

Bir Bildircin Yetiştirme Ünitesinde *Citrobacter freundii*'ye Bağlı Ölüm Olguları

Belgi DİREN SİĞİRCİ^{1*}, Kemal METİNER¹, Seyyal AK¹

¹Istanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul

*Sorumlu Yazar: Belgi DİREN SİĞİRCİ İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul

e-posta: belgis@istanbul.edu.tr, Tel: 0212 473 70 70

Geliş Tarihi /Received: 03.03.2011

ÖZET

Bu olguda İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına klinik bulgu göstermeden ani ölümlerin olduğu bildirilen bir bildircin yetiştirme ünitesinden getirilen, 7-10 günlük ölü iki bildircinden *Citrobacter freundii* izolasyonu tanımlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bildircin, *Citrobacter freundii*, kanatlı hayvan hastalıkları

ABSTRACT

DEATH CASES CAUSED BY *CITROBACTER FREUNDII* IN A QUAIL BREEDING UNIT

In this case report, *Citrobacter freundii* isolation from 7-10 day-old two dead quails, which were brought to the Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul University from a quail breeding unit, with sudden death problems with any clinical signs was described.

Key Words: Quail, *Citrobacter freundii*, avian diseases

Giriş

Citrobacter türleri soğuk ve sıcak kanlı hayvanların barsak florasında kommensal olarak bulunabildiği gibi mastit, çeşitli yaralar, septisemi ve pnömoni gibi bağırsak sistemi dışındaki infeksiyonların da fırsatçı patojenleridir (Songer ve Post, 2005). Genellikle idrar, boğaz, kan ve yara svabı gibi klinik örneklerden fırsatçı patojen ya da sekonder patojen olarak izole edildikleri bildirilmiştir (Brenner ve ark., 1993 ve 1999; Dworkin, 2006; Garrity, 2005).

Citrobacter freundii doğada bulunan fırsatçı bir patojendir ve su, yağım ve topraktan izole edilebildiği gibi idrar, kan ve yaralardan da izole edildiği bildirilmiştir (Brenner ve ark., 1993 ve 1999).

Bisgaard (1995) 7 haftalık yaşta salpingitisli iki genç ördekte *C. freundii* izole ettiğini bildirmiştir. Chang (2000) yumurta kabuğu yoluyla infeksiyon oluşturabilecek kabuk kontaminatlarını saptamak amacı ile yaptığı çalışmada izole ettiği etkenlerden birinin de *C. freundii* olduğunu bildirmiştir. Özellikle yumurtadan yeni çıkan hayvanlarda fırsatçı patojenlerin önemini vurgulamıştır. Soumet ve

ark. (1999) çalışmalarında broyler kümeslerinin çeşitli kısımlarından (duvar, havalandırma sistemleri, yemlikler, giriş kapısının eşiği, çevredeki tozlar) alınan svabların izolasyonu sonucu *Salmonella* türlerinin yanısıra *C. freundii*'nin de izole edildiğini bildirmişler, bu izolatların önemini vurgulamışlardır. Haas ve ark. (2005) bir kanatlı kesimhanesinde kesim hattı ve safra kesesi ayırım bölümünde bulunan bakteri kontaminantlarını saptamışlar, saptanan etkenler arasında *C. freundii* izolasyonunu da bildirmişler ve insan sağlığı için bu etkenlerin önemini vurgulamışlardır. Galarneau ve ark (2003) septisemili yavru ve immun sistemi baskılanmış yetişkin toplam iki köpekten saf olarak *C. freundii* izole edildiğini, *C. freundii*'nin özellikle yavru hayvanlarda septiseminin primer nedeni olabileceğini ve ayrıca immun sistemin baskılanması durumunda da bu fırsatçı patojenin asıl etken konumuna geçebileceğini vurgulamışlardır.

