



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**ANADOLU MANDASI DIŞKILARINDAN ENTEREKOK
TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİK
DİRENÇLİLİĞİNİN TESPİTİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sezen AK

**Samsun
Temmuz-2017**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**ANADOLU MANDASI DIŞKILARINDAN ENTEREKOK
TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİK
DİRENÇLİLİĞİNİN TESPİTİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sezen AK

**Danışman
Prof.Dr. Timur GÜLHAN**

**Samsun
Temmuz-2017**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sezen AK tarafından Prof. Dr. Timur GÜLHAN Danışmanlığında hazırlanan “Anadolu Mandası Dışkılarından Enterekok Türlerinin İzolasyonu ve Antibiyotik Dirençliliklerin Tespiti” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 11/07/2017 tarihinde yapılan sınav ile Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Timur GÜLHAN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veterinerlik Mikrobiyolojisi ABD

Üye : Doç. Dr. Alper ÇİFTÇİ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veterinerlik Mikrobiyolojisi ABD

Üye : Doç. Dr. Serap SAVAŞAN
Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veterinerlik Mikrobiyolojisi ABD

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

..../.../2017

Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince her zaman bilgi ve desteğiyle yanımda olan, çalışmalarımdayı beni yönlendiren, motive eden başta danışman hocam Prof. Dr. Timur GÜLHAN'a, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyeleri değerli hocalarıım Doç. Dr. Arzu FINDIK, Doç. Dr. Alper ÇİFTCİ, Prof. Dr. Oktay GENÇ ve Doç. Dr. Özlem BÜYÜKTANIR YAŞ'a, ekonomik katkıları nedeniyle Ondokuz Mayıs Üniversitesi'ne, yüksek lisans eğitim sürecinde her türlü desteğini eksik etmeyen Bafra Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürü Sayın Ahmet DURSUN'a, laboratuvar çalışmalarımdayı önemli katkıları olan değerli meslektaşlarıım Veteriner Hekim Çağatay NUHAY, Veteriner Hekim Mehmet Onur GÖKDAĞ ve Veteriner Hekim Yağmur KOÇAK'a teşekkür ederim.

Çalışmalarıım sırasında her zaman yanımda olan ve desteğini esirgemeyen sevgili eşim Ferhat AK'a ve tüm eğitim hayatım boyunca maddi, manevi destekleriyle yanımda olduklarıını hissettiren sevgili annem Hye-ran BAYSAN'a ve sevgili babam H. Okan BAYSAN'a yürekten sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, PYO.VET.1904.14.006 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

ANADOLU MANDASI DIŞKILARINDAN ENTEROKOK TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİNİN TESPİTİ

Amaç: Enterokoklar normal sindirim sistemi florasında bulunmakla birlikte, özellikle *Enterococcus faecalis* ve *E. faecium* gibi türlerin, insan ve çok sayıda hayvan türünde bazı önemli enfeksiyonlara yol açtıkları belirlenmiştir. Mandaların diğer hayvanlarda olduğu gibi bazı hastalıkların duyarlı hayvan popülasyonlarına ve insanlara bulaştırılmasında rol oynadıkları ortaya konulmuştur.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada Samsun ili ve ilçelerinde yetiştiriciliği yapılan Anadolu Mandalarına ait 1000 dışkı örneği Enterokok türleri yönünden incelendi. Örneklerden Enterokok türlerinin izolasyonu için selektif zenginleştirme standart kültürel metodu kullanıldı.

Bulgular: Dışkı örneklerinin 100'ünden (%10) *E. faecalis*, 92'sinden (%9,2) *E. faecium*, 48'inden (%4,8) *E. hirae* ve 32'sinden (%3,2) da *E. durans* olmak üzere, toplam 272 (%27,2) Enterokok izole ve identifiye edildi. İzole edilen suşlar vankomisin ve teikoplanine %2,9, trimetofrin-sülfamethaksole %3,7, ampisiline %5,1, penisiline %7,4, sefoperazone %8,8, basitrasine %15,4, streptomisine %19,9, amikasin ve gentamisine %20,6, tetrasikline %26,5 ve eritromisine %33,8 oranında dirençli bulundu.

Sonuç: İzole edilen 272 Enterokok suşunun 126'sında (%46,3) iki ve daha fazla antibiyotiğe direnç tespit edilmesi, çoğul antibiyotik dirençliliği açısından önemli olarak değerlendirildi. Bu araştırma ile bölgemizde ilk kez Anadolu Mandalarından sağlanan dışkı örnekleri Enterokok türleri açısından incelendi. Yüksek lisans tez çalışması olarak yürütülen araştırmadan elde edilen verilerin, yöremizde yapılacak benzer çalışmalara kaynak teşkil edebileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci; Anadolu mandası; Dışkı; Enterokok

Sezen AK, Yüksek Lisans Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Temmuz-2017

ABSTRACT

ISOLATION OF ENTEROCOCCI SPECIES FROM ANATOLIAN BUFFALOES AND DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCES

Aim: Although enterococci found in the normal gastrointestinal flora, especially species such as *Enterococcus faecalis* and *E. faecium*, led to some important infections in people and a large number of animals. Buffaloes as in other animals have been demonstrated to play a role in certain diseases transmitted to susceptible animals and human populations.

Material and Method: In this study, 1000 fecal samples collected from Anatolian Buffaloes in breeding Samsun and around were examined for *Enterococcus* species. Selective enrichment standard cultural methods were used for isolation of *Enterococcus* species from samples.

Results: In total 272 (27.2%) *Enterococcus* including 100 (10%) *E. faecalis*, 92 (9.2%) *E. faecium*, 48 (4.8%) *E. hirae* and 32 (3.2%) *E. durans* were isolated and identified from fecal samples. The isolated strains were found to be resistance to vancomycin and teicoplanin 2.9%, trimethoprim+sulfamethoxazole 3.7%, ampicillin 5.1%, penicillin 7.4%, cefoperazone 8.8%, bacitracin 15.4%, streptomycin 19.9%, amicasin and gentamicin 20.6%, tetracycline 26.5% and erythromycin 33.8%.

Conclusion: Of 272 *Enterococcus* strains in 126 (46.3%) detecting resistance to two or more antibiotics was considered significant in terms of multiple antibiotic resistance. Fecal samples obtained from Anatolian Buffaloes were examined first time in our region respect to *Enterococcus* species. We concluded that the data obtained research carried out at the master thesis study can constitute a resource to similar studies in our region.

Keywords: Anatolian buffaloes; Antibiotic resistance; *enterococci*; feces

Sezen AK, Master Thesis

Ondokuz Mayıs University - Samsun, July-2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADB	: Azide Dextrose Broth
AF	: Agregasyon Faktör
AM	: Ampisilin
AN	: Amikasin
B	: Basitrasin
BE	: Bile Esculine
BEA	: Bile Esculine Agar
BHIB	: Brain Heart İnfusion Broth
CFP	: Sefaperazon
CNA	: Colombia Kolistin Nalidiksik Asit Agar
DNA	: Deoksiribonukleic Acid
E	: Eritromisin
GM	: Gentamisin
gurA	: Giraz
K	: Kanamisin
LAPase	: Leucine Amino Peptidase
LTA	: Lipoteikoik Asit
MHA	: Mueller-Hinton Agar
MİK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyon
MLSB	: Makrolid, Linkozamid ve B tipi Streptogramin

P	: Penisilin
parC	: Topoizomeraz
PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
PEA	: Fenil Etil Alkol Agar
PYR	: Pyrolydonil b-naftilamid
RCR	: Rolling Circle Replicating Plazmid
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asid
S	: Streptomisin
SXT	: Sulfametaksazol-trimetofrin
TE	: Tetrasiklin
TEİ	: Teikoplanin
TSA	: Tryptic Soy Agar
VA	: Vankomisin
VRE	: Vankomisine Dirençli Enterekok

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Enterokokların Genel Özellikleri	2
2.2. Enterokokların Etiyolojik Özellikleri.....	3
2.2.1. Mikroskopik Karakterleri	3
2.2.2. Üreme Özellikleri ve Fizyolojik Karakterleri.....	3
2.2.3. Hücre Duvarı Yapısı ve Antijenik Özellikleri.....	4
2.2.4. Sınıflama ve İdentifikasyon.....	5
2.2.5. Genetik Bilgi Transferi	8
2.2.6. Enterokoklarda Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları.....	9
2.2.7. Enterokok enfeksiyonlarının epidemiyolojisi.....	13
2.3. Mandaların Genel Özellikleri.....	15
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. Dışkı Örnekleri.....	17
3.2. Besiyerleri ve Test Kiti	19
3.3. Antibiyotik Diskleri.....	19
3.4. Dışkı Örneklerinin Toplanması.....	20
3.5. İzolasyon ve İdentifikasyon	20
3.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi (Antibiyogram).....	21
4. BULGULAR	22
4.1. İzolasyon ve İdenfikasyon Sonuçları	22
4.2. Antibiyogram Testi Sonuçları	23
5. TARTIŞMA	26
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	29
7. KAYNAKLAR	30
ÖZGEÇMİŞ	38

1.GİRİŞ

Enterokoklar gıda endüstrisinde starter kültür olarak da kullanılan önemli bir bakteri grubunu oluşturmaktadır (Giraffa, 2003). Enterokok cinsi içerisinde 20'den fazla tür bulunmaktadır. Pek çoğu probiyotik olarak kullanılabilir kadar zararsız bakteriler olmakla birlikte bazıları ciddi hastalıklara neden olabilmektedir (Moreno ve ark., 2006). Enterokok türleri çevresel şartlara dayanıklılığı ile çevresel kontaminant bakterilerin başında gelmektedir. Dışkı ile kontamine çiğ veya az ısıl işlem görmüş gıdaların tüketilmesi sonucu sindirim sistemi enfeksiyonları görülmektedir (Fisher ve Philips, 2009). Ayrıca pek çok Enterokok türü sahip olduğu çeşitli virülens faktörleri ve antibiyotiklere dirençlilik karakterleri açısından insanlardaki hastane enfeksiyonlarının başlıca etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır (Sun ve ark.,2012; Sharifi ve ark., 2013). Enterokoklar normal sindirim sistemi florasında bulunmakla birlikte, özellikle *Enterococcus faecalis* ve *E. faecium* gibi türlerin, insan ve çok sayıda hayvan türünde bazı önemli enfeksiyonlara yol açtıkları ortaya konulmuştur. Bazı Enterokok türlerinin zoonotik öneme sahip olduğu belirlenmiştir (Olsen ve ark. 2012).

Manda (*Bubalus bubalis*), et, süt ve çeki hayvanı olarak dünya çapında, özellikle belirli ülkelerde yaygın olarak, yetiştirilen bir hayvandır. Evcil ve yabani formlardan köken alan mandaların yaklaşık 74 ırkı bulunmaktadır. Bu ırklar kabaca, bataklık ve nehir (ırmak) mandaları olarak ikiye ayrılmaktadır. Bataklık mandaları yük hayvanı olarak kullanılırken, nehir mandaları et ve süt yönlü yetiştirilmektedir. Türkiye'deki mandalar, nehir mandalarının bir alt grubu olan Akdeniz mandalarından köken almakta ve Anadolu mandası olarak isimlendirilmektedir. Dünya çapında son verilere göre yaklaşık 194 milyon manda bulunmaktadır. Ülkemizde 90.000 civarında manda yetiştirildiği, Samsun ilinde ise yaklaşık 18. 000 manda bulunduğu bildirilmektedir (Çetinkaya ve ark., 2012; Gürler, 2012).

Bu çalışma, Samsun ili ve ilçelerinde halk elinde yoğun olarak yetiştiriciliği yapılmakta olan Anadolu Mandalarına ait dışkı örneklerinde Enterokok türlerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirildi. Enterokok türlerinin manda popülasyonlarında sıklığı, yaygınlığı ve dağılımı araştırıldı. İzolatların farklı türden antibiyotik gruplarına olan dirençlilik/duyarlılık özellikleri ortaya konuldu.

