

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Canan KESKİNÖZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TAVUK ÇİFTLİĞİNDEN *ENTEROBACTERIACEAE* ÜYELERİNİN  
İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİK DAĞILIMI**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ADANA, 2010**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAVUK ÇİFTLİĞİNDEN *ENTEROBACTERIACEAE* ÜYELERİNİN  
İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİK DAĞILIMI**

**Canan KESKİNÖZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BIYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Bu Tez ...../...../..... Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından  
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....  
Prof. Dr. Sadık DİNÇER  
DANIŞMAN

.....  
Prof. Dr. Gökhan CORAL  
ÜYE

.....  
Doç Dr. Hatice GÜVENMEZ  
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.  
**Kod No:**

**Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL**  
**Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.**  
**Proje No:FEF2009YL7**

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZ

### YÜKSEK LİSANS

#### TAVUK ÇİFTLİĞİNDEN *ENTEROBACTERIACEAE* ÜYELERİNİN İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİK DAĞILIMI

Canan KESKİNÖZ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Sadık DİNÇER  
Yıl: 2010, Sayfa: 65

Jüri : Prof. Dr. Sadık DİNÇER  
: Prof.Dr. Gökhan CORAL  
: Assoc. Prof. Dr. Hatice GÜVENMEZ

Bu çalışmada, Adana etlik tavuk üretim çiftliğinden ve Anamur Gözsüzce köyünden alınan tavuk dışkı örneklerinden bakteri izolasyonu yapıldı. EMB ve SS besiyerlerinden toplam 516 bakteri izole edildi. İzolatların Antibiyotik dirençlilik profilleri ve plazmid profilleri belirlenerek karşılaştırılma yapıldı.

*Enterobacteriaceae*, *Vibrio* sp., *Streptococcus faecalis* ve *Campylobacter* sp. varlığı incelendi.

**Anahtar Kelimeler:** Broyler Tavuklar, Antibiyotik Dirençliliği, *Enterobacteriaceae*, Plazmid Profili

## ABSTRACT

### MSc THESIS

# ISOLATION OF ENTEROBACTERIACEAE FROM BROILER CHICKEN DISTRIBUTION OF ANTIBIOTIC RESISTANT

Canan KESKİNÖZ

ÇUKUROVA UNIVERSITY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Supervisor: Prof. Dr. Sadık DİNÇER

Year: 2010, Pages: 65

Jury : Prof. Dr. Sadık DİNÇER

: Prof. Dr. Gökhan CORAL

: Assoc. Prof. Dr. Hatice GÜVENMEZ

In this study, bacteria isolation was made from samples of chicken faeces taken from a broiler production enterprise in Adana and the village Gözsüzce in Anamur. From EMB and SS media a total of 516 bacteria was isolated. Antibiotic resistance profiles and plasmid profiles of the isolates were determined and compared.

The existence of *Enterobacteriaceae*, *Vibrio* sp., *Streptococcus faecalis* and *Campylobacter* sp. in all stool samples were investigated.

**Key Words:** Broiler Chickens, Antibiotic Resistance, *Enterobacteriaceae*, Plasmid Profile

## **TEŞEKKÜR**

Tez konumun seçiminde ve y¼r¼t¼lmesinde her t¼rl¼ desteği sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Sadık DİNÇER'e teŐekk¼rlerimi sunarım.

Tez savunmam sırasında beni bilgilendiren j¼ri ¼yelerim Prof. Dr. G¼khan CORAL'a ve Doç. Dr. Hatice G¼VENMEZ'e teŐekk¼r ederim.

Tez ęalıŐmam esnasında bana maddi destek sağlayan Çukurova ¼niversitesi BAP birimine teŐekk¼rlerimi sunarım.

Bug¼ne kadar beni destekleyen, ęalıŐmalarım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden hiç esirgemeyen aileme, tez yazım aşamasında bana yardımcı olan niŐanlım Tilman LINNEWEH'e, ablam Nesli KESKİNÖZ BİLEN'e, arkadaŐlarım, Sezen ŞAHİN ve Esra İNAN'a, teŐekk¼r¼ bir borę bilirim.

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA

ÖZ .....	I
ABSTRACT .....	II
TEŞEKKÜR .....	III
İÇİNDEKİLER .....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Tavuk Eti ve Mikroorganizma Florası .....	2
1.2. Türkiye’de Tavukçuluk.....	5
1.3. Ülke Ekonomisindeki Yeri.....	6
1.4. Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliğinde Antibiyotik Kullanımı.....	6
1.5. Tavuk Etinde Antibiyotik Kalıntı Riski .....	9
1.6. Antibiyotik Kullanımının Yararları ve Zararları.....	11
1.7. Antibiyotik Kalıntılarına İlişkin Yasal Düzenlemeler .....	12
1.8. Ülkemizde Denetim .....	12
1.9. Çalışmanın Amacı .....	13
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	15
3. MATERYAL VE METOD .....	21
3.1. Materyal .....	21
3.1.1. Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltiler.....	21
3.1.1.1. EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar).....	21
3.1.1.2. SS Agar ( <i>Salmonella Shigella</i> Agar) .....	21
3.1.1.3. Nutrient Agar .....	22
3.1.1.4. PCA Agar .....	22
3.1.1.5. Luria-Bertani (LB) Broth .....	23
3.1.1.6. TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Sucrose) Agar.....	23
3.1.1.7. CCDA (Charcoal Cefoperozone Deoxycholate Agar).....	23
3.1.1.8. Azid Dextroz Broth (MERCK) .....	24
3.1.1.9. Tryptic Soy Agar (TSA) .....	25

3.1.1.10. Plazmid İzolasyon Kiti.....	25
3.1.1.11. 10X TBE (Tris, Borik asit, EDTA).....	25
3.1.1.12. Agaroz Jel (%0,7).....	26
3.1.1.13. Örnek Yükleme Tamponu (Loading Buffer) .....	26
3.1.1.14. Yürütme Tamponu (Running Buffer) .....	26
3.1.1.15. Boyama Solüsyonu (Staining, Ethidium Bromür) .....	26
3.1.1.16. Boyayı Geri Alma Solüsyonu (Destaining) .....	26
3.1.1.17. Kullanılan Antibiyotikler .....	26
3.2. Metod .....	28
3.2.1. Örneklerin Alınması.....	29
3.2.2. Toplam Mezofilik Aerobik Bakterilerin Sayımı .....	29
3.2.3. <i>Enterobacteriaceae</i> Üyesi Bakterilerin İzolasyonu .....	29
3.2.4. <i>Streptococcus faecalis</i> Saptanması.....	30
3.2.5. <i>Vibrio</i> sp., Tayini .....	30
3.2.6. <i>Salmonella</i> ve <i>Shigella</i> Türlerinin İzolasyonu .....	30
3.2.7. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	31
3.2.8. Çoklu Antibiyotik Direnci (MAR) İndeksi .....	31
3.2.9. Bakteri İdentifikasyonu .....	32
3.2.10. Plazmid DNA İzolasyonu .....	32
3.2.11. Plazmid DNA'nın Agaroz Jel Elektforezi .....	32
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	33
4.1. Etlik Piliç Üretimi Yapan Firmada Kullanılan Haftalık Yem Miktarı ve Canlı Ağırlıkları.....	33
4.2. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteriler .....	34
4.3. Etlik Cıvı ve Tavuktan İzole Edilen İzolatların Antibiyogram Sonuçları... 36	
4.4. <i>Vibrio</i> sp., <i>Streptococcus faecalis</i> ve <i>Campylobacter</i> sp. Sonuçları.....	46
4.5. Plazmid Profillerinin Analizi .....	48
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	51
KAYNAKLAR .....	55
ÖZGEÇMİŞ .....	65

## ÇİZELGELER DİZİNİ

## SAYFA

Çizelge 1.1. Yıllar İtibariyle Türkiye Hayvan Varlığındaki Gelişmeler.....	1
Çizelge 1.2. Yıllara Göre Antibiyotik Büyütme Faktörlerinin Yasaklanması .....	7
Çizelge 1.3. Gıda Kaynaklı Hastalık ve Zehirlenme Semptomlarının Etmenleri .....	4
Çizelge 3.1. Kullanılan Antibiyotikler .....	27
Çizelge 3.2. Kullanılan Antibiyotikler ve Antibakteriyal Etki Mekanizmaları .....	28
Çizelge 4.1. Örnek Alma Tarihleri ve Yem Geçiş Dönemleri.....	33
Çizelge 4.2. PCA Sonuçlarına Göre Toplam Aerob Mezofilik Bakteri Sayısı.....	35
Çizelge 4.3. Antibiyogramları Yapılan Bakteriler .....	37
Çizelge 4.4. İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençlilik Dağılımları.....	43
Çizelge 4.5. 1., 2., 3. Örneklerden ve Köy Tavuklarında İzole Edilen Bakterilerin Çoklu Antibiyotik (MAR) Oranları .....	44



Şekil 4.1. Etlik piliç üretimi yapan firmada kullanılan haftalık yem miktarı ve canlı ağırlıkları .....	34
Şekil 4.2. Toplam mezofilik aerobik bakteriler.....	36
Şekil 4.3. % Antibiyotik dirençlilik profili.....	37
Şekil 4.4. EMB besiyerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençlilik profilleri.....	39
Şekil 4.5. SS besiyerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençlilik profilleri.....	40
Şekil 4.6. Köy tavuklarından izole edilen bakterilerin %'lik dirençlilik değerleri ...	42
Şekil 4.7. 1., 2., 3. Örneklerden ve köy tavuklarında izole edilen bakterilerin çoklu antibiyotik (MAR) oranları .....	45
Şekil 4.8. SS besiyerinden izole edilen ve denenen tüm antibiyotiklere dirençli olan bir suşun antibiyogramı.....	46
Şekil 4.9. Etlik piliç üretimi yapılan firmadan <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> görüntüsü .....	47
Şekil 4.10. <i>Vibrio</i> sp.'nin mikroskop görüntüsü .....	47
Şekil 4.11. Plazmid DNA'larının agaroz jel elektroforez görüntüsü .....	48



## 1. GİRİŞ

Son yıllarda tavuk eti sağlıklı, besleyici ve ucuz olmasıyla vazgeçilmez bir gıda ürünü haline gelmiştir. Tavuk etinin yenilebilir kısmının yaklaşık dörtte birini, yüksek kalitedeki protein ve insan beslenmesinde gerekli tüm aminoasitleri de içermektedir. B vitaminleri açısından iyi bir kaynak olan tavuk eti, demir ve fosfor bakımından da zengindir ve önemli düzeylerde niyasin, riboflavin, tiamin ve askorbik asit içermektedir. Özellikle fiyat açısından uygun olması, diğer et ürünlerine oranla içerik (protein, temel aminoasitler vs.) bakımından zengin oluşu, bunun yanısıra kolay sindirilir, düşük kalorili ve yağ oranının az oluşu nedeniyle hasta diyetlerinde de kullanılması tavuk eti ürünlerinin, tüketimi en fazla gıda grubu içerisinde yer almasına sebep olmaktadır (İnal, 1992). Son yıllarda bu talebe bağlı olarak birçok tavuk üretim çiftlikleri ve işletmeler açılmıştır.

Çizelge 1.1. Yıllar İtibariyle Türkiye Hayvan Varlığındaki Gelişmeler (Milyon)

Yıllar	Sığır	Manda	Koyun	Keçi	Toplam	Tavuk
1928	6.934	795	13.632	12.106	33.467	-
1936	8.329	801	20.772	15.017	44.919	18.018
1940	9.759	947	26.272	16.896	53.874	19.757
1945	9.810	848	23.386	16.248	50.292	18.874
1950	10.123	948	23.082	18.464	52.617	20.544
1955	11.059	1.058	26.444	21.033	59.594	23.629
1960	12.435	1.140	34.463	24.633	72.671	28.821
1965	13.203	1.216	33.382	20.805	68.606	31.023
1970	12.756	1.117	36.471	19.483	69.827	34.289
1975	13.751	1.051	41.366	18.763	74.931	41.489
1980	15.894	1.031	48.630	19.043	84.598	61.450
1985	12.466	551	42.500	13.336	68.853	64.361
1990	11.377	371	40.553	10.977	63.278	102.262
1995	11.789	255	33.791	9.111	54.946	135.251
2000	10.765	146	28.492	7.201	46.604	258.168

Etlik piliç yetiştiriciliği veya diğer adıyla broyler yetiştiriciliğinin kendi içerisinde birçok alt birimleri vardır. Bunlar;

Etlik civciv çıkaran damızlık ünitesi ve kuluçka, entegrenin kendisine veya yetiştiriciye ait kümesler, piliçlerin sağlıklı yetişmesi ve hastalıklardan korunması için aşı, ilaç ve premiks, etlik piliçlerin besi sonunda işleneceği kesimhane, işlenmiş ve çeşitli şekillerde paketlenmiş etlik piliç ürünlerini pazarlama, mevcut olan piliç eti satış reyonu, etlik piliçlerin satışı için açılan işyerleri, bütün bu birimlerin işlemlerini ve çalışmasını sağlayan ekipman yapımı veya ithalatı suluk, yemlik, kafes vs. gibi kümeste kullanılan ekipmanlar.

Etlik piliç yetiştiriciliğinde en önemli birim ise besleme için yem fabrikası etlik civciv ve etlik piliç yemi üretimidir. Yemleme, uzmanların tavsiyesine göre aşama aşama yapılmalıdır. Bu yemlerde aşamasına göre mısır, arpa, buğday gibi hububatlarla soya küspesi, ayçiçeği küspesi, pamuk tohumu küspesi, balık unu ve et-kemik unu verilmelidir. Etlik piliç yetiştirilmesinde Yem Fabrikaları tarafından üretilen aşamalı yem uygulanmaktadır. Bunları şöyle sıralayabiliriz;

**Etlik civciv yemi:** Bu yem yumurtadan çıktıktan sonra ilk 11 günlük evrede etlik civcivlerin yemlenmesinde kullanılır.

**Etlik Piliç başlangıç yemi:** Etlik civcivlerin 11.gününden itibaren 21.gününe kadarki evrede yemlendirilmesinde kullanılır.

**Etlik Piliç büyütme yemi:** Etlik piliç 21.gününden itibaren kesimine 1 hafta kalana kadar dönemlerde yenilenmesinde kullanılır.

**Etlik Piliç bitiş yemi:** Etlik piliçlerin kesim öncesi 1 hafta yemlenmesinde kullanılır. Etlik piliç bitirme yemi hem ekonomik hem de antibiyotik içermediği ve etin raf ömrünü uzatmak için ilave vitamin E ve C içerdiği için mutlaka yedirilmelidir (Anonymous, 2010b).

1734 sayılı “**Yem Kanunu ve Yem Yönetmeliği**” hükümlerine göre yemler, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı yetkililerince sürekli denetime tabi tutulmaktadır (Anonymous, 2009a).

### 1.1. Tavuk Eti ve Mikroorganizma Florası

Tavuklarda mikrobiyal kontaminasyon kuluçka döneminde başlamaktadır. Ancak civcivler, mikroorganizma kolonizasyonuna yetişmiş tavuklara göre daha fazla

duyarlıdırlar. Kuluçka ve yetiştirme döneminde kümes ve kümes ortamı, su, yem, çevrede bulunabilecek çeşitli hayvanlar ve insan bir çok bozulma etmeni ve patojen mikroorganizma için önemli kontaminasyon kaynaklarıdır (Jones ve ark., 1991; Anonymous, 1998; Karapınar ve Gönül, 1998; Uyttendaele ve ark., 1999; Bailey ve ark., 2001).

Tavuk ve tavuk ürünlerinde en sık rastlanılan mikroorganizmalar *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Alteromonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Salmonella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter-Moraxella*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, ve *Campylobacter* türleridir (Mullerat ve ark., 1994; Adams, 1995; Ünlütürk, 1998; Mead, 2000). Gerçekleştirilen bir çok araştırma tavuk eti ve ürünlerinden gıda kaynaklı enfeksiyon ve zehirlenmelerinin başlıca etmenleri olan *Salmonella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, patojenik *Escherichia coli* suşları ve *Bacillus cereus*'un sıkça izole edildiğini göstermektedir (Şener ve Temiz, 2004).

Tavuklardan izole edilen patojenler arasında önem verilen ve üzerinde en çok durulanlar *Salmonella* serotipleri, *Campylobacter jejuni* ve diğer *Campylobacter* türlerinin yanı sıra *Listeria monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri, *Clostridium perfringens* ve *Staphylococcus aureus*'tur. Çiğ tavuk etinden izole edilen diğer patojen bakteriler ise *Aeromonas*, *Shigella* ve *Enterococcus* türleri ile *Yersinia enterocolitica*'dır (Şener ve Temiz, 2004).

*Enterococcus* cinsine ait bakteriler, genelde fekal çevrelerde yoğun olarak bulunmalarına karşın, gıdalarda üretim aşamalarında hijyenik olmayan koşullar sonucunda ortaya çıkarlar (Giraffa, 2003; Lukaskova ve Sustackova, 2003).

Kanatlılar arasında önemli infeksiyöz hastalıklardan biri olan Newcastle hastalığı (yalancı tavuk vebası), kanatlı hayvan yetiştiriciliği yapılan birçok ülkede büyük bir tehlike oluşturmaktadır (Allan ve ark., 1978; Bruning-Fann ve ark., 1992).

Epidemiyolojik çalışmalar infeksiyonun, hem evcil hem de yabani kanatlıların solunum, sindirim ve sinir sistemlerinde bozukluk meydana getiren çok bulaşıcı, değişik oranlarda mortaliteye sebep olan viral bir hastalık olduğunu göstermiştir (Lancaster, 1981 ve Jordan, 1990).

