

**T.C  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TAVUKLARIN ARTHRİTİS VE TENOSYNOVİTİS OLGULARINDAN  
ENTEROCOCCUS İZOLASYONU**

**Nevin OKTAY**

**( DOKTORA TEZİ )**

**Bursa-2007**



**T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TAVUKLARIN ARTHRİTİS VE TENOSYNOVİTİS OLGULARINDAN  
ENTEROCOCCUS İZOLASYONU**

**Nevin OKTAY**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Danışman: Prof. Dr. K.Tayfun ÇARLI**

**Bursa-2007**

## İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET .....	III
İNGİLİZCE ÖZET .....	IV
GİRİŞ .....	1
GENEL BİLGİLER .....	3
GEREÇ VE YÖNTEM .....	15
GEREÇ .....	15
1. Tavuklarda Lezyonlu Eklem Doku Örnekleri.....	15
2. Standart Suşlar.....	15
3. İzolasyon Besiyerleri.....	15
4. Biyokimyasal Test Besiyerleri .....	16
5. Virulens Testlerinde Kullanılan Besiyerleri.....	16
6. Membran Filtre-Minisart .....	17
YÖNTEM .....	17
1. <i>Enterococcus</i> ve Diğer Aerobik Bakterilerin İzolasyonu .....	17
2. İdentifikasyon Yöntemleri .....	17
3. Virulens Faktörlerinin Belirlenmesi.....	17
4. Agregasyon Maddesi Tespiti.....	18
5. Sitolizin.....	18
6. Jelatinaz.....	18
7. Sonuçların İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	19
BULGULAR.....	20
1. <i>Enterococcus</i> İzolasyon Sıklığı.....	20
2. <i>S.aureus</i> ve <i>E.coli</i> İzolasyon Sıklığı.....	20
3. Virulens Faktörleri.....	24
4. Agregasyon Maddesi.....	24
5. Sitolizin.....	24
6. Jelatinaz.....	25
7. İstatiksel Analiz.....	25
TARTIŞMA.....	26
KAYNAKLAR .....	30
TEŞEKKÜR .....	37

ÖZGEÇMİŞ .....	38
----------------	----

## ÖZET

### Tavukların Arthritis ve Tenosynovitis Olgularından *Enterococcus* İzolasyonu

Bu çalışmada, tavukların arthritis olgularından *Enterococcus* türlerinin izolasyonu amaçlandı. 121 adet ticari broyler, 18 adet etlik damızlık ve 11 adet yumurtacı damızlık tavuk olmak üzere toplam 150 adet tavuğun eklem doku örneği bakteriyolojik olarak incelendi. Yüz elli adet eklem numunesinin 48 (%32) adedinden *Enterococcus* sp izole edildi. İzolatların 37 adedi *Enterococcus faecalis*, 11 adedi *Enterococcus faecium* olarak API20 Strep test kiti (Biomérieux) ile tanımlanmıştır. Ayrıca, eklem doku örneklerinin 42 (%28) adedinden *Escherichia coli* ve 33 (%22) adedinden *Staphylococcus aureus* izole edilirken, 56 adet eklem doku örneğinden herhangi bir bakteri izolasyonu yapılamadı. *Enterococcus* türlerinin hiçbirisi jelatinaz aktivitesi göstermedi. Sadece bir adet *Enterococcus faecalis* izolatu, sitolizin ve agregasyon maddesi yönünden pozitif bulundu.

**Anahtar Sözcükler:** *Enterococcus*, tavuk, arthritis, tenosynovitis

## SUMMARY

### **Enterococcus Isolation From Arthritis and Tenosynovitis Cases Of Chickens**

In this study, isolation of *Enterococcus* species from arthritis cases of chicken has aimed. A total of 150 articular tissue samples of which 121 samples were from commercial broilers, 18 from broiler breeders, and 11 from layer breeders, was bacteriologically examined. Forty eight *Enterococcus* strains were isolated from these 121 clinical samples. Thirty isolates were identified as *Enterococcus faecalis* by using API20 strep test kit (Biomérieux) while the other 11 were *E. faecium*. In addition, 42 (%28) *Escherichia coli* and 33 (%22) *Staphylococcus aureus* were isolated from articular tissue samples while no bacterium was detected from the remaining 56 samples. None of the *Enterococcus* isolates showed gelatinase activity. Only one *E. faecalis* isolate was found to be positive for cytolysin and aggregation substance production.

**Key Words:** *Enterococcus*, chicken, arthritis, tenosynovitis

## GİRİŞ

Kanatlı hayvanlarda akut veya kronik formda seyreden arthritits ve tenosynovitis lezyonları nedeniyle bacaklarda gelişen güçsüzlük ve buna bağılı olarak şekillenen topallık olguları, neden oldukları ölüm, dehidrasyon, gelişme gerilikleri ve performans düşüklüğünden dolayı kanatlı endüstrisinde önemli ekonomik kayıplara neden olur. Amerika Birleşik Devletleri'nde ticari broylerlerde iskelet problemleri nedeniyle yıllık bazda ekonomik kaybın 80-120 milyon USD arası; hindilerde ise 32-40 milyon USD arasında olduğu hesaplanmıştır (1-3). Kanada'da ise ticari broyler sürülerinde iskelet anormalliklerinin insidensinin %1.72 olduğu ve bunun %1.10'unun sahada öldüğü ve geriye kalan %0.62'sinin ise kesim aşamasında selekte edildiği rapor edilmiştir (2-4).

Tavuklarda arthritits ile seyreden Femur Başı Nekrozu (Femoral Head Necrosis-FHN) olguları ve tenosynovitis olguları, 1972 yılında ilk defa rapor edildiğinden beri, günümüzde de topallıkların en önemli nedeni olarak tanımlanmaktadır. İngiltere'de FHN'nin, ticari broyler endüstrisine satış fiyatı üzerinden 3.78 milyon Pound zarara neden olduğu hesaplanmıştır (2). Yapılan çalışmalarda, FHN olgularından başta *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) olmak üzere, koagulaz negatif *Staphylococcus* türleri, *Escherichia coli* (*E.coli*), *Mycobacterium avium* gibi bakteriler (3) ile Infeksiyöz Laryngotracheitis (ILT) virüsü gibi virüsler izole edilmiştir (5). Ancak *Enterococcus* türlerinin izolasyonu üzerine oldukça az sayıda bilgi mevcuttur.

*Enterococcus* türleri, insanlarda ve çeşitli hayvan türlerinde değişik infeksiyonlara neden olmaktadır. *Enterococcus* türleri, günümüzde insanlarda nozokomiyal üriner sistem ve cerrahi yara infeksiyonlarından en sık izole edilen ikinci patojen, bakteriyemide ise en yaygın görülen üçüncü etkidir (6). Kanatlı hayvanlarda ise, septisemi ve eklem lezyonlarına iştirak ederek ciddi boyutta ekonomik kayıplara neden oldukları bildirilmiştir (7, 8). Literatürlerde *Enterococcus* türlerinin kanatlı hayvanlarda daha ziyade eklemelerde amiloid birikimi ile karakterize ve arthritits ile seyreden amyloid arthropathy'ye neden oldukları üzerinde durulmuş ve ilk olarak 1994 yılında *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*)'in sadece kahverengi yumurtacı tavuklarda amyloid arthropathy'ye neden olduğu, bu konuda en çok deneysel çalışmaları olan Landman tarafından bildirilmiştir (9). Yumurtacı tavukların yanı sıra broyler damızlık tavuklarda da unilateral amyloid arthropathy görülmüş ve *E.faecalis* izole edilmiştir (10). Oldukça az sayıda yapılan bu deneysel çalışmalar, *Enterococcus* türlerinin önemli arthritits etkenleri arasında olabileceğini göstermektedir. Literatür taramalarında ticari broyler, yumurtacı damızlık ve

broyler damızlık tavukların arthritise neden olan FHN olgularında *Enterococcus* türlerinin sıklığını rapor eden bir çalışma mevcut değildir.

Bu çalışmanın amacı, ticari broyler, broyler damızlık ve yumurtacı damızlık tavuklarda FHN olgularının neden olduğu klinik arthritis ve tenosynovitis lezyonlarından, amyloid arthropathy'nin potansiyel etkeni olarak düşünülen *Enterococcus* türlerinin izolasyonunun ve tür düzeyinde identifikasyonunun yapılmasıdır.



## GENEL BİLGİLER

*Enterococcus* izolasyonu ilk olarak 1899 yılında Fransız mikrobiyolog Thiercelin tarafından yapılmıştır. 1906 yılında, izolatın adı Andrewes ve Horder tarafından *Streptococcus faecalis* (*S.faecalis*) olarak değiştirilmiştir. Lancefield'in 1933 yılında yaptığı serolojik tiplendirme sistemine göre *Enterococci* grup D'ye karşı presipitasyon reaksiyonu vermişlerdir. 1937 yılında ise *Streptococcus*'lar, 4 gruba ayrılmış ve terim olarak *Enterococcus*, fekal *Streptococcus* ve grup D *Streptococcus* eş anlamda kullanılmıştır. *S.faecalis* ve *Streptecoccus faecium*'un *Streptococcus* genusundan değişik bir genetik yapıya sahip olmaları nedeniyle farklı bir genusa alınmalarını ilk olarak 1970 yılında Kalina adında bir bilim adamı önermiştir (11). 1984 yılında ise bu *Streptococcus* türleri Schleifer ve Kilpper-Balnz tarafından *Enterococcus* cinsi olarak ayrılmıştır (12, 13). Günümüzde *Enterococcus* cinsine dahil 26 türün bulunduğu ve tanımlanan türlerin fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinde farklılıklar bulunduğu bildirilmiş olup, *Enterococcus* türleri 16S rRNA sekans bilgilerine göre tür gruplarına ayrılmıştır. *E. faecalis* tür grubu, *E.faecalis*, *Enterococcus haemoperoxidus* ve *Enterococcus oraviensis*'den; *Enterococcus faecium* (*E.faecium*) tür grubu, *E.faecium*, *Enterococcus durans* (*E.durans*), *Enterococcus hirae* (*E.hirae*), *Enterococcus mundtii* (*E.mundtii*), *Enterococcus porcinus* ve *Enterococcus villorum*'dan; *Enterococcus avium* (*E.avium*) tür grubu, *E.avium*, *Enterococcus pseudoavium*, *Enterococcus malodoratus* (*E.malodoratus*) ve *Enterococcus raffinosus* (*E.raffinosus*)'dan *Enterococcus casseliflavus* (*E.casseliflavus*) tür grubu, *E.casseliflavus*, *Enterococcus gallinarum* (*E.gallinarum*) ve *Enterococcus flavescens* (*E.flavescens*); *Enterococcus cecorum* (*E.cecorum*) tür grubu, *E.cecorum* ve *Enterococcus columbia* (*E.columbia*)'dan; *Enterococcus dispar* tür grubu, *Enterococcus dispar* ve *Enterococcus asini* (*E.asini*)'den ve *Enterococcus saccharolyticus* (*E.saccharolyticus*) tür grubu, *E.saccharolyticus* ve *Enterococcus sulfureus*'dan oluşmaktadır. *Enterococcus gilvus*, *Enterococcus pallens*, *Enterococcus ratti* ve *Enterococcus solitarius* gibi diğer *Enterococcus* türleri resmi olarak yayımlanmasına rağmen, moleküler bilgilerine göre bu türler *Tetragenococcus* genusuna dahil edilmiştir (13). Bunun yanında üç yeni tür olan *Enterococcus azikeevi*, *Enterococcus phoeniculicola* ve *Enterococcus rottae* önerilmiş, fakat henüz resmi olarak yayınlanmamıştır. *Enterococcus seriolicida* türü, *Enterococcus* genusunun dışında bırakılarak, *Lactococcus garvieae* olarak yeniden sınıflandırılmıştır (14).

*Enterococcus* türleri, mikroskop altında tekli, ikili yada kısa zincirler halinde gözlenen, fakültatif anaerob, Gram pozitif koklardır. Gram pozitif kok morfolojisinde olan *Staphylococcus* ve *Micrococcus* cinslerinden katalaz reaksiyonlarının negatif olmasıyla ayrılır. Eğer serotiplendirme mümkün değilse, *Pediococcus*, *Lactococcus* ve *Tetragenococcus* gibi diğer koklardan ayırımı oldukça zordur (13). *E.casseliflavus*, *E.flavescens* ve *E.gallinarum* dışında diğer tüm *Enterococcus* türleri hareketsizdir. Ancak, Chen ve arkadaşları (15), *E.gallinarum* suşlarının %8'in üzerinde hareketsiz olduğunu belirtmişlerdir. *Enterococcus* türlerinin bazıları, koloni morfolojilerine ve biyokimyasal niteliklerine göre farklılıklar gösterebilmektedir. *E.casseliflavus* ve *E.mundtii* türleri bitki orjinlidir ve kolonileri sarı pigment oluştururken; *E.avium* ve *E.malodoratus* türleri de H<sub>2</sub>S oluşturmaktadırlar(13, 16). *E.cecorum*, *E.columbia* ve *E.saccharolyticus* dışındaki türler, pirolidonil-naftilamidi (PYR), tüm türler lösin-naftilamidi (LAP) hidrolize etmektedir. *Enterococcus* türlerinin sitokrom enzimleri olmadığı gibi glikozdan da gaz oluşturmamaktadır (17). *Enterococcus* türleri 10-45 °C sıcaklık aralığında, pH 9.6'da, %6.5'lük tuz konsantrasyonunda üreyebilmekte ve %40'luk safra varlığında eskulini hidrolize edebilmektedirler. Çevresel koşullara son derece dayanıklı olup, 60 °C'de 30 dakika canlı kalabilmektedirler (16, 18-20). Sodyum asit ve safra tuzu, çoğu mikroorganizmaların üremesini inhibe ederken, *Enterococcus* türlerinin bu maddelere karşı tolerans göstermeleri sebebiyle bu maddeler besiyerlerinde selektif ajan olarak kullanılmaktadır (19). *Enterococcus* türleri +4 ile +18° C'de üreme özelliğine sahiptirler ve pastörizasyon sıcaklığına dayanıklı olabilirler (16, 21). *Enterococcus*'lar bu özellikleri ile diğer *Streptococcus* türlerinden ayrılırlar. Her iki genus birbirinden DNA-DNA, DNA-rRNA ve 16S RNA dizilerindeki farklılıkların gösterimiyle ayrılmıştır (18). *Enterococcus*'lar, birkaç vitamin ve aminoasit gereksinim duymaları sebebiyle besiyerlerinde kolaylıkla üreyemez. Çevresel kaynaklar, insan ve hayvan dışkıları gibi çeşitli materyallerden *Enterococcus* türü bakterilerin izolasyonu için çeşitli besiyerleri önerilmiştir. Bunlar arasında SB (Slanetz-Bartley) agar, CATC (Citate-Azide-Tween-Carbonate) agar, KAA (Kanamycin-Aesculin-Azide) agar, BEA (Bile Aesculin Azide) agar gibi besiyerlerinin, kontamine materyallerden *Enterococcus* türlerinin izolasyonu için kullanılabileceği bildirilmiştir (12, 13, 22). Kontamine materyallerden *Enterococcus* cinsini ayırma yeteneğinde olduğu için selektif *Enterococcus* agar sıklıkla önerilmektedir (12). Günümüzde çeşitli materyallerden *Enterococcus*'ların izolasyonu için kullanılan selektif besiyerlerinin yüzlerce modifikasyonu bulunmaktadır (22). BEA besiyerinde *Enterococcus* kolonileri kahverengi-siyah renkte ve etrafı haleli olarak üremektedir. Ticari