2. GENEL BİLGİLER

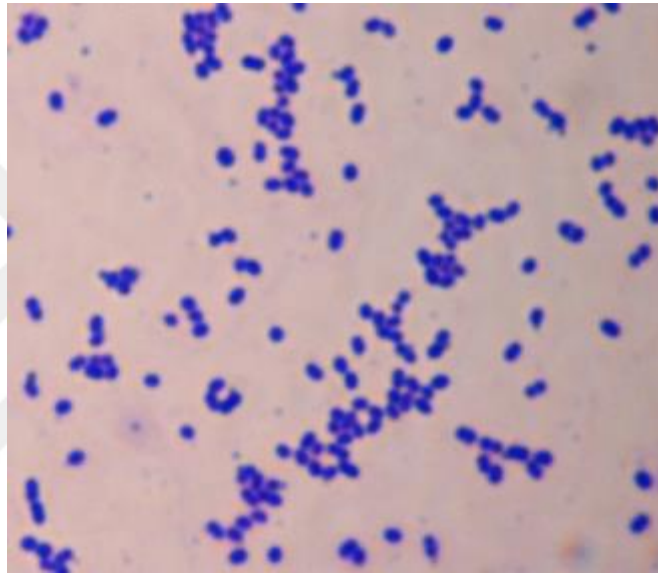
2.1. Enterokokların Genel Özellikleri: Enterokok cinsine ait mikroorganizmalar ilk olarak streptokoklar içerisinde “fekal orijinli streptokoklar” olarak gruplandırılmıştır. Enterokok terimi, ilk kez Thiercelin tarafından Fransa’da yayımlanan bir makalede “insan gaitasında kısa zincirler veya çiftler halinde görülen bakterileri” tanımlamak için kullanılmıştır. pH: 9.6’da, 10-45°C’de ve %6,5 NaCl’lü ortamlarda üreyebilen ve 60°C’de yarım saat canlılığını sürdürebilen streptokoklar için “Enterokokal grup” terimini kullanmıştır. Sonraki çalışmalarla *S. avium* eklenmiştir. Enterokokal streptokoklar için bir cins oluşturulması, hücresel dizilim ve fenotipik özelliklerine göre *S. faecalis* ve *S. faecium*’ un *Enterococcus* olarak isimlendirilmesi önerilmiştir. Bu öneri fazla dikkate alınmamış ve uzun bir süre Enterokoklar, Lancefiel sınıflamasına göre serolojik olarak Grup D Streptokoklar olarak *Streptococcus* cinsi içerisinde kalmıştır. Zaman içinde yapılan yeni çalışmalarla, *S. faecalis* ve *S. faecium* türlerinin diğer streptokoklardan farklı oldukları ve bunların *Streptococcus* cinsinden ayrılıp *Enterococcus* adı altında cinsi olarak tanımlanması gerektiği gösterilmiştir. DNA-DNA reasosiyasyon çalışmaları, 16S rRNA dizi analizi ve total hücre protein profil analizi ile enterokokların yeni bir cins oldukları ortaya konulmuştur. Bu yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalarda enterokok cinsi içerisinde en az 34 tür bulunduğu saptanmıştır (Tablo 1, Whitman ve ark., 2012).

Tablo 1. Enterokok cinsi içerisindeki türler

<i>Enterococcus aquimarinus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus pallens</i>
<i>Enterococcus asini</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus phoeniculicola</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Enterococcus gallinorum</i>	<i>Enterococcus pseudoavium</i>
<i>Enterococcus caccae</i>	<i>Enterococcus gilvus</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>
<i>Enterococcus canintestini</i>	<i>Enterococcus haemoperoxidus</i>	<i>Enterococcus ratti</i>
<i>Enterococcus canis</i>	<i>Enterococcus hermanniensis</i>	<i>Enterococcus saccharolyticus</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Enterococcus silesiacus</i>
<i>Enterococcus cecorum</i>	<i>Enterococcus italicus</i>	<i>Enterococcus sulfureus</i>
<i>Enterococcus columbae</i>	<i>Enterococcus malodoratus</i>	<i>Enterococcus termitis</i>
<i>Enterococcus devriesei</i>	<i>Enterococcus moraviensis</i>	<i>Enterococcus thailandicus</i>
<i>Enterococcus dispar</i>	<i>Enterococcus mundtii</i>	<i>Enterococcus villorum</i>
<i>Enterococcus durans</i>		

2.2. Enterokokların Etiyolojik Özellikleri

2.2.1. Mikroskopik karakterleri: Enterokoklar Gram pozitif, kok morfolojisinde, 0,5-1 µm çapında, tek tek, diplokoklar veya kısa zincirler şeklinde görülebilen, yuvarlak, oval veya kokobasil şeklindeki bakterilerdir. Katı besiyerinde üretilen bakteriler kok veya kokobasiller şeklinde görülürken, sıvı besiyerlerinde üretilen enterokokların daha uzun zincirler oluşturdukları gözlenir. Anilin boya ile kolay boyanırlar ve Gram pozitiflerdir (Şekil 1). *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* hariç, çoğu hareketsizdir (Whitman ve ark., 2012).



Şekil 1. Enterokokların mikroskopik görünümüleri (Gram pozitif kok)

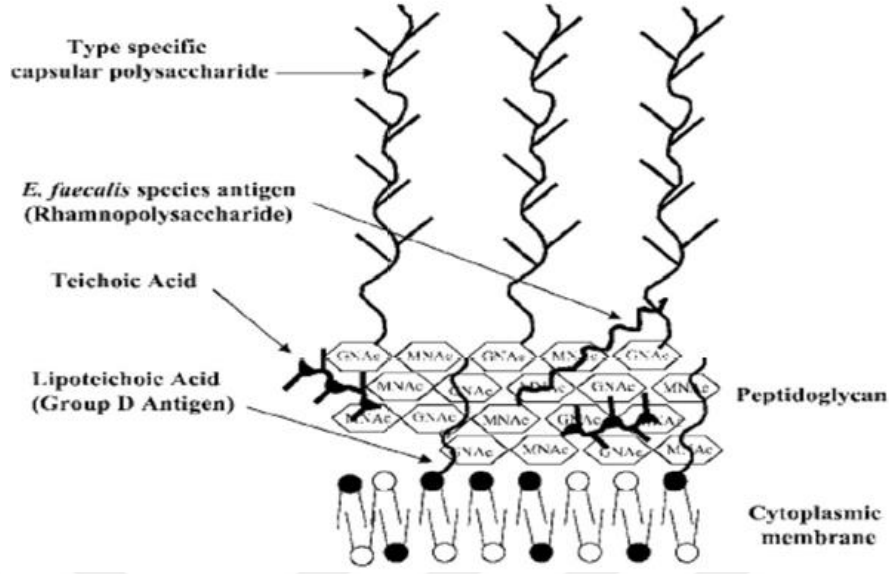
2.2.2. Üreme özellikleri ve fizyolojik karakterleri: Enterokoklar *Enterococcaceae* familyasında, *Enterococcus* cinsi içerisinde fakültatif anaerob mikroorganizmalardır. Optimal üreme ısıları 35°C (10-45°C), optimal üreme pH'larında 7.2 ± 0.2 dir. Koyun kanlı agarda 24 saatlik inkübasyonda, 1-2 mm çapta, streptokoklardan daha büyük, kabarık, gribeyaz renkli S tipi koloniler oluştururlar. *E. faecalis*'lerin 1/3'ü tavşan, insan ve at kanı içeren agarda β-hemoliz oluşturabilir ancak koyun kanlı agarda hemoliz yapmazlar (Fisher ve Phillips, 2009). Ancak bazı *E. durans* türleri bütün kanlı agarlarda β-hemoliz oluştururlar. Diğer türlerin tamamı genellikle α-hemolitik veya nonhemolitikdir. α-hemolitik görünen suşlar gerçekte peroksit üreten nonhemolitik suşlardır. Besiyerindeki yeşil renk α-toksin üretimi ile değil, eritrositlerde

peroksitin etkisi ile oluşmaktadır. *E. casseliflavus*, *E. gilvus*, *E. mundtii*, *E. pallens* ve *E. sulfureus* kanlı agarda sarı pigment oluşturur. Yüksek ısının yanı sıra yüksek oranda tuz ve safra tuzlarını tolere ederler ve %6,5 NaCl ile %40 safra tuzu varlığında üremeye devam ederler. Eskulini hidrolize eder, bile-esculine (BE) agarda rahatlıkla ürerler. *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. pallens* ve *E. saccharolyticus* hariç pek çok enterokok türü, pyrolidonyl arylamidase (PYRase) üreterek pyrolydonil b-naftilamid'e (PYR)'i hidrolize ederler. Bütün suşlarda leucine aminopeptidase (LAPase) aktivitesi görülür ve leucine β -naphthylamide'i hidrolize ederler. Gram negatif bakterileri de içeren karışık örneklerden izole edilmeleri için selektif besiyeri olarak azid içeren safra-eskulin azid agar veya enterococcosel agar, columbia kolistin nalidiksik asit agar (CNA) veya fenil etil alkol agar (PEA) kullanılabilir. Selektif besiyerlerinin içerdikleri kimyasal maddelere bağlı olarak koloni rengi değişebilir. Örneğin bile eskulin azid agar gibi eskulin içeren agarda koloniler siyah halo ile çevrelenmiş, gri-beyaz koloniler olarak görülebilirken; tetrazolium tuzları içeren agarda kolonilerin ortasında tuğla kırmızısı renk oluşur (Doming ve ark., 2003).

2.2.3. Hücre duvarı yapısı ve antijenik özellikleri

Enterokokların hücre duvarının üç bileşeni peptidoglikan, teikoik asit ve polisakkaritlerdir. Hücre duvarının %40'ı peptidoglikandan oluşur, geri kalan kısım ise ramnoz içeren polisakkarit ve ribitol içeren teikoik asittir. Peptidoglikan polimerleri glikan zincirler ve bunlara bağlanmış kısa peptitler L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala-D-Ala'dan oluşur. Komşu peptitler, pentapeptid yan zincirler ile çapraz bağlanırlar. Peptidoglikan dışı yardımcı polimerlerin yapısal bileşimi kesin olarak bilinmemektedir (Whitman ve ark., 2012).

Lancefield'in serolojik tiplendirmesinde; streptokokların çoğunun, baskın olan hücre duvarı karbonhidratlarına göre sınıflanmasına karşın, enterokokların yer aldığı "D" grubunda serolojik tiplendirme lipoteikoik asitlerin (LTA) antijenik özelliklerine göre yapılır. Gruba özelliğini veren "D" antijeni, gliserol ünitelerine bağlanmış yüksek oranda glukoz içeren poligliserolfosfatın teikoik asit polimeridir. LTA'nin lipit kısmı 1-kojibiosyl digliseriddir. Bu glikolipit membranın bir parçası olarak bulunur. Streptokokal grup-D antijenleri enterokok türleri ile *S. bovis* kompleks, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Vagococcus*'larda bulunmaktadır (Şekil 2) (Fisher ve Phillips, 2009).



Şekil 2. *E. faecalis* hücre duvarındaki polimerlerin şematik görünümü

2.2.4. Sınıflama ve identifikasyon: *Enterococcus* cinsinin kabulünden sonra, streptokoklardan ayrılan enterokoklar içerisinde *E. faecalis* ve *E. faecium* türleri dahil edilmişken, günümüzde *enterococcus* cinsinde en az 34 farklı tür tanımlanmıştır (Tablo 1). Fenotipik farklılıkların yanı sıra *16S rRNA* gen dizi analizi yöntemi ile yapılan katalaz negatif Gram pozitif kok cinslerinin filogenetik analizi sonuçlarına göre enterokoklar, streptokoklar ve laktokoklar'dan çok *Vagococcus*, *Tetragenococcus* ve *Carnobacterium* cinsleri ile daha yakın ilişkili bulunmuştur. Önceleri, katalaz negatif, Gram pozitif koklardan; BE besiyerinde üreyebilen, PYR ve LAP testi pozitif olan, %6,5 NaCl'ü ve 45°C'yi tolere eden suşlar enterokok olarak tanımlanmıştır. Enterokoklar bu sınıflandırma ile kendilerine çok benzerlik gösteren *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Vagococcus*'dan sadece BE reaksiyonu ve %6,5 NaCl içeren besiyerinde üreme yetenekleri ile ayırt edilebilmiş, ancak sıklıkla hatalı sonuçlar alınarak sınıflandırmada yanlışlıklar yapılmıştır. Diğer taraftan enterokokların %80'inde tespit edilebilen Grup-D antijeninin de taksonomi için yetersiz olduğu görülmüştür. Ayrıca *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve bazı *Vagococcus*'larda grup-D antijeni taşıyabilmektedir. Diğer yandan GenProbe tarafından üretilen AccuProbe *Enterococcus* genetik prob, enterokokal rRNA segmentine komplementerdir ve enterokok tanımlanmasında kullanılmaktadır. Ancak *Vagococcus*'lar da bu prob ile reaksiyon

verebilmektedir (Fisher ve Phillips, 2009). Enterokoklar mannitol, sorbitol ve sorboz içeren besiyerlerinde asit oluşturmalarına ve arginini hidrolize etmelerine göre beş gruba ayrılırlar (Tablo 2, Şekil 3).

