



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**TAVUK VE İNSAN ORİJİNLİ *SALMONELLA*  
*ENTERICA* SUBSPECIES *ENTERICA* SEROVAR  
INFANTIS SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ  
GENLERİNİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU  
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**Mesut AKGEYİK**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Mehmet AKAN**

**ANKARA**

**2018**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAVUK VE İNSAN ORİJİNLİ *SALMONELLA*  
*ENTERICA* SUBSPECIES *ENTERICA* SEROVAR  
INFANTIS SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ  
GENLERİNİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU  
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**Mesut AKGEYİK**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Mehmet AKAN**

**ANKARA  
2018**

## ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “ Tavuk ve İnsan Orijinli *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Infantis Suşlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi ile Araştırılması ” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımda yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Mesut Akgeyik

Tarih: 20.02.2018

İmza: 

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mikrobiyoloji Anabilim Dalında

Mesut AKGEYİK tarafından hazırlanan “Tavuk ve İnsan Orijinli Salmonella Enterica subspecies Enterica serovar Infantis Suşlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi ile Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 23/02/2018

  
Prof. Dr. Hakan YARDIMCI  
Ankara Üniversitesi  
Jüri Başkanı

  
Prof. Dr. Mehmet AKAN  
Ankara Üniversitesi  
Üye

  
Prof. Dr. Murat YILDIRIM  
Kırıkkale Üniversitesi  
Raportör

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Mehmet AKAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü V.

# İÇİNDEKİLER

|                                                                           |                                  |
|---------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| Etik Beyan                                                                | Hata! Yer işareti tanımlanmamış. |
| Kabul ve Onay                                                             | iii                              |
| İçindekiler                                                               | iv                               |
| Önsöz                                                                     | vi                               |
| Simgeler ve Kısaltmalar                                                   | viii                             |
| Şekiller                                                                  | xii                              |
| Çizelgeler                                                                | xiii                             |
| <b>1.GİRİŞ</b>                                                            | 1                                |
| 1.1. <i>Salmonella</i> Cinsinin Genel Özellikleri                         | 1                                |
| 1.2. Kanatlılarda konak spesifik olmayan <i>Salmonella</i> enfeksiyonları | 4                                |
| 1.3. İnsanlarda tifo dışı <i>Salmonella</i> enfeksiyonları                | 6                                |
| 1.4. <i>Salmonella</i> enfeksiyonlarının zoonotik önemi                   | 6                                |
| 1.5. <i>Salmonella</i> Infantis enfeksiyonları                            | 8                                |
| 1.6. <i>Salmonella</i> ’larda antimikrobiyal direnç ve önemi              | 13                               |
| 1.7. <i>S. Infantis</i> suşlarında antibiyotik direnci                    | 16                               |
| <b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>                                                 | 20                               |
| 2.1. Gereç                                                                | 20                               |
| 2.1.1. Bakteri suşları:                                                   | 20                               |
| 2.1.2. Besiyerleri:                                                       | 20                               |
| 2.1.3. Antibiyotik diskleri:                                              | 22                               |
| 2.1.4. E-Test Antibiyotik Stripleri:                                      | 23                               |
| 2.1.5. PZR’da kullanılan cihaz, kimyasal ve tampon solüsyonlar            | 23                               |
| 2.2. Yöntem                                                               | 25                               |
| 2.2.1. Antibiyotik duyarlılık testleri                                    | 25                               |
| 2.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)                                  | 27                               |
| <b>3. BULGULAR</b>                                                        | 33                               |
| 3.1. Antibiyotik duyarlılık testlerine ait bulgular                       | 33                               |
| 3.1.1 Disk diffüzyon bulguları                                            | 33                               |
| 3.1.2 E-test bulguları                                                    | 38                               |
| 3.1.3 PZR Bulguları                                                       | 42                               |
| <b>4. TARTIŞMA</b>                                                        | 46                               |

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| <b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> | 57 |
| <b>ÖZET</b>                 | 59 |
| <b>SUMMARY</b>              | 61 |
| <b>KAYNAKLAR</b>            | 63 |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>             | 70 |



## ÖNSÖZ

Günümüzde gıda üretiminin ciddi düzeyde artması, gıda hazırlama uygulamalarındaki saklama ve dağıtım süreçlerindeki değişiklikler ve uluslararası gıda ticaretinin artması *Salmonella*'ların kolaylıkla yayılmasına olanak sağlamaktadır. Ülkemizde ve dünyada kanatlı hayvan yetiştiriciliği önemli düzeyde artmıştır. *Salmonella* enfeksiyonları (tifo ve paratifo) kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde verim düşüklüğü, ölümler ve önemli ekonomik kayıplara neden olması bakımından oldukça önemlidir. Kanatlı hayvanların başlıca zoonozlarından olan *Salmonella*'lara ait epidemiyolojik veriler insanlarda Salmonellozis vakalarından sorumlu tutulan gıdalar içinde kanatlı ürünlerinin ilk sırada olduğunu göstermektedir. Kanatlı yetiştiriciliğinde neden olduğu ekonomik kayıplar ve halk sağlığını tehdit etmesi bakımından *Salmonella* enfeksiyonlarının kontrolü çok önemlidir.

