

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAVUKLARDAN İZOLE EDİLEN *SALMONELLA*
ETKENLERİNİN ÇOKLU ANTİBİYOTİK
DİRENÇLİLİĞİ**

Umut TAYAN

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ömer M. ESENDAL**

2008 – ANKARA

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
İçindekiler	III
Önsöz.....	V
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	VI
Şekiller	VIII
Çizelgeler	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. Salmonella'ların Genel Özellikleri	1
1.2. Salmonella ve Halk Sağlığı	3
1.3. Antibiyotik Dirençliliği.....	8
1.3.1. İntrinsik Direnç	9
1.3.2. Kazanılmış Direnç	9
1.3.2.1. Mutasyon.....	10
1.3.2.2. Bakteriler Arasında Genetik Madde Aktarımı	10
1.3.2.2.1. Transformasyon	10
1.3.2.2.2. Transdüksiyon.....	11
1.3.2.2.3. Konjugasyon	11
1.3.2.2.3.1. Konjugatif Transpozonlar.....	12
1.3.2.2.3.2. Plazmidler.....	12
1.4. Bakterilerin Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları.....	14
1.4.1. Gram Negatif Bakterilerde Dış Zara (Membran) Bağlı Direnç ...	14
1.4.2. Antibiyotiklerin Enzimatik Etkinsizleştirilmesi (İnaktivasyon).....	15
1.4.3. Antibiyotiklerin Aktif Dışarı Atılımı.....	16
1.4.4. Antibiyotiklerin Hedef Bölgelerinin Modifikasyonu.....	16
1.5. Salmonella Kökenlerinin Antibiyotik Direnç Durumları.....	16
1.6. Tavuklardan İzole Edilen Salmonellaların Antibiyotiklere Dirençliliği.....	18

2. GEREÇ ve YÖNTEM	19
2.1. Gereç.....	19
2.1.1. Salmonella İzolatları.....	19
2.1.2. Kullanılan Besiyerleri	20
2.1.3. Hızlı Test Kiti	20
2.2. Yöntem.....	21
2.2.1. Test Edilecek <i>Salmonella</i> İzolatlarının Doğrulanması	21
2.2.2. Salmonella Latex Aglütinasyon Test Kiti.....	21
2.2.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	22
2.2.4. Isı ile Plazmid Eliminasyonu	25
3. BULGULAR	26
3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları	26
3.2. <i>Salmonella</i> Latex Test Bulguları	27
3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testi Bulguları	27
4. TARTIŞMA	34
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	40
ÖZET	41
SUMMARY	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	55

ÖNSÖZ

Antibiyotikler, canlıların vücudunda zararlı mikroorganizmaların faaliyetlerini durduran, üremelerini engelleyen ve hücre duvarı veya hücre metabolizması ile etkileşim içine girerek onları öldüren, doğal (mikrobiyal fermentasyon) veya sentetik (kimyasal sentez) yolla elde edilen bileşiklerdir.

Hayvanlarda büyüme hızı ve verim gücü yemden yararlanma düzeyi ile doğru orantılıdır. Bu nedenle yüksek verim elde etmek için hayvan sağlığını korumanın yanında yemden yararlanma yeteneğini de arttırmak için yapılan uygulamalar arasında yem katkı maddelerinin kullanımı da yer alır. Uzun süredir hem büyüme ve yemden yararlanmayı arttırmak hem de subklinik hastalıkları önlemek, bazı hastalıklara karşı koruyucu etki oluşturmak, toksinleri engellemek, alınan besin maddelerinin bağırsaklardan daha fazla emilimini arttırmak ve hayvanın besin maddelerinden daha fazla yararlanmasını sağlamak amacıyla antibiyotikler kullanılmıştır.

Bütün bu amaçlar doğrultusunda; antibiyotiklerin bilinçsiz ve kontrolsüz bir biçimde kullanılması sebebiyle çoğu bakteride antibiyotiklere karşı bir direnç gelişmiştir.

Bu çalışmada izole edilen bazı Salmonella suşlarında antibiyotik dirençliliğinin tespiti ve plazmid- direnç ilişkisi araştırılmıştır.

Tez konumun belirlenmesinde ve yürütülmesinde bana yol gösteren, yardım ve ilgilerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Ömer M. ESENDAL başta olmak üzere Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nejat AYDIN ve öğretim üyeleri; Prof. Dr. Müjgan İZGÜR, Prof. Dr. K. Serdar DİKER, Prof. Dr. Hakan YARDIMCI ve Prof. Dr. Mehmet AKAN'a; ayrıca laboratuvar çalışmalarım süresince deneyim ve yardımlarını esirgemeyen 4 ncü Kor. Gıda Kont. Müf. K.'ı Uzm. Vet. Hekim Alb. Serdar ÇAKIROĞLU başta olmak üzere tüm müfreze personeli ile Dr. Vet. Hekim Tğm. Ahmet KOLUMAN'a ve son olarak eşim Uzm. Vet. Hekim Serap TAYAN'a teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AMC	: Amoxycillin / Clavulanic Acid
AMP	: Ampicillin
B	: Bacitracin
BPLSA	: Bird Parker Lactose Sucrose Agar
CDC	: Centers Disease Control
CN	: Gentamicin
C-N	: Karbon- Azot bağı
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
E	: Erithromycin
ENR	: Enrofloxacin
FR	: Furazolidone
H ₂ S	: Hidrojen Sülfür
IU	: International Unit
K	: Kontrol
LIA	: Lisin Iron Agar
MEM	: Meropenem
MET	: Methicillin
MHA	: Mueller Hinton Agar
mRNA	: Mesajcı Ribo Nükleik Asit
MY	: Linkomycin
NV	: Novobiocin
OT	: Oxytetracycline
P	: Penicillin G
PB	: Polymyxin B
PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
pH	: Asitlik
RL	: Sulphamethoxazole
SXT	: Sulphamethoxazole / Trimethoprim

VII

T	: Test
TE	: Tetracycline
TSB	: Trypticase Soy Broth
TSIA	: Triple Sugar Iron Agar
VA	: Vancomycin
aw	: Su aktivitesi
µg	: Mikrogram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
ppm	: Parts per million
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece

ŞEKİLLER

Şekil 2.1	: Salmonella Latex Test Aşamaları.....	22
Şekil 2.2	: Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik disklerinin etrafındaki zon oluşumu.....	24
Şekil 2.3	: Antibiyotik ajanlara karşı test edilen bakteri izolat grubunun çevresinde oluşan zon çaplarına karşılık etsuyu mikrodilusyon MIC'lerinin dağılım grafiği.....	24
Şekil 3.1	: İzole edilen tüm Salmonella suşlarının 37 °C'de 24 saat inkubasyon sonunda antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik oranları (%).....	32
Şekil 3.2	: İzole edilen tüm Salmonella suşlarının 42,5 °C'de 50 gün inkubasyon sonunda antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik oranları (%).....	33

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1	: Çalışmada kullanılan <i>Salmonella</i> serotiplerin sayısı, temin yeri ve çalışmada kullanılan isimleri.....	19
Çizelge 3.1	: Kirby-Bauer Disk Diffüzyon yöntemi ile farklı inkubasyon ısı ve sürelerinde oluşan zon çapları (mm).....	29
Çizelge 3.2	: İzole edilen tüm <i>Salmonella</i> suşlarının 37 °C'de 24 saat inkubasyon sonunda antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik oranları (%).....	30
Çizelge 3.3	: İzole edilen tüm <i>Salmonella</i> suşlarının 42,5 °C'de 50 gün inkubasyon sonunda antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik oranları (%).....	31

1. GİRİŞ

Salmonellozis, tüm dünyada yaygın olarak görülen, kanatlı hayvanlarda verim düşüklüklerine ve ölümlere neden olan zoonoz bir enfeksiyondur. Enfeksiyon, başta *Salmonella* Pullorum, *S. Gallinarum*, *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* olmak üzere birçok *Salmonella* serotipi tarafından oluşturulmaktadır (Williams, 1984; Anon, 1988; Arda ve ark., 1994)

Yumurta ve kanatlı etlerinin *Salmonella* türleri ile kontamine olması halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır. Alınan kontrol ve eradikasyon yöntemlerine rağmen enfeksiyon birçok ülkede görülmektedir. Kanatlı hayvanlarda *Salmonella* enfeksiyonlarından gerek korunma ve gerekse tedavide antibiyotikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, antibiyotiklerin bilinçsiz ve kontrolsüz kullanılmasıyla bakteriler er ya da geç antibiyotiklere karşı direnç kazanmaktadır. Antibiyotiklere direnç, hem hasta, hem de hekim için bazı sorunları beraberinde getirmektedir. Antibiyotiğe dirençli bir bakteri ile enfekte olan hayvanların tedavi süreleri, duyarlı bir bakteri ile enfekte olanlara göre daha uzun olmaktadır. Dirençli bir bakterinin neden olduğu enfeksiyonlara bağlı ölüm oranı, duyarlı bir bakterinin etken olduğu enfeksiyonlardaki oranın iki katı fazladır. Ayrıca, antibiyotik direnci, hayvanlarda daha toksik, daha geniş spekturumlu ya da daha pahalı olan antibiyotiklerin kullanımına yol açmaktadır (Nair ve ark., 1995; Poppe ve ark., 1995; Arda, 1997; Grob ve ark., 1998; Şanlı, 1998; Barrow, 2000; Antunes ve ark., 2002).

1.1. *Salmonella*'ların Genel Özellikleri

Enterobacteriaceae familyasının genel özelliklerini taşıyan *Salmonella*'lar, Gram negatif, kısa ve küçük çomaklar tarzında olup,

boyutları 0,7-1,5 x 2,0-5,0 mikrometredir. Çoğunlukla boyalı preparatlarda tek tek görülen *Salmonella*'lar, sporsuz ve kapsülsüz olup, *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* hariç hareketlidir. Aerob veya fakültatif anaerob, selektif katı besiyerlerinde 2-3 mm çapında yuvarlak, çoğu kez kabarık, düzgün yüzeyli ve düz kenarlı koloniler şeklinde üreyen mikroorganizmalardır. Bu organizmalar, nitratı nitrite indirgerler, *S. Typhi* dışında glikozdan asit ve gaz oluştururlar, üreaz ve indol negatiftirler. Sitrat bütün *Salmonella* türleri tarafından değerlendirilebilen karbon kaynağıdır. *Salmonella*'lar, *S. Cholerasesis* ve *S. Paratyphi* dışında genelde H₂S oluştururlar ve *S. Typhi* dışında ornitini, *S. Paratyphi A* dışında lizini dekarboksile ederler. Sukroz, salisin, inositol ve *S. Arizonae* dışında laktoz fermantasyonları negatif olan *Salmonella*'ların lipaz ve deoksiribonükleaz enzimleri yoktur (Minor, 1984; Zwadyk, 1988; Guthrie, 1992; İzgür, 2006).

Genelde 20-40 °C'ler arasında üreyebilen *Salmonella*'ların optimum üreme sıcaklıkları 35-37 °C'dir. Bu mikroorganizmalar, 5-47 °C'ler arasında canlı kalabilseler de yüksek sıcaklık derecelerine dirençsizdirler ve 55°C'de 20 dakikada ölürler. Pastörizasyon derecelerinde ve sürelerinde kolaylıkla yıkımlanabilmektedirler. Örneğin 71,7°C'de 15 saniyede tamamıyla canlılıklarını kaybederler (Sirell, 1985; Zwadyk, 1988; D'Aoust, 1989).

Salmonella'larda gelişmeyi etkileyen diğer önemli faktörlerden birisi de ortamın pH değeridir. *Salmonella*'lar için optimum pH değeri 6,5-7,5 arasında değişmekle birlikte pH değerlerinin 4,5 ila 9,0 olduğunda da canlı kalabildikleri ve pH 4'e dirençli oldukları bildirilmektedir (Baumgart, 1986; D'Aoust, 1989; Baird-Parker, 1990).

Salmonella'lar su aktivite değeri (a_w) 0,94-0,99 arasında olan gıdalarda üreyebilmektedirler. *Salmonella*'ların, % 8'lik tuzlu suda üremelerinin engellendiği, fakat canlılıklarını sürdürdükleri

bildirilmektedir, bu nedenle de sahil yakınlarındaki deniz sularından izole edilebilmektedir (Erol, 2007). Ortamda protein bulunması halinde kuru ortama oldukça direnç gösteren *Salmonella*'ların kurutulmuş ve toz haline getirilmiş gıdalarda 13 yıl canlı kalabildiği belirtilmektedir (Sirell, 1985; D'Aoust, 1989; Doyle ve Cliver, 1991; Gareis, 1995).

Doğrudan temas ile dezenfektanlar *Salmonella*'lara çabuk etki gösterirler. *Salmonella*'ların klorlanmış sularda canlılıklarını yitirdikleri, % 0,6 sodyum hipoklorit solusyonunda ise 30 dakikada % 50 oranında azaldıkları bildirilmektedir (D'Aoust, 1989; Park ve ark., 1991).

1.2. *Salmonella* ve Halk Sağlığı

Kanatlı etlerinin tüketiminin artmasıyla tüm dünyada kanatlı kaynaklı zoonoz hastalıklarda bir artış görülmektedir (Akan, 2002). Buna bağlı olarak *Salmonella*'lar ile kontamine olmuş kanatlı etleri ile bunlardan hazırlanmış çeşitli ürünler (sucuk, salam, sosis vs.), az pişmiş ya da pişmemiş yumurtalar ve bu yumurtaları içeren ürünler halk sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır (Barrow, 1991; Bilgehan, 1992; Arda ve ark. 1994; İzgür, 2002). *Salmonella*'ların diğer hayvanlar ve hayvansal kaynaklı gıdalara göre kanatlı hayvan ve ürünlerinden daha fazla oranda izole edildiği bildirilmektedir (Gast, 1997).

Yüz yıldan fazla bir süreden beri *Salmonella*'ların biliniyor olmalarına karşın, özellikle son 20 yılda dünyanın hemen her bölgesinde değişik *Salmonella* serotiplerinden kaynaklanan gıda infeksiyonlarının sayısındaki yoğun artış sebebiyle *Salmonella*'lar giderek artan bir önem kazanmıştır (Erol, 2007).

Dünyada günümüze kadar 2200'ün üzerinde *Salmonella* serotipi izole edilmiş olup her geçen gün bunlara yenileri eklenmektedir (Anon, 1988). Tavukçuluk endüstrisinde ekonomik kayıplara neden olan en

önemli *Salmonella* serotipleri *S. Pullorum*, *S. Gallinarum*, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'dur. Gelişmiş ülkelerde *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* infeksiyonlarının eradikasyonu ile beraber diğer serotiplerin izolasyon oranı artmıştır (Williams, 1984; Barrow, 1995). Türkiye'de tavuklardan *S. Pullorum*, *S. Gallinarum*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Bredeney*, *S. Logos*, *S. Braenderup*, *S. Thompson*, *S. Infantis*, *S. Kottbus* ve *S. Newington* serotipleri izole edilmiştir (Çarlı, 1990; Mutluer ve ark., 1992; Uğur, 1992; Bekar ve ark., 1993; Gökçen ve Erganiş, 1996). Bunların arasında *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* gibi *Salmonella* serotipleri insanlarda gıda zehirlenmelerine neden olmaları bakımından önem taşımaktadır. Son yıllarda tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de insanlarda *S. Enteritidis* infeksiyonlarının arttığı bildirilmiştir (Rodrigue ve ark., 1990; Bekar ve ark., 1993; Anç-Küçük ve ark., 1995). İnsanlara infeksiyonun bulaşmasında *Salmonella* ile kontamine tavuk et ve yumurtaları önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle de kanatlı hayvanlardaki *Salmonella* infeksiyonları halk sağlığı açısından da potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır (Anon., 1988; Rodrigue ve ark., 1990).