Ayrıca *C. freundii*'nin immun sistemi baskılanmış insanlarda ya da yeni doğan bireylerde idrar yolları, solunum sistemi ve gastrointestinal enfeksiyonlara neden olduğu ayrıca septisemi, menenjit ve yaralarda primer etken olarak rol oynadığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Christo ve ark., 1990; Drelichman ve Band, 1985; Kurtoğlu ve ark.; 2011, Saraswathi ve ark., 1995; Shih ve ark., 1996).

Citrobacter türlerinde antibiyotik direncinin diğer nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan bakterilerde olduğu gibi önemli bir sorun olduğu ve izolatların genelde ampicilin ve karbenisilin gibi β -laktamlara karşı dirençli olarak saptandığı bildirilmiştir (Dworkin, 2006).

Hayvanlarda fırsatçı ve sekonder patojen olduğu bilinen ve nadiren enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *C. freundii*'nin bıldırcınlarda izole edildiğine dair bir bildirim rastlanmamıştır. Bu olgu sunumu ile *C. freundii*'e bağlı bıldırcın ölümlerinin tanımlanması amaçlanmıştır.

Olgu

Bir bıldırcın yetiştirme ünitesinde yumurtadan çıktıktan sonra 7-10 gün içinde

belirgin bir klinik bulgu göstermeden ani ölümlerin olması şikayeti ile çok sayıda ölü ve agoni halinde bir bıldırcın İ. Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına getirildi. Klinik muayenede ishal ve bazı bıldırcınların gözlerinde şişkinlikler olduğu görüldü. Getirilen ölü bıldırcınların biri dışında ölme zamanına bağlı olarak diğerlerinde kokuşmanın olduğu belirlendi. Dış bakıda genelde hayvanların gelişmelerinde gerilik ve gözlerinde şişkinlik saptandı. Kokuşmamış olan ölü bıldırcın (gözünde şişkinlik olan) ve laboratuvara geldikten sonra ölen toplam iki bıldırcına nekropsi yapıldı. Nekropside her iki hayvana ait iç organlarda makroskobik olarak herhangi bir bulguya rastlanılmadı. Bakteriyo-lojik yönden inceleme amacı ile bir bıldırcının gözündeki apse içeriğinden steril enjektörle sıvı, nekropsi sonrası iki bıldırcına ait karaciğer örneği ve aynı hayvanlara ait içinde gaz olduğu belirlenen şişkin bağırsaklardan svab yardımı ile dışkı örnekleri alındı. Diğer organlardan çok küçük olmaları nedeniyle örnek alınamadı.

Gözdeki apse sıvısından ve karaciğer örneklerinden %7 defibrine koyun kanı ilave edilmiş Nutrient agara, MacConkey agara ekimler yapıldı. Kanlı agarlar aerob, mikroaerob ve anaerob koşullarda 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı (Quinn ve ark, 2004).

Salmonella spp. yönünden kontrol amacıyla dışkı örnekleri Selenit-F buyyonlara ekildi, aerob koşullarda 37°C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda Selenit-F buyyonlardan MacConkey agarlara pasajlar yapıldı ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi (Quinn ve ark., 2004).

Kültürlerden yapılan Gram boyalı preparatlar incelendi ve izolatların katalaz, oksidaz, MacConkey agarda üreme özelliklerine göre rutin biyokimyasal testler uygulandı (Quinn ve ark., 2004).

İzolatin antibiyotik duyarlılık testi NCCLS'nin önerdiği Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapıldı (NCCLS, 1997). Bu amaçla amoksisilin (10 µg), seftiofur (30 µg), kloramfenikol (30 µg), enrofloksasin (5 µg), eritromisin (15 µg), gentamisin (10 µg), linkomisin (2 µg), neomisin (30 µg), oksitetra-

siklin (30 µg), penisilin (10 Unite), streptomisin (10 µg), sulfametoksazole/trimetoprim (1.25 µg /23.75 µg) ve tetrasiklin (30 µg) içeren antibiyotik diskleri kullanıldı.