*Salmonella*'ların halk sağlığı ve kanatlı yetiştiriciliği açısından dünya çapında önemini arttıran diğer bir önemli husus da özellikle antibiyotiklere karşı geliştirdikleri dirençtir. Bazı *Salmonella* serotiplerinde belirlenen çoklu antibiyotik direnci, halk sağlığı açısından önemlidir. Bu önem nedeniyle hayvansal kaynaklı ve özellikle kanatlı orijinli *Salmonella* serotipleri izlenmektedir.

Bu çalışmada kanatlı etleri ve ürünlerinde en sık rastlanılan ve besin zinciri yolu ile insanlarda salmonellozise neden olan tavuk ve insan orijinli *Salmonella* Infantis suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve antibiyotik direnç genlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışma konusunun belirlenmesinde ve çalışmaların yürütülmesinde, yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli danışman hocam Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Mehmet AKAN başta olmak üzere, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Müjgan İZGÜR, Prof. Dr. K. Serdar DİKER, Prof. Dr. Hakan YARDIMCI, Prof. Dr. Barış SAREYYÜPOĞLU ve Doç. Dr. H. Kaan MÜŞTAK'a, çalışmalarım

boyunca katkılarını esirgemeyen Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Özlem ŞAHAN YAPICIER'e diğer doktora ve yüksek lisans yapan arkadaşlarıma, T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanı sayın Prof. Dr. Selçuk KILIÇ'a Ulusal Enterik Patojenler Referans Merkez Laboratuvarı bünyesinde görev yapan Sayın Uzm. Dr. Belkıs LEVENT ve Uzm. Dr. Revasiye GÜLEŞEN'e teşekkürlerimi sunarım.



## SİMGELER VE KISALTMALAR

|              |                             |
|--------------|-----------------------------|
| -            | Negatif                     |
| +            | Pozitif                     |
| ±            | Artı veya eksi              |
| %            | Yüzde                       |
| *            | Not                         |
| ≥            | Büyük eşittir               |
| ≤            | Küçük eşittir               |
| ∞            | Sonsuz                      |
| µg           | Mikrogram                   |
| µl           | Mikrolitre                  |
| °C           | Santigrad derece birimi     |
| A            | Amper                       |
| AB           | Avrupa Birliği              |
| ABD          | Amerila Birleşik Devletleri |
| AMP          | Ampisilin                   |
| <i>AphA1</i> | Kanamisin direnç geni       |
| bp           | Base pair                   |

|                    |                                                     |
|--------------------|-----------------------------------------------------|
| CAZ                | Seftazidim                                          |
| CTX                | Sefotaksim                                          |
| C                  | Kloramfenikol                                       |
| CIP                | Siprofloksasin                                      |
| CDC                | Centers for Disease Control and Prevention          |
| CLSI               | Clinical and Laboratory Standarts Institute         |
| cm                 | Santimetre                                          |
| CN                 | Gentamisin                                          |
| dk                 | Dakika                                              |
| DNA                | Deoksiribonükleik asit                              |
| dNTP               | Deoksinükleotid Trifosfat                           |
| ddH <sub>2</sub> O | Double-distilled water                              |
| EFSA               | European Food Safety Authotrity                     |
| ECDC               | European Centers for Disease Control and Prevention |
| EDTA               | Etilendiamin tetraasetik asit                       |
| FTS                | Fizyolojik Tuzlu Su                                 |
| g                  | Gram                                                |
| kob                | Koloni oluşturma birimi                             |
| I                  | Orta Derecede Duyarlı                               |

|                   |                                                     |
|-------------------|-----------------------------------------------------|
| K                 | Kanamisin                                           |
| L                 | Litre                                               |
| MH                | Mueller-Hinton                                      |
| MgCl <sub>2</sub> | Magnezyum Klorür                                    |
| MIK               | Minimal İnhibisyon Konsantrasyon                    |
| ml                | Mililitre                                           |
| mm                | Milimetre                                           |
| mM                | Milimolar                                           |
| NaCl              | Sodyum Klorür                                       |
| NA                | Nutrient Agar                                       |
| Na                | Nalidiksik asit                                     |
| NARMS             | National Antimicrobial Resistance Monitoring System |
| NK                | Negatif Kontrol                                     |
| PK                | Pozitif Kontrol                                     |
| PZR               | Polimeraz Zincir Reaksiyonu                         |
| pH                | Power of Hydrogen                                   |
| R                 | Dirençli                                            |
| S                 | Duyarlı                                             |
| S10               | Streptomisin                                        |