Tablo 2. Enterokok türlerinin fenotipik özellikleri

Grup, Tür	Grup D Antijen	Safra eskulin %6,5				Asit Üretimi														
		agarda üreme	NaCl'de üreme	10°C'de üreme	45°C'de üreme	LAP	PYR	Hareket	Sarı pigment	ADH	HIP	GLU	MNITL	SORB	ARB	SBTL	RAF	SUK	PRV	MPG
Grup I																				
<i>E. avium</i>	+	+	+		+	+	+	-	-	-	D	+	+	+	+	+	-	+	+	D
<i>E. gilvus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-
<i>E. malodoratus</i>	+	+	+		-	+	+	-	-	D	+	+	+	-	+	+	+	+	+	D
<i>E. pallens</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E. pseudoavium</i>	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>E. raffinosus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	D
<i>E. saccharolyticus</i>	-		+			+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
<i>Enterococcus sp</i>	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-
Grup II																				
<i>E. faecalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-
<i>E. faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	D	D	+	-	-
<i>E. casseliflavus</i>	+	+	+		+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	D	+	+	D	+
<i>E. gallinarum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+
<i>E. mundtii</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	D	+	+	-	+
<i>E. haemoperoxidus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
<i>Enterococcus sp</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
Grup III																				
<i>E. dispar</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	D	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. durans</i>	+	+	+		+	+	+	-	-	+	D	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. hirae</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
<i>E. ratti</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	D	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. villorum</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Grup IV																				
<i>E. asini</i>	+	+	-	D	D	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	D
<i>E. cecorum</i>	-		-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. sulfuricus</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+
<i>E. phoeniculiicola</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Enterococcus sp</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Grup V																				
<i>E. columbae</i>	-	+	+			+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
<i>E. canis</i>		+	+			+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	D	+	+
<i>E. moraviensis</i>	+	+	+	+	-	+	D	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+

LAP: lösin aminopeptidaz; PYR: pirohidonil arilamidaz; ADH: arginin dihidrolaz; HIP: hipurat hidrolizi; GLU: glukoz; MNITL: mannitol; SORB:sorboz; ARB: arabinoz; SBTL:sorbitol; RAF: raffinoz; SUK: sukroz; PRV: piruvat; MPG: metil-alfa-D-glukopirazonit; D: değişken

Grup 1: *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E. pallens*, *E. gilvus*'dan oluşur. Bu türler mannitol, sorbitol ve sorboz sıvı besiyerinde asit oluşturur, ancak arginini hidrolize etmezler.

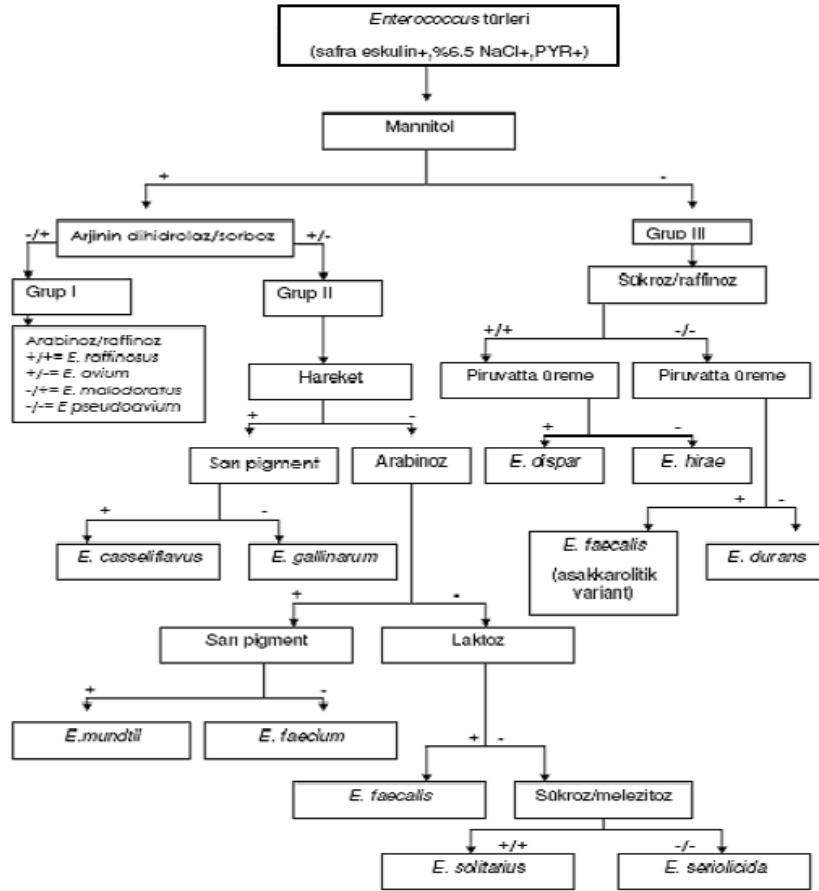
Grup 2: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. haemoperoxidus*, *E. mundtii* ve *E. gallinarum*'dan oluşur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize ederler,

mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler.

Grup 3: *E. villorum*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. ratti* ve *E. faecalis* ile *E. faecium*'un manitol negatif varyantları bu grubu oluşturur. Bu gruptaki türler D antijeni içermez, arginini hidrolize ederler, fakat manitol, sorboz ve sorbitol içeren sıvı besiyerlerinin hiçbirisinde asit oluşturmazlar.

Grup 4: *E. sulfurens*, *E. asini*, *E. phoeniculicola* ve *E. cecorum* bu grupta bulunmaktadır. Bu gruptaki türler manitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arginini hidrolize etmezler. Sorbitol içeren sıvı besiyerinde ise *E. cecorum* asit oluştururken, *E. sulfurens* asit oluşturmaz.

Grup 5: *E. columbae*, *E. canis*, *E. moraviensis* bu grupta bulunur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize etmezler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler.



Şekil 3. Enterokok türlerinin identifikasyon şeması

2.2.5. Genetik bilgi transferi: *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarında, virulans genleri veya ilaç direnci ile ilgili genetik bilgi transferinde rol oynayan, çok sayıda plazmid, transpozon, patojenite adası, integre plazmid geni ve faj bölgesi ile oldukça fazla sayıda insersiyon dizileri, plazmid ve transpozon bulunmuştur (Çöleri ve Çökmüş, 2008).

Enterokoklarda rolling circle replicating plazmid (RCR), Inc18 plazmid ve feromon-responsiv ve plazmid olmak üzere üç sınıf plazmid tanımlanmıştır. RCR ve Inc18 plazmidleri pek çok cinste replike olabilirken, feromon-responsiv plazmid replikasyonu sadece enterokoklarla özellikle de *E. faecalis* ile sınırlıdır. Plazmid bulunmayan alıcı suşlar ekstraselüler feromon sentezleyerek, verici hücre dış yüzeyinde agregasyon faktör (AF) denilen proteinöz maddenin oluşumunu sağlar. AF alıcı hücrenin yüzeyine bağlanır ve alıcı ile verici hücrenin yakınlaşması sonucu plazmid değişimi oluşur. Feromon ile indüklenmiş transfer, plazmid geçişini 105-106 kat arttırmaktadır (Tendolkar ve ark., 2004).

Enterokoklar ayrıca konjugatif transpozonlar ile de genetik bilgi değişimi yapabilir. Bunun için hücre teması gereklidir. Transpozonlar sıklıkla tetrasiklin, eritromisin, gentamisin, kanamisin ve diğer aminoglikozidler gibi antimikrobiyal ilaçlara direnç genleri taşırlar. Konjugatif transpozon Tn916, *E. faecalis*'lerde tetrasiklin direncini kodlarken; Tn1546 vankomisin direncini kodlayan VanA gen kümesini, Tn1547, Tn1549 ve Tn 5382 VanB operonunu, Tn5281 yüksek düzey gentamisin direncinden sorumlu *aac(6')* *leaph(2')* Ia genini taşır. Transpozonlar çok geniş bir konak spektrumuna sahip olup enterokokların yanı sıra streptokoklar, laktokoklar ve diğer Gram pozitif bakterilerde de bulunurlar. Konjugasyon ile ilişkili belirli moleküller, enfeksiyon sırasında immün modülatör rol oynayabildiğinden patojeniteye katkıda bulunurlar (Bozdoğan ve Leclercq, 1999). Gıda kökenli bazı enterokoklarda antibiyotik dirençliliğinin listeria gibi diğer bakteriler transfer edilebileceği gösterilmiştir (Jahan ve Holley, 2016)

2.2.6. Enterokoklarda antimikrobiyal direnç mekanizmaları

Enterokoklar, diğer Gram pozitif bakterilerin duyarlı olduğu birçok antibiyotiğe kısmen veya tamamen dirençli olduğu için, insan ve hayvanlardaki pek çok enterokok enfeksiyonunun tedavisi sorun oluşturmaktadır.

Enterokoklar'da antibiyotiklere direnç intrinsik (doğal-kromozomal) ve ekstrinsik (kazanılmış) direnç mekanizması olmak üzere iki ana grupta değerlendirilmektedir.

2.2.6.1. İntrinsik direnç

İntrinsik direnç türe/cinse özgüdür ve enterokok türlerinin tamamında kromozomal direnci ifade etmektedir. Örneğin enterokok türleri penisilinlere, sefalosporinlere, linkozamidlere, trimetoprim-sulfametaksazol (SXT)'e, aminoglikozidlere (düşük düzeyde), polimiksinlere, monobaktamlara ve kuinupristin/dalfopristin'e karşı kalıtsal olarak dirençlidir (Çetinkaya ve ark., 2000; Lukasova ve Sustakova, 2003).

β -laktam direnci: Enterokoklar β -laktam antibiyotiklere karşı karakteristik olarak tolerans gösterirler, yani tedavi dozunda minimum bakterisidal konsantrasyon/minimum inhibitör konsantrasyon (MBK/MİK) oranı 1/32'nin üzerindedir. Bu nedenle β -laktam antibiyotikler enterokoklara karşı bakterisidal değil, bakteriyostatik etkilidir. Enterokoklarda doğal penisilin direnci, β -laktam antibiyotiklere düşük bağlanma afinitesi gösteren penisilin bağlayan protein 5 (PBP-5) enziminin varlığına bağlıdır. *E. faecalis* suşlarında penisilin MİK değeri streptokoklardan 10-100 kat daha yüksektir. Diğer taraftan *E. faecium* suşlarında penisilin direnci *E. faecalis*'e oranla daha sık görülmektedir. Enterokoklarda yarı sentetik ve penisilinaza dirençli β -laktam antibiyotiklere karşı doğal direnç oldukça yüksek oranda bulunmuştur. Ampisilin direnci *E. faecium* suşlarının %85-90'ında, *E. faecalis* suşlarının ise %2-3'ünde görülmektedir (Lukasova ve Sustakova, 2003; Marothi ve ark., 2005).

Aminoglikozid direnci: Enterokoklarda görülen düşük düzeyde aminoglikozid direnci, bu grup ilaçların bakteri içerisine girişinin az olmasından kaynaklanır. Aminoglikozidler bakteri hücre duvarından enerji bağımlı mekanizma ile geçtiklerinden ve enterokoklarda sitokrom enzimleri olmadığından geçirgenlik azalmaktadır. Ancak aminoglikozid grubu ilaçlar, hücre duvarı sentezini engelleyen β -laktam'lar gibi antibiyotikler ile kombine edilirse zedelenen hücre duvarından daha kolay geçeceklerinden sinerjistik etki oluşacak ve MİK değerleri önemli ölçüde düşecektir (Klare ve ark., 2003; Lukasova ve Sustakova, 2003).

Diğer antibiyotiklere direnç: Enterokoklar linkozamid grubu antibiyotiklere karşı da düşük düzeyde direnç gösterirler. Ayrıca enterokokların eksojen folatı kullanma yetenekleri olduğundan SXT'ye de enterensek olarak dirençlidirler. İnvitro şartlarda duyarlı görülseler de, invivo şartlarda etkisizdirler. *E. faecalis* intrinsik olarak kuinupristin/dalfopristin'de dirençlidir. *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* ve *E. flavescens*'te intrinsik olarak vankomisine düşük düzeyde direnç gösterirler (Çetinkaya ve ark., 2000; Lukasova ve Sustakova, 2003).

2.2.6.2. Ekstrinsik direnç

Kazanılmış direnç genellikle DNA mutasyonları veya transpozon, plazmid veya patojenite adaları gibi yeni bir DNA segmentinin genoma transferi sonucu gelişir. En sık görülen mekanizma konjugasyondur (Lukasova ve Sustakova, 2003; Çöler ve Çökmüş, 2008).

β -laktam direnci: β -laktam direnci Enterokok cinsi bakterilerin tipik özelliğidir. Enterokoklar iki ayrı direnç mekanizması ile β -laktam antibiyotiklere direnç kazanır. Direncin major mekanizması, kromozomal olarak düşük afiniteli PBP5 miktarının artması sonucu penisilinin hücre içine girişinin azalmasıdır. Penisilin direnci, enterokoklarda bulunan PBP5 miktarı ile doğru orantılıdır ve sıklıkla *E. faecium* suşlarında görülür. PBP5 sentez yeteneğinin kaybının, penisiline oldukça dirençli suşların hiper duyarlı olmasına neden olduğu gösterilmiştir (Lukasova ve Sustakova, 2003; Marothi ve ark., 2005).

β -laktam grubu antibiyotiklere karşı direncin diğer mekanizması ise β -laktamaz üretimidir. β -laktamaz üreten enterokoklar nadir olarak izole edilmektedir. β -laktamaz üreten ilk suş 1981 yılında Murray ve arkadaşları tarafından ABD’de tanımlanmıştır. β -laktamazların çoğu yüksek düzeyde gentamisin direnç genini de taşıyan bir plazmid üzerinde kodlanmıştır. Enterokoklardaki β -laktamazlar penisillin, ampisilin, piperasilin ve diğer üreidopenisillinleri hidrolize eder; penisilinaza dirençli penisillinleri, sefalosporinleri ve imipenemi etkilemez. Stafilokoklardan farklı olarak, enterokoklarda β -laktamaz üretimi konstitüf, düşük seviyede ve inokülüm bağımlıdır (Murray, 1998; Lukasova ve Sustakova, 2003; Marothi ve ark., 2005).