Çizelge 1.2. Gıda Kaynaklı Hastalık ve Zehirlenme Semptomlarının Etmenleri (Halkman ve Doğan, 2000)

SÜRE	Predominant semptomlar	Muhtemel etken
1 - 6 (ortalama 2- 4) saat	Bulantı, kusma, öğürme, diyare, karın ağrısı, bitkinlik	<i>Stap. aureus</i> ve toksinleri
12 - 72 saat	Boğazda ağrı, ateş, bulantı, kusma, burun akıntısı, bazen kaşıntı	<i>Str. pyogenes</i>
7 - 28 (ortalama 14) gün	Halsizlik, baş ağrısı, ateş, öksürme, bulantı, kusma, kabızlık, karın ağrısı, üşüme, pembe benekler, kanlı dışkı	<i>Salmonella typhi</i>
Değişken	Ateş, üşüme, baş ya da eklem ağrısı, bitkinlik yutkunma zorluğu, diğer spesifik semptomlar	<i>B. antrachis, Bru. Melitensis, Franciella tularensis, Myco. tuberculosis, Bru. abortus, Bru. suis, L. monocytogenes, Pasteurella multocida, Streptobacillus moniliformis Camp. jejuni, Leptospira sp. Coxiella burnetii, Mycobacterium sp.</i>
2 saat - 6 gün (ortalama 12 – 36 saat)	Baş dönmesi, bulanık ya da çift görme, refleks kaybı veya zayıflaması, konuşma ve soluma güçlüğü, güçsüzlük ağız kuruması, solunum felci	<i>Cl. botulinum</i> ve toksinleri
2 - 36 (ortalama 6 - 12) saat	Mide krampları, diyare, <i>Cl. perfringens</i> 'de putrefaktif diyare, bazen bulantı kusma	<i>Cl. perfringens, B. cereus, Str. faecalis, Str. Faecium</i>
12 -74 (ortalama 18 - 36) saat	Karın krampları, diyare, kusma, ateş, üşüme, halsizlik, bulantı, baş ağrısı. Bazen kanlı veya mukoid diyare, <i>Vib. Vulnificus</i> 'da kutan lezyonlar. <i>Yer. enterocolitica</i> 'da grip ve apandisit benzeri semptom	<i>Salmonella sp. (S. arizonae, Shigella, enteropatojen E. coli ve Enterobacteriaceae, Vib. parahaemolyticus, Yers. Enterocolitica, Pseudomonas, Plesiomonas shigelloides, Aero. hydrophila, jejuni, Vib. cholerae, Vib. vulnificus Vib. Fluvialis</i>

Newcastle hastalığından korunmada aşıların uygulama yolları başlıca göze veya buruna damla, gaga batırma, kas içi, kanat zarına batırma, içme suyu, sprey ve aerosol yoldur (Allan ve ark., 1978; Rajeswar ve Masillamony, 1993). Enfeksiyöz bursal hastalık (IBD) veya Gumboro hastalığı, genç tavukları etkileyen viral bir hastalıktır. Hastalığa tüm dünyada rastlanır. Virüsün hedef organı bağışıklık sistemi gelişmekte olan genç tavuklarda önemli bir organ olan Bursa fabricius<sup>1</sup> tur.

<sup>1</sup>Kuşlarda son bağırsak ve kloakın birleştiği yere bağlı olarak bulunan ve B lenfositlerinin olgunlaştığı organ. Diğer omurgalılarda B lenfositleri kemik iliğinde farklılaşır ve olgunlaşırlar. B lenfosit kemik iliği (bone marrow) ve bursa fabricius kelimesinden gelmektedir.

Enfeksiyöz bursal hastalık virüsü (IBDV) enfeksiyonunun ekonomik etkisi iki yoldan oluşur:

1. %40'dan daha yüksek düzeylere ulaşabilen direkt mortalite
2. Suboptimal bağışıklık sistemine bağlı olarak oluşan sekonder enfeksiyonların üretim verim parametreleri üzerine negatif etkisi.

IBDV'nin olumsuz etkileri aşılama ve güvenilir biyogüvenlik yöntemlerinin uygulanmasıyla başarılı bir şekilde kontrol edilebilir (Anonymous, 2010a).

## 1.2. Türkiye'de Tavukçuluk

Türkiye, 1930 yılında Merkez Tavukçuluk Araştırma Enstitüsünü kurarak tavukçuluğa ilk yatırımını yapmıştır. Bu enstitü 1952 yılında yüksek verimli tavuk ırklarından civcivler ithal etmiş, ancak bakım koşulları yeterince sağlanamadığından istenilen sonuç elde edilememiştir. Sonra 1956 yılında Yem Sanayi T.A.Ş.'nin kurulmasıyla yeni bir adım atılmış, 1963'te hibrit ırkların ithal edilmesine başlanmış, 1968'de dışa bağımlılığın önüne geçmek için ithalata son verilerek yerli hibrit ırklar geliştirilmiştir. Ancak elde edilen verimler yabancı ırkların verimlerinin gerisinde kalmıştır. Tavuk ithalatının 1980 yılında yeniden açılmasıyla, entegre tesis, ekipman, yem katkı maddeleri ve aşı-ilaç sektörü de hızla gelişerek tavukçuluk bir sektör haline gelmiştir. Tavukçuluk, 1990'lı yıllardaki yatırımlarla, kriz dönemleri dikkate alınmazsa %14,4'lük büyüme hızına ulaşmıştır (Reis, 2005). Sektörün 1995 yılı sıralamasında dünya genelinde yumurta üretiminde 18., kanatlı eti üretiminde 26. sırada bulunduğu (Alkan ve Bayraktar, 1995), 1998 yılı sıralamasında piliç eti üretiminde 17. ve yumurta üretiminde 13. sırada yer aldığı bildirilmiştir (Besd-Bir, 2001). Üretim, 2002 yılı itibarıyla 703.041 ton kanatlı eti ve 7.826 milyon yumurta olarak gerçekleşmiştir (Reis, 2005).

Tavuk eti üretimi 1990'lı yıllarda fert başına 3,8 kg iken 2000 yılında 11,7 kg düzeyine ulaşmıştır. Sektörün bu gayretli üretimi sayesinde Türkiye'de piliç eti ithalatı son 10 yıldır neredeyse sıfır düzeylerinde kalmıştır (Besd-Bir, 2001). Toplam et üretiminde ilk sırayı %48 ile tavuk ve hindi alırken, bunu %25 ile sığır, %23 ile koyun izlemektedir (Anonymous, 2004).

Türkiye’ de piliç eti üretimi; Ankara, Balıkesir, Bolu, Bursa, Düzce, Elazığ, Eskişehir, İstanbul, İzmir, Kayseri, Kocaeli, Manisa, Sakarya, Yozgat ve Çukurova’dadır (Adana, Mersin) (Anonymous, 2004).

Adana ilinde yumurtacı tavukçuluktan çok etlik tavukçuluk yapılmaktadır. İlde etlik piliç üretiminin büyük bir kısmı entegre tesislerden karşılanmaktadır. Bu tesislerin aylık civciv girişleri yaklaşık 2.200.000 adet yıllık piliç üretimleri ise yaklaşık 27.115.000 adet piliçtir (Anonymous, 2006).

### 1.3. Ülke Ekonomisindeki Yeri

Tavukçuluk sektörü ülkemiz tarımı içinde en güçlü olan sektörlerden biridir. Sektörde kayıt dışı işletmeler dahil yaklaşık 10.000 adet broyler, 5.000 adet de yumurta işletmesinin mevcut olduğu tahmin edilmektedir. Geçimini tavukçuluk sektöründen temin eden (üretici çiftçi, sektörle ilgili esnaf, yem, ilaç, ekipman vb. yan sanayi, nakliye, pazarlama dahil) insan sayısı yaklaşık 2 milyondur. Sektörün yıllık cirosu 2,5 milyar \$ civarındadır (Anonymous, 2004).

### 1.4. Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliğinde Antibiyotik Kullanımı

Halkımızın dengeli beslenebilmesi başka bir ifade ile hayvansal protein açığının kapatılması hayvansal üretimin hızlı bir şekilde arttırılmasına yönelik önlemlerin alınmasını zorunlu kılmaktadır (Aynagöz, 1993).

Hayvancılıkta et üretimi üç yolla artırılabilir.

1. Büyük çoğunluğunu düşük verimlilerin oluşturduğu yerli hayvanların kültür ırkları ile ıslahı,
2. Mevcut hayvanların rasyonel beslenmesi ve bakımının iyileştirilmesi,
3. Hayvanlarda et verimini arttıran maddelerin kullanılması.

Bu yollardan birincisi çok uzun süre alır. Nitekim 1926 yılında başlatılan ıslah çalışmaları ve hayvan ithalinin ağırlık kazanmasına bağlı olarak 2004 yılında sığır popülasyonununun %21’i kültür, %44’ü kültür ırkı melezi ve %35’i yerli ırklardan oluşmaktadır. İkinci yol üreticinin eğitimi ile yem ürün fiyat ilişkilerine ve

hükümetlerin ekonomik politikalarına bağlı olduğundan, hem zaman alıcı ve hem de devamlılığı kuşkuludur. Üçüncü yani hayvanlara verimi arttıran maddelerin uygulanması en etkin olanıdır. Çünkü etkisini;

- a) Hayvanın genetik yapısı ne olursa olsun,
- b) Hayvana uygulanan beslenme düzeyine bağlı olmayarak,
- c) Hayvana verildiği günden itibaren gösterir (Aynagöz, 1993).

Antibiyotiklerin büyütmeyle ilgili olarak kullanımı ile ilgili yapılan ilk kontrol adımı 1969 da, İsveç Komitesi tarafından yapılmıştır. Bu komite, antibiyotik büyütme faktörlerinin veteriner reçetesi olmaksızın kullanımında sınırlandırmaları başlatmıştır. Avrupa Birliği, 1970'lerin başlarında hayvansal yemlerde, tedavi için kullanılan çeşitli ana antibiyotiklerin ruhsatlarını geçici olarak yürürlükten kaldırmaya başlamıştır (Tuncer, 2007).

Çizelge 1.3. Yıllara Göre Antibiyotik Büyütme Faktörlerinin Yasaklanması (Tuncer, 2007)

YIL	ÜLKE	KARAR
1969	İsveç	Antibiyotik büyütme faktörleri bilimsel olarak yasaklandı
1970	Avrupa Birliği	Antibiyotik büyütme faktörlerinde geçici sınırlandırmalar başladı
1970	İngiltere	Penisilin ve tetrasiklin yasaklandı
1971	Avrupa Birliği	Tetrasiklin yasaklandı
1971	İsveç	Tetrasiklin ve Antibiyotik büyütme faktörlerinin bir kısmı yasaklandı
1986	İsveç	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı
1997	Avrupa Birliği	Avoparcin yasaklandı
1998	Hollanda	Olaquinox yasaklandı
1998	Danimarka	Virginamycin ve Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı
1998	İsviçre	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı
1998	Avrupa Birliği	Tylosin phosphate, zinc bacitracin, spiramycin, virginiamycin yasaklandı
1999	İngiltere	Tylosin phosphate, zinc bacitracin, spiramycin, virginiamycin yasaklandı
01-01-2006	Avrupa Birliği	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı
21-01-2006	Türkiye	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı

Yapay kimyasalların hayvan besleme ve sağlığında kullanılmaları sonucu hayvanlarda ve özellikle insanlarda meydana getirdiği olumsuzlukların ve çevre

kirlenmesinin önlenmesi açısından son yıllarda Dünya’da, ABD ve AB’inde ekolojik tarım ile ekolojik hayvancılık gündeme gelmiştir.

Uzun yıllardan beri hem hayvan sağlığını korumak amacıyla hem de büyütme faktörü olarak antibiyotikler ve kemoterapötikler yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotikler büyük ölçüde hastalıkların tedavi ve kontrolünde kullanılmaktadır.

1949 yılında kanatlılar üzerinde yapılan bir deneme sırasında tesadüfen deneme hayvanlarında büyüme artışının gözlenmesi antibiyotiklerin çiftlik hayvanlarında büyütme faktörü olarak kullanılmasını başlatmıştır (Aydın ve Koçak, 1999).

Antibiyotiklerin aşırı ve uygun olmayan kullanımları ile bu maddelere karşı dirençli bakterilerin gelişmesi sonucu, 1998-1999 yıllarında Avrupa Birliği tarafından antibiyotik kökenli büyütme faktörlerinin kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde kullanılmasının geniş ölçüde yasaklandığı bildirilmiştir (Anadón ve Martínez-Larrañaga, 1999; Casewell ve ark., 2003).

Son yıllarda yem katkı maddesi adı altında çok değişik ürünlerin cenneti haline gelen ülkemizde, yem katkı maddelerinin ithalatında ciddi kontroller yapılmamaktadır. Ülkemizde karma yem fabrikalarının ürettiği yemlerin denetimini etkin ve iyi bir şekilde yapıldığını söylemek mümkün değildir. Üretici tarafından beyan edilen ham besin maddeleri ve enerji düzeyi tutulmadığından üretici firmaya uygulanan yaptırımlar son derece yetersizdir (Anonymous, 2003).

Nitekim 1734 sayılı kanunun cezai hükümlerini içeren 4. Bölümün 12. Maddesinde “Beyan ve tescildeki niteliğe uymayan yemleri satışa arz edenler hakkında 1 aydan 6 aya kadar ve 500 lira dan 2500 liraya kadar ağır para cezasına, hayvan sağlığı için tehlikeli olan yemleri satışa arz edenler için ise, 3 aydan 1 seneye kadar hapis ve 1000 liradan 5000 liraya kadar para cezası ile cezalandırma” öngörülmüştür. Bu cezaların yetersiz olması üretici firmalar arasında haksız rekabetin yanı sıra kalitesiz yem üretimine yol açmaktadır (Anonymous, 2003). Ayrıca üretici firmaların beyan ettiği ve normlara uygun yem üretilip üretilmediğini denetimini etkin ve sürekli bir şekilde yapacak teknik donanıma sahip laboratuvarlar

bulunmamaktadır (Anonymous, 2003). Bu durumdan dolayı karma yem üreticileri ve yetiştiriciler tarafından ise bazı ürünler bilinçsizce kullanılmaktadırlar.

Karma yemlerde uzun yıllardır kullanımı yasak olan sistemik etkili bazı antibiyotiklerin hala yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Değişik isimler altında veya kaçak olarak ithali yapılan bu antibiyotiklerin daha sıkı denetimi yapılmalı, kaçak kullanımların laboratuvar analizleri ile tespit edilerek kullanımı tamamen engelleyecek idari ve yeni yasal düzenlemeler yapılmalıdır. Öte yandan, Avrupa topluluğunun aldığı kararlara paralel olarak ülkemizde de etlik piliç karma yemlerinde antibiyotik kökenli bazı büyümeyi uyarıcı yem katkı maddelerinin kullanımları Tarım ve Köy işleri Bakanlığı'nca 30 Haziran 1999 tarihi itibarıyla yasaklanmış, sadece izine bağlı olarak tedavi edici amaçlı 'ilaç' olarak kullanımlarına karar verilmiştir (Anonymous, 2003).

### **1.5. Tavuk Etinde Antibiyotik Kalıntı Riski**

Antibiyotiklerin yetiştiricilikte kullanılması, başta hayvanlardan elde edilen gıdalar olmak üzere, insan sağlığı açısından da ciddi tehlikeleri ortaya çıkarabilmektedir. Alınan ilaçlar başta böbrek ve karaciğer olmak üzere çeşitli organ ve dokularda birikmektedirler (Doyle, 2006). Fazla ilaç kullanımı ve hayvansal ürünlerde daha fazla ilaç kalıntısı birikimi riskine neden olmaktadır.

Verim artırıcılar grubunda değerlendirilen yem katkı maddeleri iki amaca yönelik olarak kullanılmaktadırlar. Bunlardan ilki, sindirim sistemi hastalıklarına neden olan patojen mikroorganizmaların üremelerine engel olmak, ikincisi ise, hayvanın sindirim sistemi mikroflorasını yararlı mikroorganizmalar lehine çevirerek hayvanın besin maddelerinden daha yüksek düzeyde yararlanmasına olanak sağlamaktır (Shane, 1999). Bu durum ürünleri tüketen insanların sağlığını tehdit etmektedir.

Konvansiyonel hayvansal üretimde, yemlerde olduğu gibi çeşitli katkı maddelerinin kullanılmaları da önemli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Ayrıca, konvansiyonel hayvansal üretimde ekonomik hayvansal kaynaklı yem olarak yeterince hijyenik hale getirilememiş ve ilaç kalıntıları da içerebilen çeşitli

kesimhane yan ürünleri ve kadavra unları kullanılması da bazı sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Örneğin, kanatlılarda ve özellikle etlik piliçlerde gelişmeyi ve yemden yararlanmayı uyarıcı olarak antibiyotik kullanımı konusunda en önemli prensip, insanlarda ve hayvanlarda tedavi (sağaltım) amacıyla kullanılanlardan olmaması veya bunlarla ilişkisi veya etkileşimi bulunmaması iken, zaman zaman söz konusu prensibe uyulmadığı görülmektedir (Aytuğ, 1996; Kantarcı, 2000; Küçükersan ve Gültekin, 2001; Önenç ve Kaya, 2001).

Kalıntı yönünden antibiyotiklerin diğer farmakolojik etkili maddelere göre daha önemli olduğu belirtilmektedir. Bunun nedenleri, hayvanlara öngörülen dozlardan fazla ilaç verilmesi ve özellikle de ilaç uygulanan hayvanların ilacın yasal bekletme süresine uyulmadan kesime sevk edilmesi olarak ifade edilmektedir. Bunun sonucunda, antibiyotiklerin tamamen metabolize olmaması veya vücuttan tamamen atılmamasına bağlı olarak, hayvanların doku ve organları ile bunlardan elde edilen hayvansal gıdalarda antibiyotik kalıntısı bulunabilmektedir (Mussman, 1975; Kaya ve Şahal, 1989).

Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin (tetrasiklin, oksitetrasiklin ve klortetrasiklin) geniş spektrumlu olmaları ve toksik etkilerinin düşük olması dolayısıyla kanatlı yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanıldıkları bildirilmiştir. Bu nedenle tavuk etinde tetrasiklin kalıntılarının saptanması önem taşımaktadır (Cooper ve ark., 1998; Furusawa, 2000).

Besinlerimizdeki ilaç kalıntılarının doğurabileceği problemler hayvansal besinlerde bazen ilaç ve çeşitli kimyasal madde kalıntıları, insanlarda hafif bir deri döküntüsü ya da allerjik reaksiyondan başlayarak eozinofili, antibiyotik ateşi, kemik iliğinin depresyonu sonucu değişik derecede aplastik anemi, agranülositoz ve diğer kan bozuklukları, karaciğer, böbrek ve diğer bazı organlarda hasar ve görev bozukluklarına ve anafloktoid reaksiyonla ölüme kadar yol açabilmektedir (Yndestad ve Underdal, 1977; Nouws, 1981; Kaya ve Şahal, 1989).

Bu sebeplere dayanarak, halk sağlığı açısından kesilecek kasaplık hayvanlara 5 gün önce antibiyotik ve benzeri ilaçlar verilmez. Amerika'da her yıl on bin insan bakterilerin antibiyotik dayanımı kazanması nedeniyle hayatını kaybetmektedir ve bu oran her yıl artmaktadır (Anonymous, 2001).

### 1.6. Antibiyotik Kullanımının Yararları ve Zararları

Son yıllarda antibiyotiklerin bazı dezavantajlarından dolayı kullanımlarına sınırlamalar getirilmiştir (Demirel ve Gürbüz, 1999). Antibiyotiklerin uygunsuz ve gelişmiş güzel kullanımı ile gerek toplum kökenli gerekse hastane kökenli dirençli mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlarda ciddi tedavi sorunları yaşanmaktadır. Bir antibiyotiğe dirençli olan etken kısa sürede birden çok ilaca karşı da direnç kazanmakta ve bu çoğul dirençli mikroorganizmalar hızla ortama yayılmaktadır (Jorgensen, 1997; Murray, 1997).

Antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanılması ile büyüme ve yemden yararlanmayı arttırmak, subklinik hastalıkları önlemek, bazı hastalıklara karşı koruyucu etki oluşturmak, toksinleri engellemek, besin maddelerinin bağırsaklardan emilimini arttırmak amaçlanmaktadır (Arpacık, 1999; Sarıca, 1999; Tuncer ve ark. 1999). Bunların dışında tavuk yetiştiriciliğinde enfeksiyonlardan korunmak amacıyla bilinçsiz olarak antibiyotik kullanılması bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bunların bazıları, Dünya Sağlık Organizasyonu (WHO)'nun yayınladığı bir raporda antibiyotiklerin etlik piliçlerde gelişmeyi ve yemden yararlanmayı uyarıcı olarak hatalı kullanımı sonucu, birçok mikroorganizmanın bağışıklık kazandığı ve bilinçsiz kullanımın devam etmesi durumunda da insanlarda boğaz ve kulak iltihaplarına karşı antibiyotiklerin etkili olamayacağı bildirilmektedir (Kırkpınar ve Erkek, 2000). Ayrıca insan tüketimine sunulan hayvansal ürünlerde sağlık açısından risk oluşturabilen kalıntı bırakılmaktadırlar (Whitlock, 1986; Arda ve ark., 1992; Aydın ve Koçak, 1999; Choct, 2003). Alınan ilaçlar başta böbrek ve karaciğer olmak üzere çeşitli organ ve dokularda birikmektedir. Böyle ürünleri tüketen insanlarda üründeki antibiyotik çeşit ve miktarına bağlı olarak hafif alerjiden başlayıp anafilaktik şoka kadar gidebilen, olumsuz etkiler gözlenmiştir. Yine antibiyotik kullanımı sindirim sistemindeki patojen mikroorganizmalarla beraber faydalı mikroorganizmaların da ölümüne neden olmaktadır (Sarıca, 1999). Bu dezavantajları ortadan kaldırabilmek için, yem katkı maddesi olarak kullanılan antibiyotik ve kemoterapötiklerin tedavi amaçlı kullanılmayan ve bağırsaktan emilmeyen özellikte olmasına dikkat edilmesi önerilmektedir. Bununla birlikte antibiyotiklerin

kullanımlarındaki çekinceler alternatif uygulamaların araştırılmasına yol açmıştır (Alp ve Kahraman, 1996; Demirel ve Gürbüz, 1999).

Son yıllarda araştırmacılar, antibiyotiklere alternatif olabilecek doğal ve gelişmeyi hızlandırıcı madde arayışı içine girmişlerdir. Bu amaçla probiyotikler, organik asitler ve enzimlerin alternatif olarak kullanımı güncellik kazanmıştır (Küçükersan, 2002).

### **1.7. Antibiyotik Kalıntılarına İlişkin Yasal Düzenlemeler**

İlaç kalıntılarının yol açabilecekleri ekonomik kayıpların önlenmesi ve tüketici sağlığının korunması için, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Amerika'daki Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Avrupa Birliği'nin ilgili birimleri ile ülkemizde Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Sağlık Bakanlığı gibi önemli kamu kurumları tarafından sürdürülen çalışma ve uygulamalar arasında birlik ve uyum sağlanmaktadır. Birçok ilacın bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı limitleri AB mevzuatı ile uyumlu olarak, Türk Gıda Kodeksi kapsamında 28.04.2002 tarih ve 247739 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan tebliğ ile düzenlenmiştir. 19.01.2005 tarih ve 25705 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan "Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bunların Kalıntılarının İzlenmesi için Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik" esaslarına göre ülkesel kalıntı izleme planı uygulanmaktadır. Hayvan türü veya gıda çeşidine göre aranacak maddeler ve incelenecek örnek sayısı 96/23/EC sayılı AB direktifi ile uyumlu olarak hazırlanarak, bakanlık tarafından Ankara ve İzmir İl Kontrol Laboratuvarları ile Etlik, Bornova ve Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüleri kalıntı izlemede yetkili kılınmıştır (Can ve Çelik, 2008).

### **1.8. Ülkemizde Denetim**

8-12 Ekim 2001 Tarihlerinde Avrupa Komisyonu, Sağlığı ve Tüketiciyi Koruma Genel Müdürlüğü, Gıda ve Veteriner Dairesi FVO Misyonu'nun Türkiye ziyareti sonucundaki genel değerlendirme raporuna göre; Öncelikle 3285 sayılı Hayvan

Sağlığı Zabıtası Kanunu'nda, Avrupa Birliği'ne uyumlu olarak gerekli yasal değişiklikler yapılmış ve yürürlüğe girmiştir.

Tarım ve Köy işleri Bakanlığı bünyesindeki laboratuarlarda uluslararası geçerli deney metotlarına uygun cihaz ve ekipman tedarikinin büyük çoğunluğu tamamlanmış, laboratuvarların fiziki yapısında iyileştirilmeler yapılmıştır. Bakanlık laboratuvarlarının Akreditasyon çalışmalarının merkezden yönlendirme ile başlatıldığını ve İstanbul, Ankara, İzmir illerimizdeki İl Kontrol Laboratuvarı'nın denetimleri tamamlanarak belgelendirme aşamasında son safhaya geldikleri ve diğerlerinde de aynı çalışmaların devam ettiği öğrenilmiştir.

Halen TBMM'nde taslağı görüşülen 560 sayılı Gıda Yasası'nda kalıntı ile ilgili hususlar yer almaktadır (Can ve Çelik, 2008).

### **1.9. Çalışmanın Amacı**

Antibiyotikler ve diğer kemoterapatikler uzun yıllardan beri hayvan beslemesinde büyüme, verim artırıcı ve infeksiyöz hastalıklardan korunma amacıyla kullanılmaktadır. Hayvan ve insan sağlığı açısından bakteriyel ilaçlara direnç gelişimi gibi bazı risklerde bulunmaktadır. Fazla ilaç kullanımı, hayvansal ürünlerde daha fazla ilaç kalıntısı riski oluşturmaktadır. Bu durumda insan sağlığını etkilemektedir.

Bu çalışma ile tavuk (etlik ve kümes) yemlerinde antibiyotik kullanılması ile tavuk florasını oluşturan koliform grup bakterilerde antibiyotik dirençlilik profilinin belirlenmesi ve aynı zamanda antibiyotiklere dirençlilik taşıyan bakterilerin plazmid profillerinin belirlenmeleri amaçlanmıştır.



## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Caudry ve Stanisich (1979), dondurulmuş her 5 tavuk karkasının çözdürülme işlemi sonrasında oluşan sıvıdan  $10^2$ /mL konsantrasyonda alınan örneklerden *Escherichia coli* izolasyonu yapmışlardır. Yapılan çalışmada tek bir dirençlilikten daha fazla çoklu antibiyotik dirençliliğiyle karşılaşmıştır. Amfisilin dirençliliğinden daha çok sıklıkla tetrasiklin, streptomisin, sulfathiazol ve kloramfenikole karşı direnç gösterdiğini belirtmişlerdir.

Knothe ve ark, (1983), sefalosporin dirençliliğinin plazmid kökenli olduğunu ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarından izole edilen plazmidin, sefotaksim, sefuroksim diğer sefalosporinler, penisilinler ve gentamisin dirençliliğini hassas suşlara aktarabildiğini bildirmişlerdir. Sefotaksim ve diğer son kuşak beta-laktam antibiyotik dirençliliklerinin *Escherichia coli* bakterisine çok kolay aktarabildiğini belirtmişlerdir.

Beckers' ın (1988), Hollanda'da yaptığı bir incelemede 1979'da 202, 1980'de 531, 1981'de 1496, 1982'de ise 1728 gıda kaynaklı hastalık vakasının *C. jejuni*'ye bağlı olarak oluştuğunu ve sayı olarak *Salmonella* kaynaklı enfeksiyonların ardından ikinci sırada yer aldığını bildirmiştir.

Knudtson ve Hartman (1993), insan, domuz ve doğal sulardan izole ettikleri *Enterococcus* sp.'lerin antibiyotiklere karşı geliştirmiş oldukları dirençliliğin kaynaklara bağlı olarak çok az bir değişim gösterdiklerini ortaya koymuşlardır.

Bilgili (1994), kemoterapi alanında çalışılmış yeni bilimsel verilere dayanarak kanatlılarda anti bakteriyel ilaç sağaltımı ile ilgili ileri sürülmüş görüşler kısaca incelenmiştir. Anti bakteriyel ilaç seçiminde dikkat edilmesi gereken şeyler sıralanmıştır ve tavuk hastalıklarının sağaltımında kullanılan başlıca anti bakteriyel ilaç çeşitleri anti bakteriyel spektrumlarına göre gruplandırılmıştır. Anti bakteriyel ilaçların koruyucu ve sağaltıcı amaçla kanatlı hayvanlara uygulanması sonucu gerek kanatlı hayvanlara yönelik ve gerekse besin kirlenmesi sonucu halk sağlığına yönelik istenmeyen etkileri hakkında bilgi vermiştir.

Esendal ve ark, (1998), yaptıkları çalışmada plazmid eliminasyonu ile *Salmonella gallinarum* suşlarında plazmide bağlı çoklu antibiyotik dirençliliğinin

belirlenmiştir. İncelenen 84 *S. gallinarum* izolatından 34'ünün (%40,5) gentamisin, neomisin, eritromisin, streptomisin, ampisilin, tetrasiklin, trivetrin, nalidiksik asit ve karbenisilin gibi antibiyotiklerden iki veya daha fazlasına karşı çoklu dirençli oldukları saptanmıştır.

Ergün ve ark, (2000), yaptığı araştırmada probiyotik ve/veya antibiyotik ilavesinin broylerde canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma, karkas randımanı ve yenilebilir iç organların ağırlığı üzerine önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna varmışlardır.

Yüksel (2000), araştırmasını deneysel (tavuk) ve tarama (sığır ve tavuk) olmak üzere iki farklı aşamada gerçekleştirmiştir. Sığır ve kanatlı hayvanlarda tedavi, koruyucu ve verim artışı sağlamak için kullanılan oksitetrasiklin (OTC), kloramfenikol (CAP) ve çinko basitrasinin (ZnB) bu hayvanlara ait çeşitli dokulardaki (kas, karaciğer, böbrek ve dalak) kalıntılarını belirlemek ve farklı yöntemlerin (üçlü plak ve disk diffüzyon) kullanılabilirliğinin karşılaştırılması amacıyla yapmıştır.

Atabay ve Aydın (2001), ızgaralık tavuktan izole ettikleri 39 *A. butzleri* izolatlarının antibiyotik duyarlılığını belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında, izolatların hepsinin sefalotine dirençli olduğunu bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada test edilen 39 suşun 26'sı; ampisiline dirençli bulmuşlar ve eritromisine izolatlardan birinin tam direnç gösterdiğini belirtmişlerdir. Bütün örnekler; kloramfenikol, nalidiksik asit, tetrasikline duyarlı olarak tespit etmişlerdir. Test edilen 49 *A. butzleri* izolatının tamamı tetrasikline duyarlı, sefalotine dirençli bulunmuş, izolatların 40'ı ampisiline, 6'sı eritromisine, 18'i kloramfenikole ve 20'si de nalidiksik asite direnç göstermiştir.

Harrison ve ark, (2001), Güney Galler'de tavuk etlerinin kasap dükkânlarında ve süpermarketlerde satılmasının ve aynı zamanda ambalajın *Campylobacter* ve *Salmonella* varlığı üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada tüm tavuk, derisi üzerinde bırakılmış tavukgöğsü ve tavuk parçalarından oluşan 300 çiğ tavuk eti örneğinde %68 oranında *Campylobacter*, %29 oranında ise *Salmonella* varlığına rastlamışlardır. Süpermarketlerde satışa sunulan örneklerin %75'inde, kasap dükkânlarında satılan örneklerin ise %59'unda *Campylobacter* tespit etmişlerdir.

Molla ve ark, (2003), Etiyopya'da anti-mikrobiyal dirençliliğe sahip *Salmonella* ve diğer zoonoz bakteriyel patojenler tarafından kontamine olmuş gıdalar ve gıda ürünlerinin tüketilmesiyle hayvandan insana geçebilirliğini ve bunun halk sağlığı açısından önemini araştırmıştır. 378 karkas tavuğundan, 8 *Salmonella* suşu izole edilmiştir. 23 farklı antibiyotiğe karşı dirençlilik profilini çıkarmıştır. Bu suşların,%51,2'si sulfisoxazole, %46,2'si spektinomisine, %45'i amoksiline, klavulanik asid and amfisiline, %41,2'si tetrasikline %30'u kloramfenikole karşı dirençli oldukları, florfenikole, streptomisine, kotrimoksazole ve trimethoprime karşı göstermiş oldukları dirençliliğin ise %27,5 altında olduğu saptamışlardır.

Akkan ve Karaca, (2003), antibiyotiklerin, veteriner hekimlik alanında en sık kullanılan ilaç grubunu olduğundan ve antibiyotiklerin etki mekanizması, antibiyotiklerle yapılacak sağaltımda dikkat edilmesi gereken hususlar, antibiyotiklerin kullanılmasını etkileyen faktörler, gebelikte antibiyotik kullanımı ve antibiyotiklerin kombine kullanılmasında uyulması gereken noktalar irdelemişlerdir.

Guerra ve ark, (2003), 1999-2001 döneminde Almanya'da sığır, domuz ve kümes hayvanlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik dirençliliğinin fenotipik ve genotipik olarak belirlemişlerdir. Suşların %32'sinde çoklu antibiyotik direnci (MAR), %40'ına ise dirençlilik bulunmuştur. Kümes hayvanlarında %61, domuzda %60, sığırdaki ise %25 antibiyotik dirençliliği görülmüştür. Bu çalışma Almanya'daki hayvansal gıda ürünlerindeki antibiyotik dirençlilik probleminin büyüklüğü hakkında bilgi vermektedir.

Hasman ve ark, (2005), Hollanda'daki kümes hayvanlarından, kümes hayvanlarının etlerinden ve hastaneden alınan hasta örneklerinden izole edilen *Salmonella*'nın geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamazlara (ESBL) karşı göstermiş olduğu dirençliliğinin genetik faktörlere bağlı olup olmadığını araştırmıştır. Yapılan araştırma sonucunda, hayvanlardaki gıda ürünlerinden ve insanlardan izole edilen *Salmonella enterica* da ESBL genlerinin bulunduğunu saptamışlardır.

Özşahin ve ark, (2005), infeksiyon hastalıklarının tedavisinde çokça kullanılan antibiyotiklere karşı *Escherichia coli*'nin göstermiş olduğu duyarlılık ve direnç durumları incelemişlerdir. Bu amaçla Malatya Devlet Hastanesi'ne çeşitli rahatsızlıklar nedeniyle başvuran hastalara ait 212 klinik örneği alınmıştır. Klinik

örneklerden izole edilen ve tanısı yapılan *E. coli* bakterisine karşı en etkili beta-laktam grubu antibiyotiklerin sırasıyla; imipenem (%99), cefoperazon+sulba (%96) ve piperacilin+tazobaktam (%90,5) oldukları tesbit edilmiştir.  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklerden amphisilin (%70,3), amocyclin (%69,8) ve carbenicilin (%56,7)'nin belirtilen oranlarda daha az etkili olduğu bulunmuştur.

Kozačinski ve ark, (2006), Hırvatistan marketlerinde satılan kanatlı etlerinin mikrobiyolojik kalitelerini inceledikleri çalışmada toplam 66 tavuk eti örneğinde *Salmonella* sp. (%10,60), *S. aureus* (%30,30), *L. monocytogenes* (%3,03), *Enterobacter* (%34,84) ve sülfite indirgeyen *Clostridia* (%1,50) varlığını tespit etmişlerdir. Örneklerin hiçbirinde *Campylobacter* sp. varlığına rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Öngen ve ark, (2007), rutin dışı örnekleri ile *Campylobacter* türleri ve antibiyotik duyarlılıkları üzerine yapmış oldukları 5 yıllık çalışmalarının sonucunda Ocak 2000 - Aralık 2004 tarihleri arasında 6835 dışı örneğinden toplam 82 (%1,2) *Campylobacter* cinsi bakteri izole etmiş ve bunların 22'sinin antibiyotik duyarlılığı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada suşların 69'u (%84) *Campylobacter jejuni*, 5'i (%6) *Campylobacter* cinsi, 4'ü (%5) *Campylobacter upsaliensis*, 2'seri (%2) *Campylobacter coli* ve *Campylobacter lari*. olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada *Campylobacter* izolasyonunun haziran ayında pik yaptığını gözlediklerini bildirmişlerdir.

Can ve Çelik (2008), kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde, özellikle profilaktik ve gelişmeyi hızlandırıcı olarak uzun süre düşük konsantrasyonlarda antibiyotik kullanılmasına bağlı olarak, kanatlı etlerinden sıklıkla izole edilen enterik patojen bakterilerin insanlarda kullanılan antibiyotiklere karşı çapraz direnç geliştirdiğinin çeşitli bilimsel çalışmalarla ortaya konulduğunu belirtmişlerdir. Hayvanlarda ilaç kullanımı söz konusu olduğu sürece, bunlardan sağlanan gıdalarda ilaç kalıntılarının bulunması ve değişik düzeylerde tüketiciye geçmesi kaçınılmaz bir olgudur. Gıda güvenliği kapsamında değerlendirildiğinde, halk sağlığı açısından çeşitli risklerin ortaya çıktığını belirtmişlerdir.

Ergeldi (2010), Adana ilinde paketlenmiş şekilde satışa sunulan 6 farklı firmanın kendi satış noktalarından ve/veya süpermarketlerden, 1 firmanın ise

işletmesinden temin edilen 7 farklı firmaya ait toplam 35 adet tüm tavuk karkasını toplam aerobik mezofilik bakteri, koliform-*Escherichia coli* ve *Campylobacter* türleri bakımından incelenmişlerdir. Toplam 35 adet piliç örneğinin 21'inden termofilik *Campylobacter* türleri izole edilmiştir. Moleküler olarak tanımlanan 18 izolatın 9'u *Campylobacter jejuni*, 7'si *Campylobacter coli*, 1'i *Campylobacter upsaliensis* ve 1'i *Campylobacter lari* olarak tanımlamıştır.



### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltiler

###### 3.1.1.1. EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar)

Bu besiyeri Gram negatif *Enterobacteriaceae* üyesi olan enterik bakterilerin tespiti ve izolasyonu için kullanılmıştır. *E. coli* kolonileri EMB agarda metalik yeşil renk oluştururlar. Laktoz ve sükroz negatif bakteri kolonileri ise renksizdirler. Laktoz pozitif bakteri kolonileri siyah renktedir veya koyu renkli bir merkez ve saydam renksiz bir kenar yapısına sahiptirler (Atlas, 2005).