broyler örneklerinden *Enterococcus* türlerinin izolasyonu ve selektif sayımı amacıyla kromojenik *Enterococcus* selektif besiyeri (Chromocult Enterococci Agar) (Merck, 1.00950.0500) geliştirilmiştir. Miranda ve arkadaşları (23), bu besiyerinde *Enterococcus* kolonilerinin 1-1.5 mm çapında ve parlak kırmızı renkte olduğu ve besiyerinin izolasyon duyarlılığının %98 olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, BHIA (Brain Heart Infusion Agar) ve TSB (Trypticase Soy Broth) gibi selektif olmayan besiyerleri kullanıldığında bol miktarda ve hızlı üremektedirler (12). Besiyeri tiplerinin olduğu kadar inkubasyon sıcaklığının da *Enterococcus* türlerinin identifikasyonları ve antibiyotik duyarlılıkları üzerine etkisi olduğu bildirilmektedir. Jackson ve arkadaşları (24), yaptıkları bir çalışmada *E.faecalis* izolatlarının M-*Enterococcus* agarda (Difco, 274610) 37 °C’de, *E.faecium* izolatlarının ise Enterococcosel agarda (Difco, 212205) 45 °C’de daha iyi ürediklerini bildirmişlerdir.

*Enterococcus* türleri, insanların ve hayvanların genital kanallarında, normal barsak florasında ve aynı zamanda insan ve hayvanların dışkı materyalleri ile kontamine olmuş çevrede sıklıkla bulunmaktadır (13, 16, 17, 20, 25). İnsanların barsak florasından en sık olarak *E.faecalis* ve *E.faecium* izole edilmesine karşın kanatlı hayvanlar, sığır, domuz gibi hayvanların barsak florasından en sık *E.faecium* izole edilmiştir. *Enterococcus*’ların diğer türleri olan *E.gallinarum*, *E.avium*, *E.durans* daha nadir olarak barsaklardan izole edilmiştir (13). Barsak içeriklerinde 10<sup>8</sup> CFU sayısına kadar bulunabilmektedirler (19, 26). *Enterococcus*’lar, canlılar dışında, tatlı ve tuzlu sulardan da izole edilmiş ve suyun bakteriyolojik kalitesi için indikatör bakteri olarak tanımlanmıştır (27). Bu doğrultuda *Enterococcus*’ların kabul edilebilir seviyelerin üzerindeki varlığı insan veya hayvan kaynaklı dışkı bulaşmasını göstermektedir. Harwood ve arkadaşları (27) tarafından *Enterococcus* türleri içinde, özellikle *E. faecalis*’in, tatlı ve tuzlu sulardan en çok izole edilen bakteri olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca Wilson ve arkadaşları (28) tarafından içme sularında vankomisine dirençli *Enterococcus* türlerinin araştırılmasına yönelik yapılan çalışmada, içme sularından vankomisine dirençli *Enterococcus* türleri izole edilmemiştir.

*Enterococcus*’lar nozokomiyal infeksiyonların en önemlisi olup, nozokomiyal infeksiyonların %12’sinden sorumludur (6,18, 19, 29). Bir insan patojeni olarak düşünülmektedir (30). İnsanlarda sıklıkla üriner sistemi, kan dolaşımını, endokardiyum’u, abdomen’i, safra kanalını, yanık yaralarını, bunun yanında merkezi sinir sistemini, akciğerleri, yumuşak dokuları, paranasal sinusları, kulak, göz ve peridontal dokuları da infekte edebilir (19, 20, 31, 32). Amerika Birleşik Devletleri’nde yıllık bazda yaklaşık 110.000 adet üriner sistem infeksiyonlarından, 25.000 adet bakteriyemi vakasından, 40.000

adet yara infeksiyonlarından ve 1100 adet endokardit vakasından *Enterococcus* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir (19). Kan kültürlerinden izole edilen *Enterococcus*'ların %69.9'unun gerçek bakteriyemi etkeni, bunların da %79.9'unun nozokomiyal olduğu belirtilmiştir (33). Gram pozitif patojenler arasında, *Enterococcus* türleri en yüksek ölüm riskini oluşturan bakterilerdir ve *Enterococcus* nedeni septisemilerde ölüm %4 ile % 50 arasında değişmektedir (32). İnfeksiyonlardan en sık izole edilen *Enterococcus* türleri ise *E.faecalis* ve *E.faecium* olup (19, 20, 32, 34) diğer türlerine daha nadir de olsa rastlanılmıştır. Sandoe ve arkadaşları (35), *E.raffinosis*'un yaşlı bir insanda vertebral osteomyelitis'e neden olduğunu rapor etmişlerdir. *Enterococcus* türleri, bakteriyel meningitisin alışılmamış etkenleri olduğu halde, 2005 yılında Iaria ve arkadaşları (36), İtalya'da 77 yaşındaki bir kadında tesbit edilen bir meningitis vakasında bir ilk olarak *E.casseliflavus* izole edildiğini rapor etmişlerdir. Türkiye'de ise İnan ve arkadaşları (37), bir meningitis vakasından vankomisine dirençli *E. faecium*'un izole edildiğini rapor etmişlerdir. Yine 2005 yılında Mohanty ve arkadaşları (38), 19 yaşındaki bir gençte tespit edilen beyin apsesinden ilk kez *E.avium* izole etmişlerdir. Hsueh ve arkadaşları (39), karaciğer sirozu olan 60 yaşında bir hastanın peritonitis vakasından *E.cecorum*'u izole etmişlerdir.

Vankomisine dirençli *Enterococcus*'lar, ilk olarak Avrupa'da glikopeptid antibiyotik olan ve büyütme faktörü olarak kullanılan avoparcin ile beslenen hayvanlarda, ardından etlerde, çevrede ve sağlıklı insanlarda rapor edilmiştir (21, 30, 40, 41). Avoparcin'in kullanımı, Avrupa Birliği tarafından 1997 yılında (28, 41); Yeni Zellanda'da ise 2000 yılında (42) durdurulduktan sonra, insan ve hayvanların dışkı numunelerinde vankomisine dirençli *Enterococcus*'ların prevalansında düşüş olduğu rapor edilmiştir. Manson ve arkadaşları (41), Yeni Zellanda'da 147 kanatlı çiftliği içinde vankomisine dirençli *Enterococcus*'ların prevalansının yaklaşık %5.8 olduğunu bildirmişlerdir. Pristinamisine ve virjinamisine, avoparcin gibi antibiyotikler hayvan yemlerinde büyütme faktörü olarak yıllardır kullanılmakta olduğundan, insanlardan ve hayvanlardan pristinamisine dirençli *Enterococcus* türleri izole edilmektedir (40). Kanatlı hayvan ürünleri, insanlara gıda zinciri yolu ile geçen vankomisine dirençli *Enterococcus* infeksiyonlarının en önemli kaynağıdır (28, 30, 42, 43). Robredo ve arkadaşları (30), İspanya'da Ekim 1997 ve Haziran 1998 tarihleri arasında 18 farklı süpermarketten temin edilen tavuk ürünlerini, vankomisine dirençli *Enterococcus*'lar yönünden incelemiş ve %27.2 oranında vankomisine dirençli *Enterococcus* türü rapor etmişlerdir.

Genel olarak *Enterococcus* infeksiyonları aminoglikozidler ve penisilinlerle tedavi edilmektedirler. Glikopeptidler; özellikle vankomisin, penisilinlere karşı hassasiyeti olan hastalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak *Enterococcus* türlerinin penisilin ve aminoglikozidlere karşı artan oranda direnç göstermeleri, ayrıca kullanımda olan tüm antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilme özellikleri, bu bakterilere bağlı infeksiyonların tedavisinde problemler yaratmaktadır (43). Buna karşın Kaçmaz ve Aksoy (44), Türkiye’de *Enterococcus* türlerinin antimikrobiyel dirençlilikleri üzerine yaptıkları çalışmada *Enterococcus* suşlarının hiçbirinin glikopeptidlere karşı dirençli olmadığını ve *E.faecalis*’in penisilin ve ampisiline karşı diğer türlerden daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Portekiz’de Poeta ve arkadaşları (45), tarafından yapılan çalışmada, kanatlı hayvanların dışkı numunelerinden izole edilen *Enterococcus* türlerinin %10.5 oranında ampisiline, %97 oranında tetrasiklinlere, %87.5 oranında eritromisine ve %16 oranında kloramfenikole yüksek düzeyde dirençli oldukları bulunmuştur. Yoshimura ve arkadaşları (40), ticari broyler ve yumurtacı tavukların dışkı swap numunelerinden izole edilen *Enterococcus* türlerinin 9 adet antimikrobiyel ajana ve 6 adet büyütme faktörü olarak kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını analiz etmişler ve araştırmanın sonuçlarına göre, ampisilin, clindamisin, eritromisin, streptomisin, tetrasiklin ve tylosin gibi terapötik antimikrobiyel ajanlara karşı kazanılan direncin, ticari broylerlerde, yumurtacı tavuklara göre daha yoğun olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada avilamisin, salinomisin, virjinamisin gibi büyütme faktörü olarak kullanılan antibiyotiklere karşı kazanılan direnç, yine ticari broylerlerden izole edilen izolatlar arasında oldukça yaygın bulunmuş ve ticari broylerlerden izole edilen *E.faecium* izolatlarının %12.4’ü avilamisine ve %27.4’ü virjinamisine dirençli, tüm *Enterococcus* türleri salinomisine dirençli bulunmuştur.

Günümüzde *Enterococcus* türlerinde bilinen ve VanA, VanB, VanC, VanD ve VanE olmak üzere isimlendirilen 5 fenotipik glikopeptid direnci tanımlanmıştır (15, 28, 46). VanA fenotipi ilk kez 1988 yılında İngiltere ve Fransa’da tanımlanmış olup; halen en sık rastlanan direnç formudur. VanA ve VanB direnç fenotipleri kazanılmış direnç özelliğindedir. VanC fenotipi ise bazı hareketli *Enterococcus* türlerine ait intrinsek özelliktir ve yapısal olarak eksprese edilir. VanA tipindeki *Enterococcus* türlerinde vankomisin ve teikoplanine indüklenebilir tipte direnç söz konusudur. Direnç, konjugasyon yoluyla duyarlı *Enterococcus*’lara transfer edilebilir. Bu fenotipin ekspresyonu için gerekli ve yeterli genler 11 kb’lik Tn1546 transpozonunda yer almaktadır. *Enterococcus* türlerinin, çoğunlukla VanA ve VanB genleri nedeniyle glikopeptid antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde direnç kazandıkları belirtilmiştir (46).

Eisner ve arkadaşları (47)'nin, Avusturya'da insanlarda ve ticari broylerlerde vankomisine dirençli *Enterococcus* türlerinin varlığını ortaya koymak için yaptıkları bir çalışmada, ticari broyler ve insanların dışkılarından swap numuneleri alınmış ve sonuçta insanlarda %6 oranında VanC tipi direncin, ticari broylerlerde ise *E.faecium*'a karşı %42 oranında VanA tipi direncin baskın olduğunu ortaya koymuşlardır.

1980'li yıllarda vankomisine dirençli *Enterococcus* türlerinin ilk olarak izole edilmesinden itibaren insanlarda nozokomiyal infeksiyonların giderek artış göstermesi ve gıda olarak tüketilen hayvanlarda vankomisine dirençli *Enterococcus*'ların kolonizasyonu ile insanlardaki vankomisine dirençli *Enterococcus*'lar arasındaki ilişkinin ileri sürülmesinden sonra çeşitli evcil ve kanatlı hayvanlardan *Enterococcus* izolasyonu yapılmıştır (48). Devriese ve arkadaşları (49) tarafından 1990 yılında güvercinlerin barsaklarından *E.columbae* izole edilmiştir. Devriese ve arkadaşları (50) kedi ve köpeklerin tonsil ve anal swaplarından en sık izole edilen *Enterococcus* türünün *E.faecalis* olduğunu; buna rağmen köpeklerin anal swaplarından *E.hirae*'ninde neredeyse *E.faecalis* kadar bulunduğunu bildirmişlerdir. Yine Manson ve arkadaşları (51) bir köpekte mastitis vakasından, vankomisine dirençli *E.faecalis* izole etmişlerdir. Lapointe ve arkadaşları (52) yavru kedide *E.hirae*'nin kolangitis ve pankreatitise neden olduğunu rapor etmişlerdir. De Vaux ve arkadaşları (53) eşeklerin sekumlarının bakteriyel flora araştırmasında *E.asini*'yi izole etmişlerdir. Sandhu (54) tarafından beyaz pekin ördeklerinin akut septisemik infeksiyonlarından *E.faecium* izole edilmiştir. Devriese ve arkadaşları (55) ineklerin subklinik mastitis olgularından %26 oranında *Enterococcus* türü izole etmişler ve izole edilen katalaz negatif, eskulin pozitif kokların %20'sinin *E.faecalis* olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Svec ve arkadaşları (56) bahçe salyangozlarının barsaklarından *E.casseliflavus* izole etmişlerdir. Devriese ve arkadaşları (57) *E.faecalis*'in kanaryalarda tracheitislere neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Kanatlı hayvanların barsak florasında *E.faecalis*, *E.faecium*, *E.durans* ve *E.hirae* en baskın türler olarak bulunmuştur (43, 58). Tejedor ve arkadaşları (43)'nin yaptıkları bir çalışmada 100 adet kanatlı hayvandan dışkı numuneleri alınmış ve 55 tanesinde *Enterococcus* türleri izole edilmiştir. Bu izolatların %63.6'sı *E.faecalis*, %12.7'si *E.mundtii*, %9.1'i *E.faecium*, %7.3'ü *E.casseliflavus*, %3.7'si *E.durans* ve %3.6'sı *E.hirae* olarak tanımlanmıştır. Aynı çalışmada, *E.gallinarum* ve *E.avium* izole edilmemiştir. Kuntz ve arkadaşları (59) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, ticari broylerin dışkılarından izole edilen 1092 adet *Enterococcus* izolatının %48'i *E.faecalis* olarak tanımlanmıştır. *E.hirae*'nin birkaç evcil hayvanın barsak florasının yanında suda ve

hayvansal orjinli gıdalarda bulunduğu (60) civcivlerde septisemi ve beyinde fokal nekrozislere; psittacine kuşlarda septisemilere neden olabileceği belirtilmiştir (57, 60). Chadfield ve arkadaşları (61) Danimarka’da ticari broyler sürülerinde görülen septisemi ve endokarditis vakalarından *E.hirae*’nin izole edildiğini bildirmişlerdir. *E.hirae* ve *E.durans*’ın yavru farelerde, tavuklarda, yavru kedi ve köpeklerde, yavru domuzlarda süttten kesilmeden önce enteropatilere neden olabileceği (60) tavuklarda ise bakteriyemi, ensefalomalasi, sinirsel rahatsızlıklar ve endokarditisten sorumlu tutulabileceği belirtilmiştir (62). *E.cecorum*’un 12 haftalıktan büyük tavukların barsak florasının sayısal olarak en önemli üyesi olduğu tanımlanmış olup; son zamanlarda *E.cecorum*’un ticari broylerlerde kemik lezyonlarının ve topallıkların en önemli nedeni olduğu belirtilmiştir (63).

