

# Tavuklardan izole edilen *E.coli*, klebsiella ve enterokoklarda antibiotik duyarlılık durumları

Selçuk Kaya\*, Emel Sesli Çetin\*, Salih Arıkan\*, Tülay Tetik\*,  
Hasan Kesbiç\*, Sulhattin Yaşar\*\*

\*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji<sup>1</sup>, Isparta

\*\*Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni<sup>2</sup> Anabilim Dalı, Isparta

## Özet

İnsanlarda olduğu kadar hayvanlarda da hem infeksiyonlarda tedavi hem de büyümeyi desteklemesi amacıyla antimikrobiyal ajanların kullanımının artışı sonucu ortaya çıkan dirençli genler, antibiyotik dirençli suşların seçilmesine neden olmuştur. Tavuk intestinal sisteminde bulunan dirençli bakterilerin yakın temas sonucu çiftlik çalışanlarına bulaşabileceği gibi hayvanların dokuları ile kesim sırasında direk temasla ve et ve et ürünlerini kontamine ederek, besin yoluyla da bulaşabileceği bildirilmektedir. Bu çalışmada tavukların intestinal florasındaki *E.coli*, klebsiella ve enterokokların antibiyotik duyarlılık durumlarının belirlenmesi amaçlandı. Çalışmaya 3 aylık 80 adet tavuk dahil edildi. Tavukların çekum içeriğinden alınan numuneler Kanlı-EMB ve enterokokal besiyerlerine ekildi. *E.coli*, klebsiella ve enterokok olarak tanımlanan bakterilere CLSI kriterlerine uygun olarak antibiyogram yapıldı. Tavuk intestinal sisteminden identifiye edilen 80 *E. coli* ve klebsiella suşlarında genişlemiş spektrumlu betalaktamaz tespit edilmemiş ve bazı antibiyotikler için duyarlılık oranları tabloda verilmiştir. Enterokoklarda penisilin direnci sadece bir suшта varken vankomisin ve teikoplanine direnç tespit edilmemiş, %17,5'inde yüksek düzey aminoglikozid direncine rastlanmıştır. Sonuç olarak tavukların intestinal florasındaki *E.coli*, klebsiella ve enterokoklarda bölgemiz açısından değerlendirildiğinde şimdilik antimikrobiyal direnç probleminin söz konusu olmadığını söyleyebiliriz.

**Anahtar kelimeler:** *E. Coli*, Klebsiella, Enterokok, tavuk, antibiyotik direnci

## Abstract

### The antimicrobial susceptibility patterns of *E.coli*, klebsiella and enterococcus species isolated from chickens

Antimicrobial use, both in humans for therapeutic purposes and in animals for treatment and control of infections and for growth promotion can select resistant genes and lead to the emergence of antibiotic-resistant strains. Antibiotic-resistant strains of chicken intestinal system can spread to farmers by close contact with animals, direct contact with animals' tissues during slaughtering, or by ingestion of contaminated meats and meat products. The aim of this study was to determine antimicrobial susceptibility patterns of *E.coli*, klebsiella and enterococcus species isolated from intestinal flora of chickens. Three months old 80 chickens were included in the study. The specimens obtained from chickens' caecum were inoculated on to 5% sheep blood agar, Eosine Methylen Blue agar and enterococcal agar. The antibiotic susceptibility tests of *E.coli*, klebsiella and enterococcus species were performed according to CLSI criteria.

None of the 80 *E.coli* and klebsiella species isolated from chicken intestinal system showed extended spectrum beta lactamase activity. Antimicrobial susceptibility rates of these isolates to some antimicrobials are given on table 1. Penicilline resistance was detected in only one of the 80 enterococcus species, none of them showed resistance to vancomycin or teicoplanin and 17,5% of them were detected as resistant to high level aminoglycosides. In conclusion, we can say that there is no antimicrobial resistance problem in the intestinal *E.coli*, klebsiella and enterococcus isolates of chickens for our region at the present time.