Günümüzde *Salmonella*'lardan kaynaklanan gıda infeksiyonları Amerika Birleşik Devletleri, Almanya, Fransa, İngiltere, Galler, İspanya, Hollanda, Polonya ve İsveç'te tüm gıda infeksiyon ve intoksikasyonları içerisinde ya ilk sırada bulunmakta ya da *Campylobacter*'den sonra ikinci sırayı almaktadır (Erol, 2007). ABD gibi toplum sağlığı ve hijyen konularında çok gelişmiş bir ülkede dahi değişik *Salmonella* serotiplerinden kaynaklanan yıllık tahmini 800.000 salmonellozis vakasının görülmesi sorunun büyüklüğünü kanıtlamaktadır (Bilgehan, 1986).

Son 30 yılda CDC'ye rapor edilen *Salmonella* infeksiyonlarının sayısı her yıl gitgide artmakta ve son yıllarda yaklaşık 40.000 vaka

gerçekleşmektedir. Bu sayı, ABD’de bir yılda hastalananlarının sayısının sadece % 1-5’ini temsil etmektedir (Chalker ve Blase, 1988).

Diğer taraftan salmonellozis vakalarında ortaya çıkan tedavi masrafları ve iş gücü kaybı da önemli ekonomik zararlara neden olmaktadır. ABD’de *Salmonella*’lardan kaynaklanan gıda infeksiyonlarına bağlı tedavi, işgücü, gıda kaybı ve kontrol masraflarına ilişkin ekonomik kayıpların yıllık yaklaşık 3,4 milyar dolar, Kanada’da ise 1 milyar dolar olduğu bildirilmektedir. Almanya’da da yalnızca 1991 yılı için salmonellozisin 1,5 milyar marklık bir kayba neden olduğu bildirilmektedir (Erol, 2007).

Ülkemizde *Salmonella*’lar tarafından meydana getirilen infeksiyonlar diğer salgın hastalıklar yanında önemli bir yer tutmakta ve önemli bir halk sağlığı sorunu olarak güncelliğini korumaktadır. Türkiye’nin birçok bölgesinde *Salmonella* infeksiyonları endemik hatta hiperendemik olarak seyretmektedir (Bilgehan, 1986).

Tavuk yetiştiriciliğinde hastalıklardan korunma ve hastalıkların kontrolü ancak iki temel önlemle sağlanabilmektedir. Bunlardan birinci temel önlem uygun ve temiz barınaklarda, iyi bakım ve dengeli beslenme ile hayvanların sağlıklı yetiştirmelerini sağlamak ve sağlıklı durumun devamı için gerekli önlemleri aksatmamak, ikincisi ise işletmeyi tehdit eden ve sürülere çevreden bulaşma olasılığı olan viral, bakteriyel, mikotik veya paraziter hastalıklara karşı aşı uygulamaları veya ilaçlarla koruyucu önlemler almaktır (Arda ve ark., 1970; Başkaya ve Minbay, 1979; Hinshow, 1975).

İnsanların salmonellozis veya diğer bakteriyel infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan çok sayıdaki antibiyotik, veteriner alanında da kullanılır. Bu durum; hayvansal gıdalardan, kontamine olmuş gıda ve gıda ürünlerini tüketen insanlara bulaşan zoonoz bakterilerin,

Salmonella ve diğ er dirençli türlerin sebep olduğu bir halk sağlığı riski yaratabilir (Gay ve ark., 1994; Wegner ve ark.,1999).

Tavuklarda, diğ er hayvansal gıdalarda ve insanlarda antibiyotiğ e dirençli *Salmonella* türlerinin ortaya çıkmasının ve yaygınlaşmasının nedeni; yoğun hayvan barınaklarında, yemlere ilaç katılımı ile insan ve hayvan hastalıklarında antibiyotiklerin yüksek dozlarda ve gelişg zel kullanılması olabilir (D'Aoust ve ark., 1992; Poppe ve ark., 1995; Van Duijkeren ve Houwers, 2000).

Dünya çapında, sağlık sektörünü tehdit eden en önemli sebeplerden biri de hem halk sağlığında hem de veteriner sektöründe yukarıda bahsedilen büyüme ve koruma amaçlı antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılması sebebiyle *Salmonella* dirençliliğinin artmasıdır.

Başta kümes hayvanları olmak üzere hayvan yetiştiriciliğinde profilaktik ve gelişmeyi arttırıcı amaçlı olarak antibiyotiklerin yaygın şekilde yeme katılması ve bilinçsizce kullanılması sonucu, özellikle *S. Typhimurium* DT 104 olmak üzere gıda kaynaklı bazı *Salmonella* serotiplerine karşı başta ampicilin, kloramfenikol, trimetoprim-sülfametaksazol ve siprofloksasine karşı çoklu direnç gelişmiştir (Erol, 2007). Bu durum önemli halk sağlığı sorunu oluşturduğundan İngiltere ve ABD'de kanatlı hayvan yemlerine klortetrasiklin, penisilin ve oksitetrasiklin gibi antibiyotiklerin 100 ppm.'den fazla katılmaması kararlaştırılmıştır. Bu ülkelerde antibiyotikler iki gruba ayrılmakta, yeme katılacak antibiyotiklerin hiçbir sağaltım gücü olmaması ve sağaltımda kullanılacak ilaçların etkisini değiştirmemesi gerekmektedir. Sağaltımda etkili olan ilaçlar ise yalnız sağaltım için kullanılmaktadır (McKay, 1973). AB ise 1999 yılından itibaren antibiyotiklerin kanatlı hayvan yemlerine katılmasına ilişkin geniş kapsamlı bir yasaklama getirmiş, Türkiye'de bu uygulamayı kabul etmiştir (Erol, 2007).

Antibiyotiğe dirençli *Salmonella* ve diğer zoonotik bakteriyel patojenler; kontamine yemlere ve yem katkı maddelerine maruz kalan hayvanlardan insanlara da bulaşabilir. Bulaşan *Salmonella* etkenlerinin insan, memeli hayvan ve kanatlılarda hastalık yapma özelliklerinin yanı sıra; bu etkenlere, bulundukları bağırsak kanalındaki diğer bakterilerden temas suretiyle antibiyotiklere karşı direnç özelliğinin geçmesi de son yıllarda hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı yönünden önemli bir bulgu olarak dikkatleri çekmektedir (Smith, 1974).

İnsan sağlığı için önemli olan tavuklarda çoklu antibiyotik dirençli *Salmonella* varlığı; insan, hayvansal gıdalar ve diğer yemek ürünlerinde moleküler ve epidemiyolojik çalışmaları zorunlu kılmıştır. (Bayleyegn ve ark., 2003).

Salmonella türlerindeki dirençlilik, antibiyotiklerin hem veteriner hekimlik hem de halk sağlığı alanındaki yaygın kullanımı nedeniyle küresel bir problem haline gelmiş, hayvansal gıda üretiminde antibiyotik ajanların kullanımıyla bağlantılı olarak, salmonellozise yakalanan insanlardan, artan oranlarda tek veya çoklu antibiyotik dirençli *Salmonella* türlerinin izole edilmesine sebep olmuştur (Tauxe, 1991; D'Aoust ve ark., 1992; Glynn ve ark., 1998; Wegner ve ark., 1999; Van Duijkeren ve Houwers, 2000).

Son zamanlarda, *Salmonella* enfeksiyonu teşhis edilen ticari işletmelerde mevcut ve etkinliği bilinen ilaçlarla sonuçlar alınamadığı bildirilmektedir. Bunun nedenleri birkaç yönlü olabilir. Japonya'da 1959 yılında yapılan araştırmalar, bağırsak kanalında yer alan kimi bakterilerdeki ilaçlara karşı direnç özelliğinin, ilaçlara duyarlı *Salmonella* etkenlerine geçtikleri ve böylece kazanılan direnç ile *Salmonella* etkenlerine karşı belli ilaçların etkisiz kaldıklarını ortaya koymuştur (Minbay, 1975). Bu olasılık da göz önünde tutularak yapılması gereken uygulama, laboratuvar muayeneleri ile etkenlerin

izole edilmeleri ve antibiyogram testleri ile en etkin ilaçların saptanmasıdır. Diğer taraftan ilaçla sağaltımda göz önünde tutulması gereken diğer bir husus da kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde gereğinden fazla yerli yersiz antibiyotik kullanılmasıdır (McKay, 1973). Tavuklar dahil diğer kasaplık hayvanlara içme suları veya yemleri yoluyla verilen bu antibiyotikler; tedavi için, koruyucu olarak ve büyümeye destek amacıyla kullanılır. Dirençli türlerin hızla çoğalmasının neden olduğu riskin artması, insan sağlığı için ciddi sonuçlar doğurabilir (Van Duijkeren ve Houwers, 2000).

Veteriner hekimlikte, antibiyotiklere dirençli *Salmonella* ve diğer patojen bakterilerin dağılımı ve şiddeti üzerine yapılan çalışmalar çoğunlukla şu nedenleri göstermiştir.

1. Gelişen yönetim sistemleri ve denetimin tam olarak uygulanamaması,
2. Gıda üretiminde antibiyotiklerin serbestçe kullanımı ve ilaçlara dirençli patojenlerin varlığı,
3. Tüketici sağlığına yönelik tehditlerin artması,
4. Uluslararası gıda ve gıda ürünleri ticaretinin artması (D'Aoust, 1994; Poppe ve ark., 1995).

Tavuklarda çoklu dirençli *Salmonella* etkenlerine geçmeden önce dirençlilik, antibiyotik dirençliliği ve aktarımı ile direnç mekanizmaları konusunda kısa bir bilgi vermek faydalı olacaktır.

1.3. Antibiyotik Dirençliliği

Bakterilerde antibiyotik direnci klinik olarak, rutin kullanım dozlarında etkili olduğu bilinen bir antibiyotik ile o bakterinin etken olduğu infeksiyon hastalığının tedavi edilememesi şeklinde ifade edilebilir

(Akalin, 1994). Tıpta antibiyotiklerin geniş çapta kullanılmaya başlamasından sonra ortaya çıktığı düşünülen antibiyotik direnç genlerinin nereden geldiği konusunda günümüzde değişik öngörüler bulunmaktadır. Bir görüşe göre direnç genleri, ilk önce antibiyotik üreten bakteri türlerinde bir korunma mekanizması olarak gelişmiştir. Bu türlerde direnç genleri antibiyotik üretim genleri ile aynı kümede bulunur. Bir diğer olasılık da antibiyotik direnç genlerinin mikroorganizmada bulunan normal genlerden gelişmiş olabilmesidir ancak bakterilerde spontan mutasyona bağlı antibiyotik direnci gelişme olasılığı çok düşüktür (10^{-5} – 10^{-10}) (Salyers ve Whitt, 1994). Laboratuvar veya moleküler düzeyde ise antibiyotik direnci intrinsik ve kazanılmış direnç olarak iki kısımda tanımlanabilir (Baron, 1991).

1.3.1. İntrinsik Direnç

Hemen hemen bütün Gram negatif bakteriler vankomisine; enterokoklar da sefalosporine dirençlidir. Bunun nedeni mikroorganizmaların doğal yapısı nedeniyle, bu bakterilerde antibiyotiklerin etkili olabilecek hedeflerinin olmamasıdır.

1.3.2. Kazanılmış Direnç

Ya kromozom, transpozon veya plazmid DNA'sındaki mutasyonlarla, ya da direnç geni taşıyan DNA dizilerinin başka bakterilerden transformasyon, transdüksiyon veya konjugasyon yoluyla alınması sonucu ortaya çıkan dirençtir.

1.3.2.1. Mutasyon

DNA'daki gen yapısını oluşturan nükleotid çiftlerinin sıralanmasında ya da yapısında oluşan ve bu nedenle kodlanan proteinin yapısını ve dolayısı ile fonksiyonunu değiştiren nitelikteki değişikliklere mutasyon adı verilir (Tünger ve ark., 2002). Mutasyonlar sonucunda çeşitli ilaç, dezenfektan, antibiyotik, kemoterapötik, inhibitörler, ultraviyole ışınları, fajlar, v.s. etkenlere karşı dirençlilik gösteren mutantlar oluşabilir (Arda, 2000).

1.3.2.2. Bakteriler Arasında Genetik Madde Aktarımı

Bakterilerde genetik materyalin tümü olmasa da, belli bir bölümü bir bakteriden başka bir bakteriye çeşitli yollarla aktarılabilir ve bu aktarmalar sonucu bakterilerde önemli genetik çeşitlilikler ortaya çıkar. Bakteriler arasında genetik madde aktarımında üç temel mekanizma rol oynar (Baron, 1991).

1.3.2.2.1. Transformasyon

Ortamda herhangi bir aracı (başka bir bakteri ya da bakteriyofaj) bulunmaksızın verici bakteri tarafından ortama bırakılmış olan serbest DNA parçasının alıcı bakteri tarafından alınarak kendi genetik elemanları ile rekombine edilmesidir (Tünger ve ark., 2002). Başka bir deyişle; bir mikroorganizma, kendisine DNA kompozisyonu yönünden çok yakın olan, diğer bir mikroorganizmaya ait genetik materyal (DNA segmentleri) içeren bir ortamda üretilirse; belli bir süre sonra, bu sıvı ortamdan katı besiyerine ekimler yapılırsa bazı kolonilerin değişik morfolojide olduğu ve bunların genetik materyali veren ölü mikroorganizmanın orijinal kolonilerine benzediği görülür.

Transformasyonla, verici bakterilere bazı özel karakterler aktarılabilmektedir. Bunlar arasında laktoz ve galaktoz pozitif genler, antibakteriyal maddelere karşı dirençlilik, virülens, v.s. sayılabilir. Bu faktörler alıcının DNA'sı ile birleştikten sonra, transkripte olarak mRNA'ya aktarılır ve buradan da transle edilerek, hücrede yeni karakterlerin ortaya çıkmasına neden olur. Enterobakteriler arasında transformasyon pek başarılı olmamakla beraber, son yıllarda yüksek kalsiyum iyonları konsantrasyonlarında *Escherichia coli*'de de transformasyon saptanmış olduğu bildirilmektedir (Arda, 2000).

1.3.2.2.2. Transdüksiyon

Genetik materyalin verici bir bakteriden alıcı bir bakteriye fajlar aracılığıyla nakledilmesine transdüksiyon adı verilir. Transdüksiyon suretiyle gen aktarılma olayına Gram negatif (*Salmonella*, *E. coli*, *Shigella*, *Proteus*, *Vibrio*, *P. aeruginosa*, v.s.) ve Gram pozitif (stafilokok ve basiller) mikroorganizmalarda rastlanılmıştır (Arda, 2000).