Aminoglikozid direnci: Enterokoklarda aminoglikozidlere karşı direnç iki farklı mekanizma ile ortaya çıkmaktadır.

a. İlmli seviyede direnç (MIK= 62-500 $\mu\text{g/ml}$): Genellikle düşük permeabiliteden dolayı gelişir. Aminoglikozidlerin hücre duvarı sentezini inhibe eden β -laktam grubu antibiyotiklerle kombine edilerek kullanımı ile bu tip direnç problemi aşılabılır.

b. Yüksek seviyede direnç (MIK>2000 $\mu\text{g/ml}$): Aminoglikozidlerin ribozomdaki bağlanma bölgelerindeki değişiklik sonucu veya aminoglikozidleri inaktive eden enzimlerin sentezi sonucu oluşur.

Yüksek düzeyli dirence yol açan bu iki yoldan aminoglikozid modifiye eden enzim üretimi en sık görülen direnç mekanizmasıdır. Bu enzimler ile ilişkili genler plazmid veya transpozonda yerleşmiş olup, asetil transferaz, adeniltransferaz ve fosfotransferaz olmak üzere üç tip enzim kodlarlar (Murray, 1998).

Enterokoklarda gentamisin ve streptomisine karşı direnç farklı mekanizmalarla oluştuğundan, duyarlılık testlerinde bu ajanların ikisinin de kullanılması önemlidir. Streptomisin hariç diğer aminoglikozidlere yüksek seviyede dirençten yaygın olarak bifonksiyonel enzim olan 6’Asetil transferaz-2’’fosfotransferaz -AAC(6’)-APH(2’)-sorumludur. Bu enzim, gentamisin, tobramisin, netilmisin, amikasin ve kanamisine direnç oluşumunu sağlar. Bu yüzden gentamisin direnci, streptomisin hariç diğer aminoglikozidlere olan direncin iyi bir göstergesidir. Streptomisin direnci ise ribozomal

mutasyonlar veya Adenil transferaz sentezlenmesi sonucu oluşmaktadır ve bu suşlar gentamisine duyarlı kalmaktadır. Penisilin-aminoglikozid sinerjisi, streptomisin'in MİK değerinin 2000 µg/ml, gentamisin'in MİK değerinin 500 µg/ml veya daha yüksek olduğu yüksek seviyede aminoglikozid direnci olan enterokoklarda ortaya çıkmamaktadır (Çetinkaya ve ark., 2000).

Kloramfenikol direnci: Enterokokların %20-42'si kloramfenikole dirençlidir ve dirençten sorumlu esas mekanizma, plazmid üzerinde “*cat*” geni ile kodlanan kloramfenikol asetil transferaz üretimidir. Ayrıca efluks mekanizması da dirençte rol alabilir (Murray, 1998).

Tetrasiklin direnci: Dirençten sorumlu *tetM*, *tetQ* ve *tetN*, *tetL* gibi çok sayıda gen tanımlanmıştır. *tetL* geni bir plazmid de taşınır. Bu genler efluks sistemini kodlayabildiği gibi ribozomal kaynaklı dirence de sebep olabilir. Tetrasiklinlerin hücre dışına pompalanmasını sağlayan gen, tetrasiklin ile temas sonucu indüklenir. Tetrasiklin direnci enterokoklarda konjugasyon yolu ile kazanılan direncin en tipik örneğidir (Murray, 1998).

Kinolon direnci: Direnç *gyrA* (giraz) ve *parC* (topoizomeraz) genlerindeki mutasyonlara bağlı gelişir. Enterokokal suşların çoğunluğu kinolonlara intermediate duyarlılık veya direnç gösterir (Klare ve ark., 2003; Frye ve Jackson, 2013).

MLSB (Makrolid, Linkozamid ve B tipi StreptoGramin) direnci: Genellikle *23S rRNA*'nın metilasyonundan sorumlu *ermB* geni ile ilişkilidir ve metilasyon sonucu eritromisin ribozomlara bağlanamaz. *ermB* geni *Tn917* transpozonu ile çeşitli plazmidler üzerinde taşınabilmektedir. Ayrıca asetil transferaz veya efluks mekanizması sonucu da oluşabilir (Smith ve ark., 2005; Lopez ve ark., 2010).

Oksazolidinon direnci: Çoklu ilaç direnci gösteren enterokoklar ile oluşan enfeksiyonlarda oksazolidinon grubu antibiyotik olan linezolid iyi bir seçenektir. Ancak 2002 yılında linezolid direnç bildirilmiştir ve bu dirençten *23S rRNA* V domainindeki mutasyonlar (G-2576-T) sorumlu tutulmaktadır (Klare ve ark., 2003; Lukasova ve Sustakova, 2003; Wolter ve ark., 2005; Raponi ve ark., 2010).

Glikopeptit direnci: Enterokoklarda vankomisin ve teikoplanin en çok kullanılan glikopeptitlerdir. Enterokoklarda, normal şartlar altında, peptidoglikan sentezinde, iki molekül D-Alanin bir ligaz enzimi ile bağlanır ve “D-Ala-D-Ala” yı oluşturur. Daha sonra UDP-N-asetil muramil tripeptide eklenerek UDP-N-asetil muramil pentapeptit meydana getirir. Bu peptid oluşmaya başlayan peptidoglikana bağlanır, kros bağların oluşumunu sağlar ve peptidoglikan tabakanın gücüne katkıda bulunur. Vankomisin pentapeptit prekürsör ünitesinin D-Ala-D-Ala kısmına yüksek affinite ile bağlanır ve peptidoglikan zincire bağlanmasını bloke ederek kros bağların oluşumunu önler. Ancak peptidoglikan yan zincirine D-Ala-D-Ala yerine ligaz enzimi ile D-Ala-D-Laktat veya D-Ala-D-Serin sentezlenerek bağlanması sonucunda, vankomisin buraya bağlanma yeteneği azalır, hücre duvarı sentezi devam eder ve sonuç olarak vankomisine karşı direnç gelişir. Direncin sınıflandırılması önceleri, fenotipik olarak, MİK değerlerine göre yapılmıştır. Günümüzde ise sınıflandırma spesifik ligaz genlerinin varlığına göre yapılmaktadır. VanA, VanB, VanD, VanM ve VanG tipi dirençte D-Ala-D-Laktat; VanC, VanL, VanN ve VanE tipi dirençte ise D-Ala-D-Serin sentezlenmektedir (Çetinkaya ve ark., 2000; Çöleri ve Çökmüş, 2008).

2.2.7. Enterokok enfeksiyonlarının epidemiyolojisi

Pek çok ülkede enterokok kökenli hastane enfeksiyonları güncelliğini korumaktadır. Epidemiyolojik araştırmalar, enterokokların hastadan hastaya ve hastaneler arası yayılabilmesinde bakterilerin normal barsak florasında bulunmasının başlıca faktör olduğunu ortaya çıkarmıştır. İnsan dışkısından izole edilen *E. faecalis*'in hastane enfeksiyonlarında %85-95 oranında en yüksek insidansa sahip tür olduğu, barsak florasında ikinci sıklıkta ise *E. faecium*'un %5-10 oranında izole edildiği tespit edilmiştir (Çetinkaya ve ark., 2000; Zırakzadeh ve Patel, 2006).

Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı değişik mekanizmalarla direnç geliştirmeleri ve genetik olarak dirençli suşların ortaya çıkması, yeni antibiyotiklerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Hayvanlarda kullanılan antibiyotiklerin etki spektrumları, farmakolojik özellikleri ve etki mekanizmaları insanlarda kullanılanlarla benzerlik gösterebilmektedir (Lemcke ve Bülte, 2000; Emborg ve ark., 2003; Hayes ve

ark., 2004). Antibiyotiklerin büyütme faktörü olarak kullanımı hayvanlarda normal florada bulunan bakterilerde direnç gelişimine neden olmakta ve dirençli olan bu bakterilerin bir kısmı da insanlar için patojen olabilmektedir. Hayvanlardan kaynaklanan enfeksiyon etkenleri oldukça fazladır ve insanlarda enfeksiyon etkeni ajanların yaklaşık yarısının hayvan rezervuarı mevcuttur. Ayrıca, yeni tanımlanan enfeksiyonların yaklaşık 3/4'ü zoonotik enfeksiyonlardır. Bunların da bir kısmı besin kaynaklı, bir kısmı vektör kaynaklı, bir kısmı ise direkt temas yoluyla bulaşmaktadır.

Önemle üzerinde durulması gereken diğer bir direnç sorunu da enterokoklarda vankomisin direncidir. Bu antibiyotik ile aynı gruptan olan avoparsinin büyütme faktörü olarak hayvan yemlerinde kullanımı *Enterococcus faecium* izolatlarında direncin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Dirençli enterokokların hayvanlardan insanlara geçişi kanıtlanmıştır ve bu ajanların kullanıldığı hayvanlar önemli rezervuar oluşturmaktadır.

Özellikle Vankomisin'in hastanelerde yaygın olarak kullanılmaya başlandığı 1989 yılından itibaren, Avrupa ülkeleri ve ABD'den başta glikopeptid grubu antibiyotikler olmak üzere beta-laktam ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı dirençli çok sayıda klinik izolat ve vaka bildirimini yapılmış, VRE'lerin özellikle *E. faecium*'un klonal seleksiyona uğrayarak hastane ortamına hakim olduğu, ya tek başlarına veya stafilokoklarla birlikte hastane enfeksiyonlarındaki insidanslarını hızla artırdıkları tespit edilmiştir (Çetinkaya ve ark., 2000).

ABD'de avoparsinin hayvancılıkta kullanımına Avrupa'nın aksine hiçbir zaman izin verilmemiştir. VRE taşıyıcılığına bakıldığında; avoparsinin kullanımına bağlı olarak ABD'de toplumda sağlıklı kişilerde neredeyse sifıra yakinken, Avrupa'da bu oran %28-33 arasında değişmektedir. Ancak hastanelerde saptanan VRE olguları tam tersine ABD'de oldukça yüksek oranda saptanırken, Avrupa'da bu oran oldukça düşüktür. Bu farklılık ABD'de hastanelerde tedavi seçeneği olarak ampisiline direncin çok yüksek olması nedeniyle vankomisin kullanımının çok fazla olması, Avrupa'da ise ampisilin direncinin %33 civarında ve hala bir tedavi seçeneği olması nedeniyle vankomisin kullanımının düşük düzeyde olmasına bağlanmaktadır.

Avrupa Birliği'ne aday bir ülke olarak Türkiye'de Avrupa Birliği'nin antibiyotiklerin büyütme faktörü olarak kullanımı konusundaki yasaklama kararlarını uygulamış ve 1997 yılından itibaren bu ajanların kullanımını yasaklamıştır.

Antibiyotiklerin hayvancılıkta büyütme faktörü olarak kullanımının yanında tedavi ve profilaktik amaçlı kullanımı sürmektedir. Tarım ve Köyişleri ile Sağlık Bakanlığı'nın birlikte çıkardıkları "Türk gıda kodeksi hayvansal kökenli gıdalarda veteriner ilaçları maksimum kalıntı limitleri tebliği" (Tebliğ no: 2002/30, Tarih 28.04.2004-24739) ile et, süt, yumurta, bal gibi hayvansal kökenli tüm gıdalarda bulunabilecek enfeksiyon tedavisi/profilaktik amaçlı kullanılan antibiyotiklere ait farmakolojik aktif maddelerin maksimum kalıntı limitleri yayınlanmıştır. Ancak ne yazık ki bu konuda gerektiği şekilde kontrol uygulaması yapılamamaktadır. Örneğin; gelişme döneminde antibiyotikli yemle beslenen hayvanların kesimden yedi-on gün önce antibiyotiksiz yeme geçme zorunluluğu vardır. Bu dönemde enfekte olan hayvanların imhası ve enfekte hayvanlardan elde edilen ürünlerin satışa sunulmaması gerekmektedir. Meydana gelebilecek maddi kaybı en aza indirmek için antibiyotiksiz yem dönemi kısa tutulmakta ve kesim sonrası yeterli düzeyde kalıntı kontrolü yapılamamaktadır. Yine tavuk üretiminde kümeslerde metre kareye düşen kilo miktarı arttığı zaman, antibiyotikli yemleme döneminde kümesteki hayvanları seyreltmek amacıyla erken kesimler yapılmakta ve bu hayvanlardan elde edilen etler satışa sunulabilmektedir (Başustaoğlu, 2004).

