirlenen Histomoniasis olgusu

The case of Histomoniasis in a Turkey flock

Yavuz Ulusoy, M. Murat Maden59

Derleme / Review Article

Tavuklarda *Salmonella* infeksiyonlarının kontrolü

Control of *Salmonella* infections in chickens

Hakan Yardımcı, Adil Aksoy63

Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi Yayım Koşulları

1. Dergi, T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Etlık Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün hakemli, bilimsel yayın organı olup, yılda iki defa yayımlanır. Derginin kısaltılmış adı "Etlık Vet Mikrobiyol Derg" dir.
 2. Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi'nde veteriner hekimlik alanında yapılan, başka bir yerde yayımlanmamış olan orijinal bilimsel araştırmalar, güncel derleme, gözlem, kısa bilimsel çalışmalar ve enstitüden haberler yayımlanır. Derleme şeklindeki yazılar; orijinal olması, en son yenilikleri içermesi, klasik bilgilerin tekrarı olmaması durumunda kabul edilir. Derlemeyi hazırlayan yazarın, o konuda ulusal ya da uluslararası düzeyde orijinal yayın ve araştırmalar yapmış olması koşulu aranır.
 3. Türkçe ve İngilizce olarak hazırlanacak metinler 12 punto Times New Roman yazı karakterinde, düz metin olarak, çift aralıklı ve kenarlarda 30 mm boşluk bırakılarak, A4 formundaki beyaz kağıda yazılmalıdır. Yazıların tamamı, şekil ve tablolar dahil olmak üzere orijinal bilimsel araştırmalarda 16, derlemelerde 10, gözlemlerde 6 ve kısa bilimsel çalışmalarda 4 sayfayı geçmemelidir.
 4. Microsoft Word formatındaki metin ile en az 300 dpi çözünürlükteki JPEG formatındaki resim/lerin tamamı etlikvetmikrobiyolderg@gmail.com e-posta adresine gönderilmelidir.
 5. Türkçe orijinal çalışmalar konu başlığı, yazar/yazarların adları, adresleri, Türkçe özet ve anahtar sözcükler, İngilizce başlık, İngilizce özet ve anahtar sözcükler, giriş, materyal ve metot, bulgular, tartışma ve sonuç, teşekkür ve kaynaklar sırası ile hazırlanmalıdır. İngilizce orijinal çalışmalar konu başlığı, yazar/yazarların adları, adresleri, İngilizce özet ve anahtar sözcükler, Türkçe başlık, Türkçe özet ve anahtar sözcükler, giriş, materyal ve metot, bulgular, tartışma ve sonuç, teşekkür ve kaynaklar şeklinde hazırlanmalıdır. Kısa bilimsel çalışmaların ve derlemelerin başlık ve özet bölümleri orijinal çalışma formatında, bundan sonraki bölümleri ise, derlemelerde; giriş, metin ve kaynaklar şeklinde, kısa bilimsel çalışmalarda ise bölümlendirme yapılmadan hazırlanmalıdır.
 6. Orijinal çalışmalar ve gözlemler aşağıdaki sıraya göre düzenlenerek yazılmalıdır.
- Başlık**, kısa, konu hakkında bilgi verici olmalı ve küçük harflerle yazılmalıdır.
- Yazar(lar)ın**, ad(lar)ı küçük, soyad(lar)ı büyük harflerle yazılmalı ve unvan belirtilmemelidir.
- Özet**, Türkçe ve İngilizce olarak, tek paragraf halinde ve en fazla 500 sözcük olmalıdır.
- Anahtar kelimeler**, alfabetik sıraya göre yazılmalı ve 5 sözcüğü geçmemelidir.
- Giriş**, konu ile ilgili kısa literatür bilgisi içermeli, son paragrafında çalışmanın amacı vurgulanmalı ve iki sayfayı geçmemelidir.
- Materyal ve Metot**, ayrıntıya girmeden, anlaşılır biçimde yazılmalıdır. Başlıklar kalın, alt başlıklar italik yazı tipiyle belirtilmelidir.
- Bulgular** bölümünde veriler, tekrarlama yapmadan açık bir şekilde belirtilmelidir. Tablo başlıkları tablonun üstünde, şekil başlıkları ise şeklin altında belirtilmelidir.
- Tartışma ve Sonuç** bölümünde, araştırmanın sonucunda elde edilen bulgular, diğer araştırmacıların bulguları ile karşılaştırılmalı ve literatüre olan katkısı kısaca belirtilmelidir.
- Teşekkür** bölümü, gerekli görülüyorsa kaynaklardan hemen önce belirtilmelidir.
- Kaynaklar** bölümünde, kaynaklar listesi alfabetik ve kronolojik olarak sıralanmalı ve numaralanmalıdır. Metin içerisindeki kaynak, yazar soyadı yazılıp sıra numarası ile; cümle sonunda ise sadece sıra numarası ile parantez içerisinde yazılmalıdır. Cümle sonunda birden çok kaynak belirtilecek ise kaynak numaraları küçükten büyük doğru sıralanmalıdır. Metin içerisinde ikiden çok yazarlı kaynak kullanımlarında ilk yazarın soyadı yazılmalı diğer yazarlar ise "ve ark." (İngilizce metinlerde "et al.") kısaltması ile belirtilmelidir. Dergi adlarının kısaltılmasında "Periodical Title Abbreviations: By Abbreviation" son baskısı esas alınmalıdır. Kaynaklar listesinde yazar(lar)ın aynı yıla ait birden fazla yayını varsa, yayın tarihinin yanına "a" ve "b" şeklinde belirtilmelidir.

Kaynak yazımı ve sıralaması aşağıdaki gibi yapılmalıdır; Süreli Yayın:

Dubey JP, Lindsay DS, Anderson ML, Davis SW, Shen SK, (1992). *Induced transplacental transmission of N. caninum in cattle*. J Am Vet Med Ass. 201, 709-713.

Yazarlı Kitap:

Fleiss JI, (1981). *Statistical methods for rates and proportions*. Second edition. New York: John Wiley and Sons, p.103.

Editörlü Kitap:

Balows A, Hausler WJ, Herrmann KI, eds., (1990). *Manual of Clinical Microbiology*. Fifth edition. Washington DC: IRL Press, p.37.

Editörlü Kitapta Bölüm:

Bahk J, Marth EH, (1990). *Listeriosis and Listeria monocytogenes*. Cliver DD. eds. Foodborne Disease. Academic press Inc, San Diego. p.248-256.

Kongre Bildirileri:

Çetindağ M, (1994). *Pronoprymna ventricosa, a new digenetic trematode from the Alosa fallax in Turkey*. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII), October, 10-14, İzmir-Turkey.

Tezler:

Aksoy E, (1997). *Sığır Vebası hastalığının histolojik ve immüno-peroksidad yöntemle tanısı üzerine çalışmalar*. Doktora Tezi, AÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Anonim:

Anonim, (2009). *Contagious equine metritis*. Erişim adresi: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdf>, **Erişim tarihi: 17.10.2009.**

Peter AT (2009). *Abortions in dairy cows*. Erişim adresi: <http://www.weds.afns.ualberta.ca.htm>, **Erişim tarihi: 14.11.2009.**

Yazışma adresi, çok yazarlı çalışmalarda yazışma adresi olarak yazarlardan sadece birinin adı/soyadı, adresi ve e-posta adresi çalışmanın sonunda belirtilmelidir.

7. Latince cins ve tür isimleri italik yazı tipi ile yazılmalıdır. Tüm ölçüler SI (Système Internationale)'ye göre verilmelidir.

8. Dergide yayımlanmak üzere gönderilen makaleler tüm yazarlar tarafından imzalanan "Yayın Hakkı Devri Sözleşmesi" ve başvuruya ilişkin bir dilekçe ile birlikte gönderilmelidir. Yayımlanması uygun görülen çalışmalar, istendiğinde Yayım Komitesi'nin basıma ilişkin kararı, yazar(lar)ına bildirilir.

9. Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi'nde yayımlanacak olan, hayvan deneylerine dayalı bilimsel çalışmalarda "Etik Kurul Onayı Alınmıştır" ifadesi aranır.

10. Gönderilen yazıların basım düzeltmeleri orijinal metne göre yapıldığından, yazıların her türlü sorumluluğu yazarlara aittir.

11. Ürünlerin ticari adları ile karşılaştırılmalarına yönelik araştırmalar derginin ilgi kapsamı dışındadır.

12. Araştırmaya konu olan maddelerin ve ürünlerin ticari adları kullanılmamalıdır.

13. Şayet varsa araştırmanın desteklediği kurum adı ve proje numarası belirtilmelidir.

14. Dergiye gönderilen yazılar geliş tarihine göre yayımlanır.

15. Yayımlanmayan yazılar, yazarına iade edilmez.

Journal of Etlik Veterinary Microbiology Publication Conditions

1. The Journal is a refereed, scientific publication of Republic of Turkey Ministry of Food, Agriculture and Livestock, Directorate of Etlik Veterinary Control Central Research Institute and is published two issues in a year. The abbreviation of the journal is "J Etlik Vet Microbiol".

2. In the Journal of Etlik Veterinary Microbiology, original research articles, actual reviews, case reports, short communications on the issue of veterinary medicine whose one part or whole have not been published in any other place before, and news from the institute are published. The review articles will be accepted only if they are original, actual and not repeating the classical knowledge. The author of the review is asked to possess original publications or researches on the subject at national or international levels.

3. Manuscripts that will be prepared in Turkish and English should be typed as a full text, on A4 paper with 12 pt, in Times New Roman typing character, double-spaced and with 30 mm space in both sides of the paper. Manuscripts including figures and tables should not exceed 16 pages for original research articles, 10 pages for reviews, 6 pages for case reports and 4 pages for short communications.

4. Manuscript written in Microsoft Word format and figures in JPEG format at minimum 300 dpi resolution should be submitted to etlikvetmikrobiyolderg@gmail.com

5. Original research articles and case reports should include in following rank: title, name(s) of the author(s), their addresses, abstract and key words in English, title, abstract and key words in Turkish, introduction, material and method, findings, discussion and conclusion, acknowledgements and references. In short communications and reviews, divisions except summaries should be omitted.

6. Original research articles and case reports should be arranged and composed as in the following.

Title should be brief, explanatory and written in small caps. Explanation(s) about the study should be written as footnotes.

Author(s) should be mentioned by their names and surnames; their surnames should be written in capital letters and author(s) title should not be mentioned.

Summary should be in Turkish and English, single paragraph and composed of at most about 500 words.

Key words should be written in alphabetical order and should not exceed 5 words.

Introduction not exceeding two pages should include a short review of the literature related with the subject and in the end paragraph; the aim of the study should be mentioned.

Material and Method should be written in an essential and comprehensible manner without getting into details. Subtopics should be mentioned first in bold and after in italic type.

Findings should be shortly explained and data should not be repeated within the text. Legends should be indicated at the top of each table, whereas should be indicated at the bottom of each figure and print. Vertical lines are not allowed in tables.

Discussion and Conclusion must include the evaluation and comparison of results with other researchers' findings. The study's contributions to the existing literature should also be explained briefly.

Acknowledgements must be indicated before references if necessary.

References should be listed alphabetically and chronologically by numbers. In the body of text, reference must be shown by author's surname and list number or only by list number within parenthesis. If there is more than one reference that refers to the same issue, these should be arranged by smallest to biggest reference list numbers at the end of sentence. If the reference is more than two

authors, the surname of the first author should be written and other authors should be mentioned with the abbreviation of "et al.". For the abbreviation of journals, the latest edition of the "Periodical Title Abbreviations: By Abbreviation" should be taken as basis. If the author(s) have more than one publication within the same year, besides the publication date, it should be mentioned as "a" and "b" in the list of references.

The writing of the references and their alignment should be as in the following examples.

For articles:

Dubey JP, Lindsay DS, Anderson ML, Davis SW, Shen SK, (1992). *Induced transplacental transmission of N. caninum in cattle.* J Am Vet Med Ass. 201, 709-713.

For books:

Fleiss JL, (1981). *Statistical methods for rates and proportions.* Second edition. New York: John Wiley and Sons, p.103.

For edited books:

Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, eds., (1990). *Manual of Clinical Microbiology.* Fifth edition. Washington DC: IRL Press, p.37.

For chapter in edited books:

Bahk J, Marth EH, (1990). *Listeriosis and Listeria monocytogenes.* Cliver DD. eds. Foodborne Disease. Academic press Inc, San Diego. p.248-256.

For congress papers:

Çetindağ M, (1994). *Pronoprymna ventricosa, a new digenetic trematode from the Alosa fallax in Turkey.* Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII), October, 10-14, İzmir-Turkey.

For dissertations:

Aksoy E, (1997). *Sığır Vebası hastalığının histolojik ve İmmüno-peroksidaz yöntemiyle tanısı üzerine çalışmalar.* PhD Thesis, Ankara University Institute of Health Sciences, Ankara.

Corresponding address, in multiple-author studies, as a correspondence address, only one of the authors' name/surname, address and e-mail should be mentioned at the end.

7. Genus and species names in Latin should be written in italic. All measures should be given according to the SI (Système Internationale) units.

8. The articles that are sent to be published in the journal should be sent with a covering letter and "Publication Rights Transfer Agreement" signed by all of the authors. The selected articles for the publication, and if asked for, the decision of the editorial committee concerning the publication, are declared to the article's author/authors.

9. The wording of "Ethical Commission Permission is obtained" should appear in scientific studies based on animal experiments, which will be published in the Journal of Etlik Veterinary Microbiology.

10. As the edition of the sent articles are done in accordance with the original text, all responsibility of the articles bear on the authors.

11. Researches that aim at comparisons of the products with their commercial names are out of the journal's theme scope.

12. The trademarks of materials and products that are subject of the research should not be mentioned.

13. If the research is supported by a foundation, name of the foundation and project number must be mentioned.

14. The articles that are sent to the journal are published in line with their coming date.

15. Unpublished papers are not returned to their author.

Yayın Hakkı Devri Sözleşmesi
Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi - Ankara

Aşağıda başlığı bulunan ve yazarları belirtilen makalenin tüm sorumluluğu Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi Yayın Komisyonu Başkanlığı'na ulaşıncaya kadar yazar/larına aittir.

Yayının adı:

Yazar/ların ad/ları:

Aşağıda isim ve imzaları bulunan yazarlar; yayınlamak üzere gönderdikleri makalenin orijinal olduğunu, daha önce başka bir dergiye yayınlanmak üzere gönderilmediğini ve kısmen ya da tamamen yayınlanmadığını, gerekli düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkının, yazının yayımlanmasından sonra Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi'ne devrettiklerini kabul ederler. Yayımlanmak üzere gönderilen bu makalenin tüm sorumluluğunu da yazar/lar üstlenmektedir.

Yukarıdaki makalenin tüm hakları Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi'ne devredilmiştir.

Yazar ad/ları İmza Tarih

Yazışma Adresi:

Copyright Release

Journal of Etlik Veterinary Microbiology Ankara - TURKEY

The undersigned authors release Journal of Etlik Veterinary Microbiology from all responsibility concerning the manuscript entitled;

Title of paper:

Authors names:

Upon its submission to the publishing commission of the Journal of Etlik Veterinary Microbiology.

The undersigned author/s warrant that the article is original, is not under consideration by another journal, has not been previously published or that if has been published in whole or in part, any permission necessary to publish it in the above mentioned journal has been obtained and provided to the Journal of Etlik Veterinary Microbiology. We sign for and accept responsibility for releasing this material.

Copyright to the above article is hereby transferred to the Journal of Etlik Veterinary Microbiology, effective upon acceptance for publication.

To be signed by all author/s

Authors names Signature Date

Correspondence Address:

Sağlıklı sığırların nazal boşluk flora bakterilerinin moleküler identifikasyonu*

Zeynep ESKİN¹, Süheyla TÜRKYILMAZ²

¹ Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın

² Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD., Aydın

Geliş Tarihi / Received: 20.11.2014, Kabul Tarihi / Accepted: 11.12.2014

Özet: Bu çalışmada, klinik olarak sağlıklı sığırların nazal florasını oluşturan aerobik bakterilerin belirlenebilmesi için, alınan nazal sıvap örneklerinden izole edilen etkenlerin, 16S rRNA dizi analizi ile moleküler identifikasyonlarının yapılması amaçlandı. Çalışmada 15 çiftlikteki 56 sığırdan alınan nazal sıvap örnekleri kullanıldı. Nazal sıvaplardan konvansiyonel yöntemler kullanılarak bakteri izolasyonu gerçekleştirilip, etkenlerin makroskopik ve mikroskopik morfolojileri incelendikten sonra, identifikasyonları üniversal primerler kullanarak 16S rRNA geni polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltıldı. İzolasyonları yapılan 192 mikroorganizmanın sekans analizi ile 143 (%74,5)'ünün Gram pozitif ve 49 (%25,5)'unun Gram negatif mikroorganizma olduğu tespit edildi. Koagülaz negatif stafilocoklar (%36,5), *Bacillus* sp. (%15,6), *S. aureus* (%11,0), *M. haemolytica* (%6,3), *Enterobacteriaceae* sp. (%6,8), *P. multocida* (%5,2), *M. luteus* (%4,2), *Streptococcus* sp. (%2,6), *Acinetobacter* sp. (%2,6), *Pseudomonas* sp. (%2,1) ve *Corynebacterium* sp. (%1,0) en çok identifiye edilen türler olarak belirlendi. Bu çalışmada konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve moleküler identifikasyon yöntemlerinin büyük oranda birbirleri ile uyumlu oldukları görüldü. Bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda, floradan izole edilen mikroorganizmaların virulens ve antibiyotik direnç genlerinin incelemesi yapılabilir.

Anahtar kelimeler: Bakteri, Nazal flora, Moleküler İdentifikasyon, 16S rRNA

Molecular identification of bacteria of flora nasal cavity of healthy calves

Summary: This study aimed to carry out the molecular identification of aerobic bacterial nasal flora of clinically healthy calves, collected by nasal swabs, by using 16S rRNA sequence analysis. Nasal swab samples from 56 calves on 15 farms were used in the study, isolation of bacteria was carried out by using conventional methods, after examining the macroscopic and microscopic morphology of the factors, their identifications were carried out by using universal primers duplicating polymerase chain reaction of 16S rRNA gene. With the sequence analysis of the isolated 192 micro-organisms, it was determined that 143 (74.5%) were Gram-positive and 49 (25.5%) were Gram-negative micro-organisms. Coagulase-negative staphylococci (36.5%), *Bacillus* sp. (15.6%), *S. aureus* (11.0%), *M. haemolytica* (6.3%), *Enterobacteriaceae* sp. (6.8%), *P. multocida* (5.2%), *M. luteus* (4.2%), *Streptococcus* sp. (2.6%), *Acinetobacter* sp. (2.6%), *Pseudomonas* sp. (2.1%) and *Corynebacterium* sp. (1.0%) were the most commonly identified species. In our study, results of conventional methods microbial and molecular identification techniques were found to be similar. It was suggested that virulence and antibiotic resistance genes of the most common agents isolated from flora should be determined at the future studies.

Key words: Bacteria, Nasal flora, Molecular Identification, 16S rRNA

Giriş

Solunum sisteminin ilk basamağı olan nazal mukozada, bakterilerin türü ve yoğunluğu hayvanın solunum sistemi sağlığı açısından bilgi vermektedir. Normal bakteri florası infeksiyon etkenlerine karşı doğal bir direnç oluşturur. Solunum sisteminin kendine özgü bir florası vardır. Bu flora mikroorganizmaları üst solunum yollarında yaşar [2].

Şeker ve ark. klinik olarak sağlıklı Anadolu manda yavrularından nazal mukozanın bakteriyel mikroflorasını belirlemek amacıyla toplam 160 örnekten 165 bakteriyel izolat saptamışlardır. Konvansiyonel yöntemlerle, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Arcanobacterium*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Neisseria*, *Morexella*, *Pasteurella* ve *Mannheimia* cinslerini içeren 10 cins izole etmişlerdir. *Staphylococcus epidermi-*

Yazışma adresi / Correspondence: Süheyla Türkyılmaz, Adnan Menderes Üniv. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD., Aydın
E-posta: sturkyilmaz@adu.edu.tr

*Bu proje Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (Proje No: VTF-12026) desteklenmiştir.

dis (%48,8), *S. aureus* (%33,8), *M. haemolytica* (%25,0) ve *P. multocida* (%17,5) en sık izole edilen türler olarak belirlemiştir [14]. Magwood ve ark. ise nazal floranın ana etkenleri Streptokoklar, saprofitik *Neisseria* türleri, Mikrokoklar ve potansiyel patojen olan *Pasteurella multocida* ve *Pasteurella haemolytica* türleri, tamamlayıcı flora etkenleri; *Moraxella*, *Diplococcus* ve *Corynebacterium* türleri olduğunu bildirmiştir. Geçici mikroflora etkenlerinin ise; Koliform grubu bakteriler (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp. ve toprak bakterileri (*Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia* ve *Lactobacillus*) olarak belirtmişlerdir [8].

16S rRNA gen sekansı 1980'li yıllardan beri bakterilerin sınıflandırılmasında ve genotipik analizleri için önemli bir araç olarak kullanılmaktadır. rRNA mutasyonlardan en az etkilenen genetik materyeldir. 16S rRNA'nın birkaç bölgesi tüm bakterilerde çok iyi korunmuştur. Bu korunmuş bölgelerden seçilen primerler tüm bakterilerde 16S rRNA amplifikasyonunu sağlar ve bunlara üniversal primerler denir. Çoğaltılan bölgeler aynı zamanda tür identifikasyonunu sağlayan özgün değişken bölgeleri de içerir. Bundan dolayı 16S rRNA gen sekansına dayalı analiz yöntemleri insanlarda klinik tanı laboratuvarlarında bakteriyel izolatların identifikasyonunda kullanılan önemli bir yöntem haline almıştır [11, 13,15].

Bu çalışmada da, Aydın yöresindeki çiftliklerdeki sağlıklı sığırların nazal mikroflorasını oluşturan aerobik bakterilerin belirlenebilmesi için, alınan nazal sıvap örneklerinden izole edilen etkenlerin, 16S rRNA dizi analizi ile moleküler identifikasyonlarının yapılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Materyal

Bu çalışmada Aydın ilinde Kasım 2011-Kasım 2012 tarihleri arasında, 15 sığır işletmesinden (her sürüden 5-14 örnek), son üç ayda antibiyotik tedavisi almamış, 3-9 yaş arasındaki sığırlardan, klinik muayeneleri yapıldıktan sonra, klinik olarak sağlıklı olarak belirlenen 56 inekten alınan burun sıvap örnekleri kullanılmıştır.

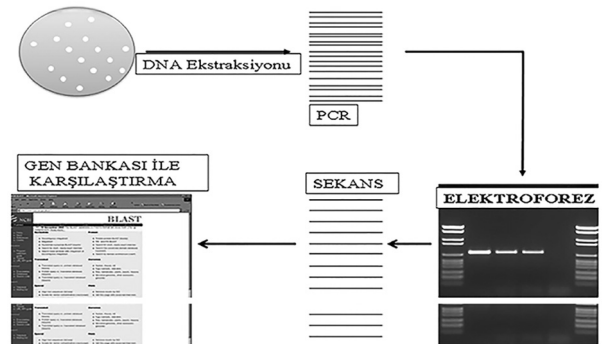
Metot

Sürüntüler her iki taraf burun konkasının ön 1/3'lük kısmından serum fizyolojikle ıslatılmış steril pamuk eküvyonlarla sağa ve sola birkaç kez çevirmek suretiyle alınarak Stuart Transport Medium'a (Oxoid) konuldu. Alınan tüm örnekler soğuk zincir altında laboratuvara getirilip izolasyon çalışmalarına başlandı. Bunun için svaplar besi yerlerine (%7 koyun kanlı agar, mannitol salt agar ve MacConkey agara) ekilip 37°C'de 24-48 saat inkube edildi. Daha sonra üreyen mikroorganizmaların makroskopik olarak koloni morfolojileri, pigment ve hemoliz özellikleri; mikroskopik olarak Gram boyanma özellikleri incelendi [7].

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR):

İzole edilen suşların tür düzeyinde identifikasyonları sekans analizi ile gerçekleştirildi. Bunun için öncelikle izole edilen suşlardan kromozomal DNA ekstraksiyonu ticari bir kit ile (İnstagen) 16S rRNA geni üniversal primerler S16S20 (5' AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3') ve S16S1390 (5' GAC GGG CGG TGT GTA CAA) [11, 13] kullanılarak PZR ile çoğaltıldı ve ürünler %1'lik jelde görüntülendi. Tüm bakterilerden 16S rRNA fragmanı çoğaltmaya yarayan bu primerlerle, elde edilen amplikonlar tür tayininin yapılabilmesi için sekans analizine tabi tutuldu.

Secans Analizi: Elde edilen amplikonlar sekans analizleri için 96 kuyucuklu pleyt içerisinde MacroGen (MacroGen Inc., Korea) firmasına gönderildi. Elde edilen 16S rRNA sekansları tür tayininin yapılabilmesi için gen bankası ile karşılaştırıldı. Bu amaçla National Center of Biotechnology Information'ın web sayfasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) Nucleotide-Nucleotide BLAST programı kullanıldı (Şekil 1.).



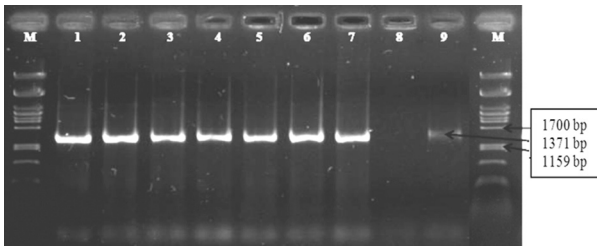
Şekil 1. Bakterilerin 16S rRNA sekansına dayalı moleküler identifikasyonu.

Bulgular

İzolasyon Bulguları: Elli altı inekten alınan burun sıvı örneklerinin incelenmesi sonucunda 192 izolat elde edilmiştir.

Mikrobiyolojik Bulgular: 192 suşun makroskopik olarak koloni morfolojileri, pigment ve hemoliz özellikleri; mikroskopik olarak Gram boyanma özellikleri incelenmesi sonucunda 143 Gram pozitif (%74,5) 49 Gram negatif mikroorganizma (%25,5) olduğu belirlendi.

Moleküler Bulgular: 192 izolat için 16S üni-versal primerleri kullanılarak yapılan PZR'da 1371 bp uzunluğunda bantlar görülmüştür (Şekil 2).



Şekil 2. 16S universal primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PZR M: Marker (PstI enzimi ile kesilmiş lambda faj DNA'sı) 1-7: Saha izolatları, 8: Negatif Kontrol (DNA'sız master miks) 9: Pozitif Kontrol (*E. faecalis* ATCC 29212).