|             |                             |
|-------------|-----------------------------|
| S3          | Sülfonamid                  |
| SXT         | Trimetoprim/sülfametoksazol |
| TE          | Tetrasiklin                 |
| <i>tetA</i> | Tetrasiklin direnç geni     |
| <i>tetB</i> | Tetrasiklin direnç geni     |
| <i>tetG</i> | Tetrasiklin direnç geni     |
| TBE         | Tris Borik Asit EDTA        |
| Ta          | Annealing Temperature       |
| Tm          | Melting Temperature         |
| UV          | Ultraviyole                 |
| V           | Volt                        |
| XLD         | Xylose Lysine Deoxycholate  |
| WHO         | World Health Organisation   |

## ŞEKİLLER

**Şekil 3.1.** Disk diffüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinin Mueller Hinton agar üzerindeki örnek görüntüsü

**Şekil 3.2.** İnsan orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotik duyarlılığı

**Şekil 3.3.** Tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotiklere duyarlılık dağılımları

**Şekil. 3.4.** İnsan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotik dirençlilik durumlarının karşılaştırılması.

**Şekil. 3.5.** E-test yöntemi ile siprofloksasin duyarlılık testlerinin Mueller Hinton agardaki örnek görüntüsü

**Şekil. 3.6.** İnsan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarında E-test yöntemi ile elde edilen siprofloksasin Mik değerlerinin karşılaştırılması

**Şekil.3.7.** Disk diffüzyon ve E-test yöntemi ile elde edilen sonuçlara göre siprofloksasine karşı duyarlılık ve dirençlilik dağılımları

**Şekil.3.8.** *aphA1* geninin jel elektroforez görüntüsü

**Şekil 3.9.** *tet(A)* geninin jel elektroforez görüntüsü

## ÇİZELGELER

**Çizelge 1.1.** 2013 yılında Avrupa Birliği ülkelerinde hayvan populasyonları, gıda ve yem için en yaygın rapor edilen ilk beş *Salmonella* serovarı

**Çizelge 2.1.** CLSI'ya göre *Salmonella* suşlarının antibiyotik duyarlılık zon çapları

**Çizelge 2.2.** CLSI'ya göre *Salmonella* suşlarının siprofloksasin'e karşı MİK değerleri

**Çizelge 2.3.** Primerlerin baz dizileri, bağlandıkları spesifik gen bölgeleri, PZR ürünlerinin uzunlukları

**Çizelge 3.1.** İnsan orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotik duyarlılık durumları

**Çizelge 3.2.** Tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotiklere duyarlılık durumları

**Çizelge 3.3.** *S. Infantis* suşlarının E-test yöntemiyle siprofloksasine karşı antibiyotik duyarlılık durumları

**Çizelge 3.4.** Disk diffüzyon ve E-test yöntemlerine göre insan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının siprofloksasine karşı duyarlı ve dirençli saptanan suşların karşılaştırılması

**Çizelge 3.5.** *S. Infantis* suşlarında direnç genlerinin dağılımı

**Çizelge 3.6.** Kanamisin duyarlı/dirençli bulunan *S. Infantis* suşlarında *aphA1* gen varlığı

**Çizelge 3.7.** Tetrasiklin duyarlı/dirençli bulunan *S. Infantis* suşlarında *tet(A)*, *tet(B)* ve *tet(G)* direnç genlerinin varlığı

# 1.GİRİŞ

## 1.1. *Salmonella* Cinsinin Genel Özellikleri

Tifo basilini 1880 yılında Carl Joseph Eberth, tifodan ölen bir kişinin mezenterik lenf bezlerinden ilk kez izole etmiştir. Hayvan *Salmonella*'ları ilk olarak 1884 yılında Amerikalı Veteriner hekim Daniel Elmer Salmon tarafından domuzların bağırsağında gösterilmiş ve domuz kolera basili olarak tanımlanmıştır. Adını da Salmon'dan almıştır (Agbaje ve ark., 2011).

İlk araştırmacılar tarafından antijen yapılarına göre sınıflandırılmaya başlanan *Salmonella*'lar için günümüzde de bu temele dayanan sınıflandırma etkinliğini sürdürmektedir. *Salmonella*'lar lipopolisakkarit yapısındaki O (somatik) ve protein yapısındaki H (flagella) antijenlerinin farklılıkları temeline dayanarak Kauffmann-White şemasına göre serotiplere ayrılır. Bu konuda basılmış ilk tablo 20 serotip içermektedir (Erdem, 2002). Antijenik yönden klasifikasyonu yapılan *Salmonella* 'lar Kauffmann-White şemasında sıralanmıştır. İdentifiye edilen yeni *Salmonella* serovarlar “World Health Organisation (WHO) Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*” tarafından bu şemaya eklenip güncelleştirilmektedir. Bu yeni serovarlar Pasteur Enstitüsü yayını olan “Research in Microbiology” dergisinde hemen hemen her yıl yayınlanmaktadır (Grimont ve Weill, 2007 ).