2.3. Mandaların Genel Özellikleri: Manda (*Bubalus bubalis*), et, süt ve çeki hayvanı olarak dünya çapında, özellikle belirli ülkelerde yaygın olarak, yetiştirilen bir hayvandır. Evcil ve yabani formlardan köken alan mandaların yaklaşık 74 ayrı ırkı bulunmaktadır. Bu ırklar kabaca bataklık ve nehir (ırmak) mandaları olarak ikiye ayrılmaktadır. Bataklık mandaları yük hayvanı olarak kullanılırken, nehir mandaları et ve süt yönlü yetiştirilmektedir. Türkiye'deki mandalar, nehir mandalarının bir alt grubu olan Akdeniz mandalarından köken almakta ve Anadolu mandası olarak isimlendirilmektedir. Dünya çapında son verilere göre yaklaşık 194 milyon manda bulunmaktadır. Ülkemizde 90.000 civarında manda yetiştirildiği, Samsun ilinde ise yaklaşık 18000 manda bulunduğu bildirilmektedir (Gürler, 2012; Çetinkaya ve ark., 2012).

Manda, dünya çapında büyük bir çoğunluğu Asya kıtasında bulunan (%97.4), başlıca süt, et, deri ve iş gücünden yararlanmak amacıyla yetiştirilen, *Artiodactyla* takımında, *Bovidae* ailesinde *Bubalus* sınıfında bir türdür. Mandalar, Afrika yabani mandası (*Syncerus caffer*) ve Asya mandası (*Bubalus bubalis*) olarak

gruplandırılmaktadırlar. Ülkemizdeki mandalar Anadolu Mandası olarak bilinmektedir (Şekil 4). Türkiye’de manda yetiştiriciliği; Karadeniz Bölgesinde sahil şeridinde Samsun ve Sinop’ta, iç kesimlerde ise Tokat, Çorum ve Amasya’da; İç Anadolu Bölgesinde Sivas ve Yozgat’ta; Ege Bölgesinde Afyon’da; Marmara Bölgesinde İstanbul’da; Doğu Anadolu Bölgesinde Muş’ta; Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Diyarbakır’da yoğunlaşmıştır (Sarıözkan, 2011).



Şekil 4. Anadolu Mandası

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Dışkı Örnekleri: Çalışmanın materyalini Samsun ilçelerinde yetiştiriciliği yapılan Anadolu Mandalarından sağlanan 1000 adet dışkı örneği oluşturdu (Şekil 5). Bu amaçla alınan dışkı sayıları ve merkezler Tablo 1’de sunuldu.



Şekil 5. Anadolu Mandası dışkı örneklerinin toplandığı merkezler

Tablo 3. Anadolu Mandası dışkı örneklerinin toplandığı merkezler ve dışkı sayıları

Merkez	Manda sayısı	Alınan dışkı sayısı
Bafra	6972	386
Vezirköprü	2869	140
Alaçam	1936	100
Çarşamba	1857	80
Terme	1496	80
Ondokuz Mayıs	1116	50
Kavak	428	30
Ladik	408	20
Asarcık	335	20
Salıpazarı	206	20
Tekkeköy	148	20
Yakakent	79	20
Atakum	62	10
Canik	42	10
İlkadım	20	10
Ayvacık	6	4
Toplam	17.980	1000

3.2. Besiyerleri ve Test Kiti: Dışkı örneklerinde enterokok izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla azide dextrose broth (ADB, Difco), bile esculine agar (BEA, Difco), blood agar base (Oxoid), brain heart infusion broth (BHIB, Oxoid), triptic soy agar (TSA, Oxoid) ve mueller-hinton agar (MHA, Oxoid) besiyerleri kullanıldı. Besi yerleri prospektüslerine uygun olarak hazırlandı. Ayrıca şüpheli kolonilerin L-Pyrrolidonyl- β -Naphthylamide (PYR) aktivitelerinin belirlenmesinde PYR strip test kiti (Bioanalyse, Türkiye) kullanıldı (Şekil 6)

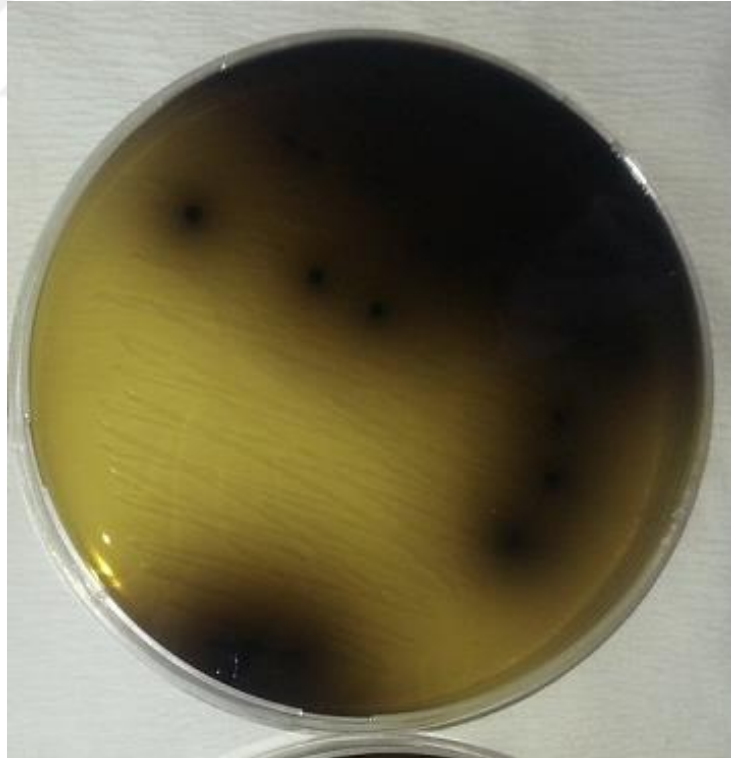


Şekil 6. PYR test kiti

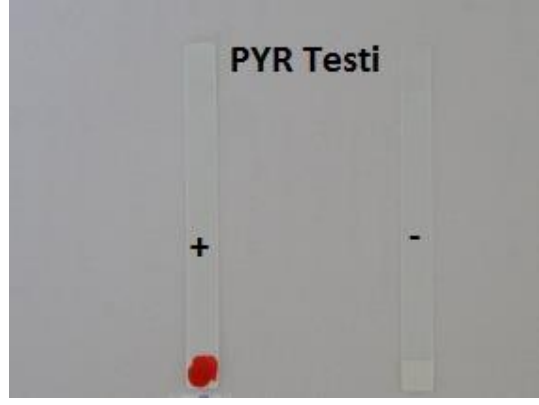
3.3. Antibiyotik Diskleri: İzole ve identifiye edilen suşların antibiyotik dirençlilik/duyarlılık durumlarının tespit edilmesi amacıyla Difco ve Oxoid firmalarından sağlanan vankomisin (VA, 30 μ g), teikoplanin (TEİ, 30 μ g), ampisilin (AM, 10 μ g), amikasin (AN, 30 μ g), basitrasin (B, 10 μ g), eritromisin (E, 15 μ g), gentamisin (GM, 10 μ g), kanamisin (K, 30 μ g), penisillin (P, 10 μ g), sefaperazon (CFP, 75 μ g), streptomisin (S, 10 μ g), tetrasiklin (TE, 30 μ g), ve trimetofrin-sülfamethaksol (SXT, 1.25 ve 23.75 μ g) standart antibiyotik diskleri kullanıldı.

3.4. Dışkı Örneklerinin Toplanması: Bu amaçla, mandalardan içerisinde ADB bulunan steril dışkı toplama kaplarına alınan dışkı örnekleri kısa sürede ve soğuk zincirde, OMÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına ulaştırıldı.

3.5. İzolasyon ve İdentifikasyon: Dışkı örneklerinden Enterokok türlerinin selektif izolasyonu amacıyla dışkı örnekleri transport ve ön zenginleştirme ADB içerisinde 37 °C’de 24-48 saat inkübasyondan sonra, bu besiyerinden bile esculin agar (BEA)’a ekimler yapılarak aynı şartlarda inkübasyona bırakıldı. Eskulin pozitif (siyah renkli) kolonilerden (Şekil 7), Gram pozitif, PYR pozitif (Şekil 8), katalaz negatif, kok morfolojisinde olanlar % 7 koyun kanlı agara ekilerek saflaştırıldı. İzole edilen suşlar, tür tayini ve sonrasında antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için % 10’luk BHI’de - 20 °C’de saklandı. İzolatların tür düzeyinde identifikasyonu amacıyla %6.5’luk NaCl’de üreme, %0.1 tetrazoliumda üreme, hareket, potasyum tellürit (%0.04) redüksiyonu ve arjinin hidrolizi ile arabinoz, arbutin, sorbitol, sorboz, sukroz, laktoz, mannitol, inulin, raffinoz fermantasyon testleri konvansiyonel yöntemlere göre yapıldı.

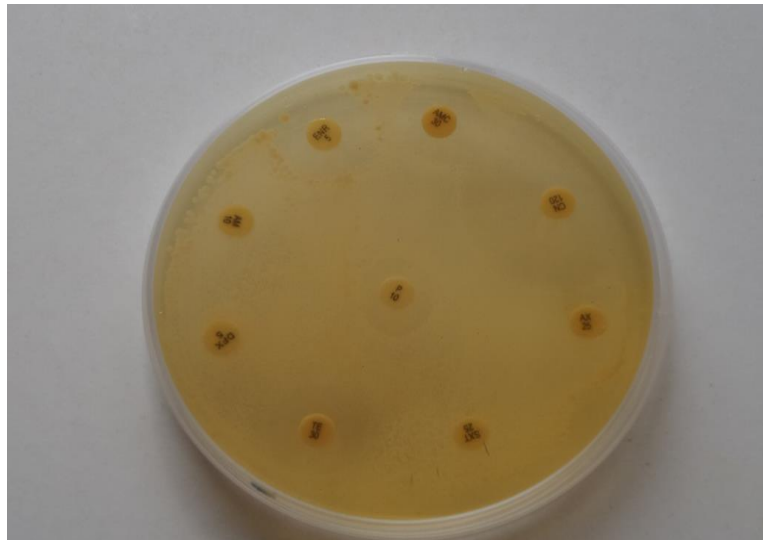


Şekil 7. Bile esculin agar’da enterokok kolonisi (siyah: eskülin pozitif)



Şekil 8. PYR testi sonucu

3.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi (Antibiyogram): İzole ve tanımlanmış bakterilerin 12 farklı antibiyotiğe dirençlilik/duyarlılık durumlarının belirlenmesinde Clinical and Laboratory Standards Institute tarafından önerilen standart disk difüzyon tekniği kullanıldı (CLSI, 2011, Şekil 9). Bu amaçla standart antibiyotik disklere duyarlılığı belirlenecek bakteri kültüründen birkaç koloni alınarak BHI broth tüplerine ekildi. Tüpler 5-6 saat 37 °C’de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu takiben kültürün bulanıklığı, McFarland 0.5 standart bulanıklığına göre ayarlandı. Taze sıvı kültürlerinden 100 µl alınarak MHA besiyerinin tüm yüzeyine ekim yapıldı. Standart antibiyotik diskler 120x120 mm’lik pleytlere pens yardımı ile yerleştirilerek besiyerleri ile teması sağlandı. Pleytlar 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda oluşan zon çapları ölçülerek standart değerlerle karşılaştırılarak yorumlandı. Böylece sonuçlar duyarlı (S), orta derecede duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak değerlendirildi.



Şekil 9. Standart antibiyotik disk difüzyon testi

4. BULGULAR

4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları: İzole edilen Enterokok türlerinin dışkı örneklerinin sağlandığı merkezlere göre dağılımı ve dışkı sayıları Tablo 2’de sunuldu.

Tablo 4. Enterokok türlerinin izole edildiği merkezlere göre dağılımı

Merkez	Dışkı sayısı	<i>E. faecalis</i> (%)	<i>E. faecium</i> (%)	<i>E. hirae</i> (%)	<i>E. durans</i> (%)	Toplam (%)
Bafra	386	20(5.2)	14(3.6)	12(3.1)	10(2.6)	56(14.5)
Vezirköprü	140	10(7.1)	8(5.7)	6(4.3)	4(2.9)	28(20)
Alaçam	100	8(8)	10(10)	4(4)	4(4)	26(26)
Çarşamba	80	10(12.5)	8(10)	4(5)	4(5)	26(26)
Terme	80	8(10)	10(12.5)	4(5)	2(2.5)	24(30)
Ondokuz Mayıs	50	10(20)	8(16)	2(4)	4(8)	24(48)
Kavak	30	6(20)	8(26.7)	4(13.3)	2(6.7)	20(66.7)
Ladik	20	4(20)	4(20)	2(10)	2(10)	12(60)
Asarcık	20	4(20)	2(10)	2(10)	-	8(40)
Salıpazarı	20	4(20)	4(20)	4(20)	-	12(60)
Tekkeköy	20	4(20)	4(20)	2(10)	-	10(50)
Yakakent	20	4(20)	4(20)	2(10)	-	10(50)
Atakum	10	2(20)	2(20)	-	-	4(40)
Canik	10	2(20)	2(20)	-	-	4(40)
İlkadım	10	2(20)	2(20)	-	-	4(40)
Ayvacık	4	2(50)	2(50)	-	-	4(100)
Toplam	1000	100(10)	92(9.2)	48(4.8)	32(3.2)	272 (27.2)

4.2. Antibiyogram Testi Sonuçları: İzole edilen Enterokok türlerinin 12 farklı antibiyotiğe duyarlılık/dirençlilik sonuçları Tablo 3’de gösterildi. İzole edilen Enterokok türlerinde çoğul antibiyotik dirençliliği değerlendirildiğinde; 272 suştan 126’sında (%46.3) iki ve daha fazla antibiyotiğe direnç tespit edildi. Test edilen 12 antibiyotikten 9’una 2, 8’ine 2, 7’sine 2, 5’ine 4, 4’üne 10, 3’üne 30 ve 2’sine de 76 izolatan birlikte dirençli olduğu görüldü. İzolatların çoklu antibiyotik direnç patternleri Tablo 4’de sunuldu.