Bileşimi	g/L
Pepton	10
Laktoz	10
Diptosyum Fosfat	2
Agar	15
Eosin Y	0,4
Metilen Blue	0,065
pH	7,2

###### 3.1.1.2. SS Agar (*Salmonella Shigella* Agar)

APHA (American Public Health Association) yönergelerine uygundur. In vitro yapılan standart mikrobiyolojik analizlerde *Salmonella* ve *Shigella* türlerinin izolasyonu için selektif katı besiyeri olarak kullanılır (Atlas, 2005).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Pepton	10,0
Lactose	10,0
Oxbile	8,5
Sodium citrate	10,0
NaS <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	8,5
Ammonium iron (III) citrate	1,0
Brilliant gren	0,0003
Neutral red	0,025
Agar-agar	12,0

#### 3.1.1.3. Nutrient Agar

Stok kültürlerin saklanması için kullanılmıştır (Atlas, 2005).

<b>Bileşim</b>	<b>g/L</b>
Pepton	10
Et özütü	10
NaCl	5
Agar	15
pH	7,0

#### 3.1.1.4. PCA Agar

Stok kültürlerin saklanması için kullanılmıştır (Atlas, 2005).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Pepton	5
Maya Özütü	2,5
D(+) Glikoz	1
Agar	12

**3.1.1.5. Luria-Bertani (LB) Broth**

Antibiyotik dirençlilik testlerinin uygulanmasında, bakteri suşlarının zenginleştirilmesi amacıyla kullanılmıştır (Atlas, 2005).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Tryptone	10
NaCl	5
Maya	5

**3.1.1.6. TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Sucrose) Agar**

*Vibrio cholerae* tayininde selektif besiyeri olarak kullanılmıştır (Atlas, 2005).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Yeast ekstrakt	5
Proteose Pepton	10
Sodyum Sitrat	10
Sodyum Tiyosülfat	10
Oksgal	8
Sakroz	20
Sodyum Klorid	10
Ferik Amonyum Sitrat	1
Bromtimol Mavisi	0,04
Timol Mavisi	0,04
Agar	15

**3.1.1.7. CCDA (Charcoal Cefoperozone Deoxycholate Agar)**

Bağırsak ve diğer örneklerden *Campylobacter* türlerinin izolasyonu için seçici besiyerleridir (Atlas, 2005).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Pepton	20
Casein hydrolysate	3,0
Bacteriological charcoal	4,0
NaCl	5,0
Sodium deoxycholate	1
Sodium pyruvate	0,25
Ferrous sulphate	0,25
Agar	12
pH	7,4

### 3.1.1.8. Azid Dextroz Broth (MERCCK)

1984'den sonra yapılan çalışmalarla *Str. faecalis* ve *Str. faecium*'un isimleri *E. faecalis* ve *E. faecium* şeklinde değiştirilerek *Enterococcus* cinsi adı altında toplanmışlardır. Yeni literatürlerde *Enterococcus* cinsi altında toplanan tür sayısı 16 olup bunlar; *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. cecorum*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. malodoratus*, *E. mundtii*, *E. pseudoavium*, *E. raffinosus*, *E. saccharolyticus*, *E. seriolicida*, ve *E. solitarius* 'dur (Kaleli ve Durlu-Özkaya, 2000).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Kazein peptonu	15
Meat extract (et özütü)	4,8
Glikoz	7,5
NaCl	7,5
Na –azid	0,2
Distile su	1000 mL

### 3.1.1.9. Tryptic Soy Agar (TSA)

Vitek II ile bakteri identifikasyonunda taze bakteri kültürünün elde edilmesinde kullanıldı.

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Kazein Peptonu	15
Et peptonu	5
Sodyum klorür (NaCl)	5
Agar	15

### 3.1.1.10. Plazmid İzolasyon Kiti

Bakteri suşlarından plazmid izolasyonunda hazır plazmid izolasyon kiti kullanılmıştır (Roche applied science high pure plazmid isolation kit. Cat no: 11 754 777 001). İzolasyon kiti içeriği aşağıdaki gibidir.

**Süspansiyon Çözeltisi (25 mL):** 50 mM Tris-HCl ve 10 mM EDTA, pH 8,0 (25°C)

**RNase A (2,5 mg):** Süspansiyon çözeltisi içerisinde çözdürülmüştür.

**Lizis Çözeltisi (25 mL):** 0,2 M NaOH ve %1 SDS

**Binding Buffer (25 mL):** 4 M guanidin hidroklorit ve 0,5 M potasyum asetat, pH 4,2

**Yıkama Çözeltisi I:** 5 M guanidin hidroklorit, 20 mM Tris-HCl, pH 6,6 (25°C). 33 mL. Yıkama çözeltisi I'i kullanmadan önce içerisine 20 mL susuz etil alkol eklenmiştir.

### 3.1.1.11. 10X TBE (Tris, Borik asit, EDTA)

21,6 g Tris, 11 g Borik asit, 1,86 g EDTA 200 mL distile suda çözülmüş ve pH 8,3'e ayarlanmıştır (Maniatis, 1982).

**3.1.1.12. Agaroz Jel (%0,7)**

Plazmid DNA'nın yürütülmesi için kullanılmıştır (Maniatis, 1982).

**3.1.1.13. Örnek Yükleme Tamponu (Loading Buffer)**

%0,25 Brom fenol mavisi ve %10 gliserol ile hazırlanan stoktan uygun hacime distile su ilavesiyle hazırlanmıştır (Maniatis, 1982).

**3.1.1.14. Yürütme Tamponu (Running Buffer)**

10X TBE'den 10 kat sulandırılarak hazırlanmıştır (Maniatis, 1982).

**3.1.1.15. Boyama Solüsyonu (Staining, Ethidium Bromür)**

1 mg EtBr 100 mL distile suda çözülerek hazırlanan stok çözeltiden son hacim 1µg/ mL olacak şekilde hazırlanır (Maniatis, 1982).

**3.1.1.16. Boyayı Geri Alma Solüsyonu (Destaining)**

Boyama sonrası EtBr'nin fazlası, uygun hacimdeki 1 mM MgSO<sub>4</sub> ile jelden uzaklaştırılır (Maniatis, 1982).

**3.1.1.17. Kullanılan Antibiyotikler**

Tavuklardan izole edilen bakteri suşlarının antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir (Bauer ve ark., 1966). Çalışmada ticari olarak satın alınan, insan ve hayvan sağaltımında yoğunlaştırılarak kullanılan 31 farklı antibiyotik diski kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Kullanılan Antibiyotikler

İsim	Kısaltma İsmi	Kullanılan Marka
Amfisilin	AM, 10 µg	Becton Dickinson
Amikasin	AN, 30 µg	Becton Dickinson
Basitrasin	B, 10 µg	Becton Dickinson
Eritromisin	E, 15 µg	Becton Dickinson
Fusidik Asit	FD, 50 µg	Oxoid
Gentamisin	GM, 10 µg	Becton Dickinson
İmipenem	IPM, 10 µg	Becton Dickinson
Kanamisin	K, 30 µg	Becton Dickinson
Kloramfenikol	C, 30 µg	Becton Dickinson
Levofloksasin	LVX, 5 µg	Oxoid
Meropenem	MEM, 10 µg,	Becton Dickinson
Oksasilin	OX, 1 µg	Becton Dickinson
Penisillin	P, 10 µg	Becton Dickinson
Piperasilin	PIP, 100 µg	Bioanalyse
Sefadroksil	CFR, 30 µg	Bioanalyse
Sefaklor	CEC, 30 µg	Bioanalyse
Sefalotin	CF, 30 µg	Becton Dickinson
Sefaperazon	CFP, 75 µg	Becton Dickinson
Sefazolin,	CZ, 30 µg	Becton Dickinson
Sefepim	FEP, 30 µg	Becton Dickinson
Sefoksitin	FOX, 30 µg	Bioanalyse
Seforoksim	CXM, 30 µg	Becton Dickinson
Sefotaksime,	CTX, 30 µg	Becton Dickinson
Sefpodoksime	CPD, 10 µg	Becton Dickinson
Sefprozil	CPR, 30 µg	Oxoid
Seftizoksime	ZOX, 30 µg	Becton Dickinson
Streptomisin	S, 10 µg	Becton Dickinson
Tetrasiklin	TE, 30 µg	Becton Dickinson
Tobramisin	NN, 10 µg	Becton Dickinson
Trimetofrin-Sülfamethaksol	SXT, 1.25 ve 23.75 µg	Becton Dickinson
Vankomisin	VA, 30 µg	Becton Dickinson

Çizelge 3.2. Kullanılan Antibiyotikler ve Antibakteriyal Etki Mekanizmaları

İsim	Grup	Antibakteriyal etki mekanizması
Amikasin	Aminoglikozit	Protein sentezini inibe eder.
Gentamisin		
Streptomisin		
Kanamisin		
Tobramisin		
Fusidik Asit		
Amfisilin	Aminopenisilin	Bakteri hücre duvar sentezini inhibe eder.
Penisillin	Karboksipenisilin	
Piperasilin	Üreidopenicillin	
Oksasilin	Penisilin	
Sefazolin,	Sefalosporin 1	
Sefalotin		
Sefadroksil		
Seforoksim	Sefalosporin 2	
Sefaklor		
Sefoksitin		
Sefprozil		
Sefotaksime,	Sefalosporin 3	
Sefpodoksime		
Sefaperazon		
Seftizoksime		
Sefepim	Sefalosporin 4	
Meropenem	Karbapenem	Bakteri Duvarındaki Penisilin Bağlayan Proteinlerden PBP- 1 Ve PBP- 2'ye Bağlanırlar. En Geniş Spektrumlu Beta Laktam Antibiyotiktirler.
İmipenem		
Vankomisin	Glikopeptidler	Duvar sentez inhibitörleri
Basitrasin		
Tetrasiklin	Tetrasiklin	30s alt birimine bağlanarak tRNA'nın bağlanmasını ve peptid zincirinin uzamasını önlerler.
Levofloksasin	Florokinolin	DNA giraz enzimini inhibe ederler.
Eritromisin	Makrolid	Bakteri ribozomlarının 50s alt birimindeki 23s tRNA bağlanarak, aynı yere tRNA'nın bağlanmasını ve dolayısıyla peptid yan zincirin uzamasını önlerler.
Trimetofrin-Sülfamethaksol	Sulfonamidler	Folik asid sentezine girerler ve folat sentezini inhibe ederler.
Kloramfenikol	Kloramfenikol	50s ribozomunu etkileyerek peptidil transferaz etkinliğini azaltırlar.

### 3.2. Metod

Her kümede yaklaşık 12.000 etlik civciv ve tavuk bulunan, 10 kümes için, 4 farklı yem döneminde bulunan ve köy tavuklarından dışkı örnekleri alınmıştır.

Toplam aerob bakterilerin saptanması, Gram negatif *Enterobacteriaceae* üyesi olan enterik bakterilerin izolasyonu, *Salmonella* ve *Shigella* türlerinin izolasyonu, alınan numunelerde fekal *Streptococcus*, *Vibrio* sp. ve *Campylobacter* sp. tayini, Bauer'e göre (Bauer ve ark, 1966) antibiyotik disk difüzyon metodu kullanılarak antibiyogram ve plazmid tiplendirilmesi ve plazmid profil analizi yapıldı.

Antibiyogram testi sonucunda kullanılan antibiyotiklere hassas ve dirençli farklı tür ve cinse ait bakterilerden izole edilen plazmid DNA'ları agaroz jel elektroforez tekniği ile görüntülenmiş ve benzerlikler ortaya konulmuştur.

### 3.2.1. Örneklerin Alınması

Her kümeden alınan dışkı örnekleri steril taşıma şişeleri ve steril poşetler içerisinde soğuk zincir korunarak laboratuvara getirilmiştir. Her küme için 4 farklı yem dönemi süresince, haftalık kullanılan yem miktarları, birim canlı ağırlığı ve toplam canlı ağırlıkları hesaplanmıştır.

### 3.2.2. Toplam Mezofilik Aerobik Bakterilerin Sayımı

Toplam mezofilik aerob bakteri sayısı belirlenirken katı dışkı örnekleri  $10^{-6}$  oranında sulandırılmış Plate Count Agara (PCA) yayma metodu ile ekilerek, 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonu takiben koloniler sayılarak toplam bakteri sayısı belirlenmiştir (Messer ve ark. 1985).

### 3.2.3. *Enterobacteriaceae* Üyesi Bakterilerin İzolasyonu

*Enterobacteriaceae* familyasının patojen üyeleri ve koliform grup bakteriler için selektif katı besiyeri olarak EMB (Eosin Methylen- blue) agar kullanılmıştır. Yaygın olarak koliform grup bakteri sayımında ve *E. coli* tanımlanmasında EMB agar kullanılmaktadır. 35-37°C'de 24 saat inkübasyon sonunda menekşe renkli ve yansıyan ışıkla yeşilimsi metalik parlak görülen koloniler *E. coli*'yi, pembe-menekşe

renkli, mukoid, gri kahverengi merkezli koloniler *Enterobacter*, *Klebsiella* ve diğer koliformları gösterir (Atlas, 2005).

#### 3.2.4. *Streptococcus faecalis* Saptanması

5 mL sodyum azidli besiyerine homojen olarak karıştırılmış tavuk dışkısından 1 mL ilave edilerek 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda bulanıklık gösteren tüpler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Atlas, 2005).

#### 3.2.5. *Vibrio sp.*, Tayini

Homojen olarak karıştırılmış tavuk dışkısından 10 mL alkali peptonlu besiyerine (APS) ekim yapılmıştır. 35- 37°C’de 8 saat inkübe edildikten sonra TCBS agara APS den yüzeyden olacak şekilde bir öze dolusu ekim yapılmıştır.

İnkübasyondan sonra *Vibrio cholerae* için TCBS de 2-4 mm çapında sarı parlak koloni oluşturanlar pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. *Vibrio parahamolyticus* da ise 2 mm çapında yeşil dairesel koloni oluşturanlar pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Atlas, 2005).

#### 3.2.6. *Salmonella* ve *Shigella* Türlerinin İzolasyonu

Köy tavuklarından ve etlik civciv ve tavuklardan alınan katı dışkı örneklerini  $10^{-6}$  oranında sulandırarak SS (*Salmonella-Shigella*) agara yayma metodu ile ekilmiş, 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir.

Gram negatif basiller içinde yer alan ve barsak patojeni olan *Salmonella* ve *Shigella* türlerinde SS (*Salmonella-Shigella*) agar kullanılmaktadır. Besiyeri bileşimindeki brilliant green, safra tuzları, tiyosülfat ve sitrat çoğu refakatçi floranın gelişimini engeller. Hidrojen sülfür oluşumu tiyosülfat ve demir iyonları ile belirlenir, koloni merkezi siyah renkli olur. Renksiz-yarı saydam (laktöz negatif) koloniler *Shigella* ve pek çok *Salmonella* için tipiktir. Bazı *Salmonella* türleri siyah merkezli yarı saydam koloni oluştururlar.

Aynı morfoloji *Proteus* türleri için de geçerlidir. Pembe-kırmızı koloniler *E. coli* olarak tanımlanırken, pembe-beyaz ya da krem renkli olanlar *Enterobacter aerogenes* kolonileridir. Bu besiyerinde *Salmonella* kolonilerinin *Shigella* kolonilerinden ayrımı besiyerinde koloni etrafındaki renk değişiminin *Salmonella*'da sarı, *Shigella*'da kırmızı olması ile belirlenir (Atlas, 2005).

### 3.2.7. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Disk difüzyon testinde (Bauer ve ark., 1966), incelenen suşların LB buyyondaki 24 saatlik kültürlerinden 0.1 mL alınarak Nutrient agara cam bagetle yayılmış ve üzerine toplam 18 anti-mikrobiyal disk (Becton Dickinson BBL) yerleştirilmiştir. Yapılan antibiyogram sonucuna göre kullanılan antibiyotiklerin tamamına dirençli çıkan 14 bakteri için farklı 13 anti-mikrobiyal disk (Becton Dickinson BBL, Bioanalyse ve Oxoid) kullanılmıştır. Besiyerleri oda ısısında 30 dakika süreyle difüzyona bırakıldıktan sonra, 37°C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, diskler çevresindeki inhibisyon zonları ölçülerek, değerlendirme yapılmıştır.

### 3.2.8. Çoklu Antibiyotik Direnci (MAR) İndeksi

Çoklu antibiyotik dirençliliği (MAR) indeksi test organizmalarının dirençli olduğu antibiyotik sayısının toplam denenen antibiyotik sayısına oranı ile hesaplanmaktadır. Hesaplanan MAR indeksi sonucu eğer 0,2'den daha büyükse birkaç antibiyotiğin kullanıldığı ortam kökenli bakteri suşlarının varlığını gösterir (Ehinmidu, 2003).

$$\text{MAR indeksi} = A/B$$

A=Organizmanın Dirençli Olduğu Antibiyotik Sayısı

B=Organizmanın Test Edildiği Toplam Antibiyotik Sayısı

### 3.2.9. Bakteri İdentifikasyonu

14 izolat gram boyamalarına göre değerlendirildikten sonra tiplendirme işlemi için VITEK II (Biomérieux) identifikasyon sistemi kullanılmıştır.

### 3.2.10. Plazmid DNA İzolasyonu

Çalışmamızda kullandığımız bakteri suşlarından plazmid izolasyonunda plazmid izolasyon kiti kullanılmıştır (Roche applied science high pure plazmid isolation kit. Cat no: 11 754 777 001).

Roche marka plazmid DNA izolasyon test kitinde belirtilen prosedür uygulanarak bakteri suşlarının plazmid profilleri çıkartılmıştır.

### 3.2.11. Plazmid DNA'nın Agaroz Jel Elektrofrez

% 0,7'lik hazırlanan agaroz jel solüsyonu, yaklaşık 45-50°C'ye soğutulduktan sonra tarak yerleştirilmiş jel kabına dökülmüştür. Polimerize olan jelden tarak çıkarıldıktan sonra 20 µL plazmid DNA örnekleri 5 µL yükleme tamponu ile karıştırılmış ve mikro pipet yardımı ile slotlara uygulanmıştır. Plazmid DNA'larının moleküler ağırlıklarını (bp) hesaplamak amacıyla bir slota marker DNA (Sigma, D9780) yüklenmiştir. Aparata jelin yüzeyini kaplayacak şekilde yürütme tamponu ilave edilmiş ve 5-10 V/cm<sup>2</sup> voltaj uygulanmıştır. Elektrofrez işlemi tamamlandığında jel boyama solüsyonu (EtBr) ile 30-45 dakika boyanmıştır. Boyanın fazlası 1 mM MgSO<sub>4</sub> ile 15 dakika muamele edilerek geri alınmıştır. DNA bantları Minibis marka jel görüntüleme cihazı ile görüntülenmiş ve moleküler büyüklükleri GelQuant ile hesaplanmıştır.

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada Mersin iline bağlı Anamur ilçesindeki 2 farklı kümeden toplanan köy tavukları dışkı örnekleri ve Adana ilindeki etlik piliç üretimi yapan bir firmadan yaklaşık her kümede 12.000 etlik civciv ve tavuk bulunan, 10 kümeden (1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 4A, 4B, 5A, 5B), 4 farklı yem dönemlerinden dışkı örnekleri toplanmıştır ve bakteri izolasyonları yapılmıştır.