Amyloid Arthropathy *Enterococcus* türlerinin tavuklarda oluşturduğu önemli infeksiyonlarından birisidir (8-10, 64). Son yıllarda, özellikle kahverengi yumurtacı tavuklarda amyloid protein A (AA) tipi amiloidozisin eklemlere yerleşimi gözlemlenmektedir (65). Tavukların dışında AA tip amyloid arthropathy, sadece romatoid arthritisi bulguları bulunan iki köpek ve iki fare türünde de bulunmuştur (66, 67). AA tip amiloidozisin oluşumunda kronik infeksiyonlar, yangısal durumlar, tümör oluşumları ve diğer predispoze faktörlerin rol oynadığı, viral ve bakteriyel infeksiyonlar sırasında serum amiloid A (SAA) düzeyinin yükseldiği, dokularda parçalanıp çökerek spesifik amiloid fibrillerini oluşturduğu belirtilmiştir (68). SAA, karaciğer başta olmak üzere fibroblast, monositler ve synovial hücrelerden de üretilebilmektedir (69). Amiloidozisin oluşumunda immün sistemin son derece önemli bir etkisi olduğu düşünülmektedir. SAA’nın hepatik ve ekstrahepatik sentezinin interleukin-1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), tumor nekrosis faktör (TNF) ve macropahage colony stimulating factor (M-CSF) gibi sitokinler tarafından artırıldığı ve SAA’nın parçalanıp çökmesine çeşitli serin proteinazların neden oldukları, SAA’nın parçalanmasının büyük olasılıkla doku makrofajlarının hücre yüzeyleri etrafında geliştiği bildirilmektedir (70).

İlk olarak 1970 yılında Maestrini ve Pascucci tarafından Guinea kuş (*Numida meleagris*) sürülerinin ve hindilerin eklemlerinde (71), 1998 yılında Hindistan peafowl (*Pavo cristatus*) sürülerinde de amyloid birikimi bildirilmiştir (72). Tavuklarda, amyloid’in eklemlere lokalizasyonu ilk olarak kahverengi yumurtacı tavuklarda, büyüme geriliği ve topallıkla karakterize olarak tanımlanmıştır (9, 10, 65, 73). Bu konuda birçok araştırmaları olan Landman ve arkadaşları (65, 73)’nin bakteri izolasyon ve identifikasyonu konusunda yaptıkları çalışmalarda, amyloid pozitif eklemlerin %10-

12'sinden *E.faecalis* izole etmişlerdir. Sevimli ve arkadaşları (74) tarafından yapılan deneysel bir çalışmada yemlerle alınan yüksek seviyede A vitamininin *E.faecalis* ile indüklenmiş kahverengi yumurtacı piliçlerde amiloid artropati oluşum oranını ve şiddetini arttırdığı bildirilmiştir. Kahverengi yumurtacı tavukların dışında Steentjes ve arkadaşları (10), amyloid arthropathy teşhisi konulan 30 adet broyler damızlık tavuğun eklemelerinden alınan swap numunelerinin 23 adedinde (%77) *E.faecalis* izole etmişlerdir.

*Enterococcus* türlerinin dışında *S.aureus*, *Salmonella enteritidis*, *E.coli*, *Mycoplasma synoviae* gibi bakteriler ile *Reovirüs*, *Chicken Infectious Anemi Virüs (CAV)* gibi virüslerin de amyloid arthropathy'e neden oldukları bildirilmiştir (75).

*Enterococcus*'ların vertikal bulaşmasının tespiti amacıyla yapılan deneysel bir çalışmada 10 adet yumurtacı damızlık tavuk intravenöz yolla artropatik ve amiloidojenik *E.faecalis* suşu ile infekte edilmiş ve sonuç olarak düşük seviyelerde vertikal bulaşmanın söz konusu olduğu belirtilmiştir (76). Landman ve arkadaşları (77) kuluçkahanelerde bir günlük civcivlere uygulanan Marek aşısı süspansiyonunun *E.faecalis* ile kontaminasyonunun, amiloidojenik patotipler mevcut ise genç civcivler için infeksiyonun olası bir kaynağı olabileceğini belirtmişlerdir.

*Enterococcus* infeksiyonlarının patogenezisinde çok önemli roller üstlenen birçok virulens faktörleri tesbit edilmiş olup, bu faktörlerin *Enterococcus* infeksiyonlarına başlıca kolonizasyon, adhezyon ve konakçı dokulara invazyon gibi farklı yollarla katkıda bulunduğu bildirilmiştir (78). Başlıca virulens faktörleri; Agregasyon maddesi (AS), sitolizin (hemolizin), jelatinaz, lipoteikoik asit, hyaluronidaz, AS-48, lipaz, hemaglutinin, yüzey karbonhidratları, ekstraselüler yüzey proteini ve ekstraselüler süperoksit dizmutazlar (SOD) olarak belirtilmiştir (20, 32, 79, 80). Virulens faktörleri arasında sitolizin, agregasyon maddesi ve jelatinazın geriye kalan diğer virulens faktörlerine göre *Enterococcus* infeksiyonlarında daha önemli rolleri bulunmaktadır (32). Bu virulens faktörlerinden agregasyon maddesi, jelatinaz, sitolizin ve yüzey proteinleri *E.faecalis* türünde bulunmuş olup; hyaluronidaz ve enterokokkal yüzey proteinleri *E.faecium* türüne spesifiktir (79).

Virulens faktörleri özelliklerinin ilk sistematik araştırması 1934 yılında Todd tarafından sitolizinin araştırılmasıyla yapılmıştır (81). Önceki yıllarda hemolisin olarak adlandırılmış olan sitolizin, çoğunlukla plasmidler tarafından kodlanan fakat kromozomal olarak da kodlanabilen protein karakterinde bir toksin (20) olup; litik aktivite gösteren L kısmı ve aktivatör olarak çalışan A kısmı olmak üzere iki komponenti tanımlanmıştır (32, 79). Sitolizinin plasmidlerle taşındığı ve en çok pAD1 konjugatif plasmidi üzerinde



bulunduğu bildirilmiştir (32). Eritrositler ve makrofajlar başlıca hedef hücreleridir (20). Sadece insan, at ve tavşan eritrositlerini lize ederek, bu hayvanların kanının ilave edildiği kanlı agarda beta hemolitik reaksiyona neden olmakta, buna karşın koyun kanlı agarda beta hemolize neden olmamaktadır (80, 82). Bakteriyosin etkisinde bulunan sitolizinin, 1949 yılında diğer bakterilerin gelişmesini inhibe eden beta hemolitik D grubu *Streptococcus*'lar rapor edilmiş ve 1960'lı yıllarda 16 adet beta hemolitik *E.faecalis* suşunun her birinin, çoğu gram pozitif bakterilerin gelişimini inhibe ettiği, ancak gram negatif bakterilere etki etmediği bulunmuştur (32). Yapılan bir araştırmada sitolizin ve bakteriyosin faktörlerine sahip *Enterococcus* suşlarının UV radyasyonuna maruz bırakıldıktan bir süre sonra bu aktivasyonlarının kaybolduğu; UV radyasyonunun düzeltilmesinden sonra ise bu iki özelliğin tekrar kazanıldığı gözlenmiştir. Elde edilen bu sonuç ta sitolizin ve bakteriyosinin aynı maddeler olduğunu açıklamaktadır (32). Japonya'da hasta insanlardan izole edilen klinik izolatların %60'ının sitolizin ürettiği, buna karşılık infekte olmayan kaynaklardan izole edilen izolatların %17'sinin sitolizin ürettiği belirtilmiştir (20, 32, 83). İngiltere'de yapılan benzer bir çalışmada 77 adet *E.faecalis* izolatının %52'sinin sitolitik olduğu belirtilmiş ve bu izolatların çoğu antibiyotiklere dirençli bulunmuştur (32). *E.faecalis*'in virulensine sitolizinin katkısı, izojenik suşlar kullanılarak çeşitli hayvan modellerinde değerlendirilmiştir. Fare periton içi infeksiyonların toksisitesine sitolizinin katkısı LD<sub>50</sub> ile değerlendirilmiş olup; sitolitik izotipin, sitolizin negatif izotipe göre en az 10 kat daha toksik olduğu bulunmuştur (81, 82). *E.faecalis*'in patogenezesine sitolizinin katkısı tavşan modelinde de değerlendirilmiştir. Shankar ve arkadaşları (81) endokarditiste feromon duyarlı plasmidlerle kodlanan sitolizin ve agregasyon maddesinin mortaliteye sinerjistik olarak etki ettiğini bildirmişlerdir. Diğer bir çalışma olan tavşan endophtalmitis modelinde, *E.faecalis*'e karşı kortikosteroidlerle beraber yapılan antibiyotik tedavisinin, non sitolitik suşlarda etkili olduğu; ancak sitolitik suşlarda yararlı olmadığı saptanmış, retinadaki şiddetli yapısal ve hücrel hasarlar sitolizine atfedilmiştir (80). Böylece sitolizinin *E.faecalis*'in virulensine önemli ölçüde katkı yaptığı bulunmuştur. Sitolizin hayvan modellerinde *E.faecalis*'in virulens faktörü olarak tanımlanmış ve bakteriyemi vakalarından izole edilen *E.faecalis* izolatlarının %16'sının sitolizin oluşturduğu rapor edilmiştir (20, 83).

Diğer bir virulens faktörü olan jelatinaz, ilk olarak Bleiweis ve Zimmerman tarafından tanımlanan, 28-32 kDa ağırlığında çinko içeren metalloproteinaz yapısında bir enzimdir ve gelE geni tarafından kodlanmaktadır (20, 32, 83). Bu enzim jelatini, kollajeni, kazeini, hemoglobini ve diğer küçük biyolojik aktif peptidleri de ayrıştırabilme özelliğindedir (20,

32, 82, 84). Jelatinaz özelliği, %3 jelatin veya %1.5 süt tozu katılmış yarı-katı besiyerlerinde kolaylıkla ortaya konulabilmektedir (32, 83). Konakçı dokuda mikrobiyel invazyonu kolaylaştırarak ve bakterinin yaşamını sürdürmesine yardım ederek, direk ve indirek hasara neden olur (82). Jelatinazın insanların *Enterococcus* türü infeksiyonlarının patogenesisindeki önemleri hakkındaki bilgisi oldukça sınırlıdır. Elsner ve arkadaşları (83) yaptıkları bir çalışmada, bakteriyemi vakalarından izole edilen *E.faecalis* suşlarının %55'inin jelatinaz özelliği taşıdığını, ancak *E.faecium* izolatlarında ise jelatinaz bulunmadığını rapor etmişlerdir. Nitekim Kanemitsu ve arkadaşları (85) insanlardan izole ettikleri 93 adet *E. faecalis* izolatlarının %45'inin jelatinaz özelliği taşıdığını; fakat izole ettikleri 49 adet *E. faecium* izolatın hiçbirinin jelatinaz aktivitesinin olmadığını bildirmişlerdir. Almanya'da yapılan bir çalışmada cerrahi ve nörocerrahi birimlerinden izole edilen *Enterococcus* türleri arasında *E.faecalis*'in %63.7 oranında jelatinaz ürettiği rapor edilmiştir (32). Diğer bir çalışmada endokarditis vakalarından izole edilen *E.faecalis* izolatlarının %54'ünün jelatinaz ürettiği, diğer kan kültürü izolatlarının ise %68'inin jelatinaz özelliğine sahip olduğu bildirilmiş, aynı çalışmada sağlıklı bireylerden elde edilen *Enterococcus* izolatlarında %12 oranında jelatinaz saptanmıştır (32). Baldassari ve arkadaşları (86) endokarditis vakasından izole ettikleri 11 adet *E. faecalis* izolatlarının 8 adedinin jelatinaz ürettiğini belirtmişlerdir. Tavuklarda amyloid arthropathy üzerine enterokokal virulens faktörlerinin etkisinin incelendiği Çiftçi (87) tarafından yapılan deneysel bir çalışmada, intraartiküler ve intravenöz yolla jelatinaz özelliğine sahip *E.faecalis* suşları inokule edilen tavuklarda sırasıyla %65.2 ve %75 oranında amyloid artropathy'nin şekillenmesi, jelatinazın amyloid arthropati oluşumunda önemli bir rolünün olduğunu göstermiştir. Ayrıca aynı çalışmada AS ve sitolizin özelliği taşımayan *E.faecalis* suşlarının intraartiküler ve intravenöz yolla inokule edilmesiyle amyloid arthropathy oluşması, buna karşın jelatinaz özelliği taşımayan suşların intraartiküler ve intravenöz yolla inokule edilmesiyle amyloid arthropathy'nin oluşmaması bu çalışmayı desteklemiştir. *E.faecalis*'in jelatinaz özelliği dış hastalıklarında da tanımlanmıştır (20).