Tablo 5. Enterokok türlerinin antibiyotik direnç/duyarlılık patternleri

		<i>E. faecalis</i> (n=100)		<i>E. faecium</i> (n=92)		<i>E. hirae</i> (n=48)		<i>E. durans</i> (n=32)		Toplam (n=272)	
		S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)
Antibiyotik											
1	VA	96(96)	4(4)	90(97.8)	2(2.2)	48(100)	0(0)	30(93.8)	2(6.2)	264(97.1)	8(2.9)
2	TEİ	96(96)	4(4)	90(97.8)	2(2.2)	48(100)	0(0)	30(93.8)	2(6.2)	264(97.1)	8(2.9)
3	AM	90(90)	10(10)	92(100)	0(0)	46(95.8)	2(4.2)	30(93.8)	2(6.2)	258(94.9)	14(5.1)
4	AN	74(74)	26(26)	80(87)	12(13)	36(75)	12(25)	26(81.3)	6(18.7)	216(79.4)	56(20.6)
5	B	80(80)	20(20)	88(95.7)	4(4.3)	38(79.2)	10(20.8)	24(75)	8(25)	230(84.6)	42(15.4)
6	E	70(70)	30(30)	60(65.2)	32(34.8)	34(70.8)	14(29.2)	20(62.5)	12(37.5)	184(66.2)	88(33.8)
7	GM	76(76)	24(24)	78(84.8)	14(15.2)	38(79.2)	10(20.8)	24(75)	8(25)	216(79.4)	56(20.6)
8	P	84(84)	6(6)	84(91.3)	8(8.7)	44(91.7)	4(8.3)	28(87.5)	4(12.5)	252(92.6)	20(7.4)

9	CFP	98(98)	2(2)	86(93.5)	6(6.5)	42(87.5)	6(12.5)	22(68.8)	10(31.2)	248(91.2)	24(8.8)
10	S	74(74)	26(26)	82(89.1)	10(10.9)	40(83.3)	8(16.7)	20(62.5)	12(37.5)	218(80.1)	54(19.9)
11	TE	70(70)	30(30)	76(82.6)	16(17.4)	32(66.7)	16(33.3)	22(68.8)	10(31.2)	200(73.5)	72(26.5)
12	SXT	98(98)	2(2)	90(97.8)	2(2.2)	46(95.8)	2(4.2)	28(87.5)	4(12.5)	262(96.3)	10(3.7)

Vankomisin (VA, 30 µg), Teikoplanin (TEİ, 30 µg), Ampisilin (AM, 10 µg), Amikasin (AN, 30 µg), Basitrasin (B, 10 µg), Eritromisin (E, 15 µg), Gentamisin (GM, 10 µg), Penisilin (P, 10 µg), Sefoperazon (CFP, 75 µg), Streptomisin (S, 10 µg), Tetrasiklin (TE, 30 µg), Trimetofrin-Sülfamethaksol (SXT, 1.25 ve 23.75 µg)

Tablo 6. İzole edilen Enterokok türlerinde belirlenen çoğul antibiyotik direnç patternleri

Antibiyotik sayısı	Antibiyotik direnç fenotipi	<i>E. faecalis</i> (n=100)	<i>E. faecium</i> (n=92)	<i>E. hirae</i> (n=48)	<i>E. durans</i> (n=32)	Toplam (n=272)
9	VA-AM-B-E-GM-P-CFP-S-SXT	1	-	-	1	2
8	AM-AN-GM-P-CFP-S-TE-SXT	1	1	-	-	2
7	AN-B-E-GM-CFP-S-SXT	1	-	-	1	2
5	AM-AN-E-P-S	1	1	-	-	4
	AN-B-GM-S-TE	1	-	1	-	4
4	AM-AN-E-GM	1	1	-	-	2
	AN-B-GM-TE	1	-	1	1	3
	AN-GM-S-TE	1	-	-	-	1
	AN-E-GM-S	1	1	1	-	3
	B-GM-P-TE	1	-	-	-	1
3	TEİ-B-TE	1	2	-	1	4
	AM-E-TE	1	-	-	-	1
	AM-GM-S	1	1	1	-	3
	AN-B-TE	1	1	1	1	4
	AN-P-TE	1	1	-	-	2
	AN-CFP-TE	1	-	1	1	3
	AN-S-TE	1	2	-	-	3
	B-E-GM	1	-	-	-	1
	B-E-P	1	-	1	-	2
	B-GM-TE	1	1	-	1	3

	B-S-TE	1	-	-	-	
	E-CFP-SXT	1	1	1	-	
2	VA-TEI	2	2	1	-	
	TEI-S	2	1	1	1	
	AM-AN	2	1	1	1	
	AN-E	2	1	2	1	
	AN-GM	1	2	2	1	
	AN-S	2	1	2	2	
	AN-TE	4	1	2	1	
	B-E	2	1	1	1	
	B-GM	2	1	1	1	
	B-S	4	1	1	1	
	E-GM	2	1	1	1	76
	E-P	1	2	1	1	
	E-S	6	1	2	1	
	E-CFP	4	1	1	2	
	E-TE	2	1	1	1	
	GM-S	2	1	2	1	
	GM-TE	1	2	3	1	
	P-SXT	4	1	2	1	
	CFP-TE	1	1	1	2	
	S-TE	4	1	2	1	
	Toplam	50	24	30	22	126
		%50	%26.1	%62.5	%68.8	%46.3

5. TARTIŞMA

Enterokoklar insan ve hayvan barsak florasının bir parçası olmaları, gıda sektöründe bazı türlerin çok güvenli olmasa da kullanılıyor olmasına rağmen, zaman zaman önemli hastalık vakalarından izole edilmektedirler. Enterokok türlerinin farklı kaynaklardan izolasyonu ve karakterizasyonu amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır (Boynukara ve ark., 2002; Gülhan ve ark., 2006; Çiftci ve Diker, 2009; Çiftci ve ark., 2009; Kojima ve ark., 2010; Gülhan ve ark., 2012). Ancak mandalarda enterokok türlerinin belirlenmesine yönelik çalışma sayısı yetersizdir.

Yabani ve evcil mandalarda yapılan çalışmalarda zoonoz karaktere de sahip pek çok etkenin varlığı ve yaygınlığı ortaya konulmuştur. Abort yapmış mandalara ait 17 lenf nodülünün 1'inde (%5.9) *Brucella abortus* (Fosgate ve ark., 2002), aborte fetüs materyallerinde *Leptospira* spp. (Marianelli ve ark., 2007); barsak içeriklerinde *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Dalto ve ark., 2012); manda dışkı örneklerinde *Yersinia pseudotuberculosis* (Hum ve ark., 1997); *Listeria monocytogenes* %4 (5/125, Chaudhari ve ark., 2004), *E. coli* %80 (20/25, Ahmadi ve ark., 2008), %55.6 (94/169, Nizza ve ark., 2010), %46 (23/50, Paul ve ark., 2010), %70.1 (220/314, Borriello ve ark., 2012), %81.4 (35/43, Rehman ve ark., 2014), Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) %27 (64/237, Vu-Khac ve Cornick, 2008), %6.6 (24/363, Mahanti ve ark., 2013), %6.8 (26/363, Mahanti ve ark., 2014), *E. coli* O157 %14.5, (42/289, Galiero ve ark., 2005), %14.4 (25/174, İslam ve ark., 2008), %3.8 (1/26, Yaghobzadeh ve ark., 2011), %18.6 (8/43, Rahimi, 2012), %88.6 (31/35, Katakweba ve ark., 2014), %59.4 (19/32, Naag ve ark., 2015); *E. coli* O157:H7 %3.7 (11/300, Şeker ve Yardımcı 2008); *Mycobacterium bovis* %17 (6/36, Jha ve ark., 2007); *Salmonella* %16.3 (49/300), *E. coli* %15.3 (46/300) (Khan ve ark., 2009), *Cohnella cellosilytica* sp. nov., (Khanngam ve ark., 2012), *Arcobacter cryaerophilus* %56.7 (17/30), *A. skirrowii* %6.7 (2/30), *A. butzleri* %3.3 (1/30) (Piva ve ark., 2013); burun svaplarında *L. monocytogenes* %2.4 (3/125, Chaudhari ve ark., 2004); *S. epidermidis* %48.8 (39/80), *S. aureus* %33.8 (27/80), *Mannheimia haemolytica* %25 (20/80), *E. coli* %16.2 (13/80), *P. multocida* %17.5 (14/80), *Neisseria* spp. %15 (12/80), *Bacillus* spp. %13.8 (11/80), *Micrococcus luteus* %12.5 (10/80), *Morexella bovis* %11.2 (9/80), *Arcanobacterium pyogenes* %7.5 (6/80), *C. bovis* %5 (4/80) (Şeker ve Yardımcı, 2010); akciğer örneklerinde *Mannheimia haemolytica* (Karimkhani ve ark., 2011) % 5.5 (6/110); idrar örneklerinde

E. coli %16.1 (5/31), *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* ve *S. epidermidis* %9.7 (3/31), *S. citris*, *Klebsiella* spp., ve *A. faecalis* %3.2 (1/31) (Kushwaha ve ark., 2012); pneumonik manda yavrularında *Pasteurella multocida* %12.8 (29/226), *S. pyogenes* %8.8 (20/226), *Klebsiella pneumoniae* ve *P. aeruginosa* %7 (16/229), *A. pyogenes* %5.8 (13/229), *S. pneumoniae* %5.3 (12/229), *E. coli* %4. (9/229), *S. aureus* %2.2 (5/229) (Enany ve ark., 2012); manda sütlerinde *Campylobacter hyointestinalis* %4.1 (8/196), *C. jejuni* %3.1 (6/196), *C. fetus* ssp. *fetus* ve *C. concisus* % 0.5 (1/196), *Arcobacter butzleri* %11.2 (22/196), *A. cryaerophilus* %7.1 (14/196) (Serraino ve ark., 2012); *Helicobacter pylori* (Rahimi ve Kheirabadi, 2012) %23.4 (15/64); *Staphylococcus aureus* %33.3 (40/120), *S. intermedius* %17.5 (21/120) (Pamuk ve ark., 2012); *Listeria innocua* ve *L. seeligeri* %5.9 (2/34, Rahimi ve ark., 2014); *A. cryaerophilus* %33.3 (8/24), *A. cibarius* %20.8 (5/24), *A. butzleri* %12.5 (3/24), *A. skirrowii* ve *A. cloacae* %8.3 (2/24), *A. nitrofigilis* ve *A. bivalviorum* %4.2 (1/24) (Yeşilmen ve ark., 2014); mastitisli süt örneklerinde *Streptococcus agalactia* %7 (6/86), *Corynebacterium pyogenes* ve *K. pneumoniae* %5.8 (5/102), *C. bovis* %4.7 (4/86), *Pseudomonas aeruginosa* %3.5 (3/86) (Das ve Joseph, 2005), *S. aureus* %18.3 (51/279), *S. epidermidis* %7.2 (20/279), *S. intermedius* %3.6 (10/279), *S. hyicus* %1.8 (5/279) (El Seedy ve ark., 2012); *S. aureus* %48.6 (34/70), *Micrococcus luteus* %15.7 (11/70), *Streptococcus dysgalactia* %11.4 (8/70), *E. coli* %10 (7/70), *S. uberis* ve *Pruteus vulgaris* %4.3 (3/70), *Bacillus cereus* %2.9 (2/70), *P. aeruginosa* ve *Citrobacter* spp. %1.4 (1/70) (Baloch ve ark., 2011); *E. coli* O157:H7 (Lye ve ark., 2013) %1.8 (1/56), sağlıklı uterus örneklerinden %21 (15/54) ve endometritis vakalarından %25 (3/12) *E. coli* (Yılmaz ve ark., 2012), karkas örneklerinden *L. monocytogenes* %2.4 (3/125, Chaudhari ve ark., 2004), *E. coli* O157 %5.2 (8/153, Hazarika ve ark., 2004), %9.5 (2/21, İslam ve ark., 2010), *P. multocida* %80 (16/20, Naz ve ark., 2012), *Aeromonas* spp. %69.6 (16/23, Manna ve ark., 2013), *E. coli* %8.8 (22/250, Shekh ve ark., 2013) *E. coli* O157:H7 %5.3 (2/38, Rahimi ve ark., 2012), %2 (3/150, Kshirsagar ve ark., 2014) izole ve identifiye edilmiştir.