Çizelge 4.1. Örnek Alınma Tarihleri ve Yem Geçiş Dönemleri

Kümesler	Örnek Alınan Tarihler		
	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	16.07.2008	01.08.2008	11.08.2008
1A-B	1.yem	2.yem	3-4.yem
2A-B	1.yem	2.yem	3-4.yem
3A-B	1.yem	2.yem	3.yem
4A-B	2.yem	3.yem	4.yem
5A-B	2.yem	3.yem	4.yem

##### Yem geçiş dönemleri;

0-13. gün 1. yem dönemi

13-14. gün 2. yeme geçiş

24-26. gün 3. yeme geçiş

36-37. gün 4. yeme geçiş

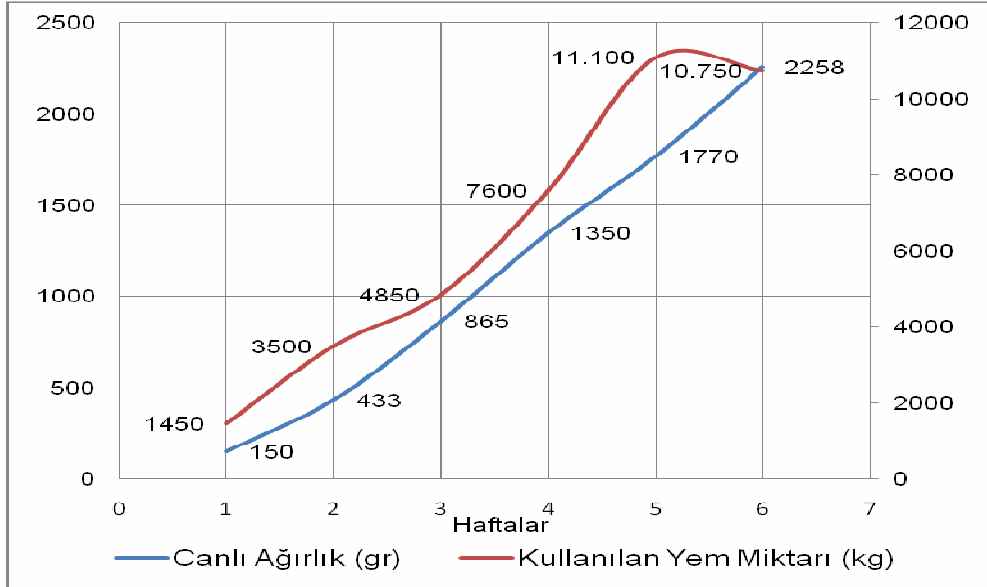
Bakteri izolasyonu sonunda bakterilerin antibiyotik dirençlilik profilleri ve plazmid profilleri belirlenerek karşılaştırılma yapılmıştır.

Antibiyotik dirençlilik profillerine göre, kullanılan bütün antibiyotiklere dirençlilik gösteren 14 bakterinin VITEK II (Biomerieux) ile identifikasyonları yapılarak, 12 bakterinin tanımlanma işlemi gerçekleştirilmiştir.

#### 4.1. Etlik Piliç Üretimi Yapan Firmada Kullanılan Haftalık Yem Miktarı ve Canlı Ağırlıkları

Günlük civcivler kümese konulduktan 5-6 hafta sonra 1,8-2,3 kg. canlı ağırlığa ulaşarak kesim dönemine girdiler. Etlik piliçler çabuk ve fazla yem tükettiklerinden

dolayı hızlı bir şekilde gelişiyorlar. Hayvan büyüdükçe kazanacağı canlı ağırlığa göre yem tüketimi de artıyor. Bir civcivin kesime kadar toplam alacağı yem miktarı 4-4,5 kg'dır.



Şekil 4.1. Etlik piliç üretimi yapan firmada kullanılan haftalık yem miktarı ve canlı ağırlıkları

1950'lerde bir tavuk 68 günde gelişirken, 2008'de hormonlar ve antibiyotikler sayesinde 47 günde çok daha iri bir şekilde gelişebiliyorlar. Bu kadar hızlı büyümeleri nedeniyle, onların kemik yapıları gelişemediğinden ve ağırlıklarının normalden fazla olması nedeniyle ayakta zor durabilmektedirler (Anonymous, 2009b).

#### 4.2. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteriler

Toplam bakteri sayısı ürünün genel mikrobiyolojik kalitesi, raf ömrü ve üretim sırasındaki hijyen koşullarının belirlenmesinde kriter olarak önem taşımaktadır (FAO, 1992). Taze et yüzeyindeki mikrobiyal gelişme; bozulma ve bozulma sonucu ortaya çıkabilecek ekonomik kayıpların ve et kalitesindeki düşüşün önemli bir nedenidir (Karaboz, 2002). Taze etlerde bozulma yüzeyde veya etin iç

kısımlarında mikroorganizmaların gelişerek yüksek sayılara ulaşması sonucu oluşmaktadır. Mikrobiyolojik bozulmanın genellikle yüzeyde 1 cm<sup>2</sup>'de bulunan mikroorganizma sayısı 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> kob/g düzeyine çıktığında belirgin hale gelmektedir (Karaboz, 2002).

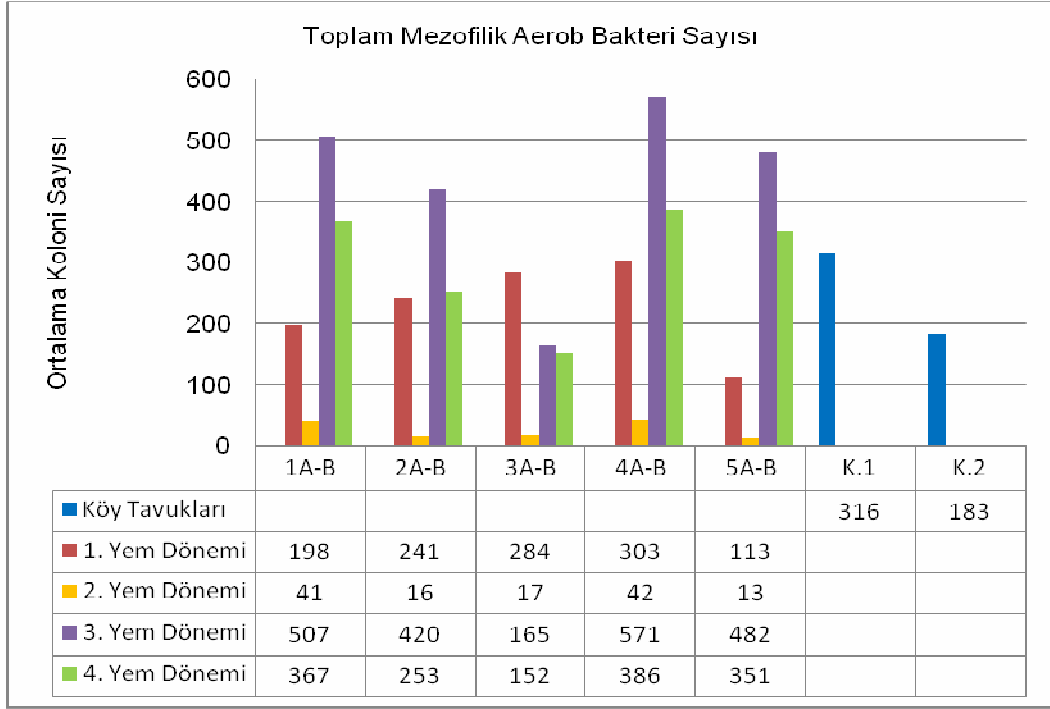
Örneklerin toplandığı çiftlikte, farklı dönemlerde farklı antibiyotik içeriklerine sahip yemlerin kullanılması sonucunda toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının değişken olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.2. PCA Sonuçlarına Göre Toplam Aerob Mezofilik Bakteri Sayısı

Kümesler	Toplam Aerob Mezofilik Bakteri Sayısı (KOB/g)x10 <sup>6</sup>			
	1. Yem Dönemi	2. Yem Dönemi	3. Yem Dönemi	4. Yem Dönemi
1A-B	198	41	507	367
2A-B	241	16	420	253
3A-B	284	17	165	152
4A-B	303	42	571	386
5A-B	113	13	482	351

**KOB:** Koloni Oluşturan Birim

Şekil 4.2'de görüldüğü gibi 2. örnek toplama döneminde 2. yeme geçiş yapan ve 2. yem döneminde bulunan tavuklardan alınan dışkı örneklerinde toplam bakteri sayılarında gözle görülür bir azalma gözlemlenmiş olmasına rağmen 3. yem döneminde; diğer yem dönemlerine oranla toplam bakteri sayısında artış gözlenmiştir.



Şekil 4.2. Toplam mezofilik aerobik bakteriler

### 4.3. Etlik Cıvıv ve Tavuktan İzole Edilen İzolatların Antibiyogram Sonuçları

Yemlerinde antibiyotik kullanılan hayvanların et, süt veya yumurta gibi ürünlerinde zamanla antibiyotik kalıntılarına rastlanıldığı bildirilmiştir. Hayvanlarda büyümeyi uyarıcı olarak kullanılan antibiyotiklerin uzun süre kullanılmaları durumunda, patojen mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnç kazanmaları ve tüketeceğimiz hayvansal ürünlerde kalıntı bırakarak sağlığımızı tehdit etmesi sebebinden tıbbın ve tüketicinin istemediği sorunlarla karşılaşmaktadır. Tıbbın ve tüketicilerin baskılarıyla antibiyotiklerin hayvan yemlerinde büyüme uyarıcısı olarak kullanımını ülkemizde yasaklanmıştır (Kutlu ve Görgülü, 2001).

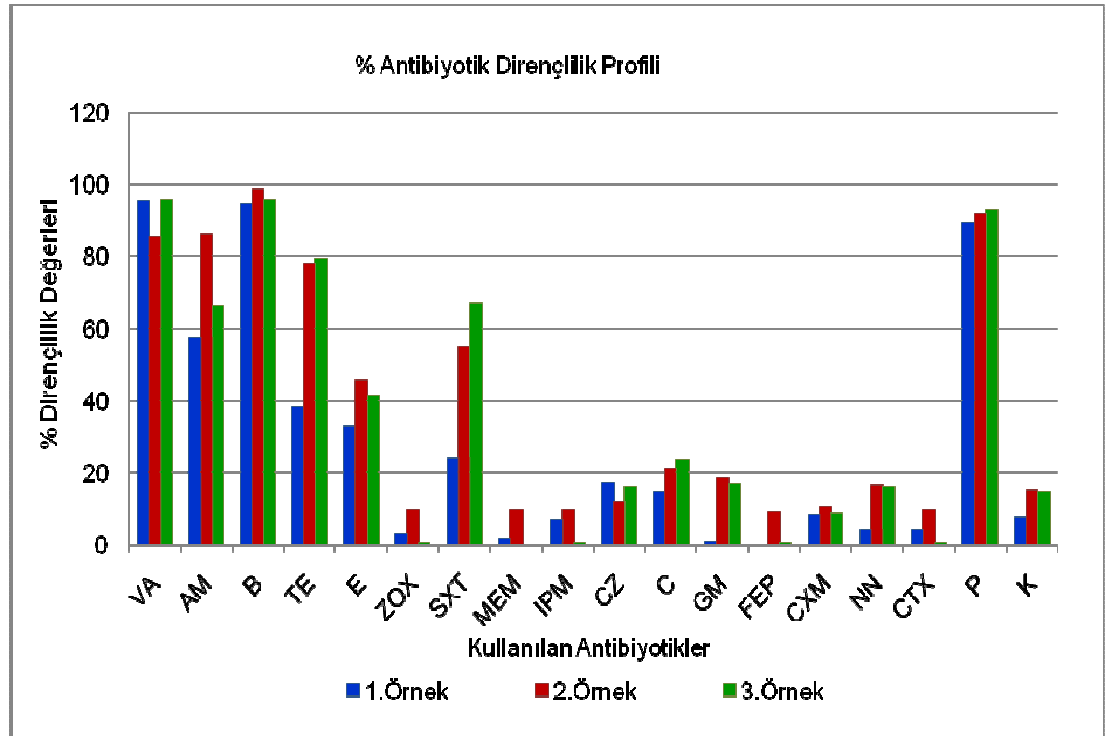
Bir antibiyotiğe dirençli olan etken kısa sürede birden çok ilaca karşı da direnç kazanmakta ve bu çoğul dirençli mikroorganizmalar hızla ortama yayılmaktadır (Murray, 1997).

Antibiyotik direncinin çıkışına yönelik bazı varsayımlardan bahsedilebilir. Bununla birlikte, toplam dirençli organizma sayısı direnç açısından mutasyonel sıklığı belirgin bir biçimde aştığında veya yaygın olarak görülen bir dirençli klon

varlığında dirençten söz edilebilir. Bu durumda tek bir klondan köken alan ve birbirinden kısmen farklılaşan bakteri topluluğundan söz edilebilir (Pfaller, 1998 ve Drusano, 2003).

Çizelge 4.3. Antibiyogram Yapılan Bakteri Sayısı

	Toplam İzole Edilen Bakteri Sayısı	EMB agardan izole edilen bakteri sayısı	SS agardan izole edilen bakteri sayısı
1. Örnek Toplama Dönemi	167	90	77
2. Örnek Toplama Dönemi	151	94	57
3. Örnek Toplama Dönemi	160	100	60
Köy Tavukları	38	20	18
<b>TOPLAM</b>	<b>516</b>	<b>304</b>	<b>212</b>



Şekil 4.3. % Antibiyotik dirençlilik profili

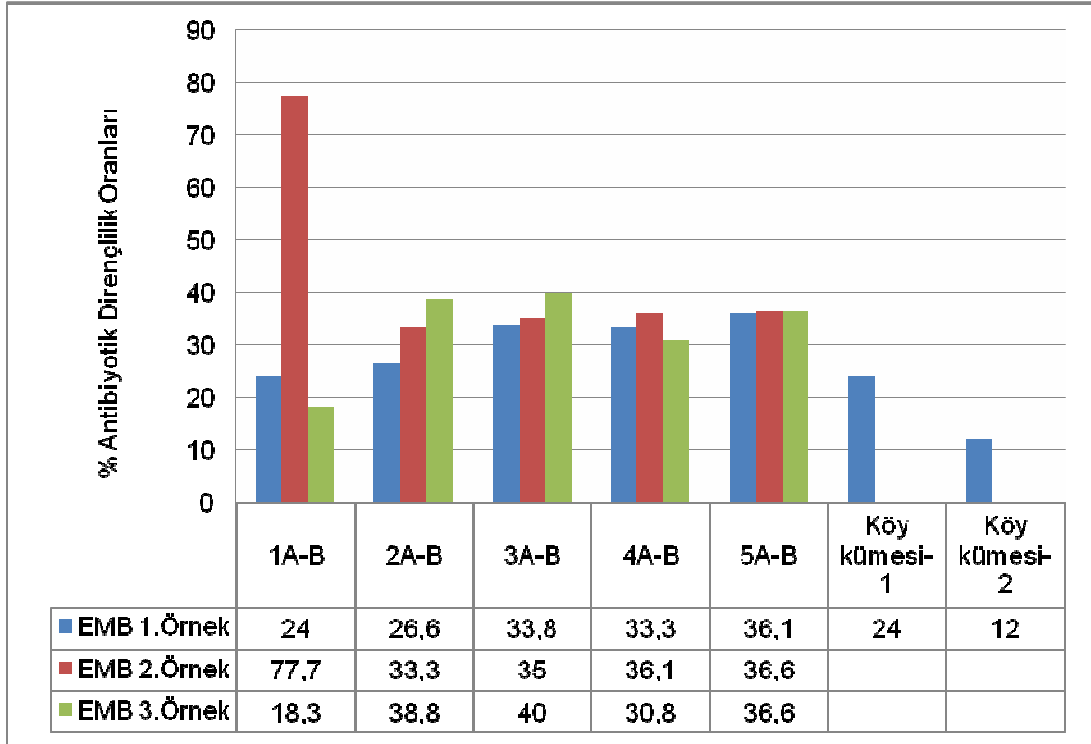
1. örneklerden izole edilen bakterilerin %95,2'si vankomisine, %57,48'i amfisiline, %94,61'i basitrasine, %38,32'si tetrasikline, %32,93 eritromisine, %2,99 seftizoksime, %23,95 sxt'ye, %1,79 meropeneme, %7,18 imipeneme, %17,35'i sefazoline, %14,97'si kloramfenikol, %1,19'u gentamisine, %8,38'i sefuroksime,

%4,19'u tobramisin ve sefotaksime, %89,22'si penisiline, %7,78'i kanamisine direnç göstermiştir. Sefepime ise hiç direnç göstermemiştir.

2. örneklerden izole edilen bakterilerin %85,43'ü vankomisine, %86,09 amfisiline, %98,67'si basitrasine, %78,14'ü tetrasikline, %45,59'u eritromisine, %9,93 seftizoksime, meropeneme, imipeneme, sefotaksime, %54,96 sxt'ye, %11,92'si sefazoline, %21,19'u kloramfenikol, %18,54'ü gentamisine,%9,27'si sefepim'e, %10,59'u sefuroksime, %16,55'i tobramisine ve, %92,05'i penisiline, %15,23'ü kanamisine direnç göstermiştir.

3. örneklerden izole edilen bakterilerin %95,62'si vankomisin ve basitresine, %66,25'i amfisiline, %79,37'si tetrasikline, %41,25 eritromisine, %0,62 seftizoksime, imipeneme, sefepime ve sefotaksime, %66,87'si sxt'ye, %16,25'i sefazoline, %23,75'i kloramfenikol, %16,87'si gentamisine, %8,75'i sefuroksime, %16,25'i tobramisine ve %93,12'si penisiline, %15'i kanamisine direnç göstermiştir. meropenem ise hiç direnç göstermemiştir.

3 farklı örnek toplama döneminde, 4 farklı yem evresinden alınan örneklerin EMB ve SS besiyerlerinde üreyen bakterilerin % antibiyotik dirençlilik profilleri Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te görüldüğü gibidir.