Bu olguda bildirginlerin göz apse içeriği ve karaciğerlerinden yapılan ekimlerin 24 saat inkübasyonu sonunda, hem aerob hem de mikroaerob şartlarda kanlı agarlarda hemolizli, MacConkey agarlarda laktoz negatif saf

koloniler saptandı. Her iki besiyerindeki kolonilerden yapılan Gram boyama sonucu Gram negatif çomaklar görüldü. Oksidaz negatif, katalaz pozitif izolatların yapılan biyokimyasal testlerin sonucuna göre *C. freundii* olarak tanımlanmıştır (Tablo 1). *Salmonella* spp. yönünden yapılan incelemeler sonucunda bir üreme saptanmadı.

Tablo 1. İzolatların biyokimyasal özellikleri
Table 1. Biochemical properties of the isolates

	Gram boyama	Gram negatif
	Oksidaz	-
	Katalaz	+
	Hareket	+
	Oksidatif	+
O-F	Fermentatif	+
	Non-sakrolitik	
	O-F dekstroza	Oksidatif
	MacConkey'de üreme	+
	Hemoliz	+
TSIA	Dip	Asit
	Yüzey	Alkali
	H ₂ S	+
	Gaz	+
	Metil Red	+
	İndol	-
	Nitrat	+
	Sitrat	+
	Üreaz	-
	Lizin	-
	Arjinin	+
	Ornitin	-
	Jelatin eritme	+
	Fenilalanin deaminaz	-
	%6,5 NaCl'de üreme	+
	Malonat	-
	Eskülin	-

(-) : Negatif (+): Pozitif

Adonitol	-
Arabinoz	+
Dulcitol	-
Fruktoz	+
Galaktoz	+
Glukoz	+
İnositol	-
İnulin	-
Ksiloz	-
Laktoz	-
Maltoz	+
Mannitol	+
Mannoz	+
Mellibioz	+
Rafinoz	-
Ramnoz	+
Riboz	+
Salisin	-
Sellobioz	+
Sorbitol	+
Sorboz	+
Sukroz	+
Trehaloz	+

Antibiyotik duyarlılık testine göre izolatın kloramfenikol, enrofloksasin, gentamisin, oksitetrasiklin, streptomisin, sulfametoksazole/tri-

metoprim ve tetrasiklin'e duyarlı olduğu saptandı.

Tablo 2. İzolatların antibiyotiklere duyarlılık sonuçları
Table 2. Antibiotic susceptibilities of the isolates

Antimikrobiyal ajan	S	I	R	Antimikrobiyal ajan	S	I	R
Amoksisilin (10 mcg)			R	Neomisin (30 mcg),		I	
Seftiofur (30 mcg)			R	Oksitetrasiklin (30 mcg)	S		
Kloramfenikol(30 mcg)	S			Penisilin (10 mcg)			R
Enrofloksasin (5 mcg)	S			Streptomisin (10 mcg)	S		
Eritromisin (15 mcg),			R	Sulfametoksazol/ trimetoprim (25 mcg)	S		
Gentamisin (10 mcg),	S			Tetrasiklin (30 mcg)	S		
Linkomisin (2 mcg)			R				

S: Duyarlı; I: Orta Duyarlı; R: Dirençli

Tartışma ve Sonuç

Veteriner hekimlikte *Citrobacter* türlerinin sığırlarda mastit, abort ve diarede; domuzlarda agalaksiya ve diarede; koyun ve keçilerde diarede; kurbağa, sürüngenler ve balıklarda çeşitli hastalıklarla ilgili durumlarda izole edildiği ayrıca kaplumbağalarda septisemik kutanöz ülseratif hastalığının etkenlerinden biri olduğu belirtilmektedir (Dworkin, 2006; Euzéby, 2000; Garrity, 2005).