*Salmonella* cinsi, *Enterobacteriaceae* familyasında yer alır. Son sınıflandırmaya göre *Salmonella* cinsine ait iki tür bulunmaktadır. Bunlar; *S. enterica* ve *S. bongori* (eski alt tür V) dir. *Salmonella enterica* altı alt türe ayrılmıştır. Bunlar;

*S. enterica* subsp. *enterica* (I), *S. enterica* subsp. *salamae* (II), *S. enterica* subsp. *arizonae* (III-a), *S. enterica* subsp. *diarizonae* (III-b), *S. enterica* subsp. *houtenae* (IV) ve *S. enterica* subsp. *indica* (VI)'dır. Alt tür I suşları yaygın olarak insanlardan ve sıcakkanlı hayvanlardan izole edilirken diğer alt türler ve *Salmonella bongori* genellikle soğukkanlı hayvanlar ve çevreden izole edilir. Alt tür I dışındaki suşlar, nadir insan patojeni olarak düşünülmektedir (İzgür, 2002; Nataro ve ark., 2009).

*Salmonella enterica* subsp. *enterica* içinde yer alan serotipler Latin harfleri (italik değil) ve ilk harf büyük olacak şekilde yazılmaktadır. Örneğin *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium yerine *Salmonella enterica* serovar Typhimurium veya *Salmonella* Typhimurium kullanılabilir (Erdem, 2002; Nataro ve ark., 2009). Günümüzde *Salmonella enterica*'nın diğer alt türlerine (*salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* ve *indica*) ait olan serotipler için isim yerine antijenik formülleri (*Salmonella* IV,48:Z4Z32:- gibi) kullanılmaktadır. *Salmonella*'lar genellikle ilk izole edildikleri şehrin, hastalığın belirtisinin veya kanatlı türünün adını alırlar (Erdem, 2002; İzgür, 2002).

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, *Salmonella Pullorum* ve *Salmonella Gallinarum* hariç hareketlidirler (İzgür, 2006). *Salmonella*'lar O (somatik) antijeni, H (flagellar) antijeni ve yüzeysel antijenlerin antijenik özelliklerine dayanarak serotiplendirilir. Polisakkarit özelliğinde olan somatik "O" antijenleri bütün *Salmonella* türlerinde bulunmakla beraber ısıya ve alkole dayanıklıdır. O serogrubunun belirlenmesi, izolatların *Salmonella* olarak doğrulanması için yeterlidir. Flagellar "H" antijenleri hareketli *Salmonella*'larda bulunan protein yapısında, ısıya duyarlı antijenik yapılardır. *Salmonella*'ların "H" antijen grubundan sadece bir çeşit faz antijen faktörlerini içerenler monofazik; hem Faz-1 ve hem de Faz-2 antijenlerini birlikte

taşıyanlar ise difazik bakteriler olarak adlandırılmaktadır. *Salmonella*'lar yaygın olarak iki farklı flagellar antijeni sunmasıyla enterik bakteriler arasında özgündür. Kapsüler polisakkarid yapıda olan yüzeysel antijenlerden "Vi" antijeninin virülens ile ilgili olduğu düşünülmüştür. "Vi" antijeninden başka bazı *Salmonella* türlerinde "M" antijenleri pilus antijenleri de bulunmaktadır. *Salmonella* etkenlerindeki bu antijenik yapılar, identifikasyon ve serolojik tanımlamalarda kullanılmaktadır (İzgür, 2002; Nataro ve ark., 2009).

*Salmonella*'ların yüzey antijeni, invazyon faktörü, endotoksin, sitotoksin ve enterotoksin gibi birçok virulens faktörü vardır. *Salmonella* enfeksiyonlarının patogeneğinde bu virulans faktörlerin rolü, serotipin oluşturduğu enfeksiyonun tipine ve enfeksiyonun gerçekleştiği konak organizmaya göre değişir. Endotoksinleri özellikle bağırsak mukozasında harabiyete neden olup infekte olan bireylerde şiddetli akut toksemi oluşturmaktadır (İzgür, 2006). Enterotoksinleri bağırsak epitellerinden aşırı sıvı salgılamasına neden olduğundan hayvanlarda elektrolit kaybı şekillenmesine neden olmaktadır. Sitotoksinleri *Shigella* sitotoksinleri ile aynı özellikte olup bağırsak mukozasındaki epitellerde protein sentezini engelleyerek etkili olmaktadır. *Salmonella* suşları aynı zamanda konak organizmadan esansiyel faktör olan demir sağlayabilmek için siderefor sentezlerler. *Salmonella*'larda iki tip siderefor sentezlenir. Bunlar; enterobaktin ve aerobaktindir. Bu sistemler patojen bakterilerin virulansını arttırmaktadır. Virulansı etkileyen diğer bir unsur da fimbriyalardır. Fimbriyalar, bakterinin konak hücrelerine yapışmasını ve kolonize olmasını sağlamaktadır (Erdem, 1999; İzgür, 2006). *Salmonella*'lar çeşitli plazmidler taşırlar ve bu plazmidler çeşitli virülans özelliklerini ve antimikrobiyal ilaçlara direnci kodlayan genleri taşırlar. Bulaşıcı özellikteki bu direnç plazmidlerinin çoğunluğu direnç genlerini ya suşun diğer plazmidlerinden ya da konak organizmada bulunan diğer bakteri suşlarının taşıdığı plazmidlerden transpozisyonla kazanır (Erdem, 2002).