Şekil 4.4. EMB besiyerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençlilik profilleri

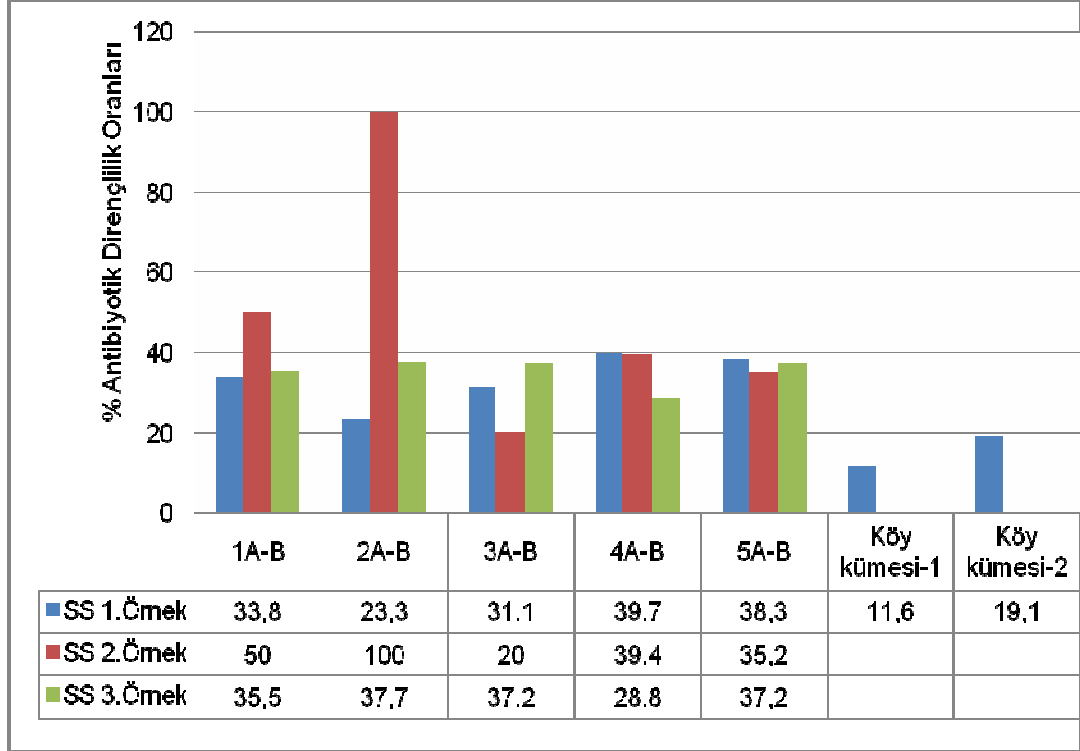
*Enterobacteriaceae* familyasının patojen üyeleri ve koliform grup bakteriler için selektif katı besiyeri olan EMB (Eosin Methylen-blue) (Atlas, 2005) agardan izole edilen izolatların antibiyotik dirençlilik % oranları, 1A-B kümesleri için 1.örnek toplama döneminde %24, 2. örnek toplama döneminde ise %77,7, 3. örnek toplama döneminde ise %18,3'tür.

2A-B kümeslerinde antibiyotik dirençlilik oranları 1.örnek toplama döneminde %26,6 2. örnek toplama döneminde ise %33,3, 3. örnek toplama döneminde ise %38,8'dir.

3A-B kümeslerinde antibiyotik dirençlilik oranları 1.örnek toplama döneminde %33,8 2. örnek toplama döneminde ise %35, 3.örnek toplama döneminde ise %40'dır.

4A-B kümeslerinde antibiyotik dirençlilik oranları 1.örnek toplama döneminde %33,3, 2. örnek toplama döneminde ise %36,1, 3.örnek toplama döneminde ise %30,8'dir.

5A-B kümeslerinde antibiyotik dirençlilik oranları 1.örnek toplama döneminde %36,1, 2. örnek toplama döneminde ise %36,6, 3.örnek toplama döneminde ise %36,6'dır.



Şekil 4.5. SS besiyerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençlilik profilleri

Gram negatif basiller içinde yer alan ve barsak patojeni olan *Salmonella* ve *Shigella* türlerinde kullanılan SS (*Salmonella-Shigella*) agardan izole edilen izolatların, antibiyotik dirençlilik % oranları, 1A-B kümesleri için 1.örnek toplama döneminde %33,8, 2.örnek toplama döneminde ise %50, 3.örnek toplama döneminde ise %35,5 olarak saptanmıştır.

2A-B kümeslerinde antibiyotik dirençlilik oranları 1.örnek toplama döneminde %23,3, 2.örnek toplama döneminde ise %100, 3.örnek toplama döneminde ise %37,7'dir.

3A-B kümeslerinde antibiyotik dirençlilik oranları 1.örnek toplama döneminde %31,1, 2.örnek toplama döneminde ise %20, 3.örnek toplama döneminde ise %37,2'dir.

4A-B kümeslerinde antibiyotik dirençlilik oranları 1.örnek toplama döneminde %39,7, 2. örnek toplama döneminde ise %39,4, 3.örnek toplama döneminde ise %28,8'dir.

5A-B kümeslerinde antibiyotik dirençlilik oranları 1.örnek toplama döneminde %38,3, 2. örnek toplama döneminde ise %35,2, 3.örnek toplama döneminde ise %37,2'dir.

SS agardan izole edilen bakterilerin 2.örnek toplama döneminde bakterilerin ortalama antibiyotik direncinin %100'e kadar yükseldiği gözlenmektedir. Bu dönem etlik civcivlerin 2.yem döneminde olduğu zaman aralığıdır.

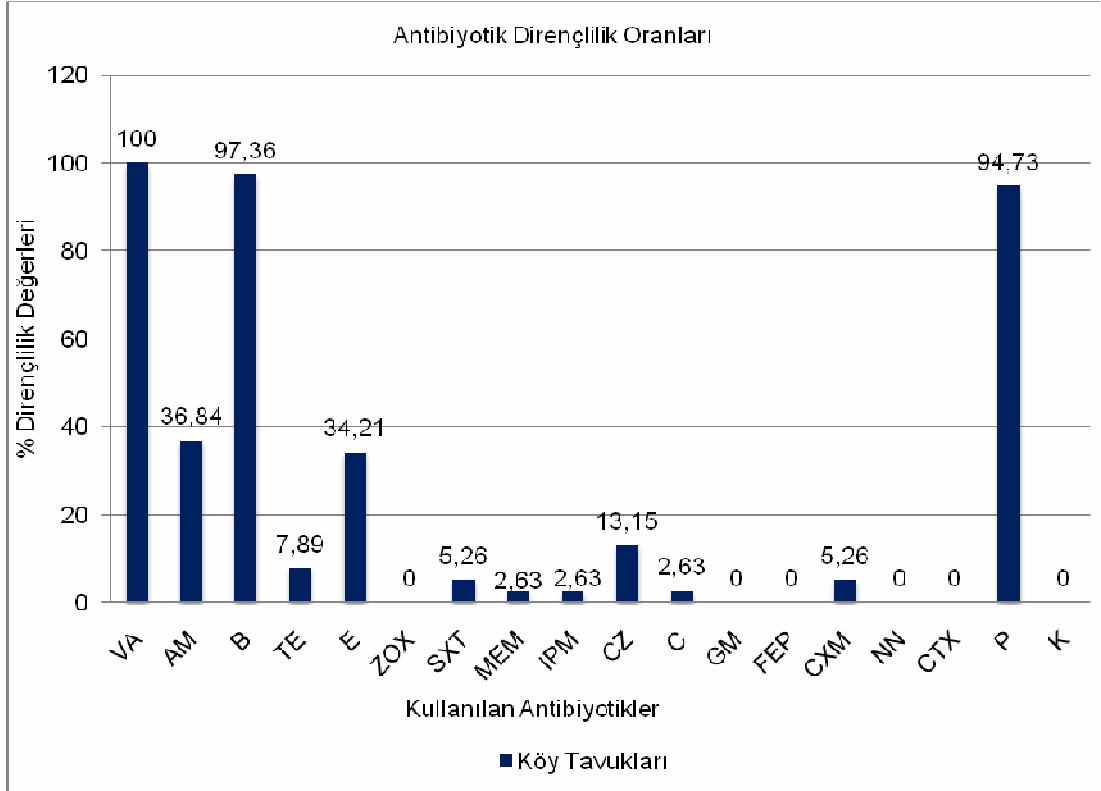
Bu yüksek dirençlilik 2.yem de kullanılan antibiyotik miktarının yüksek düzeyde kullanıldığını ve bakterilerin bu antibiyotiklere karşı sonradan direnç kazandığını göstermektedir.

Özellikle SS besiyerinde 1A, 1B, 2A, 2B kümeslerinde diğer örneklere uygulandığı gibi  $10^{-6}$  oranında sulandırma yapılarak ekim yapıldığında herhangi bir izolata rastlanmamıştır. Sulandırma yapılmadan direkt olarak ekim yapıldığında ise sadece 2A kümesinde 1 izolat dışında herhangi bir üreme gözlenmemiştir.

2. Örnek döneminden izole edilen bu izolat ve diğer % 100 antibiyotik dirençliliği gösteren 13 farklı izolat dahil olmak üzere, 14 farklı izolat için kullanılan bu 18 antibiyotiğe ilave olarak 13 antibiyotiğe daha antibiyogram testi uygulanmıştır.

Antibiyogram sonucunda toplamda, 14 farklı izolatanın 31 farklı antibiyotiğe %100 dirençli olduğu saptanmıştır.

Köy Tavukları ve etlik piliçlerden izole edilen bakterilerin antibiyogram sonuçlarını karşılaştırdığımızda (Şekil 4.6) ise, köy tavukların da gözle görülür düzeyde antibiyotik dirençliliğinin daha az ortaya çıktığı saptanmıştır.



Şekil 4.6. Köy tavuklarından izole edilen bakterilerin %'lik dirençlilik değerleri

Köy tavuklarından izole edilen bakterilerin, %100'ü vankomisine, %36,84'ü amfisiline, %97,36'sı basitresine, %7,89'u tetrasiklene, %34,21'i eritromisine, %5,26 sxt ve sefuroksime, %13,15'i sefazolin, %2,63'ü kloramfenikol, meropenem ve imipenem'e, %94,73'ü penisiline direnç göstermiştir. gentamisin, sefepim, tobramisin, sefotaksim, seftizoksim ve kanamisine ise hiç direnç göstermemiştir.

Çizelge 4.4. İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençlilik Dağılımları

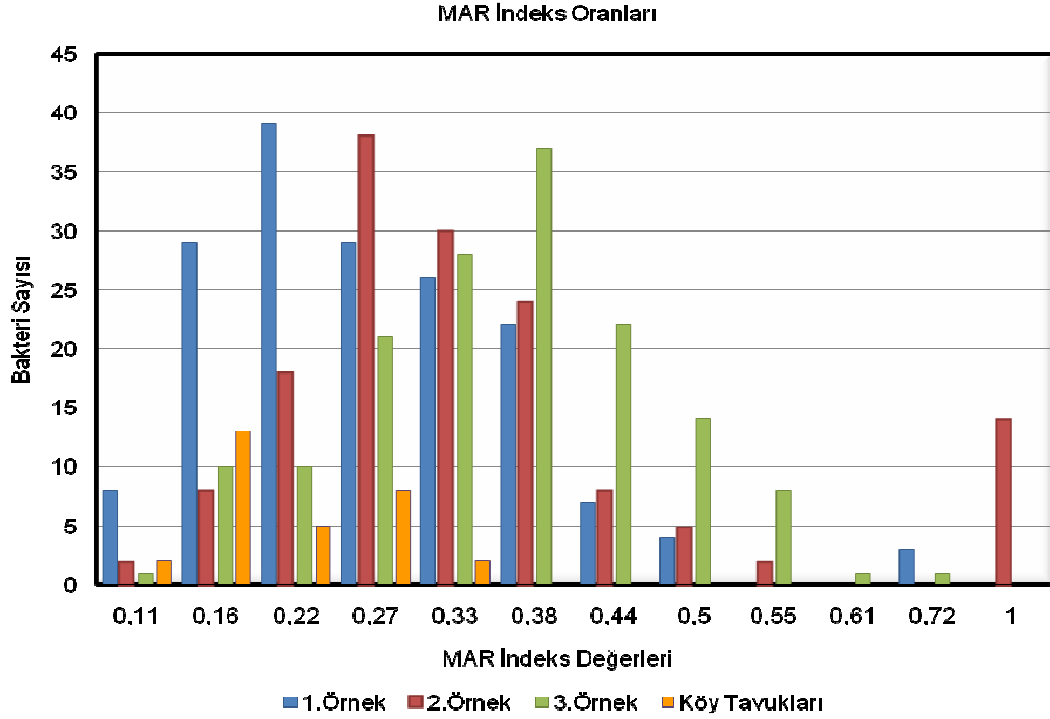
İzole edilen toplam bakteri sayısı	1.Örnek Dönemi				2.Örnek Dönemi				3.Örnek Dönemi				Köy Tavukları			
	167				151				160				38			
	Antibiyotikler	EMB	SS	Toplam	% Dirençlilik	EMB	SS	Toplam	% Dirençlilik	EMB	SS	Toplam	% Dirençlilik	EMB	SS	Toplam
VA	82	77	159	95,2	80	49	129	85,43	90	63	153	95,62	20	18	38	100
AM	41	55	96	57,48	86	44	130	86,09	66	40	106	66,25	6	8	14	36,84
B	81	77	158	94,61	95	54	149	98,67	90	63	153	95,62	19	18	37	97,36
TE	25	39	64	38,32	75	44	118	78,14	76	51	127	79,37	-	3	3	7,89
E	11	44	55	32,93	38	31	69	45,69	41	25	66	41,25	5	8	13	34,21
ZOX	4	1	5	2,99	14	1	15	9,93	1	-	1	0,62	-	-	-	-
SXT	22	18	40	23,95	66	17	83	54,96	69	38	107	66,87	2	-	2	5,26
MEM	3	-	3	1,79	14	1	15	9,93	-	-	-	-	-	1	1	2,63
IPM	5	7	12	7,18	14	1	15	9,93	-	1	1	0,62	-	1	1	2,63
CZ	17	12	29	17,35	13	5	18	11,92	22	4	26	16,25	2	3	5	13,15
CZ	9	16	25	14,97	27	5	32	21,19	23	15	38	23,75	-	1	1	2,63
GM	1	1	2	1,19	17	11	28	18,54	14	13	27	16,87	-	-	-	-
FEP	-	-	-	-	13	1	14	9,27	1	-	1	0,62	-	-	-	-
CXM	10	4	14	8,38	14	2	16	10,59	12	2	14	8,75	-	2	2	5,26
NN	5	2	7	4,19	17	8	25	16,55	17	9	26	16,25	-	-	-	-
CTX	6	1	7	4,19	14	1	15	9,93	1	-	1	0,62	-	-	-	-
P	74	75	149	89,22	88	51	139	92,05	90	59	149	93,12	19	17	36	94,73
K	6	7	13	7,78	19	4	23	15,23	9	15	24	15	-	-	-	-

Çizelge 4.5. 1., 2., 3. Örneklerden ve Köy Tavuklarında İzole Edilen Bakterilerin Çoklu Antibiyotik (MAR) Oranları

MAR İndeksi	Örnekler			Köy Tavukları	Toplam
	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek		
0,11	8	2	1	2	13
0,16	29	8	10	13	60
0,22	39	18	10	5	72
0,27	29	38	21	8	96
0,33	26	30	28	2	86
0,38	22	24	37	-	83
0,44	7	8	22	-	37
0,5	4	5	14	-	23
0,55	-	2	8	-	10
0,61	-	-	1	-	1
0,72	3	-	1	-	4
1	-	14	-	-	14

Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi, 2. örnek toplama döneminde ki 14 izolatin, kullanılan tüm antibiyotiklere karşı dirençli olduğu görülmektedir. Bu durum Armstrong ve ark, (1981)'nin belirttiği gibi zamanla organizmalarda çoklu antibiyotik dirençliliği oluştuğunu göstermektedir. Bu bakterilerin VITEK II ile identifikasyonu yapılarak, 12 bakterinin tanımlanma işlemi sağlanmıştır.

Tanımlama sonucuna göre; 9 bakterinin %99 ihtimalle *Rhizobium radiobacter*, 2 bakterinin %87 ve %91 ihtimalle *Burkholderia cepacia*, 1 bakterinin *Serratia ficaria* olduğu tespit edilmiş olup geri kalan 2 bakterinde VITEK II cihazında tanımlanamayan organizma olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.7. 1., 2., 3. Örneklerden ve köy tavuklarında izole edilen bakterilerin çoklu antibiyotik (MAR) oranları

Şekil 4.7 incelendiğinde köy tavuklarının MAR indeks değerlerinin etlik tavuk ve civciv yetiştiriciliğinin yapıldığı çiftlik örneklerine göre çok düşük düzeyde olduğu görülmektedir.

Özellikle 2. Örnek döneminde izole edilen 14 bakterinin MAR indeks değeri çok yüksek bulunmuştur.

Bakterilerde çoklu antibiyotik dirençliliğinin gelişmesinde çeşitli faktörler rol oynamaktadır. Zararsız olarak tanımlanan bazı bakterilerde R-faktörlerine bağlı MAR dirençliliği olduğunu tespit etmişlerdir. Antibiyotiklere karşı geliştirilen direnç kromozomal olabileceği gibi ekstrakromozomal kökenli de olabilmektedir (Colamiris ve ark., 1984).

Oklahoma'da tavuk ve hindilerde yapılan bir çalışmada, en fazla *K.pneumonia* olmak üzere çoklu ilaç dirençli *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri tespit edilmiştir. Tüm izolatlar ampisilin, tetrasiklin, streptomisin, gentamisin ve kanamisine dirençli bulunmuştur. *E.coli*'ye de bu direnç genlerini konjugasyon ile

aktarıldığı tespit edilmiştir. Hayvanların tüylerinde, yemeklerinde ve su içtikleri yerlerde de yine bu dirençli bakterilere rastlandığı bildirilmiştir (Kim ve ark., 2005).