**Key words:** *E. Coli*, klebsiella, enterococcus, chicken, antibiotic resistance

## Giriş

*Escherichia coli*, klebsiella ve enterokoklar toplumda birçok sistemi tutabilen ve ciddi hastalıklara neden olabilen infeksiyöz ajanlardır. Bu bakterilere karşı giderek artan oranda gözlenen antibiyotik direnci

**Yazışma Adresi:** Selçuk Kaya  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,  
İSPARTA  
Tel: (0246) 211 20 81  
e-posta: selcuk@med.sdu.edu.tr

tedavilerinde karşılaşılan önemli bir sorundur (1-4). Son yıllarda hayvanlardan insanlara bulaşan infeksiyon ajanlarında antimikrobiyal ajanlara gittikçe artan direnç gözlenmeye başlanmıştır. Hayvanlarda hem büyümeyi desteklemesi amacıyla, hem de insanlarda olduğu gibi infeksiyonların tedavisinde antimikrobiyal ajanların kullanımının artışı söz konusudur. Bunun sonucunda ortaya çıkan dirençli genler, antibiyotik dirençli suşların seçilmesine neden olmuştur (5,6). Bu hayvanlardan alınan patojenler ile oluşan infeksiyonlar da tedaviye oldukça dirençli ve tehlikeli hal almıştır. Hayvanlarda avoparcin kullanımı ile hayvan ve bunu tüketen insanların intestinal sisteminde vankomisin rezistan enterokok (VRE) görülmesinin ilişkili olabileceği düşünülmektedir (7,8).

Bu çalışmada tavukların intestinal florasındaki *E.coli*, klebsiella ve enterokokların antibiotik direnç profillerinin tespit edilmesi amaçlandı.

### Gereç ve Yöntem

Çalışmaya 3 aylık ve ortalama 2500 gram ağırlığında olan 80 adet tavuk dahil edildi. Tavuklar Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootehni laboratuvarında kesildikten sonra çekum içeriğinden 5 gramlık numuneler alınarak; steril tüplerdeki 5 mililitre serum fizyolojik içerisine konuldu. Hızlı bir şekilde Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılan numuneler önceden hazırlanan %5 koyun kanlı, Eosine Methylen Blue (EMB) ve enterokokal agar besiyerlerine ekildi. Steril serum fizyolojik içindeki gaita örneklerinden 100'er mikrolitre alındı, besiyerlerine uygun koşullarda ekilip 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra petriyeler üreme açısından değerlendirildi.

Kanlı-EMB besiyerinde üremiş olan mikroorganizmalar öncelikle makroskopik olarak ve Gram boyama ile incelenmiştir. Ardından konvansiyonel yöntemlerle (oksidaz, indol, metil red, voges prousskover, citrat, üre, üç şekerli demirli besiyeri, lizinli demirli agar besiyeri, hareket besiyeri) değerlendirilip gerekli durumlarda API kitleri (API ID 32 E, BioMerieux, France) ile identifikasyonları yapılmıştır. Enterokokal besiyerlerinde üreyen bakteriler ise Gram boyama, katalaz, eskülin hidrolizi ve % 6.5 NaCl'lü ortamda üreme gibi konvansiyonel testlerle tanımlandı. *E.coli*, klebsiella ve enterokok olduğu teyit edilen bakterilere Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) kriterlerine uygun olarak antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı (9).

### Bulgular

Tavuk intestinal sisteminden identifiye edilen 80 *E.coli*, ve klebsiella suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz aktivitesi tespit edilmedi. Bazı antibiyotikler için duyarlılık oranları ise Tablo 1'de verilmiştir. Enterokoklarda penisilin direnci sadece bir suşta tespit edildi vankomisin ve teikoplanine direnç tespit edilemedi. Seksen enterokok suşunun; streptomisine 52 (%65)'si, tetrasikline 44 (%55)'ü, eritromisine 36 (%45)'sı, klindamisine 31 (%39)'i, kloramfenikol ve siprofloksasine 7 (%9)'si dirençli tespit edildi. Ondört (%17.5) enterokok suşunda ise yüksek düzey aminoglikozit direnci tespit edildi.

Tablo 1: *E.coli*, ve Klebsiella suşlarında bazı antibiyotikler için duyarlılık oranları (%)

	AZT	AMC	CAZ	CRO	IMP	NET	GE	TOB	SXT
<i>E. coli</i>	89	55	96	93	97	94	82	95	60
Klebsiella	92	64	92	97	100	96	87	100	41