C. freundii'nin doğada bulunan, fırsatçı bir patojen olduğu; su, lağım suyu ve topraktan izole edilebildiği gibi idrar, kan ve yaralardan da izole edildiği bildirilmiştir (Brenner ve ark., 1993 ve 1999). Yapılan çalışmalarda kanatlı hayvanların iç organ, karkas, yumurta kabuğu, kümes ve kesimhanelerinden diğer izole edilen etkenlerin yanısıra *C. freundii*'nin de izole edildiği bildirilmiştir (Anca ve ark., 2007; Chang, 2000; Haas ve ark., 2005; Rosario ve ark., 2004). Rosario ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada döllenmiş yumurtalar, yuva altı talaş örnekleri, döllenmiş 19-21 günlük kuluçkadaki yumurtalardan ve 1-7 günlükken ölen civcivlerin karaciğer ve yumurta keselerinden yapılan ekimlerde, düşük oranda olmakla birlikte *C. freundii* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Önceki çalışmalarda kuluçkadaki yumurtalardan, kuluçka makinesinden ve yumurta kabuğundan yapılan izolasyonlar, bu olguda da infeksiyon kaynağının bu şekildeki bir kontaminasyondan kaynaklanabileceği görüşünü düşündürmektedir.

Galarneau ve ark. (2003), *C. freundii*'nin özellikle yavru hayvanlarda septiseminin

primer nedeni olabileceğini ve ayrıca immün sistemin baskılanması durumunda da yetişkinlerde bu fırsatçı patojenin asıl etken konumuna geçebileceğini vurgulamışlardır. Bu olguda 7-10 günlük genç bıldırcınlarda *C. freundii*'nin organlara yayılarak ölümlere neden olduğu belirlenmiştir.

Anca ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada; kümes hayvanları (karaciğer, dalak, sindirim sistemi), köpek (karaciğer, dalak, sindirim sistemi, vajinal akıntı) ve yılanlardan (karaciğer, akciğer, sindirim sistemi) izole edilen *Citrobacter* türlerinin antibiyotik duyarlılıklarını saptamışlardır. Çalışma sonucunda ampisilin, streptomisin, gentamisin, kolistin, tetrasiklin ve sulfametoksazol/trime-toprim %100 dirençli amoksisilin %50 dirençli %50 orta duyarlı, sefalosporinler, neomisin, spektinomisin ve flumequin %50 dirençli %50 duyarlı, kanamisin %100 orta duyarlı, olarak saptadığını bildirmiştir. Bu olguda da bıldırcınlardan karaciğerlerinden, göz apsesinden ve dışkılarından izole edilen izolatların antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda, seftiofur ve amoksisilin'e dirençli oldukları gözlemlendi. Buna karşın, dirençli olarak saptanan gentamisin, oksitetrasiklin, streptomisin, sulfametoksazole/trimetoprim ve tetrasiklin antibiyotikleri bu olguda duyarlı olarak saptandı. Bu durum bakteriyolojik incelemeler sonucu izole edilen etkenlerin, hayvanların yetiştiriliş şekillerine işletmelerde uygulanan antibiyotik kullanımı protokollerine göre antibiyotik duyarlılık profillerinin farklılık gösterebileceği ve bu nedenle her izolasyonu takiben antibiyotik