AS, *E.faecalis*'in feromon uyarımlı plasmidlerin kodladığı bir yüzey proteini olup, hücre yüzeyinde kıl benzeri yapılar şeklinde görülmektedir (20, 32). Feromon ise alıcı *Enterococcus* suşu tarafından üretilen, 7-8 aminoasit uzunluğunda, kromozomal olarak kodlanan küçük hidrofobik peptidlerdir (20). AS kodlayan plazmidlerin en önemlileri pAD1 ve pCF10 plazmidleridir. Fibrinonektin ve diğer proteinlerde bulunan Arg-Gly-Asp-Ser ve Arg-Gly-Asp-Val gibi aminoasit motifleri içermektedir (20, 88). Bu sayede de *Enterococcus* türlerinin barsak epitel hücreleri, böbrek tubulleri ve kalp endotelial

hücreleri gibi konakçı hücrelerine adhezyonuna arabuluculuk etmekte ve aynı zamanda konakçının doku sıvılarında kalıcı olmasında rol oynamaktadır. AS'nin dokularda harabiyetle sonuçlanan süperantijen aktivitesi de bulunmaktadır (80). Bunun yanında AS'nin kollajen tip 1'i içeren ekstrasellüler matrix proteinlerine bağlanmada arabuluculuk yaptığı da bulunmuş ve AS üreten *E.faecalis* OG1X(pAM721) suşunun kollajen tip 1'e bağlanmasının, AS üretmeyen *E.faecalis* OG1X(pAM944) suşuna göre 2 kat daha fazla olduğu rapor edilmiştir (20). Coque ve arkadaşları (89), AS'nin klinik *E.faecalis* izolatlarında en yaygın faktör olduğu bildirilmiştir. Valdivia ve arkadaşları (90), tarafından İspanya'da yapılan bir araştırmada da benzer sonuçlar alınmıştır. Bu çalışmada klinik *E.faecalis* izolatlarının %33'ünün, içme suyundan elde edilen izolatların %4'ünün sex feromonuna yanıt verdiği belirtilmiştir.

Virulens faktörlerinin, *Enterococcus* infeksiyonlarındaki rolünün incelenmesine dair yapılan deneysel çalışmalardan elde edilen bulgular neticesinde, *Enterococcus* infeksiyonların patogenezi açıklanabilmektedir. İnfeksiyon oluşumu için ilk basamak bakteriyel adherenstir. Bakteriyemiye neden olan *Enterococcus* suşları, barsaktan, apselerden, üriner sistemden ve direk intravenöz yoldan kana geçebilmekte ve endositozis yoluyla, sekum, kolon mukozası epitel hücreleri veya fagositoz yoluyla intraepitelyal makrofajlar tarafından alındıktan sonra makrofajların içinde veya epitel hücrelerinin apikal uçlarından mezenterik lenf düğümlerine ulaşır, burada çoğaldıktan sonra, kan yoluyla karaciğer, dalak, böbrek gibi iç organlara yayılmaktadırlar (32).

*Enterococcus* türlerinin, infeksiyonlara neden olabilmesi için konakçı sistemlerinin açık fonksiyonlarının üstesinden gelmelidir. Polimorf nükleer lökositler (PNL), bakteriyel infeksiyonlara karşı konakçının immun yanıtında önemli bir komponenttir. Bakteriler, komplement proteinleriyle veya spesifik antikorlarla kaplanarak PNL tarafından fagosite edilir. Oponizasyon olarak adlandırılan bu durum fagositozu kolaylaştırmaktadır. İnsanların *Enterococcus* infeksiyonlarında, *Enterococcus*'lara karşı antikorlar saptanmasına rağmen (91), infeksiyonun önlenmesinde *E.faecalis*'e karşı antikorların etkinliği üzerinde yapılan çalışmalar oldukça çelişkilidir. Huebner ve arkadaşları (92) tarafından yapılan bir çalışmada, fare infektif modelinde kapsüler polisakkaritlere karşı oluşan antikorların profilaktik ve terapatik etkisinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, yapılan bir çalışmaya göre, *Enterococcus* kaynaklı bir endokarditis vakasında AS için spesifik konakçı antikorlarının bulunmayışı, endokarditisin önlenmesinde AS için antikorların rolünün olduğunun göstergesi olabilir (93). Endokarditislerin önlenmesinde AS'ye karşı

antikorların etkinliği konusunda yapılan diğer bir çalışmada ise herhangi bir koruma olduğu bildirilmemiştir (94).

Ülkemizde, kanatlı hayvanlarda arthritis semptomları ile karakterize Amyloid Arthropathy olgularında *Enterococcus* türlerinin rolleri üzerine çalışmalar yapılmasına karşın (74, 87) FHN olgularında *Enterococcus* türlerinin varlığının saptanması üzerine, gerek saha taraması gerekse deneysel çalışma olarak herhangi bir yayına rastlanmamaktadır. Bu nedenle, araştırmada kanatlı sektöründe oldukça büyük ekonomik kayıplara neden olan bu tür eklem lezyonlarından, *Enterococcus*'ların sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### GEREÇ

**1. Tavuklarda Lezyonlu Eklem Doku Örnekleri:** Aralık 2004-Ağustos 2005 tarihleri arasında teşhis laboratuvarına getirilen ve arthritis belirtileri gösteren 30.000 kapasiteli Ross ırkı ticari broyler kümesinden 121 adet, 4000 kapasiteli Isa Brown ırkı yumurtacı damızlık kümesinden 11 adet ve 4000 kapasiteli Ross ırkı etlik damızlık kümesinden 18 adet olmak üzere toplam 150 adet tavuğun eklem doku örneği (FHN) steril otopsi makası ve pensi aracılığı ile steril petri kaplarına alındı.

**2. Standart Suşlar:** *E.faecalis* kontrol suşu Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yrd.Doç.Dr Alper Çiftçi'den sağlandı. *E.faecalis* OG1X suşu ve virulens faktörleri yönünden izojenik varyantları içeren 6 suş, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yrd.Doç.Dr Serap Savaşan'dan (Dr D.B.Clewell, Department of Biologic and Materials Sciences, School of Dentistry, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, ABD orjinli) sağlandı. *E.coli* ATCC 35283 standart suşu ile beraber *S.aureus* suşu Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarından sağlandı ve çalışmada kontrol suşları olarak kullanıldı. Tüm suşlar kullanılana kadar -20 °C'de saklandı.

### 3. Besiyerleri

**3.1. İzolasyon besiyerleri:** *Enterococcus* spp, *S.aureus* ve *E.coli* izolasyonlarında, alınan eklem doku örneklerini homojenize etmek amacıyla TSB (Tryptic Soy Broth) (Merck, 1.05459) kullanıldı. *E.coli* izolasyonu için; MacConkey Agar (Merck, 1.05465), *Staphylococcus* izolasyonu için; MSA (Mannitol Salt Phenol-Red Agar) (Merck, 1.05404.0500), BA (Kanlı Agar) (Biomerieux lot no 796351401), *Enterococcus* izolasyonunda aşağıda içeriği belirtilen EPB (*Enterococci* Presumptive Broth) hazırlandı ve selektif zenginleştirme amacıyla kullanıldı (87).

#### Enterococci Presumptive Broth

Yeast extract	5.0 g
Tryptone	5.0 g
Dextrose	5.0 g
Sodium azide	0.4 g
Brom thymol blue	0.032 g
NaCl	65.0 g

Distile su 1.0 L

pH=8

*Enterococcus* izolasyonu için Enterococcosel Agar (Difco, 212205, Becton Dickinson, USA) kullanıldı. Virulens testleri için *Enterococcus* izolatlarının pasajlarında BHIA (Brain Heart Infusion Agar) (Oxoid, CM0375), BHIB (Brain Heart Infusion Broth) (Oxoid, CM225) kullanıldı. Tüm ticari besiyerleri üretici firmaların belirttiği formülasyona göre hazırlandı.

**3.2. Biyokimyasal Test Besiyerleri:** *E.coli*'nin biyokimyasal karakterizasyonu amacı ile TSI (Triple Sugar Iron) Agar (Merck, 1.03915), Urea Agar Base (Merck, 1.08492), %40'luk üre solüsyonu (Merck, 1.08487), D(-)Mannitol (Merck, 1.05982), D(+)-Glucose monohydrate (Merck, 1.08346.1000), Lactose monohydrate (Merck, 1.07657), SIM Agar (Oxoid, CM435) kullanıldı. *Staphylococcus* izolatlarını koagulaz reaksiyonlarına göre gruplandırmak için Staphylase (Oxoid, DR0595A) test kiti kullanıldı. *Staphylococcus* ve *Enterococcus* cinslerinin ayrımı amacıyla %3'lük katalaz reaktifi hazırlandı.

*Enterococcus* izolatlarının biyokimyasal karakterizasyonu amacıyla API 20 Strep Test kiti (Biomérieux) kullanıldı.

**3.3. Virulens Testlerinde Kullanılan Besiyerleri:** Virulens testlerinde kullanılan suşları üretmek için aşağıda içeriği belirtilen Todd-Hewitt Broth hazırlandı (87).

#### **Todd-Hewitt Broth**

Yeast extract	10.0 g
Tryptone	20.0 g
Dextrose	2.0 g
Sodium Bicarbonat	2.0 g
Disodium phosphate	0.4 g
NaCl	2.0 g
Distile su	1.0 L

pH=7.8

Virulens faktörü olan agregasyon maddesinin belirlenmesinde kullanılan N2GT buyyon; Nutrient Buyyon No.2 (Oxoid) içine %0.2 glukoz ve 0.1M Tris-HCl (pH 7.5) katılarak hazırlandı (87).

Todd-Hewitt Broth'a %1.5 agar ve %4 at kanı (Todd-Hewitt Agar) ilave edilerek sitolizin testi için; %3 jelatin ilave edilerek jelatinaz testi için test ortamı sağlandı (87).

**4. Membran Filtre-Minisart (Sartorius, 16534K):** *E.coli*'nin identifikasyonunda kullanılan şekerlerin sterilizasyonu ve *Enterococcus* türlerinin virulens faktörü olan agregasyon maddesi testinde kullanıldı.

## YÖNTEM

**1. *Enterococcus* ve Diğer Aerobik Bakterilerin İzolasyonu:** Alınan eklem doku örnekleri steril bir havanda 10 ml TSB eklenerek küçük parçalara ayrıldı ve karışım santrifüj tüpüne aktarılarak 3000 devirde 15 dk santrifüje edildi. Santrifüj sonrası, süpernatanttan 10 µl alınarak *E.coli* izolasyonu amacıyla MacConkey agara, *Staphylococcus* izolasyonu amacıyla MSA'ya ekim yapıldı. *Enterococcus* izolasyonu için süpernatanttan 1 ml alınarak EPB'ye inokule edildi. Tüm besiyerleri aerobik koşullarda 37 °C'de 24-48 saat inkube edildi. EPB'nin mavi renginin sarıya dönüşmesi, besiyerinde *Enterococcus* üremesinin göstergesi olarak değerlendirildi. Sarı renk görülen buyyonlardan öze ile Enterococcosel agara ekim yapıldı. Besiyeri 37 °C'de aerobik koşullarda 24-48 saat süreyle inkube edildi. Sürenin sonunda üreyen kahverengi-siyah renkli koloniler, *Enterococcus* yönünden incelenmek üzere pasaj edildi. MacConkey agarda üreyen şüpheli koloniler, *E.coli* yönünden incelenmek üzere pasaj edildi. MSA'da üreyen *Staphylococcus* kolonileri, koagulaz reaksiyonuna göre gruplandırılmak üzere pasaj edildi.

**2. İdentifikasyon Yöntemleri:** Besiyerinde kahverengi-siyah renkli üreyen *Enterococcus* şüpheli kolonilere Gram boyama ve lam üzerinde katalaz testi yapıldı. Gram pozitif kok şeklinde görülen ve katalaz negatif olan kolonilerin identifikasyonları için kanlı agara pasajları yapıldı ve 37 °C'de 24-48 saat inkube edildi. Süre sonunda tüm şüpheli koloniler API 20 Strep test kiti (Biomerieux) ile identifiye edildi. *Staphylococcus* şüpheli kolonilerden Gram boyama ve lam üzerinde katalaz testi yapıldı. Gram pozitif kok şeklinde görülen ve katalaz pozitif olan kolonilere Staphylase test kiti ile üretici firmanın belirttiği kullanım talimatına göre koagulaz testi yapıldı. *E.coli* şüpheli kolonilerden Gram boyama yapıldı. Gram negatif basil şeklinde görülen kolonilere BHI buyyonda karbonhidrat fermentasyon testleri yapılarak, suşların glikoz, laktoz, mannitol fermentasyon özellikleri saptandı. İzolatların hareket özellikleri ve indol reaksiyonu SIM agarda tesbit edildi.

**3. Virulens Faktörlerinin Belirlenmesi:** Arthritis vakalarından izole edilen *Enterococcus* izolatlarının ve standart suşların, AS, sitolizin ve jelatinaz üretme özellikleri incelendi.

**3.1. Agregasyon Maddesi (AS) Tespiti:** İzole edilen *E.faecalis* ve *E.faecium* izolatları agregasyon maddesi yönünden kümelenme testi ile incelendi (95). Kümelenme testinde, pozitif kontrol olarak *E.faecalis* OG1X(pAM714) suşu ve negatif kontrol olarak *E.faecalis* OG1X(pAM944) suşu kullanıldı. Feromon kaynağı olarak ise plazmid taşımayan *E.faecalis* OG1X suşunun kültür filtratı hazırlandı. Bu amaçla, *E.faecalis* OG1X suşu, %5 koyun kanı içeren BHIA'da aerobik koşullarda 37 °C'de 24-48 saat inkube edilerek, üreyen kolonilerinden, içinde 5 ml BHI buyyon bulunan tüplere ekim yapıldı ve 24-48 saat aerobik koşullarda 37 °C'de inkube edildi. Ardından 3000 devirde 30 dakika santrifüj edilerek süpernatant alındı ve 0.2 µm'lik membran filtreden geçirilerek kültür filtratı hazırlandı. Elde edilen kültür filtratından 0.5 ml alınarak üzerine 0.5 ml N2GT buyyon eklendi. İzole edilen tüm *E.faecalis* ve *E.faecium* izolatları Todd-Hewitt buyyonda 37 °C'de aerobik koşullarda inkube edildi. Bu sürenin sonunda üreyen kültürden 20 µl alınarak, kültür filtratı içeren N2GT buyyona eklendi. Bu karışım 37 °C'lik su banyosunda 50 devir/dakika çalkalanarak 4 saat bekletildi. Sürenin sonunda, görsel olarak bakılan, partiküler kümelenme oluşturan izolatlar AS pozitif, partiküler küme oluşturmeyen izolatlar ise AS negatif olarak değerlendirildi.