### Tartışma

Besi hayvanları için antimikrobiyal ajanların kullanımı hayvanlar için patojenik olan bakteriler arasında direncin seleksiyonu ile hayvanlardaki infeksiyonların tedavisinde problemlere neden olabilmektedir. Bu zoonotik bakterilerde direnç gelişimi primer olarak tedavi başarısızlığı ile giden bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır (3,5). İnsanlarda olduğu gibi hayvanlarda da antibiyotiklerin kullanımı sadece patojenik bakterilerde direnç artmasına yol açmaz ayrıca bunların endojen floralarına da dirençli suşların yerleşmesine neden olur. Hayvanlardaki bu dirençli zoonotik veya flora bakterileri insanlara sadece direkt yolla bulaşmaz, ayrıca hayvansal besin maddeleri ile de bulaşabilir. Bu suşların insanlara bulaşması sonucu olabilecek enfeksiyonlarda tedavi oldukça güçleşecektir. Tavukların besin olarak tüketiminin iç organları çıkartılarak ve pişirilerek olması ve gastrointestinal florasındaki bakterilerin çoğunun mide asitlerine duyarlı olması nedeniyle, tavuklardan bu flora bakterilerinin insanlara besin yoluyla bulaşması sınırlanıyor gibi gözükmektedir. Ancak hayvan üretim yerleri ve çiftliklerde çalışan kişilerde yapılan çalışmalar hayvan kaynaklı suşların bu kişilerin gerek floralarında gerekse infeksiyon etkenleri arasından izole edildiğini göstermiştir (3). Örneğin bir çalışmada, VRE'lar kanalizasyon sistemlerinde, hayvansal ürünlerde, çiftlik hayvanlarının gaitasında ve ek olarak yüzeyel sularda izole edildiği rapor edilmiştir. Ayrıca, çalışmanın

yapıldığı yakın zamanda hiç hastaneye gitmemiş ve antibiyotik kullanmamış sağlıklı asemptomatik kişilerin gaita kültürlerinde VRE izole edildiği bildirilmiştir (10). Bir çok araştırmacı *Salmonella* spp., *E. coli*, *Campylobacter* spp. ve *Yersinia* spp. gibi bakterilerin hayvanlardan insanlara transferi sonrası besin kaynaklı infeksiyonlar yaptıklarını vurgulamışlardır (11-15). İnsanlar infekte hayvan veya hayvan gaitasının direk teması ile hayvanlardan aldıkları bakterilerle infekte olabilmektedirler. Fakat insanlar için önemli diğer bir infeksiyon kaynağı ise hayvan kaynaklı besin maddeleridir. Özellikle asemptomatik *Salmonella* infeksiyon ve taşıyıcılığı hayvan çiftliklerindeki besin hayvanlarında siktir. Bu hayvanların intestinal sistemindeki *Salmonella* ve diğer bakteriler kesim sırasında et ve et ürünlerini kontamine edebilir ve infekte et ve yumurta gibi ürünler bakterileri insanlara bulaştırabilir. Her bulaşma hastalık oluşturmaz ancak dirençli suşların insanlara yayılmasına aracılık edebilir.

Hayvanlardan izole edilen *E.coli*, klebsiella ve enterokoklar antibiyotiklere gittikçe artan oranda direnç geliştirmeye başlamışlardır (5). Oklahoma'da tavuk ve hindilerde yapılan bir çalışmada, en fazla *K.pneumonia* olmak üzere çoklu ilaç dirençli enterobacteriaceae ailesi üyeleri tespit edilmiştir. Tüm izolatlar ampisilin, tetrasiklin, streptomisin, gentamisin, ve kanamisin dirençli bulunmuştur. *E. coli*'ye de bu direnç genlerini transkonjugasyon ile aktardığı tespit edilmiştir. Hayvanların tüylerinden yemeklerinden ve su içtikleri yerlerde de yine bu dirençli bakterilere rastlandığı bildirilmiştir (2). Veterinerlikte kullanılan aminoglikozit antibiyotik apramisine Fransa ve İngiltere'de *E. coli* izolatlarında direnç geliştiği bildirilmiştir (15-18). İnsanlarda kullanılmayan bu antibiyotiğe direnç taşıyan gen gentamisine de direnç oluşturmaktadır. Bu apramisin direnç geni sonra insan klinik örneklerinde *E. coli*, *Salmonella enterica* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında gösterilmiştir. İsveç ve Hollanda'da domuzların fekal floralarında yapılan bir çalışmada da, *E. coli*'de sırasıyla amoksisiline %51-%85, tetrasikline %69-%93, kloramfenikole %3-%63, trimetoprim %46-%85, gentamisine %0-%2 ve siprofloksasine %0-%1 oranında direnç saptanmıştır. Bates ve ark., (19) Klare ve ark. (20) ve Aarestrup (8) VRE'ü kümes hayvanlarından ve hayvansal kaynaklı gıdalardan izole etmişlerdir. Üç ayrı araştırma bulgularının sonuçları hayvan gıdalarında kullanılan glikopeptid antibiyotik olan avoparsin kullanımının bu duruma neden olduğunu ortaya koymaktadır.