İzolasyonları yapılan 192 mikroorganizmanın sekans analizi ile 143 (%74,5)'ünün Gram pozitif (*Aerococcus* sp., *Arthrobacter* sp., *Bacillus* sp., *Brevibacillus* sp., *Brevibacterium* sp., *Corynebacterium* sp., *Enterococcus* sp., *Exiguobacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Staphylococcus* sp.) ve 49 (%25,5)'unun Gram negatif (*Acinetobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Comamonas* sp., *Escherichia* sp., *Gamma* sp., *Klebsiella* sp., *Kluyvera* sp., *Mannheimia* sp., *Neisseria* sp., *Pantoea* sp., *Pasteurella* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Raoultella* sp., *Salmonella* sp. ve *Serratia* sp.) olduğu tespit edilmiştir. Koagülaz negatif stafilokoklar (%36,5), *Bacillus* sp. (%15,6), *S. aureus* (%11,0), *M. haemolytica* (%6,3), *Enterobacteriaceae* sp. (%6,8), *P. multocida* (%5,2), *M. luteus* (%4,2), *Streptococcus* sp. (%2,6), *Acinetobacter* sp. (%2,6), *Pseudomonas* sp. (%2,1), *Corynebacterium* sp. (%1,0) en çok tanımlanmış türler olarak belirlenmiştir (Tablo 1, 2, 3).

Tablo 1. Gram pozitif izolatların işletmelere göre dağılımı

Bakteri Türleri	İşletme Numaraları															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Gram-pozitif																
<i>Aerococcus viridans</i>	-	-	-	1	-	-	-	1	2	-	-	-	-	1	-	5
<i>Arthrobacter arilaitensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>Bacillus altitudinis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>Bacillus licheniformis</i>	-	1	-	1	2	-	2	-	3	-	1	-	1	-	-	11
<i>Bacillus megaterium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>Bacillus pumilus</i>	-	-	1	2	-	-	2	-	-	4	1	3	-	-	-	13
<i>Bacillus stratosphericus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
<i>Bacillus thuringiensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>Brevibacillus laterosporus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>Brevibacterium ravenstergense</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
<i>Corynebacterium flavescens</i>	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Exiguobacterium indicum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	3
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	1	2	1	2	-	-	-	-	-	-	-	2	-	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	-	2	-	2	2	3	3	1	1	2	-	-	1	1	21
<i>Staphylococcus capitis</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2	-	3
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Staphylococcus croceolyticus</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	2	3	4	4	3	3	2	3	-	2	-	-	3	4	38
<i>Staphylococcus equorum</i>	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	1	-	-	-	3
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-	2	-	-	-	-	-	1	-	2	-	2	-	1	-	8
<i>Staphylococcus hominis</i>	1	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2	7
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	-	-	3	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	6
<i>Staphylococcus vitulinus</i>	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2

Tablo 2. Gram negatif izolatların işletmelere göre dağılımı

Bakteri	İşletme Numaraları														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Gram-negatif															
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
<i>Comamonas kerstersii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Gamma proteobacterium</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Kluyvera intermedia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>Mannheimia haemolytica</i>	1	1	1	-	1	1	1	1	-	1	2	1	-	-	12
<i>Neisseria dentiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>Pantoea agglomerans</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Pasteurella multocida</i>	2	-	-	-	-	3	1	1	1	-	2	-	-	-	10
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2
<i>Pseudomonas geniculata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
<i>Pseudomonas putida</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>Pseudomonas thermotolerans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
<i>Raoultella planticola</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Salmonella bongori</i>	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Serratia rubidaea</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2

Tablo 3. İzolatların gruplandırılmış veri analizi

Bakteriler	İzolat Sayısı (n)	İzolat Oranı (%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	38	19,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	21	11
Diğer KNS ^a	32	16,7
<i>Bacillus</i> sp. ^b	30	15,6
<i>Micrococcus luteus</i>	8	4,2
<i>Streptococcus</i> sp. ^c	5	2,6
<i>Corynebacterium</i> sp.	2	1
Yaygın Patogenler		
<i>Mannheimia haemolytica</i>	12	6,3
<i>Pasteurella multocida</i>	10	5,2
<i>Pseudomonas</i> sp. ^d	4	2
<i>Acinetobacter</i> sp. ^e	5	2,6
Diğer Bakteriler		
<i>Enterobacteriaceae</i> sp. ^f	13	6,8
Diğer bakteriler ^g	12	6,3

^a Nazal boşlukta bulunan *Staphylococcus capitis*, *S. chromogenes*, *S. croceolyticus*, *S. equorum*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. pasteurii*, *S. saprophyticus*, *S. vitulinus*.

^b *Bacillus altitudinis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. stratosphericus*, *B. thuringiensis*

^c *Aerococcus viridans*

^d *Pseudomonas geniculata*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. thermotolerans*

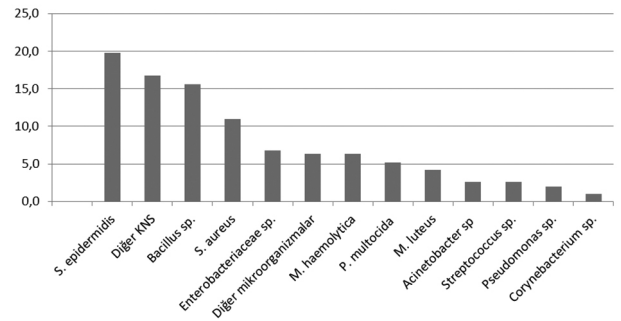
^e *Acinetobacter calcoaceticus*, *A. lwoffii* türleri

^f Enterobacteriaceae familyasına ait *Citrobacter amalonaticus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Kluyvera*

intermedia, *Pantoea agglomerans*, *Proteus mirabilis*, *Raoultella planticola*, *Salmonella bongori*, *Serratia rubidaea*

^g *Arthrobacter arilaitensis*, *Brevibacillus laterosporus*, *Brevibacterium ravenburgense*, *Enterococcus casseliflavus*, *Exiguobacterium indicum*, *Comamonas kerstersii*, *Gamma proteobacterium*, *Neisseria dentiae*

İdentifiye edilen bakterilerin tür ve oranları Şekil 3'de gösterilmiştir.

**Şekil 3.** İdentifiye edilen bakterilerin tür ve oranları

Tartışma

Bu çalışmada, Aydın ilinde bulunan 15 işletmedeki klinik olarak sağlıklı 56 sığırların, nazal mukozanın bakteriyel mikroflorasını belirlemek amacıyla nazal sıvı örnekleri toplanmıştır. Toplam 56 sıvı örneğinden izole edilen 192 (%74,5 Gram pozitif, %25,5 Gram negatif) bakteri 16S rRNA dizi analizi kullanılarak, ilgili gen bölgesinin amplifikasyonu sonra-

sında yapılan sekans analizi ile tanımlanmıştır. Genellikle sistemik infeksiyonlardan Gram negatif bakteriler sorumludur [10]. Çalışmada Gram pozitif bakteri izolatlarının Gram negatif izolatlarla oranla baskın olması, çalışmada materyal alınan işletmelerde bulunan sığırların büyük oranda sağlıklı olduğunu düşündürmektedir. Ancak 13 nolu işletmedeki Gram negatif bakterilerin oranı normal florada bulunması gerekenden yüksektir. Normal nazal flora üyeleri herhangi bir sebeple (ortam sıcaklığı, stres, patojen varlığı vs.) baskılandığında florada yer alan bu bakteriler daha sonrasında kalıcı florayı baskılayarak patojen etki göstermekte ve solunum yolu hastalıklarına sebep olabilmektedir. Ayrıca bu bulgular daha önce evcil ve vahşi hayvanlar üzerinde yapılan diğer çalışmalarla da uyusmaktadır [3, 9].

Şeker ve ark. [14], klinik olarak sağlıklı Anadolu manda yavrularında nazal mukozanın bakteriyel mikroflorasını belirlemek amacıyla toplam 160 örnekten 165 bakteriyel izolat elde etmişlerdir. Biyokimyasal yöntemler kullanılarak yapılan identifikasyona göre, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Arcanobacterium*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Neisseria*, *Moraxella*, *Pasteurella* ve *Mannheimia* cinslerini içeren 10 cins izole etmişlerdir. *S. epidermidis* (%48,8), *S. aureus* (%33,8), *M. haemolytica* (%25,0) ve *P. multocida* (%17,5) örneklenen hayvanlardan en sık izole edilen türler olarak belirlemişlerdir. Bu çalışma ile karşılaştırıldığında, yaptığımız çalışma sonuçlarında en sık izole edilen türler bakımından paralellik gösterirken yukarıda bildirilen çalışmalarla paralellik gösterirken, farklı olarak *Arcanobacterium* ve *Moraxella* cinslerine ait bakteri türleri de sıklıkla izole edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada izole edilen bakteri cinslerinin haricinde çalışmamızda 17 farklı cins izole edilmiştir. Bu durumun çalışmamızda kullandığımız moleküler tanı yönteminin ayırt ediciliğinin diğer yöntemlere oranla çok daha yüksek olmasından kaynaklandığını düşündürmektedir.

Bir non-patojenik organizma olan ve çalışmada yüksek sıklıkta izole edilen *Bacillus* türleri ise çevre florasının yaygın üyelerindedir. Bu bakteriler çiftlik ortamlarında sığırlar tarafından aspire edilmesine rağmen nazal mukozada kolonize olamamaktadır [5]. Bunun yanı sıra Holth ve ark. [6] *Aeromonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp., *Brevibacillus* sp., *Kurthia* sp., *Stenotrophomonas*

sp., ve *Pseudomonas* sp., gibi toprak ve su bakterilerinin florada geçici olduğunu ve bu bakterilerin sığırların florasına yaşanılan çevreden ve besi ortamından taşındığını belirtilmişlerdir. Bu sebeple çalışmamızdaki *Bacillus* türlerinin sıklığı anlamlıdır.

Memeli deri florasında yer alan ve non-patojenik bu bakteri türü aynı zamanda ağız, mukoza, orofarinks ve üst solunum yollarında kolonize olabilmektedir. Daha önce develerde [12], tavşanlarda [1] ve keçilerde [4] yapılan nazal flora çalışmalarında da *M. luteus* yüksek oranlarda rapor edilmiştir. Çalışmamızın veri sonuçları daha önce yapılan bu çalışmalarla da örtüşmektedir. Çalışmamızda *M. luteus* %4,2 oranında izole edilmiştir. Bu diğer bakteri türlerine oranla yüksek bir orandır.

Quinn ve ark [10] *M. haemolytica* bakterisinin solunum sistemi hastalıklarından sorumlu ana mikroorganizma olarak izole edilebileceği bildirilmiştir. *P. multocida* ve *M. haemolytica* ruminantlarda, hemorajik septisemi ve ağır pnömoniye sebep olmakla birlikte sekonder enfeksiyonlara da sebep olmaktadır. Bu bakteriler çoğunlukla ağır solunum sistemi hastalıklarından izole edilen patojenik bakteriyel ajanlardır. Çalışmamızda %6,3 oranına sahip olan *M. haemolytica* ve %5,2 sıklık oranında bulunan *P. multocida* türleri solunum sisteminde en çok bilinen fırsatçı patojenlerdir. Bu konuda yapılan tüm araştırmalar, bu çalışmadakine benzer şekilde *M. haemolytica* ve *P. multocida* gibi nazal florada yer alan fırsatçı patojenlerin sağlıklı hayvanlarda da yüksek oranlarda bulunabildiğini göstermektedir.

Nazal kaviteden izole edilen bu bakteriler sosyal davranışlar ve hayvanların büyüdüğü çevre kaynaklı nazal flora geçici olarak yerleştiği düşünülmektedir. Çalışmamızda düşük oranlarda *E. coli* ve *Klebsiella* türleri bulunmuştur. Benzer şekildeki bulgular Şeker ve ark. [14]'nin yapmış olduğu çalışmada da rapor edilmiştir.

Özellikle KNS' ların nazal boşlukta iyi kolonize olan ana flora elemanları olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda; örnek alınan sığırlarda sekans analizi sonucunda en çok tanımlanan iki mikroorganizma *S. epidermidis* (%19,8) ve *S. aureus* (%11) olarak belirlenmiştir.

Sığırlarda solunum yolu hastalıkları ve nazal flora ile ilgili yapılan çalışmalar göz önüne alındığında; araştırmamızda örnek topladığımız 15 sığırlar

işletmesindeki sığırların sağlıklı olduğu, ancak bazı işletmelerde risk faktörlerinin diğerlerine göre daha yüksek olduğu söylenilebilir. 13 nolu işletmedeki Gram negatif bakterilerin oranı normal florada bulunması gerekenden yüksektir. Normal nazal flora üyeleri herhangi bir sebeple (ortam sıcaklığı, stres, patojen varlığı vs.) baskılandığında florada yer alan bu bakteriler daha sonrasında kalıcı florayı baskılayarak patojen etki göstermekte ve solunum yolu hastalıklarına sebep olabilmektedir.

Yapılan çalışma ve incelenen diğer çalışmalar sonucunda özellikle sığırlarda solunum yolu enfeksiyonlarına sebep olan ve işletmelerde büyük ekonomik kayıplara neden olan *M. haemolytica* ve *P. multocida* gibi fırsatçı patojenlerin bazı işletmelerde yüksek oranda bulunmakla birlikte ana flora elemanlarının bulunma sıklığını geçmediği görülmektedir. Bu bakterilerin üst solunum yolu mukozasında çok rahat kolonize olabildiği ve ancak stres gibi faktörlerle akciğerleri infekte ettikleri yapılan diğer çalışmalarda bildirilmiştir.

İzolatların tür düzeyinde doğru bir şekilde identifikasyonlarının yapılmasında sekans analizinin kullanılmasının pratik ve güvenilir olduğu görülmüştür. Yörede solunum sistemi problemi bulunan sığırların da nazal boşluk flora bakterilerinin moleküler identifikasyonlarının yapılması, sağlıklı ve sağlıklı florada bulunan mikroorganizmaların karşılaştırılması, her iki florada da en sık izole edilen etkenlerin virulens ve antibiyotik direnç genlerinin karşılaştırılarak incelenmesinin yöredeki solunum sistemi hastalıklarının daha da ciddi bir probleme sebep olmadan önlenmesine katkıda bulunacağı görüşünü düşündürmektedir.

Kaynaklar

1. Ajuwape TP, Aregbesola EA, *The bacterial flora of the upper respiratory tracts of normal rabbits*. Israel Vet Med Assoc. 2000, 57: 1-5.
2. Arcangioli MA, Duet A, Meyer G, Dernburg A, Bezille P, Poumarat F, Le Grand D, (2008) *The role of Mycoplasma bovis in bovine respiratory disease outbreaks in veal calf feedlots*. Vet J. 177, 89- 93.
3. Barbour EK, Nabbut NH, Hamadeh SK, Al-Nakhli, (1997) *Bacterial identity and characteristics in healthy and unhealthy respiratory tracts of sheep and calves*. Vet Res Commun, 21, 421- 430.
4. Carter GR, (1984) *Isolation and identification of bacteria from clinical specimens*. In: Charles C. Thomas (Eds), *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology*. USA. 4th p. 19- 30.
5. Collier JR, Rossow CF, (1964) *Microflora of apparently healthy and pneumonia prone herds*. J Vet Res. 25, 101-103.
6. Holth JB, Krieg NR, Sneath HAP, Stanley JT, Williams T, (2000) *Bergey's manual of determinative bacteriology USA: Lippincott*. Williams and Wilkins, Philadelphia PA, USA.
7. Koneman E W, Allen S D, Janda W M, Schreckenberger P C, Winn W C, (1997) *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. pp: 539-76. *The Gram-positive cocci: Part-1: Staphylococci and related organisms*. Lippincott, New York, USA.
8. Magwood SE, Barnum DA, Thomson RG, (1969) *Nasal bacterial flora of calves in healthy and pneumonia-prone herds*. Canadian J Comp Med. 33, 237- 243.
9. Megra T, Sisay T, Assaged B, (2006) *The aerobic bacterial flora of the respiratory passageways of healthy goats in Dire Dawa Abattoir, Eastern Ethiopia*. Rev Méd Vét. 157: 84-87.
10. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC, (2002) *Veterinary Microbiology and Microbial Disease. 1st Edn*. Blackwell Publishing Professional, Iowa, pp:461-464. ISBN: 0-632-05525-1.
11. Sghir A, Antonopoulos D, Mackie RI, (1998) *Design and evaluation of a Lactobacillus group-specific ribosomal RNA-targeted hybridization probe and its application to the study of intestinal microecology in pigs*. Syst Appl Microbiol. 21, 291-296.
12. Shemsedin M, (2002) *Bacterial species isolated from respiratory tract of camels slaughtered at Dire Dawa abattoir*. Eastern Ethiopia. Debre Zeit, 1-25.
13. Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon J J, Gibson G, Collins MD, Dore J, (1999) *Direct rDNA Community Analysis Reveals a Myriad of Novel Bacterial Lineages within the Human Gut*. Appl Environ Microbiol 65, 4799-4807.
14. Şeker E, Kuyucuoğlu Y, Konak S, (2009) *Bacterial examinations in the nasal cavity of apparently healthy and unhealthy Holstein cattle*. J Anim Vet Adv. 8 , 2355- 2359.
15. Woo PC, Leung AS, Leung KW, Yuen KY, (2001) *Identification of slide coagulase positive, tube coagulase negative Staphylococcus aureus by 16S ribosomal RNA gene sequencing*. Mol Pathol. 54, 244-7.

The presence of *Listeria* species in dairy cattle farms in Bandırma province, Turkey

Yavuz ÇOKAL

Balıkesir University, Bandırma Vocational School, 10200, Bandırma, Balıkesir, Turkey

Geliş Tarihi / Received: 21.10.2014, Kabul Tarihi / Accepted: 01.12.2014

Summary: In this study, the presence of *Listeria* species in dairy cattle farms was investigated. In this context, a total of 340 samples including milk, fresh feces, silage, soil, water and swabs from milking parlour were obtained from 21 dairy cattle farms between November 2013 and June 2014. For the isolation of *Listeria* species from samples, AOAC/IDF method in milk samples and USDA/FSIS method in other samples were used. As a result of the study, *Listeria* spp. was isolated from 11 dairy cattle farms (52.38%), while in other 10 dairy cattle farms (47.62%) *Listeria* spp. was not isolated. Isolation of *Listeria* spp. occurred from at least one of samples, including the milk samples from 5 dairy cattle farms, the fresh feces samples from 7 dairy cattle farms, the silage samples from 3 dairy cattle farms, the soil samples from 10 dairy cattle farms, the water samples from 8 dairy cattle farms and the milking parlour samples from 2 dairy cattle farms. *Listeria* spp. was isolated from 15% (51/340) of all the analyzed samples. Isolation of *Listeria* spp. was carried out from 8 of 105 milk samples (7.61%), 12 of 105 fresh feces samples (11.42%), 3 of 21 silage samples (14.28%), 15 of 42 soil samples (35.71%), 11 of 42 water samples (26.19%) and 2 of 25 milking parlour samples (8%). Isolates were identified by cultural and biochemical characters, and 8 of 51 isolates *L. monocytogenes*, 1 of 51 isolates *L. ivanovii*, 17 of 51 isolates *L. innocua*, 7 of 51 isolates *L. seeligeri*, 7 of 51 isolates *L. welshimeri*, 11 of 51 isolates *L. grayi* were identified. Isolation rates of *L. monocytogenes* were found as 0.95%, 0.95%, 4.76%, 7.14% and 4% respectively in milk, fresh feces, soil, water and milking parlour samples, however *L. monocytogenes* were not isolated from silage samples. Consequently, the presence of *Listeria* species in milk and environmental samples of dairy cattle farms pose a risk for the animal health as well as for human health.

Key words: *Listeria* spp., Dairy cattle farm, Prevalence

Bandırma ve çevresinde bulunan süt sığırı işletmelerinde *Listeria* türlerinin varlığı

Özet: Bu çalışmada, Bandırma ve çevresinde bulunan süt sığırı işletmelerinde *Listeria* türlerinin varlığı araştırıldı. Bu kapsamda, Kasım 2013-Haziran 2014 döneminde, 21 adet işletmeden süt, taze dışkı, silaj, toprak, su ve süt sağım odası sıvap örnekleri olmak üzere toplam 340 adet örnek alındı. *Listeria* izolasyonu amacıyla süt örneklerinde AOAC/IDF metodu, diğer örneklerde USDA/FSIS metodu kullanıldı. Çalışma sonucunda, 10 (%47.62) işletmede *Listeria* spp. izolasyonu gerçekleştirilmezken, 11 işletmede (%52.38) *Listeria* spp. izolasyonu yapıldı. Beş işletmenin süt, 7 işletmenin taze dışkı, 3 işletmenin silaj, 10 işletmenin toprak, 8 işletmenin su ve 2 işletmenin süt sağım odası örneklerinin en az birinden *Listeria* spp. izolasyonu gerçekleşti. İncelenen örneklerin %15'inden (51/340) *Listeria* spp. izolasyonu yapıldı. Yüz beş adet süt örneğinin 8'inden (%7.61), 105 adet taze dışkı örneğinin 12'sinden (%11.42), 21 adet silaj örneğinin 3'ünden (%14.28), 42 adet toprak örneğinin 15'inden (%35.71), 42 adet su örneğinin 11'inden (%26.19) ve 25 adet süt sağım odası örneğinin 2'sinden (%8) *Listeria* spp. izolasyonu gerçekleştirildi. İzolatlar kültürel ve biyokimyasal karakterlerine göre tanımlandı ve 51 adet izolatın 8'i *L. monocytogenes*, 1'i *L. ivanovii*, 17'si *L. innocua*, 7'si *L. seeligeri*, 7'si *L. welshimeri*, 11'i *L. grayi* olarak tanımlandı. *L. monocytogenes* izolasyon oranı süt, taze dışkı, toprak, su ve süt sağım odası örneklerinde sırasıyla %0.95, %0.95, %4.76, %7.14 ve %4 olarak tespit edilirken silaj örneklerinden izole edilmedi. Sonuç olarak, süt sığırı işletmelerinin süt ve çevre örneklerinde *Listeria* türlerinin varlığı gerek hayvan sağlığı gerekse halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır.

Anahtar kelimeler: *Listeria* spp., Süt sığırı işletmesi, Prevalans

Introduction

The bacteria of the genus *Listeria* are widespread in nature and found in many different environments including soil, water, vegetation, sewage, animal

feeds, farm environments and food-processing environments [23,40]. To date, ten species have been recognized within the genus: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi*, *L. marthii*, *L. rocourtae*, *L. fleischmannii*

and *L. weihenstephanensis* [6,26]. Two species, *L. monocytogenes* and *L. ivanovii*, are pathogenic for animals and humans [19]. However, sporadic human infections due to *L. seeligeri* and *L. innocua* have also been reported [32,34]. There is also some evidence for very rare infections caused by *L. innocua* in domestic animals [48].

Listeria monocytogenes is an important food-borne pathogen in terms of public health risk [16]. Human listeriosis occurs as sporadic disease or outbreaks, and predominantly occurs as a result of consumption of contaminated ready-to-eat and raw food products [35,41]. In general, *L. monocytogenes* contamination of processed ready-to-eat food products occurs by cross-contamination of the finished product from the food processing plant environment. Infected animals and contaminated agricultural environments rarely cause to directly human infections. However, animal-derived food products that are not processed before consumption (e.g., raw milk) and raw foods of plant origin that have been contaminated by manure from infected or shedding animals can play an important role for human infections [29,31].

Listeriosis has been reported a wide range of species of domestic and wild animals including birds. The most susceptible domestic species are sheep, goats and cattle. Infection in farm animals usually appears to be linked to consumption of contaminated silage [23,29]. In previous studies, *Listeria* species were isolated from the silage samples at the varying rates up to 60% [10,14,36,44]. Listeriosis manifests itself clinically in ruminants as encephalitis, abortion and septicaemia. *Listeria monocytogenes* may also cause eye infections and mastitis. Mastitis is usually subclinical, but bacterial shedding into milk is possible. *Listeria monocytogenes* can be shed in the fecal material of clinically affected animals, however, asymptomatic animals from farms with an outbreaks of listeriosis and healthy animals from farms without a record of listeriosis cases can shed the bacterium also [45,46]. Studies have shown that up to 50% of asymptomatic cattle shed *L. monocytogenes* in their feces [29]. Fecal shedding of *L. monocytogenes* may pose a risk for contamination of milk, animal feed, and agricultural environment [20]. Kalorey et al. [24] reported that 6.74% of 2060 milk samples from

dairy cows were positive for *Listeria* spp. Also, many studies shown that *Listeria* spp. was found in dairy cattle farm environment samples such as soil, water troughs, commodity feeds, feed bunks, bedding, cow path, surface runoff, yard dust/debris, milk sock/filters, etc. [18,21,28,43] and, it has been reported that ruminant, particularly bovine, farms are a reservoirs for human *L. monocytogenes* infections [29].

The aim of the present study was to investigate the presence of *Listeria* species in dairy cattle farms in Bandirma province, Turkey. Thus it will be determined that whether there is a risk in terms of animal health and hence public health in the region of the study conducted. In addition, this study will provide to determination of possible source of *Listeria* spp. infection for animals.

Material and Methods

Sample Collection: The research was carried out from November 2013 to June 2014, and a total of 340 samples were obtained from the 21 dairy cattle farms randomly selected. The herd size ranged from 20 to 300 cows and cows were clinically healthy appearance. There was no record for listeriosis cases in all farms. Approximately 15 samples were collected from each farm, including 5 milk, 5 fresh feces, 1 silage, 2 soil, and 2 drinking water samples. In addition, total 25 swab sample were taken from milking parlour of 5 dairy cattle farms. Milk (100 mL) and fresh feces (approximately 100 g) samples were taken from the randomly selected cows. Silage samples were taken from the surface, interior of silos and in manger. Soil samples were also collected from different parts of farms including the main entrance and the farmyard. Each of silage and soil sample was taken approximately 500 g. Water samples (1 liter) were taken from each of the source water used to fill water troughs or drinking cups and the drinking water from water troughs or drinking cups. Swab samples were taken from different regions of the milking parlour including floors, walls, and milking units (the inner surface of milking liner and milk hoses). All samples were collected aseptically and quickly transported to the laboratory under chilled condition and stored 4 °C until processed. Samples were processed within 4 h of collection.