*Salmonella*'lara ait çeşitli fajlar bulunmaktadır. Cins düzeyinde *Salmonella* etkenlerini %97 oranında lize edebilen *Salmonella* O-1 fajı, özellikle *Salmonella* genusunun identifikasyonunda güvenilir cins spesifik bir bakteriyofajdır. *Salmonella*'ların birçok türünün identifikasyonunda kullanılan tür spesifik fajlar da bulunmaktadır. *S. Enteritidis*'in 50'nin üzerinde faj tipi (PT) tiplendirme şemasında yerini almaktadır. Bu fajlardan PT4, özellikle kümes hayvanları ve ürünleri ile ilişkili bir tiptir (İzgür, 2006). Türkiye'de yapılan bir çalışmada tavuk ve tavuk etlerinden izole edilen *S. Enteritidis* suşlarının faj tiplendirme ve PFGE yöntemleriyle tiplendirmek amacıyla yapılan analizler sonucunda dominant olarak 38 *S. Enteritidis* suşunun 15'i (%39,4) *S. Enteritidis* PT4 (Faj Tip 4) olarak saptanmıştır (Kalender ve Şen, 2008).

## **1.2. Kanatlılarda konak spesifik olmayan *Salmonella* enfeksiyonları**

Genellikle *Salmonella* Arizona dışındaki hareketli *Salmonella* serotipleri, paratifoid *Salmonelllar* olarak tanımlanmakta ve konak spesifik olmayan bu serotipler arasında *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Derby*, *S. Virchow*, *S. Heidelberg*, *S. Newport*, *S. Stanley*, *S. Thomson* ve *S. Agona* sayılabilmektedir. Paratifo enfeksiyonları, tavuklarda klinik ve enterik form olmak üzere iki farklı formda seyreder. Kanatlılarda konakçı olmayan bu serotiplere bağlı oluşan klinik formdaki bulgular genellikle dikkati çekmemektedir. Bazı vakalarda, civcivlerde erken dönem şekillenen enfeksiyonlarda, mortalite %10-80 arasında değişmektedir. Böyle vakalarda sarı kesesi enfeksiyonu, karaciğerde, dalakta büyüme ve ayrıca poliserozitis tabloları dikkati çekmektedir. Paratifo enfeksiyonlarında, kanatlının yaşına, direncine, etkenin virulans ve vücuda giriş yoluna bağlı olarak enfeksiyon şekillenmesine rağmen, ergin kanatlılarda şiddetli sistemik tablolara rastlanmaz. Klinik tablolar sadece civcivlerde görülmektedir. İştahsızlık, su tüketiminde azalma, tüylerde karışıklık ve artan ishal septomlar arasındadır. Enterik formda ise klinik belirti ve mortalite görülmez ancak dışkı ile çevreye saçılım vardır (Akan, 2008;

İzgür, 2002). Paratifo etkenleri konakçı spesifik olmamaları, asemptomatik özellikte olmaları ve dışkıyla etrafa saçıldıklarından tifoid etkenlere göre epidemiyolojileri daha karmaşıktır (Oral, 2008).