Avrupa'da Amerika'daki durumun tersine vankomisin dirençli enterokoklara hastaneden daha çok hospitalize edilmemiş çiftçilerde ve çiftlik hayvanlarında rastlanmaktadır. İnsan kaynaklı vankomisin dirençli enterokokların çevresel kaynaklı; diğer bir deyişle hayvansal ürünlerden kaynaklanan vankomisin dirençli enterokoklardan ayırımı kolay yapılamamaktadır. VRE çiftlik ve ev hayvanlarında yaygın olarak bulunmasına rağmen, hastanelerde hala daha az sıklıkta VRE görülmesi, avoparsin kullanımının VRE seleksiyonuna katkı sağladığı şüphesini güçlendirmektedir. Nisan 1997den itibaren Avrupa'da avoparsin kullanımının yasaklanmasından sonra insan, hayvan ve et ürünlerinde yapılan çalışmalarda VRE prevalansının azaldığı bildirilmiştir (21-24). Bizim çalışmamızda da VRE suşuna rastlanmamış olması bu verilerle uyumlu bulunmuştur. Hollanda'da insan ve hayvanların fekal floralarında yapılan bir çalışmada, enterokoklarda vankomisin ve eritromisin dirençleri sırasıyla tavuklarda %80-94, şehir sakinlerinde %12-50, yatan hastalarda %3-0 ve ayaktan hastalarda %8-0 olarak bulunmuştur (3). Hayvanları geliştirmek amacıyla virginiamicin ve tylosin gibi antibiyotiklerin kullanımı ile enterokoklarda eritromisin ve quinupristin-dalfopristin gibi makrolid linkomisin streptogramin (MLS) antibiyotiklere karşı direnç oldukça artmıştır (25,26). Danimarka'da tavuklardan izole edilen enterokoklarda vankomisine %56, eritromisine %59 ve quinupristin-dalfopristine %37 direnç bildirilmiştir. Tylosinin kullanılmadığı Finlandiya'da enterokoklarda eritromisin direnci %9 olarak bildirilmektedir (3). Bizim çalışmamızda ise, enterokoklarda eritromisin direnci önceki verilere kıyasla düşük görünmekle birlikte, %45 direnç oranının çok da düşük olmadığı unutulmamalıdır.

Sonuç olarak tavukların intestinal florasından elde edilen *E. Coli* ve klebsiellalarda genişlemiş spektrumlu beta laktamaz aktivitesine rastlanmamış olması, enterokoklarda vankomisin ve teikoplanin direncinin tespit edilmemesi ve izole edilmiş olan bakterilerin antimikrobiyallere direnç oranlarının önceki yıllardaki verilerle karşılaştırıldığında nispeten düşük olması şimdilik bölgemiz açısından bir direnç problemi bulunmadığını göstermektedir.

### **Bilgi**

Bu çalışma TÜBİTAK VHAG-2062 nolu münferit proje ile desteklenmiştir.