Isolation and identification of *Listeria* spp. from samples: For the isolation of *Listeria* species from samples, Association of analytical Chemists/ The International Dairy Federation (AOAC/IDF) method [5] was used in milk samples and US Department of Agriculture (USDA/FSIS) method [7] was used in other samples. Briefly, approximately 25 mL of each milk sample was directly inoculated into 225 mL of *Listeria* Enrichment broth (Oxoid, CM862, SR141) and incubated at 30 °C for 48 h. Then, 100 mL inocula from the enrichment culture was surface streaked in duplicate on Oxford agar (Oxoid, CM856, SR140) and also *Brilliance*TM *Listeria* agar (Oxoid, CM1080, SR227, SR228). All selective plates were incubated at 35 °C for 48 h. Each of the feces, silage and soil samples (approximately 25 g) were directly inoculated into 225 mL of University of Vermont *Listeria* Enrichment broth (UVM I, Oxoid, CM863, SR142). Water samples (approximately 1 liter) were filtered through 0.22 µm membrane filters (Millipore, GSWG047S1) using membrane filtration system (Sartorius AG) and the filter was placed in 100 mL of UVM I broth. Swab samples from milking parlour were directly inoculated into 100 mL of UVM I broth. All enrichments were homogenized and then incubated at 30 °C for 24 h. One millilitre of primary enrichments were transferred to 9 mL UVM II broth (Oxoid, CM863, SR143) and Fraser broth (Oxoid, CM895, SR156), and incubated at 35 °C for 24 h. Secondly enrichments were streaked onto Modified Oxford agar (Oxoid, CM856, SR206) and also *Brilliance*TM *Listeria* agar (Oxoid, CM1080, SR227, SR228), and incubated at 35 °C for 48 h. All selective plates were examined for typical *Listeria* colonies and colonies

surrounded by a brownish green and/or black halo were taken as possible *Listeria* spp. One typical suspected *Listeria* spp. colonies from each plate were subcultured to Tryptic Soy agar (Oxoid, CM131) supplemented with 0.6% Yeast extract (Oxoid, L21) for purity and incubated at 37 °C for 24 h. Presumptive *Listeria* isolates were confirmed and identified at the species level on the basis of Gram staining, catalase and oxidase reaction, H₂S production, indole test, urease activity, motility in SIM medium (Oxoid, CM435) at 25°C, β-haemolysis, nitrate reduction, methyl-red-Voges Proskauer test, CAMP test and fermentation of sugars (rhamnose, xylose, mannitol and α-methyl-D-mannopyranoside) [4,6].

Measurement of the pH values of silage samples: Twenty five grams of silage samples were mixed with 100 mL of distilled water with blender and filtered through two layers of cheesecloth. The pH value of the filtrate was immediately measured with a laboratory pH meter (pH 211, Hanna Instruments) [12].

Findings

Listeria species were isolated from 11 (52.38%) out of the 21 dairy cattle farms and were not isolated in the other 10 (47.62%) dairy cattle farms. Overall, *Listeria* spp. were found in 51 (15%) out of the 340 samples. Of these 51 isolates, eight isolates were identified as *L. monocytogenes*, one was *L. ivanovii*, seventeen were *L. innocua*, seven were *L. seeligeri*, seven were *L. welshimeri* and eleven were *L. grayi*. Results of isolation and identification of *Listeria* spp. from samples were shown in Table 1.

Table 1. Results of *Listeria* spp. isolation from samples in dairy cattle farms

Sample type and number (n)	Number of positive farms n (n/21%)	Number of Positive samples n (%)	Number of <i>Listeria</i> species isolated from samples (%)					
			<i>L.monocytogenes</i>	<i>L.ivanovii</i>	<i>L.innocua</i>	<i>L.seeligeri</i>	<i>L.welshimeri</i>	<i>L.grayi</i>
Milk (n:105)	5 (23.8)	8 (7.61)	1 (0.95)	-	3 (2.85)	-	2 (1.9)	2 (1.9)
Fresh feces (n:105)	7 (33.33)	12 (11.42)	1 (0.95)	-	5 (4.76)	2 (1.9)	1 (0.95)	3 (2.85)
Silage (n:21)	3 (14.28)	3 (14.28)	-	-	2 (9.52)	1 (4.76)	-	-
Soil (n:42)	10(47.61)	15 (35.71)	2 (4.76)	1 (2.38)	4 (9.52)	2 (4.76)	2 (4.76)	4 (9.52)
Water (n:42)	8 (19.04)	11 (26.19)	3 (7.14)	-	1 (2.38)	-	2 (4.76)	1 (2.38)
Milking parlour (n:25)	2 (40)*	2 (8)	1 (4)	-	-	1 (4)	-	-
TOTAL (n:340)	11 (52.38)	51 (15)	8 (2.35)	1 (0.29)	17 (5)	7 (2.05)	7 (2.05)	11 (3.23)

*Milking parlour samples were taken from only 5 dairy cattle farms.

In this study, the pH values of the silage samples varied between 3.9 and 7.7, likewise, the pH values of the silage samples that isolated *Listeria* spp. varied between 6.2 and 7.7.

Discussion and Conclusion

The region where the study was conducted, Bandırma province, is located in the Southern Marmara Region of Turkey, and in this region, domestic animals breeding, especially dairy cattle, are performed quite intensively. Domestic animals are likely to be exposed to the organisms which are widely distributed in soil and environment. *Listeria* is a common contaminant in the dairy environment, both on the farm and in the processing plant, and dairy cattle farms play a bigger role in the spread of *Listeria* between animals or humans [20,29,38]. For this reason, investigation of *Listeria* contamination of the dairy cattle farms from the standpoint of animal and public health are very important. This study was planned considering to the literature informations and also to the absence of a previously comprehensive study in this region, and investigated the presence of *Listeria* spp. in dairy cattle farms samples including milk, faeces, silage and environment samples. In the study, the presence of *Listeria* spp. was determined in a least one of the samples taken from 11 (52.38%) of the 21 dairy cattle farms examined, and was not determined in the other 10 dairy cattle farms. In a study conducted by Fox et al. [18], *L. monocytogenes* was isolated from five (55%) of the nine farms which are collected water trough, soil, and fecal samples for analysis. Husu [22] and Esteban et al. [15] reported that *Listeria* spp. was isolated from at least one of the dairy cattles from 45.8% of the 249 herds and 46.3% of 82 herds, respectively. Also, in the studies performed by Takai et al. [43] and Sasaki et al. [39], *Listeria* species were isolated from 20% and 12% of the farms examined, respectively. These results show that of the probability of the presence of *Listeria* spp. in dairy farms is high. However, in the many studies, the rate of positive farms for *Listeria* spp. was not usually reported.

In the present study, *Listeria* spp. was isolated from 8 (7.61%) of 105 milk samples and these milk samples were belonged to the 5 dairy cattle farms.

These isolates were identified as: 1 *L. monocytogenes*, 3 *L. innocua*, 2 *L. welshimeri* and 2 *L. grayi* (Table 1). In addition, in these 5 dairy cattle farms, *Listeria* spp. was found in faecal, soil, water and milking parlour samples from the 2 farms, and it was also found in from faecal, silage, soil and water samples from the 3 farms. Recently studies in Turkey reported that *Listeria* spp. were found between 0% and 2% of isolation rate in cow's milk from dairy farms [3,8,14,44]. Result of this study is high in this range. This high isolation rate may be a result of a widely presence of *Listeria* spp. in these 5 dairy cattle farms. As mentioned above, *Listeria* spp. have also been isolated from the other samples of these farms. *L. monocytogenes* may directly contaminate milk as a consequence of listerial mastitis, and also asymptomatic or healthy cows can also shed *L. monocytogenes* in their milk for many months [29,45,46]. Furthermore, there is evidence supporting a role of silage in the contamination of raw milk with *L. monocytogenes* [37]. Animals fed with *Listeria*-contaminated silage can shed the organism in their milk [13], and *Listeria* species can be isolated from the milk samples of animals fed with silage [44,46]. Also, it has been known that environmental contamination and barn hygiene are important risk factors for the milk contamination [24,37]. Fox et al. [18] detected a correlation between the level of hygiene standards on the farm and the occurrence of *L. monocytogenes* in the environment (water, soil, silage, cow faeces, milk, etc.). However, some authors in other countries reported higher prevalence of *Listeria* spp. in raw milk from bulk tank in the dairy farms [11,25,30,49]. Infected cows [21], cattle feces, silage and farm environment could be sources of the bulk tank milk contamination with *L. monocytogenes* in the dairy farms [28,49]. Another possible origin of bulk tank milk contamination with *L. monocytogenes* can be the milking equipment. Latorre et al. [25] presented evidence that a source of *L. monocytogenes* contamination was milking equipment, 67.6% of in-line milk filter samples and 19.7% of bulk tank milk samples were positive for *L. monocytogenes*. In the same study, *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* were also isolated 35% and %15 of milking parlour and milking equipment samples, respectively. In a different study, 32.2% of milk filter samples and 5.6% of in-line milk samples were positive for *L. monocyto-*

genes [30]. However, in a study by Fox et al. [18], *L. monocytogenes* was not isolated from milk filter samples. In the present study, swab samples were taken from different regions of the milking parlour in 5 dairy cattle farms, and one of the swab samples from 2 farms were found positive for *Listeria* spp. Of them, one from floor samples of milking parlour were found positive for *L. monocytogenes* and one from milk hoses samples were found positive for *L. seeligeri* (Table 1). All these results supports that the milking parlour and milking equipments could be a potential source for *Listeria* spp. including *L. monocytogenes*.

Listeria spp. may be isolated from fecal, soil and silage samples in dairy cattle farms. In current study, *Listeria* species were detected in the fresh feces samples from 7 farms, in the soil samples from 10 farms and in the silage samples from 3 farms. While *L. monocytogenes* was isolated from feces and soil samples, not isolated from silage samples. However, *L. innocua* was isolated at the highest rate from each three sample group (Table 1). Many studies showed that *L. monocytogenes* and *L. innocua* are the most common species in natural environment [23], dairy cows feces and silage [1,14,46,47] and raw milk [24]. But, some studies also reported that of the prevalence of other species in the different environments is high [9,23]. The prevalence of *Listeria* spp. in feces of dairy cattles is variable and higher [1,2,15,18,28]. In these studies, the prevalence of *Listeria* spp. in feces of dairy cattles reported between 6% and 61%. Finding of this study (11.42%) is included in this range. It has been reported that the different results of the prevalence of *Listeria* spp. in feces of healthy dairy cattles may be a result of the varieties of sampling procedure, analytical methods, geography and seasonal variations [1,8,28]. In this study, *L. monocytogenes* were detected from 4.76% of soil samples (Table 1). Previous studies were also carried out the isolation of *L. monocytogenes* from the soil samples of cattle farms. In a study performed by Fox et al. [18], the occurrence of *L. monocytogenes* in of soil samples from dairy farms was reported as 3%. Also, in a case-control study conducted by Nightingale et al. [29], *L. monocytogenes* was found in %14,6 of soil samples from cattle control farms, but was found in 35.3% of soil samples from cattle case

farms. It is known that *L. monocytogenes* as well as *Listeria* spp. to be present in soil in the natural environment. *L. monocytogenes* can survive in the soil for months and even grow in favourable conditions, but soil is not a general or true reservoir for *L. monocytogenes* [17,23]. The presence of *L. monocytogenes* in soil might be probably related to contamination by plant decay or faecal materials of the infected farm animals and wild animals, including wild birds [17,38]. The presence of *Listeria* spp. in silage samples has been demonstrated in several studies [2,14,28,44,46], and the isolation rates of *Listeria* spp. were reported between 0% and 33.2%. Finding of this study (14.28%) is included in this range (Table 1). Similar to this study, Şahin et al. [42] detected *Listeria* spp. (*L. welshimeri* and *L. grayi*) in silage samples, but has not detected *L. monocytogenes*. Similarly, in a study by Pantoja et al. [30], *L. monocytogenes* was not isolated from silage samples in dairy farms, but *Listeria* spp. was isolated from 16.7% rate. However, in the studies by Vilar et al. [46] and Taşçı et al. [44], *L. monocytogenes* was isolated from 6.0% and 6.66% of the silage samples, respectively. The pH of the silage is an important factor for the presence of *Listeria* spp. and the the poor quality silage with a pH value higher than 5.5 supports the growth of *Listeria* spp. [36]. In the present study, the pH values of the silage samples from which *Listeria* spp. (*L. innocua* and *L. seeligeri*) were isolated ranged from 6.2 to 7.7, and *L. monocytogenes* were not isolated from these silage samples. Similarly, Ryser et al. [36] could not identified *L. monocytogenes* in *Listeria* spp.-positive (*L. innocua* and *L. welshimeri*) grass silage samples were all of poor-quality, ranging in pH from 5.78 to 5.89. In a different study, Vilar et al. [46] detected *Listeria* spp. in 29.5% of silage samples with a pH \geq 4.5 and in 6.2% of samples with a pH $<$ 4.5. The pH values of the silage samples which have been isolated *Listeria* spp. in other studies were 3.8 to 5.2 in Rea et al. [33], 4.05 to 5.77 in Durmaz et al. [14], 5.1 to 8.3 in Taşçı et al. [44]. It is well known that, there is an association between silage consumption and listeriosis in ruminants, and *Listeria* spp., including *L. monocytogenes*, most commonly found in poorly fermented silage, and well-preserved silage generally has a pH $<$ 4.5 [23,36,46].

In the present study, *L. monocytogenes* was isolated from the water samples at the highest rate (7.14%) in compared with other samples. However, other *Listeria* species (*L. innocua*, *L. welshimeri* and *L. grayi*) were also isolated in the ratio of 9.52% (Table 1). In Turkey, Atıl et al. [8] reported that *L. monocytogenes* as well as *L. innocua*, *L. welshimeri* and *L. seeligeri* were isolated from water samples in cattle farms. In the studies conducted in other countries, the isolation rates of *L. monocytogenes* were reported between 6.1% and 66% in water samples from dairy cattle farms [18,28,29]. Also, Pantoja et al. [30] and Latorre et al. [25] reported that *Listeria* species were isolated from 45.5% and 61.7% of water samples, respectively. These high isolation rates in water samples suggest that water may be a significant source for *Listeria* spp. including *L. monocytogenes*. However, in the study by Latorre et al. [25], *L. monocytogenes* was isolated from the drinking water samples, but was not isolated from the source water samples throughout the study, and researchers, taking into considering the results of PFGE, reported that source of the drinking water contamination is feces. In this study, water samples were taken from two different points in each farm; source water (used to fill water troughs or drinking cups) and drinking water (from the water troughs or the drinking cups). As a result; in the 8 dairy cattle farms which are water samples positive for *Listeria* spp., *Listeria* spp. were isolated from the drinking water samples of 6 farms and, the source water samples of 1 farm and, the drinking water as well as the source water samples of 1 farm. Also, *L. monocytogenes* was isolated from drinking water (one farm) as well as source water (two farms) samples. Waters of these two farms which are source water samples positive for *L. monocytogenes* are provided from artesian wells, and both farms are situated fairly close to lake and there are agricultural lands of around. Obviously, in the scope of the present study, it is not possible to make suggestions about how to being contaminated of the source waters of two farm with *L. monocytogenes*. However, it is known that *L. monocytogenes* is present in the water environments such as lake, ditches, effluent from a sewage treatment plant, canals leading from this sewage treatment plant to the sea, the sea and river [23]. In addition, springs and groundwater wells may be harbour to the bacterium [27].

As a conclusion, the results of this study showed that *Listeria* spp. including *L. monocytogenes* are widely among dairy cattle farms. This status also indicates that there is a potential risk in terms of animal health and public health. Therefore, necessary measures must be taken for the main sources of *Listeria* such as silage, soil, water, manure, effluents and milking parlour. Biosecurity and hygiene practices are important for reducing the risk of introduction and perpetuation of *Listeria* spp. on farms. Briefly, for the control of listeriosis, it can be taken measures such as the control of silage fermentation and feed quality, the improvement of water quality, the manure treatment to inactivate organisms, and the hygienic practises at the every stage on dairy farms [38]. Continuous monitoring and surveillance programs are needed to evaluate trends of the occurrence of *Listeria* spp. in dairy cattle farms.

Acknowledgements

The author would like to thank to the cooperation of all farmer who allowed sampling, and also thank to Ismail Kanburoğlu for his help in sample collection.

References

1. **Abay S, Aydın F**, (2005). *Isolation and Identification of Listeria Spp. from Faeces Samples of Healty Cattle*. J Health Sci. 14, 191-197.
2. **Abay S, Aydın F, Sümerkan AB**, (2012). *Molecular typing of Listeria spp. isolated from different sources*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 59, 183-190.
3. **Akça D, Şahin M**, (2011). *Investigation of Listeria species isolated from milk and vaginal swab samples of cows in the province of Kars, Turkey*. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 17, 987-993.
4. **Allerberger, F**, (2003). *Listeria: growth, phenotypic differentiation and molecular microbiology*. FEMS Immunol Med Microbiol, 35, 183-189.
5. **Anonymous**, (2000). *AOAC Official Method 993.12, Listeria monocytogenes in Milk and Dairy Products, Selective Enrichment and Isolation Method (IDF Method)*. Chapter 17.10.01, Horwitz W. Eds. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 17th ed. Volume 1. Agricultural Chemicals, Contaminants and Drugs. AOAC International, Gaithersburg, MD. p. 138-139.
6. **Anonymous**, (2014a). *Listeria monocytogenes*, OIE Terrestrial Manual 2014, Chapter 2.9.7, Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2014, Available in http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.09.07_LISTERIA_MONO.pdf, Accessed on September 5, 2014.

7. **Anonymous**, (2014b). *Isolation and identification of Listeria monocytogenes from red meat, poultry and egg products, and environmental samples*. USDA Microbiology Laboratory Guidebook. MLG 8.09, pp.1-20, Effective: 05/012013. Available in <http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/1710bee8-76b9-4e6c-92fc-fdc290dbfa92/MLG-8.pdf?MOD=AJPERES> Accessed on September 5, 2014.
8. **Atıl E, Ertas HB, Ozbey G**, (2011). *Isolation and molecular characterization of Listeria spp. from animals, food and environmental samples*. Vet Med, 56, 386–394.
9. **Aygün O, Pehlivanlar S**, (2006). *Listeria spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey*. Food Cont, 17, 676-679.
10. **Borucki MK, Gay CC, Reynolds R, McElwain KL, Kim SH, Call DR, Knowles DP**, (2005). *Genetic diversity of Listeria monocytogenes strains from a high-prevalence dairy farm*. Appl Environ Microbiol, 71, 5893-5899.
11. **Carlos VS, Oscar RS, Irma QRE**, (2001). *Occurrence of Listeria species in raw milk in farms on the outskirts of Mexico city*. Food Microbiol, 18, 177–181.
12. **Demirel M, Yıldız S**, (2001). *Süt Olum Döneminde Biçilen Arpa Hasılına Üre ve Melas Katılmasının Silaj Kalitesi ve Rumende Ham Besin Maddelerinin Parçalanabilirliği Üzerine Etkisi*. J Agri Sci, 11, 55-62.
13. **Donnelly CW**, (1986). *Listeriosis and dairy products: Why now and why milk?* Hoard's Dairyman, 131, 663-687.
14. **Durmaz H, Avcı M Aygün O**, (2014). *The Presence of Listeria Species in Corn Silage and Raw Milk Produced in Southeast Region of Turkey*. Kafkas Univ Vet Fak Derg, DOI: 10.9775/kvfd.2014.11664.
15. **Esteban JI, Oporto B, Aduriz G, Juste RA**, (2009). *Hurtade A. Faecal shedding and strain diversity of Listeria monocytogenes in healthy ruminants and swine in Northern Spain*. BMC Veterinary Research, 5(2): doi:10.1186/1746-6148-5-2. Available in <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/5/2> Accessed on September 5, 2014.
16. **Farber JM, Peterkin PI**, (1991). *Listeria monocytogenes, a food-borne pathogen*. Microbiol Rev, 55, 476–511.
17. **Fenlon DR, Shepherd JL**, (2000). *Ecology of Listeria monocytogenes: Studies on Incidence, Growth, and Microbial Competition in Primary Production*. Proceedings from the ILSI North America Symposium Series on Food Microbiology, p. 26–28.
18. **Fox E, O'Mahony T, Clancy M, Dempsey R, O'Brien M Jordan K**, (2009). *Listeria monocytogenes in the Irish Dairy Farm Environment*. J Food Protect, 72, 1450–1456.
19. **Guillet C, Join-Lambert O, Le Monnier A, Leclercq A, Mechaï F, Mamzer-Bruneel MF, Bielecka MK, Scortti M, Disson O, Berche P, Vazquez-Boland J, Lortholary O, Lecuit M**, (2010). *Human listeriosis caused by Listeria ivanovii*. Emerg Infect Dis, 16, 136-138.
20. **Ho AJ, Ivanek R, Gröhn YT, Nightingale KK Wiedmann M**, (2007). *Listeria monocytogenes fecal shedding in dairy cattle shows high levels of day-to-day variation and includes outbreaks and sporadic cases of shedding of specific L. monocytogenes subtypes*. Prevent Vet Med, 80, 287–305.
21. **Hunt K, Drummond N, Murphy M, Butler F, Buckley J, Jordan K**, (2012). *A case of bovine raw milk contamination with Listeria monocytogenes*. Irish Veterinary Journal, 65,13. <http://www.irishvetjournal.org/content/65/1/13>. Accessed on September 5, 2014.
22. **Husu JR**, (1990). *Epidemiological studies on the occurrence of Listeria monocytogenes in the feces of dairy cattle*. Zentralbl Veterinarmed B, 37, 276-282.
23. **Ivanek R, Gröhn YT, Wiedmann M**, (2006). *Listeria monocytogenes in multiple habitats and host populations: Review of available data for mathematical modeling*. Foodborne Pathog Dis, 3, 319-336.
24. **Kalorey DR, Warke SR, Kurkure NV, Rawool DB, Barbudhe SB**, (2008). *Listeria species in bovine raw milk: A large survey of Central India*. Food Cont, 19, 109–112.
25. **Latorre AA, Van Kessel JAS, Karns JS, Zurakowski MJ, Pradhan AK, Zadoks RN, Boor KJ, Schukken YH**, (2009). *Molecular Ecology of Listeria monocytogenes: Evidence for a Reservoir in Milking Equipment on a Dairy Farm*. Appl Environ Microbiol, 75, 1315–1323.
26. **Liu D**, (2013). *Molecular Approaches to the Identification of Pathogenic and Nonpathogenic Listeriae*. Microbiol Insights, 6, 59–69.
27. **Miettinen H, Wirtanen G**, (2006). *Ecology of Listeria spp. in a fish farm and molecular typing of Listeria monocytogenes from fish farming and processing companies*. Int J Food Microbiol, 112, 138–146.
28. **Mohammed HO, Stipetic K, McDonough PL, Gonzalez RN, Nydam DV, Atwill ER**, (2009). *Identification of potential on-farm sources of Listeria monocytogenes in herds of dairy cattle*. Am J Vet Res, 70, 383-388.
29. **Nightingale KK, Schukken YH, Nightingale CR, Fortes ED, Ho AJ, Her Z, Grohn YT, McDonough PL, Wiedmann M**, (2004). *Ecology and transmission of Listeria monocytogenes infecting ruminants and in the farm environment*. Appl Environ Microbiol, 70, 4458-4467.
30. **Pantoja JCF, Rodrigues ACO, Hulland C, Reinemann DJ, Ru PL**, (2012). *Investigating Contamination of Bulk Tank Milk with Listeria monocytogenes on a Dairy Farm*. Food Prot Trends, 32, 512-521.
31. **Pell AN**, (1997). *Manure and microbes: public and animal health problem?* J Dairy Sci, 80, 2673–2681.
32. **Perrin M, Bemer M, Delemore C**, (2003). *Fatal case of Listeria innocua bacteremia*. J Clin Microbiol, 41, 5308-5309.
33. **Rea MC, Cogan TM, Tobin S**, (1992). *Incidence of pathogenic bacteria in raw milk in Ireland*. J Appl Bacteriol, 73, 331-336.
34. **Rocourt J, Hof H, Schrettenbrunner A, Malinverni R, Bille J**, (1986). *Acute purulent Listeria seeligeri meningitis in an immunocompetent adult*. Schweiz Med Wochenschr, 116, 248–251.
35. **Rocourt J, BenEmbarek P, Toyofuku H, Schlundt J**, (2003). *Quantitative risk assessment of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods: the FAO/WHO approach*. FEMS Immunol Med Microbiol, 35, 263-267.

36. Ryser ET, Arimi SM, Donnelly CW, (1997). *Effects of pH on distribution of Listeria ribotypes in corn, hay, and grass silage*. Appl Environ Microbiol, 63, 3695-3697, 1997.
37. Sanaa M, Poultrrel B, Menard JL, Seieys F, (1993). *Risk factors associated with contamination of raw milk by Listeria monocytogenes in dairy farms*. J Dairy Sci, 76, 2891-2898.
38. Santorum P, Garcia R, Lopez V, Martinez-Suarez JV, (2012). *Review. Dairy farm management and production practices associated with the presence of Listeria monocytogenes in raw milk and beef*. Span J Agric Res, 10, 360-371.
39. Sasaki Y, Murakami M, Haruna M, Maruyama N, Mori T, Ito K, Yamada Y, (2013). *Prevalence and characterization of foodborne pathogens in dairy cattle in the eastern part of Japan*. J Vet Med Sci, 75, 543-546.
40. Sauders BD, Wiedman M, (2007). *Ecology of Listeria species and L. monocytogenes in the natural environment*. Ryser ET, Marth EH. eds *Listeria, Listeriosis and Food Safety* 3rd ed. CRD Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, p. 21-54.
41. Swaminathan B, Gerner-Smidt P, (2007). *The epidemiology of human listeriosis*. Microbes Infect, 9, 1236-1243.
42. Şahin K, Çerçi İH, Güler T, Özcan C, Şahin N, (1996). *Silaj ve kuru ot katılan rasyonlarla beslenen süt ineklerinin kaba yem ve sütlerinde Listeria türlerinin araştırılması*. Fırat Univ Sağlık Bil Derg, 10, 245-249.
43. Takai S, Orie F, Yasuda K, Inoue S, Tsubaki S, (1990). *Isolation of Listeria monocytogenes from raw milk and its environment at dairy farms in Japan*. Microbiol Immunol, 34, 631-634.
44. Taşçı F, Türütoğlu H, Ögütçü H, (2010). *Investigations of Listeria Species in milk and silage produced in Burdur Province*. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 16 (Suppl-A), S93-S97.
45. Unerstad H, Romell A, Ericsson H, Danielsson-Tham ML, Tham W, (2000). *Listeria monocytogenes in faeces from clinically healthy dairy cows in Sweden*. Acta Vet Scand, 41, 167-171.
46. Vilar MJ, Yus E, Sanjuán ML, Diéguez JL, Rodríguez-Otero FJ, (2007). *Prevalence of and risk factors for Listeria species on dairy farms*. J Dairy Sci, 90, 5083-5088.
47. Waak E, Tham W, Danielsson-Tham ML, (2002). *Prevalence and fingerprinting of Listeria monocytogenes strains isolated from raw hole milk in farm bulk tanks and in dairy plant receiving tanks*. Appl Environ Microbiol, 68, 3366-3370.
48. Walker JK, Morgan JH, McLaughlin J, Grant K, Shallcross JA, (1994). *Listeria innocua isolated from a case of ovine meningoencephalitis*. Vet Microbiol, 42, 245-253.
49. Yoshida T, Kato Y, Sato M, Hirai K, (1998). *Source and routes of contamination raw milk with L. monocytogenes and its control*. J Vet Med Sci, 60, 1165-1168.