**3.2. Sitolizin:** İzole edilen *E.faecalis* ve *E.faecium* izolatları ile pozitif ve negatif kontrol suşlarının sitolizin oluşturma özelliği, Elsner ve arkadaşları (83), tarafından belirtilen yöntemle göre incelendi. Testte, pozitif kontrol olarak *E.faecalis* OG1X(pAM714) suşu ve negatif kontrol olarak *E.faecalis* OG1X(pAM9058) suşu kullanıldı. İzole edilen tüm *Enterococcus* izolatlarının, %5 koyun kanı içeren kanlı agara ekimi yapıldı ve 37 °C'de 24-48 saat inkube edildi. Üreyen suşlardan bir koloni alınarak, içinde 5 ml Todd-Hewitt buyyon bulunan tüplere inokule edildi ve tekrar 37 °C'de 24-48 saat inkube edildi. Bu sürenin sonunda buyyondaki kültürden %4 at kanı içeren Todd-Hewitt agara ekim yapıldı. 37 °C'de 24-48 saat inkube edildi. İnkubasyon süresinin sonunda, koloni çevresinde beta-hemoliz alanı görülen koloniler sitolizin pozitif, beta hemoliz alanı görülmeyen koloniler ise sitolizin negatif olarak değerlendirildi.

**3.3. Jelatinaz:** İzole edilen *E.faecalis* ve *E.faecium* izolatları ile pozitif ve negatif kontrol suşlarının, jelatinaz özelliği, Arda (96), tarafından belirtilen yöntemle göre incelendi. Testte pozitif kontrol olarak *E.faecalis* OG1RF suşu ve negatif kontrol olarak *E.faecalis* OG1X(pAM714) suşu kullanıldı. İzole edilen tüm izolatların, %5 koyun kanı içeren BHIA'a ekimleri yapılarak 37 °C'de 24-48 saat inkube edildi. Üreyen suşlardan bir koloni alınarak, içinde 5 ml Todd-Hewitt buyyon bulunan tüplere inokule edildi. 24 saatlik inkubasyon süresinin sonunda %3 jelatin içeren Todd-Hewitt agara ekimleri yapıldı ve



besiyerleri 37 °C'de bir hafta süre ile inkube edildi. İnkubasyon süresi boyunca besiyerleri her gün etüvden çıkarıldı ve 4 °C'de 1 saat bekletilerek besiyerlerinde değişim olup olmadığı kontrol edildi. Besiyerinin 4 °C'de bekletildikten sonra jel halden yumuşayarak akışkan hale gelmesi jelatinaz pozitif, besiyerinin jel halinde kalması ise jelatinaz negatif olarak değerlendirildi.

**4. Sonuçların İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi:** Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi için Chi-Square Testi kullanıldı (97).

## BULGULAR

### 1. *Enterococcus* spp İzolasyon Sıklığı

Arthritis belirtileri gösteren (Şekil-1,2) ve Aralık 2004-Ağustos 2005 tarihleri arasında mikrobiyoloji laboratuvarına getirilen 121 adet ticari broylerler, 11 adet yumurtacı damızlık ve 18 adet etlik damızlık olmak üzere toplam 150 adet hayvandan alınan eklem doku örneğinin %32'sinde (48 adet) *Enterococcus* spp izole edilmiştir. Çalışma sürecinde tenosynovitis olgusu ile karşılaşılmamıştır (Şekil-2).

Hayvanların yetiştirme tipine göre *Enterococcus* türlerinin izolasyon durumları incelendiğinde 121 adet ticari broyler tavuğun eklem doku örneğinden %18.2 (22 adet), 18 adet etlik damızlık tavuğun eklem doku örneğinden %5.6 (1 adet) ve 11 adet yumurtacı damızlık tavuğun eklem doku örneğinden %27 (3 adet) oranlarında sadece *Enterococcus* spp izole edilmiştir (Tablo-1).

*Enterococcus* türleri ile *S.aureus*'un birlikte izolasyon durumları incelendiğinde, 121 adet ticari broyler tavuğun eklem doku örneklerinden %9.9 (12 adet), 18 adet etlik damızlık tavuğun eklem doku örneklerinden %5.6 (1 adet) oranlarında *Enterococcus* spp ile beraber *S.aureus* izole edildi. Ancak 11 adet yumurtacı damızlık tavuğun hiçbirinde her iki etken birlikte izole edilmemiştir (Tablo-1).

*Enterococcus* türleri ile *E.coli*'nin birlikte izolasyon durumları incelendiğinde, 121 adet ticari broyler tavuğun eklem doku örneklerinden %3.3 (4 adet) oranında *Enterococcus* spp ile beraber *E.coli* izole edildi. Buna karşın etlik ve yumurtacı damızlık tavukların eklem doku örneklerinin hiçbirinde birlikte izolasyon elde edilmemiştir (Tablo-1).

Kanlı agara pasajları yapılan tüm izolatlar, API 20 Strep Test kiti (Biomeriux) ile tanımlanmış ve bu oranın %77'si (37 adet) *E.faecalis* ve %23'ü (11 adet) *E. faecium* olarak tanımlanmıştır (Şekil-4). *E. faecalis* izolatlarının tamamı ticari broylerlerden izole edilirken (Şekil-3), 11 adet *E. faecium* izolatının %54.5'i (6 adet) ticari broylerlerden, %27.2'si (3 adet) yumurtacı damızlıklardan ve %18.1'i (2 adet) etlik damızlıklardan izole edilmiştir.

### 2. *S.aureus* ve *E.coli* İzolasyonu

Laboratuvara getirilen arthritikli tavukların FHN olgularından %28 (42 adet) *E.coli* ve %22 (33 adet) *S.aureus* izole edilmiştir. Yetiştirme tipine göre *E.coli* izolasyon durumu incelendiğinde 121 adet ticari broyler tavuğun eklem doku örneklerinden %25 (31 adet) oranında sadece *E.coli* izole edilirken; etlik ve damızlık tavukların eklem doku örneklerinin hiçbirinden tek başına *E.coli* izole edilmedi. *S.aureus* ile *E.coli*'nin birlikte

izolasyon durumları incelendiğinde 121 adet ticari broyler tavuğun eklem doku örneklerinden %1.6 (2 adet) oranında *S.aureus* ile *E.coli* beraber izole edilmiştir. *S.aureus* izolasyon durumu incelendiğinde, 121 adet ticari broyler tavuğun eklem doku örneklerinden %8.2 (10 adet), 18 adet etlik damızlık tavuğun eklem doku örneklerinden %16.6 (3 adet) oranlarında sadece *S.aureus* izole edilirken; yumurtacı damızlık tavukların eklem doku örneklerinin hiçbirinden *S.aureus* izole edilmemiştir (Tablo-1).

Tüm etkenlerin birlikte izolasyon durumları incelendiğinde, sadece 121 adet ticari broyler tavuğun eklem doku örneklerinden %4.1 (5 adet) oranında her üç etken de birlikte izole edilmiştir (Tablo-1).

Eklem doku örneklerinin, ticari broyler tavuklarda %28.9'unda (35 adet), etlik damızlık tavuklarda %72.2'sinde (13 adet) ve yumurtacı damızlık tavuklarda %73'ünde (8 adet) olmak üzere toplam %37.3'ünde (56 adet) ise bakteri izole edilmemiştir (Tablo-1).

Tablo-1 Arthritis belirtileri gösteren tavuklardan bakteriyel izolasyon sonuçları

Yetiştirme Tipi	Örnek Sayısı (n)	Bakteri Türleri Sayıları							İzolasyon Olmayan Örnek Sayısı (n)
		E	S.a	E.c	E+S.a	E+E.c	S.a+E.c	E+S.a+E.c	
<b>Broyler</b>	121	22 (%18.2)	10 (%8.2)	31 (%25.2)	12 (%9.9)	4 (%3.3)	2 (%1.6)	5 (%4.1)	35 (%28.9)
<b>Etlik Damızlık</b>	18	1 (%5.6)	3 (%16.6)	0	1 (%5.6)	0	0	0	13 (%72.2)
<b>Yumurtacı Damızlık</b>	11	3 (%27.0)	0	0	0	0	0	0	8 (%73.0)
<b>TOPLAM</b>	<b>150</b>	<b>26 (%17.3)</b>	<b>13 (%8.7)</b>	<b>31 (%20.6)</b>	<b>13 (%8.7)</b>	<b>4 (%2.6)</b>	<b>2 (%1.3)</b>	<b>5 (%3.3)</b>	<b>56 (%37.3)</b>

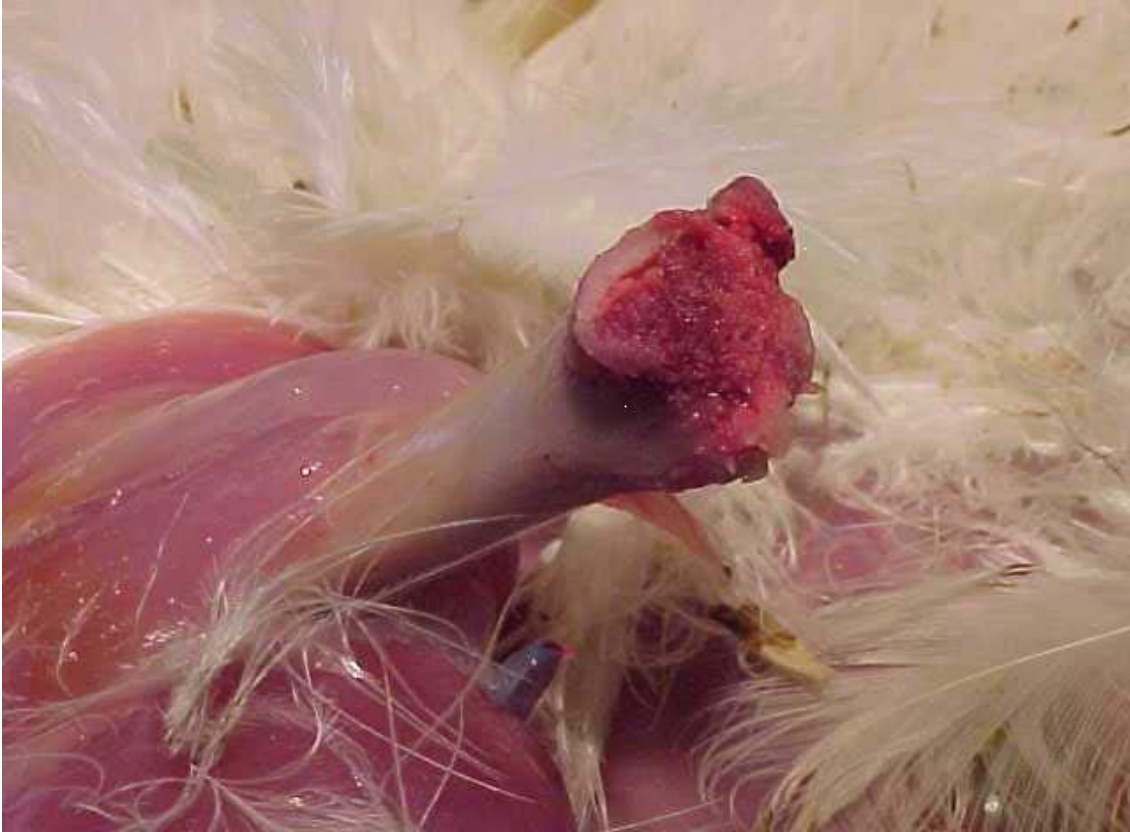
**E** : *Enterococcus*

**S.a** : *Staphylococcus aureus*

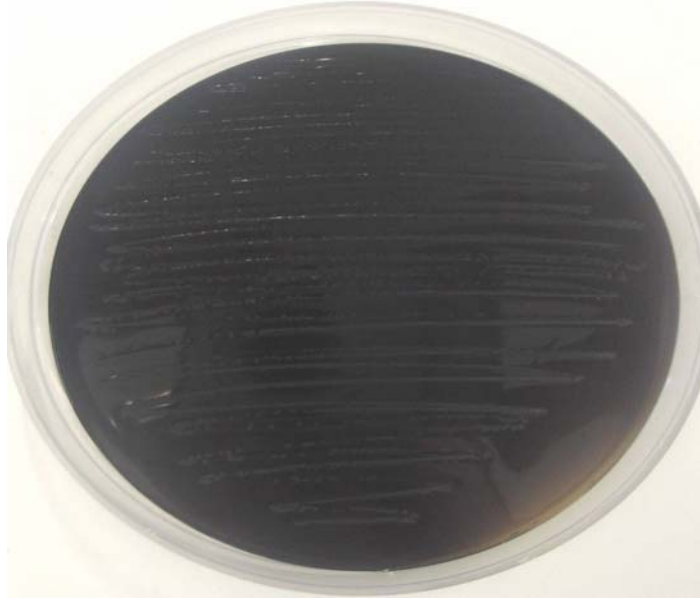
**E.c** : *Escheria coli*



Şekil- 1 Ticari broylerlerde arthritis sonucunda ayakta duramama görülmektedir.