Paratifo etkenlerinin bulaşması horizontal yolla olup genellikle sindirim sisteminden kaynaklanmaktadır. Mekanik faktörler de bulaşmada değerlendirilmektedir. Horizontal yolla bulaşmada hayvandan hayvana veya çevreden hayvanlara sindirim yolu ile bulaşmada hasta veya portör hayvanlar gaita ve yumurta yolu ile meydana gelmektedir. Mekanik faktörler yolu ile bulaşmada ise fare, böcek, kedi-köpek gibi evcil hayvanlar, kertenkele ve insanlar hastalığın bulaşmasında önemli vektörlerdir (Oral, 2008). Vertikal yolla bulaşma, *Salmonella* ile enfekte damızlıklardan elde edilen yumurtaların kuluçkalanması sonrasında bulaşık embriyolardan enfekte civcivlerin çıkmasıyla olmaktadır. Enfekte civcivler aynı zamanda çıkım makinasından başlayarak diğer civcivler için de bulaşma kaynağı olmaktadır. Ayrıca yumurtacı ırklarda, etkenin lokalizasyonu seksüel olgunlaşmanın başlangıcında reproduktif kanala, özellikle ovarium ve ovidukta olmaktadır. Bu nedenle *S. Pullorum* ve *S. Enteritidis*'in yumurtayla saçılımı önem kazanmakta ayrıca yumurtlama sırasında yumurta kabuğunun dışkı ile kontaminasyonuna bağlı olarak da yumurta etkenle bulaşabilmektedir (İzgür, 2002; Oral, 2008). Bu şekilde bulaşmayla şekillenen enfeksiyon bir tavuğun hayatı boyunca sürmekte ve aynı kümesteki hayvanlar arasında çapraz bulaşmaya neden olmaktadır. Dışkıyla saçılmanın oranı ise birçok faktöre bağlıdır. Antibiyotik, probiyotik ve büyütme faktörlerinin kullanımı, bu saçılımı etkiler (İzgür, 2002). Kanatlıların üretim aşamasında yem ve su kaynaklarının kontrolü kritik bir öneme sahiptir (Cox ve Pavic 2010). Özellikle balık unu kullanılan kanatlı rasyonlarında, balık ununun havada kurutulması esnasında yabani kuşların ve sürüngenlerin dışkı materyalleriyle kontamine olmasına bağlı olarak bulaşma söz konusudur. Yem, hazırlanma periyodunun dışında saklama koşullarının iyi olmaması da tehlike teşkil etmektedir. Yem depolarındaki fare gibi kemiriciler *Salmonella* taşıyıcılarıdır. Bulaşmaya etkisi açısından kümesin bulunduğu bölgenin iklimini de değerlendirmek gerekir. Ilıman iklimli bölgelerde yarı açık kümesler, fare, diğer kemiricilerin ve

sürüngeinlerin girişini engelleyemez. Farelerle mücadelede kullanılan kediler de yine kontaminasyon kaynağı olabilir. Ayrıca kümes böceğı, yem kurtları, kanatlı dışındaki hayvan türleri, kümes personeli, çeşitli ekipmanlar paratifo etkenlerinin bulaşmasında rol oynarlar (İzgür, 2002).

### 1.3. İnsanlarda tifo dışı *Salmonella* enfeksiyonları

*Salmonella* enfeksiyonları insanlarda genel enfeksiyon tablosu, enterokolit, sepsis ve lokal organ hastalıkları gibi klinik tablolar oluşturmaktadır. İnsanlarda *Salmonella* enfeksiyonları ilişkili oldukları hastalık sendromuna uygun olarak *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* ve *S. Paratyphi C* serotiplerinin neden olduğı; sadece insanlarda enfeksiyon oluşturan Tifo ve paratifo *Salmonella* enfeksiyonları (enterik ateş) ve konak spesifik olmayan tifo dışı *Salmonella* enfeksiyonlar olmak üzere ikiye ayrılır (Nataro ve ark., 2009).

Tifo dışı *Salmonella* enfeksiyonlarında her *Salmonella* serotipinin insanlarda gastroenterit ile seyrettiğı bilinmektedir (Erdem, 2002). Tifo dışı *Salmonella*'lar genellikle diyare tablolarına neden olsalar da fokal enfeksiyon ve bakteriyemi ile seyredebilen invaziv enfeksiyonlar da oluşturmaktadır. İnvaziv enfeksiyonlar genellikle çocuklar, yaşlılar ve immün yetmezliğı olan insanlar arasında daha yaygın görölmektedir (Threlfall ve Parry 2008).

### 1.4. *Salmonella* enfeksiyonlarının zoonotik önemi

*Salmonella* enfeksiyonları sadece gelişmekte olan ölkelerde değıl gelişmiş ölkelerde de yaygın olarak görölmektedir. Sağlık önlemlerindeki ve hijyendeki