Enterokokların önemli virülens faktörleri ve gıdalarda bulunuşu

Azam AZIMI MAHALLEH¹, Muammer GÖNCÜOĞLU¹

¹ Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 06110, Dışkapı, Ankara

Geliş Tarihi / Received: 26.11.2014, Kabul Tarihi / Accepted: 15.12.2014

Özet: Enterokoklar, insan ve çiftlik hayvanlarının doğal bağırsak florasında, toprak, su ve gıdalarda bulunabilen Gram pozitif mikroorganizmalardır. Patogen enterokoklar, sitolizin, agregasyon faktörü, jelatinaz, hyaluronidaz gibi insan sağlığı açısından önemli birçok virülens faktöründen bir veya birkaçına sahiptir. Gıda kaynaklı ve nozokomiyal enterokok infeksiyonlarının gelişiminde; intrinsik ve kazanılmış çoklu antibiyotik direnci önemli rol teşkil etmektedir. Enterokoklar fekal yolla çiğ et ve süt başta olmak üzere taze gıdalara bulaşabilmekte, ayrıca ısıya relatif direncinden dolayı ısı işlemi görmüş gıdalarda da gıda hijyeni açısından önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik direnç, Enterokoklar, Gıda, Virülens faktörler

Important virulence factors of enterococci and presence in foods

Summary: Enterococci are ubiquitous Gram-positive bacteria that inhabit intestinal flora of healthy humans and animals, soil, surface water and food. Pathogenic enterococci have one or more of the virulence factors such as cytolysin, aggregation substance, gelatinase, hyaluronidase and etc., which are important for human health. Withal intrinsic and acquired resistance ability to multiple antibiotics, constitutes an important role in the development of nosocomial and foodborne enterococcal infections. Enterococci can be transmitted to fresh foods including raw meat and milk via fecal contamination. As they have relative resistance of heat they can survive in heat-treated foods and for this reason they are important for food hygiene.

Key words: Antibiotic resistance, *Enterococcus*, Food, Virulence factors

Giriş

Enterokoklar, insan ve çiftlik hayvanlarının doğal bağırsak florasında, toprak, su ve gıdalarda bulunabilen Gram pozitif bakteriyel etkenlerdir. İnsan bağırsağında, enterokok türleri içinde *Enterococcus faecalis* ve *E. faecium* baskın türlerdir. Bu bakteriler, sahip oldukları virülens özellikleri ile endokardit, bakteriyemi, menenjit ve neonatal infeksiyonların yanı sıra, solunum, üriner ve gastrointestinal sistem infeksiyonlarına, ayrıca intra-abdominal, yara ve yumuşak doku infeksiyonlarına da yol açmaktadırlar [27, 36]. Enterokokların virülensinde, genomda bulunan patojenite adaları ve plazmidlerde kodlanan virülens genleri rol oynamaktadır. Etkenin başlıca virülens faktörleri arasında; sitolizin, agregasyon faktörü (AF), jelatinaz (GeLE), hyalüronidaz (HYL), ekstraselüler süperoksit, enterokok yüzey proteini (ESP), lipoteikoik asit (LTA), enterokokların kollagenin adhesiv matriks molekül adezyonunu tanıyan mikrobiyal yüzey bileşeni (MSCRAMM), kapsül ve hücre duvarı polisakaritler, seks fero-

monlar, biyofilm, *Enterococcus faecalis* antijen A proteini (EfaA Proteini) ve antibiyotik direnç yer almaktadır [8].

Enterokokların Virülens Faktörleri

Gıdalardan ve klinik izolatlardan elde edilen sonuçlara göre farklı enterokoklarda farklı virülens faktörlerin bulunabildiği bildirilmektedir. Genel olarak bakıldığında konak dokuya aderenz, invazyon, konak yangı tepkileri ve bakterinin potansiyel toksik ürünlerinin oluşmasının hastalık tablolarında temel oluşturduğu bildirilmektedir [15]. Eaton ve Gasson [6], gıdalardan izole ettikleri *E. faecalis* suşlarının % 44'ünde ve klinik *E. faecalis* izolatlarının % 56'sında sitolizin aktivitesi gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, toplam 250 gıda kaynaklı enterokok izolatının; 127'si *E. faecalis*, 77'si *E. faecium*, 21'i *E. casseliflavus*, 19'ü *E. mundtii* ve 6'sı *E. durans* olduğu bildirilmiştir. Bu izolatların % 0.8'inde GeLE, % 19'unda HYL, % 15'inde AF, % 28'inde ESP, % 2'sinde sitolizin ve % 22'sinde EfaA proteininin olduğu saptanmıştır [34].

Sitolizin: Çeşitli enterokok izolatlarında bulunabilen, insan, at ve tavşan eritrositlerine karşı litik aktivite gösteren bir sitotoksik proteindir. Sitolizin eritrositler dışında, polimorfonükleer lökositler (PMNL), makrofajlar ve Gram pozitif mikroorganizmalara karşı da litik aktivite gösterebilmektedir. Bununla beraber toksinin; koyun eritrositlerine ve Gram negatif bakterilere karşı inaktif olduğu ortaya konmuştur. Sitolizin'in aynı zamanda bir bakteriyosin olduğu ve bakteriyosininde bütün Gram pozitif mikroorganizmalar için bakterisidal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Sitolizin kodlayan gen bölgesi, plazmid üzerinde ya da bakteriyel kromozoma entegre olarak bulunabilmektedir. Sitolizin operonu *cylR1*, *cylR2*, *cylL_P*, *cylL_S*, *cylM*, *cylB*, *cylA*, ve *cylI* olarak tanımlanan sekiz gen içermektedir [5, 13, 38].

Agregasyon Faktörü (AF): Agregasyon faktörü, plazmidlerdeki *asal* geni tarafından kodlanan, bakteri yüzeyinde yer alan, protein yapıda bir adezindir [13]. AF, enterokok hücreleri arasında plazmid transferini kolaylaştırmaktadır. Aynı zamanda konjugasyon sırasında adezyonu arttırma, hücre-hücre temasını düzenleme, hücre dışı matriks proteinlerin adezyonla konak hücreye yapışma ve hücre yüzey hidrofobitesini arttırma gibi özellikleri ile virülense katkıda bulunmaktadır [2, 23, 38]. AF, enterokoklara; nötrofiller, makrofajlar, bağırsak ve böbrek epitel hücreleri ve kalp kapaklarına bağlanma ve bu sayede endokardit ve üriner sistem infeksiyonu oluşturma yeteneğini sağlamaktadır [19].

Jelatinaz (GelE): Enterokoklar tarafından üretilen jelatinaz; jelatin, kollajen, fibrinojen, kazein, hemogloblin ve insülini hidrolize edebilen, matriks metallo proteinaz (MMP) ailesinin ekstra selüler çinko içeren bir üyesidir [2, 38]. Jelatinaz kodlayan *gelE* geni kromozom üzerinde yer almaktadır. Jelatinaz ve serin proteaz, biyofilm oluşumu ve konak dokuların yıkımlanması ile patogeneizde rol oynamaktadır [8].

Hyaluronidaz (HYL): Hyaluronidaz, jelatinaz ve serin proteaz hidrolitik enzimleri içerisinde yer almaktadır [8]. Hyaluronidaz enzimi, *hyl* geninde kodlanmaktadır [35]. Hyaluronidaz, hyaluronik asidi tahrip ederek doku hasarına yol açan bir enzimdir. Bağ dokudaki mukopolisakkaritlerin değişimlerine sebep olarak bakterinin vücut içerisinde yayılmasını sağlamaktadır [8].

Ekstraselüler süperoksit: Süperoksit anyon, yüksek oranda bir reaktif oksijen radikalidir. İnflamatuar hastalıklarda hücre ve doku hasarına neden olmaktadır. Yağlar, proteinler ve nükleik asitler gibi biyolojik bileşiklerde yıkıcı etkiye sahip olmaktadır. Nötrofil ve diğer fagositik hücrelerde süperoksit üretimi mikroorganizmaların inhibisyonu için gereklidir ve yangıda doku hasarına yol açmaktadır [17]. Enterokoklar katalaz negatif olmalarına rağmen hidrojen peroksidin indirgenmesi için nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) peroksidazı eksprese etmektedirler. Aynı zamanda süperoksidi hidrojen peroksida dönüştürmek için, süperoksit dismutaz enzimine sahiptirler. Bu enzimler makrofajlar tarafından fagositoza maruz kalan enterokokların hayatta kalabilme kabiliyetlerini arttırmaktadır. NADH oksidazı kodlayan gen, *E. faecalis* genomunda bulunmaktadır [15].

Enterokokal yüzey proteini (ESP): İlk kez bir gentamisin dirençli *E. faecalis* MMH594 suşundan izole edilmiştir. Yüksek moleküler ağırlığa sahip ESP, 153 kb büyüklüğündeki bir patojenite adasında yer alan *esp* geninde kodlanmaktadır. Bu gen konjugasyonla enterokok izolatları arasında aktarılabilmektedir [26, 32]. ESP, N-terminal ucu ile hücre duvarına bağlanarak, bakterinin immün cevaptan kaçışını kolaylaştırmaktadır. ESP'nin, üriner sistem infeksiyonlarında bir kolonizasyon faktör gibi *E. faecalis*'in mesane epiteline yapışmasını sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca biyofilm oluşumunu ve bakterinin bazı antibiyotiklere direnç göstermesini sağlamaktadır [35].

Lipoteikoik asit (LTA): LTA, poligliserol fosfat ve fosfodiesterine bağlı, glikolipid içeren bir amfi-patik moleküldür. Hücre duvarında olan LTA, enterokokların D grubu antijenini oluşturmaktadır [15]. Bu molekülün lipit parçası; trombosit, eritrosit, lenfosit, PMNL ve epitel hücresi gibi pek çok ökaryotik hücreye bağlanabilmektedir [17]. Lipoteikoik asit gibi yüzey molekülleri; Gram pozitif bakterilerde otolitik faaliyetleri düzenlemek gibi çeşitli işlevler yapmaktadır [7]. *E. faecalis* suşlarında adezyon özelliği gösteren LTA'nın; donör hücre tarafından üretilen agregasyon faktörü için, alıcı hücrede reseptör olarak fonksiyon gördüğü bildirilmiştir [1]. Bu yüzden plazmid transferi ve agregat oluşumunu kolaylaştırarak *E. faecalis*'in virülensine katkıda bulunduğu düşünülmektedir [15]. Yapılan bir çalış-

mada LTA'nın, biyofilm oluşumu ve antimikrobiyal peptidlere karşı direnç gelişimine sebep olduğu tespit edilmiştir [7].

Enterokokların kollajenin adhesiv matriks molekül adezyonunu tanıyan mikrobiyal yüzey bileşeni (MSCRAMM; Microbial surface component recognizing adhesive matrix molecule adhesin of collagen from enterococci): Yapısal ve fonksiyonel olarak *Staphylococcus aureus*'un kollajen bağlayan Cna proteinine benzer, özelliklere sahip bir adezindir. *E. faecalis*'lerde kollajen bağlayıcı adezin olarak tespit edilen Ace; enterokokal infeksiyonlarda, özellikle *E. faecalis* endokarditlerinde yaygın olarak eksprese edilmektedir [38]. MSCRAMM; *ebpAfm*, *ebpBfm*, *ebpCfm*, *scm*, *fms* genleri tarafından kodlanmaktadır [30].

Kapsül ve hücre duvarı polisakkaritleri: Klinik *E. faecalis* izolatlarında yaygın olarak üretilen kapsül polisakkaritini kodlayan bir operon bulunmaktadır. Bunun dışında hem *E. faecalis* hem de *E. faecium* izolatlarında ikinci bir kapsül polisakkariti daha tanımlanmıştır. Her iki polisakkaride karşı oluşan antikolar, enterokok infeksiyonlarının önlenmesinde etkili olmaktadır. Enterokoklarda hücre duvarı polisakkaritler; gliserol fosfat, glikoz ve galaktoz komponentlerinden oluşmaktadır. Antikolar için hedef olan bu yapılar, immünite için hedef rolü oynamaktadırlar. Bu sebeple aşı oluşturmadaki önemleri araştırılmaktadır [33]. Bu polisakkaritler, *epa* gen kümesinde bulunan *orfde4* ve *orfde6* genler tarafından kodlanmaktadır [39].

Seks feromonlar: Seks feromonlar; *cpd*, *cob*, *ccf*, *cad* genlerinde kodlanan, 7-8 amino asit uzunluğunda, küçük ve hidrofobik peptitlerdir. *E. faecalis*'te sinyal peptitleri olarak fonksiyon görmektedirler. Seks feromon sistemi ile suşlar arasında konjugatif plazmidlerin transferi birkaç kat artırılmaktadır [4, 6]. *E. faecalis* suşları, kültür ortamında farklı seks feromonlar salgılamaktadır. Alıcı enterokok tarafından üretilen seks feromon, verici hücrede AF üretimini sağlamaktadır. Böylece alıcı ve verici hücre arasında sıkı temas sağlanır ve konjugatif plazmidin geçişi kolaylaşır [6, 17, 24]. Ayrıca antibiyotik direnci ve sitolizin gibi virülens faktörleri seks feromon sistemi ile *E. faecalis* suşları arasında yayılabilmektedir [17]. Bazı seks feromonlar, nötrofiller için kemotaktiktir, süper oksit üretimini ve

lizozomal enzim sekresyonunu indükler ve bu sayede doku hasarı oluşturur [28].

Biyofilm: Enterokokların oluşturduğu biyofilmler; insan vücudunda endokardit ve üriner sistem infeksiyonlarına neden olmaktadır [8]. Glikoz, demir ve CO₂'nin varlığı, ozmolarite, pH ve sıcaklık gibi faktörler, farklı bakteriler tarafından üretilen biyofilmi etkilemektedirler. Karbonhidrat metabolizması (çeşitli Gram pozitif bakterilerde özellikle *E. faecalis*'de) biyofilm üretimini düzenlemektedir. Yüksek düzeyde glikoz konsantrasyonu varlığında; enterokok yüzey proteini, biyofilm oluşumunu arttırmaktadır [22]. Enterokoklar tarafından oluşan biyofilmler, kurutma, temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerine ve deterjanlara dayanıklıdırlar. Gıda endüstrisinde ıslak yüzeyler; biyofilm oluşturan bakterilerin tutunma ve kolonizasyonunu desteklemektedir. Biyofilmler gıda sanayisinde kontaminasyona neden olarak gıda hijyeni ve halk sağlığı açısından önem taşımaktadır. Ayrıca enterokokal yüzey proteini, enterokokların gıda ile temas ettikleri yüzeylerde biyofilm oluşumunu arttırmaktadır [25, 29].

Enterococcus faecalis antijen A proteini (EfaA Proteini): İlk olarak insanlarda endokardite neden olan *E. faecalis* izolatlarında tanımlanan EfaA proteini, *efaA* geninde kodlanmaktadır [21]. *E. faecalis* suşlarında EfaA, manganez transport sistemi için bağlayıcı protein reseptörüdür. EfaA'nın, manganezden fakir olan ortamda fazla miktarda eksprese edildiği ve endokarditlerde adezin olarak fonksiyon gördüğü bildirilmiştir. Ayrıca klinik örneklerden, hastane ortamından, süt, peynir ve et gibi gıdalardan izole edilen *E. faecalis* suşlarında da EfaA'nın bulunduğu gösterilmiştir [6, 20].

Antibiyotik direnç: Enterokoklarda antibiyotiklere direnç intrinsik (doğal-kromozomal) ve kazanılmış direnç olarak ortaya çıkmaktadır [31]. İntrinsik direnç; enterokok türlerinde kromozomal direnç genleriyle ilişkilidir. Bu direnç bakterilerin tür veya cinslerine bağlı bir özelliktir. Antibiyotiklere karşı kazanılmış direnç gelişimi, iki yolla oluşmaktadır. Bunlar; (i) DNA mutasyonları ve direnç genlerini içeren transpozon veya plazmidlerin kazanılması ve (ii) antibiyotik tedavilerinde seçilen baskın antibiyotik kullanımına bağlı olarak yeni bir DNA segmentinin konjugasyon, transdüksiyon veya transformasyon mekanizmalarıyla genom transferidir [14, 18].

Enterokokların Gıdalarda Bulunuşu

Et ve et ürünlerinde enterokokların varlığı:

Enterokoklar olumsuz çevre koşullarına ve ısıya dirençli oldukları için, gıda güvenliği ve kalitesinin indeksi olarak düşünülmektedir. Hayvanların gastrointestinal sisteminde enterokokların varlığı kesim sırasında etin kontamine olmasına yol açabilmektedir. Çiğ et ve ürünleri üzerinde yapılan çalışmalarda, sığır ve domuz etlerinden *E. faecalis* ve *E. faecium*'un baskın tür olarak izole edildiği bildirilmiştir. Enterokoklar pH, tuz ve ısıya dirençli oldukları için pişmiş ve işlem görmüş etlerde bozulmaya neden olabilmektedir [9, 10, 11]. Yapılan bir çalışmada, toplam 75 et ürünleri kaynaklı enterokok izolatının; 41'i *E. faecalis*, 25'i *E. faecium*, 6'sı *E. casseliflavus*, 2'si *E. mundtii* ve 1'i *E. durans* olduğu bildirilmiştir [34]. Ankara'da yapılan bir çalışmada tavuk mezbahalarından toplanan 106 tavuk boyun derisi örneğinde enterokokların varlığı incelenmiştir. İncelenen örneklerin 83'ünde (% 78) *Enterococcus* spp. izole edilmiştir. *Enterococcus* pozitif izolatların % 48'i *E. faecium*, % 23'ü *E. durans*, % 19'u *E. faecalis*, % 6'sı *E. gallinarum*, % 1'i *E. hirae*, % 1'i *E. mundtii* ve % 1'i *E. casseliflavus* olarak tanımlanmıştır [16].

Çeşitli fermente et ürünlerinde birçok bakteriyosin üreten enterokok izole edilmiştir. Fermente et ürünlerinde *E. faecium* suşu starter kültür olarak ya da suşun ürettiği enterosin bakteriyosin olarak kullanılmaktadır [9]. Enterokok suşları etin fermantasyonunda kısmen rekabetçi olup *Listeria* spp. üremesini inhibe edebilmektedir. Vignolo ve ark. [37], *E. faecium* CRL35'in oluşturduğu enterosin CRL35'in *L. monocytogenes* ve *L. innocua* üzerine inhibitör etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Süt ve süt ürünlerinde enterokokların varlığı: Süt ve süt ürünlerinde enterokokların prevalansı, süt üretim ve işlem esnasında hijyenik olmayan koşulların bir göstergesi olarak kabul edilmiştir [11]. Manchego, Mozzarella, Kefalotyri, Picante de Beira Baixa, Serra, Cebreiro, Comte, Domiati ve kaşar gibi tam olgunlaşmış peynirlerde enterokok türlerinin baskın olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte enterokokların; proteoliz, sonucu oluşan diasetil ve diğer uçucu bileşiklerin üretimiyle peynirlerde, olgunlaşma ve aroma gelişimine de katkıda buldukları bildirilmiştir [9]. Ankara'da 2000-2001 yıllar arasında yapılan bir çalışmada, çeşitli süt

işletmelerinden toplanan 78 çiğ süt örneğinde 177 enterokok izole edilmiştir. Bu izolatların % 54.2'si *E. faecalis* % 29'u *E. faecium*, % 6.2'si *E. durans*, % 5'i *E. hirae*, % 3'ü *E. gallinarum*, % 2.2'si *E. mundtii* ve % 0.5'i *E. raffinosus* olarak bildirilmiştir [3]. Yapılan başka bir çalışmada, toplam 100 süt ürünleri kaynaklı enterokok izolatının; 56'sı *E. faecalis*, 30'u *E. faecium*, 12'si *E. casseliflavus*, 1'i *E. mundtii* ve 1'i *E. durans* olduğu bildirilmiştir [34].

Enterokokların geniş pH aralığında [4,5-9,6] üreyebilmeleri, yüksek tuz konsantrasyonlarına (% 6,5) dayanıklı olmaları ve yüksek enzimatik aktiviteleri nedeniyle süt ürünleri teknolojisinde starter veya ek starter olarak kullanılabilirleri bildirilmektedir. Ancak starter kültür olarak kullanılacak enterokok türlerinin belirlenmesinde; suşun apatojen olması yanında, antibiyotiklere dirençliliğinin olmaması gerekliliği vurgulanmaktadır. Bu kapsamda Cheddar, Manchego, Feta ve Beyaz peynir gibi çeşitli peynirlerin üretiminde mevcut starter kültürlerin yanında apatojen enterokok suşlarının da kullanılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır [12]. Peynir starter kültürleri ile birlikte enterokokların antibakteriyel maddeler (enterosin) oluşturmaları, ürünün hijyenik kalitesi için de avantaj olarak görülmektedir. Enterosinlerin *Listeria* spp. ve *Clostridium* spp. gibi gıda kaynaklı patojenlere karşı inhibitör etkisi oldukları bildirilmiştir [9].

Sebze, zeytin ve sulara enterokokların varlığı: Vankomisin dirençli enterokoklar kontamine sular ile sulanmış bitkiler, atık sular ve dışkıları gibi çeşitli kaynaklardan çevresel kontaminasyon yoluyla bitkisel gıdalara da bulaşabilmektedir. İçme sularının enterokoklar tarafından kontamine olması nozokomiyal infeksiyonlara neden olmaktadır. Ayrıca enterokoklar sebze, zeytin ve bitkilerden de izole edilebilmektedir. Özellikle *E. faecalis* ve *E. faecium* türleri fermente yeşil zeytinlerde izole edilmiştir [9, 11].

Sonuç

Enterokoklar fırsatçı patojenlerdir ve genellikle bağışıklık sistemi baskılanmış ya da ciddi hastalığı olan insanlarda infeksiyonlara neden olabilmektedirler. Enterokokların patojenite özelliklerinde; vankomisin gibi bazı antibiyotiklere direnç ve sahip oldukları çeşitli virülens faktörlerin önemli

rolü olduğu belirtilmektedir. Enterokoklar insan ve çiftlik hayvanlarının doğal bağırsak florasında bulunmaları, klinik infeksiyonlarda etkili olmaları ve antibiyotiklere karşı gösterdikleri direnç nedeniyle gıda kaynaklı patojenler olarak görülebilmektedirler. Bu grup bakteriler diğer bakterilerin yıkımlandığı koşullarda canlılıklarını devam ettirebildikleri için gıda hijyeni açısından önem arz etmektedirler. Gıdalardan ve klinik vakalardan elde edilen izolatların başta vankomisin olmak üzere antibiyotiklere olan direnç durumlarının izlenmesi halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Kaynaklar

1. Bensing BA, Dunny GM, (1993). *Cloning and molecular analysis of genes affecting expression of binding substance, the recipient-encoded receptor(s) mediating mating aggregate formation in Enterococcus faecalis*. J Bacteriol. 175, 7421-7429.
2. Biavasco F, Foglia G, Paoletti C, Zandri G, Magi G, Guaglianone E, Sundsfjord A, Pruzzo C, Donelli G, Facinelli B, (2007). *VanA-Type enterococci from humans, animals, and food: species distribution, population structure, Tn1546 typing and location, and virulence determinants*. Appl Environ Microbiol. 73, 3307-3319.
3. Citak S, Yucel N, Mendi A, (2005). *Antibiotic resistance of enterococcal isolates in raw milk*. J Food Process Pres. 29, 183-195.
4. Clewell DB, (1993). *Bacterial sex pheromone-induced plasmid transfer*. Cell. 73, 9-12.
5. Cox CR, Coburn PS, Gilmore MS, (2005). *Enterococcal cytolysin: a novel two component peptide system that serves as a bacterial defense against eukaryotic and prokaryotic cells*. Curr Protein Pept Sci. 6, 77-84.
6. Eaton TJ, Gasson MJ, (2001). *Molecular screening of Enterococcus virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates*. Appl Environ Microbiol. 67, 1628-1635.
7. Fabretti F, Theilacker C, Baldassarri L, Zbigniew Kaczynski Z, Kropec A, Holst O, Huebner J, (2006). *Alanine esters of enterococcal lipoteichoic acid play a role in biofilm formation and resistance to antimicrobial peptides*. Infect Immun. 74, 4164-4171.
8. Fisher K, Phillips, C. (2009). *The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus*. Microbiology. 155, 1749-1757.
9. Foulquié Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L, (2006). *The role and application of enterococci in food and health*. Int J Food Microbiol. 106, 1-24.
10. Franz CMAP, Holzapfel WH, Stiles ME, (1999). *Enterococci at the crossroads of food safety*. Int J Food Microbiol. 47, 1-24.
11. Giraffa G, (2002). *Enterococci from foods*. FEMS Microbiol Rev. 26, 163-171.
12. Göncüoğlu M, Bilir Ormancı FS, Kasımoğlu Doğru A, (2009). *Beyaz peynir üretiminde Enterococcus faecium'un starter kültür olarak kullanılması*. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 56, 249-254.
13. Hällgren A, Claesson C, Saeedi B, Monstein HJ, Hanberger H, Nilsson LE, (2009). *Molecular detection of aggregation substance, enterococcal surface protein, and cytolysin genes and in vitro adhesion to urinary catheters of Enterococcus faecalis and E. faecium of clinical origin*. Int J Med Microbiol. 299, 323-332.
14. Jankoska G, Trajkovska-Dokic E, Panovski N, Popovska-Jovanovska K, Petrovska M, (2008). *Virulence factors and antibiotic resistance in Enterococcus faecalis isolated from urine samples*. Prilozi. 29, 57-66.
15. Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS, (1994). *Virulence of enterococci*. Clin Microbiol Rev. 7, 462-478.
16. Kasımoğlu Doğru A, Gencay YE, Ayaz ND, (2010). *Prevalence and antibiotic resistance profiles of Enterococcus species in chicken at slaughter level; absence of vanA and vanB genes in E. faecalis and E. faecium*. Res Vets Sci. 89, 153-158.
17. Kayaoglu G, Ørstavik D, (2004). *Virulence Factors of Enterococcus faecalis: Relationship to Endodontic Disease*. Crit Rev Oral Biol Med. 15, 308-320.
18. Klare I, Konstabel C, Badstübner D, Werner G, Witte W, (2003). *Occurrence and spread of antibiotic resistances in Enterococcus faecium*. Int J Food Microbiol. 88, 269-290.
19. Koch S, Hufnagel M, Theilacker C, Huebner J, (2004). *Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities*. Vaccine. 22, 822-830.
20. Low YL, Jakubovics NS, Flatman JC, Jenkinson HF, Smith AW, (2003). *Manganese-dependent regulation of the endocarditis-associated virulence factor EfaA of Enterococcus faecalis*. J Med Microbiol. 52, 113-119.
21. Lowe AM, Lambert PA, Smith AW, (1995). *Cloning of an Enterococcus faecalis endocarditis antigen: homology with adhesins from some oral streptococci*. Infect Immun. 63, 703-706.
22. Mohamed JA, Huang DB, (2007). *Biofilm formation by enterococci*. J Med Microbiol. 56, 1581-1588.
23. Mundy LM, Sahm DF, Gilmore M, (2000). *Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance*. Clin Microbiol Rev. 13, 513-522.
24. Murray BE, (1998). *Diversity among multidrug-resistant enterococci*. Emerg Infect Dis. 4, 37-47.
25. Necedová L, Janštová B, Karpíšková S, Cupáková ŠM, Dušková M, Karpíšková R, (2009). *Importance of Enterococcus spp. for Forming a Biofilm*. Czech J Food Sci. 27, S354-S356.
26. Oancea C, Klare I, Witte W, Werner G, (2004). *Conjugative transfer of the virulence gene, esp, among isolates of Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis*. J Antimicrob Chemother. 54, 232-235.
27. Petsaris O, Mischczak F, Gicquel Bruneau M, Perrin Guyomard A, Humbert F, Sanders P, Leclercq R, (2005). *Combined antimicrobial resistance in Enterococcus fae-*