1.3.2.2.3. Konjugasyon

Konjugasyon, verici hücrenin alıcı hücre ile fiziksel ilişkisi sonucu genetik madde aktarımının gerçekleştiği bir gen aktarım yöntemidir (Provence ve Curtiss, 1994; Salyers ve Whitt, 1994). İki hücre arasında konjugasyonun gerçekleşebilmesi için, hücrelerin birbirleriyle temas etmesi gerekir. Temas genellikle hücre içinde bulunan seks faktörlerindeki özel genler tarafından sentezlenen seks pilus'ları ile olur. Bunlar, diğer normal piluslardan (fimbria) daha uzun ve kalındır. Ortaları boş olduğundan bir boru veya geçiş köprüsü görevi yaparlar. Genetik materyal buradan geçerek alıcıya aktarılır. Normal pilusların gen aktarmasında rolleri yoktur (Arda, 2000).

Konjugasyonda bir diğ er yol ise direkt temastır. Bu yolda iki bakterinin membranları birleşerek birleşme noktasında bir por oluşturur ve bu por aracılığı ile DNA aktarımı gerçekleşir. Konjugasyonda alıcı kitlesi çok geniş olup farklı türler ve cinsler arasında gerçekleşebilir (Salyers ve Whitt, 1994).

Konjugatif transpozonlar ve plazmidler olarak bilinen kromozomal elementlerden oluşan iki tip konjugatif yapı bulunmaktadır.

1.3.2.2.3.1. Konjugatif Transpozonlar

Konjugatif transpozonlar, bir bakterinin kromozomundan plazmidine veya plazmidinden kromozomuna veya başka bakterinin kromozom ya da plazmidlerine yer değiştirebilen genetik elemanlardır. Plazmid ve bakteriyofajlara benzer özellikler gösterirler. Plazmidlerden farkı, kendi kendilerine replike olamamalarıdır (Tünger ve ark., 2002). Bu yapılar Gram pozitif bakteriler ile *Bacteroides* türlerinde bulunur ve değişik bakteri grupları arasında antibiyotik direnç genlerinin yayılmasına neden olur. Konjugatif transpozonlar, bakteriyel DNA'dan ayrılıp kovalent olarak bağlanarak çembersel bir ara form oluştururlar. Bu ara form aynı hücrede bir başka bölgeye ya da başka bir hücreye aktarılıp alıcı hücrenin genom veya plazmidlerine bağlanabilir (Provence ve Curtiss, 1994; Salyers ve ark., 1995).

1.3.2.2.3.2. Plazmidler

Bakterileri antimikrobiyel maddelere karşı dirençli hale getiren genler, bakterilerin kromozomları üzerinde bulunabileceği gibi, plazmid adı verilen küçük DNA segmentleri üzerinde de taşınırlar (O'Brien ve ark., 1993). Plazmid terimi ilk olarak Lederberg tarafından tüm

ekstrakromozomal kalıtsal elemanların tanımlanması amacıyla kullanılmıştır. Bu gün bu terim kromozomdan bağımsız olarak replike olan ekstrakromozomal DNA ile sınırlanmıştır (Crosa ve ark., 1994). Plazmidler kovalent bağlar ile bağlanmış çembersel, çift iplikli ekstrakromozomal DNA molekülleri olup doğal ortam ve koşullarda bakterinin canlılığı için gerekli olmayan çeşitli etkinlikleri kodlayan yapılardır (Threlfall ve Frost, 1990; Provence ve Curtiss, 1994; Salyers ve Whitt, 1994).

Bakterilerde en sık görülen antibiyotik direnci plazmid kaynaklıdır. R (direnç) plazmidleri üzerinde bakterilerin antibiyotik direncini kontrol eden genler bulunur ve bu plazmidler başka bakterilere de aktararak direncin yayılmasına neden olur (Tünger ve ark., 2002). Direnç genlerinin plazmidler üzerinde bulunması ve bunların aktarılabilme yeteneğinde olmaları, direnç genlerinin bakteri popülasyonları arasında yayılmasında plazmidlerin temel vektör olduklarını göstermiştir (O'Brien ve ark.,1993). *Enterobacteriaceae* familyasındaki bakterilerde bulunan plazmidler; ilaç direnci, hemolizin, enterotoksin ve kolisin üretimi, ağır metallerle tolerans, ultraviyole ışınlar karşı direnç, karbonhidrat fermentasyonu ve H₂S üretimi gibi çeşitli genetik özelliklerin aktarımı ile ilişkilidir (Anderson ve Threlfall, 1974).

Plazmidler çoklu ilaç genlerini 2 yoldan kazanırlar.

1. Ard arda transpozon insersiyonu yolu ile çoklu ilaç direnci gösteren plazmidler oluşturmak (Bu yol birçok plazmid tarafından kullanılmaz).

2. İntegron adı verilen ve transpozonlar gibi DNA'ya sokulabilen linear DNA segmentlerinin alımı ile çoklu ilaç direnç genlerinin kazanılması.

İntegronlar transpozonlardan farklı olarak yalnız bir tek noktaya integre olur ve transpozaz kodlamaz. İntegraz enzimleri, integre oldukları plazmidler tarafından kodlanır. Birçok integron, promotörü olmayan antibiyotik direnç genleri taşır ve plazmidlere, yöne özgül bir biçimde integre olur. Bir plazmid üzerinde birçok direnç geni arka arkaya yer alabilir (Salyers ve Whitt, 1994).

1.4. Bakterilerin Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları

Yukarıdaki yollardan herhangi biri ile kodlanan; bakterilerin üremelerini baskılayan veya onları öldüren düşük molekül ağırlıklı bileşikler olan antibiyotiklere karşı bakterilerde çeşitli direnç mekanizmaları gelişmiştir (Trias ve Nikado,1990; Oppezzo ve ark., 1991; Kamili, 1993; Dalhoff, 1994; Garau, 1994; Rydberg ve ark., 1994; Salyers ve Whitt, 1994; Dib ve ark., 1995; Nordmann, 1996).

1.4.1. Gram Negatif Bakterilerde Dış Zara (Membran) Bağlı Direnç

Beta laktam antibiyotiklerin hedef bölgeleri sitoplazmik zarın dış yüzeyinde, diğer birçok antibiyotiğin hedefleri ise hücre içerisinde yer alır. Bu nedenle Gram negatif bakterilerde tüm antibiyotikler hedef bölgelerine ulaşabilmek için dış membran bariyerini geçmek zorundadır. Dış zardan geçiş porlar aracılığıyla olmaktadır. Antibiyotiklerin porlardan diffüze olma gerekleri tüm Gram negatif bakterilere minör bir direnç vermekte (5-10 kat) ve porlarda oluşabilecek mutasyonlar bu direnç oranını arttırabilmektedir. Dış zar porlarından bir kısmı özgül, bir kısmı ise özgül olmayan porlardır. Özgül olmayan porlarda mutasyonlar birden fazla antibiyotik tipine direnç sağlayabilir (Trias ve Nikado,1990; Oppezzo ve ark., 1991; Salyers ve Whitt, 1994; Dib ve ark., 1995;).

1.4.2. Antibiyotiklerin Enzimatik Etkinsizleştirilmesi (İnaktivasyon)

Özellikle Gram negatif bakterilerde beta laktam antibiyotiklere karşı önemli bir direnç mekanizması beta laktamazlardır (Kamili, 1993; Salyers ve Whitt, 1994; Nordmann, 1996). Bazı mikroorganizmalarda (*Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., v.s.) bulunan R-plazmidlerinin kodladığı beta laktamaz (penisilinaz) enzimi; penisilin, sefalosporin, ampisilin, kloksasilin v.s. gibi antibiyotiklerin yapısında bulunan beta laktam halkasındaki C-N bağıını hidrolize ederek antibiyotikleri inaktif eder (Arda, 2000). Beta laktamazlar Gram negatif bakterilerde periplazmik aralığa; Gram pozitif bakterilerde ise ekstrasellüler ortama salgılanır. Dış zar porları antibiyotik geçişini kısıtladığından ve beta laktamazlar periplazmik aralığa salındığından Gram negatif bakterilerde direnç Gram pozitif bakterilere göre daha düşük bir enzim düzeyi ile elde edilebilir.

Aminoglikozitlere karşı direncin en önemli mekanizması antibiyotiğin enzimatik inaktivasyonudur. Aminoglikozid modifiye edici enzimler, antibiyotiği fosforil, adenil veya asetril grupları gibi bir grup eklenmesi ile inaktif eder. Bu enzimler Gram negatif bakterilerde sitoplazmik zarın dış tarafında yer alır. Bu nedenle modifiye olmuş antibiyotiklerin hem sitoplazmik zarıdan geçişlerinde hem de protein sentezini inhibe etme güçlerinde bir azalma meydana gelir. Son zamanlarda tetrasiklini aerob koşullarda inaktif eden bir enzim saptanmışsa da bu enzimin klinik açıdan ve tetrasiklinin total direncinde pek önemli bir rolü olmadığı anlaşılmıştır (Salyers ve Whitt, 1994).

1.4.3. Antibiyotiklerin Aktif Dışarı Atılımı

Dışarı atılım tipi direnç, ilk olarak tetrasiklinde gözlenmiştir. Tetrasiklinin enerjiye bağlı olarak bakteri dışına atılımını bir sitoplazmik membran proteini katalize eder. Bu proteini kodlayan genler hem Gram negatif (tet A – tet G) hem de Gram pozitif bakterilerde (tet K – tet L) bulunur. *Staphylococcus* türlerinde makrolid antibiyotikler için bu tip direnç varlığı saptanmıştır. Flurokinolonlar için de düşük etkinlikte olan bir diğer atılım sistemi bulunmuştur (Salyers ve Whitt, 1994).

1.4.4. Antibiyotiklerin Hedef Bölgelerinin Modifikasyonu

Beta laktam antibiyotiklere karşı dirençte rol alan bir diğer direnç mekanizması, antibiyotiğin hedef bölgesi olan penisilin bağlayan proteinlerin (PBP) özgül bağlanma bölgelerinin değiştirilmesidir. Bu tip direnç genelde Gram pozitif bakteriler arasında yaygındır. Metisilin direncini veren “mec” geni bu tip direnç genleri arasında en iyi tanımlanan gendir. Ayrıca glikopeptid, tetrasiklin, makrolid, linkosamid, kinolon, rifampisin, trimetoprim ve sülfanamidlere karşı da bu tip direnç saptanmıştır (Dalhoff, 1994; Rydberg ve ark., 1994; Salyers ve Whitt, 1994).

1.5. *Salmonella* Kökenlerinin Antibiyotik Direnç Durumları

Salmonella'larda kemoterapotiklere karşı direnç oldukça geç zamanlarda ortaya çıkmıştır. *Salmonella*'larda 1960 yılına kadar kloramfenikol, tetrasiklinler, kanamisin, ampisilin, streptomisin ve sulfanomitlere karşı bir direnç görülmezken, 1960'lardan bugüne kadar başta tetrasiklinler olmak üzere, ampisilin, streptomisin ve

sulfonamitlere karşı gittikçe artan bir direnç gelişmiştir (Gyles ve Thoen, 1986; Arda ve ark., 1992; Bilgehan, 1992). Ancak yine de kemoterapotikler arasında, *Salmonella* türlerine en etkili olanları; kloramfenikol, tetrasiklinler, ampisillin ve gentamisinidir (Bilgehan, 1992).

S. Typhi kökenleri 1970'li yıllara dek başta kloramfenikol olmak üzere tüm antibiyotiklere karşı duyarlı idi. Kloramfenikol dirençli *S. Typhi* kökenleri tarafından 1972 yılında oluşturulan geniş çaplı bir epidemiden sonra bu dirençli kökenler daha çok Hindistan, Meksika, Tayland ve Vietnam olmak üzere bir çok ülkede bulunmuştur (Sanders, 1989; Threlfall ve Frost, 1990; Le Minor, 1992; Kapil ve ark., 1994; Rathish ve ark., 1994).

S. Typhimurium için ilk trimetoprim direnci 1973'te görülmüş ve ardından insan kaynaklı kökenlerin % 7'sinde bildirilmiştir. *S. Typhi* kökenlerinde 1980 yılına dek trimetoprim direnci saptanmamıştır (Elwell ve Fling, 1989). Geçen 20 yıl içinde antibiyotik direnci ve çoklu ilaç direnci *Salmonella* türlerinde büyük ölçüde artmıştır (Threlfall ve Frost, 1990; Ling ve ark., 1991; Le Minor, 1992; Rao ve ark., 1992; Lee ve ark., 1993; Wu ve Tang, 1993). Güney Amerika, Ortadoğu ve Güney Asya ülkelerinin birçoğundan tifoidal olmayan *Salmonella*'larda direnç olguları bildirilmiştir (Sanders, 1989; Ling ve ark., 1991; Maiorini ve ark., 1993; Wattal ve ark., 1994). Agresif çoklu ilaç direnci gösteren *Salmonella* kökenleri bir çok ülkede büyük bir sorun olmaktadır (Gericke ve ark., 1988; Cisse ve ark., 1993; Maiorini ve ark., 1993; Philippon ve ark., 1994; Secmeer ve ark., 1995; Rathore ve ark., 1996). *Salmonella* kökenlerinde antibiyotik direnci yaygın olarak plazmidlerin kontrolü altındadır (Filetici ve ark., 1988; Threlfall ve Frost, 1990; Karmaker ve ark., 1991; Ling ve ark., 1991; Ben Hassen ve ark., 1994). Plazmidler, insan veya veteriner hekimliğinde ve besi hayvanlarının yemlerinde yaygın olarak kullanılan antibiyotik

baskısının bir sonucu olarak kazanılmıştır. Direnç plazmidleri direnç genlerini sırasıyla, aynı kökendeki diğer plazmidler ya da kromozomdan veya konak organizmanın barındırdığı diğer bakteri kökenlerinin taşıdığı plazmidlerden kazanır. Direnç ayrıca seçici antibiyotik baskısına karşı verilen bir yanıt olarak kromozomal bir genin spontan mutasyonu sonucunda da gelişebilir (Threlfall ve Frost, 1990; Le Minor, 1992; Threlfall ve ark., 1993; Dib ve ark., 1995).

1.6. Tavuklardan İzole Edilen *Salmonella*'ların Antibiyotik Dirençliliği

Antibiyotikler, kanatlı hayvanların *Salmonella*'lardan ileri gelen tavuk tifosu, pullorum ve paratifo infeksiyonlarında koruyucu amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun sonucu olarak klinik veya gizli infekte hayvanların bağırsak ve diğer dokularında bulunan *Salmonella* türlerinde antibiyotiklere karşı direnç gelişmektedir (Aksakal, 2003). Antibiyotiklere karşı oluşan bu direncin başlıca nedeni olarak antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımı ve yemlere koruyucu amaçla fazla miktarda katılmaları gösterilmektedir (Pope ve ark., 1995; Şanlı, 1998; Barrow, 2000; Chang, 2000).

Salmonella'ların antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını belirlemek amacıyla yapılmış birçok araştırma bulunmaktadır (Boynukara ve Aydın, 1990; Anđ-Küçüker ve ark., 1995; Orhan ve Güler, 1993; Pope ve ark., 1993; Arda ve ark., 1994; Nair ve ark., 1995; İzgür, 1997; Barrow, 2000). Bu çalışmada, elde edilen *Salmonella* izolatlarının doğrulanması ile antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması ve plazmide bağlı direnç faktörünün araştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. GEREÇ

2.1.1. *Salmonella* İzolatları

Bu çalışmada kanatlı hayvanların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen *S. Enteritidis*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, ve *S. Typhimurium* serotipleri ile insan kaynaklı *S. Typhi* serotipi kullanıldı. Serotipler, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı ve Refik Saydam İl Hıfzıssıhha Enstitüsü'ne ait kültür koleksiyonlarından temin edildi (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1: Çalışmada kullanılan *Salmonella* serotiplerinin sayısı, temin yeri ve çalışmada kullanılan isimleri.