Yapılan literatür incelemesinde, manda dışkılarından Enterokok türlerinin tespitine yönelik çalışma sayısının çok sınırlı olduğu görülmektedir (Thamacharoensuk ve ark., 2013; Katakweba ve ark., 2014). Diğer yandan, yürütülen çalışmalar daha çok manda sütlerinden Enterokok türlerinin belirlenmesine yöneliktir (Coppola ve ark.,

1988; Turanta ve ark., 1989; Villani ve ark., 1994; Teixeira ve ark., 1996; Andrighetto ve ark., 2001; Gelsomino ve ark., 2001). Mandalarda yapılan çalışmaların sınırlı kalmasının belki de en önemli nedenleri; mandaların spesifik coğrafik bölgelerde lokalize olması ve popülasyonunun ülkeden ülkeye değişkenlik göstermesinden kaynaklanabilir.

Yaban hayatındaki mandalarda gerçekleştirilen bir çalışmada (Thamacharoensuk ve ark., 2013) incelenen 2 adet dışkı örneğinden 1'inden (%50) *E. hirae* izole edilmiştir. Benzer bir araştırmada (Katakweba ve ark., 2014), 35 manda dışkısından 23'ü (%65.7) *Enterococcus faecium*, 4'ü (%11.4) *E. hirae* ve 2'si (%5.7) *E. faecalis* olmak üzere toplam 29 enterokok türü izole edilmiştir. İzolatların 15'i tetrasikline, 10'u sülfamataksasol+trimetoprim, 14'ünün eritromisine, 10'unun gentamisine ve 12'sinin de ampisiline dirençli olduğu bildirilmiştir.

Yüksek lisans tez projesi kapsamında gerçekleştirilen bu araştırmada, incelenen 1000 dışkı örneğinin 100'ünden (%10) *E. faecalis*, 92'sinden (%9.2) *E. faecium*, 48'inden (%4.8) *E. hirae* ve 32'sinden (%3.2) da *E. durans* olmak üzere, toplam 272 (%27.2) Enterokok izole ve identifiye edildi. İzole edilen suşlar vankomisin ve teikoplanine %2.9, trimetofrin-sülfametaksole %3.7, ampisiline %5.1, penisiline %7.4, sefoperazone %8.8, basitrasine %15.4, streptomisine %19.9, amikasin ve gentamisine %20.6, tetrasikline %26.5 ve eritromisine %33.8 oranında dirençli bulundu. İzole edilen 272 Enterokok suşunun 126'sında (%46.3) iki ve daha fazla antibiyotige direnç tespit edilmesi, çoğul antibiyotik dirençliliği açısından önemli olarak değerlendirildi.

Manda dışkılarından enterokok türlerinin ayrıntılı olarak araştırıldığı çalışmaya rastlanılmadığı için proje kapsamında bölgemizdeki manda popülasyonlarından izole edilen enterokok türleri ve izolasyon oranları detaylı olarak tartışılmadı. Ancak, konuyla ilgili bilgiye ulaşılan iki literatür (Thamacharoensuk ve ark., 2013; Katakweba ve ark., 2014) verisindeki oranların, bu çalışma bulgularında daha yüksek olduğu görüldü. Bu çalışmada manda dışkılarının klinik olarak sağlıklı hayvan popülasyonlarından elde edilmiş olması, diğer iki çalışma verileri ile farklılığı açıklayabilir. Diğer yandan çalışmalarda kullanılan metot ve örnek toplanan coğrafik bölge farklılıkları sonuçları etkileyebilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Antibiyotiklere dirençli Enterokok kökenli hastane enfeksiyonları güncelliğini korumaktadır. Bu açıdan antibiyotiklere dirençli diğer bakterilerle mücadelede olduğu gibi uygun koruma ve kontrol programlarının belirlenmesi önem arz etmektedir. Antibiyotiklere dirençli enterokok türlerinin insanlara bulaştırılmasında, insanlarla yakın temas halinde olan hayvanlar önemli rol oynamaktadır. Etkenlerde belirlenen çoğul antibiyotik dirençlilikleri, sadece kendi aralarında değil diğer etkenlere de dirençliliğin genetik olarak aktarılması, artan patojen özelliklerinin insan ve hayvan sağlığını yakından ilgilendirmesi nedeniyle konu ile ilgili daha ayrıntılı çalışmaların yapılmasını zorunlu hale getirmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile bölgemizde ilk kez Anadolu Mandalarına ait dışkı örneklerinde Enterokok türlerinin tespiti ve antibiyotik duyarlılık patternleri incelendi. Bölgemizde yetiştiriciliği yapılan mandalarda enterokok türlerinin dağılımı ve çeşitliliği ortaya konuldu. Diğer hayvan türlerinde yapılan çalışmalarda olduğu gibi baskın Enterokok türlerin, *E. faecalis* ve *E. faecium* olduğu görüldü. İzolatlar arasında en fazla dirençliliğin eritromisin ve tetrasikline olduğu belirlendi. İzole edilen 272 Enterokok suşunun 126'sında (%46.3) iki ve daha fazla antibiyotiğe direnç tespit edilmesi, çoğul antibiyotik dirençliliği açısından önemli olarak değerlendirildi. Daha ileri düzey çalışmalar ile mandalardan izole edilen bakterilerin direnç patternlerini ortaya konulması gerektiği kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

- Ahmadi M, Tokmechi A, Kazemnia A. Study of antimicrobial susceptibility and plasmid analysis of *Escherichia coli* in Iran, Urmia. J Vet Res, 2008; 63(2): 25-29.
- Andrighetto C, Knijff E, Lombardi A, Torriani S, Vancanneyt M, Kersters K, Swings J, Dellaglio F. Phenotypic and genetic diversity of enterococci isolated from Italian cheeses. J Dairy Res 2001; 68(2): 303-16.
- Baloch H, Rind R, Kalhoro DH, Kalhoro AB. Study on the incidence of clinical mastitis in buffaloes caused by bacterial species. Pak J Agri Agril Engg Vet Sci, 2011; 27(1): 83-93.
- Başustaoğlu A. Hayvan yemlerinde büyütme faktörü olarak kullanılan antibiyotiklerin direnç gelişimindeki rolü. Hastane İnfeksiyonları Dergisi, 2004; 8: 286-291.
- Borriello G, Lucibelli MG, De Carlo E, Auriemma C, Cozza D, Ascione G, Scognamiglio F, Iovane G, Galiero G. Characterization of enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), Shiga-toxin producing *E. coli* (STEC) and necrotoxicogenic *E. coli* (NTEC) isolated from diarrhoeic Mediterranean water buffalo calves (*Bubalus bubalis*). Res. Vet. Sci., 2012; 93: 18-22.
- Boynukara B, Ekin İH, Aksakal A, Gülhan T. İnsan, köpek ve kedi dışkılarından Enterokokların izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Dergisi, 2002; 2(1): 37-42.
- Bozdoğan B, Leclercq R. Effects of genes encoding resistance to streptogramins A and B on the activity of quinupristin-dalfopristin against *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Ch, 1999; 43(11): 2720-2725.
- Chaudhari SP, Malik SVS, Chatlod LR, Barbuddh SB. Isolation of pathogenic *Listeria monocytogenes* and detection of antibodies against phosphatidylinositol-specific phospholipase C in buffaloes. Comp Immun Microbiol Infect Dis, 2004; 27: 141-148.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2011). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement approved standard M100-S21. V 31, Wayne, PA PP: 76-79.
- Coppola S, Parente E, Dumontet S, Lapeccerella A. The microflora of natural whey cultures utilized as starters in the manufacture of Mozzarella Cheese from water-buffalo milk Lait, 1988; 68(3): 295-309.
- Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Microbiol Rev, 2000; 13: 686-707.

- Çetinkaya N, Genç B, Salman M. Samsun ili manda yetiştiriciliği. Erişim adresi: [www.samsunsempozyumu.org/Tam Metin Bildiriler](http://www.samsunsempozyumu.org/Tam%20Metin%20Bildiriler). 2012, AspX Erişim tarihi: 13.06.2012.
- Çiftçi A, Diker KS. The role of enterococcal virulence factors on experimental amyloid arthropathy in chickens. *FEBS J*, 2009; 276: 305.
- Çiftçi A, Fındık A, İça A, Baş B, Onuk EE, Güngördü S. Slime production and antibiotic resistance of *Enterococcus faecalis* isolated from arthritis in chickens. *J Vet Med Sci*, 2009; 71(6): 849-853.
- Çöleri A, Çökmüş C. Enterokok türlerinde glikopeptid grubu antibiyotiklere direncin moleküler mekanizmaları ve gen aktarım yolları. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 2008; 65(2): 87-96.
- Dalto AC, Bandarra PM, Pavarini SP, Boabaid FM, de Bitencourt APG, Gomes MP, Chies J, Driemeier D, da Cruz CEF. Clinical and pathological insights into Johne's disease in buffaloes. *Trop Anim Health Prod*, 2012; 44: 1899-1904.
- Das PK, Joseph E. Identification and antibiogram of microbes associated with buffalo mastitis in Jabalpur, Madhya Pradesh, India. *Buffalo Bulletin*, 2005; 24(1): 3-9.
- Domig KJ, Mayer HK, Kneifel W. Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus spp* 2. Pheno- and genotypic criteria *Int J Food Microbiol*, 2003; 88: 165-188.
- El Seedy FR, El-Shabrawy M, Hakim AS, Syame SF, Osman NM. Advanced techniques used for isolation and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic buffaloes. *Global Veterinaria*, 2012; 8(2): 144-152.
- Emborg HD, Andersen JS, Seyfarth AM, Wegener HC. Relations between the consumption of antimicrobial growth promoters and the occurrence of resistance among *Enterococcus faecium* isolated from broilers. *Epidemiol Infect*, 2003; 132: 95-105.
- Enany ME, Riad EM, Wahdan A. Bacterial causes of pneumonia in buffalo calves. *SCVMJ*, 2012; 17(2): 27-38.
- Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiol*, 2009; 155: 1749-1757.
- Fosgate GT, Adesiyun AA, Hird DW, Hietala SK, Ryan J. Isolation of *Brucella abortus* biovar 1 from cattle and water buffaloes on Trinidad. *Vet Rec*, 2002; 151: 272-273.
- Frye JG, Jackson CR. Genetic mechanisms of antimicrobial resistance identified in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, and *Enterococcus spp* isolated from US food animals. *Front Microbiol*, 2013; 4: 135.

- Galiero G, Conedera G, Alfano D, Caprioli A. Isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in southern Italy. *Vet Rec*, 2005; 156: 382-383.
- Gelsomino R, Vancanneyt M, Condon S, Swings J, Cogan TM. Enterococcal diversity in the environment of an Irish Cheddar-type cheese making factory. *Int J Food Microbiol*, 2001; 71(2): 177-188.
- Giraffa G. Functionality of enterococci in dairy products. *Int J Food Microbiol*, 2003; 88: 215-222.
- Gülhan T, Aksakal A, Ekin İH, Savaşan S, Boynukara B. Virulence factors of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolated from human and pets, *Turk J Vet Anim Sci*, 2006; 30: 477-482.
- Gülhan T, Boynukara B, Durmuş A, Kızıroğlu I, Sancak YC. Enteric bacteria and some pathogenic properties of *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* and *Escherichia coli* strains isolated from wild ducks and gulls. *Fresen Environ Bull*, 2012; 21(7): 1961-1966.
- Gürler H. Mandalarda mastitis ve süt verimine etkisi. *Lalahan Hay Araş Enst Derg*, 2012; 52(2): 47-52.
- Hazarika RA, Singh DK, Kapoor KN, Agarwal RK, Pandey AB, Rajkumar DN. Detection and characterization of verotoxin producing *Escherichia coli* (VTEC) isolated from buffalo meat. *J Food Safety*, 2004; 24: 281-290.
- Hayes JR, English LL, Carr LE, Wagner DD, Joseph SW. Multiple-antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. isolated from commercial poultry production environment. *Appl Environ Microbiol*, 2004; 70(10): 6005-6011.
- Hum S, Slattery S, Love SCJ. Enteritis associated with *Yersinia pseudotuberculosis* infection in a buffalo. *Aust Vet J*, 1997; 75(2): 95-97.
- İslam MA, Mondol AS, de Boer E, Beumer RR, Zwietering MH, Talukder KA, Heuvelink AE. Prevalence and genetic characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from slaughtered animals in Bangladesh. *Appl Environ Microbiol*, 2008; 74: 5414-5421.
- İslam MA, Mondol AS, Azmi İJ, de Boer E, Beumer RR, Zwietering MH, Heuvelink AE, Talukder KA. Occurrence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw meat, raw milk, and street vended juices in Bangladesh. *Foodborne Pathog Dis*, 2010; 7(11): 1381-1385.
- Jahan M, Holley RA. Transfer of antibiotic resistance from *Enterococcus faecium* of fermented meat origin to *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. *Letters in Applied Microbiol*, 2016; 62: 304-310.
- Jha VC, Morita Y, Dhakal M, Besnet B, Sato T, Nagai A, Kato M, Kozawa K, Yamamota S, Kimura H. Isolation of Mycobacterium spp. from milking buffaloes and cattle in Nepal. *J Vet Med Sci*, 2007; 69(8): 819-825.