gelişmelere rağmen zoonotik öneme sahip *Salmonella* enfeksiyonları sanayileşmiş ve az gelişmiş ülkelerde halk sağlığı için ciddi bir sorun olmaya devam etmektedir (Nataro ve ark., 2009). EFSA ve ECDC, 2009-2013 yılları arası rapor edilen *Salmonella* vaka sayıları istatistiksel olarak kıyaslandığında hastalığın görülme sıklığında bir azalma eğilimi olduğunu bildirmişlerdir. Buna rağmen *Salmonella*'lar 2013 yılında Avrupa'da rapor edilen salgınların % 22,5'inden sorumlu olarak gösterilmektedir. 2013 yılında doğrulanmış 82694 *Salmonella* vakası rapor edilmiş olup, bu kapsamda 7841 hospitalizasyon ve 59 ölüm rapor edilmiştir. Bu vakaların Avrupa ekonomisine olan toplam maliyetinin yaklaşık 3 milyar euro civarında olduğu tahmin edilmektedir (EFSA ve ECDC 2015). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde tifo dışı *Salmonella*'ların neden olduğu enfeksiyonlar sonucunda yıllık ortalama 19000 hospitalizasyon ve 400 ölüm vakası olduğu rapor edilmiştir (Scallan ve ark., 2011). Bu durumun ABD ekonomisine yıllık toplam maliyetinin ise yaklaşık 1.4 milyar ABD doları aştığı tahmin edilmektedir (Scharff, 2010).

European Food Safety Authority (EFSA), direkt ya da dolaylı olarak insan ve hayvanlar arasında geçiş yapabilen hastalık ve enfeksiyonları zoonoz olarak tanımlamaktadır. Son 10 yıl içerisinde insanlarda görülen hastalıkların %75'inin hayvan ya da hayvansal ürün kaynaklı olduğu bildirilmiştir (EFSA, 2014). Gıda kaynaklı zoonotik hastalıklar, bakteri, bakteri toksini, virus ve parazitler gibi patojenik mikroorganizmalar tarafından kontamine edilmiş gıda ve suların tüketilmesiyle meydana gelmektedir. Gıda kaynaklı patojenler içerisinde önemli bir yere sahip olan *Salmonella*'nın zoonoz bir etken olduğu bilinmektedir (Şireli, 2010). *Salmonella*'nın insanlardaki infektif dozu  $10^6$ - $10^8$  kob/g civarındadır. Etkenin hastalık yapabilme kabiliyeti infektif dozuna bağlı olabildiği gibi; serotipin virulensi, etkilenen bireyin savunma sistemi, yaşı, gıdanın çeşidi, bakterinin fizyolojik yapısı olmak üzere birçok faktöre de bağlıdır. Minimum enfeksiyon dozu yeni doğan, yaşlı, hasta ya da tedavi gören immunsupresif bireylerde düşmektedir (Erol, 2010). İnsanlardaki tifo dışı Salmonellosis vakalarının çoğu kontamine olmuş gıdalarla ilişkilidir (De Freitas Neto ve ark., 2010). Özellikle kanatlı ve ürünleri insanlar için

direkt ve indirekt olarak en önemli enfeksiyon kaynağıdır. *Salmonella* etkeni gıda zincirine ürün, çiftlik, canlı hayvansal yemler, gıda imalatı işletme ve perakende satışı aşamaları gibi her hangi bir noktasından girebilir (Sırıken ve Türk 2013; Tabo ve ark., 2013). *Salmonella* etkeninin yayılımında uluslararası gıda ticareti ve ülkeler arası seyahatinde önemli bir katkısı vardır. ECDC, yayınladığı epidemiyoloji raporunda Avrupa’da bildirilen teyitli *Salmonella* vakalarının %19’u yurt dışı seyahat öyküleri ile ilişkili olup, bu bildirimlerin çoğunluğu İskandinav ülkeleri tarafından yapılmıştır (ECDC, 2014). Yumurta ve yumurta ürünleri *Salmonella* salgınlarından yaygın olarak sorumlu tutulmaktadır. 2013 yılında Avrupa’da 1168 gıda kaynaklı *Salmonella* salgını rapor edilmiştir. Bu salgınların %44,9’u kontamine yumurta ve yumurta ürünlerinin tüketimi sonucu meydana geldiği bildirilmekte olup, bu salgınların çoğu Polonya, Fransa ve İspanya tarafından rapor edilmiştir (EFSA ve ECDC 2015). Sebze ve meyvelerle ilişkili insan Salmonellozis vaka sayılarında bir yükselme olmasına rağmen, en yaygın enfeksiyon kaynağı olarak hayvansal kökenli gıdalar gösterilmektedir (Nataro ve ark., 2009).

### 1.5. *Salmonella* Infantis enfeksiyonları

Dünya genelinde insanlarda *Salmonella* Infantis kaynaklı Salmonelloz vakalarının ana kaynaklarından biri hayvanlar ve özellikle kanatlı popülasyonları ve kanatlılardan üretilen gıdaların tüketimidir (Miller ve ark., 2010, Samiullah 2013). Salmonellozisine neden olan *S. Infantis*, Kauffman-White şemasında O antijenleri bakımından C1, Faz 1 H antijenleri bakımından “r” ve Faz 2 H antijenleri bakımından “1.5” olarak tanımlanmıştır (Popoff ve ark., 2004; Raseta ve ark., 2015).