**Kaynaklar**

1. Chaslus-Dancla E, Lafont JP, Guillot JF. Inc groups among plasmids harbored by *Escherichia coli* of avian origin. *Ann Microbiol (Paris)* 1980; 131(2):203-6.
2. Kim SH, Wei CI, Tzou YM, An H. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from farm environments and retail products in Oklahoma. *J Food Prot.* 2005;68(10):2022-9.
3. Van den Bogaard AE, Stobberingh EE. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. *Int. J Antimic Agent* 2000;14(4):327-335.
4. Witte W. Selective pressure by antibiotic use in livestock. *Int. J Antimic Agent* 2001;16(1):19-24.
5. S.B. Levy, G.B. Fitzgerald and A.B. Macone. Spread to antibiotic resistance plasmids from chicken to chicken and from chicken to man. *Nature* 1976; 260:40-2.
6. A.H. Linton, K. Howe, P.M. Bennet and M.H. Richmond, The colonization of the human gut by antibiotic-resistant *Escherichia coli* from chickens. *J. Appl. Bacteriol.* 1977;43: 465-9.
7. M. Arthur and P. Courvalin. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993; 37:1563-71.
8. Aarestrup FM. Occurrence of glycopeptide resistance among *Enterococcus faecium* isolates from conventional and ecological poultry farms. *Microb Drug Resist.* 1995;1(3):255-7.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Antimikrobik Duyarlılık testleri için uygulama standartları; Onbeşinci bilgi eki. Çeviri editörü: Deniz Gür. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını. Ankara (Ocak 2005).
10. Schwartz T, Kohnen W, Jansen B, Obst U. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. *FEMS Microbiology Ecology* 2003;43: 325-35.
11. McDonald LC, Kuehnert MJ, Tenover FC, et al. Vancomycin-resistant enterococci outside the health-care setting: prevalence, sources, and public health implications. *Emerg. Infect. Dis.* 1997;3: 311-7.
12. Bezanson GS, Khakhria R and Bollegraaf E. Nosocomial outbreak caused by antibiotic-resistant strain of *Salmonella typhimurium* acquired from dairy cattle. *Can. Med. Assoc. J.* 1983;128:426-7.
13. Holmberg SD, Osterholm MT, Senger KA, et al. Drug resistant *Salmonella* from animals fed antimicrobials. *New Engl. J. Med.* 1984;311: 617-22.
14. Spika JS, Waterman SH, Hoo GW et al. Chloramphenicol-resistant *Salmonella newport* traced through hamburger to dairy farms. A major persisting source of human salmonellosis in California. *New Engl. J. Med.* 1987;316 (10):565-70.
15. Van den Bogaard AE, London N, Driessen C, et al. Fluoroquinolone usage in animals and resistance in human faecal *E. coli*. *Proceedings of the 37th ICAAC Conference.* Toronto, 1997, C-137
16. Nijsten R, London N, van den Bogaard A, et al. Resistance in faecal *Escherichia coli* isolated from pig farmers and abattoir workers. *Epidemiol. Infect.* 1994;113:45-52.
17. Nijsten R, London N, van den Bogaard A, et al. Antibiotic resistance among *Escherichia coli* isolated from faecal samples of pig farmers and pigs. *J. Antimicrob. Chemother.* 1996; 37:1131-40.
18. Chaslus-Dancla E and Lafont JP. Resistance to gentamicin and apramycin in *Escherichia coli* from calves in France. *Vet Rec* 1985;117:90-1.
19. Bates J, Jordens JZ and Griffiths DT. Farm animals as a putative reservoir for vancomycin-resistant enterococcal infection in man. *J. Antimicrob. Chemother* 1994; 34: 507-16.
20. Klare I., Heier H, Claus H, Reissbrodt R and Witte W. vanA-mediated high-level glycopeptide resistance in *Enterococcus faecium* from animal husbandry. *FEMS Microbiol. Lett.* 1995;125: 165-72.
21. Kaukas A, Hinton M and Linton AH. The effect of growth-promoting antibiotics on the faecal enterococci of healthy young chickens. *J. Appl. Bacteriol* 1988; 64: 57-64.
22. Kruse H, Johansen BK, Rorvik LM, Schaller G. The use of avoparcin as a growth promoter and the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus* species in Norwegian poultry and swine production. *Microb Drug Resist.* 1999;5(2):135-9.
23. Aarestrup FM, Kruse H, Tast E, Hammerum AM, Jensen LB. Associations between the use of antimicrobial agents for growth promotion and the occurrence of resistance among *Enterococcus faecium* from broilers and pigs in Denmark, Finland, and Norway. *Microb Drug Resist.* 2000;6(1):63-70.
24. Borgen K, Sorum M, Wasteson Y, Kruse H. VanA-type vancomycin-resistant enterococci (VRE) remain prevalent in poultry carcasses 3 years after avoparcin was banned. *Int J Food Microbiol.* 2001;64(1-2):89-94.
25. Tast E. editor. Tylosin and spiramycin as feed additives, influence on the efficacy of therapeutic macrolides. Report of the Ministry of Agriculture and Forestry of Finland. *Julkaisu*, 1997.
26. Bager F, Madsen M, Christensen J and Aarestrup FM. Avoparcin used as a growth promoter is associated with the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. *Preventive Veterinary Medicine* 1997;31: 95-112.