Temin edilen kurum	Serotip	Sayı	Çalışma ismi
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonu	<i>S. Enteritidis</i>	1	SE
	<i>S. Typhimurium</i>	3	ST1, ST2, ST II
	<i>S. Gallinarum</i>	4	SG0, SG1, SG2, SG3
Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü Kültür Koleksiyonu	<i>S. Typhi</i> *	1	RSKK
	<i>S. Pullorum</i>	1	SP
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonu	<i>S. Typhimurium</i>	1	ATCC

* İnsan kaynaklıdır. Çalışmaya antibiyotik dirençliliğinin sadece kanatlı kaynaklı *Salmonella*'larda değil, insan kaynaklı *Salmonella*'larda da olabileceğini belirleyebilmek amacıyla konulmuştur.

2.1.2. Kullanılan Besi yerleri

Bu çalışmada kullanılacak *Salmonella* izolatlarının doğrulanması ve saflıklarının kontrolü için, Tryptone Soy Broth (Oxoid, CM0129), koloni morfolojisini görmek ve Gram boyama yapmak amacıyla BPLS Agar (Oxoid, CM0263), biyokimyasal testler için Triple Sugar Iron Agar (TSI Agar, Oxoid, CM0277), Lysine Iron Agar (LIA, Oxoid, CM0381), serolojik test için polivalan *Salmonella* antiserumu (Denka Seiken, 087011) ve antibiyotik duyarlılıklarını saptamak amacıyla da, Mueller-Hinton Agar (Oxoid, CM0337) kullanıldı.

Çalışmada kullanılan besiyerleri, 4'ncü Kolordu A tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı'na ait Mikrobiyoloji Laboratuvarında prospektuslarına uygun olarak hazırlandı.

2.1.3. Hızlı Test Kiti

Antibiyotik dirençliliği yönünden test edilecek *Salmonella* izolatlarının, doğrulanması ve saflıklarının kontrolü hem katı besi yerlerinde hem de hızlı *Salmonella* Latex Aglütinasyon Test (Oxoid, FT0203A) kiti kullanılarak yapıldı.

Çalışmada kullanılan tüm besiyerleri ile *Salmonella* Latex Aglütinasyon Test kiti 4'ncü Kolordu A tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı tarafından sağlandı.

2.2. YÖNTEM

2.2.1. Test Edilecek *Salmonella* İzolatlarının Doğrulanması

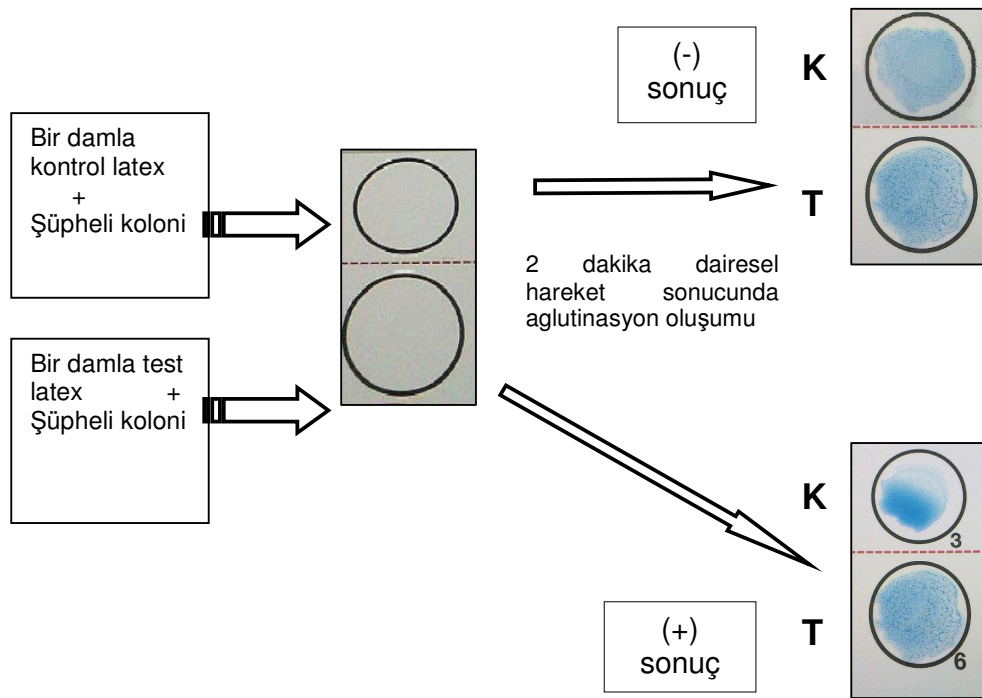
Antibiyotik dirençliliği yönünden test edilecek, değişik kaynaklardan temin edilen izolatların doğruluğunu tespit etmek amacıyla, her bir serotipten önce TSB'a inokulasyon yapılarak, aerobik şartlarda 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı.

İnkubasyon sonrası TSB'ta üreyen izolatların buyyon kültürlerinden 1-2 öze dolusu BPLS agara ekim yapılarak, aerobik şartlarda 37°C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda, besi yerinde üreyen pembe renkte ve şeffaf *Salmonella* şüpheli kolonilerden, biyokimyasal testler için yatık olarak hazırlanmış TSIA ve LIA'a öze ile ekim yapıldı ve aerobik koşullarda 37°C'de 24 saat süreyle inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrası tüplerdeki renk değişiklikleri değerlendirildi ve biyokimyasal reaksiyonları pozitif veya şüpheli olan izolatlardan bir öze dolusu alınarak, lamda polivalan *Salmonella* antiserumu ile serolojik test yapıldı. Aynı zamanda izolatların morfolojik yönden muayenesi için, serolojik testi pozitif olan izolatlardan bir öze dolusu alınarak Gram boyama yapıldı. Gram boyamada izolatlar pembe renkte ve çomak morfolojisinde görüldü (Baumgart, 1986).

2.2.2. *Salmonella* Latex Aglütinasyon Test Kiti

Test edilecek *Salmonella* izolatlarının katı besi yerlerinde doğrulanması ve saflık kontrollerini takiben, aynı izolatlar *Salmonella* Latex Aglütinasyon Test kitiyle de teyit edildi. Bu amaçla test kiti içinde bulunan 1 adet Test Latex ve 1 adet Kontrol Latex oda sıcaklığına getirilerek kuvvetlice çalkalandı.

Reaksiyon kartındaki gözlerden birine bir damla kontrol süspansiyonu, diğerine ise yine bir damla test süspansiyonu kondu. Üzerlerine steril bir öze yardımıyla BPLS Agar'da saf olarak üretilen kolonilerden konularak, 2 dakika boyunca yuvarlak uçlu öze yardımıyla karıştırıldı. Süre sonunda kontrol süspansiyonu damlatılan gözde aglütinasyon olmaması; buna karşılık test süspansiyonu damlatılan gözde aglütinasyon gözlenmesi *Salmonella* spp. pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: *Salmonella* Latex Test aşamaları

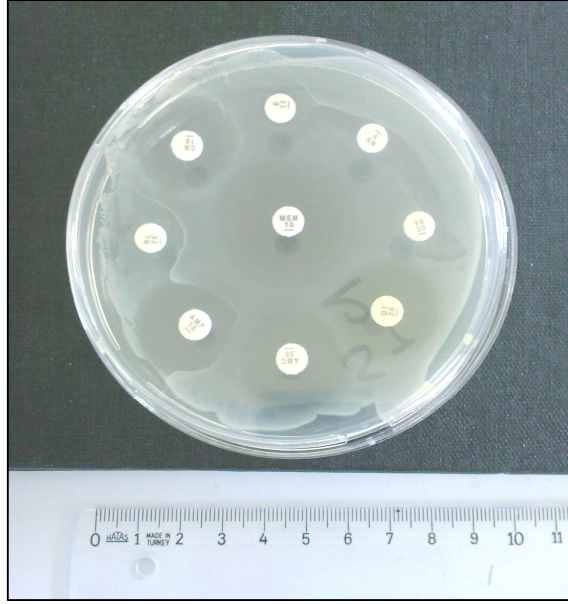
2.2.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Çizelge 2.1'de sunulan kurumlardan temin edilen ve yukarıda yapılan testler neticesinde saflıkları kesinleştirilen 4'ü *S. Gallinarum*, 4'ü *S. Typhimurium*, 1'i *S. Pullorum*, 1'i *S. Enteritidis* ve 1'i de *S. Typhi* olmak üzere toplam 11 *Salmonella* suşunun antibiyotik duyarlılık testleri

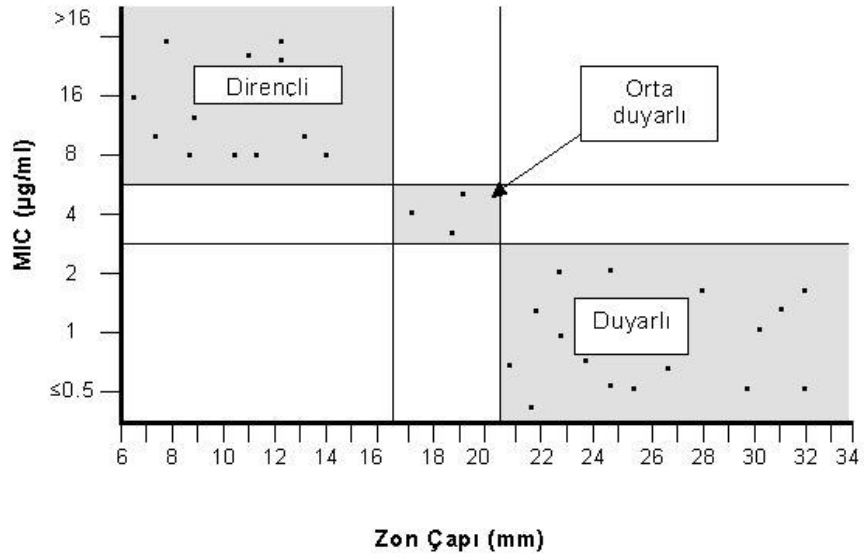
Kirby-Bauer disk Diffüzyon yöntemine göre yapıldı (Uğur, 1992; Mehr, 1997; Yılmaz, 2001; Aksakal, 2003).

Prospektüsüne uygun olarak hazırlanan Mueller-Hinton besiyeri 10 cm çapındaki petrilere 4 mm kalınlığında olacak şekilde döküldükten sonra donmaya bırakıldı. Test edilecek her bir *Salmonella* suşunun TSB' ta üreyen kültüründen steril bir pipet yardımıyla 0,1 ml alınarak, hazırlanan Mueller-Hinton besiyerine kondu ve steril bir drigalski çubuğu yardımıyla, petrilere homojen bir şekilde yayılması sağlandı. Antibiyotik disklerini yerleştirmeden önce, besiyerleri ekim hattının kuruması için birkaç dakika bekletildi. Daha sonra bir dispenser yardımıyla Polimiksin B (300 IU) (Oxoid, CT 044 B), Basitrasin (10 IU) (Oxoid, CT 005 B), Enrofloksasin (5 µg) (Oxoid, CT 639 B), Penisilin G (10 IU) (Oxoid, CT 043 B), Furazolidon (50 µg) (Oxoid, CT 022 B), Metisilin (5 µg) (Oxoid, CT 029 B), Amoksisilin/Klavulanik asit (30 µg) (Oxoid, CT 223 B), Ampisilin (10 µg) (Oxoid, CT 003 B), Sülfametoksazol (25 µg) (Oxoid, CT 051 B), Tetrasiklin (10 µg) (Oxoid, CT 053 B), Sülfametoksazol/Trimetoprim (25 µg) (Oxoid, CT 052 B), Linkomisin (10 µg) (Oxoid, CT 123 B), Eritromisin (15 µg) (Oxoid, CT 020 B), Meropenem (10 µg) (Oxoid, CT 774 B), Novobiosin (5 µg) (Oxoid, CT 037 B), Gentamisin (10 µg) (Oxoid, CT 024 B), Oksitetrasiklin (30 µg) (Oxoid, CT 041 B) ve Vankomisin (30 µg) (Oxoid, CT 058 B) diskleri her bir petriye 9 adet ve aralarında da en az 2-3 cm olacak şekilde eşit olarak dağıtıldı.

Besiyerleri 37 °C'de 24 saat inkube edildikten sonra disklerin etrafında oluşan zonların çapları bir kumpas yardımıyla ölçüldü (Şekil 2.2). Ölçülen değerler bütün antibiyotikleri kapsayacak şekilde düzenlenen ve test edilen bakteri izolat grubunun antibiyotik diskinin çevresinde oluşturduğu zon çaplarına karşılık etsuyu mikrodilasyon MIC'lerinin dağılım grafiğine göre değerlendirildi (Şekil 2.3) (Tenover ve Rasheed, 2003).



Şekil 2.2: Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik disklerinin etrafındaki zon oluşumu.



Şekil 2.3: Antibiyotik ajanlara karşı test edilen bakteri izolat grubunun çevresinde oluşan zon çaplarına karşılık etsuyu mikrodilüsyon MIC'lerinin dağılım grafiği.

2.2.4. Isı ile Plazmid Eliminasyonu

Plazmid eliminasyonunda kimyasal ve fiziksel yöntemleri karşılaştıran çeşitli araştırmacılar, kimyasal maddelerle kıyaslandığında yüksek ısıda inkubasyon yönteminin plazmid eliminasyonunda çok daha geçerli ve kullanışlı olduğunu bildirmişlerdir (Poppe ve Gyles, 1988; Anjanappa ve ark., 1993).

Bu sebeple, çoklu direnç geni – plazmid ilişkisini araştırmak amacıyla Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi tekrar edildi ancak bu sefer petriler 37 °C'de, 24 saat değil; doğal olarak antibiyotik dirençliliğini kodlayan plazmidlerin elimine edilebilmesi amacıyla 42,5 °C'de 50 gün süreyle inkube edildi. 50 günlük inkubasyon süresince suşların hergün TSB'a pasajları yapıldı. Son pasajlama Mueller-Hinton Agar'a yapıldı ve antibiyotik diskleri yerleştirilerek 37 °C'de, 24 saat inkube edildi. Inkubasyon sonunda oluşan zonlar kumpas yardımıyla ölçülerek kaydedildi (Çizelge 3.3) (Esendal ve ark., 1998).

3. BULGULAR

3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

Çizelge 2.1’de verilen kaynaklardan alınan örnekler laboratuvarda ilk önce TSB’a ekilerek suşların aktivasyonu yapıldı. Kültürlerin 37°C’de 24 saat inkubasyonundan sonra alınan suşların tüplerde homojen bir bulanıklık oluşturduğu görüldü.

Daha sonra bulanıklık yaparak üreyen kolonilerden, 1-2 öze dolusu alınarak BPLS Agar’a ekildi ve yine 37°C’de 24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonucunda besiyerinin renginin kırmızıya döndüğü ve pembe renkte, oval, şeffaf kolonilerin oluştuğu görüldü. Üreyen bu kolonilerden yapılan Gram boyama neticesinde ise pembe renkli çomak şekilli *Salmonella*’lar görüldü.