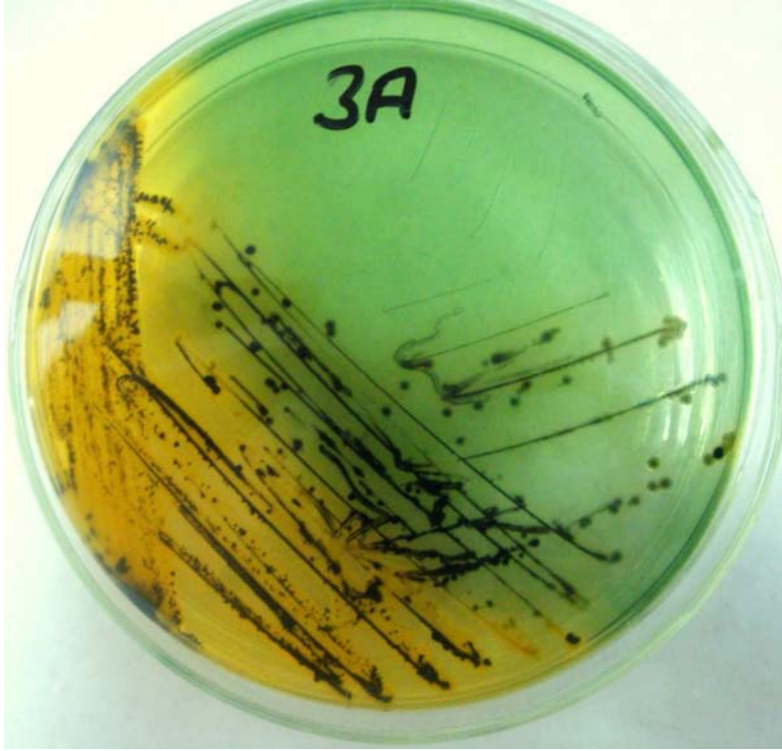


Şekil 4.8. SS besiyerinden izole edilen ve denenen tüm antibiyotiklere dirençli olan bir suşun antibiyogramı

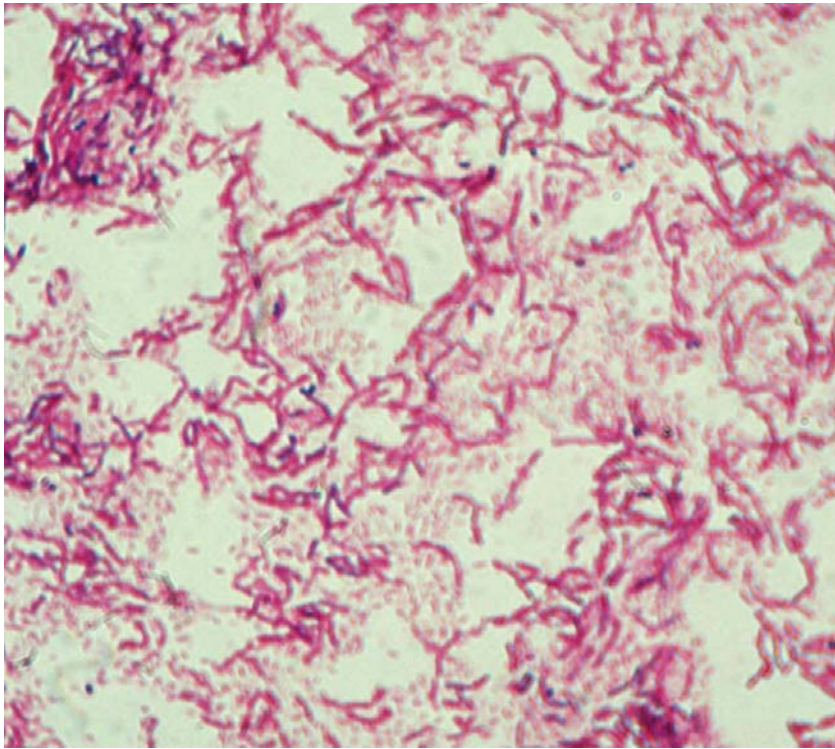
Antibiyotiklerin etlik tavuk ve civciv yetiştiriciliğinde kullanılmasının, koruyucu ve iyileştirici gibi yararlı özellikleri olduğu gibi, besin kirlenmesi ve halk sağlığını tehdit eden zararlı bir takım özellikleri de bulunmaktadır.

#### 4.4. *Vibrio* sp., *Streptococcus faecalis* ve *Campylobacter* sp. Sonuçları

Etlik tavuk ve civciv yetiştiriciliğinin yapıldığı çiftlikten alınan 1., 2., ve 3. örneklerin tamamında *Vibrio* sp., *Streptococcus faecalis* ve *Campylobacter* sp. saptanmıştır.



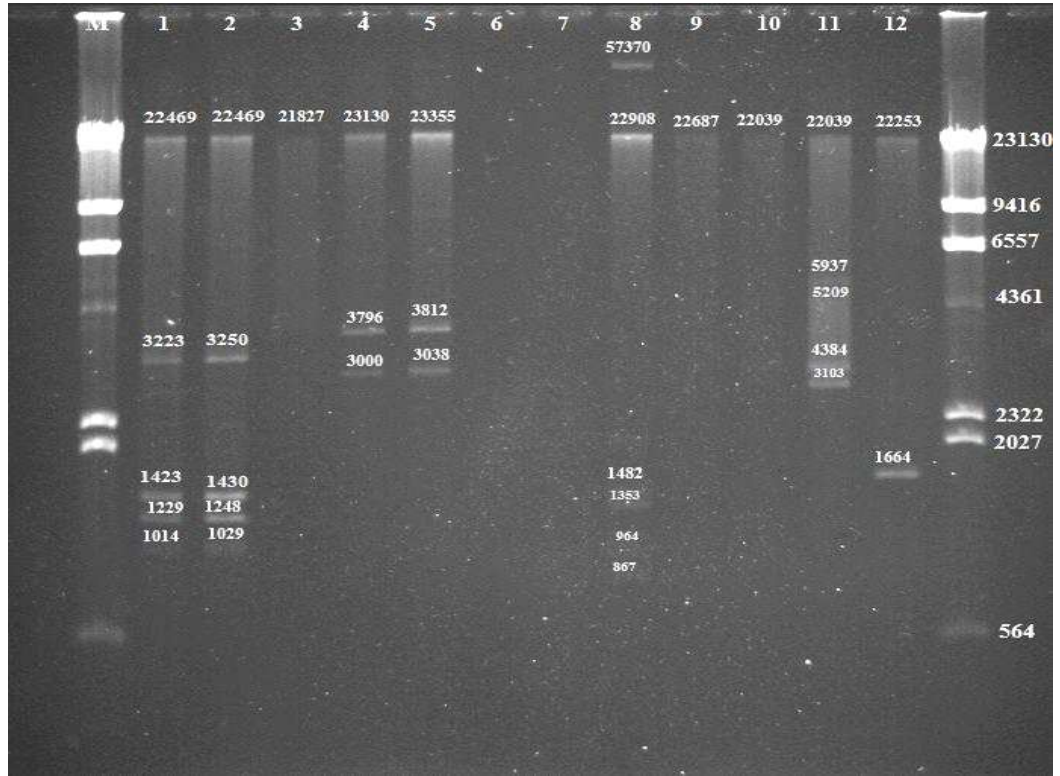
Şekil 4.9. Etlik piliç üretimi yapılan firmadan *Vibrio* sp. görüntüsü



Şekil 4.10. *Vibrio* sp.'nin mikroskop görüntüsü

Bakteriler, yeni antibiyotiklere dirençli duruma geldikçe, değişik ortam şartlarına kolayca uyum sağlayabilmekte ve bu olayda plazmidlerin taşıdıkları dirençlilik fenotipi önemli rol oynamaktadır (Saunders, 1984).

#### 4.5. Plazmid Profillerinin Analizi



Şekil 4.11. Plazmid DNA'larının agaroz jel elektroforez görüntüsü

1 numaralı bakteri EMB besiyerinden 1.örnek toplama döneminden izole edilmiş olup sadece vankomisin ve basitrasin için dirençlilik göstermiştir. Bu bakteride 22469 bp, 3223 bp, 1423 bp, 1229 bp, 1014 bp, boyutlarında 5 plazmid izole edilmiştir.

2 numaralı bakteri EMB besiyerinden 1.örnek toplama döneminden izole edilmiş olup sadece vankomisin ve penisilin için dirençlilik göstermiştir. Bu bakteride 22469 bp, 3250 bp, 1430 bp, 1248 bp, 1029bp, boyutlarında 5 plazmid izole edilmiştir.

3, 4, 5, 6, 7 numaralı bakteriler EMB besiyerinden 2.örnek toplama döneminden izole edilmiş olup kullandığımız 31 farklı antibiyotiğe dirençlilik göstermişlerdir. VITEK II tanımlama işlemine göre 3 numaralı bakteri *Burkholderia cepacia*; 21827 bp, 4 numaralı bakteri *Rhizobium radiobacter*; 23130 bp, 3796 bp, 3000 bp, 5 numaralı bakteride *Rhizobium radiobacter*; 23355 bp, 3812 bp, 3038 bp büyüklüğünde plazmid taşımaktadırlar. 6 numaralı bakteri tanımlanamamış organizma ve 7 numaralı bakteride *Rhizobium radiobacter* olup herhangi bir plazmide rastlanılmamıştır.

8 numaralı bakteri EMB besiyerinden köy tavuklarından alınan örneklerden izole edilmiş olup sadece vankomisin ve basitrasin için dirençlilik göstermiştir. Bu bakteriden 57370 bp, 22908 bp, 1482 bp, 1353 bp, 964 bp, 867 bp boyutlarında 6 plazmid izole edilmiştir.

9 ve 10 numaralı bakteriler EMB besiyerinden 1.örnek toplama döneminden izole edilmiş olup vankomisin, amfisilin, basitrasin, tetrasiklin, eritromisin, SXT, meropenem, imipenem, kloramfenikol, penisilin ve kanamisin için dirençlilik göstermiştir. 9 numaralı bakteriden 22687 bp, 10 numaralı bakteridende 22039 bp boyutunda 1'er plazmid izole edilmiştir.

11 numaralı bakteri SS besiyerinden izole edilmiş olup, 2.örnek toplama döneminde 2.yeme geçiş yapan kümeste üreme gösteren tek izolatdır. Kullandığımız 31 farklı antibiyotik içinde direnç göstermiştir. Bu bakteriden 22039 bp, 5937 bp, 5209 bp, 4384 bp, 3103 bp, 2817 bp boyutlarında 6 plazmid izole edilmiştir.

12 numaralı bakteri SS besiyerinden köy tavuklarından alınan örneklerden izole edilmiş olup vankomisin, amfisilin, basitrasin, sefazolin ve penisilin için dirençlilik göstermiştir. Bu bakteriden 22253 bp, 1664 bp boyutlarında 2 plazmid izole edilmiştir.

Bu örneklerin plazmid büyüklükleri marker DNA (Sigma, D9780) ile kıyaslanarak Minibis marka jel dökümantasyon cihazından hesaplanmıştır.

İzole edilen bakterilerin gösterdikleri antibiyotik dirençlilik özelliklerinin kromozomal veya plazmidik oldukları gözlenmektedir. Kromozom dışında, bakterilerde bulunan hücreye bazı önemli özellikler kazandıran ve bu özellikleri genetik kontrol altında tutan plazmidler bulunmaktadır. Plazmidler

mikroorganizmalara antibiyotik ve ağır metal dirençliliği gibi özellikler kazandırmaktadırlar ve üzerinde 1-2 veya daha fazla gen taşıyabilirler (Bilgehan, 2002).

Beta-laktam antibiyotiklerini hidrolize eden ve inaktif hale getiren betalaktamaz üretimi, başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere birçok bakteri türünün en önemli direnç mekanizmalarından birisidir (Akçam ve ark., 2004).

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Köy tavuklarından ve Adana ilindeki etlik piliç üretimi yapan, her kümeste yaklaşık 12.000 tavuk ve ya civciv bulunan 10 kümese sahip bir firmadan, 4 farklı yem dönemlerinden alınan dışkı örneklerinden bakteri izolasyonu yapıldı. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı incelenerek, *Vibrio* sp., *Streptococcus faecalis* ve *Campylobacter* sp. varlığı tespit edildi.

EMB ve SS agardan izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençlilik profilleri çıkartılarak bu dirençliliğin plasmid kökenli olup olmadıkları, izole edilen plasmidlerin büyüklükleri elektroforez yapılarak ortaya konmuştur.

Yaptığımız çalışmada 2.yem döneminde alınan dışkı örneklerinden yapılan bakteri izolasyonu sonrasında toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında gözle görülür düzeyde azalma gözlemlenmiştir. 2.yem döneminde izolasyonu yapılan 14 farklı izolatın 31 farklı antibiyotik kullanılarak yapılan antibiyogram sonuçlarında 31 antibiyotiğe karşı göstermiş olduğu antibiyotik dirençliliğinin %100 çıkması, kullanılan yem de yüksek oranda antibiyotik miktarının varlığını ortaya koymaktadır.

Besi hayvanları için anti-mikrobiyal ajanların kullanımı hayvanlar için patojenik olan bakteriler arasında direncin oluşması ile hayvanlardaki enfeksiyonların tedavisinde problemlere neden olabilmektedir. Bu zoonotik bakterilerde direnç gelişimi primer olarak tedavi başarısızlığı ile giden bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır (Levy ve ark., 1976; Van Den ve Stobberingh, 2000).

İnsanlarda olduğu gibi hayvanlarda da antibiyotiklerin kullanımı sadece patojenik bakterilerde direnç artmasına yol açmaz, ayrıca bunların endojen floralarına da dirençli suşların yerleşmesine neden olur. Hayvanlardaki bu dirençli zoonotik veya flora bakterileri insanlara sadece direkt yolla bulaşmaz, ayrıca hayvansal besin maddeleri ile de bulaşabilir. Bu suşların insanlara bulaşması sonucu olabilecek enfeksiyonlarda tedavi oldukça güçleşecektir. Tavukların besin olarak tüketiminin iç organları çıkartılarak ve pişirilerek olması ve gastrointestinal florasındaki bakterilerin çoğunun mide asitlerine duyarlı olması nedeniyle, tavuklardan bu flora bakterilerinin insanlara besin yoluyla bulaşması sınırlanıyor gibi

gözükmektedir. Ancak hayvan üretim yerleri ve çiftliklerde çalışan kişilerde yapılan çalışmaları hayvan kaynaklı suşların bu kişilerin gerek floralarında gerekse enfeksiyon etkenleri arasından izole edildiğini göstermiştir (Van Den ve Stobberingh, 2000).

Araştırmamızda, etlik tavuk ve civcivlerin dışkılarından alınan örneklerde yüksek oranda *Vibrio* sp., *Streptococcus faecalis* ve *Campylobacter* sp. görülmüştür.

Hayvansal kaynaklı gıdalar, insan patojeni olan pek çok mikroorganizmanın gelişebilmesi için uygun bir besi ortamı oluşturmaktadır. Et ürünlerinde bulunan patojen bakteriler birçok yolla insanlara geçebilmekte ve hastalık etkeni olabilmektedir. Bunların bazıları; *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*, *Brucella melitensis*, *Hepatit A virüsü*, *Polio virüsü*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium* ve *Salmonella türleri* *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* (enteropatojenik), *Brucella abortus*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Yersinia enterocolytica*, *Listeria monocytogenes*, *Coxiella burnetii* gibi bakteriler gıda kaynaklı enfeksiyon ve zehirlenme etkenleri oluşturmaktadırlar (Ünlütürk ve Turantaş, 1998).

Köy tavuklarından izole edilen bakterilerin toplam mezofilik aerobik bakteri sayılarına ve antibiyogram profillerinin incelediğimizde, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının 3. ve 4.yem dönemlerine oranla düşük olduğunu görebiliriz.

Ayrıca antibiyogram sonuçlarını karşılaştırdığımızda, genel olarak etlik tavuk ve civciv yetiştiriciliği yapan firmadan çok daha düşük dirençlilik profili ortaya çıkmıştır. vankomisin, basitrasin, penisilin dışında antibiyotik % dirençlilik oranları çok düşük düzeyde çıkmıştır. Bu 3 antibiyotik için ise vankomisine %100', Basitrasine %97,36, Penisiline %94,73 direnç göstermişlerdir.

Antibiyotiklerin 1950'lerin başında hayvan yemlerinde kullanılmaya başlanmasıyla, yetiştiricilikte yeni bir dönem başlamıştır. Ancak, profilaktik veya gelişmeyi hızlandırıcı olarak kullanılan antibiyotiklerin çoğu, insan ve hayvanlarda patojen bakteri türleri (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Campylobacter* sp.) arasında ortaya çıkan dirençli suşların hızla artması sebep olmuştur. Bunun nedenleri, hayvanlara öngörülen dozlardan fazla ilaç verilmesi ve

özellikle de ilaç uygulanan hayvanların ilacın yasal bekletme süresine uyulmadan kesime sevk edilmesi olarak ifade edilmektedir. Bunun sonucunda, antibiyotiklerin tamamen metabolize olmaması veya vücuttan tamamen atılmamasına bağlı olarak, hayvanların doku ve organları ile bunlardan elde edilen hayvansal gıdalarda antibiyotik kalıntısı bulunabilmektedir (Anonymous, 2008).

Bu bilimsel verilere dayanarak, kalıntı izleme konusuna yönelik bir takım yasal düzenlemeler ve denetimler yapılmalı. Araştırma laboratuvarları oluşturulma ve yaygınlaştırılması, işletmelerde hayvan yetiştiricilerinin antibiyotikli etler ve etkileri konusunda personel eğitilmeli ve ekipmanları artırılmalı ve bunun devamlılığı sağlanarak hayvan ve halk sağlığını tehdit eden problemlerin çözümü için katkı sağlayacağı kanaatindeyim.



## KAYNAKLAR

- ADAMS, M.R. ve MOSS, M.O., 1995. Food Microbiology, The Royal Society of Chemistry, pp. 343-349.
- AKÇAM, F. Z., GÖNEN, İ., KAYA, O., ve YAYLI, G., 2004. Hastane İnfeksiyonu Etkeni Enterobakterilerde Beta-laktam Antibiyotiklere Duyarlılık ve ESBL Sıklığının Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak. Dergisi, 11(1):6-9.
- AKKAN, HA., KARACA, M., 2003. Veteriner İç Hastalıklarında Antibiyotiklerin Kullanımı, YYÜ Vet. Fak. Derg., 14 (2),72-77.
- ALKAN, M. ve BAYRAKTAR, R. 1995. Türkiyede Tavuk Hastalıklarının Yayılışı, VI. Hayvancılık ve Beslenme Sempozyumu'95 Tavuk Yetiştiriciliği ve Hastalıkları, SÜ Veteriner Fakültesi Yayınları, Konya. 197-201.
- ALLAN, W.H., LANCASTER, J.E. ve TOTH, B., 1978. Newcastle disease vaccines: their production and use. FAO Animal Production and Health Series No. 10. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- ALP, M. ve KAHRAMAN, R., 1996. Probiyotiklerin Hayvan Beslemede Kullanılması. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 22(1), 1-9.
- ANADON, A. ve MARTINEZ-LARRANGA, M.R., 1999. Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. Livestock Production Science 59, 183-198.
- ANONYMOUS, 1998. Microorganisms in Foods –6- Microbial Ecology of Food Commodities. Roberts, T.A., Pitt, J.I., Farkas, J. and Grau, F.H. (eds.), ICMSF, Blackie Academic & Professional, pp. 75-110.
- \_\_\_\_\_, 2001. <http://www.liberation-mag.org.uk/BGH.htm> "Turning Cows Into Biotech Milk Machines"."Breast Cancer, Rbgh And Milk".(Erişim Tarihi:10 Ağustos 2010).
- \_\_\_\_\_, 2003. Türkiye Hayvancılığı; Hedef 2023 - Sorunlar, Çözüm Yolları ve Politika Arayışları, Adana. (Erişim Tarihi: 10 Ağustos 2010).