duyarlılık testlerinin de yapılması gerekliliğini tekrar göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Anca, M., Răpunțean, G.H., Oros, N.A., Cernea, M., Chereji, R. 2007.** The antibiotic resistance phenomenon in *Citrobacter* strains isolated from animals. Bulletin USAMV-CN 64 (1-2), 174-177.
- Bisgaard, M. 1995.** Salpingitis in web-footed birds: Prevalence, aetiology and significance. Avian Pathology 24 (3), 443-452.
- Brenner, D.J., Grimont, P.A.D., Steigerwalt, A.G., Ranning, G. R., Ageron, E., Riddle, C.F. 1993.** Classification of *Citrobacter* by DNA hybridization: Designation of *Citrobacter famzeri* sp. nov., *Citrobacter youngae* sp. nov., *Citrobacter braakii* sp. nov., *Citrobacter werkmanii* sp. nov., *Citrobacter sedlakii* sp. nov., and three unnamed *Citrobacter* genomospecies. International Journal of Systematic Bacteriology 43 (4), 645-658.
- Brenner, D.J., O'hara, C.M., Grimont, P.A.D., Janda, J.M., Falsen, E., Aldova, E., Ageron, E., Schindler, J., Abbott, S.L., Steigerwalt, A.G. 1999.** Biochemical identification of *Citrobacter* species defined by DNA hybridization and description of *Citrobacter gillenii* sp. Nov. (formerly *Citrobacter* genomospecies 10) and *Citrobacter murlinae* sp. Nov. (formerly *Citrobacter* genomospecies 11). Journal of Clinic Microbiology 37 (8), 2619-2624.
- Chang, Y.H. 2000.** Prevalence of *Salmonella* spp. in poultry broilers and shell eggs in Korea. Journal of Food Protection 63 (5), 655-658.
- Christo, G.G., Mathai, J., Nalini, B., Baliga, M., Venkatesh, A. 1990.** Neonatal *Citrobacter* sepsis: Clinical and epidemiological aspects. Indian Journal of Pediatrics 57 (6), 781-784.
- Drelichman, V., Band, J.D. 1985.** Bacteremias due to *Citrobacter diversus* and *Citrobacter freundii*: incidence, risk factors, and clinical outcome. Archives of Internal Medicine 145, 1808-1810.
- Dworkin, M. 2006.** The Prokaryotes. 3th edition. Minnesota, Springer, pp 90-99.
- Euzéby, J.P., 2000.** Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. *Citrobacter*: <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/cc/citrobacter.html> (Erişim 15.02.2011).
- Galarneau, J-R., Fortin, M., Lapointe, J-M., Girard, C. 2003.** *Citrobacter freundii* septicemia in two dogs. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 15, 297-299.
- Garrity, G.M. 2005.** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd Edition Vol 2. New York, Springer, pp. 651-656.
- Haas, D., Posch, J., Schmidt, S., Wüst, G., Sixl, W., Feierl, G., Marth, E., Reinthaler, F.F., 2005.** A case study of airborne culturable microorganisms in a poultry slaughterhouse in Styria, Austria. Aerobiologia 21, 193-201.
- Kurtoğlu, M.G., Opus, A., Özdemir, M., Baysal, B. 2011.** Isolation of *Citrobacter* in various infections and their antimicrobial sensitivity rates. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 17 (Suppl A), S99-104.
- NCCLS, 1997.** National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, 6th ed. Approved Standard, NCCLS Document M2-A6 NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087.
- Quinn, P.J., Carter, M.E, Markey, B.K., Carter, G.R. 2004.** Clinical Veterinary Microbiology. Mosby Ltd, Spain.
- Rosario, C. C., Isaiás, G.T., Cuello, C. L., Flores, J.M.L., Anderson, R.C., Campos, C.E., 2004.** Bacterial isolation rate from fertile eggs with yolk sac infection. Revista Latinoamericana de Microbiologia 46 (1-2), 12-16.
- Saraswathi, K., De, A., Gogate, A., Fernandes, A.R. 1995.** *Citrobacter* sepsis in infants. Indian Pediatrics 32, 359-362.
- Shih, C-C., Chen, Y-C., Chang, S-C., Luh, K-T., Hsieh, W-C. 1996.** Bacteremia due to *Citrobacter* species: Significance of primary intraabdominal infection. Clinical Infectious Diseases 23, 543-549.
- Songer, J.G., Post, K.W. 2005.** Veterinary Microbiology Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease. Elsevier Mosby Saunders, China.
- Soumet, C., Ermel, G., Rose, V., Rose, N., Drouin, P., Salvat, G., Collin, P., 1999.** Identification by a multiplex PCR-based assay of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* strains from environmental swabs of poultry houses. Letters in Applied Microbiology 29, 1-6.