Şekil-2 Femoral Head Necrosis (FHN) olgusu



Şekil-3 Enterococcosel agarda *Enterococcus faecalis* görünümü



Şekil-4 API 20 Strep Test kiti ile *E. faecalis* ve *E. faecium*

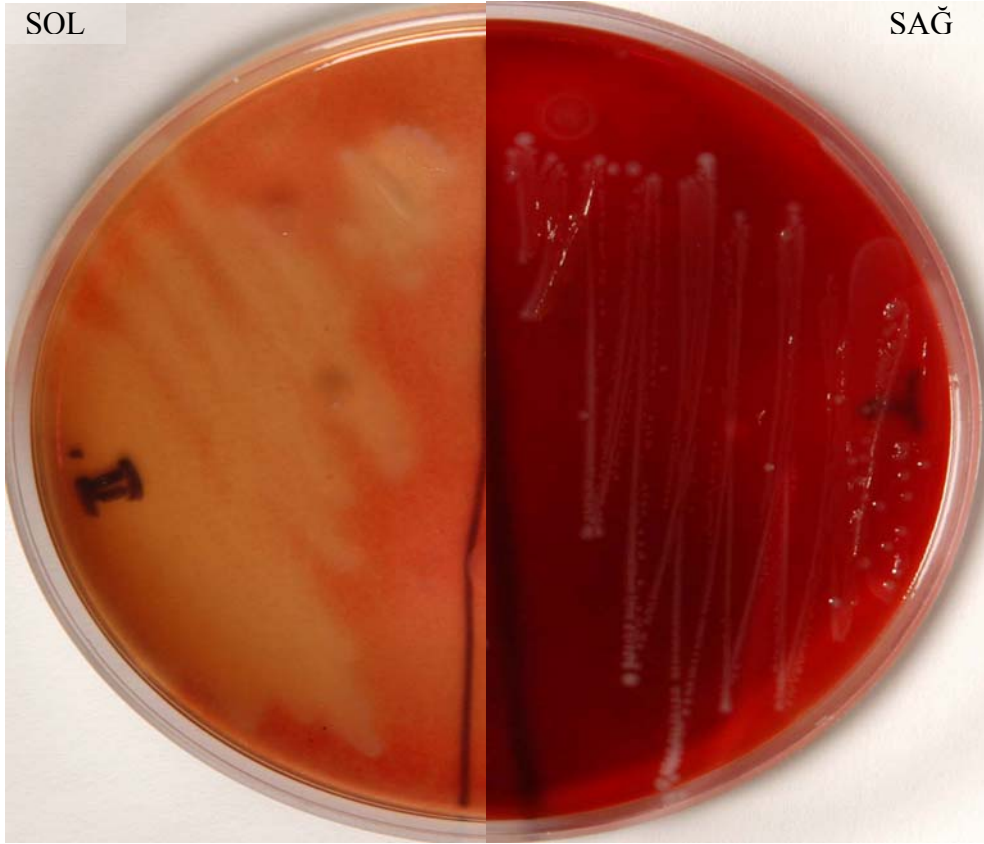
### 3. VİRULENS FAKTÖRLERİ

#### 3.1. Agregasyon Maddesi

Kümelenme testi sonucunda 48 adet *Enterococcus* izolatu içinde, ticari broylerlerden izole edilen sadece 1 adet *E.faecalis* izolatının agregasyon maddesi ürettiği belirlendi. Pozitif kontrol olarak kullanılan *E.faecalis* OG1X (pAM714) suşunun agregasyon maddesi yönünden pozitif ve negatif kontrol olarak kullanılan *E.faecalis* OG1X (pAM944) suşunun agregasyon maddesi yönünden negatif olduğu belirlendi.

#### 3.2. Sitolizin

Hemoliz testi sonucunda ticari broylerlerden izole edilen, aynı zamanda agregasyon maddesi de ürettiği tespit edilen aynı *E.faecalis* izolatının sitolitik özellikte olduğu bulundu. Pozitif kontrol olarak kullanılan *E.faecalis* OG1X (pAM714) suşunun sitolizin ürettiği ve negatif kontrol olarak kullanılan *E.faecalis* OG1X (pAM9058) suşunun sitolizin üretmediği belirlendi (Şekil-5).



Şekil-5 Sol yarıda Sitolizin pozitif *E. faecalis* izolatı, sağ yarıda Sitolizin negatif *E. faecium* izolatı.



### 3.3. Jelatinaz

İzole edilen tüm *Enterococcus* izolatlarının jelatinaz negatif oldukları tespit edildi. Pozitif kontrol olarak kullanılan *E.faecalis* OG1RF suşunun jelatinaz ürettiği ve negatif kontrol olarak kullanılan *E.faecalis* OG1X (pAM714) suşunun jelatinaz üretmediği belirlendi.

### 4. İSTATİKSEL ANALİZ

Bu çalışmada, *Enterococcus*, *S.aureus* ve *E.coli* izolasyonlarının istatistiki değerlendirilmesi amacıyla Chi-Square testi yapılmış ve sonuçları Tablo-2’de özetlenmiştir. Bulgular; *S.aureus* ve *E.coli* üremesi görülen örnek sayısı ve oranı bakımından *Enterococcus* üreyenler ve üremeyenler açısından kendi aralarında değerlendirildiği zaman, aralarındaki farklılığın istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). *S.aureus* ve *E.coli* üremesi görülmeyen örnek sayısı ve oranı bakımından *Enterococcus* üreyenler ve üremeyenler açısından kendi aralarında değerlendirildiği zaman da, aralarındaki farklılığın istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ).

Tablo-2 *Enterococcus*, *S.aureus* ve *E.coli* İzolasyonlarının İstatistiki Değerlendirme

Örnek Sayısı (n = 150)	Sonuçları				X <sup>2</sup>
	<sup>3</sup> <i>Enterococcus</i> spp Pozitif		<sup>4</sup> <i>Enterococcus</i> spp Negatif		
	n	%	n	%	
<sup>1</sup> <i>S.aureus</i> ve <i>E.coli</i> pozitif	<sup>a</sup> 5	3.3	<sup>b</sup> 46	30.6	39.712
<sup>2</sup> <i>S.aureus</i> ve <i>E.coli</i> Negatif	<sup>c</sup> 26	17.3	<sup>d</sup> 56	37.3	15.104

X<sup>2</sup> : Aynı satırda, farklı harflere ait olan gruplar arasında, istatistiki fark bulunmuştur.

1: *S.aureus* and *E.coli* izole edilen vakalar.

2: *S.aureus* ve *E.coli* izole edilmeyen vakalar.

3: *Enterococcus* izole edilen vakalar.

4: *Enterococcus* izole edilmeyen vakalar.

a: *Enterococcus*, *S.aureus* ve *E.coli*'nin birlikte izole edildiği vaka sayısı.

b: *Enterococcus*'un izole edilmediği, *S.aureus* ve *E.coli*'nin izole edildiği vaka sayısı.

c: *S.aureus* ve *E.coli*'nin izole edilmediği, sadece *Enterococcus*'ların izole edildiği vaka sayısı.

d: İzolasyon yapılmayan vaka sayısı.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Femur Başı Nekrozu (Femoral Head Necrosis-FHN) kanatlı hayvanlarda arthritis ve tenosynovitis lezyonları ile seyreden patolojik olgulardır. Meydana getirdiği topallık nedeniyle dehidrasyon, gelişme gerilikleri ve performans düşüklüğü de görülmekte ve bundan dolayı kanatlı endüstrisinde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda, FHN olgularından başta *S.aureus* olmak üzere, koagülaz negatif *Staphylococcus* türleri, *E.coli*, *Mycobacterium avium* gibi bakteriler (3) ile ILT virüsü (5) gibi virüsler izole edildiği bildirilmekte iken; literatür taramalarında ticari broyler, yumurtacı damızlık ve broyler damızlık tavukların arthritise neden olan FHN olgularında *Enterococcus* türlerinin sıklığını rapor eden bir çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmada, ticari broyler, broyler damızlık ve yumurtacı damızlık tavuklarda FHN olgularının neden olduğu klinik arthritis ve tenosynovitis lezyonlarından, amyloid arthropathy'nin potansiyel etkeni olarak düşünülen *Enterococcus* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu amaçlanmıştır.

Ratlarda arthritise neden olan bakterilerin ortaya çıkarılması amacıyla yapılan bir çalışmada, Spitznagel ve arkadaşları (98) tarafından *E.faecalis*'in arthritis ile ilişkisi olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Landman ve arkadaşları tarafından tavuklarda yapılan deneysel çalışmalara göre *E.faecalis*'in intraartiküler (75) ve intramüsküler (65) yolla inokulasyonunun arthritlere neden olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu deneysel çalışmalar *E.faecalis*'in önemli arthritis etkeni olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada da, tavukların FHN olgularının neden olduğu arthritis vakalarında *Enterococcus* türlerinin sıklığı saptanmıştır. Bu amaçla arthritis belirtileri gösteren Ross ırkı ticari broyler, Isa Brown ırkı yumurtacı damızlık ve Ross ırkı etlik damızlık tavuklardan alınan eklem örneklerinden toplam % 32 (48 adet) oranında *Enterococcus* türü izole edilmiş ve ticari broyler tavuklarda %18.2 (22 adet), yumurtacı damızlık tavuklarda %27 (3 adet) ve etlik damızlık tavuklarda %5.6 (1 adet) oranlarında yalnız başına *Enterococcus* türünün izole edilmesi, *Enterococcus* türlerinin arthritis oluşumunda birincil etken olarak önemli rolünün olabileceğini göstermektedir. Sistemik amiloidozis görülen 30 adet etlik damızlık tavuktan alınan eklem numunelerinin %77'sinden (23 adet) *E.faecalis*'in izole edilmesi *Enterococcus* türlerinin kahverengi yumurtacı tavukların yanı sıra etlik damızlıklarında da eklem problemlerinde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir (10).

Bu çalışmada asıl amaç tavukların arthritis olgularında *Enterococcus* türlerinin virulens faktörlerinin rolünün araştırılması olmamasına karşın, izolatlar AS, jelatinaz ve sitolizin



gibi virulens faktörleri yönünden de incelenmiş ve 48 adet *Enterococcus* izolatu içinden sadece 1 adet *E.faecalis* izolatının AS ve sitolizin yönünden pozitif olduğu bulunmuştur. Bu bulgu, virulens faktörlerinin arthrit oluşumunda önemli rollerinin olmadığını göstermektedir. Buna benzer olarak Çiftçi (87) tarafından yapılan deneysel bir araştırmada AS, jelatinaz ve sitolizin negatif *E.faecalis* suşunun %100 oranında arthritise yol açtığı bildirilmiştir. Virulens faktörleri açısından farklılık gösteren suşlar arasında arthrit oluşumu bakımından herhangi bir fark gözlenmemiş olması bu çalışmayı destekler niteliktedir. Türkiye’de arthritis semptomları ile seyreden amyloid arthropathy üzerine deneysel çalışmalar yapılmasına karşın (74, 87) FHN olgularının yol açtığı arthritis vakalarından *Enterococcus* türlerinin izolasyon çalışmasının daha önce yapılmamış olması, çalışmanın sonuçlarını orjinal kılmaktadır.

Bu çalışmada tavukların arthritis vakalarından *Enterococcus* türlerinin yanı sıra toplam %28 (42 adet) *E.coli* ve %22 (33 adet) *S.aureus* izole edilmiştir. Kanatlı hayvanların eklem lezyonlarından en sık izole edilen bakterinin, deri ve müköz membranların florasında bulunan *S.aureus* olduğu belirtilmiş ve stafilakokal osteomyelitis’in ticari broylerlerin en büyük problemlerinden biri olarak tanımlanmış olmasına karşın (2, 3, 99) yapılan bu çalışmada *E.coli* izolatlarının tamamı ticari broylerlerden izole edilmiş olup, arthritis vakalarında en az *S.aureus* kadar önemli bir rolünün olduğu sonucuna varılmıştır. Bunun yanı sıra broyler damızlık ve yumurtacı damızlık tavukların arthritis olgularından *E.coli* izole edilmemiştir.

Bu çalışmada, izole edilen *S.aureus* izolatlarının %88’i (29 adet) ticari broylerlerden izole edilmiştir. Batı Kanada’da ticari broylerlerin arthritis, tendinitis ve osteomyelitis vakalarından en sık izole edilen bakterinin *S.aureus* olduğu ve *E.coli* enfeksiyonu ile birlikte kas-iskelet sistemi enfeksiyonlarının insidensinde bir artış olduğu bildirilmiştir (2). McName ve arkadaşları (2)’nin 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada, topallık belirtileri gösteren ticari broyler sürülerinin, femurun proksimalinde konumlanan nekrozlarından %62.5 oranında *S. aureus* izole edildiği ve sonucun histolojik tanı ile doğrulandığını bildirilmiş ve ticari broylerlerde topallıkların en önemli etkeninin *S. aureus* olduğu kanısına varılmıştır. Aynı çalışmada ticari broyler sürülerinde FHN vakalarından %63.1 oranında *S.aureus*, %13.1 oranında *E.coli*, %10.5 oranında *Staphylococcus xylosus* (*S.xylosus*), %10.5 oranında *Staphylococcus hycius* (*S.hycius*) ve %2.6 oranında *Staphylococcus simulans* izole edildiği bildirilmiştir. Yer yumurtalarından kuluçkalan ticari broyler civcivlerinin FHN olgularından yapılan bakteriyolojik kültürde %12.5 oranında *S.aureus*, %12.5 oranında *S. hycius* ve %12.5 oranında *Enterococcus* cinsi izole

edilmiş olup; yer yumurtalarından kuluçkalanan etlik civcivlerde FHN insidensinin yüksek olduğu, böylece gerek damızlık çiftliklerde, gerekse de kuluçkahanelerde, hijyen ve bakım-yönetim şartlarının arthritis oluşumunda önemli etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda kuluçkadan çıktıktan sonra civcivlerin açık olan göbeklerinin, derilerinde meydana gelen herhangi bir yıpranma ve hatalı aşı uygulamalarının, *S.aureus* için önemli bir giriş yolu olduğu belirtilmiştir (2).

Bu çalışmada ticari broylerler dışında broyler damızlık tavukların arthritis vakalarından da %12 (4 adet) oranında *S.aureus* izole edilmiştir. 2005 yılında Joiner ve arkadaşları (100) tarafından yapılan çalışmada toplamıyla seyreden tenosynovit, femoral osteomyelit gözlenen broyler damızlık tavukların eklem lezyonlarından %72.6 oranında *Staphylococcus* spp izole edildiği ve bu oranın %38.9'unu *S. aureus* 'un oluşturduğu bildirilmiştir. Nawaz ve arkadaşları (101) ticari broyler ve broyler damızlık tavukların eklemlelerinden izole ettikleri *Staphylococcus*'ların 34'ünü *S.aureus*, 6'sını *Staphylococcus cohnii*, 2'sini *Staphylococcus sciuri* ve 2'sini de *S.xylosus* olarak tanımlamışlardır. Altay ve arkadaşları (102) tarafından yapılan bir çalışmada tavukların iç organ ve eklem sıvılarından izole edilen 46 adet koagülaz pozitif suşun 28'i (%23.3) *S.aureus*, 9'u (%7.5) *Staphylococcus delphini*, %3'ü (%2.5) *Staphylococcus intermedius*, 2'si (%1.7) *S.aureus subsp.anaerobicus*, 1'i (%0.8) *S.hycius*, 1'i (%0.8) *S.schleiferi subsp.coagulans* olarak saptanırken, 2'si (%1.7) tanımlanamamıştır. Aarestrup ve arkadaşları (103) tarafından yapılan başka bir çalışmada kanatlı hayvanlardan izole edilen 118 adet suşun 83'ünü *S.aureus*, 9'unu *S.hycius*, 8'ini *S.xylosus*, 2'sini *Staphylococcus chromogenes* ve 1'ini *Staphylococcus kloosi* olarak tanımlamışlar, geriye kalan 15 suşu ise tanımlanamamışlardır. 1993 yılında Thorp ve arkadaşları (104)'nin yaptıkları bir çalışmada tavukların FHN olgularından %22.2 oranında koagülaz pozitif *Staphylococcus* spp, %11.1 oranında koagülaz negatif *Staphylococcus* spp ve %13.3 oranında ise *E.coli* izole etmişlerdir. Tate ve arkadaşları (105) tarafından yapılan bir çalışmada ise *S.aureus*'un hindilerde de osteomyelitisin en önemli nedeni olduğu düşünüldüğü halde, osteomyelitisin klinik semptomlarını gösteren 9 hindinin tibia büyüme plaklarının lezyonlarından *S.hycius* izole edilmiştir. Geriye kalan 4 hindinin birinden *Salmonella* spp ve bir diğerinden ise *E. faecalis* izole edilmiştir. Yumurtacı damızlık tavukların arthritis vakalarından *S.aureus* izole edilememiş ve literatürde de yumurtacı damızlık sürülerinde *S.aureus*'un arthritis gelişimine etkisini inceleyen yayına rastlanmamıştır.