BPLS agarda üreyen pembe renkte, oval ve şeffaf kolonilerden iğne uçlu öze yardımıyla izolat alınıp, ayrı ayrı TSIA’a ve LIA’a ekilerek, 37°C’de 24 saat inkube edildi. İnkubasyon sonunda TSIA tüplerinin dip kısmından başlayan ve ekim hattını takip ederek orta kısmına kadar devam eden siyahlık H₂S varlığı olarak değerlendirildi.

Yatık yüzeydeki ve ara hattaki kırmızı renk, laktoz ve sakkarozdan asit oluşturulamadığını; dip kısımda oluşan sarı renk ise glikozdan asit oluşumunun bir göstergesi olarak değerlendirildi. *S. Enteritidis* hariç diğer suşların ekildiği tüplerin tabanında oluşan boşluk ise suşların glikozu kullanarak gaz üretmesi olarak değerlendirildi. Bütün türlerde LIA’da oluşan mor renk ise lizin dekarboksilasyonunun pozitif olduğunu gösterdi. *S. Enteritidis*’in ekildiği tüpün dip kısmındaki boşluk ise lizin dekarboksilasyonunda kadaverinle (diamin) birlikte son ürün olan karbondioksit varlığı olarak değerlendirildi. Bunu takiben,

biyokimyasal testleri pozitif veya şüpheli olan izolatlardan bir öze dolusu alınarak, lamda polivalan *Salmonella* antiserumu ile serolojik test yapıldı. Test sonucu 1-2 dakika içerisinde aglütinasyonun oluşması pozitif olarak değerlendirildi.

3.2. *Salmonella* Lateks Test Bulguları

Antijen-antikor reaksiyonuna dayanan bu test neticesinde, incelenen tüm suşlarda “kontrol” gözlerinde aglütinasyon oluşmaması, buna karşın “test” gözlerinde aglütinasyon meydana gelmesi, test edilen suşların tamamının *Salmonella* olduğunu gösterdi.

3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testi Bulguları

Besiyerine ekim ve antibiyotik disklerinin yerleştirilmesinden sonra suşlar 37 °C’de 24 saat inkubasyona bırakıldı. Inkubasyon sonunda bazı suşlar, duyarlı olduğu antibiyotik diskinin çevresinde üreyemediği için bu alanda bir zon oluştu. Oluşan bu zonların çapları bir kumpas yardımıyla ölçülerek kaydedildi. Bazı suşlar ise dirençli olduğu antibiyotik disklerinin çevresinde üreyebildiği için benzer bir zon oluşumu gözlenmedi (Çizelge 3.1).

Zon çaplarının değerlendirilmesi neticesinde ise, ekimi yapılan tüm suşlarda linkomisin (10 µg), novobiosin (5 µg), vankomisin (30 µg), sülfametoksazol (25 µg), basitrasin (10 IU), metisilin (5 µg), ve eritromisin (15 µg) antibiyotiklerine karşı direnç görüldü. Bu antibiyotik disklerinin çevresinde hiçbir zon oluşmadı. Kültürlerin 42,5 °C’de 50 gün süreyle inkubasyonu sonucunda bile oluşan bu direnç kırılmadı. Bu sonuç, test edilen *Salmonella* suşlarında bu antibiyotiklere direncin plazmidlerle kodlanmadığı şeklinde yorumlandı.

Buna göre, her bir *Salmonella* suşunun, oluşan zon çaplarına göre antibiyotik duyarlılık durumları belirlendi. Kùltürlerin 42,5 °C'de 50 gün süreyle inkubasyonundan sonra zon çaplarında oluşan genişlemeler, *Salmonella* suşunun, antibiyotiğe karşı daha duyarlı hale gelmesi olarak değeriendirildi. İnkübasyon süresinin uzatılması durumunda ise dirençli veya orta duyarlı suşların tamamıyla duyarlı hale gelebileceği; duyarlı suşların ise duyarlılıklarının daha da artabileceği düşünöldü.

Bu sonuç, zon çapları genişleyen suşlardaki antibiyotik dirençliliğinin plazmidler vasıtası ile nakledildiği olarak değeriendirildi (Çizelge 3.2 ve 3.3).

Çizelge 3.1: Kirby-Bauer Disk Difüzyon yöntemi ile farklı inkubasyon ısı ve sürelerinde oluşan zon çapları (mm)

NO	KAYNAK	İNKUBASYON ISISI VE DERECEİ	MY	NV	MEM	VA	PB	TE	CN	RL	B	AMC	AMP	OT	MET	E	SXT	FR	P	ENR
1.	SG0	37 °C - 24 Saat	0	0	25	0	12	22	21	0	0	21	22	20	0	0	24	16	16	22
		42.5°C - 50 Gün	0	0	28	0	12	22	23	0	0	24	22	20	0	0	24	21	16	26
2.	SG1	37 °C - 24 Saat	0	0	21	0	12	21	21	0	0	23	20	20	0	0	23	18	14	24
		42.5°C - 50 Gün	0	0	27	0	12	22	26	0	0	24	20	23	0	0	23	19	16	27
3.	SG2	37 °C - 24 Saat	0	0	28	0	12	22	23	0	0	23	22	20	0	0	24	18	15	26
		42.5°C - 50 Gün	0	0	29	0	12	22	23	0	0	23	22	20	0	0	24	22	16	29
4.	SG3	37 °C - 24 Saat	0	0	26	0	12	22	21	0	0	24	19	18	0	0	22	18	16	24
		42.5°C - 50 Gün	0	0	28	0	12	22	24	0	0	24	22	22	0	0	25	19	16	26
5.	SP	37 °C - 24 Saat	0	0	30	0	12	22	21	0	0	23	24	21	0	0	24	16	16	22
		42.5°C - 50 Gün	0	0	31	0	13	23	23	0	0	24	24	21	0	0	26	22	21	24
6.	SE	37 °C - 24 Saat	0	0	24	0	14	22	18	0	0	25	25	24	0	0	25	19	14	18
		42.5°C - 50 Gün	0	0	30	0	14	22	18	0	0	25	25	24	0	0	26	19	16	19
7.	RSKK	37 °C - 24 Saat	0	0	26	0	12	23	20	0	0	20	24	20	0	0	24	19	16	22
		42.5°C - 50 Gün	0	0	28	0	13	23	21	0	0	26	25	21	0	0	26	20	16	23
8.	ATCC	37 °C - 24 Saat	0	0	23	0	12	20	21	0	0	24	22	21	0	0	22	19	12	16
		42.5°C - 50 Gün	0	0	27	0	12	21	21	0	0	24	22	21	0	0	27	20	17	25
9.	ST1	37 °C - 24 Saat	0	0	27	0	14	23	18	0	0	24	24	20	0	0	26	20	14	18
		42.5°C - 50 Gün	0	0	27	0	14	23	18	0	0	24	24	20	0	0	26	20	16	18
10.	ST2	37 °C - 24 Saat	0	0	26	0	11	20	19	0	0	21	21	19	0	0	22	15	13	24
		42.5°C - 50 Gün	0	0	27	0	11	20	19	0	0	21	21	19	0	0	22	15	13	24
11.	ST II	37 °C - 24 Saat	0	0	26	0	10	20	21	0	0	22	21	19	0	0	22	18	14	22
		42.5°C - 50 Gün	0	0	26	0	10	20	21	0	0	22	21	19	0	0	22	19	15	26



Yüksek ısı ve uzun süreli inkubasyon sonunda zon çapı genişleyerek daha duyarlı hale gelen suşlar.

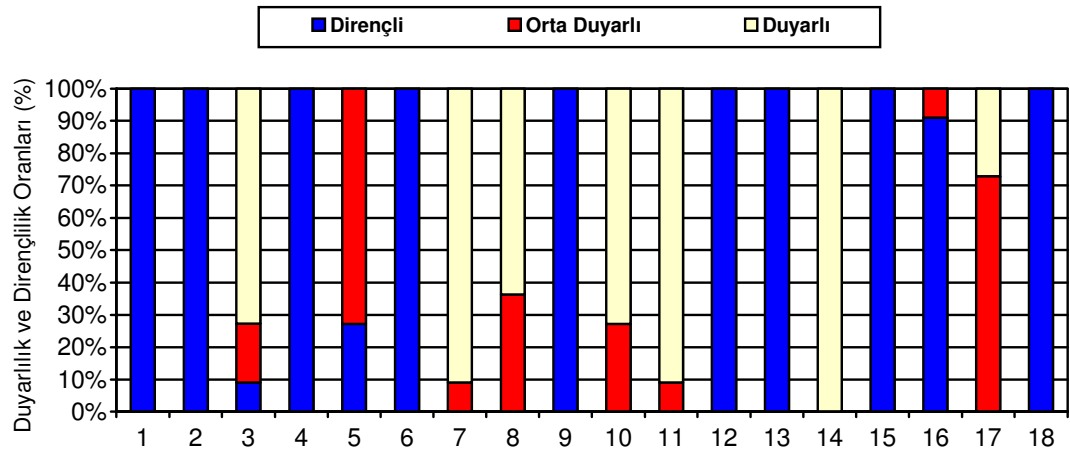
Çizelge 3.2: İzole edilen tüm *Salmonella* suşlarının 37 °C'de 24 saat inkubasyon sonunda antibiyotik duyarlılık / dirençlilik test sonuçları

Antibiyotik	Dirençli suş		Orta Duyarlı Suş		Duyarlı Suş	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Polimiksin B	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Basitrasin	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Enrofloksasin	1	9,09	2	18,19	8	72,72
Penisilin G	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Furazolidon	3	27,28	8	72,72	0	0,00
Metisilin	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Amoksisilin / Klavulanik asit	0	0,00	1	9,09	10	90,91
Ampisilin	0	0,00	4	36,37	7	63,63
Sülfametoksazol	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Tetrasiklin	0	0,00	3	27,28	8	72,72
Sülfametoksazol / Trimetoprim	0	0,00	1	9,09	10	90,91
Linkomisin	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Eritromisin	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Meropenem	0	0,00	0	0,00	11	100,00
Novobiosin	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Gentamisin	10	90,91	1	9,09	0	0,00
Oksitetrasiklin	0	0,00	8	72,72	3	27,28
Vankomisin	11	100,00	0	0,00	0	0,00

Çizelge 3.3: İzole edilen tüm *Salmonella* suşlarının 42,5 °C'de 50 gün süreyle inkubasyonu sonunda antibiyotik duyarlılık/dirençlilik test sonuçları

Antibiyotik	Dirençli suş		Orta Duyarlı Suş		Duyarlı Suş	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Polimiksin B	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Basitrasin	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Enrofloksasin	0	0,00	2	18,19	9	81,81
Penisilin G	9	81,81	1	9,09	1	9,09
Furazolidon	1	9,09	7	63,63	3	27,28
Metisilin	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Amoksisilin / Klavulanik asit	0	0,00	0	0,00	11	100,00
Ampisilin	0	0,00	3	27,28	8	72,72
Sülfametoksazol	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Tetrasiklin	0	0,00	1	9,09	10	90,91
Sülfametoksazol / Trimetoprim	0	0,00	1	9,09	10	90,91
Linkomisin	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Eritromisin	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Meropenem	0	0,00	0	0,00	11	100,00
Novobiosin	11	100,00	0	0,00	0	0,00
Gentamisin	6	54,55	5	45,45	0	0,00
Oksitetrasiklin	0	0,00	5	45,45	6	54,55
Vankomisin	11	100,00	0	0,00	0	0,00

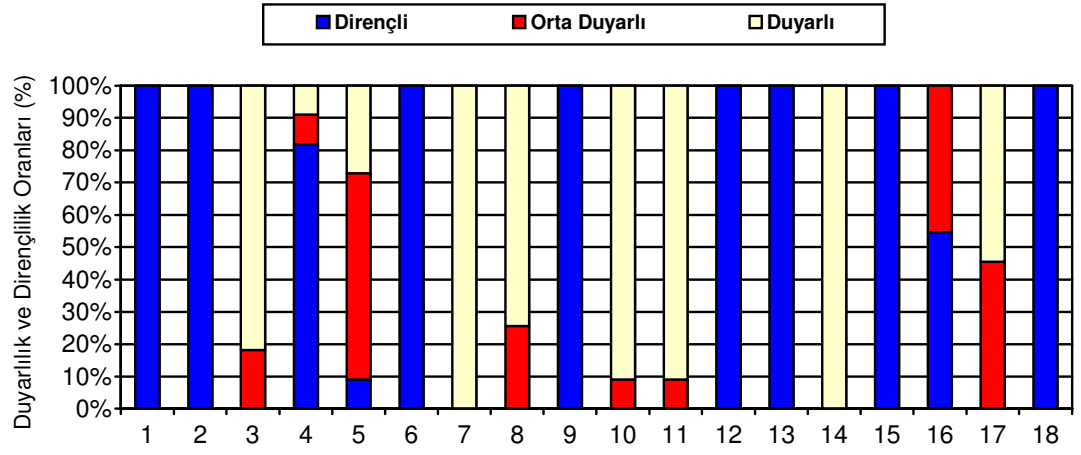
Salmonella suşlarının, antibiyotikler çevresinde oluşturduğu zon çaplarını ölçmek amacıyla 198 adet disk 37 °C'de 24 saat, 198 adet diskte 42,5 °C'de 50 gün inkube edilmek üzere toplam 396 disk ekildi. 37 °C'de 24 saat inkubasyondan sonra oluşan zonlardan 60 tanesi 42,5 °C'de 50 gün inkubasyon sonunda büyüyerek antibiyotiğe daha duyarlı hale geldi (% 30,30). 77 tanesi antibiyotiklere direnç göstererek her iki inkubasyon ısısında ve süresinde hiç zon oluşturmadı (% 38,88). Kalan 61 zon alanı ise değişmeden kaldı (30,82). İkinci inkubasyondan sonra daralan zon çapına rastlanmadı (Şekil 3.1 ve 3.2).



Şekil 3.1: İzole edilen tüm *Salmonella* suşlarının 37 °C'de 24 saat inkubasyon sonunda antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik oranları (%)

Not:

- | | | |
|------------------|---------------------------------|---------------------|
| 1. Polimiksin B | 7. Amoksisilin/Klavulanik asit | 13. Eritromisin |
| 2. Basitrasin | 8. Ampisilin | 14. Meropenem |
| 3. Enrofloksasin | 9. Sulfametoksazol | 15. Novobiosin |
| 4. Penisilin G | 10. Tetrasiklin | 16. Gentamisin |
| 5. Furazolidon | 11. Sülfametoksazol/Trimetoprim | 17. Oksitetrasiklin |
| 6. Metisilin | 12. Linkomisin | 18. Vankomisin |



Şekil 3.2: İzole edilen tüm *Salmonella* suşlarının 42,5 °C'de 50 gün inkubasyon sonunda antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik oranları (%)

Not:

- | | | |
|------------------|---------------------------------|---------------------|
| 1. Polimiksin B | 7. Amoksisilin/Klavulanik asit | 13. Eritromisin |
| 2. Basitrasin | 8. Ampisilin | 14. Meropenem |
| 3. Enrofloksasin | 9. Sulfametoksazol | 15. Novobiosin |
| 4. Penisilin G | 10. Tetrasiklin | 16. Gentamisin |
| 5. Furazolidon | 11. Sülfametoksazol/Trimetoprim | 17. Oksitetrasiklin |
| 6. Metisilin | 12. Linkomisin | 18. Vankomisin |

4. TARTIŞMA

Boynukara ve Aydın (1990), tavuklardan izole ve identifiye ettikleri 33 *Salmonella* suşunun çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını incelemişler ve suşların gentamisine % 100, kolistin-sülfata % 94,9, neomisine % 78,7, ampisiline % 42,4, tetrasikline % 39,3 ve streptomisine % 30,3 oranında duyarlı; penisilin G ve eritromisine % 100 oranında dirençli olduklarını tespit etmişlerdir.