- cium* isolated from chickens. Appl Environ Microbiol. 71, 2796-2799.
28. **Sannomiya P, Craig RA, Clewell DB, Suzuki A, Fujino M, Till GO, Marasco WA**, (1990). *Characterization of a class of nonformylated Enterococcus faecalis-derived neutrophil chemotactic peptides: the sex pheromones*. Proc Natl Acad Sci USA. 87, 66-70.
 29. **Shi X, Zhu X**, (2009). *Biofilm formation and food safety in food industries*. Trends Food Sci Technol. 20, 407-413.
 30. **Sillanpää J, Prakash VP, Nallapareddy SR, Murray BE**, (2009). *Distribution of genes encoding MSCRAMMs and pili in clinical and natural populations of Enterococcus faecium*. J Clin Microbiol. 47, 896-901.
 31. **Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A**, (2008). *Enterococcal infections & antimicrobial resistance*. Indian J Med Res. 128, 111-121.
 32. **Tendolkar PM, Baghdayan AS, Gilmore MS, Shankar N**, (2004). *Enterococcal surface protein, Esp, Enhances Biofilm Formation by Enterococcus faecalis*. Infect Immun. 72, 6032-6039.
 33. **Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N**, (2003). *Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century*. Cell Mol Life Sci. 60, 2622-2636.
 34. **Trivedi K, Cupakova S, Karpiskova R**, (2011). *Virulence factors and antibiotic resistance in enterococci isolated from food-stuffs*. Veterinari Medicina, 56, 352-357.
 35. **Vankerckhove NV, Autgaerden TV, Vael C, Lammens C, Chapelle S, Rossi R, Jabes D, Goossens H**, (2004). *Development of a multiplex PCR for the detection of *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* genes in enterococci and survey for virulence determinants among european hospital isolates of *Enterococcus faecium**. J Clin Microbiol. 42, 4473-4479.
 36. **Vankerckhoven V, Huys G, Vancanneyt M, Snauwaert C, Swings J, Klare I, Witte W, Van Autgaerden T, Chapelle S, Lammens C, Goossens H**, (2008). *Genotypic diversity, antimicrobial resistance, and virulence factors of human isolates and probiotic cultures constituting two intraspecific groups of Enterococcus faecium isolates*. Appl Environ Microbiol. 74, 4247-4255.
 37. **Vignolo G, Palacios J, Farias ME, Sesma F, Schillinger U, Holzappel W, Oliver G**, (2000). *Combined effect of bacteriocins on the survival of various Listeria species in broth and meat system*. Curr Microbiol. 41, 410-416.
 38. **Upadhyaya GPM, Ravikumar KL, Umopathy BL**, (2009). *Review of virulence factors of Enterococcus: an emerging nosocomial pathogen*. Int J Med Microbiol. 27, 301-305.
 39. **Xu Y, Singh KV, Qin X, Murray BE, Weinstock GM**, (2000). *Analysis of a gene cluster of Enterococcus faecalis involved in polysaccharide biosynthesis*. Infect Immun. 68, 815-823.

Tavuk ve hindilerde xylazin hidroklorürle premedikasyon etomidat, ketamin hidroklorür ve propofol ile sağlanan anestezinin klinik parametreler açısından araştırılması*

Özlem KARDOĐAN¹, Abuzer TAŐ²

¹ Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Ankara/Türkiye

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Van /Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 06.11.2014, Kabul Tarihi / Accepted: 15.12.2014

Özet: Bu alışma kanatlı hayvanlarda genel anestezide emin, etkili, komplikasyon riski bulunmayan veya düşük düzeyde bulunan bir anesteziik droglu çalışma gereği hissedildiğinden, bu ihtiyaca ışık tutması amaçlanarak yapılmıştır. Çalışmada; etomidat grubu için 6 tavuk, 6 hindi, propofol grubu için 6 tavuk, 6 hindi, ketamin grubu için 6 tavuk ve 6 hindi olmak üzere toplam 18 tavuk ile 18 hindi kullanıldı. Premedikasyon amacıyla xylazine hidrokloride (Rompun-Bayer) 1-2mg/kg kullanıldı. Premedikasyondan sonra ilk gruba 5 mg/kg etomidat (Johnson&Johnson) ikinci gruba 8 mg/kg propofol (Diprivan-Abbott™) vena subcutanea ulnarisden verildi. Üçüncü gruba 50 mg/kg dozunda ketamin hidrokloride (Ketasol-İnterhas) pectoral kas içine verildi. Parametrelere anestezi öncesi, anestezi sırası ve anesteziden 24 saat sonrasında bakıldı. Klinik parametrelerden kalp vuruu sayısı, solunum sayısı ve beden ısısına bakıldı. Ketalar ile propofol tavuk ve hindi gruplarında kalp vuruu sayısındaki değişiklikler istatistiki olarak $p<0.05$ 'e göre anlamlı bulundu. Sonuç olarak, etomidat kanatlılarda kullanılırken solunum sayısında azalmalara neden olabileceğinden akciğer rahatsızlığı olanlarda bu durumun dikkate alınması yararlı olacaktır. Ketamin ve propofol kanatlılarda kullanılırken hem kalp vuruu sayısında hem de solunum sayısında azalışlar gözleneceğinden kalp ve solunum rahatsızlığı olanlarda bu durumun göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar kelimeler: Etomidat, hindi, ketalar, propofol, tavuk.

A research on chickens and turkeys premedicated with xylazine hydrochloride and anesthesia with etomidate, ketamine hydrochloride and propofol about clinical parameters

Summary: In this study, the goal was to shed light on the need of working with an anesthetic drug that is safe, effective and low or no any complications during general anesthesia in avian animals.

The study etomidate for a group of six chickens, six turkeys, propofol for a group of six chickens, six turkeys, ketalar for a group six chickens, six turkeys and of a total of eighteen chickens and eighteen turkeys were used. For the purpose for premedication, xylazine (rompun-bayer) 1-2 mg/kg was used. After premedication, 5 mg/kg etomidate (Johnson&Johnson) to the first group and 8 mg/kg propofol (Diprivan-Abbott™) to the second group was administered via vena ulnar subcutanea. To the third group 50 mg/kg ketamine hydrochloride (Ketasol-İnterhas) was given into the pectoral. Parameters were investigated before induction of anesthesia, during and 24 hours after anesthesia. The number of clinical parameters, heart rate and body temperature, respiratory rate were monitored. In groups of propofol and ketalar chicken and turkey changes heart rate statistical value of $p<0.05$ was found to be significant. As a result, etomidate while using in avians may lead to decrease in respiration rate and therefore this issue should be taken into consideration. Because there will be a decrease in both the number of heart rate and respiration while ketamin and propofol are used for winged animals, this fact must be taken into consideration while studying with the ones that have heart and respiration problems.

Key words: Etomidate, turkeys, ketalar, propofol, chickens.

Giriş

Anestezi; “Genel duyunun veya bir organın duyunun bütününe veya bir bölümünün geçici olarak giderilmesi ya da önemli oranda azaltılması” olarak tanımlanmaktadır [3, 4, 39].

Anestezi evcil, vahşi ve egzotik hayvanların sakinleştirilmesi, güvenli transportu, cinsiyet tayini, diagnostik tanı konması, kırık tedavisi, cerrahi girişimlerde ağrının ortadan kalkması ve kas gevşemesinin sağlanması amacıyla tercih edilmektedir [34, 36, 38].

Yazışma adresi / Correspondence: Özlem Kardoğan, Veteriner Kontrol Merkez Araşt. Enst. Md., 06020 Etlık, Ankara, Türkiye
E-posta: ozlm_krdgn06@hotmail.com

*Bu alışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 2010-SBE-D117 nolu proje olarak desteklenen “Tavuk ve hindilerde Xylazin Hidroklorürle premedikasyon Etomidat, Ketamin Hidroklorür ve Propofol ile sağlanan anestezinin bazı hematolojik biyokimyasal ve klinik parametreler açısından araştırılması”başlıklı doktora tezinden alıntılanmıştır.

Son 20 yılda intravenöz (i.v.) anestezi ilaçları, inhalasyon anestezisi sırasında indüksiyon amaçlı daha düşük dozlarda veya tek başlarına kullanılmıştır. Hızlı etki eden Nitroz oksit gibi bir inhalasyon anestezinin etkisinin ortaya çıkması bile birkaç dakika alırken, intravenöz anesteziğin ise uygulanmayı takiben 20 saniye gibi kısa bir sürede etkisi ortaya çıkmaktadır. İnhalasyon anesteziğinin maliyetinin yüksek olması, inhalasyon anestezinin kullanıldığı operasyon odasının anestezi gazlarıyla kirlenmesi gibi olumsuz nedenler, intravenöz anesteziğe ilgiyi artırmıştır [5].

İnsanlar yakın tarihlere kadar kanatlı türlerinin duygularıyla iletişim kurmayı beceremediklerinden acıyı, ağrıyı hissetme yeteneklerinin olmadığı veya çok az olduğunu düşünülüyordu. Bu nedenle anestezi ve analjeziklerle çok fazla çalışma yapılmamıştır. Anestezi girişimleri araştıran bilimsel çalışmaların büyük çoğunluğu son 20 yılda yapılmıştır. Bununla birlikte kanatlılardaki sinir iletimi; bilgisayarlı tomografi ve elektroensefalografi teknikleri kullanılarak yapılan anatomik, fonksiyonel ve biyokimyasal çalışmalarda gösterildiği üzere memelilerle benzerlikler bulunmaktadır. Bu çalışmalar, nidopallium adı verilen bir merkezin memelilerdeki beyin acı merkezine karşılık gelen anatomik yapı olduğunu göstermektedir [21].

Kanatlılar fonksiyonel bir diyaframa sahip değildir. İnspirasyon ve expirasyonu kas hareketleriyle yaparlar [9]. Memeli akciğerinde alveol vardır ve hava buraya girer. Kuş akciğerinde ise alveol yoktur, hava akciğerine girer ve çıkar. Akciğer dokusu içinde bronkulusların daha ince dallanmalarından meydana gelen çok ince borucuklar parabronkuluslar vardır. Parabronkuluslar akciğeri geçerken abdominal hava keseleri ile bağlantı kurarlar. Hava keselerinde gaz alışverişi olmaz. Diyaframın işlevi de memelilerin aksine ekspirasyonda kontraksiyon yapar ve akciğeri genişletir inspirasyonda ise daraltır. Kanatlı solunum sisteminde hava akciğerde bir yerde akarken kan aksi yönde akmaktadır. Bu ters akım alışveriş sistemi sayesinde kan havadan daha çok oksijen alabilmektedir. Kanatlı akciğerinde hava akımı inspirasyon ve ekspirasyonda aynı yöndedir, posterior hava keselerinden anterior hava keselerine doğrudur. Bu nedenle hem inspirasyonda hem de ekspirasyonda gaz alışverişi olur. Bu farklılıklardan dolayı kanatlılarda kısa süreli bir apne bile ciddi sonuçlar meydana getirebilir [2].

Şirürjikal prosedürlerin vazgeçilmez bir aracı olan anestezi uygulamaları ve anestezi bilimi; uzun bir tarihi süreçten geçerek en ideal anestezinin bulunma konusunda çalışmaktadır. Kanatlı hayvanlarda genel anestezi de anestezi madde seçeneği çok azdır. Bu çalışma; kanatlı hayvanlarda genel anestezide daha güvenli, etkili, komplikasyon riski bulunmayan veya düşük düzeyde bulunan bir anestezi ajanı çalışması gereği hissedildiğinden bu ihtiyacı karşılamak için amaçlanarak planlanmıştır. Aynı zamanda yeni kullanıma giren anesteziğin etkilerini, komplikasyonlarını ortaya koyarak, anestezi hastanın durumuna uygun en iyi anestezinin seçmede alternatif oluşturmaktır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada hayvan materyalini Bolu ili, Göynük ilçesinde bulunan Erpiliç Entegre Tavukçuluk Tesisi'nden 18 adet 3-4 aylık 2000-2600 gr. ağırlığında etçi anaç tavuklar ve Bolu ili, Bolca Hindi Entegre Tesisinden 18 adet 4-5 aylık 10-15 kg. ağırlığında beyaz hindiler oluşturdu. Çalışma deneysel olarak planlandığı için sağlıklı hayvanlar seçildi. Çalışma için Bolu İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'ndan (2010 / 15 sayılı) izin alındı.

Çalışma YYÜ Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı'nda planlandı ve deneme uygulamaları burada gerçekleştirildikten sonra çalışmanın tamamı Erpiliç Entegre Tesisleri ile Bolca Hindi Entegre Tesisleri'nin çiftliklerinde gerçekleştirildi.

Bu çalışmada kullanılacak hayvanlar anesteziden 12 saat önce aç bırakıldı ve 6 saat öncesine kadar su verilmedi. Uygulamaya alınan hayvanlarda musculus pectoralisin ve vena subcutanea ulnarisin geçtiği bölgedeki tüyler koparıldı ve dezenfekte edildi [21].

Çalışmada kullanılan, iki farklı tür hayvan ve üç anestezi madde kullanılacağı için 6 gruba ve her grupta 6 hayvan materyali olacak şekilde ayrıldı. Gruplar şöyle isimlendirildi; 1) Etomidat tavuk grubu, 2) Ketamin tavuk grubu, 3) Propofol tavuk grubu, 4) Etomidat hindi grubu, 5) Ketamin hindi grubu, 6) Propofol hindi grubu şeklinde düzenlendi. Her olgu için karteks hazırlandı. Her gruba preanestezi (1-2 mg/kg/pk dozunda xylazin hidroklorür) ilaç uygulamasından 5 dk. sonra 2 ve 5. gruba 50

mg/kg dozunda ketamin hidroklorür pectoral kasa, 1 ve 4. gruba 5 mg/kg etomidat ve 3 ve 6. gruba 8 mg/kg propofol ise vena subcutanea ulnaristen verildi. Anestezi öncesi, anestezi sırası ve anestezi sonrasında klinik parametrelere (vücut ısısı, solunum sayısı, kalp vuruş sayısı) bakıldı. Anestezi süresince ve sonrasında hayvanlarda salivasyon, ürinyasyon, kusma ve kas titremeleri olup olmadığına bakıldı ve sonuçlar kaydedildi.

İlk olarak çalışmada incelenen parametreler için elde edilen verilerin istatistiksel hesaplamaları yapıldı. Daha sonra her bir parametrenin anestezi öncesi, anestezi sırası ve anestezi sonrası durumları ikişerli olarak eşleştirilmiş (paired) t-testine tabi tutuldu.

Bulgular

Propofol ve etomidatın vena subcutanea ulnaristen verilmesinden 1 dk, sonra Ketamin hidroklorürün m.pectoralise verilmesinden 15 dk sonra tavuk ve hindilerde tam bir anestezi durumu oluştu. Propofol uygulanan iki tavuk ve bir hindi de kısa süreli apne şekillendi.

Propofol, etomidat ve ketamin hidroklorür anestezi sırasında ve anestezi sonlandırıldıktan sonra tavuk ve hindilerde kusma şekillenmedi. Salivasyon ve ürinyasyon görülmedi. Etomidat grubunda anestezi esnasında öksürük ve hıçkırığa rastlanılmadı.

Etomidat tavuk grubundaki hayvanların klinik parametreleri tablo 1'de, ketamin tavuk grubundaki hayvanların klinik parametreleri tablo 2'de, propofol tavuk grubu klinik parametreleri tablo 3'de, muayene bulgularının ortalamaları ve gruplar arasındaki farkların önemi şeklinde topluca verildi.

Tablo 1. Etomidat tavuk grubu klinik parametreleri

Parametreler	Anestezi öncesi	Anestezi sırası	Anestezi sonrası
Beden ısısı	41.20±0.17	41.11±0.15	41.07±0.17
Kalp vuruş sayısı	235.17±7.10	217.50±15.40	234.20±5.80
Solunum sayısı	35.83±0.70 ^a	30.67±1.41 ^b	35.83±0.65 ^a

Farklı harfi alan zaman ortalamaları arası fark önemlidir (p<0.05).

Etomidat hindi grubundaki hayvanların klinik parametreleri tablo 4'de, ketamin hindi grubundaki hayvanların klinik parametreleri tablo 5'de, propofol hindi grubu klinik parametreleri tablo 6'de, mu-

ayene bulgularının ortalamaları ve gruplar arasındaki farkların önemi şeklinde topluca verildi.

Tablo 2. Ketamin tavuk grubu klinik parametreleri

Parametreler	Anestezi öncesi	Anestezi sırası	Anestezi sonrası
Beden ısısı	40.57±0.18	40.28±0.28	40.53±0.17
Kalp atım sayısı	230.17±4.52 ^a	203.17±5.13 ^b	228.33±3.75 ^a
Solunum sayısı	33.00±1.15 ^a	22.83±2.48 ^b	34.17±0.91 ^a

Farklı harfi alan zaman ortalamaları arası fark önemlidir (p<0.05).

Tablo 3. Propofol tavuk grubu klinik parametreleri

Parametreler	Anestezi öncesi	Anestezi sırası	Anestezi sonrası
Beden ısısı	41.200±0.167	41.117±0.154	41.067±0.167
Kalp vuruş sayısı	227.00±7.28 ^a	200.00±8.13 ^b	227.50±6.80 ^a
Solunum sayısı	32.50±1.20 ^a	23.83±2.34 ^b	32.83±1.28 ^a

Farklı harfi alan zaman ortalamaları arası fark önemlidir (p<0.05)

Tablo 4. Etomidat hindi grubu klinik parametre parametreleri

Parametreler	Anestezi öncesi	Anestezi sırası	Anestezi sonrası
Beden ısısı	40.28±0.06	40.36±0.12	40.36±0.11
Kalp vuruş sayısı	242.50±6.30 ^a	162.70±25.10 ^b	237.67±6.67 ^a
Solunum sayısı	29.50±2.20 ^a	17.17±1.19 ^b	28.83±1.89 ^a

Farklı harfi alan zaman ortalamaları arası fark önemlidir (p<0.05).

Tablo 5. Ketamin hindi grubu klinik parametreleri

Parametreler	Anestezi öncesi	Anestezi sırası	Anestezi sonrası
Beden ısısı	40.38±0.09	40.18±0.20	40.35±0.09
Kalp vuruş sayısı	237.83±8.68 ^a	134.00±13.80 ^b	235.70±8.60 ^a
Solunum sayısı	25.83±1.82 ^a	16.00±1.63 ^b	26.83±1.72 ^a

Farklı harfi alan zaman ortalamaları arası fark önemlidir (p<0.05).

Tablo 6. Propofol hindi grubu klinik parametreleri

Parametreler	Anestezi öncesi	Anestezi sırası	Anestezi sonrası
Beden ısısı	40.63±0.23 ^a	40.03±0.13 ^b	40.63±0.21 ^a
Kalp atım sayısı	230.33±6.50 ^a	172.80±15.70 ^b	229.30±6.60 ^a
Solunum sayısı	25.50±1.61 ^a	15.50±1.52 ^b	25.83±1.19 ^a

Farklı harfi alan zaman ortalamaları arası fark önemlidir (p<0.05).

Tartışma ve Sonuç

Perk ve ark., [33] köpeklerde etomidat/alfentanil anestezi sırasında vücut ısısında anestezi boyunca az bir azalış yaşandığını bildirmektedir. Bu çalışmada da etomidat tavuk ve hindi gruplarındaki vücut ısısı değerlerindeki değişiklikler Perk ve ark., [33]'ün çalışmalarlarıyla benzerlik göstermiştir.

Paddelford ve Harvey [31]'da ketamin ve ksilazin hipotermi üretebileceği bildirilmektedir. Bazal metabolizmanın düşmesi ve ısı üretiminin azalması sonucu termoregulator merkez deprese olarak vücut ısısı düşmektedir. Aynı zamanda solunum yoluyla ısı kaybı da artmaktadır [13]. Gandomani ve ark., [12]'nin ksilazin+ketamin kombinasyonlarını kuşlarda kullandıkları anestezi çalışmasında vücut ısısında anestezinin ilk 15 dakikasında önemli azalış gözlediklerini bildirmişlerdir. Uzun ve ark., [40]; Maiti ve ark. [27]; Giuliano ve ark., [13] ketamin hidroklorür anestesizinde anestezi esnasında vücut ısısının azaldığını rapor etmektedir. Bu çalışmada ketamin hidroklorür anestesizi uygulanan tavuk ve hindi gruplarında beden ısısı değerleri yukarıdaki literatür verilerine paralel olarak azaldı.

Şahin, kuğu, su kuşları ve çeşitli kanatlı türlerinde yapılan propofol anestezi esnasında vücut ısısı azalmıştır [18, 20, 26, 28, 35]. Bu çalışmada propofol anestesizi yapılan tavuk grubunda vücut ısısı azaldı ve istatistikî olarak anlamlı bulunmazken hindi propofol grubundaki azalışlar $p < 0.05$ 'e anlamlı bulundu. Elde edilen sonuçlar yukarıdaki literatürlerle paralellik gösterdi. Anestezi sırasında azalan vücut ısısını normale döndürmek için Benedikt ve ark., [6]'nın kullandıkları gibi ısıtma pedi ve gaz nemlendirici kombinasyonlarının kullanılması gerektiği düşünüldü.

Etomidat solunum sistemi üzerine minimal etkilidir [30]. Etomidat tavuk ve hindi gruplarında anestezi esnasında solunum sayısında azalış yaşandı ve istatistikî olarak ($p < 0.05$)'e anlamlı bulundu.

Gandomani ve ark., [12]'nin kuşlarda ksilazin+ketamin kombinasyonu kullandıkları anestezi $p \leq 0.05$ göre anlamlı olacak şekilde solunum sayısının azaldığını bildirmektedir. Uzun ve ark., [40] papağanlarda, Maiti ve ark., [27] horozlarda, Ajadi ve ark., [1] tavuklarda gerçekleştirdikleri ketamin hidroklorür anestesizinde anestezi sırasında solunum sayısının düştüğünü rapor etmişlerdir. Bu çalışmada tavuk ve hindilerdeki ketamin hidroklorür anestesizi sırasında solunum derin ve düzenliydi; aynı zamanda solunum sayısındaki azalışlar Gandomani ve ark., [12] çalışmalarıyla benzerlik gösterecek şekilde istatistiksel olarak $p < 0.05$ göre anlamlı bulundu.

Müller ve ark. [28]'nin kuğulardaki propofol çalışmasında ve Machin ve Caulkett, [24]'nin ye-

şilbaşlı ördeklerde propofol ve medetomidin-midazolam-ketamin kombinasyonlarını kullandıkları çalışmada anestezi esnasında solunum sayısı artmıştır. Fitzgerald ve ark., [11] güvercinlerde, propofolün solunum sayısında artışa neden olduğunu bildirmiştir. Kırmızı kuyruklu şahin ve büyük boynuzlu baykuş [15], tavuk [22] ve ördekte [25] propofol anestesizi boyunca solunum sayısının değişmediği bildirilmektedir. Amazon papağanlarında ise induksiyon sonrası solunum sayısının birkaç dakika düştüğü rapor edilmektedir [20]. Bu çalışmada propofol uygulanan tavuk ve hindi gruplarında anestezi sırasında solunum sayısı azaldı ve istatistikî olarak $p < 0.05$ 'e anlamlı bulundu. Elde edilen solunum sayısı sonuçları Langlois ve ark., [20]'nin amazon papağanlarındaki çalışmalarıyla paralellik gösterirken, Müller ve ark., [27]'nin kuğulardaki; Machin ve Caulkett, [24]'nin yeşilbaşlı ördeklerdeki; Fitzgerald ve Cooper, [11]'nin evcil güvercinlerdeki; Hawkins ve ark., [15]'nin kırmızı kuyruklu şahin ve büyük boynuzlu baykuştaki; Lukasik ve ark., [22]'nin tavuktaki çalışmalarıyla benzerlik göstermedi.

Diğer intravenöz anestezi türlerinde olduğu gibi etomidat doza bağlı olarak solunum depresyonu şekillendirir. Geçici bir apne oluşturur. Etomidat, tiyopentaldan daha az solunum depresyonuna neden olur [16]. Bu çalışmada etomidat tavuk ve hindi gruplarında apneye rastlanmadı.