- \_\_\_\_\_, 2004. TARIM VE KÖYİŞLERİ BAKANLIĞI II. TARIM ŞURASI, IV. Komisyon: Hayvan, Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Sağlığı, Ankara. (Erişim Tarihi:16 Mayıs 2010).
- \_\_\_\_\_, 2006. Adana İl Tarım Master Planı,1973 Adana İl Yıllığı, Adana.gov.tr. (Erişim Tarihi:21 Haziran 2010).
- \_\_\_\_\_, 2009a. [http://www.sagliklitavuk.org/index.php/cPath/384/products\\_id/15](http://www.sagliklitavuk.org/index.php/cPath/384/products_id/15) (Erişim Tarihi:21 Temmuz 2010).
- \_\_\_\_\_, 2009b. <http://sitayoga.wordpress.com/2009/08/09/food-inc/> (Erişim Tarihi:17 Ağustos 2010)
- \_\_\_\_\_, 2008. <http://www.bahcesel.com/forumsel/bahcesel-ve-tarimsal-haberler/24154-hayvan-yemlerinde-kullan-ilan-antibiyotiklerin-antibiyotik/> (Erişim Tarihi:21 Temmuz 2010).
- \_\_\_\_\_, 2010a. <http://www.gumboro.com.tr/disease/index.html> (Erişim Tarihi:17 Temmuz 2010).
- \_\_\_\_\_, 2010b. <http://www.hayvanbilgisi.com/tavuk-yetistiriciligi/etlik-pilic-245/> (Erişim Tarihi 21 Temmuz 2010).
- ARDA, M., MINBAY, A., LELOĞLU, N., AYDIN, N. ve AKAY, Ö., 1992. Özel Mikrobiyoloji. Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum.
- ARMSTRONG, J. L., SHIGENO, D. S., COLAMIRIS, J. J., ve SEIDLER, R. J., 1981. Antibiotic resistant Bacteria in Drinking-water. Appl. Env. Microbiol., 42: 277–283.
- ARPACIK, R., 1999. Entansif Sığır Besiciliği. 3. Baskı, Şahin Matbaası, Ankara.
- ATABAY, H. I. ve AYDIN, F., 2001. “Susceptibility of *Arcobacter butzleri* isolates to 23 antimicrobial agents”, *Lett. Appl. Microbiol.* 33, 430-433.
- ATLAS, R. M., 2005. Handbook of Media for Environmental Microbiology, Second Edition. CRC Press Publishing Company, New York.10: 0-8493-3560-4.
- AYDIN, G. ve KOÇAK, D. 1999. Bazı Antibiyotiklerin Kanatlı Yemlerinde Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanımlarındaki Sakıncalar ve Avrupa Birliği'nin Bu Konuda Aldığı Kararlar, s.316-320. VIV Poultry Yutav'99 Uluslar arası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı, İstanbul.

- AYNAGÖZ, Z., 1993. Hormon ve benzeri maddelerin Hayvan Beslemede kullanılması, Doktora Semineri. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- AYTUĞ, C.N., 1996. Deli İnek Hastalığı (Bovine Spongiform Encephalopathy, BSD) Hakkında Bilgi Sirküleri. TOPKİM-A.S. Araştırma Grubu Eğitim Yayını, İstanbul.
- BAILEY, J.S., STERN, N.J., FEDERKA-CRAY, P., CRAVEN, S.E., COX, N.A., COSBY, D.E., LADELY, S. ve MUSGROVE, M.T., 2001. Sources and movement of *Salmonella* through integrated poultry operations: A multistate epidemiological investigation, *Journal of Food Protection*, 64(11), 1690-1697.
- BAUER, A.W., KIRBY, W.M.M., SHERRIS, J.C., TURCK, M., 1966. Antibiotic Susceptibility Testing By a Standardized Single Disk Method. *Am J Clin Path* 45: 493-496.
- BECKERS, H.J., 1988. Incidence of Foodborne Diseases in The Netherlands: Annual Summary 1982 and An Overview From 1979 to 1982. *Journal of Food Protection*, 51 (4): 327-334.
- BESD-BİR, 2001. Türkiyede Tavukçuluk Sektörünün Durumu, *Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 3(1), 4.
- BİLGİHAN, H., 2002. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Fakülteler Kitap Evi Barış Yayınları, 777s.
- BİLGİLİ, A., 1994. Kanatlılarda Antibakteriyel İlaç Kullanım Seçenekleri Ve Sakıncaları, *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 41 (2), 243-253.
- BRUNING-FANN, C, KANEENE, J. ve HEAMON, J., 1992. Investigation of an outbreak of velogenic viscerotropic Newcastle disease in pet birds in Michigan, Indiana, Illinois and Texas, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201, 1709-1714.
- CAN, H.Y. ve ÇELİK, T.H., 2008. Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı ve kalıntı riski. *Vet. Hekim Der. Derg.*, 79(4): 35-40.
- CASEWELL, M., FRIIS, C, MARCO, E., MCMULLIN P. ve PHILLIPS, I., 2003. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging

- consequences for human and animal health. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52, 159-161.
- CAUDRY, S.D. ve STANISICH V.A., 1979. Incidence of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Associated with Frozen Chicken Carcasses and Characterization of Conjugative R Plasmids Derived from Such Strains, *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, P. 701-709.
- CHOCT, M., 2003. Effects of Organic Acids, Prebiotics and Enzymes on Control of Necrotic Enteritis and Performance of Broiler Chickens. <http://metz.une.edu.au/?mchoct>.
- COLAMIRIS, J. J., ARMSTRONG, J. L. ve SEIDLER, R. J., 1984. Association of Metal Tolerance with Multiple-Antibiotic Resistance of Bacteria Isolated from Drinking Water, *Apply. Environ. Microbiol.* 47:1238–1242.
- COOPER, A.D., STUBBINGS, G.W.F., KELLY, M., TARBIN, J.A., FARRINGTON, W.H.H. ve SHEARER, G., 1998. Improved method for the on-line metal chelate affinity chromatography – high-performance liquid chromatographic determination of tetracycline antibiotics in animal products. *Journal of Chromatography* 812, 312-326.
- DEMİREL, R. ve GÜRBÜZ, Y., 1999. Karma Yemlerde Enzim Kullanımı, s.498-495, VIV. Poultry Yutav'99 Uluslar arası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı İstanbul).
- DOYLE, M.E., 2006. Veterinary drug residues in processed meats - potential health risk. A review of the scientific literature. [http://www.wisc.edu/fri/briefs/FRIBrief\\_VetDrgRes.pdf](http://www.wisc.edu/fri/briefs/FRIBrief_VetDrgRes.pdf), 04.01.2006.
- DRUSANO, G., 2003. Prevention Of Resistance: A Goal For Dose Selection For Antimicrobial Agents. *Clinical Infect Dis* 36 (Suppl 1), 42-50.
- EHINMIDU, J.O., 2003. Antibiotics Susceptibility Patterns of Urine Bacterial Isolates in Zaria, Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2(2): 223- 228.
- ERGELDİ, S., 2010. Tavuk Etinden Termofilik *Campylobacter* Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği.

- ERGÜN, A., YALÇIN, S. ve SAÇAK, P., 2000. Broyler Rasyonlarında Probiyotik Ve Zinc Bacitracin Kullanımı, Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 47,271 - 280.
- ESENDAL, Ö.M., ARDA, M., ŞAHİN DAKMAN A., AKAY. Ö. ve İzgür, M., 1998. Tavuklardan İzole Edilen Çoklu Dirençli *Salmonella gallinarum* Suşlarında Plazmid Eliminasyonu. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 45: 25 i-258.
- FAO, 1992. Manual Of Food Quality Control. 4. Rev. 1. Microbiological analysis. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome.
- FURUSAWA, N., 2000. HPLC determination of sulfadimethoxine and its hydroxy metabolites following SPE of edible chicken tissues. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies, 23, 1413-1422.
- GIRAFFA, G., 2003. Functionality of *Enterococci* in Dairy Products. International Journal of Food Microbiology. 88, 2-3, 215-222.
- GUERRA, B., JUNKER, E., SCHROETER, A., MALORNY, B., LEHMANN, S., ve HELMUTH, R., 2003. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52, 489–492.
- HALKMAN, A.K. ve H.B. DOĞAN, 2000. Gıda Kaynaklı Hastalık ve Zehirlenme Semptomları. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı. Sayfa 489-494. Ank. Üniv. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını. Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 522 s.
- HARRISON, W.A., GRIFFITH, C.J., TENNANT, D. ve PETERS, A.C., 2001. Incidence of *Campylobacter* and *Salmonella* Isolated From Retail Chicken and Associated Packaging in South Wales. *Journal of Applied Microbiology*, 33, 450 - 454.
- HASMAN, H., MEVIUS D., VELDMAN, K., OLESEN I., ve AARESTRUP, F.M., 2005.  $\beta$ -Lactamases among extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-resistant *Salmonella* from poultry, poultry products and human patients in The Netherlands, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 115–121.

- İNAL, T., 1992. Besin Hijyeni, Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, Final Ofset A.S. 1-30.
- JONES, F.T., AXTELL, R.C., RIVES, D.V., SCHEIDELER, S.E., TARVER, F.R., WALKER, R.L. ve WINELAND, M.J., 1991. A survey of *Salmonella* contamination in modern broyler production. Journal of Food Protection, 54(7), 502-507.
- JORDAN, F.T.W., 1990. Poultry Disease. 3<sup>rd</sup> ed. Bailliere Tindall, London.
- JORGENSEN, J.H., 1997. Laboratory issues in the detection and reporting of antibacterial resistance. Infectious Disease Clinics of North America 1997;11: 785-802.
- KALELİ, D. ve DURLU-ÖZKAYA, F., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s. 17. Bölüm, Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü.
- KANTARCI, G., 2000. Deliren Danalar, Panikleyen İnsanlar ve Gizemli Bir Hastalık-Deli Dana Hastalığı. Çeviri. Medicina Hexagon, Sayı 3, Sayfa 2.
- KARABOZ, I. ve DİNÇER, B., 2002. Microbiological investigation on some of the commercial frozen meat in Izmir. Turkish Electronic Journal of Biotechnology, p18-23.
- KARAPINAR, M. ve GÖNÜL, Ş.A., 1998, Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar. Gıda Mikrobiyolojisi. Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. (edt.), Birinci Baskı, Mengi Tan Basımevi, 140, 112-122, 134-135.
- KAYA, S. ve ŞAHAL, M., 1989. Besinlerimizdeki ilaç kalıntıları, bunlara ilişkin tolerans düzeyleri, ilaç verilmiş hayvanlarda uyulması gereken kesim öncesi bekletme veya sütün kullanılmama süreleri. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 36, 390-403.
- KIRKPINAR, F. ve ERKEK, R., 2000. Yem Katkı Maddeleri Kullanımı, Gelişmeler, Sorunlar. International Animal Nutrition Congress, Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, 4-6 Eylül, Isparta.

- KIM. SH, WEI. CI, TZOU. YM, AN. H., 2005. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from farm environments and retail products in Oklahoma. J Food Prot.; 68(10):2022-9.
- KOZAČINSKI, L., Hadžiosmanović, M. ve Zdolec, N., 2006. Microbiological Quality of Poultry Meat on The Croatian Market. Croatia. Veterinarski Archive. 76 (4), 305-313.
- KNOTHE, P., SHAH, P., KREMERY, V., ANTAL, M. ve MITSUHASHI, S., 1983. Transferable Resistance to Cefotaxime, Cefoxitine, Cefamandole and Ceforoxime in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens* Infections, 11: 315-317.
- KNUDTSON, L. M. ve HARTMAN, P. A., 1993. Antibiotic Resistance Among *Enterococcal* Isolates from Environmental and Clinical Sources. Journal of Food Protection, 56: 489-492.
- KUTLU, H R. ve GÖRGÜLÜ, M., 2001. Kanatlı Yemlerinde Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Antibiyotik-Büyüme Faktörleri İçin Alternatifler. Yem Magazin Dergisi, 27: 45-62.
- KUTLU, H.R., GÜL, A. ve GÖRGÜLÜ, M., 2003. Türkiye Hayvancılığı; Hedef 2023- Sorunlar, Çözüm Yolları Ve Politika Arayışları, Adana.
- KÜÇÜKERSAN, M.K. ve GÜLTEKİN, Y., 2001. Hayvan Besleme Açısından BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy) Yem Magazin, Sayı 27, Nisan, 55-59.
- \_\_\_\_\_, 2002. Büyütme faktörleri. Türk-Koop. Ekin, 20, 31-34.
- LANCASTER, J.E., 1981. Newcastle disease. Pathogenesis and diagnosis. World's Poultry Science Association Journal, 37, 26-33.
- LEVY S.B., FITZGERALD G.B. ve MACONE, A.B., 1976. Spread to antibiotic resistance plasmids from chicken to chicken and from chicken to man. Nature; 260:40-2.
- LUKASOVA, J. ve SUSTACKOVA, A., 2003. *Enterococci* and Antibiotic Resistance. Acta Veterinaria Brno, 72, 315-323.
- MANIATIS, T., FRITSCH, E.F. ve SAMBROOK, J., 1982. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York.

- MEAD, G.C., 2000. Fresh and further-processed poultry. The Microbiological Safety and Quality of Food. Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. (eds), Volume I, An Aspen Publication, pp. 445-471.
- MERCK, E., 1978. Mikrobiologisches Handbuch, Merck KGaA, Darmstadt.
- MESSER, J.W., BEHNEY, H.M. ve LEUDECKE, L.O., 1985. Microbiological Count Methods. In Standard Methods of Examination of Dairy Products, 15<sup>th</sup> edition (Ed. G.H. Richardson), American Public Health Association, Washington D.C., 133-149.
- MOLLA, B., MESFIN, A. ve ALEMAYEHU, D., 2003. Multiple antimicrobial-resistant *Salmonella* serotypes isolated from chicken carcass and giblets in Debre Zeit and Addis Ababa, Ethiopia, Ethiop.J.Health Dev., 17(2),131-149.
- MULLERAT, J., KLAPES, N.A. ve SHELDON, B.W., 1994, Efficacy of Salmide®, a sodium chlorite based oxy-halogen disinfectant, to inactivate bacterial pathogens and extend shelf-life of broyler carcasses, Journal of Food Protection, 57(7), 596-603.
- MURRAY, B.E., 1997. Vancomycin resistant *Enterococci*. American Journal of Medicine 1997.102:284-293.
- MUSSMAN, H.C., 1975. Drug and chemical residues in domestic animals. Fed. Proc., 34, 197-201.
- NOUWS, J.F.M., 1981. Tolerance and detection of antimicrobial residues in slaughtered animals. Arc. Lebensmittelhyg. 32, 103-110.
- ÖNENÇ, A. ve KAYA, A., 2001. Hayvancılıkta Deli İnek (BSE) Sorunu. TAYEK/TUYAP, Tarımsal Araştırma Yayım ve Eğitim Koordinasyonu, 2001 yılı hayvancılık grubu bilgi alışveriş toplantısı bildirileri. 27-29 Mart, Menemen-İzmir.
- ÖNGEN, B., NAZİK, H. ve KAYA, I., 2007. Rutin Dışkı Kültürlerinde Üretilen *Campylobacter* Türleri ve Antibiyotik Duyarlılıkları 5 Yıllık Sonuçları. ANKEM Dergisi, 21 (1): 37-41.

- ÖZŞAHİN, A.D., DIĞRAK, M. ve KIRAN, Ö.E., 2005. *Escherichia coli*'nin Beta-Laktam Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç Kazanmasının Araştırılması. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 8(2).
- PFALLER, M.A., JONES, R.N., DOERN, G.V. ve KUGLER, K.,1998. Bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infection: frequencies of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY antimicrobial surveillance program (United States and Canada, 1997). *Antimicrob Agents Chemother* 42, 1762-70.
- RAJESWAR, J.J., MASILLAMONY, P.R., 1993. Spray vaccine against Newcastle disease, *Indian Vet J, Madras* 70, pp. 402-404.
- REIS, B., 2005. Türkiye Tavukçuluğunun Tarihi, *İnfovet*, 13, 22.
- SARICA, Ş., 1999. Kanatlı Hayvan Beslemede Probiyotik Kullanımı. *Hayvansal Üretim*, 39-40: 105-112.
- SHANE, S., 1999. The Antibiotics Issue. *Poultry International* 38: 46-50.
- SAUNDERS, J.R., 1984. Genetics and Evolution of Antibiotic Resistance, *British Medical Bulletin*, 40: 54-60.
- ŞENER, A. ve TEMİZ, A. 2004. Tavuk Kesimhane ve İşletmelerinde Kullanılan Ticari Dezenfektanlar ve Etkinlikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 2(10), 1-28.
- TUNCER, Ş.D., ŞANLI, Y., KÜÇÜKERSAN, K. ve FİLAZİ, A., 1999. Stabilize Rumen Ekstraktının Broyler Rasyonlarında Kullanılması. S.287-293. VIV. Poultry Yutav'99, Uluslar arası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı, İstanbul.
- TUNCER, H.İ., 2007. Karma Yemlerde Kullanımı Yasaklanan Hormon, Antibiyotik Antikoksidiyal ve İlaçlar. *Lalahan Hay. Arast. Enst. Derg.*, 47(1):29-37.
- UYTTENDAELE, M., DE TROY, P. ve DEBEVERE, J., 1999. Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market, *Journal of Food Protection*, 62(7), 735-740.

- ÜNLÜTÜRK, A. ve TURANTAŞ, F., 1998. Et ve Et Ürünlerinde Mikrobiyolojik Bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar ve Muhafaza Yöntemleri. Gıda Mikrobiyolojisi. Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. (edt.), Birinci baskı, Mengi Tan Basımevi, s. 272-276.
- \_\_\_\_\_, 1998. Et ve Et Ürünlerinde Mikrobiyolojik Bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar ve Muhafaza Yöntemleri. In: Ünlütürk A, Turantaş F. (eds). Gıda Mikrobiyolojisi. 1. Baskı. İzmir: Mengi tan Basımevi, 263-87.
- VAN DEN BOGAARD, A.E. ve STOBBERINGH, E.E., 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. *Int. J Antimic Agent*; 14(4):327-335.
- WHITLOCK, R.H., 1986. Enteritis and Diarrhoea. In Howard, J.L. (Ed.), *Current Veterinary Therapy Food Animal Practice*, W.B. Saunders Company, London. P738-739.
- YNDESTAD, M. ve UNDERDAL, B., 1977. Residues of sulfadimidin / sulfanilamide and sul-methoxypyridazine in sheep tissues. *Acta Vet. Scand.* 18, 15-22.
- YÜKSEK, N., 2000. Eterde Antibiyotik Kalıntılarının Aranması Üzerinde Çalışmalar, *J Fac Vet Med* 20 (2001) 85-90.

## **ÖZGEÇMİŞ**

22/05/1984 yılında Gaziantep'te doğdu. Lise öğrenimini başarı bursu kazanarak Gaziantep Kolej Vakfın'da tamamladı. 2003 yılında Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünde okumaya hak kazandı. 2007 yılında mezun oldu. 2007 yılında Çukurova Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Biyoloji bölümünde yüksek lisans eğitimine başladı. Halen Çukurova Üniversitesinde Yüksek Lisans eğitimine devam etmektedir.