Antunes ve ark. (2002), tavuk ve hindi karkaslarından izole ettikleri *Salmonella* suşlarının nalidiksik asit ve enrofloksasine % 50 (18/36), streptomisine % 39 (14/36) ve tetrasikline % 36 (13/36) dirençli; amoksisilin ve gentamisine ise tüm izolatların duyarlı oldukları saptamışlardır.

Sojka ve ark. (1986), İngiltere ve Galler'de kanatlılardan izole ettikleri tüm *Salmonella* suşlarını ampisilin ve amoksisiline % 10, neomisine % 9,6 ve gentamisine % 0,2 oranında dirençli, izole edilen *S. Typhimurium* suşlarının ise ampisilin, streptomisin, neomisin ve trimetoprim + sulfametaksazole duyarlı bulduklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ise, 37 °C'de 24 saat inkubasyon neticesinde oluşan zon çaplarının değerlendirilmesi sonucunda antibiyotik duyarlılık testi yapılan *Salmonella* suşlarının, polimiksin B, basitrasin, penisilin G, metisilin, sülfametoksazol, linkomisin, eritromisin, novobiosin ve vankomisin'e % 100, gentamisin'e % 90.91, furazolidon'a % 27.28 ve enrofloksasin'e % 9.09 oranında dirençli; oksitetrasiklin ve furazolidon'a % 72.72, ampisilin'e % 36.37, tetrasiklin'e % 27.28, enrofloksasin'e % 18.19, amoksisilin/klavulanik asit, gentamisin ve sülfametoksazol/trimetoprim'e % 9.09 oranında orta duyarlı; meropenem'e % 100, amoksisilin/klavulanik asit ve sülfametoksazol/trimetoprim'e % 90.91, tetrasiklin ve enrofloksasin'e

% 72.72, ampisilin'e % 63.63 ve oksitetrasiklin'e % 27.28 oranında duyarlı olduğu tespit edildi.

Bu çalışmada elde edilen duyarlılık oranları, Boynukara ve Aydın (1990)'ın çalışmalarıyla aynı bulunmasına rağmen; Antunes ve ark. (2002) ile Sojka ve ark. (1986)'nın yaptığı çalışmalara göre daha yüksek bulunmuştur.

Çarlı (1990), yaptığı araştırmada, tavuklardan izole ettiği *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum* suşlarının en çok duyarlı olduğu antibiyotiklerin sırasıyla % 66 ve % 85,7 oranlarıyla kloramfenikol olduğunu, en dirençli oldukları antibiyotiğin ise yine sırasıyla % 54 ve % 85,7 oranlarıyla ampisilin olduğunu bildirmiştir. *S. Typhimurium* suşlarının kloramfenikol (% 71,4) ve neomisine (% 71,4) duyarlı; nitrofurantoin (% 85,7) ve gentamisine (% 71,4) ise dirençli olduklarını saptamıştır.

Tavukçuoğlu (1993), tavuk bağırsak içeriklerinden izole ettiği *S. Gallinarum* suşlarının gentamisine % 86,3, neomisine % 77,2, nitrofurantoin % 68,1, streptomisine % 31,8, oksitetrasikline % 27,2 ve ampisiline % 22,7 oranlarında duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Anğ-Küçüker ve ark. (1995), yaptıkları bir çalışmada, 100 adet tavuk eti örneğinden izole ettikleri 23 *S. Enteritidis* suşunun 17 (% 73,91)'sinin penisilin ve nitrofurantoin dirençli olduğunu; suşların tümünün ise tetrasiklin, gentamisin, amikasin, ampisilin, sefoperazon, sefoperazon + sulbaktam, sefalotin, norfloksasin ve imipeneme duyarlı olduklarını saptamışlardır.

Özdemir (1996), kanatlı hayvanlardan izole ettiği *S. Gallinarum* suşlarının gentamisine % 75, nitrofurantoin % 68,75, neomisine % 43,75, amoksisiline % 50 ve ampisiline % 25 duyarlı; eritromisine ise

% 100 oranında dirençli olduğunu; *S. Enteritidis* suşlarının, amoksisilin ve florokinolonlara % 100, neomisine % 88,8, nitrofurantoine % 77,7, gentamisin ve ampisiline % 22,2 duyarlı, eritromisine ise % 100 dirençli olduğunu, *S. Typhimurium* suşlarının ise florokinolonlar ve neomisine % 100, gentamisine % 50 duyarlı, eritromisine ise % 100 oranında dirençli olduğunu tespit etmiştir.

Kalender ve Muz (1999), tavuklardan izole ettikleri *S. Enteritidis* suşlarının; enrofloksasine % 100, gentamisin ve neomisine % 74,36, streptomisine % 71,79, trimetoprim + sulfametaksasole % 53,85, nitrofurantoine % 30,77, oksitetrasikline % 23,80, tetrasikline % 12,82 ve ampisiline % 2,57 duyarlı, eritromisine % 97,43 ve penisiline ise % 100 dirençli olduklarını, *S. Gallinarum* suşlarının; enrofloksasine % 100, gentamisin ve neomisine % 71,43, streptomisine % 57,14, trimetoprim + sulfametaksasole % 57,14, nitrofurantoine % 64,79, oksitetrasikline % 57,14, tetrasiline % 57,14 ve ampisiline % 64,29 duyarlı, eritromisine % 64,29 ve penisiline ise % 100 dirençli olduklarını, *S. Typhimurium* suşlarının ise enrofloksasine % 100, gentamisin ve neomisine % 75, streptomisine % 75, trimetoprim + sulfametaksasole % 50, nitrofurantoine % 75, oksitetrasikline % 25, tetrasikline % 25 ve ampisiline % 50 duyarlı, eritromisine % 50 ve penisiline ise % 100 dirençli olduklarını bildirmişlerdir.

Rampling ve ark. (1990), tavuklardan izole ettikleri 38 *S. Enteritidis* suşunun tümünün ampisilin, gentamisin, tetrasiklin, streptomisin, nalidiksik asit ve trimetoprim + sulfametaksasole duyarlı; nitrofurantoine ise dirençli olduğunu belirtmişlerdir.

Singer ve ark. (1992), yaptıkları bir çalışmada; tavuklardan izole ettikleri tüm *S. Enteritidis* suşlarının basitrasine dirençli olduklarını fakat ampisilin, gentamisin, karbenisillin, enrofloksasin, neomisin,

nalidiksik asit ve trimetoprim + sulfametaksasole duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir.

Lee ve ark. (1993), broyler piliçlerden izole ettikleri *S. Enteritidis* suşlarının ampisiline % 79 dirençli, *S. Agona* suşlarının ise streptomisine % 57, tetrasikline % 26 ve gentamisine % 13 dirençli olduklarını bildirmişlerdir.

Chang (2000), broyler tavuklardan izole ettiği bütün *S. Enteritidis* suşları ile *S. Virchow* suşunun eritromisin, penisilin ve vankomisine dirençli olduklarını, bir *S. Enteritidis* izolatının ise ampisilin, eritromisin, penisilin, gentamisin, neomisin, streptomisin, tetrasiklin ve trimetoprim + sulfametaksasole dirençli olduğunu bildirilmiştir. Araştırmacı, insan ve hayvanlarda antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılmasına bağlı olarak antibiyotiklere dirençli *Salmonella* suşlarının sayısının giderek arttığını belirtmiştir.

Bu çalışmada ise 4 adet *S. Gallinarum* suşunun; linkomisin, novobiosin, vankomisin, sülfametoksazol, basitrasin, metisilin, eritromisin, polimiksin B, ve penisilin G'ye % 100, furazolidon'a % 25 oranında dirençli; meropenem, tetrasiklin, gentamisin, amoksisilin/klavulanik asit, sülfametoksazol/trimetoprim ve enrofloksasin'e % 100, ampisilin'e ise % 50 duyarlı; oksitetrasiklin'e % 100, furazolidon'a % 75, ampisilin'e ise % 50 oranında orta duyarlı olduğu; bir adet *S. Pullorum* suşunun, linkomisin, novobiosin, vankomisin, sülfametoksazol, basitrasin, metisilin, eritromisin, polimiksin B, penisilin G ve furazolidon'a dirençli; meropenem, tetrasiklin, gentamisin, amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin, oksitetrasiklin, sülfametoksazol/trimetoprim ve enrofloksasin'e duyarlı olduğu; yine bir adet *S. Enteritidis* suşunun linkomisin, novobiosin, vankomisin, sülfametoksazol, basitrasin, metisilin, eritromisin, polimiksin B ve penisilin G'ye dirençli; meropenem, tetrasiklin,

amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin, oksitetrasiklin ve sülfametoksazol/trimetoprim'e duyarlı; gentamisin, furazolidon ve enrofloksasin'e orta duyarlı olduğu; bir adet *S. Typhi* suşunun linkomisin, novobiosin, vankomisin, sülfametoksazol, basitrasin, metisilin, eritromisin, polimiksin B ve penisilin G'ye dirençli; meropenem, tetrasiklin, ampisilin, sülfametoksazol/trimetoprim ve enrofloksasin'e duyarlı; amoksisilin/klavulanik asit, oksitetrasiklin, gentamisin ve furazolidon'a orta duyarlı olduğu; 4 adet *S.Typhimurium* suşunun ise linkomisin, novobiosin, vankomisin, sülfametoksazol, basitrasin, metisilin, eritromisin, polimiksin B ve penisilin G'ye % 100 dirençli; tetrasiklin'e % 75 orta duyarlı, % 25 duyarlı; gentamisin'e % 50 orta duyarlı, % 50 duyarlı; oksitetrasiklin'e % 75 orta duyarlı, % 25 duyarlı, furazolidon'a % 75 orta duyarlı, % 25 dirençli; enrofloksazol'e % 25 dirençli, % 25 orta duyarlı, % 50 duyarlı; meropenem, amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin, ve sülfametoksazol/trimetoprim'e ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Elde edilen bulgular, diğer araştırmacıların sonuçlarıyla oransal olarak benzerdir.

Terawaki ve ark. (1967), dirençlilik plazmidlerinin eliminasyonunda inkubasyon ısısının etkisini incelemek üzere, klinik materyallerden izole ettikleri *S.Typhimurium* suşlarının 100'er kolonisi üzerinde yaptıkları bir çalışmada; 42°C'de 24 saatlik inkubasyon sonunda kolonilerden 6'sında ve 96 saat sonunda ise 87'sinde kanamisin dirençlilik plazmidinin elimine edildiğini bildirmişlerdir.

Barrow ve ark. (1987) ise, 42 °C'de 18 saatlik inkübasyon sonunda *S.Gallinarum* suşlarında ampisilin direnç plazmidinin elimine edilebildiğini bildirmişlerdir.

Esendal ve ark. (1998), yaptıkları çalışmada tavuklardan izole ve identifiye edilen 84 *S. Gallinarum* suşundan 34'ü (% 40,5) çoklu antibiyotik dirençli bulunmuş ve bu 34 suştan rasgele seçilen 16'sı plazmid eliminasyonu yolu ile dirençlilik plazmidlerinin varlığı yönünden test edilmiştir. Bu amaçla 42,5 °C'de 50 gün süreyle inkübe edilen 16 suştan 8'inde (% 50) çoklu antibiyotik direnç plazmidleri elimine edilmiştir.

Bu çalışmada ise 11 adet *Salmonella* suşu, 42.5 °C'de 50 gün süreyle inkübe edildi ve 50 gün sonunda polimiksin B, basitrasin, metisilin, sülfametoksazol, linkomisin, eritromisin, novobiosin ve vankomisin'e dirençte bir değişiklik olmazken; % 100 olan penisilin dirençliliğinin % 81.81'e, % 90.91 olan gentamisin dirençliliğinin % 54.55'e, % 27.28 olan furazolidon dirençliliğinin ise % 9.09'a düştüğü görülmüştür. Yine % 9.09 oranında orta duyarlı olan gentamisin'in orta duyarlılık oranının % 45.45'e çıktığı; % 90.91 olan amoksisilin/klavulanik asit duyarlılığının % 100'e, tetrasiklin duyarlılığının % 72.72'den % 90.91'e, % 27.28 olan oksitetrasiklin duyarlılığının ise % 54.55'e çıktığı görülmüştür.

Kullanılan yöntemin verdiği sonuçlar diğer araştırmacılarla benzer çıkmıştır. Dirençliliğin düşmesine, yüksek ısıda uzun süreli inkubasyon sonucunda plazmid eliminasyonunun sebep olduğu değerlendirilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada kanatlı hayvanların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen *S. Enteritidis*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* ve *S. Typhimurium* serotipleri ile insan kaynaklı *S. Typhi* serotipi kullanıldı. Çalışma sonucunda serotiplerde çoklu antibiyotik direncinin varlığı tespit edildi.

Tavuklarda, diğer hayvansal gıdalarda ve insanlarda antibiyotiğe dirençli *Salmonella* türlerinin ortaya çıkmasının ve yaygınlaşmasının nedeninin; yoğun hayvan barınaklarında, yemlere ilaç katılımı ile insan ve hayvan hastalıklarında antibiyotiklerin yüksek dozlarda ve gelişigüzel kullanılması olabileceği değerlendirildi.

Dolayısıyla yemden yararlanmayı arttırmak amacıyla yemlere sülfametoksazol, linkomisin ve eritromisin gibi antibiyotiklerin katılmasının önüne geçilerek ve antibiyotik tedavisinden önce antibiyogram yapılarak uygun antibiyotiği uygun dozlarda kullanmanın sorunun çözümü konusunda yararlı olacağı düşünüldü.

ÖZET

Tavuklardan İzole Edilen *Salmonella* Etkenlerinin Çoklu Antibiyotik Dirençliliği.

Bu çalışmada tavuklardan izole edilen *Salmonella* etkenlerinin çoklu antibiyotik dirençliliği araştırıldı. Çalışmada, tavuklardan daha önce izole ve identifiye edilmiş 4 adet *S.Gallinarum*, 4 adet *S.Typhimurium*, 1 adet *S.Enteritidis*, 1 adet *S.Typhi* ve 1 adet *S.Pullorum* suşu kullanıldı. Suşların saf kültürlerini elde etmek amacıyla Trypticase Soy Broth, koloni morfolojisini görmek ve Gram boyama yapmak amacıyla BPLS Agar, şeker kullanımını görmek amacıyla TSI Agar, Lizin dekarboksilasyonu için LIA, saflıklarını kontrol etmek amacıyla *Salmonella* lateks test, izolatların antibiyotiklere duyarlılıklarını saptamak amacıyla da, Kirby-Bauer Disk Diffüzyon yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde suşlar, Mueller-Hinton Agar'a ekildi.