- Karimkhani H, Zahraie Salehi T, Sadeghi Zali MH, Karimkhani M, Lameyi R. Isolation of *Pasteurella multocida* from cows and buffaloes in Urmia's Slaughter House. Archives of Razi Institute 2011; 66(1): 37-41.
- Katakweba AAS, Møller KS, Muumba J, Muhairwa AP, Damborg P, Rosenkrantz JT, Minga UM, Mtambo MMA, Olsen JE. Antimicrobial resistance in faecal samples from buffalo, wildebeest and zebra grazing together with and without cattle in Tanzania. J Appl Microbiol, 2014; 118: 966-975.
- Khan JA, Khan MS, Khan MA, Avais M, Maqbool A, Salman M, ur Rehman Z. Epidemiology of major bacterial and viral causes of diarrhoea in buffalo calves in three districts of the Punjab Province of Pakistan. Pakistan J Zool Suppl Ser, 2009; 9: 187-193.
- Khiangam S, Tanasupawat S, Akaracharanya A, Kim KK, Lee KC, Lee JS. *Cohnella cellulositytica* sp. nov., isolated from buffalo faeces. Int J Syst Evol Microbiol, 2012; 62: 1921-1925.
- Klare I, Konstabel C, Badstubner D, Werner G, Witte W. Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. Int J Food Microbiol, 2003; 88: 269-290.
- Kojima A, Morioka A, Kijima M, Ishihara K, Asai T, Fujisawa T, Tamura Y, Takahashi T. Classification and antimicrobial susceptibilities of *Enterococcus* species isolated from apparently healthy food-producing animals in Japan. Zoonoses Public Hlth, 2010; 57: 137-141.
- Kshirsagar DP, Sinha N, Brahmabhatt MN, Nayak JB. Detection of potentially pathogenic *E. coli* O157H7 in buffalo meat samples by conventional and molecular methods. Int J Livest Res, 2014; 4(2): 27-32.
- Kushwaha RB, Amarpal H, Aithal P, Kinjavdekar P, Rathore R. Bacterial isolation and antibiotic sensitivity test from urine of buffalo calves (*Bubalus bubalis*) affected with urethral obstruction. Buffalo Bull, 2012; 31(2): 71-73.
- Lemcke R, Bülte M. Occurrence of the vancomycin-resistant genes *vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2* and *vanC3* in *Enterococcus* strains isolated from poultry and pork. Int J Food Microbiol, 2000; 60: 185-194.
- Lopez M, Saenz Y, Martinez MJA, Marco F, Robredo B, Bezares BR, Larrea FR, Zarazaga M, Torres C. Tn1546 structures and multilocus sequence typing of vanA-containing enterococci of animal, human and food origin. J Antimicrob Chemoth, 2010; 65: 1570-1575.
- Lukášová J, Šustáčková A. Enterococci and antibiotic resistance. Acta Veterinaria Brno, 2003; 72(2): 315-323.
- Lye YL, Afsah-Hejri L, Chang WS, Loo YY, Puspanadan S, Kuan CH, Goh SG, Shahril N, Rukayadi Y, Khatib A, John YHT, Nishibuchi M, Nakaguchi Y, Son R. Risk of *Escherichia coli* O157:H7 transmission linked to the consumption of raw milk. Int Food Res J, 2013; 20(2): 1001-1005.

- Mahanti A, Samanta I, Bandopaddhay S, Joardar SN, Dutta TK, Batabyal S, Sar TK, Isore DP. Isolation, molecular characterization and antibiotic resistance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from buffalo in India. *Lett Appl Microbiol*, 2013; 56: 291-298.
- Mahanti A, Samanta I, Bandopaddhay S, Joardar SN, Dutta TK, Sar TK. Isolation, molecular characterization and antibiotic resistance of Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) and Necrotoxigenic *E. coli* (NTEC) from healthy water buffalo. *Vet Arhiv*, 2014; 84(3): 241-250.
- Manna SK, Maurye P, Dutta C, Samanta G. Occurrence and virulence characteristics of *Aeromonas* species in meat, milk and fish in India. *J Food Safety*, 2013; 33: 461-469.
- Marianelli C, Tarantino M, Astarita S, Martucciello A, Capuano F, Galiero G. Molecular detection of *Leptospira* species in aborted fetuses of water buffalo. *Vet Rec*, 2007; 161: 310-312.
- Marothi YA, Agrihotri H, Dubey D. Enterococcal resistance - an overview. *Indian J Med Microbiol*, 2005; 23: 214-219.
- Moreno MRF, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. The role and application of enterococci in food and health. *Int J Food Microbiol*, 2006; 106: 1-24.
- Murray BE. Diversity among multidrug-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis*, 1998; 4: 37-47.
- Naag D, Swamy M, Shrivastav AB. Detection of verotoxin producing strain of *E. coli* in buffalo calves. *Buffalo Bulletin*, 2015; 34(2): 227-229.
- Naz S, Hanif A, Maqbool A, Ahmed S, Muhammad K. Isolation, characterization and monitoring of antibiotic resistance in *Pasteurella multocida* isolates from buffalo (*Bubalus bubalis*) herds around Lahore. *J Anim Plant Sci*, 2012; 22(3): 242-245.
- Nizza S, Mallardo K, Marullo A, Iovane V, De Martino L, Pagnini U. Antibiotic susceptibility of haemolytic *E. coli* strains isolated from diarrhoeic faeces of buffalo calves. *Ital J Anim Sci*, 2010; 9:e26: 134-136.
- Olsen RH, Schönheyder HC, Christensen H, Bisgaard M. *Enterococcus faecalis* of human and poultry origin share virulence genes supporting the zoonotic potential of *E. faecalis*. *Zoonoses Public Hlth*, 2012; 59: 256-263.
- Pamuk Ş, Yıldırım Y, Seker E, Gürler Z, Kara R. A survey of the occurrence and properties of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* in water buffalo milk and dairy products in Turkey. *Int J Dairy Technol*, 2012; 65(3): 416-422.
- Paul SK, Khan MSR, Rashid MA, Hassan J, Mahmud SMS. Isolation and characterization of *Escherichia coli* from buffalo calves in some selected areas of Bangladesh. *Bangl J Vet Med*, 2010; 8(1): 23-26.

- Piva S, Serraino A, Florio D, Giacometti F, Pasquali F, Manfreda G, Zanoni RG. Isolation of *Arcobacter* species in water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Foodborne Pathog Dis*, 2013; 10(5): 475-477.
- Rahimi E. Prevalence and virulence genes of *Escherichia coli* O157:H7/NM isolated from the feces of water buffaloes, camels, cattle, sheep and goats in Iran. *Philipp J Vet Med*, 2012; 49(2): 96-102.
- Rahimi E, Kheirabadi EK. Detection of *Helicobacter pylori* in bovine, buffalo, camel, ovine, and caprine milk in Iran. *Foodborne Pathog Dis*, 2012; 9(5): 453-456.
- Rahimi E, Kazemeini HR, Salajegheh M. *Escherichia coli* O157:H7/NM prevalence in raw beef, camel, sheep, goat, and water buffalo meat in Fars and Khuzestan provinces, Iran. *Vet Res For*, 2012; 3(1): 13-17.
- Rahimi E, Momtaz H, Behzadnia A, Baghbadorani ZT. Incidence of *Listeria* species in bovine, ovine, caprine, camel and water buffalo milk using cultural method and the PCR assay. *Asian Pac J Trop Dis*, 2014; 4(1): 50-53.
- Raponi G, Ghezzi MC, Gherardi G, Lorino G, Dicuonzo G. Analysis of methods commonly used for glycopeptide and oxazolidinone susceptibility testing in *Enterococcus faecium* isolates. *J Med Microbiol*, 2010; 59(6): 672-678.
- Rehman MU, Rashid M, Sheikh JA, Bhat MA. Molecular epidemiology and antibiotic resistance pattern of Enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from bovines and their handlers in Jammu, India. *J Adv Vet Anim Res*, 2014; 1(4): 177-181.
- Sarıözkan S. Türkiye'de manda yetiştiriciliğinin önemi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2011; 17: 163-166.
- Serraino A, Florio D, Giacometti F, Piva S, Mion D, Zanoni RG. Presence of *Campylobacter* and *Arcobacter* species in in-line milk filters of farms authorized to produce and sell raw milk and of a water buffalo dairy farm in Italy. *J Dairy Sci*, 2012; 96: 2801-2807.
- Sharifi Y, Hasani A, Ghotaslou R, Naghili B, Aghazadeh M, Milani M, Bazmani A. Virulence and antimicrobial resistance in enterococci isolated from urinary tract infections. *Adv Pharm Bull*, 2013; 3(1): 197-201.
- Shekh CS, Deshmukh VV, Waghmare RN, Markandeya NM, Vaidya MS. Isolation of pathogenic *E. coli* from buffalo meat sold in Parbhani city, Maharashtra, India. *Vet World*, 2013; 6(5): 277-279.
- Smith PF, Booker BM, Ogundele AB, Kelchin P. Comparative in vitro activities of daptomycin, linezolid, and quinupristin/dalfopristin against Gram-positive bacterial isolates from a large cancer center. *Diagn Microbiol Infec Dis*, 2005; 52(3): 255-259.

- Sun J, Sundsfjord A, Song X. *Enterococcus faecalis* from patients with chronic periodontitis: virulence and antimicrobial resistance traits and determinants. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012; 31: 267-272.
- Şeker E, Yardımcı H. First isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from faecal and milk specimens from Anatolian water buffaloes (*Bubalus bubalus*) in Turkey. *J S Afr Vet Assoc*, 2008; 79: 167-170.
- Şeker E, Yardımcı H. The aerobic bacterial flora of the nasal cavity in healthy Anatolian water buffalo calves. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 2010; 57: 65-67.
- Teixeira LM, Merquior WLC, Vianni MCE, Carvalho MGS, Fracalanza SEL, Steigerwalt AG, Brenner DJ, Facklam RR. Phenotypic and genotypic characterization of atypical *Lactococcus gawieae* strains isolated from water buffaloes with subclinical mastitis and confirmation of *L. gawieae* as a senior subjective synonym of *Enterococcus seriolicida*. *Int J Syst Bacteriol*, 1996; 46(3): 664-668.
- Tendolkar PM, Baghdayan AS, Gilmore MS, Shankar N. Enterococcal surface protein, esp, enhances biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. *Infect Immun*, 2004; 72: 6032-6039.
- Thamacharoensuk T, Thongchul N, Taweechoitipatr M, Tolieng V, Kodama K, Tanasupawat S. Screening and characterization of lactic acid bacteria from animal faeces for probiotic properties. *Thai J Vet Med*, 2013; 43(4): 541-551.
- Turanta F, Unluturk A, Goktan D. Microbiological and compositional status of Turkish white cheese. *Inter J Food Microbiol*, 1989; 8(1): 19-24.
- Villani F, Coppola S. Selection of enterococcal strains for water-buffalo Mozzarella cheese manufacture. *Ann Microbiol Enzimol*, 1994; 44: 97-105.
- Vu-Khac H, Cornick NA. Prevalence and genetic profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from buffaloes, cattle, and goats in central Vietnam. *Vet Microbiol*, 2008; 126: 356-363.
- Whitman WB, Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Ludwig W, Suzuki KI. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed, vol 5, parts A and B, Springer-Verlag, New York, NY. 2012.
- Wolter N, Smith AM, Farrell DJ, Schaffner W, Moore M, Whitney CG, Jorgensen JH, Klugman KP. Novel mechanism of resistance to oxazolidinones, macrolides, and chloramphenicol in ribosomal protein L4 of the *Pneumococcus*. *Antimicrob Agents Ch*, 2005; 4: 3554-3557.
- Yaghobzadeh N, Ownagh A, Mardani K, Khalili M. Prevalence, molecular characterization and serology of Shiga toxin producing *Escherichia coli* isolated from buffaloes in West Azerbaijan, Iran. *Int J Vet Res*, 2011; 5(2): 113-117.

- Yeşilmen S, Vural A, Erkan ME, Yıldırım IH. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Arcobacter* species in cow milk, water buffalo milk and fresh village cheese. *Int J Food Microbiol*, 2014; 188: 11-14.
- Yılmaz O, Kuyucuođlu Y, Sevimli A, Yazıcı E, Uçar M. Uterine microbiology and histopathology in repeat breeder Anatolian Water Buffaloes: An abattoir study. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2012; 18(5): 791-798.
- Zırakzadeh A, Patel R. Vancomycin-resistant enterococci: colonization, infection, detection, and treatment. *Mayo Clin Proc*, 2006; 81: 529-536.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Sezen AK

Doğum Yeri: Altındağ / ANKARA

Doğum Tarihi: 13.06.1987

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): Lisans, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi /
2010

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Bafra İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü /
2013 -...

E-posta: sezenbaysan@hotmail.com