Müller ve ark., [27]'i kuğularda, Lukasik ve ark., [22]'i tavuklarda yaptıkları propofol anestezi esnasında apneye rastlamamıştır. Langan ve ark., [21]'nin çalışmalarında bütün kuşlarda, yeşilbaşlı ördeklerde [24], yabani hindilerde [37] ve yabani ördeklerde [25] apne oluştuğunu bildirmişlerdir. Eğer anestezi madde çok kısa sürede verilirse plazmadaki konsantrasyonunun ani artışıyla apneye neden olabileceğini bildirmişlerdir. Langlois ve ark., [20]'i amazon papağanlarına propofol verilmesinden 2-3 dk sonra solunum sayısının düştüğünü ama apne ile karşılaşmadıklarını bildirmiştir. İnsan ve evcil hayvanlarda propofol hızlı verildiği zaman kısa sürede plazmada yüksek konsantrasyonlara ulaşarak solunum depresyonuna ve apne neden olacağını bildirmişlerdir [20]. İnsanlarda yapılan bir çalışmada propofolün verilmesinden 30 sn sonra hastaların % 83'ünde apne oluştuğu bildirilmiştir [35]. Bu çalışma da propofolle yapılan anestezi sıra-

sında 2 tavuk ve 1 hindi de kısa süreli apnea oluştu. Oluşan bu apne sorununun propofolun hızlı verilmesinden kaynaklandığı düşünüldü. Literatürlerde hipnotik olan propofolün 60 saniyenin üzerindeki periyotlarda yavaş verilmesi önerilmektedir [23]. Propofolle anestezi sırasında kısa süreli apneye rastlanıldığı için propofol uygulamasının yavaş yapılmasının ve uygulama sırasında oksijen maskesi kullanımının yararlı olabileceği düşünüldü.

Bazı literatürlerde etomidatın köpeklerde kardiovasküler fonksiyonlarda minimal değişiklikler neden olduğu bildirilmiştir [29, 32]. Etomidatın 1.5-3.0 mg/kg intravenöz olarak verildiği köpeklerdeki bir çalışmada hemodinamik değişikliklerin (kalp hızı, aortik kan basıncı, sol ventriküler pik basınç, sol ventriküler son diastolik basınç, sol ventriküler kasılma kuvvetini ve myokardial oksijen tüketimi) stabil olduğu bildirilmiştir [29]. Balıklarda yapılan etomidat anesteziinde kalp vurumunun düştüğünü ve bradikardi oluşturduğu bildirilmektedir (Dziaman ve ark., 2010). Bu çalışmanın tavuk etomidat grubunda kalp vurumundaki düşüşler istatistik olarak anlamlı bulunmamasına karşın, etomidat hindi grubunda kalp vurum sayısındaki değişiklikler istatistik olarak $p < 0.05$ 'e göre anlamlı bulundu. Bu çalışmada elde edilen veriler, Dziaman ve ark., [10]'nın balıklardaki çalışmasıyla uyum göstermektedir.

Gandomani ve ark. [12]'nin kuşlarda ksilazin+ketamin kombinasyonlarını kullandıkları çalışmalarında kalp vurum sayısında azalışı $p \leq 0.05$ göre anlamlı bulmuşlardır. Christensen ve ark., [7]'nin tavuklarda gerçekleştirdikleri ketamin+diazepam anesteziinde anestezi periyodu boyunca kalp vurum sayısında azalmaya rastlamışlardır. Benzer bulguya; Valverde ve ark. [41]'nin tavuklarda, Kamiloğlu ve ark. [17]'nin güvercinlerde, Ajadi ve ark., [1]'nin keçilerde ketamin anesteziilerinde de rastlanılmıştır. Degernes ve ark., [8] kızıl şahinlerde ketamin anestezi uyguladıkları çalışmalarında da bradikardi gözlediklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ketamin hidroklorür anesteziisi yapılan tavuk ve hindi gruplarında anestezi sırasında kalp vurum sayısı Gandomani ve ark. [12]; Christensen ve ark. [7]; Valverde ve ark., [41]; Kamiloğlu ve ark., [17]; Degernes ve ark., [8]'nin çalışmalarıyla benzerlik gösterecek şekilde azaldı.

Yabani hindilerde [37], tavuklarda [22], ördeklerde [25] yapılan propofol anesteziilerinde anestezi esnasında kalp vurum sayısında artış görülmüştür. Müller ve ark., [27]'nin kuğulardaki, Langan ve ark., [19]'nin devekuşlarındaki, Machin ve Caulkett, [24]'nin yeşilbaşlı ördeklerdeki propofol anesteziilerinde; anestezi esnasında bradikardiye rastlamışlardır. Kırmızı kuyruklu şahinlerde ve amazon papağanlarında yapılan propofol anesteziisi esnasında kanda kısmi basıncın artmasına rağmen kalp vurum sayısında düşüş gözlediklerini bildirmişlerdir [15, 20]. Bu çalışmanın propofol anesteziisi yapılan tavuk ve hindi gruplarında kalp vurum sayısında azalma Müller ve ark., [27]'nin kuğulardaki, Langan ve ark., [19]'nin devekuşlarındaki, Machin ve Caulkett, [24]'nin yeşilbaşlı ördeklerdeki, Langlois ve ark., [20]'nin kırmızı kuyruklu şahinlerde, Hawkins ve ark., [15]'nin amazon papağanlarında propofol anesteziileriyle paralellik gösterirken, Schumacher ve ark., [37] ve Machin ve Caulkett, [25]'nin bulgularıyla zıtlık gösterdi.

Sonuç olarak, etomidat kanatlılarda kullanılırken solunum sayısında azalmalar gözleneceğinden akciğer rahatsızlığı olanlarda bu konunun dikkate alınması gerektiği düşünülmektedir. Ketamin ve propofol kanatlılarda kullanılırken hem kalp vurum sayısında hem de solunum sayısında azalışlar gözleneceğinden kalp ve solunum rahatsızlığı olanlarda bu durumun göz önünde bulundurulmalıdır.

Kaynaklar

1. **Ajadi RA, Olajide B, Kasali A, Folashade Makinde, Adetiike I, Adeleye JA, Oyewusi and Olukayode G Akintunde**, (2009). *Effects of Midazolam on Ketamine-Xylazine Anesthesia in Guinea Fowl (Numida meleagris galeata)*. Journal of Avian Medicine and Surgery 23(3):199-204. Association of Avian Veterinarians.
2. **Anonim**, (2009). Erişim adresi :<http://www.gençveteriner.com/kanatlılar/kuşların-anesteziisi>, Erişim tarihi:2009.
3. **Antepliöglü H, Temizer M**, (1968). Veteriner Anesteziyoloji. AÜ Basım Evi, Vet. Fak. Yay., 232, 23-25.
4. **Aslanbey D**, (1986). *Veteriner Operasyon Bilgisi*, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları 411, cilt 1, ikinci baskı, A.Ü. Basımevi, Ankara, 124-126.
5. **Bayram D**, (2005). *Sıçan karaciğeri üzerine tiyopental sodyum, propofol, etomidate ve midazolam isimli anestezi maddelerine etkisinin ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi*. S. D. Ü. Tıp Fak. Sağ. Bil. Ens. Yük. Lis. Tez. Isparta.
6. **Benedikt B, Korbelt R, Stiehl J**, (1998). *Untersuchungen zur perianästhetischen Stabilisierung der Körpertemperatur bei Haustauben (Columba livia L, 1789, var. dom.)*. Proceedings of the XI Tagung über Vogelkrankheiten. München, Germany. pp. 218-230.

7. Christensen J, Fosse R.T, Halvorsen OJ, (1987). *Comperison of varioss anesthetic regimens in the domestic fowl*. AJVR, 48, 11, 1649-1657.
8. Degernes LA, Kreeger TJ, Maiidsager R, Redig PT, (1988). *Ketamine-xylazine anesthesia in red-tailed hawks with antagonism by yohimbine*. J Wildl Dis, 24, 22-326.
9. Dorcas O. Schaefer, (1997). *Anesthesia and Analgesia in non-traditional laboratory animal species*. chapter 15. 341-346.
10. Dziaman R, Hajek G, Klyszejko B, (2010). *Effect of 2-phenoxyethanol and etomidate on cardiac and respiratory functions and behaviour of common carp, Cyprinus carpiol (Actinopterygii, Cypriniformes, Cyprinidae), during general anaesthesia*. Acta Ichthyol. Piscat. 40, 1, 37-43.
11. Fitzgerald G, Cooper JE, (1990). *Preliminary studies on the use of propofol in the domestic pigeon (Columbia livia)*. Res Vet Sci, 49, 334-338.
12. Gandomani MJ, Tamadon A, Mehdizadeh A, Ataran HR, (2009). *Comparasion of Different Ketamine-Xylazine Combinations for Prolonged Anaesthesia in Budgerigars*. Online veterinary journal. 4 (1), 34.
13. Giuliano Q Mostachio, Luciana D de-Oliveira, Aulus C Carciofi, Wilter R R Vicente, (2008). *The effects of anesthesia with a combination of intramuscular xylazine-diazepam-ketamine on heart rate, respiratory rate and cloacal temperature in roosters*. Veterinary Anaesthesia and Analgesia. 35, 232-236. Brazil.
14. Gold MI, Abraham EC, Herrington C, (1987). *Controlled investigation of propofol, thiopentone and methohexitone*. Can J Anesth 34, 478-483.
15. Hawkins M, Wright BD, Tell LA, (2000). *Anesthetic and cardiopulmonary effects of propofol in red-tailed hawks (Buteo jamaicensis) and great horned owls (Bubo virginianus)*. Proc Assoc Avian Vet, 27-228.
16. Işık G, (2006). *İntravenöz Anestezikler*. Erişim adresi : <http://www.lokman.cu.edu.tr/anezezi/anezezinot>, Erişim tarihi: 2006.
17. Kamiloğlu A, Atalan G ve Kamiloğlu NN, (2008). *Comparison of intraosseous and intramuscular drug administration for induction of anaesthesia in domestic pigeons*. R Vet Sci, 85, 1, 171-175.
18. Kılıç N and Paşa S, (2009). *Cardiopulmonary effects of propofol compared with those of a medetomidine-ketamine combination in the common buzzards (Buteo buteo)*. Revue Med Vet, 160, 3, 154-159.
19. Langan JN, Ramsay EC, Balckford TJ, (2000). *Cardiopulmonary and sedative effects of intramuscular medetomidine-ketamine and intravenous propofol in ostriches (struthio camelus)*. J Avian Med Surg, 14, 2-7.
20. Langlois I, Harvey RC, Jones MP and Schumacher J, (2003). *Cardiopulmonary and Anesthetic Effects of Isoflurane and Propofol in Hispaniolan Amazon Parrots (Amazona ventralis)* Journal of Avian Medicine and Surgery, 17, 1, 4-10. Association of Avian Veterinarians
21. Lierz M, (2012). *Anesthesia and analgesia in birds. Topics in medicine and surgery*. Journal of Exotic Pet Medicine, 21, pp 44-58.
22. Lukasik VM, Gentz EJ, Erb HN, (1997). *Cardiopulmonary Effects of Propofol Anesthesia in Chickens (Gallus gallus domesticus)* Journal of Avian Medicine and Surgery, 11, 2, 93-97.
23. Lyon Lee, (2006). *Intravenous Anesthetic Agents & Dissociatives* 8-14 Veterinary Surgery I, VMEDAnesthesiology 7412.
24. Machin KL, Caulkett NA, (1998). *Cardiopulmonary effects of propofol and medetomidine-midazolam-ketamine combination in mallard ducks (Anas platyrhynchos)*. Am J Vet Res, 59, 598-602.
25. Machin KL, Caulkett NA, (1999). *Cardiopulmonary effects of propofol infusion in canvasback ducks (Aythya valisineria)*. J Avian Med Surg, 13, 167-172.
26. Machin KL, Caulkett NA, (2000). *Evaluation of isoflurane and propofol anesthesia for intraabdominal transmitter placement in nesting female canvasback ducks*, 36,2, 324-334.
27. Maiti SK, Tiwary R, Vasan P, Dutta A, (2006). *Xylazine, diazepam and midazolam premedicated ketamine anaesthesia in white Leghorn cockerels for typhlectomy* J S Afr Vet Assoc. 77, 1, 12-18.
28. Müller K, Judith Holzapfel and Leo Brunberg, (2011). *Total intravenous anaesthesia by boluses or by continuous rate infusion of propofol in mute swans*. Vet Anaesth Analg, 38,4, 286-291.
29. Nagel ML, Muir WW, Nguyen K, (1979). *Comparison of the cardiopulmonary effects of etomidate and thiamylal in dogs*. Am J Vet Res, 40: 193.
30. Ocal T, (2002). *Diğer Ajanlar IV. Çukurova Anestezi Günleri*. Çukurova Üni. Tıp Fak. Anest. ABD. ADANA. Erişim adresi: http://www.med.cu.edu.tr/anezezi/iv_cag/diger.htm. Erişim tarihi: 2002
31. Paddleford RR., Harvey RC, (1999). *Alpha-2 agonists and antagonists*. The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice, 29, 737-745.
32. Pascoe PJ, İlkiw J.E, Haskins SC, Patz DP, (1992). *Cardiopulmonary effects of etomidate in hypovolemic dogs*. Am J Vet Res, 53,11, 2178-2182.
33. Perk C, Güzel Ö, Gülanber EG, (2002). *Etomidate/Alfentanil Anaesthesia in Dogs and Its Effects on Pulse Oxymeter, Electrocardiography and Haematological Parameters*. Turk J Vet Anim Sci, 26, 1021-1024.
34. Redig PT, Roush JC, (1987). *Orthopaedic and soft tissue surgery in raptorial species*. In: Fowler, M.E. (Ed.), Zoo and Wild Animal Medicine. WB Saunders, Philadelphia, pp. 246-253.
35. Rembert MS, Smith JA, Hosgood G, (2001). *Comparison of traditional thermal support devices with the forced-air warmer system in anesthetized Hispaniolan Amazon parrots (Amazona ventralis)*. Avian Med Surg, 15, 187-193.
36. Samour JH, Jones DM, Knight JA, Howlett JC, (1984). *Comparative studies of the use of some injectable anesthetic agents in birds*. Vet Rec, 115, 6-11.
37. Schumacher J, Citino SB, Hernandez K, Hutt J, Dixon B, (1997). *Cardiopulmonary and anesthetic effects of propofol in wild turkeys*. Am J Vet Res, Sep, 58, 9, 1014-1017.
38. Thurman JC, Tranquili WS, Benson GJ, (1996). *Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia*. Third Edition. Williams and Wilkins. Baltimore, 2-4.
39. Topal A, (2005). *Veteriner Anestezi*. Nobel&Güneş Yayınları.
40. Uzun M, Yıldız S, Atalan G, Kaya M, Sulu N, (2003). *Effects of Medetomidine-Ketamine Combination Anaesthesia on Electrocardiographic Findings, Body Temperature, and Heart and Respiratory Rates in Domestic Pigeons*. Turk J Vet Anim Sci, 27, 377-382.
41. Valverde A, Bienze D, Simth DA, (1993). *Intraosseous cannulation and drug administration for induction of anesthesia in chickens*. Vet Surg, 22, 3, 240-244.

Bir hindi sürüsünde belirlenen Histomoniasis olgusu

Yavuz ULUSOY¹, M. Murat MADEN¹

¹ Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Patoloji Laboratuvarı, Etlik, ANKARA

Geliş Tarihi / Received: 05.06.2014, Kabul Tarihi / Accepted: 15.08.2014

Özet: Bu olgu sunumunda bir hindi işletmesinde görülen Histomoniasis olgusu makroskopik ve mikroskopik olarak incelendi. Makroskopik olarak karaciğerde sarımsı renkte nekrotik odaklar, kalpte kanama, sekumda nekrotik-ülseratif lezyonlar ve peritonitis dikkati çekti. Mikroskopik incelemelerde ise, karaciğerde heterofil ve fibrin eksudasyonu, proliferatif lezyonlar ile parankim dejenerasyonu ve nekroz tespit edildi. Sekumda ülser, lamina propria mukozasında kanama ve mononükleer hücre infiltrasyonu, dalakta fokal nekrozlar ve bir hindide kalpte kanama ve nekroz gözlemlendi. Kesitlerin PAS boyamalarında trofozoitlerin pozitif boyandığı görüldü. Trofozoitlere karaciğer, sekum, dalak ve miyokartta rastlandı.

Anahtar kelimeler: hindi, *Histomonas meleagridis*, histopatoloji

The case of Histomoniasis in a Turkey flock

Abstract: Macroscopic and microscopic lesions in the case of Histomoniasis in turkeys from a flock were investigated in this study. Macroscopically, multifocal and yellowish necrotic foci in livers, necrotic-ulcerative lesions with peritonitis in cecum and hemorrhage on the heart was noticed. Microscopically, there was heterophylic-fibrinous exudation or proliferative changes with degenerative and necrotic hepatocytes in the liver sections in different turkeys. In addition, Hemorrhage and mononuclear cell infiltration with epithelial ulceration in lamina propria in cecum, focal necrosis in spleen, hemorrhage and myofibril necrosis in heart tissue were observed. Protozoal materials were seen in liver cecum, spleen and heart tissue. Suspected sections were stained with PAS and found positive for trophozoites.

Key words: *Histomonas meleagridis*, histopathology, Turkey

Giriş

Histomoniasis kanatlıların flagellalı bir protozoonu olan *Histomonas meleagridis* tarafından oluşturulur. Hastalık ilk olarak hindilerde 1895 yılında tanımlanmıştır. İnfeksiyöz enterohepatitis ya da karabaş (*blackhead*) hastalığı olarak da isimlendirilir. Histomoniasis, karaciğerde nekrotik odaklar ve sekumda ülseratif lezyonlarla karakterizedir. Özellikle hindilerde önemli ekonomik kayıplara yol açtığı bilinen hastalığa tavuk, ördek gibi diğer kanatlılarda da rastlanmaktadır [1,4,5,6,7,9,11,14]. Bu olgu sunumunda, Ankara ilinde bulunan ticari bir hindi işletmesinde rastlanılan histomoniasis olgusu makroskopik ve mikroskopik olarak tanımlanmıştır.

Materyal ve Metod

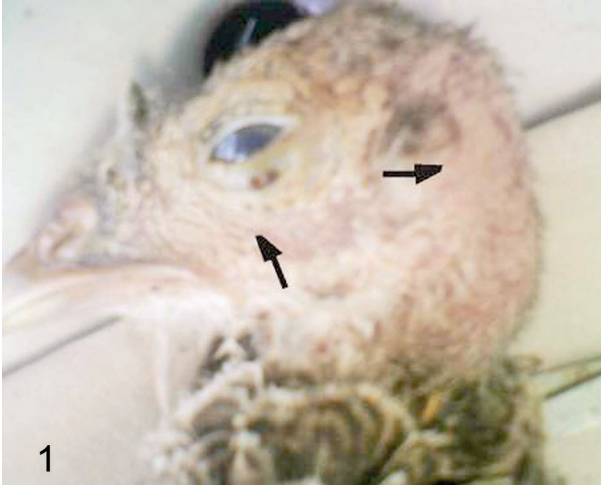
Çalışma materyalini Amerikan bronz ırkı 3 adet hindi oluşturdu. Anamnez bilgileri alındıktan sonra hindilerin sistemik nekropsileri usulüne uygun olarak yapıldı. Histopatolojik incelemeler için yeterli miktarda organ örnekleri alınarak, % 10'luk nötral

formalin solusyonunda tespit edildi. Rutin takip işlemlerinden sonra hazırlanan parafin bloklardan 5 µ kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin ve Periodic Acid-Schiff (PAS) boyama yöntemleri ile boyanarak mikroskopik incelemeleri yapıldı [10,12].

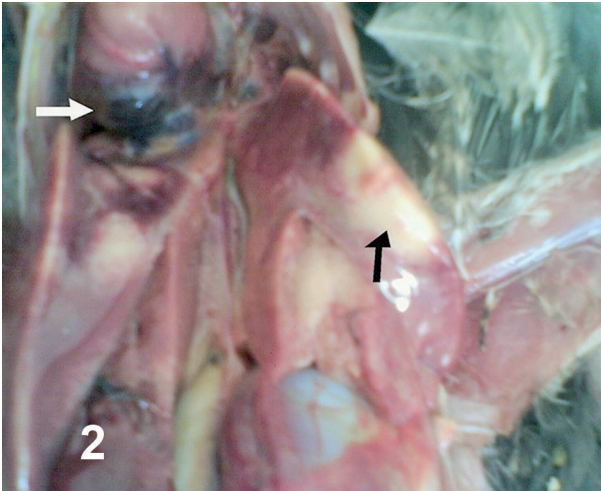
Bulgular

Makroskopik Bulgular: Hastalığa yakalanmış hindilerin yem almada güçlük çektikleri, zayıfladıkları ve kanatların düştüğü anemnezi alındı. Dış bakıda baş bölgesinde ödem (şekil 1) ve anal bölgede sarı-yeşilimsi renkli, pis kokulu bir ishalin varlığı dikkat çekti. Nekropside karaciğer, dalak, bağırsaklar ve kalpte belirgin lezyonlar gözlemlendi. Hastalıktan ölen hindilerin karaciğerler ve dalaklarının büyümüş olduğu ve karaciğer yüzeyinde ortası pembemsi, çevresinde daha geniş sarımsı bir alan bulunan 2 cm büyüklüğüne varan nekrotik lezyonlar gözlemlendi (şekil 2). Karaciğerin kesit yüzü incelendiğinde nekrotik alanların parenkimde de yaygın olduğu gözlemlendi. Epikartta yaygın kanama alanları

dikkati çekti. Bağırsaklarda lezyonlara sekum ve daha alt bağırsak bölümlerinde rastlandı. Bağırsak duvarının ödemli olduğu ve fibrinli bir peritonitis geliştiği görüldü. Barsak serozasında, mezenteryumda ve peritonda kanamalar tespit edildi (şekil 2). Bağırsak lümenlerinin pis kokulu sarı-yeşilimsi renkte mukoid bir içerikle dolu olduğu gözlemlendi. İçerik uzaklaştırıldığında mukozanın kalınlaştığı ve barsak duvarında ülseratif lezyonların şekillenmiş olduğu dikkati çekti.



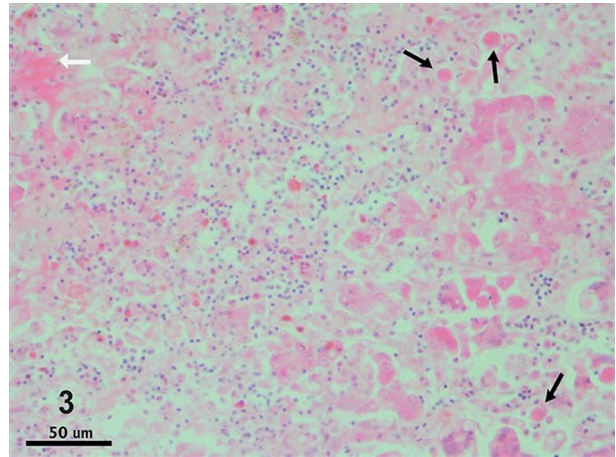
Şekil 1. Baş bölgesinde ödeme bağlı şişkinlik (oklar).



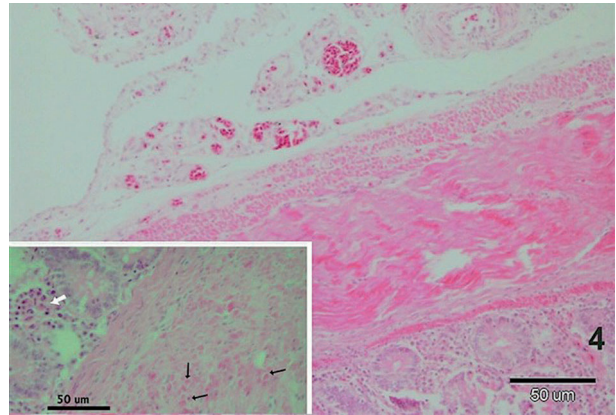
Şekil 2. Karaciğerde geniş nekroz odağı (siyah ok) ve kalpte yaygın kanama (beyaz ok).

Mikroskopik Bulgular: Belirgin değişiklikler sekumla birlikte özellikle karaciğerde gözlemlendi. Karaciğerde hemoraji, bazı kesitlerde yoğun heterofil eksudasyonu ile birlikte lenfosit, plazmasit infiltrasyonları görüldü (şekil 3). Protozoon invazyo-

nuna bağlı karaciğerde parankim dejenerasyonu ve nekroz ile birlikte fibröz proliferasyonlar gözlemlendi. Portal bölgelerde belirgin safra kanal proliferasyonu ile bağ doku artışı diğer önemli mikroskopik bulgular olarak dikkati çekti. Sekum kesitlerinin incelemesinde epitelde deskuamasyon ile birlikte kript ve diğer epitel hücrelerinde ve daha az olarak da submukozada protozoonlara ait trofozoidler gözlemlendi. Trofozoidlerin bulunduğu bölgelerde nekrotik değişikliklerin şiddetinin arttığı dikkati çekti. Söz konusu bölgelerde propriada heterofil ve mononükleer hücre infiltrasyonu ile kanama alanları tespit edildi (şekil 4). Dalakta multifokal nekroz odakları (şekil 5), kalpte hiperemi, hemoraji, miyofibrillerde dejenerasyon ve nekroz ile protozoonun gelişim formları tespit edildi (şekil 6).

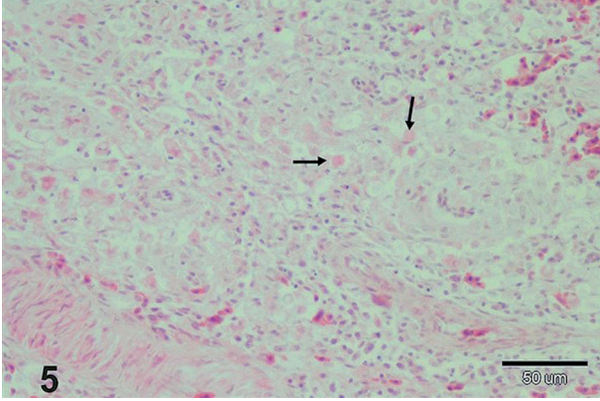


Şekil 3. Karaciğerde nekroz, fibrin eksudasyonu (beyaz ok) ve protozoonun gelişme evreleri (siyah oklar). H.-E.