37 °C'de 24 saat inkubasyon neticesinde oluşan zon çaplarının değerlendirilmesi sonucunda polimiksin B, basitrasin, penisilin G, metisilin, sülfametoksazol, linkomisin, eritromisin, novobiosin ve vankomisin'e % 100, gentamisin'e % 90,91, furazolidon'a % 27,28 ve enrofloksasin'e % 9,09 oranında dirençli; oksitetrasiklin ve furazolidon'a % 72,72, ampisilin'e % 36,37, tetrasiklin'e % 27,28, enrofloksasin'e % 18,19, amoksisilin/klavulanik asit, gentamisin ve sülfametoksazol/trimetoprim'e % 9,09 oranında orta duyarlı; meropenem'e % 100, amoksisilin/klavulanik asit ve sülfametoksazol/trimetoprim'e % 90,91, tetrasiklin ve enrofloksasin'e % 72,72, ampisilin'e % 63,63 ve oksitetrasiklin'e % 27,28 oranında duyarlı oldukları tespit edildi.

Plazmid varlığını araştırmak için 42,5 °C'de 50 gün inkubasyona bırakılan suşların antibiyotik disklerinin çevresinde oluşturduğu zon çaplarının değerlendirilmesi sonucunda ise polimiksin B, basitrasin, metisilin, sülfametoksazol, linkomisin, eritromisin, novobiosin ve vankomisin'e % 100, penisilin G'ye % 81,81, gentamisin'e % 54,55, furazolidon'a % 9,09 oranında dirençli; furazolidon'a % 63,63, oksitetrasiklin ve gentamisin'e % 45,45, ampisilin'e % 27,28, enrofloksasin'e % 18,19, tetrasiklin, sülfametoksazol/trimetoprim ve penisilin G'ye %9,09 oranında orta duyarlı; meropenem ve amoksisilin/klavulanik asit'e % 100, sülfametoksazol/trimetoprim ve tetrasiklin'e % 90,91 ve enrofloksasin'e % 81,81, ampisilin'e % 72,72, oksitetrasiklin'e %

54,55, furazolidon'a % 27,28 ve penisilin G'ye % 9,09 oranında duyarlı oldukları tespit edildi.

Sonuç olarak, yüksek ısıda uzun süreli inkubasyon yönteminin plazmid eliminasyonunda iyi netice verdiği ve test edilen 11 *Salmonella* suşunun bazı antibiyotiklere karşı daha duyarlı hale geldiği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik duyarlılığı, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi, plazmid eliminasyonu, *Salmonella*, tavuk.

SUMMARY

Multiple Antimicrobial Resistant of *Salmonella* Species isolated from chickens.

This study was carried out to investigate the presence of multiple antimicrobial resistance characteristics of *Salmonella* serotypes isolated from chickens. In the study, previously isolated and identified 4 *S. Gallinarum*, 4 *S. Typhimurium*, 1 *S. Enteritidis*, 1 *S. Typhi* and 1 *S. Pullorum* strains were used. In order to obtain pure cultures of strains Trypticase Soy Broth, to observe the colony morphology and to perform Gram staining BPLS Agar, to test sugar utilization TSI Agar, to test lysin decarboxylation LIA Agar, and to control purity of strains *Salmonella* Latex Test were used, respectively. For the determination of antibiotic susceptibilities of the *Salmonella* serotypes Kirby-Bauer Disc diffusion Method was used. In this method, strains were plated onto Mueller Hinton Agar.

The evaluation of the zone diameters at 37°C, following 24-hour incubation period showed that *Salmonella* strains were resistant to the following antimicrobials with the representative rates; polymyxin B, bacitracin, penicillin G, methicillin, sulphamethoxazole, lincomycin, erythromycin, novobiocin and vancomycin 100%; gentamicin 90.91%, furazolidone 27.28% and enrofloxacin 9.09%. They were found semi-susceptible to oxytetracycline and furazolidone 72.72%, ampicillin 36.37%, tetracycline 27.28%, enrofloxacin 18.19%, amoxycillin/clavulanic acid, gentamicin and sulphamethoxazole/trimethoprim 9.09%; and susceptible to meropenem 100%, amoxycillin/clavulanic acid and sulphamethoxazole/trimethoprim 90.91%, tetracycline and enrofloxacin 72.72%, ampicillin 63.63% and oxytetracycline 27.28%.

When the zone diameters which occurred around the antibiotic discs of the strains at 42.5°C, following 50-days incubation were evaluated in order to find out plasmid existence, it was established that strains were resistant to the following antimicrobials with the representative rates; polymyxin B, bacitracin, methicillin, sulphamethoxazole, lincomycin, erythromycin, novobiocin and vancomycin 100%, penicillin G 81.81%, gentamicin 54.55%, furazolidone 9.09%. They were found semi-susceptible to furazolidone 63.63%, oxytetracycline and gentamicin 45.45%, ampicillin 27.28%, enrofloxacin 18.19%,

tetracycline, sulphamethoxazole/trimethoprim and penicillin G 9.09%; and susceptible to meropenem and amoxycillin/clavulanic acid 100%, sulphamethoxazole/trimethoprim and tetracycline 90.91%, enrofloxacin 81.81%, ampicillin 72.72%, oxytetracycline 54.55%, furazolidone 27.28% and penicillin G 9.09%.

In conclusion, it was found that, high temperature treatment gave better results in the elimination of plasmids of 11 *Salmonella* strains which became more resistant against some antimicrobials.

Key words: Antibiotic resistance, Kirby-Bauer disc diffusion method, plasmid elimination, *Salmonella*, chicken.

KAYNAKLAR

- AKALIN, E. (1994). Klinik uygulamada antibiyotikler ve diğer antimikrobiyal ilaçlar. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd.Şti.
- AKAN, M. (2002). Türkiye’de Kanatlı Endüstrisi, Bölüm1. *Kanatlı Hayvan Hastalıkları*, Ed.: M.İzgür ve M. Akan, Ankara: Medisan Yayınevi, s.:1-7.
- AKSAKAL, A. (2003). Bazı kanatlıların dışkılarında *Salmonella* türlerinin varlığı ve yaygınlığı ile antibiyotiklere duyarlılıkları. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ANDERSON, E.S., THRELFALL, E.J. (1974). The Characterization of Plasmids in the Enterobacteria. *J. Hyg. Camb.*, **72**: 471-487
- ANĞ-KÜÇÜKER, M., KİMİRAN, A., BAL, Ç. (1995). Kümes hayvanlarının et ve yumurtalarından *Salmonella enteritidis* izolasyonu. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, **23**: 138-141
- ANJANAPPA, M., HARBOLA, P.C., VERMA, J.C. (1993). Elimination (curing) of R-plasmids in *Salmonella* Gallinarum and their trans conjugants. *Indian Vet. J.*, **70**: 10-13
- ANON, (1988) Salmonellosis Control. The Role of Animal and Product Hygiene. *WHO Expert Committee. Technical Report Series* 774.
- ANTUNES, P., REU, C., SOUSA, J.C., PEIXE, L., PESTANA, N. (2002). Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *Int. J. Food Microbiol.*, **82(2)**: 97-103
- ARDA, B., AKYOL, İ., KAHRAMAN, M. (1970). *Salmonella gallinarum* enfeksiyonlarına karşı döllü tavuk yumurtalarında aktif ve inaktif aşı hazırlanması üzerine çalışmalar. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **2**: 201-203
- ARDA, M., MİNBAY, A., LELOĞLU, N., AYDIN, N., AKAY, Ö. (1992). Özel Mikrobiyoloji. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Yayınları No: 741
- ARDA, M., MİNBAY, A., AYDIN, N., AKAY, Ö., İZGÜR, M. (1994). Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayın Serisi, No. 14 Medisan Yayınevi, Ankara.
- ARDA, M. (1997). Bakteri virusları, Bölüm 5. *Temel Mikrobiyoloji*. Ankara: Medisan Yayın Serisi, No.25 s.:207-222

- ARDA, M. (2000). *Temel Mikrobiyoloji*, Ankara: Medisan Yayınevi.
- BAIRD-PARKER, A.C. (1990). Foodborne Illness. *Lancet*, **336** (11) : 1231 – 1235
- BARON, S. (1991). *Medical Microbiology*, New York: Churchill Livingston Inc.
- BARROW, P.A., SIMPSON, J.M., LOVELL, M.A., BINNS, M.M. (1987). Contribution of *Salmonella gallinarum* large plasmid toward virulence in fowl typhoid. *Infect Immun*, **55**: 388-392.
- BARROW, P.A. (1991). Experimental infection of chickens with *Salmonella enteritidis*, *Avian Pathol.*, 20, p.:145-15
- BARROW, P.A. (1995) Recent progress in the diagnosis and control of *Salmonella* infections in poultry. *Comprehensive reports on technical items presented to the International Committee or to Regional Commissions. Office international des epizooties*, Paris, p. 13-22.
- BARROW, P.A. (2000). The paratyphoid Salmonellae. *Rev. Sci. Tech.*, **19(2)**: 351-375
- BAŞKAYA, H., MİNBAY, A. (1979). Kümes Hayvanları Hastalıkları. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayınları: 354 Ders Kitabı: 252.
- BAUMGART, J. (1986). *Microbiologische Untersuchung von Lebensmitteln*. Behr's Verlag, Hamburg.
- BAYLEYEGN, M., ARTHURO, M., DANIEL, A. (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
- BEKAR, M., AYAZ, Y., AKMAN, A., YAZICIOĞLU, N., UYSAL, Y., TEKİN, C., KORKUT, N., MİRİOĞLU, M., ASLAN, A., ERGUN, A., İLDES, Z. (1993). Tavuk Mezbahalarının *Salmonella* Yönünden Taranması. *Etlik Vet. Mikrobiol. Derg.*, **7(4)**: 1-23
- BEN HASSEN, A., MEDDEB, M., BEN CHAABANE, T., ZRIBI, M., BEN REDJEB, S.(1994). Characteristics of the antibiotic resistance plasmid in *Salmonella typhi* isolated in Tunis in 1990. *Ann. Biol. Clin.*, **52(2)**: 133-136
- BİLGEHAN, H. (1986). Klinik mikrobiyoloji. İzmir: Bilgehan Basımevi.

- BİLGEHAN, H. (1992). *Salmonella*, *Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteriyel İnfeksiyonlar*, İzmir: Barış Yayınları, Fakülte Kitabevi, s.: 25-45
- BOYNUKARA, B., AYDIN, F. (1990). Tavuklardan izole edilen *Salmonella* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine bir araştırma. *Türk Vet. Hek. Derg.*, **90(6)**: 21-23
- CHALKER, R.B., BLASE, M.J. (1988). A review of human Salmonellosis. *III. Magnitude of Salmonella infection in the United States. Rev. Infect Dis.* **10**: 111-124
- CHANG, Y.H. (2000). Prevalence of *Salmonella* spp. in poultry broilers and shell eggs in Korea. *J. Food Prot.*, **63(5)**: 655-658
- CISSE, M.F., SOW, A.I., DIEYE-SARR, E., BOYE, C.S., GAYE-DIALLO, A., DIOP, D., MBOUP, S., SAMB, A. (1993). Antibiotic sensitivity of *Salmonella* strains isolated in a pediatric population in Dakar. Research of Beta-Lactamase and Plasmids. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **86(1)**:43-47
- CROSA, J.H., TOLMASKY, M.E., ACTIS, L.A., FALKOW, S. (1994). Plasmids. In: *Methods for General and Molecular Bacteriology*, Ed.: P. Gerhardt, R.G.E. Murray, W.A. Wood, Washington, Massachusetts: American Society for Microbiology, p.: 365-386
- ÇARLI, K.T. (1990). Bursa bölgesindeki yumurta ve broyler tipi tavuklardan izole edilen *Salmonella* türleri üzerinde bakteriyolojik ve serolojik çalışmalar. *Türk Vet.Hayv.Derg.*, **14(3)**: 428-438
- DALHOFF, A. (1994). Quinolone Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Development during Therapy and Clinical Significans. *Infection*, **22(suppl 2)**: 111-121
- D'AOUST, J.Y. (1989). 31. *Salmonella*. In Foodborne Bacterial Pathogenes, Ed., M.P. Doyle. New York and Basel: Marcel Decker Inc., p.:327 – 413
- D'AOUST, J.Y. (1994). *Salmonella* and the international trade. *Int. J. Food Microbiol.*, **24**: 11-31.
- D'AOUST, J-Y, SEWELL, A.M., DALEY, E., GRECO P. (1992). Antibiotic resistance of agricultural and foodborne *Salmonella* isolates in Canada. *J. Food Prot.*, **55**:428-434.
- DIB,C., TRIAS, J., JARLIER, V. (1995). Lack of additive effect between mechanism of resistance to carbapenems and other Beta-Lactam agents in *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis.*, **14(11)**: 979-986

- DOYLE, M.P., CLIVER D.O. (1991). *Salmonella*. İn: Foodborne Diseases , Eds: DU Cliver, Acedemic Pres, p.: 185-205
- ELWELL, L.P., FLING, M.E. (1989). Resistance to Trimethoprim. In: *Handbook of Experimental Pharmacology Vol 91*, Ed.: L.E. Bryan, Berlin, Heildberg: Springr-Verlag, p.: 249-290.
- EROL, İ. (2007). Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Ankara: Pozitif Matbaacılık
- ESENDAL, Ö.M., ARDA, M., DAKMAN, Ş.A., AKAY, Ö., İZGÜR, M. (1998). Tavuklardan izole edilen çoklu dirençli *Salmonella gallinarum* suşlarında plazmid eliminasyonu. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **45**: 251-258
- FILETICI, E., MARTINI, A., MAGNI, L., FANTASIA, M. (1988). R-plasmid in *Salmonella* isolates from sporadic cases of gastroenteritis. *Eur. J. Epidemiol.*, **4(3)**: 366-370
- GARAU, J. (1994). Beta-Lactamases, Current Situation and Clinical Importance. *Intensive Care Med.*, **3(suppl 20)**: 5-9
- GAREIS, M. (1995). Salmonellen. *Ein Überblick.Fleischwirtsch*, **75 (8)** : 954 – 957.
- GAST, R.K. (1997). Salmonella infections, Paratyphoid infections. In: *Diseases of Poultry*, Ed.: B.W. Calnek, H.C. Barns, C.W. Beard, L.R. McDougald and Y.M. Saif, 10 th Ed., Iowa: Iowa State University Pres, p.:97-121
- GAY, J.M., RICE, D.H., STEIGER, J.H. (1994). Prevalence of faecal *Salmonella* shedding by cull dairy cattle marketed in Washington State. *J. Food Prot.*, 57:195-197.
- GERICKE, B., RISCHE, H., SCHMIDT, E., TSCHAPE, H. (1988). *Salmonella montevideo* from a hospital outbreak with different antibiograms determined by aplasmid zentrabl. *Bacteriol. Microbiol. Clin.*, **186(2)**: 180-188
- GLYNN, M.K., BOPP, C., DEWITT, W., DABNEY, P., MOKHTAR, M., ANGULO, F.J. (1998). Emergence of multidrug-resistance *Salmonella enterica serotype typhimurium* DT 104 infections in the United States. *NEJM*, 338:1333-1339.
- GÖKÇEN, S., ERGANİŞ, O. (1996). İzmir Mezbahalarında Kesilen Hayvanlardan *Salmonella* İzolasyonu ve Serotiplendirilmesi. *Bornova Vet. Kont. Ve Araşt. Enst. Müd. Derg.*, **21,(35)**: 91-111