Tavukların arthritis olgularından aerobik bakteriyel etkenlerin yanı sıra Reovirüs, Adenovirüs (2, 3, 106) ve hatta çok şaşırtıcı olarak ILT virüsü de izole edilmiştir (5). Bu

Çalışmada da arthritis vakalarının %37.3'ünde herhangi bir bakterinin izole edilemeyişi, olguda asıl etkeninin bir virüs olma ihtimalini akla getirmektedir.

Bu sonuçlar, tavuklarda arthritis lezyonlarında, virulens faktörleri taşıyın veya taşımasın, *Enterococcus* türlerinin birincil veya ikincil etken olarak bulunabileceğini göstermiştir.

## KAYNAKLAR

1. SULLIVAN TW. Skeletal problems in poultry: estimated annual cost and descriptions. Poultry Science, 73(6): 879-82, 1994.
2. RIDDELL C, SPRINGER R. An epizootiological study of acute death syndrome and leg weakness in broiler chickens in western Canada. Avian Disease, 29(1): 90-102, 1985.
3. McNAMEE PT, SMYTH J. Bacterial chondronecrosis with osteomyelitis Femoral Head Necrosis of broiler chickens: a review. Avian Pathology, 29: 253-270, 2000.
4. BRADSHAW RH, KIRKDEN RD, BROOM DM. A review of the aetiology and pathology of leg weakness in broilers in relation to welfare. Avian and Poultry Biology Reviews, 13: 45-103, 2002.
5. JONES RC, WILLIAMS RA, SAVAGE CE, THORP BH. Isolation of Infectious Laryngotracheitis virus from proximal femora of lame broiler chickens. Research in Veterinary Science, 55: 377-8, 1993.
6. GÜNDEŞ S, WILLKE A, KARADENİZLİ A, ATEŞ B. Kocaeli Üniversitesi Hastanesi'nde ilk vankomisine dirençli enterokok izolasyonunu takiben yapılan nokta prevalansı çalışması sonuçları. Klinik Dergisi, cilt 15 sayı: 3 s: 78-81, 2002.
7. CHADFIELD MS, CHRISTENSEN JP, CHRISTENSEN H, BISGAARD M. Characterization of *streptococci* and *enterococci* associated with septicaemia in broiler parents with a high prevalence of endocarditis. Avian Pathology, 33(6): 610-7, 2004
8. LANDMAN WJ. Amyloid arthropathy in chickens. Veterinary Quarterly, 21(3): 78-82, 1999.
9. LANDMAN WJM, VELDMAN KT, MEVIUS DJ, VAN ECK JHH. Investigation of *Enterococcus faecalis*-induced bacteraemia in brown layer pullets through different inoculation routes in relation to the production of arthritis. Avian Pathology, 32(5): 463-471, 2003
10. STEENTJES A, VELDMAN KT, MEVIUS DJ, LANDMAN WJM. Molecular epidemiology of unilateral amyloid arthropathy in broiler breeders associated with *Enterococcus faecalis*. Avian Pathology, 31(1): 31-9, 2002.
11. KALINA AP. The taxonomy and nomenclature of *enterococci*. International Journal Systematic Bacteriology, 20:185-189, 1970.
12. KONRAD J, MAYER K, KNEIFEL W. Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus spp.* 1. Media for isolation and enumeration. International Journal of Food Microbiology, 88: 147-164, 2003.
13. GUNTER K. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of *enterococci* from food and gastro-intestinal tract. International Journal of Food Microbiology, 88: 123-131, 2003.
14. SCHLEIFER KH, KLEIN G. Ecology and taxonomy and physiology of *enterococci*. Editors: KALANTZOPOULOS G, ARNOLD D, KLEIN G. *Enterococci in Foods Functional and Safety Aspects*, Berlin, page 9, 2002.
15. CHEN DK, PEARCE L, McGEER A, LOW DE, WILLEY BM. Evaluation of D-Xylose and %1 Methyl-alfa-D-Glucopyranoside Fermentation Tests for Distinguishing *Enterococcus gallinarum* from *Enterococcus faecium*. Journal of Clinical Microbiology, 38: 3652-3655, 2000.

16. KALELİ D, ÖZKAYA F. Enterokoklar Genel Bilgiler. Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. <http://www.mikrobiyoloji.org>.
17. FACKLAM RR, SAHM DF, MARTINS TEIZEIRA L. *Enterococcus* In: MURRAY PR, BARON EJ, PFALLER MA, TENOVER FC, YOLKEN RH (eds). Manual of Clinical Microbiology, 7th ed, ASM pres, Washington DC, p:297-305, 1999.
18. MANERO A, BLANCH AR. Identification of *Enterococcus* spp with a biochemical key. Applied and Enviromental Microbiology, 65: 4425-4430, 1999.
19. HUYCKE MM, SAHM DF, GILMORE MS. Multiple-drug resistant *Enterococci*: The nature of the problem and an agenda for the future. Emerging Infectious Disease, 4: 239-246, 1998.
20. KAYAOĞLU G, QRSTAVIK D. Virulence Factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship to Endodontic Disease. Critical Reviews in Oral Biology&Medicine, 15: 308-320, 2004.
21. CHINGWARU W, MPUCHANE SF, GASHE BA. *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Isolates from Milk, Beef and Chicken and Their Antibiotic Resistance. Journal of Food Protection, 66: 931-936, 2003.
22. REUTER G. Culture media for *enterococci* and group D-*streptococci*. International Food Microbiology, 17: 101-11, 1992.
23. MIRANDA JM, FRANCO CM, VAZGUEZ BI, FENTE CA, VELAZGUEZ JB, CEPEDA A. Evaluation of Chromocult enterococci agar for the isolation and selective enumeration of *Enterococcus* spp in broilers. Letters in Applied Microbiology, 41: 153-156, 2005.
24. JACKSON CR, FEDORKA-CRAY PJ, JACKSON-HALL MC, HIOTT LM. Effect of media, temperature and culture conditions on the species population and antibiotic resistance of *enterococci* from broiler chickens. Letter Applied Microbiology, 41: 262-8, 2005.
25. KUHN I, IVERSEN A, BURMAN LG, OLSSON-LILJEQUIST B, FRANKLIN A, FINN M, AARESTRUP F, SEYFARTH AM, BLANCH AR, VILANOVA X, TAYLOR H, CAPLIN J, MORENO MA, DOMINGUEZ L, HERRERO IA, MOLLBY R. Comparison of enterococcal populations in animals, humans and the environment- a European study. International Food Microbiology 88: 133-145, 2003.
26. RICE EW, MESSER JW, JOHNSON CH, REASONER DJ. Occurence of high-level aminoglycoside resistance in environmental isolates of *enterococci*. Applied Environmental Microbiology, 61: 374-6, 1995.
27. HARWOOD VJ, DELAHOYA NC, ULRICH RM, KRAMER MF, WHITLOCK JE, GAREY JR. Molecular confirmation of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from clinical, faecal and enviromental sources. Letters and Applied Microbiology, 38: 476-482, 2004.
28. WILSON IG, McAFEE GG. Vancomycin-resistant *enterococci* in shellfish, unchlorinated waters and chicken. International Journal of Food Microbiology, 79: 143-151, 2002.
29. BONTEN MJ, WILLEMS R, WEINSTEIN RA. Vancomycin-resistant *enterococci*: why are they here, and where do they come from?. Lancet Infectious Disease, 1: 314-325, 2001.
30. ROBREDO B, SINGH KV, BAQUERO F, MURRAY BE, TORRES C. Vancomycin-resistant *enterococci* isolated from animals and food. International Journal of Food Microbiology, 54: 197-204, 2000.

31. GENTRY-WEEKS CR, KARKHOFF-SCHWEIZER R, PIKIS A, ESTAY M, KEITH JM. Survival of *Enterococcus faecalis* in Mouse Peritoneal Macrophages. *Infection and Immunity*, 67: 2160-2165, 1999.
32. JETT BD, HUYCKE MM, GILMORE MS. Virulence of *Enterococci*. *Clinical Microbiology*, 7: 462-478, 1994.
33. JONES RN, MARSHALL SA, PFALLER MA, WILKE WW, HOLLIS RJ, RWIN ME, EDMOND MB, WENZEL RP. The SCOPE Hospital Study Group. Nosocomial enterococcal blood stream infections in the SCOPE program: Antimicrobial resistance, species occurrence, molecular testing results and laboratory accuracy. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 29: 95-102, 1997.
34. LUKASOVA J, SUSTACKOVA A. *Enterococci* and Antibiotic Resistance. *Acta Veterinaria Brno*, 72: 315-323, 2003.
35. SANDOE JA, WITHERDEN IR, SETTLE C. Vertebral osteomyelitis caused by *Enterococcus raffinosus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 39: 1678-9, 2001.
36. IARIA C, STASSI G, COSTA GB, DI LEO R, TOSCANO A, CASCIO A. Enterococcal meningitis caused by *Enterococcus casseliflavus*. First case report. *BMC Infectious Disease*, 14;5(1): 3, 2005.
37. İNAN D, GÜNSEREN F, ÇOLAK D, SABA R, KAZAN S, MAMIKOĞLU L. First confirmed case of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* meningitis in Turkey: case report and literature reviews. *Journal of Chemotherapy*, 16: 608-11, 2004.
38. MOHANTY S, DHAWAN B, KAPIL A, DAS BK, PANDEY P, GUPTA A. Brain abscess due to *Enterococcus avium*. *American Journal of Medical Science*, 329: 161-2, 2005.
39. HSUEH P, TENG L, CHEN Y, YANG P, HO S, LUH K. Recurrent Bacteremic Peritonitis Caused by *Enterococcus cecorum* in a Patient with Liver Cirrhosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 38: 2450-2452, 2000.
40. YOSMIHURA H, ISHIMARU M, ENDOH YS, KOJIMA A. Antimicrobial susceptibilities of *enterococci* isolated from faeces of broiler and layer chickens. *Letters in Applied Microbiology*, 31: 427-432, 2000.
41. MANSON JM, SMITH JMB, COOK GM. Persistence of Vancomycin-Resistant *Enterococci* in New Zealand Broilers after Discontinuation of Avoparcin Use. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 5764-5768, 2004.
42. GAMBAROTTO K, PLOY MC, DUPRON F, GIANGIOBBE M, DENIS F. Occurrence of vancomycin-resistant *enterococci* in pork and poultry products from a cattle-rearing area of France. *Journal of Clinical Microbiology*, 39: 2354-2355, 2001.
43. TEJEDOR-JUNCO MT, AFONSO-RODRIGUEZ O, MARTIN-BARRASA JL, GONZALEZ-MARTIN M. Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus* strains isolated from poultry faeces. *Research Veterinary Science*, 78: 33-38, 2005.
44. KAÇMAZ B, AKSOY A. Antimicrobial resistance of *enterococci* in Turkey. *International Journal Antimicrobial Agents*, 25: 535-8, 2005.
45. POETA P, COSTA D, RODRIGUES J, TORRES C. Antimicrobial resistance and the mechanisms implicated in faecal *enterococci* from healthy humans, poultry and pets in Portugal. *International Journal Antimicrobial Agents*, 27: 131-7, 2006.
46. ÇETİNKAYA Y, FALK P, MAYHALL CG. Vancomycin-resistant *enterococci*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13: 686-707, 2000.