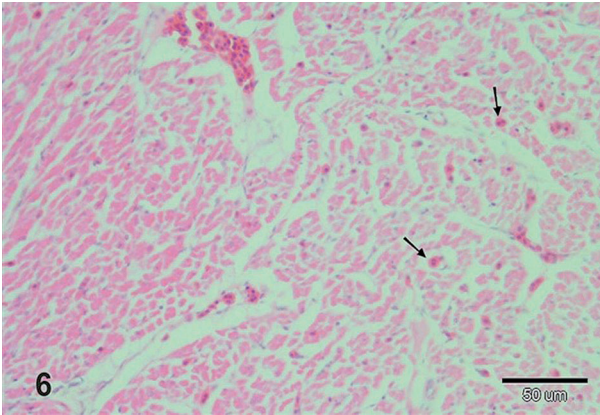


Şekil 4. Sekumda submukozada hiperemi. Küçük resim: Lamina Musculariste trofozoitler (siyah oklar) ve propriada hücre infiltrasyonu (beyaz ok). H.-E.

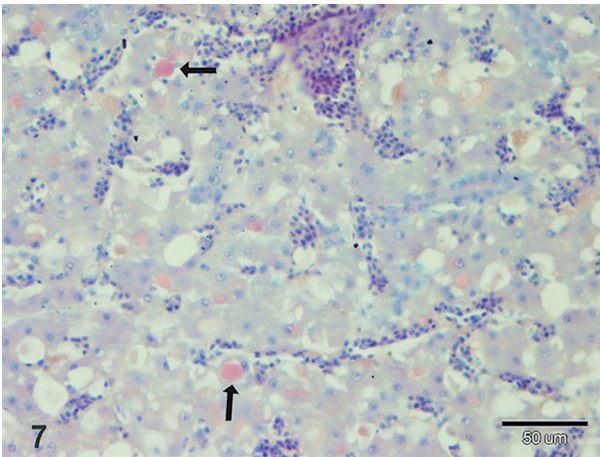
Kesitlerin PAS boyamalarında karaciğer, sekum, dalak ve kalpte protozoona ait trofozoitler, çevreleri boya almamış boşluklar içerisinde pembe-kırmızı yapılar olarak gözlemlendi (şekil 7).



Şekil 5. Dalakta nekroz ve protozoonun gelişme evreleri (oklar). H.-E.



Şekil 6. Kalpte miyofibrillerde dejenerasyon, nekroz ve protozoonun gelişme evreleri (oklar). H.-E.



Şekil 7. Karaciğerde PAS pozitif boyanan trofozoitler (oklar). PAS boyama.

Tartışma

Histomoniasis hindilerde salgınlar yaparak ekonomik kayıplara yol açan önemli bir protozoon hastalığıdır [2,11]. Protozoonun taşınma ve bulaşmasında *Heterakis gallinae*'nin önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Genç ve yetişkin hindilerde enfeksiyon daha çok enfektif *Heterakis gallinae* yumurtalarının ağız yolu ile alınmaları ile oluşur. Bu yolun dışında *Histomonas meleagridis* taze dışkı ile de alınabilir ancak bu yolla gelişen enfeksiyon proventrikulus ve taşlıktaki asidik ortam sebebiyle yetişkin hindilerde pek görülmez.

Bu olgu sunumunda bir hindi işletmesinde teşhis edilen histomoniasis vakası makroskobik ve mikroskobik olarak tanımlanmıştır. Makroskobik ve mikroskobik olarak tespit edilen bulgular histomoniasisin önceki bildirimleri ile örtüşmektedir [1,4,7,8,9,11,13,14]. Karaman ve ark. [8], yaptıkları çalışmada trofozoitleri en çok sekumda % 100 ve karaciğerde 91.4, çok daha az olarak da böbrek % 17.1, dalakta % 11.4, proventrikulusta % 5.7, bursa fabrisyusta % 2.8 olarak tespit ederken; akciğer ve kalp dokusunda rastlamadıklarını rapor etmişlerdir. Bu olgu sunumunda rapor edilen hindilerde makroskobik olarak karaciğer yüzeyinde ve kesit yüzünde ortaları pembe-kırmızı çevresi sarımtırak renkli, nekrotik odaklar ile sekumda nekrotik-ülseratif yangı ile mezenteriyumda yapışmalar ve peritonitis önemli bulgular olarak belirlenmiştir. Mikroskobik incelemelerde ise, hastalığın seyrine göre karaciğerde hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz, kanama, heterofil eksudasyonu, mononükleer hücre infiltrasyonu, fibrosis ve safra kanal proliferasyonları ile protozoona ait trofozoitler tespit edilmiştir. Sekum ve diğer alt bağırsak segmentlerinde nekrotik-ülseratif lezyonlarla birlikte propriada yangısal hücre infiltrasyonları ile birlikte trofozoitler gözlenmiştir.

Histomoniasis'in daha düşük oranlarda da olsa böbrek, dalak, kalp, bursa fabrisyus ve proventrikulusta da görüldüğü bildirilmiştir [3,8]. Sunulan bu çalışmada trofozoitler karaciğer ve bağırsak gibi çok görüldüğü dokular ile birlikte az görüldüğü dalak ve kalp dokusunda da tespit edilmiştir.

Kaynaklar

1. Alkahaf AN, Mahmoud OM, (2009). An outbreak of concurrent *Histomonas meleagridis* and *Enterococcus faecalis*

- infection in ducs*. Asian Journal of Poultry Sciences. 3(1), 15-18.
2. **Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, (1994).** *Kanatlı Hayvan Hastalıkları*. 2. baskı. Medisan yayınevi, Ankara.
 3. **Cortes P.L, Chin RP, Bland MC, Crespo R, Shivaprasad HL, (2004).** *Histomoniasis in the bursa of Fabricius of chickens*. Avian Dis. 48, 711–715.
 4. **Esquent C, De Herdt P, De Bosschere H, Ronsmans S, Ducatelle R, Van Erum J. (2003).** *An outbreak of histomoniasis in free-range layer hens*. Avian Pathology. 32(3), 305-308.
 5. **Gitao CG, Bebora LC, (1992).** *Histomoniasis in a peafowl (Pavo cristatus)*. Indian Vet. J. 69, 944–945.
 6. **Homer B.L, Butcher GD, (1991).** *Histomoniasis in leghorn pullets on a Florida farm*. Avian Dis. 35, 621–624.
 7. **Hurst GA, (1980).** *Histomoniasis in wild turkeys in Missisipi*. Journal of Wildlife Diseases. 16(3), 357-358.
 8. **Karaman M, Özen H, Özcan K, (2009).** *Histomoniasis in turkeys: pathological observations and PCR detection*. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 116(6), 214-9.
 9. **Ley DH, Ficken MD, Cobb DT, Witter RL, (1989).** *Histomoniasis and reticuloendotheliosis in a wild Turkey (Meleagris gallopavo) in North Carolina*. Journal of Wildlife Disease. 25(2), 262-265.
 10. **Luna LG, (1968).** *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*, 3rd Ed. Mc Graw-Hill Book Company, New York, USA.
 11. **McDougald LR, (2003).** *Other protozoan diseases of the intestinal tract-Histomoniasis (Blackhead)*. In: Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. (Hrsg.). Diseases of Poultry, Iowa State Pres, 11. Aufl, Iowa. 1001–1006.
 12. **Presnel KJ, Schreibman PM, (1997).** *Animal Tissue Techniques*. The Johns Hopkins University Press Baltimore-1997.
 13. **Reynaud MC, Zenner L, Alogninouwa T, Chauve CM, (2005).** *Comparison of susceptibility to Histomonas meleagridis infection of two strains of Turkey (Meleagris gallopavo): preliminary study*. Revue Med. Vet. 156(12), 620-623.
 14. **Vural SA, Nalbantoglu S, Oznur N, Bozkurt MF, (2008).** *Histomonose bei puten*. Tierärztl Prax. 36, 209-212.

Tavuklarda *Salmonella* infeksiyonlarının kontrolü

Hakan YARDIMCI¹, Adil AKSOY¹

¹ Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Geliş Tarihi / Received: 28.11.2014, Kabul Tarihi / Accepted: 08.12.2014

Özet: *Salmonellosis* gıda infeksiyonları arasında en sık rastlanılan ve son yıllarda geniş salgınlara neden olan bir infeksiyondur. *Salmonella* serotiplerinin zoonoz özelliğe sahip olması, hayvanlarda bu serotiplere bağlı infeksiyonlarla mücadele edilmesinde bazı önemli önlemlerin alınmasını zorunlu hale getirmiştir. Bu nedenden dolayı ülkemizde *Salmonella* infeksiyonlarına karşı bir önlem olarak kanatlı işletmelerinde *Salmonella* kontrol programları oluşturulmuştur. Bu derlemede tavuklarda *Salmonella* infeksiyonlarının kontrolünde yönetim, sağlık, besleme ve aşılama ile kontrol yöntemleri özetlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Tavuk, *Salmonella*, Kontrol, Aşılama

Control of *Salmonella* infections in chickens

Summary: *Salmonellosis* in food infections is the most common infection causing large outbreaks in recent years. Because *Salmonella* factors have zoonotic property, it have made necessary to take some important precautions for combating infections related to these factors. For this reason, *Salmonella* control programs in poultry sectors of our country were created as a protection against these infections. In this review, methods of management, health, feeding and vaccination are summarized in the control of *Salmonella* infections of chickens

Key words: Chicken, *Salmonella*, Control, Vaccination

Giriş

Salmonellosis dünya çapında, gıda infeksiyonları arasında en sık rastlanılan ve son yıllarda geniş salgınlara neden olan bir infeksiyondur. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention) tarafından bildirilen verilere göre ABD'de son yıllarda 1.4 milyon *Salmonellosis* vakası bildirilirken, Avrupa Birliği ülkelerinde ise bu rakamın 100.000'den fazla olduğu rapor edilmektedir. İnsanlarda *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi gibi serotipler şiddetli infeksiyonlara neden olmaktadır. Hayvanlarda ise *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Pullorum, *Salmonella* Choleraesuis, *Salmonella* Abortus equi, *Salmonella* Abortus ovis ve *Salmonella* Derby infeksiyon oluştururken, bu bakteriler insanlarda da nadiren de olsa infeksiyona neden olmaktadır. Paratifo serotipleri olarak tanımlanan ve özellikle *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium başta olmak üzere diğer serotiplerin zoonoz özelliğe sahip olması, hayvanlarda bu serotiplere bağlı infeksiyonlara karşı veteriner hekimlikte bir takım önlemlerin alınmasını

zorunlu kılmaktadır. Bu nedenden dolayı ülkemizde *Salmonella* infeksiyonlarına karşı bir önlem olarak kanatlı işletmelerinde *Salmonella* kontrol programları oluşturulmuştur [2].

1. *Salmonella* İnfeksiyonları: Enterobacteriaceae familyasının genel özelliklerini taşıyan *Salmonella*'lar Gram negatif, kısa ve küçük çomaklar tarzında olup, boyutları 0.7-1.5-×2.0-5.0 µm'dir. Çoğunlukla boyalı preparatlarda tek tek görülen *Salmonella*'lar, sporsuz ve kapsülsüz olup, *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* hariç hareketlidirler. Fakültatif anaerobik özellikte olup laboratuvar besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilen *Salmonella* serotipleri; 37°C'de 24-48 saatte, küçük, yuvarlak, S tipi koloniler meydana getirirler [16].

Salmonella serotipleri Enterobacteriaceae familyasında yer alan *Salmonella* genusuna ait türlerin içerdiği serotiplerdir. Son sınıflandırmaya göre iki tür bulunmaktadır. Bunlar: *S. Cholerae suis* ve *S. Enterica*'dır. Günümüzde birçok patojeni içeren *S. enterica* türü aşağıda belirtilen yedi alt gruba ayrılmaktadır [16].

- 1- *S. enterica* subsp. *enterica* (I)
- 2- *S. enterica* subsp. *salamae* (II)
- 3- *S. enterica* subsp. *arizonae* (IIIa)
- 4- *S. enterica* subsp. *diarizonae* (III-b)

- 5- *S. enterica* subsp. *houtenae* (IV)
- 6- *Salmonella bongori* (V)
- 7- *S. enterica* subsp. *indica* (VI)

Aşağıda tabloda *Salmonella* infeksiyonları özetlenmiştir.

Tablo 1. *Salmonella* infeksiyonları [16].

Hastalık	Serotip	Semptom
Tavuk Tifosu	<i>S. Gallinarum</i>	Ergin tavuklarda görülür, mortalite %10-93 ve karakteristik bir semptom yok bazen ishal olur. Birçok kanatlıda görülür.
Pullorum Hastalığı	<i>S. Pullorum</i>	Genç tavuklarda görülür, mortalite %0-100 beyazımtırak bir ishal ve Cıvcıvler şaşkın bir şekilde kenarlara çekilmişlerdir. Birçok kanatlıda görülür.
Paratifo İnfeksiyonu	<i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i>	Artan ishal, tüylerde kabarıklık, mortalite %20-80 ve semptomlar tanıtıcı değil. Birçok kanatlıda görülür. (zoonoz).
Arizona İnfeksiyonları	<i>S. Arizonae</i>	Cıvcıvlerde ishal, halsizlik, körlük ve konvülsiyon. En çok hindilerde görülür.

2. *Salmonella* Kontrol Programının Oluşturulmasında Temel Prensipler: Ticari işletmelerde *Salmonella* kontrol programının uygulanması, işletmedeki *Salmonella* pozitiflik düzeyinin belirlenmesi ve alınacak önlemlerle bu oranın düşürülmesi için gereklidir. Bu işletmelerde *Salmonella* kontrol programının sistematik şekilde uygulanması, son üründe *Salmonella* pozitifliğini azaltacağından sağlıklı gıda üretimine katkı sağlayacaktır. Bu programın detaylarının belirlenmesi için bazı temel bilgilerin sağlanması yararlı olacaktır. Bunlar, işletmenin yapısı (broiler, yumurtacı vs), işletmede varsa laboratuvarın altyapısı (veya hizmet alınacak laboratuvarın belirlenmesi), laboratuvarda kullanılacak yöntem/yöntemlerin belirlenmesi, bulaşma kaynaklarının analizi, örnekleme modelinin belirlenmesi ve elde edilen sonuçların değerlendirilmesidir. İşletmede *Salmonella* sıklığı yüksek (>%40) orta (%10-40) ve düşük (<%10) düzeyde olmasına göre program belirlenir. Bu aşamadan sonra uygulanacak programla *Salmonella* sıklığının azaltılması için hedefler takip edilmelidir [1].

3. Tavuklarda *Salmonella* İnfeksiyonlarının Kontrolü: Kontrolün ilk hedefi tavuk sürülerinde *Salmonella* infeksiyonlarını mümkün olduğunca düşük düzeye indirmektedir. Bu nedenle, tavuk sürülerinin piramidin tepesinden başlayıp aşağıya

doğru *Salmonella*'nın tamamen ortadan kaldırılmasının sağlanması prensibine dayanmaktadır [29].

Aşağıda, tavuklarda *Salmonella* infeksiyonlarının kontrolüne yönelik uygulanan bazı yöntemlerden özetle bahsedilmektedir.

3. 1. Yönetim ile Kontrol: Yönetim ile kontrolde biyogüvenlik, altlıklar ve su önemli yer tutmaktadır. Biyogüvenlik tanımı ilk olarak, mikrobiyal hastalıkların yayılmasının azaltılması ve bu hastalıklardan korunmanın yanı sıra infeksiyöz (biyolojik) ajanların popülasyonuna olan yatkınlığın minimize edilmesi için gerekli olan tüm kural ve prosedürlerin toplamı anlamına gelmektedir. Biyogüvenliğin önemi başlığı altında, tavukçuluk üretiminde ulusal olarak yayımlanan birçok standart ve pratik bilgiler bulunmaktadır. Sürü yönetiminin tüm aşamalarında, fare ve sıçanlar, böcekler (uçan ve sokucular gibi), insanlar ve vahşi kuşlar da dahil olmak üzere birçok taşıyıcı potansiyel patojenlerin etken kaynağı olmaları nedeni ile en aza indirgenmelidirler [8].

Her bir farenin dışkısından izole edilen 10^5 *S. Enteritidis*'in, 10 ay boyunca popülasyonda bulunan farelerde persiste infeksiyona neden olduğu tespit edilmiştir [9]. *Alphitobius diaperinus* (Panzer) adlı kanatlı haşere yumurta endüstrisinde zararlı olan, *Salmonella*'yı dış kaynaklardan almaktadır

ve bakteriyi gastrointestinal kanalda barındırarak, *Salmonella*'nın yayılmasında aktif bir kaynak olmaktadır [15].

Kümes sistemleri bu taşıyıcıların girişinin engelleneceği şekilde dizayn edilmelidir. İnsan girişinin mecburi olduğu zamanlarda ise, sağlık önlemleri ve hijyen ilk olarak ayak banyoları ile sağlanmalıdır. Seçilmiş sürü bölümlerinde, giriş ve çıkış değişimleri (kıyafet değişimi) ya da giriş ve çıkış duşları (çiftlik girişlerinde dezenfeksiyon) gibi önlemler kullanılmaktadır. Bu önlemler aynı zamanda, büyük aile ve aile stokları içinde kullanılmaktadır. Stoklar dahil olmak üzere hayvan hareketlerinde, et üretiminde hepsi içeri-hepsi dışarı prensibi temel alınmaktadır. Bu yaklaşım, sürüler arasındaki; farklı yaşlarda bulunan stokların artışında birinden diğerine kolaylıkla etkenin kolonize olabilmesini ve kros-kontaminasyonu en aza indirmeyi sağlayan bir yöntemdir [8].

Emici materyal olan altlıklar, steril olmayan tahta parçaları, fıstık ya da pirinç kabuğu ve benzeri malzemelerden faydalanılarak kümeslerin alt yüzeyinin kaplanması için kullanılmaktadır. Bu kaplama çevresel ve kümes patojenlerinin elemine edilmesinde ya da oldukça azalması istendiğinde öncelikli olarak kullanılan materyaldir. Altlığın uygun olarak hazırlanmış olması *Salmonella*'nın eliminasyonunu daha da kolaylaştırmakta; hayvan beslenmesinde ve fertilizasyonunda iyi bir geri dönüş meydana gelmektedir [8]. Yapılan bir çalışmada, altlık üzerinde yetişen broylerin nişasta tabiatında olmayan polisakkaritlerden elde edilen Broilermatic® kümes altlığında yetişenler ile karşılaştırıldığında, intestinal mikroflorayı düzenleyerek ve mikroorganizmaların kompetatif ekslüzyonu (yarışmacı dışlama) artırarak sekal *Salmonella*'nın popülasyonunda azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir [23].

Tablo 2. *Salmonella* kontrolü için kullanılan ticari altlıklar

Ürün ismi (satış firmaları)	Genel bilgi
Broilermatic® (Farmer Automatic, Register, GA)	Seri broyler üretiminde kullanılan emici olmayan altlıklar [23].
PoultryGuard® (OilDrip Company, Chicago, IL)	Granüllü maddeleri içeren sülfürik asitli çamur, amonyağın üretimine karşı ve altlığın pH'sını en düşük seviyeye indirir [27].
PLT (Jones-Hamilton Products, Walbridge, OH)	Sodyum bisülfat içeren kuru asit granülleri [17].
SoftAcid™ (Borregaard Lignotech, Rothschild, WI)	Sodyum, lignosülfonat, formik asit ve propiyonik asit'in bir karışımı [13].
MicrotreatP (AgtechProduct, Waukesha, WI)	Biyolojik bir atık, bu sistem, bakterinin üremesini engeller [30].

İçilebilir suyun kalitesi, *Salmonella*'nın tavuklarda geçişini en aza indirmelidir. Kümeslerde bulunan su kaynakları genellikle doğal su kaynaklarından elde edilmektedir. Bu nedenle mutlaka kimyasallar ile muamele edilmesi, filtrasyon ya da geriye osmos ile *Salmonella*'lardan tamamen arındırılmış olması gerekmektedir. Ayrıca, suyun bu

özelliklerinin yanı sıra nipel suluklar vasıtasıyla da *Salmonella* kontaminasyonunun engellenmesine yardımcı olması sağlanmalıdır. İçme suyu sistemleri potansiyel birer biyofilm oluşum kaynağıdır ve bu nedenle bu sistemlerin düzenli olarak hijyen ve sanitasyon koşullarına uygunluğu için yapılan çalışmalar oldukça önem taşımaktadır [8].

Tablo 3. *Salmonella* kontrolü için kullanılan ticari su çeşitleri

Ürün ismi (satış firmaları)	Genel bilgi
ActivateWD® (Novus International, St Louis, MO)	Organik asit içeren özel bir karışım [19]
Perform Max Optimize II™ (Sigras-Zellet, Fayetteville, AR)	Beş kokteylli bir organik asit: formik, laktik, asetik, tannik, propiyonik ve kaprilik asitler [31]
PWT (Jones-Hamilton Products, Walbridge, OH)	Asitlendirici sodyum bisülfatlı su

3. 2. Beslenme ile Kontrol: Kanatlı üretiminde *Salmonella*'nın kontrolü, kanatlı beslenmesindeki en kritik noktadır. Kanatlıların gelişmesinde kritik bir durum şekillendiği zaman, *Salmonella*'nın bulaşmasında ana neden de şekillenmektedir. Serovarları ise, kanatlıların yetiştirme ve kesimleri süresince kanatlılarda bulunmaktadır. Bu serovarlar, et; balık eti ya da kemikli et, besin bileşiminde üremektedir. Bu kaynaklar tipik olarak ısıtma işlem görmüşlerdir ($\geq 80^{\circ}\text{C}$) ve ara sıra işlem sonrasında kontamine olmaktadır. Enterik patojenlerin büyük

bir çoğunluğu ısıtma işlem sırasında elemine olmaktadır, bu nedenle pelet yemler, çiğ olarak bulunan lapa yemlerden çok daha güvenlidir [8].

Beslemede önemli yere sahip olan organik asitler, gıdalarda bulunan *Salmonella*'ların hayatta kalma riskini azaltmaktadır. Propiyonik, formik, asetik ve bütirik asitler gıda katkıları olarak sıklıkla kullanılmaktadırlar. Ayrıca, yemlerde yapılan asit uygulamaları koruyucu olmaktadır ve *Salmonella*'nın horizontal olarak bulaşmasını da engellemektedir [8].

Tablo 4. *Salmonella*'nın kontaminasyonunu ve kolonizasyonunu azaltması/ önlemesi için kullanılan ticari organik asit ürünleri

Ürün ismi (satış firmaları)	Genel bilgi
Adimix®C(INVE Nutri-Ad, Belgium)	Beyaz bir toz olarak mevcuttur (% 98) Yada (% 30) sodyum tuzu ile mikrokapsülenmiş bir n-butirik asit [25].
Salcurb™(Kemin, Des Moines, IO)	Organik asitler, bir karışımdır (propiyonik ve benzoik) ve formaldehid (% 37), ve yemin içinde çok etkili olduğu iddia ediliyor [21].
Galliacid™ (Jefo, Quebec, Canada)	Trigliserid kapsülenmiş bir Organik asit (fumarik asit , format propiyonat ve sorbat tuzları). Bu ürün Bağırsak sürümü için tasarlanmıştır [25].
SalKil™ (KiotechAgil, Reading, UK)	Serbest karboksilik asitlerin bir kombinasyonudur. Kontaminasyon ve yeniden bulaşmaya karşı koruma sunan eşsiz taşıyıcı olan amonyum tuzlarıdır [14].

Esansiyel yağlar eski çağlardan beri suni tatlandırma ve koruyucular olarak gıdaların hazırlanmasında kullanılmış uçucu bitki özleridir. Bazı esansiyel yağların güçlü antimikrobiyal etkisi olup özellikle fenolik yapılar içerenleri bitkinin karakteristik koku veya tadına sahiptir. Bu nedenle hayvanın performansı sadece *Salmonella*'yı kontrol ederek değil aynı zamanda lezzeti de artırılarak iyileştirebilir [4].

Tavuğun bağırsak florası konağın sağlığında önemli bir rol oynamaktadır ve geçmişte bu floranın modülasyonu ile çiftlik düzeyinde *Salmonella* kontaminasyonunu azaltmada önemli ölçüde başarı elde edilmiştir. Florayı değiştirmede pro/prebiyotik kullanımı esas yaklaşım olmuştur. Müşterilerin, gıdalardaki antibiyotiklerin azaltılması ve kümes hayvanlarında ve ürünlerinde *Salmonella*'nın elimine edilmesini gerektiren baskıları artmıştır. Tavuğun intestinal florasının modülasyonu doğal kontrol ve sürdürülebilir tavuk üretimi açısından cazip bir opsiyon sunmaya devam eder. Burada intestinal floranın tavuk sağlığında rolü ve *Salmonella* kontrolü için flora modülasyonunun progresyonu gözden geçirilmektedir [4].

Probiyotik, yeterli miktarda verildiğinde konak sağlığına fayda gösteren canlı organizmalar olarak tanımlanmıştır. Probiyotiklerin, bağırsaklara ulaştırıldığında hayvan gıda üretimine faydalı etkileri bulunduğunu rapor eden birçok çalışmalar mevcuttur [11]. Probiyotikler, ısıya dayanıklı olup, spor oluşturma yeteneğine sahiptir. Oda sıcaklığında canlılıklarını koruyabilir ve düşük pH'li bir mide bariyeri olarak kalabilirlerdir. Probiyotiklerin esas fonksiyonlarını sıralayacak olursak;

1. Sağlıklı floranın faydalı bakterilerin çoğunluk teşkil ettiği gelişiminin stimule edilmesi.
2. Patojenik bakteri kolonizasyonunun azaltılması veya önlenmesi
3. Mukozal immunitenin iyileştirilmesi
4. Sindirim kapasitesinin artırılması ve pH'nın azalması
5. Intestinal doku maturasyonunun ve bütünlüğünün artırılması [4].

Yumurtadan yeni çıkmış civcivler üzerindeki ilk uygulamadan beri tanımlanmamış ve tanımlan-

miş probiyotik kültürleri ile birkaç deney geliştirilmiş ve sadece *Salmonella* kolonizasyonunu kontrol etmek ve azaltmak için değil aynı zamanda broylerin büyümesi ve beslenme etkinliğini iyileştirmek için başarılı bir şekilde uygulanmıştır. *Lactobacillus* ve *Bacillus*'lar sıklıkla probiyotik ürünlerin komponentleridir. *Lactobacillus*'lar, ince bağırsakta baskın olmak üzere ve genç kuşların sekumunda bol miktarda olmak üzere tavuk bağırsağında bir grup normal konaktır. Bağırsak kolonizasyonunda diğerlerine göre avantajlıdır. *Lactobacillus*'lar aynı zamanda fermentasyon ile asit üreticileridir ki böylece intestinal içeriğin pH'sını düşürebilir ve patojenlere direnç oluşturarak intestinal fonksiyonlara

yardımla sağlayabilir. *Bacillus* türlerinin iyi gelişmiş enzim sistemleri mevcuttur ve bazı üyeler amilazlar ve proteazlar gibi enzimlerin ticari üretimi için kullanılmıştır. Bu enzimler tavuğun endojen sindirim enzimlerini tamamlayabilir [4].