- GROB, U., TSCHAPE, H., BEDNAREK, I., FROSCH, M. (1998). Antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serotype typhimurium. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **17**: 385-387
- GUTHRIE, R.K. (1992). *Salmonella*. Boca Raton: CRC Press , p.: 37
- GYLES, C.L., THOEN, C. (1986). Pathogenesis of bacterial infections in animals. Iowa: Iowa State University Pres
- HINSHOW, W.R. (1975). Principles of disease prevention. Diseases of Poultry, Iowa: The Iowa State University Pres. USA. 6.th edition.
- İZGÜR, M. (1997). Enterobacteriaceae Familyası. Özel Mikrobiyoloji. Ed.: M. Arda, A. Minbay, N. Leloğlu, N. Aydın, M. Kahraman, Ö. Akay, A. Ilgaz, M. İzgür, K.S. Diker, Ankara: Medisan Yayınevi, 4. baskı, s.: 45-58
- İZGÜR, M. (2002). Bakteriyel Enfeksiyonlar, *Salmonella* Enfeksiyonları, Bölüm 4. , *Kanatlı Hayvan Hastalıkları*, Ed.: M. İzgür ve M.Akan, Ankara: Medisan Yayınevi, s.:41-53
- İZGÜR, M. (2006). Enterobakteri enfeksiyonları, *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*. Ed: N. Aydın ve J. Paracıkloğlu. Ankara: İlke-Emek Yayınları, s.: 109-127
- KALENDER, H., MUZ, A. (1999). Elazığ bölgesindeki tavuklardan izole edilen *Salmonella* türlerinin tiplendirilmesi. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **23**, **Ek sayı 2**: 297-303
- KAMILI, M.A.(1993). Multiple drug resistant typhoid fever out break in Kashmir Valley. *Indian J. Med. Sci.*, **47(6)**: 147-151
- KAPIL, A., AYYAGARI, A., GRAG, R.K., AGARWAL, K.C. (1994). *S. typhi* with transferable chloramphenicol resistance isolated in chandigarh during 1983-1987. *Indian J Pathol. Microbiol.*, **37(2)**: 179-183
- KARMAKER, S., BISWAS, O., SHAIKH, N.M., CHATTERJEE, S.K., KATARIA, V.K., KUMAR, R. (1991). Role of a large plasmid of *Salmonella typhi* encoding multiple drug resistance. *J. Med. Microbiol.*, **34(3)**: 149-151
- LE MINOR, L. (1992). The Genus *Salmonella*. In: *A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Application 2.th Ed. Vol III* , Ed.: A. Balows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.H. Schleifer, New York, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, p.: 2760-2774
- LEE, L.A., THREATT, V.L., PUHR, N.D., LEVINE, P., FERRIS, K., TAUXE, R.V. (1993). Antimicrobial-resistant *Salmonella* spp. isolated from

healty broiler chickens after slaughter. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **202(5)**: 752-755

LING, J.M., ZHOU, G.M., WOO, T.H., FRENCH, G.L. (1991). Antimicrobial Susceptibilities and Beta-Lactamase production of Hong Kong isolates of gastroenteric *Salmonella* and *Salmonella typhi*. *J. Antimicrob. Chemother.*, **28(6)**: 877-885

MAIORINI, E., LOPEZ, E.L., MARROW, A.L., RAMIREZ, F., PROCOPIO, A., FURMANSKI, S., WOŁOJ, G.M., MILLER, G., CLEARY, T.G. (1993). Multiple resistant nontyphoidal *Salmonella gastroenteritis* in children. *Pediatr. Infect Dis. J.*, **12(2)**: 204-205

MEHR, A.M. (1997). *Salmonella*'larda direnç, çoklu ilaç direnci, Beta Laktamaz aktivitesi, direnç aktarımı ve plazmid profillerinin araştırılması. Doktora tezi, Dokuz Eylül Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

McKAY, W.M. (1973). The use of antibiotics in animal feeds in the United Kingdom. The impact and importance of legislative controls.

MINOR L. (1984). *Salmonella*. In: Bergey 's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.1 Eds.: N.R. Krieg, J.G. Holt. Baltimore London: Williams & Wilkins, p.: 427-458

MUTLUER, B., YARGÜLÜ, B., HARTUNG, M., EROL, İ. (1992). Incidence and Serovar Distribution of *Salmonella* in Market Broilers in Turkey. *3.rd. World Congress Foodborne Infectious and Intoxications. Proceedings. Vol. II*, 16-19 June, Berlin, p.:1075-1079

MİNBAY, A. (1975). Tavuk yetiştiriciliğinde hastalıktan korunma prensipleri. *II. Mikrobik hastalıkları ve mikrobik olmayan hastalıklar, Tavukçuluk bülteni*. **32**.

NAIR, U.S., SAEED, A.M., MURIANA, P.M., KREISLE, R.A., BARRENT, B., SINCLAIR, C.L., FLEISSNER, M.L. (1995). Plasmid profiles and resistance to antimicrobial agents among *Salmonella enteritidis* isolates from human beings and poultry in the midwestern United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **206**: 1339-1344

NORDMANN, P. (1996). Novel Beta Lactamases in Gram Negative. 27. Türk Mikrobiyoloji Kongresi; 4. Konferans

O'BRIEN, T.F., DIGIORGIO, J., PARSONNET, K.L., KASS, E.H., HOPKINS, J.D. (1993). Plasmid diversity in *E.coli* isolated from processed poultry and poultry processors. *Vet. Microbiol*, **35**:243-255.

- OPPEZZO, O.J., AVANZATI, B., ANTON, D.A. (1991). Increased Susceptibility to Beta-Lactam Antibiotics and Decreased Porin Content Caused by env B Mutations of *Salmonella typhimurium*. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **35**: 1203-1207
- ORHAN, G., GÜLER, L. (1993). Tavuk iç organları, fekal flora, yumurta ve yemde *Salmonella* türlerinin bakteriyolojik ve serolojik olarak tespiti. *Veterinarium*, **4**: 15-20
- ÖZDEMİR, Ü. (1996). Kanatlılardan izole edilen *Salmonella* suşlarının identifikasyonunda kullanılan metotlar üzerine araştırmalar. *Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg.*, **27(2)**:143-162
- PARK DL, RUA SM, ACKER RF. (1991). Direct application of a new hypochlorite sanitizer for reducing bacterial contamination on foods. *J. Food Prot.*, **54 (12)** : 960 – 965 .
- PHILIPPON, A., ARLET, G., LAGRANGE, P.H. (1994). Origin and impact of Plasmid-Mediated extended-spectrum Beta-Lactamases. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **13(suppl 1)**: 17-29
- POPPE, C., KOLAR, J.J., DEMEZUK, W.H.B., HARRIS, J.E. (1995). Drug resistance and biochemical characteristics of Salmonella from turkeys. *Can. J. Vet. Res.*, **59**: 241-248
- POPPE, C., McFADDEN, K.A., BROUWER, A.M., DEMCZUK, W. (1993). Characterization of *Salmonella enteritidis* strains. *Can. J. Vet. Res.*, **57**: 176-184
- POPPE, C., GYLES, C.L. (1988). Tagging and elimination of plasmids in Salmonella of avian origin. *Vet. Microbiol.*, **18**: 73-87
- PROVENCE, D.L., CURTISS III, R. (1994). Gene Transfer in Gram-Negative Bacteria. In: *Methods for General and Molecular Bacteriology*, Ed.: P. Gerhardt, R.G.E. Murray, W.A. Wodd, Washington, Massachusests: American Society for Microbiology, p.: 317-347
- RAMPLING, A., UPSON, R., BROWN, D.F.J. (1990). Nitrofurantoin resistance in isolates of *Salmonella enteritidis* phage type 4 from poultry and humans. *J. Antimicrob. Chemother.*, **25**: 285-290
- RAO, R.S., AMARNATH, S.K., SUJATHA, S. (1992). An outbreak of tyhoid due to multidrug resistant *Salmonella typhi* in pondicherry. *Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **86(2)**: 204-205
- RATHISH, K.C., CHANDRASHEKAR, M.R., NAGESHA, C.N. (1994). Multidrug Resistant *Salmonella typhi* in Bangalore, South India. *Indian J. Med. Sci.*, **48(4)**: 85-88

- RATHORE, M.H., BUX, D., HASAN, M. (1996). Multidrug-Resistant *Salmonella typhi* in Pakistani children: Clinical features and treatment. *South Med. J.*, **89(2)**: 235-237
- RODRIGUE, D.C., TAUXE, R.V., ROWE, B. (1990). International Increase in *Salmonella enteritidis*. A New Pandemic. *Epidemiol. Infect.*, **105**: 21-27
- RYDBERG, J., LARSSON, C., MIORNER, H. (1994). Resistance to Fluoroquinolones in *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *Scand. J. Infectd. Dis.*, **26**: 317-320
- SALYERS, A.A., WHITT, D.D. (1994). Antibiotics of Action and Mechanism of Bacterial Resistance. In: *Bacterial Pathogenesis, A Molecular Approach*, Ed.: A.A. Salyers, D.D. Whitt, Washington DC: ASM Press, p.: 97-110
- SALYERS, A.A., SHOEMAKER, N.B., STEVENS, A.M., YEW LI, L. (1995). Conjugative Transposons an Unusual and Diverse Set of Integrated Gene Transfer Elements. *Microbiol. Rev.*, **59(4)**: 579-590
- SANDERS, C.C. (1989). The Chromosomal Beta – Lactamases. In: *Handbook of Experimental Pharmacology Vol 91*, Ed.: L.E. Bryan, Berlin, Heilderberg: Springer-Verlag, p.: 129-150
- SECMEER, G., KANRA, G., CEMEROĞLU, A.P., OZEN, H., CEYHAN, M., ECEVİT, Z. (1995). *Salmonella typhi* Infections. A 10-year retrospective study. *Turk J. Pediatr.*, **37(4)**: 339-341
- SINGER, J.T., OPITZ, H.M., GERSHMAN, M., HALL, M.M., MUNİZ, I.G., RAO, S.V. (1992). Molecular characterization of *Salmonella enteritidis* isolates from maine poultry and poltry farm environments. *Avian Dis.*, **36**: 324-333
- SIRELL, H.J. (1985). Einführung in die Lebensmittelhygiene Verlag Paul Parey. Berlin and Hamburg, 26-32
- SMITH, H.W. (1974). Clinical problems of preventive medicine. Antibiotic resistant bacteria in animals. The dangers to human health. *Worlds Poult. Sci. J.*, **31(2)**: 104-116
- SOJKA, W.J., WRAY, C., MCLAREN, I. (1986). A survey of drug resistance in Salmonellae isolated from animals in England and Wales in 1982 and 1983. *Br. Vet. J.*, **142(4)**: 371-380
- ŞANLI, Y. (1998). Kanatlılarda antibakteriyel sağaltım, Bilinçsiz ve amaç dışı ilaç kullanımından kaynaklanan sakıncalar, 2. Bölüm. *Veteriner İlaç Rehberi ve Bilinçli İlaç Kullanımı El Kitabı* s.: 844-855, 930-933.

- TAUXE, R.V. (1991). *Salmonella*: a postmodern pathogen. *J Food Prot.*, **54**: 563-568.
- TAVUKÇUOĞLU, F. (1993). Bursa bölgesinde tavuklardan *Salmonella gallinarum* izolasyon ve identifikasyonu ile suşların antibiyotiklere duyarlılığı üzerinde çalışmalar. *Veterinarium*, **4(1)**: 143-162
- TENOVER, F.C., RASHEED, J.K. (2003). Detection of antimicrobial resistance genes and mutations associated with antimicrobial resistance genes in microorganisms. In: *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practices*. Ed.: D Persing, FC Tenover, YW Tang, D Relman, T White, J Versalovic, B Unger. ASM Press, Washington, D.C.
- TERAWAKI, Y., TAKAYASU, H., AKIBA, T. (1967). Thermosensitive replication of a kanamycin resistance factor. *J Bacteriol*, **94**: 687-690
- THRELFALL, E.J., FROST, J.A. (1990). The Identification, Typing and Fingerprinting of *Salmonella*: Laboratory Aspects and Epidemiological Applications. *J. Appl. Bacteriol.*, **68**: 5-16
- THRELFALL, E.J., ROWE, B., WARD, L.R. (1993). A comparison of multiple drug resistance in *Salmonella* from humans and food animals in England and Wales, 1981 and 1990. *Epidemiol Infect.*, **111**: 189-197
- TRIAS, J., NIKADO, H. (1990). Outer Membrane Protein O₂ Catalyzes Facilitated Diffusion of Carbapenems and Penems Through The Outer Membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **34(1)**: 52-57
- TÜNGER, A., ÇAVUŞOĞLU, C., KORKMAZ, M. (2002). Asya Mikrobiyoloji, İzmir: Asya Tıp Yayıncılık Ltd.Şti.
- UĞUR, Y.M. (1992). Tavukların karaciğer, safra ve barsaklarından *Salmonella* izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- VAN DUIJKEREN, E., HOUWERS, D.J. (2000). A critical assessment of antimicrobial treatment in uncomplicated *Salmonella enteritidis*. *Vet. Microbiol.*, **73**:61-75.
- WATTAL, C., KAUL, V., CHUGH, T.T., KLER, N., BHANDARI, S.K. (1994). An outbreak of multidrug resistant *Salmonella typhimurium* in Delhi (India). *Indian J. Med. Res.*, **100**: 266-341

- WEGNER, H.C., AARESTRUP, F.M., GERNER-SMIDT, P. BAGER, F. (1999). Transfer of antibiotic resistant bacteria from animals to man. *Acta Vet. Scand. Suppl*, 92: 51-57.
- WILLIAMS, J.E. (1984) .Avian Salmonellosis. In: Diseases of Poultry, Iowa: Iowa State Univ. Pres. Ames, p.: 91-129
- WU, S.X., TANG, Y. (1993). Molecular epidemiologic study of an outbreak of *Salmonella typhimurium* infection at a Newborn Nursery. *China Med. J.*, **106(6)**: 423-427
- YILMAZ, K.Ö. (2001). Aydın bölgesi mezbahalarında kesilen kanatlılardan ve işlem ortamlarından *Salmonella* ların izolasyonu ve bu izolatların antibiyotik duyarlılık testleri. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ZWADYK, P. (1988). Enterobacteriaceae: Salmonella and *Shigella* Intestinal pathogenes. In: Zinsser Microbiology 9th Ed.: W.K. Jaklik, H.P. Willet, D.B. Amos, C.M. Wilfert. Appleton and Lange Comp. USA.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Umut TAYAN

Doğum Yeri ve Tarihi: Bilecik, 23 Mayıs 1976

Uyruğu: T.C.

Medeni Durumu: Evli

Askerlik Durumu: Veteriner Hekim Üsteğmen

İletişim Adresi ve Telefonu: umuttayan@hotmail.com,
(533) 314 32 32

Eğitim:

1994-1999, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

1990-1993, Ankara Kocatepe Mimar Kemal Lisesi

1987-1990, Ankara Kocatepe Mimar Kemal Ortaokulu

1982-1987 Şehit Teğmen Kalmaz İlkokulu

Yabancı Dil: İngilizce

Mesleki Deneyim:

2002-2005, Artvin Hudut Alayı Baş Veteriner Hekimi,

2005-2005, 4. Kolordu Gıda Kont. Müfrezesi Mikrobiyoloji Lab. Subayı,

2005-, Genelkurmay Başkanlığı

Bilimsel Etkinlikler:

2006, “ Hijyen Gerektiren Ortamlarda Hızlı Görüntüleme Sistemleri”,

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji

Anabilim Dalı Semineri.