47. EISNER A, FEIERL G, GORKIEWICZ G, DIEBER F, KESSLER HH, MARTH E, KOFER J. High prevalence of VanA-type vancomycin-resistant *Enterococci* in Austrian poultry. *Applied Environmental Microbiology*, 71: 6407-9, 2005.
48. BATES J, JORDENS JZ, GRIFFITHS DT. Farm animals as a putative reservoir for vancomycin-resistant enterococcal infection in man. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 34: 507-514, 1994.
49. DEVRIESE LA, CEYSSENS K, RODRIGUES UM, COLLINS MD. *Enterococcus columbae*, a species from pigeon intestines. *FEMS Microbiology Letter*, 59: 247-51, 1990.
50. DEVRIESE LA, COLQUE JI, DE HERDT P, HAESEBROUCK F. Identification and composition of the tonsillar and anal enterococcal and streptococcal flora of dogs and cats. *Journal Applied Bacteriology*, 73: 421-5, 1992.
51. MANSON JM, KEIS S, SMITH JMB, COOK GM. Characterization of a vancomycin-Resistant *Enterococcus faecalis* (VREF) Isolate from a Dog with Mastitis: Further Evidence of a Clonal Lineage of VREF in New Zealand. *Journal of Clinical Microbiology*, 41: 3331-3333, 2003.
52. LAPOINTE JM, HIGGINS R, BARRETTE N, MILETTE S. *Enterococcus hirae* Enteropathy with Ascending Cholangitis and Pancreatitis in a Kitten. *Veterinary Pathology*, 37: 282-284, 2000.
53. DE VAUX A, LAGUERRE G, DIVIES C, PREVOST H. *Enterococcus asini* sp.nov. isolated from the caecum of donkey. *International Journal Systematic Bacteriology*, 2: 383-7, 1998.
54. SANDHU TS. Fecal streptococcal infection of commercial white pekin ducklings. *Avian Disease*, 32(3): 570-3, 1988.
55. DEVRIESE LA, HOMMEZ J, LAESENS H, POT B, VANDAMME P, HAESEBROUCK F. Identification of aesculin-hydrolyzing *streptococci*, *lactococci*, *aerococci* and *enterococci* from subclinical intramammary infections in dairy cows. *Veterinary Microbiology*, 70: 87-94, 1999.
56. SVEC P, DEVRIESE LA, SEDLACEK I, BAELE M, VANCONNEYT M, HAESEBROUCK F, SWINGS J, DOSKAR J. Characterization of yellow-pigmented and motile *enterococci* isolated from intestines of the garden snail *Helix aspersa*. *Journal Applied Microbiology*, 92: 951-7, 2002.
57. DEVRIESE LA, UYTTEBROEK E, DUCATELLE R, VIAENE N, DERIJCKE J, GEVAERT D. Tracheitis due to *Enterococcus faecalis* in canaries. *Journal of the Association of Avian Veterinarians* 4: 113-116, 1990a.
58. DEVRIESE LA, HOMMEZ J, WIJFELS R, HAESEBROUCK F. Composition of the enterococcal and streptococcal intestinal flora of poultry. *Journal Applied Bacteriology*, 71: 46-50, 1991.
59. KUNTZ RL, HARTEL PG, RODGERS K, SEGARS WI. Presence of *Enterococcus faecalis* in broiler litter and wild bird feces for bacterial source tracking. *Water Research*, 38: 3551-3357, 2004.
60. DEVRIESE LA, VANCANNEYT M, DESCHEEMAEKER P, BAELE M, VAN LANDUYT HW, GORDTS B, BUTAYE P, SWINGS J, HAESEBROUCK. Differentiation and identification of *Enterococcus durans* and *E.hirae* and *E.villorum*. *Journal of Applied Microbiology*, 92: 821-827, 2002.
61. CHADFIELD MS, CHRISTENSEN JP, JUHL-HANSEN J, CHRISTENSEN H, BISGAARD M. Characterization of *Enterococcus hirae* outbreaks in broiler

- flocks demonstrating increased mortality because of septicemia and endocarditis and/or altered production parameters. *Avian Disease*, 49(1): 16-23, 2000.
62. JACKSON CR, FEDORKA-CRAY PJ, BARRETT JB, LADELY SR. Genetic Relatedness of High-Level Aminoglycoside Resistant *Enterococci* Isolated From Poultry Carcasses. *Avian Disease*, 48: 100-107, 2004.
  63. DEVRIESE LA, CAUWERTS K, HERMANS K&WOOD AM. *Enterococcus cecorum* septicaemia as a cause of bone and joint lesions resulting in lameness in broiler chickens. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 71: 219-221, 2002.
  64. LANDMAN WJM, GRUYS E, GIELKENS ALJ. Avian amyloidosis. *Avian Pathology*, 27: 437-449, 1998b.
  65. LANDMAN WJM, MEKKES DR, CHAMANZA R, DOORNENBAL P, GRUYS E. Arthropatic and Amyloidogenic *Enterococcus faecalis* infections in Brown layers: a study on infection routes. *Avian Pathology*, 28: 545-557, 1999b.
  66. COLBATZKY F, BRUUNBERG L, LINKE RP, GEISEL O, HERMANNNS W. AA-Like Amyloid Deposits Confined to Arthritic Joints in Two Dogs With Rheumatoid Arthritis. *Journal Comparative Pathology*, 105: 331-343, 1991.
  67. SHIMIZU K, HIGUCHI K, MATSUSHITA M, YAMAMURO T, TAKEDA T. Immunohistochemical Studies of Age-Associated Amyloid Deposition in the Joint of Senescence-Accelerated Mouse (sAM). *Zeitschr.Rheumatol*, 51: 243-248, 1985.
  68. GLENNER GG. Amyloid deposits and amyloidosis, The Beta fibrilloses. *New England Journal Med*. 302: 1283-1292, 1980.
  69. MITCHELL TI, COON CI, BRINCKERHOFF CE. Serum amyloid A produced by rabbit synovial fibroblast treated with phorbol ester sor interleukin 1 induces synthesis of collagenase and is neutralized with specific antiserum. *The Journal of Clinical Investigation*, 87: 1177-1185, 1991.
  70. RAY A, SCHATTEN H, RAY BK. Activation of Sp1 and its functional co-operation with serum amyloid A-activating sequence binding factor in synoviocyte cells trigger synergistic action of interleukin-1 and interleukin-6 in serum amyloid A gene expression. *Journal of Biological Chemistry*, 274: 4300-4308, 1999.
  71. MAESTRINI N, PASCUCCI S. Amyloidosis in guinea fowl. *Atti della Societa Italiana delle Scienze Veterinarie*. 24: 485-486, 1970.
  72. LANDMAN WJM, GRUYS E. Amyloid arthropathy in an Indian peafowl. *Veterinary Record*, 142: 90-91, 1998.
  73. LANDMAN WJM, GRUYS E, DWARS RM. A syndrome associated with growth depression and amyloid arthropathy in layers:a preliminary report. *Avian Pathology*, 23: 461-470, 1994.
  74. SEVİMLİ A, MISIRLIOĞLU D. *Enterococcus faecalis* ile enfekte edilen yumurtacı piliçlerde A vitamininin Amiloid Artropati oluşumunu artırıcı etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28: 131-138, 2004.
  75. LANDMAN WJM, BOGAARD UAEJM, DOORNENBAL P, TOOTEN PCJ, ELBERS ARW, GRUYS E. The role of various agents in amyloid arthropathy. *Amyloid: International Journal of Experimental and Clinical Investigation*, 5: 266-78, 1998a.
  76. LANDMAN WJM, FEBERWEE A, MEKKES DR, VELDMAN KT, MEVIUS DJ. A study on the vertical transmission of arthropatic and amyloidogenic *Enterococcus faecalis*. *Avian Pathology*, 28: 559-566, 1999.
  77. LANDMAN WJM, VELDMAN KT, MEVIUS DJ, DOORNENBAL P. Contamination of Mareks disease vaccine suspensions with *Enterococcus*



- faecalis* and its possible role in amyloid arthropathy. Avian Pathology, 29: 21-25, 2000.
78. JOHNSON AP. The pathogenicity of *enterococci*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 33: 1083-1089, 1994.
  79. VANKERCKHOVEN V, AUTGAERDEN TV, VAEL C, LAMMENS C, CHAPELLE S, ROSSI R, JABES D, GOOSSENS H. Development of a Multiplex PCR for the Detection of *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* Genes in *Enterococci* and Survey for Virulence Determinants among European Hospital Isolates of *Enterococcus faecium*. Journal of Clinical Microbiology, 42: 4473-4479, 2004.
  80. MUNDY LM, SAHM DF, GILMORE M. Relationship between Enterococcal virulence and antimicrobial resistance. Journal of Clinical Microbiology, 13: 513-522, 2000.
  81. SHANKAR N, COBURN P, PILLAR C, HAAS W, GILMORE M. Enterococcal cytolysin: activities and association with other virulence traits in a pathogenicity island. International Journal Medical Microbiology, 293: 1-10, 2004.
  82. ALEBOUYEH M, AMIRMOZAFARI N, FOROHESH H. Evaluation of virulence factors and plasmid-related transmissibility among different isolates of *Enterococci*. Iranian Biomedical Journal, 9(2): 51-55, 2005.
  83. ELSNER HA, SOBOTTKA I, MACK D, CLAUSSEN M, LAUFS R, WIRTH R. Virulence factors of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* blood culture isolates. Europa Journal of Clinical Microbiology, 19: 39-42, 2000.
  84. DUPONT H, MONTRAVERS P, MOHLER J, CARBON C. Disparate findings on the role of virulence factors of *Enterococcus faecalis* in mouse and rat models of peritonitis. Infection and Immunity, 66: 2570-2575, 1998.
  85. KANEMITSU K, NISHINO T, KUNISHIMA H, OKAMURA N, TAKEMURA H, YAMAMOTO H, KAKU M. Quantitative determination of gelatinase activity among *enterococci*. Journal Microbiology Methods, 47: 11-6, 2001.
  86. BALDASSARRI L, CRETÌ R, ARCIOLA CR, MONTARANO L, VENDITTI M, DI ROSA R. Analysis of virulence factors in cases of enterococcal endocarditis. Clinical Microbiology and Infection, 10: 1006-8, 2004.
  87. ÇİFTÇİ A. Tavukların Deneysel Amiloid Artropatisinde *Enterokok* Virulens Faktörlerinin Rolü. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2004.
  88. SCHLIEVERT P, GAHR PJ, ASSIMACOPOULOS AP, DINGES MM, STOEHR JA, HARMALA JW, HIRT H, DUNNY GM. Aggregation and binding substances enhance pathogenicity in rabbit models of *Enterococcus faecalis* endocarditis. Infection and Immunity, 66: 218-223, 1998.
  89. COQUE TM, PATTERSON JE, STECKELBERG JM, MURRAY BE. Incidence of hemolysin, gelatinase and aggregation substance among *enterococci* isolated from patients with endocarditis and other infections and from feces of hospitalized and community-based persons. Journal of Infections Disease, 171(5): 1223-9, 1995.
  90. VALDIVIA E, MARTIN-SANCHEZ I, QUIRANTES R, MARTINEZ-BUENO M, GALVEZ A, MAQUEDA M. Incidence of antibiotic resistance and sex pheromone response among *enterococci* isolated from clinical human samples and from municipal waste water. Journal of Applied Bacteriology, 81: 538-544, 1996.
  91. SULAIMAN A, RAKITA RM, ARDUINO RC, PATTERSON JE, STECKELBERG JM, SINGH KV, MURRAY BE. Serological investigation of

- enterococcal infections using western blot. *Europa Journal Clinical Microbiology Infectious Disease*, 15: 826-829, 1996.
92. HUEBNER JA, QUAAS WA, KRUEGER DA, GOLDMANN, PIER GB. Prophylactic and therapeutic efficacy of antibodies to a capsular polysaccharide shared among vancomycin-sensitive and-resistant *enterococci*. *Infection and Immunity*, 68: 4631-4636, 2000.
  93. McCORMICK JK, TRIPP TJ, DUNNY GM, SCHLIEVERT PM. Formation of vegetations during infective endocarditis excludes binding of bacterial-specific host antibodies to *Enterococcus faecalis*. *Journal of Infectious Disease*, 185: 994-997, 2002.
  94. McCORMICK JK, HIRT H, WATERS CM, TRIPP TJ, DUNNY GM, SCHLIEVERT PM. Antibodies to surface-exposed N-terminal domain of aggregation substance are not protective in the rabbit model of *Enterococcus faecalis* infective endocarditis. *Infection and Immunity*, 69: 3305-3314, 2001.
  95. IKE Y, TANIMOTO K, TOMITA H, TAKEUCHI K, FUJIMOTO S. Efficient transfer of the pheromone-independent *Enterococcus faecium* plasmid pMG1 (Gmr) to *Enterococcus* strains during broth mating. *Journal of Bacteriology*, 180: 4886-4892, 1998.
  96. ARDA M. Bazı önemli biyokimyasal testler. *Temel Mikrobiyoloji*, 1. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, sayfa: 300-301, 1997.
  97. JOHN PWM. *Statistical Design and Analysis of Experiments*. New York, Macmillan, 1971.
  98. SPITZNAGEL JK, GOODRUM KJ, WAREJCKA DJ. Rat arthritis due to whole group B streptococci. *American Journal of Pathology*, 112: 37-47, 1983.
  99. SKEELES JK. Staphylococcosis, In "Diseases of Poultry", 10<sup>th</sup>, Iowa State University Pres, Iowa USA, page 247-253, 1997.
  100. JOINER KS, HOERR FJ, VAN SANTEN E, EWALD SJ. The avian major histocompatibility complex influences bacterial skeletal disease in broiler breeder chickens. *Veterinary Pathology*, 42(3): 275-81, 2005.
  101. NAWAZ MS, KHAN AA, PAINE DD, POTHULURI JV, CERNIGLIA CE. Biochemical and molecular characterization of erythromycin-resistant avian *staphylococcus spp* isolated from chickens. *Poultry Science*, 78: 1191-1197, 1999.
  102. ALTAY G, KESKİN O, AKAN M. Tavuklardan izole edilen Stafilokok suşlarının identifikasyonu ve bazı antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27: 595-600, 2003.
  103. AARESTRUP FM, AGERSO Y, AHRENS P, JORGENSEN JCO, MADSEN M, JENSEN LB. Antimicrobial susceptibility and presence of resistance genes in *staphylococci* from poultry. *Veterinary Microbiology*, 74: 353-364, 2000.
  104. THORP BH, WHITEHEAD CC, DICK L, BRADBURY JM, JONES RC&WOOD A. Proximal femoral degeneration in growing broiler fowl. *Avian Pathology*, 22: 325-342, 1993.
  105. TATE CR, MITCHELL WC, MILLER RG. *Staphylococcus hyicus* associated with turkey stifle joint osteomyelitis. *Avian Disease*, 37(3): 905-7, 1993.
  106. JONES RC, GUNERATNE JR, GEORGIU K. Isolation of viruses from outbreaks of suspected tenosynovitis (viral arthritis) in chickens. *Research in Veterinary Science*, 31: 100-3, 1981.

## TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, gerçekleştirilmesi ve yazım aşamasında değerli zamanını ayırarak bana yol gösteren saygıdeğer danışman hocam Prof.Dr. K. Tayfun ÇARLI'ya, laboratuvar çalışmalarında her türlü yardımı benden esirgemeyen Sağlık Teknikeri Şevket GÜNAY ve Laborant Ayşe ŞERİKOĞLU'na, Anabilim dalımızın diğer öğretim üyelerine ve Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim. Fakültem dışında bana her konuda destek olan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr. Alper ÇİFTÇİ'ye, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr Serap SAVAŞAN'a, doktora eğitimim boyunca her türlü desteği sağlayan Keskinöglü Şirketler Grubunun değerli Yönetim Kurulu üyelerine ve her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

12. 03. 1975 tarihinde İzmir’de doğdum. İlkokul öğrenimimi İzmir Namık Kemal İlkokulu’nda, ortaokulu öğrenimimi İzmir Hakimiyet-i Milliye Ortaokulu’nda, lise öğrenimimi ise İzmir Karataş Lisesi’nde tamamladım. 1993 yılında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ni kazandım fakat 5 yıllık eğitimimi Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesinde tamamladım ve 1998 yılında mezun oldum. 1998-1999 yılında Bodrum’da kurulu olan özel bir su ürünleri işleme tesisinde Veteriner Hekim olarak çalışmaya başladım. 2002 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda Doktora öğrencisi olarak eğitimime başladım. Halen özel bir kanatlı işletmesinin teşhis laboratuvarında laboratuvar sorumlusu olarak görev yapmaktayım.