Bacillus'lar spor oluşturuucu bakteriler olup hayvan yemlerinde bir probiyotik, insanlarda ise bir diyet ilaç olarak kullanılmaktadır. Isı stabilitesi ve yaşama kabiliyetinden dolayı mide bariyeri oluştururlar ve cazip bir gıda katkısıdır.

Genellikle toprak organizmaları olarak kabul edilmektedir. En yaygın türleri, *Bacillus subtilis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans* ve *Bacillus licheniformis*'tir [10].

Tablo 5. *Bacillus* probiyotikler [10].

Marka	Hayvan	Üretici	Bacillus
BioGrow®	Tavuk, buzağı, domuz	Provita Eurotech Ltd., Omagh, NorthernIreland, UK http://www.provita.co.uk	<i>B.licheniformis</i> + <i>B.subtilis</i>
BioPlus® 2B	Tavuk, hindi, domuz yavruları	Christian Hansen Hoersholm, Denmark http://www.chbiosystems.com	<i>B. licheniformis</i> + <i>B. subtilis</i>
Lactopure	Tavuk, buzağı, domuz	Pharmed Medicare, Bangalore, India http://www.pharmedmedicare.com	<i>Lactobacillus sporogenes</i> + <i>B. coagulans</i>
Neoferm BS 10	Tavuk, buzağı, domuz	Sanofi Sante Nutrition Animale, France	2 suş <i>B. clausii</i>
Toyocerin®	Tavuk, tavşan, buzağı, domuz	Asahi Vet S.A., Tokyo (Head Off.), Japan http://www.asahi-kasei.co.jp	<i>B. cereus</i> var. <i>Toyoi</i> + mısır unu+ kalsiyum karbonat

Tablo 6. Tavuklarda *Salmonella* kontrolü için kullanılan ticari probiyotik ürünleri

Ürün ismi (satış firmaları)	Genel bilgi
Broilact® (Orion, Turku, Finland)	Sağlıklı ve erişkin tavuk cecal bölgesinden elde edilen (22 türlerden 5 cins) ve fakültatif (10 türden 3 cins) anaerobik bakterinin kurutulup dondurulmuş bir karışımı [22].
Aviguard® (Microbial Development Ltd, Malvern, UK)	Sağlıklı kuşlardan elde edilen kurutulup dondurulmuş 200 çeşit nonpatojen bakteri [12].
AviFree (Alltech, Lexington, KY)	Yetişkin tavuğun tüm sekal içeriğinden elde edilen bir artırılmamış kültür karışımı [12].
Mucosal Starter Culture (MSC) (Continental Grain Co., Arlon, Belgium)	bilinmeyen bir sekalın kazıntısı, yıkaması veya bölümlerinden inkübe edilen anaerobik kültür [24].
PREEMPT™ (MS BioScience, Madison, WI)	15 fakültatiflerden oluşan tanımlı bir kültür ve 14 zorunlu anaerobik bakterileri [7].

Prebiyotikler ise sindirilemez gıda veya besin içeriği olup konağın sağlığına faydalı olacak şekilde sindirim sisteminde bakterilerin büyüme ve/veya aktivitesini uyarır. İlk kez 1995te belirlenip isimlendirildiler. Daha sonra prebiyotikleri konağın sağlığına fayda sağlayacak şekilde gastrointestinal floranın içerik ve/veya aktivitesinde spesifik değişikliklere neden olan seçilmiş şekilde fermente edilmiş içerikler olarak tanımlandılar [4].

Prebiyotikler çoğunlukla tipik olarak zincirlerden oluşmuş karbonhidratlardan oluşan çözünebilir liflerdir. Prebiyotiklerin etkilerinden probiyotiklerinkine benzer şekilde konağa fayda sağlaması beklenir. Probiyotikler ile karşılaştırıldığında prebiyotikler genellikle daha ucuzdur, daha az risklidir, taşınması kolaydır (yaşayabilir durumda tutulmaları gerekmez) ve diyete eklenmesi daha kolaydır. Prebiyotiklerin probiyotikler ile kombine edilmesi (sinbiyotikler) intestinal sağlık ve hayvan performansının etkinliğini artırmak için etkili bir yaklaşımdır [4].

Mevcut durumda kullanılan prebiyotiklerin birçoğu fruktoz, ksiloz, galaktoz, glukoz ve mannoz gibi basit sekerlerden birinin veya kombinasyonunun bir veya daha fazla molekülünü içeren sindirilemeyen oligosakkaritlerdir [4]. Bir kaç çalışma mannan-oligosakkaritleri ile zenginleştirilmiş yem ile beslenen broylerde *Salmonella*'da kolonizasyonda azalma olduğunu göstermiştir [5, 33]. *S. Enteritidis* ile müdahale sonrası %2.5lik laktoz içeren içme suyu kullanan tüy döken Leghorn tavuklarında sekal *S. Enteritidis* kolonizasyonu azaltılmıştır. Bazı çalışmalar prebiyotik tedavisinin sürekli olması gerektiğini aksi takdirde sağlanan faydanın kaybedileceğini belirtmiştir. Sonuçlardaki değişiklik tavukların bazı beslenme programlarında yeterli floranın bakım ve fonksiyon açısından olası bir eksikliğini ortaya koymaktadır. Bu aynı zamanda optimal kümes hayvanı yem paylarını formüle ederken tavuklarda intestinal floranın anlaşılmasının önemini belirtmektedir [4].

Bir çeşit prebiyotik olan oligosakkaritler, intestinal florayı zenginleştirerek, laktik asit bakterileri gibi probiyotik türlerinin gelişimini de artırmaktadır. Böylece *Salmonella*'ların kolonizasyonunun kalıcılığı ve yaşama şansları da azalmaktadır. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin sayısal artışı *Salmonella* prevalansındaki azalma ile doğru

orantılı olmaktadır. *Salmonella*'nın kolonizasyonunun azalması gıda katkısı olarak β -glukanların ya da *Salmonella*'nın taşınımını azaltıcı maddelerden olan fruktoolisakkaritlerin kullanılması ile sağlanabilmektedir [8].

3. 3. Sağlık ile Kontrol: Bu başlık altında antimikrobiyallerin kullanımı, immunoterapi ve bakteriyofaj terapi sayılabilir. Geçmişte antimikrobiyaller, patojenlerin kolonizasyonunu en aza indirmek için koruyucu amaçla kullanılmaktaydı. Antibiyotiklerin halk sağlığı için önemi patojen kontrolünün sağlanmasıdır ve son zamanlarda Avrupa ve Amerika'da rutin kullanımı yasaklanmıştır. Tedavi amaçlı kullanımlarında ise, direnç gelişimi söz konusu olduğundan, dikkatsiz kullanımlar *Salmonella*'nın taşıyıcılık süresini de arttırdığı için oldukça dikkat edilmektedir [8].

Antibiyotikler, sindirim sisteminde bulunmuş olan *Salmonella* dahil olmak üzere mikroflora bakterilerinin dışarı atılmasına ve tavukta yüksek antikor titresinin gelişimini engellenmesine neden olmaktadır. Tavuklar yetişkin döneminde iken infekte edildiklerinde, kendi organlarından *S. Pullorum*'un izolasyonu gerçekleştirilmiştir böylelikle kullanılan bu antibiyotiklerin başarısız olduğu sonucuna varılmıştır [20].

Salmonella türlerinde aminoglikozidlerden streptomisin ve gentamisin test edilmesi tavsiye edilirken neomisin, kanamisin ve apramisin tavsiye edilmemektedir. Streptomisin *Salmonella* türleri için izlenme programlarında bulunması gereken önemli bir antibiyotiktir. Çünkü bu antibiyotik *S. Tpyhimurium* DT104 ve benzeri fenotiplerde 5'li dirençlilik varlığına ilişkin bir indikatör olarak kullanılmaktadır [33].

ARBAO (**Antibiotic resistance in bacteria of animal origin**) tarafından belirlenen dirençlilik kırılma noktası >32 mg/L dir. Gentamisin rutin izleme programlarında sıklıkla başvurulan önemli bir ajandır ve hem hayvan hem de insan infeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Gentamisin dirençliliği aminoglikozid asetilaz (AAC), aminoglikozid nukleotidil transferaz (ANT) ve aminoglikozid fosforilaz (APH) enzimlerini kodlayan birçok gen tarafından belirlenmektedir. Neomisin ve kanamisin günümüzde insan infeksiyonlarının tedavisinde kullanılmamaktadır. Kloramfenikolün

hayvanlarda kullanımı Avrupa Birliği'nde 1994 yılından bu yana yasaklanmıştır. Buna karşın özellikle Enterobacteriaceae'de hala belli oranlarda dirençlilik rapor edilmektedir. Geniş spektrumlu penisilinler ve beta laktamaz inhibitörleri arasında amoksisilin yerine ampisilin dahil edilmesi tavsiye edilmektedir. Ampisilin Enterobacteriaceae'ye karşı geniş spektrumlu bir intrinsik etki gösterdiği bilinmektedir. Özellikle *Salmonella* türlerinde dirençliliğin takip edilmesi için sefalosporinlerden sefotaksim dahil edilmesi önerilmektedir. İngiltere Sağlık Kurumu Ajansı, teşhis laboratuvarları için yayınladığı rehberde sefotaksim-seftazidim kullanımı tavsiye etmektedir. Folat sentezini inhibe edenlerden sulfametoksazol ve trimetoprim takibi tavsiye edilmektedir [34].

Bazı *Salmonella* türleri için sulfonamid dirençci önemli olmaktadır. Bu sebeple sulfametoksazol sulfonamid sınıfını temsilen tek ajan olarak izleme programlarına dahil edilebilir. Tetrasiklinlerden bu sınıfa dahil olan ajanları temsilen tetrasiklin kullanılabilir [34].

İmmunoterapi, spesifik antikolar kullanılarak hedef organizmanın kontrol altına alınmasını sağlamaktadır. Kanatlılara antikoların uygulanışında, bir ya da daha fazla *Salmonella* serovarı kabul edilmektedir, böylelikle pasif immünite sağlanarak etken kolonizasyonu azaltılmaktadır. Hedef antikolar kullanılarak tavukların immünizasyonunda, sadece antikoların sirkülasyonuna (kan içerisinde) neden olmaz, aynı zamanda yumurta sarısında antikoların (IgY) birikmesine de neden olmaktadır. Bu antikolar yumurta sarısında birikmekte ve tedavi amacıyla öncelikli olarak vücutta kullanılmaktadırlar. Yumurtacı sürülerde *S. Enteritidis* serovarının taşınmasının azaltılmasında, işlenmemiş sıvı anti-Enteritidis IgY ekstraktı ve kurutulmuş anti-Enteritidis IgY yumurta sarısı tozu tanımlanmıştır [8].

Bakteriyel fajlar bakterileri enfekte eden ve onların içerisinde yaşayan viruslardır. İki tip bakteriyofaj vardır; virulen (veya litik) ve iliman (temperate) fajlar. Iliman fajlar kendilerini bakteriyel konağın DNA'sına birleştirir. Bu fajların konak DNA'sından ayrılması sırasında konak DNA'sının bir kısmı da bu fajlarla birlikte ayrılır ve başka bir konağa transfer edilir. Bu genetik olaylar zararlı olabilir ve bunların uygulamasından kaçınılmalıdır. Litik fajlar konağı bakteriyel hücrelere spesifik

bağlanma ile bağlanarak ve içerisine girerek enfekte edebilir, hücrenin sistemini ele geçirir, çoğalır ve daha sonra bakteriyel hücreyi parçalar. Çoğaldıktan ve bakteriyel hücreden ayrıldıktan sonra fajlar hayat döngülerini yenilerler [4].

Fajlar genelde enfekte edecekleri bakteriye spesifiktir. Aynı serotipte *Salmonella*'nın farklı suşlarını ayırt etmek için bu özellik kullanılmıştır. Bu durum belirli bir ekolojik mekideki normal yerel floraya herhangi bir negatif etki göstermeden bakteriyel patojenlerin belirli tipleri (grupları) ni hedefleme avantajı sunmaktadır. Bu aynı zamanda faj terapisinin yüksek derecede etkin olabileceğini akla getirmektedir.

Fajların spesifitesi belirli bir grup bakteriye karşı kullanımlarını kısıtlamaktadır. Bu nedenle majör bakteriyel patojen tiplerinin olası bir değişiminin veya direnç gelişiminin üstesinden gelmek için geniş spektrumlu konak fajları seçilmeli veya farklı faj kombinasyonları sağlanmalıdır [4].

Popülasyon dengesi muhtemelen hayvanın bağırsağındaki faj sayısı ve etkinliği ve çevresel faktörler tarafından belirlenecektir. Belirli bir patojen türünü elimine etmek için yeterli miktarda çoklu faj uygulaması yeterli olarak görülmektedir. Bu litik fajların bakım ve uygulanmasını içeren detaylar güvenlik ve sıkı takip edilmesi açısından mutlaka belirlenmelidir. Bazı fajların belirli konaklarda büyüdüğünü, faj kompleksleri olarak etki gösterdiklerini gösterebilmiştir [4].

4. Patojen kontrolünün uygulanması: Yakın zamandaki çalışmalar gıda kaynaklı patojen kontrolü için faj uygulanmasında umut vaat etmiştir. En önemli olay FDA'nin hazır et ve peynirlerde *L. monocitogenes*'e karşı kullanılan bir faj karışımı olan Intralytix'i onaylaması oldu ki bu gıdalarda faj tedavisi kullanımının güvenli olduğunun kabul edilmesidir. Kümes hayvanlarında *Salmonella* infeksiyonunu kontrol için faj tabanlı yaklaşımlar azalma sağlamıştır. Fakat tam bir eliminasyon elde edilememiştir. *Salmonella* redüksiyonu ile ilgili 0 ile 5 log arasında değişken sonuçlar rapor edilmiştir. Genel olarak karışık faj karışımları saf fajlara göre daha etkilidir. Ek olarak beklenen sonuçlara ulaşmak için sıklıkla yüksek faj konsantrasyonları gerekir. *Salmonella* spesifik faj ve yarışmacı dışlama fonksiyonu olan probiyotik bakteri kombinasyonu

nun deneysel olarak *Salmonella* ile enfekte edilmiş tavuklarda kolonizasyonu azaltmada ayrı ayrı gösterdikleri başarıdan daha etkili oldukları gösterilmiştir. Hayvan bağırsağındaki gıda kaynaklı patojenlerin kontrol etme çabalarına ek olarak alternatif bir yaklaşım da hayvanlarının post ve tüylerindeki patojenlerin sayılarının azaltılmasıdır. Hayvan derisinden ya da posttan yüksek oranda gıda kaynaklı patojen varlığında karkasın kontaminasyon riskinin büyük ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle canlı hayvanlar işleme ortamına girmeden önce postlarındaki ve tüylerindeki gıda kaynaklı patojenler hedef alınmalıdır [4].

5. Aşılama: Veteriner sağlık kuruluşları, bazı *Salmonella*'larda (Pullorum ve Gallinarum serovarları) dahil olmak üzere bakteri ve virüslere karşı yapılan aşılamalar, uzun süreli korumalarda pratik olarak yaygın bir şekilde uygulamaktadır. Konak-spesifik Pullorum ve Gallinarum serovarlarına karşı sistematik infeksiyonların eradikasyonunda ilk olarak kullanılan aşilar hala etkinliğini korumaktadır. Halk sağlığı kuruluşlarında patojenlere karşı son zamanlarda daha da geliştirilerek büyük ölçüde se-

rovarların sınırlandığı (Enteritidis ve Typhimurium) aşilar kullanılmaktadır. Bu amaçla canlı (örn: aroA) ve ölü aşilar geliştirilmiştir. Bunlardan ölü olanları daha fazla kullanılmaktadır. Ölü aşilar bir serovarı daha içermektedir ve adjuvant ile geliştirilmiştir; humoral immünitenin gelişimi için daha uygundur [8]. Canlı aşilar, sürüye aerosol ya da su yoluyla verilmektedir, ancak canlı organizma içeren aşilarla karşılaşılan en büyük problem canlılığın korunması ve depolanmasıdır yine attenüe edilmiş suşların daha virulent olan suşa dönüşmesi sözkonusu olmaktadır [15]. Ancak canlı aşilar hücrel immüniteyi daha iyi uyardıkları için önerilmektedir. Kombine edilen attenüe edilmiş aşidan sonra uygulanan ölü *Salmonella* serovarlarını içeren aşı hem hücrel hem de humoral immun sistemi uyarılmaktadır ve bireysel aşilara nazaran daha yüksek bir titre oluşumuna neden olmaktadır [8]. Amerika'da *S. Enteritidis*'in aşısının kullanılmasına izin verilmemektedir. Ölü aşilar, bireysel olarak yetiştirilen kanatlılara enjeksiyon yoluyla yapılmaktadır sonuçta iyi bir bağışıklık ve koruma sağlamaktadır. Ancak iş gücü açısından yorucudur [15].

Tablo 7. Tavuklarda *Salmonella* kontrolü için kullanılan ticari attenue ve inaktif aşı ürünleri

Ürün ismi (satış firmaları)	Genel bilgi
AviPro® <i>Salmonella</i> VAC E (Lohmann Animal Health, Cuxhoben, Germany)	<i>Salmonella</i> Enteritidis'ten zayıflatılmış metabolik mutant, üç noktada immünolojik yanıtlara sebep olurlar: makrofajlar, T-lenfositler ve humoral spesifik yanıt [26].
Nobilis Salenvac T (IntervetSchering-Plough, Boxmeer, Netherlands)	Formalin ile öldürülmüş hücreleri içeren <i>Salmonella</i> Enteritidis PT4 ve demir regüle eden dış membran proteini içeren <i>Salmonella</i> Typhimurium DT104; 1 × 10 ⁹ hücreler, güçlü immun yanıt oluştururlar [6].
Megan®Vac 1 (Lohmann Animal Health)	Zayıflatılmış canlı <i>Salmonella</i> Typhimurium aşısı [18].
Polvac ST® (Poultac ST, Fort Dodge, IA)	aro-A zayıflatılmış canlı <i>Salmonella</i> aşısı [3].
Autogenous killed vaccine (Lohmann Animal Health)	Ticari gereksinimler için hazırlanan öldürülmüş Otojen <i>Salmonella</i> serovarlar [3].

Sonuç

Kanatlı işletmeleri için '*Salmonella* kontrol programı'nın oluşturulması gereklidir. Bu amaçla; damızlık sürülerin periyodik olarak izlenmesi ve negatifliğinin sağlanması, biyogüvenlik uygulamalarının eksiksiz yerine getirilmesini gerekli hale getirmektedir.

Kaynaklar

1. **Akan M.** (2008). *Kanatlılarda Salmonella İnfeksiyonları ve Kontrolünde Temel Prensipler*. Veteriner Tavukçuluk Derneği. Cilt 6. Sayı 2: 3-5.
2. **Babacan O, Cengiz S, Akan M.** (2012). *Oregano bitkisinin bazı Salmonella serotipleri üzerine antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 59: 103-106.

3. **Bailey JS, Rolon A, Holt PS, Hofacre CL, Wilson JL, Cosby DE, Richardson LJ, Cox NA.** (2007). *Humoral and mucosal-humoral immune response to a Salmonella vaccination program in broiler breeders.* Int J Poult Sci, 6: 172-181.
4. **Chambers JR, Gong J.** (2011). *The Intestinal microbiota and its modulation for Salmonella control in chickens.* Food Res Int, 44: 3149-3159.
5. **Chee sh, Iji PA, Choct M, Mikkelsen LL, Kocher A.** (2010). *Characterisation and response of intestinal microflora and mucins to manno-oligosaccharide and antibiotic supplementation in broiler chickens.* Br Poult Sci, 51(3):368-80.
6. **Clifton-Hadley FA, Breslin M, Venables LM, Spriggins KA, Cooles SW, Houghton S, Woodward MJ.** (2002). *A laboratory study of an inactivated bivalent iron restricted Salmonella enterica serovars Enteritidis and Typhimurium dual vaccine against Typhimurium challenge in chickens.* Vet Microbiol, 89: 167-179.
7. **Corrier DE, Nisbet DJ, Scanlan CM, Hollister AG, DeLoach JR.** (1995). *Control of Salmonella Typhimurium colonisation in broiler chicks with a continuous-flow characterized mixed culture of cecal bacteria.* Poult Sci, 74: 916-924.
8. **Cox JM, Pavic A.** (2010). *Advances in enteropathogen control in poultry production.* J Appl Microbiol, 108(3): 745-755.
9. **Crippen TL, Sheffield CL, Esquivel SV, Droleskey RE, Esquivel JF.** (2008). *The acquisition and internalization of Salmonella by the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae).* Vector Borne Zoonotic Dis, 9(1): 65-72.
10. **Cutting S M.** (2011). *Bacillus probiotics.* Food Microbiol, 28(2): 214-220.
11. **FAO/WHO** (2002). *Probiotics in food. FAO Food and Nutrition Paper 85, Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food,* London, Ontario, Canada. (pp. 46) April 30-May 1, 2002.
12. **Ferreira AJP, Ferreira CSA, Knobl T, Moreno AM, Bacarro MR, Chen M, Robach M, Mead GC.** (2003). *Comparison of three commercial competitive exclusion products for controlling Salmonella colonization of broilers in Brazil.* J Food Prot, 66: 490-492.
13. **Garrido MN, Skjervheim M, Oppegaard H, Sorum H.** (2004). *Acidified litter benefits the intestinal flora balance of broiler chickens.* Appl Environ Microbiol, 70: 5208-5213.
14. **Hinton M, Linton AH.** (1988). *The control of Salmonella infections in broiler chickens by the acid treatment of their feed.* Vet Rec, 123: 416-421.
15. **Howard ZR, O'Bryan CA, Crandall PG, Ricke SC.** (2012). *Salmonella Enteritidis in shell eggs: Current issues and prospects for control.* Food Re. Int, 45:755-764.
16. **İzgür M.** (2002). *Bakteriyel İnfeksiyonlar.* In: Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Ed: İzgür M, Akan M. Ankara: Medisan yayın serisi, 4: 37-126.
17. **Line JE.** (2002). *Campylobacter and Salmonella populations associated with chickens raised on acidified litter.* Poult Sci, 81: 1473-1477.
18. **McReynolds JL, Moore RW, McElroy AP, Hargis BM, Caldwell DJ.** (2007). *Evaluation of a competitive exclusion culture and Megan Vac 1 on Salmonella Typhimurium colonization in neonatal broiler chickens.* J Appl Poul Res, 16: 456-463.
19. **Parker D, Hofacre C, Mathis GF, Quiroz MA, Dibner, Knight C.** (2007). *Organic acid water treatment reduced Salmonella horizontal transmission in broiler chickens.* <http://www.animalscience.com/uploads/additionalfiles/WPSAVerona%5C10272.pdf> (accessed 21 December 2008).
20. **Priyantha M A R, Vipulasiri A A, Gunawardana G A.** (2012). *Salmonella Control in Poultry Breeder Farms in Sri Lanka: Effects of Oral Antibiotic Treatment on Whole Blood Agglutination Test With Salmonella Pullorum Antigen.* Acad J, 3(2): 21-24.
21. **Pumfrey L, Nelson CE.** (1991). *Use of a most probable number method modified with a deoxyribonucleic acid probe to monitor control by food preservatives of natural Salmonella contamination in animal meat meals.* Poult Sci, 70: 780-784.
22. **Salvat G, Lalande F, Humbert F, Lahellec C.** (1992). *Use of a competitive exclusion product (Broilact) to prevent Salmonella colonization of newly hatched chicks.* Int J Food Microbiol, 15: 307-311.
23. **Santos FBO, Sheldon BW, Santos AA Jr, Ferket PR.** (2008). *Influence of housing system, grain type, and particle size on Salmonella colonization and shedding of broilers Fed triticale or corn-soybean meal diets.* Poult Sci, 87: 405-420.
24. **Schneitz C.** (2005). *Competitive exclusion in poultry-30 years of research.* Food Control, 16: 657-667.
25. **Van Immerseel F, Boyen F, Gantois I, Timbermont L, Bohez L, Pasmans F, Haesebrouck F, Ducatelle R.** (2005a). *Supplementation of coated butyric acid in the feed reduces colonization and shedding of Salmonella in poultry.* Poult Sci, 84: 1851-1856.
26. **Van Immerseel F, Methner U, Rychlik, I, Nagy B, Velge P, Martin G, Foster N, Ducatelle R.** (2005b). *Vaccination and early protection against nonhost specific Salmonella serotypes in poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity.* Epidemiol Infect, 133: 959-978.
27. **Vicente JL, Higgins SE, Hargis BM, Tellez G.** (2007). *Effect of poultry guard litter amendment on horizontal transmission of Salmonella Enteritidis in broiler chicks.* Int J Poult Sci, 6: 314-317.
28. **Watkins S, Newberry L, Wilson M, Hubbard R.** (2004). *Water sanitation: evaluation of products.* Avian Advice, 6: 3-5.
29. **Wegener HC, Hald T, Lo Fo Wong D, Madsen M, Korsgaard H, Bager F, Gerner-Smidt P, Mølbak K.** (2003). *Salmonella control programs in Denmark.* Emerg Infect Dis, 9(7): 774-780.
30. **Wiard T, Gockley M, Parrott T, Troyer G, Rehberger T.** (2001). *The Effect of a Biological Litter Treatment on Salmonella sp. Prevalence in Turkey Breeder Flock*

Litter. Joint Meeting of ADSA, AMSA, ASAS and PSA, Indianapolis, IN. http://www.agtechproducts.com/product-support/Breeder_flock_trial-Salmonella_Report.pdf (accessed 21 December 2008).

31. Wolfenden AD, Vicente JL, Higgins JP, Andreatti Filho RL, Higgins SE, Hargis BM, Tellez G. (2007). *Effect of organic acids and probiotics on Salmonella Enteritidis infection in broiler chickens*. Int J Poult Sci, 6: 403-405.
32. Yang Y, Iji PA, & Choct M. (2009). *Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: A review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics*. Worlds Poult Sci J, 65: 97-114.
33. Yıldırım Y. (2010). *Antimikrobiyel Duyarlılık Testleri; İlgili Metodlar, Sonuçların Yorumlanması ve Kanatlılarda Bulunan Bazı Bakterilerdeki Dirençlilik*. Erciyes Üniv. Vet Fak Derg, 7(2): 117-129.