*S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* dünya genelinde Salmonellozise neden olan en yaygın serotipler olarak bilinmektedir. Ancak son yirmi yılda özellikle gelişmiş ya da gelişmekte olan ülkelerde yürütülen çeşitli çalışmaların ve uygulanan aşılama

programlarının olası bir sonucu olarak bu serotiplerin baskınlığının giderek azaldığı ve *S. Infantis* başta olmak üzere, başka serotiplerin görülme sıklıklarında artışlar olduğu tespit edilmiştir (Asai ve ark., 2007; Nogrady ve ark., 2007 ve Rabsch ve ark., 2013). 1970'lerin sonlarından itibaren Arjantin, Avusturalya, Brezilya, Hollanda, Finlandiya, Kanada, Macaristan, Japonya, Yeni Zellanda ve Rusya'da *S. Infantis* serovarının görülme sıklıklarında giderek bir artış olduğu, özellikle Macaristan ve Japonya'da, broylerlerde *S. Infantis* en yaygın serotip olarak bildirilmektedir (Miller ve ark., 2010). EFSA, 2006 yılından beri Avrupa genelinde bu serotipin insanlardaki izolasyonunda giderek bir artış olduğunu rapor etmektedir (EFSA ve ECDC, 2015) Almanya'da insanlardan izole edilen en yaygın üçüncü serotip olan *S. Infantis* için Robert Koch Enstitüsü bu serotipin salgınlardaki rolü ve epidemiyolojik araştırmaları için faj tiplendirme sistemi geliştirmiştir (Rabsch ve ark., 2013 ). İlk *S. Infantis* kökenli salgın 1971 yılında Finlandiya'da meydana gelmiş ve bu salgının kaynağının broyler üretimi olduğu saptanmıştır. Büyükbaş hayvan çiftliklerinde ise 1992 yılında aynı serotipin yol açtığı salgınlar belirlenmiştir. *S. Infantis* kökenli diğer bir salgın 1993 yılında Danimarka'da meydana gelmiştir ve bu salgında 500 kişi tedavi görmüştür. Salgın üzerinde yürütülen epidemiyolojik çalışmalarda, domuz etlerinden kaynaklandığı saptanmıştır (Wegener ve Baggesen, 1996).

*S. Infantis*'in *Salmonella* enfeksiyonlarında etkinliğinin hızlı bir şekilde artması, tüm çiftlik hayvanlarında yaygın olarak bulunan bir serotip olması yanında, çoklu ilaç dirençlilik regülasyonunda içerdiği genetik elastisiteden kaynaklanmaktadır. *S. Infantis*'in kanatlı popülasyonlarında ve insanlarda artan prevalansı, sahip olduğu çoklu ilaç dirençlilik sistemleri, tedavide klinik önemi olan ilaçlara geliştirdiği direnç ve invaziv enfeksiyonlarda antibiyotik seçimlerini kısıtlaması salmonellosizdeki önemini arttırmaktadır (Ceyssens ve ark., 2015; Franco ve ark., 2015; Raseta ve ark., 2015).

Avrupa’da, 2013 yılında 82.694 teyitli insan Salmonellozis vakası rapor edilmiştir (EFSA ve ECDC 2015). EFSA ve ECDC, 2013 rakamları ile 2012 yılı rakamlarını istatistiksel olarak kıyaslandığında vaka sayılarında %7 oranında bir düşüş olduğunu bildirmiştir. 2013 yılında da *S. Enteritidis* %39,5 ve *S. Typhimurium* (monofazik *Typhimurium* da dahil) % 20,2 insanlarda Salmonellozise neden olan en yaygın serotipler olarak bildirilmiştir. Avrupa’da 2013 yılında neden olduğu 2226 *Salmonella* vakası ile *S. Infantis* %3’lük oranı ile en yaygın dördüncü serovar olarak bildirilmiştir. 2011 ve 2013 yılları kıyaslandığında rapor edilen *S. Infantis* sayılarında %26,5’lik bir artışın olduğu ortaya konmuştur. Almanya başta olmak üzere diğer Avrupa ülkeleri de *S. Infantis*’in neden olduğu gıda kaynaklı salgınlarındaki vaka bildirimlerinin artışına önemli katkı sağlamıştır (EFSA ve ECDC 2015). Danimarka’da 2014 yılında rapor edilen 11222 *Salmonella* vakasının %3,4’ü *S. Infantis* kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Anonymous, 2015).

Avrupa Birliği’nin 2160/2003/EC sayılı direktiflerine uygun olarak, Avrupa Birliği ülkeleri 2003 yılında zoonozlarla ilgili kapsamlı bir kontrol programı başlatmıştır. Zoonozlar arasında *Salmonella*’yı önceliklerden biri olarak belirleyip, vakaların azaltılması için hedef üretim kümes hayvanları (et tavuğu, yumurta tavuğu, hindi vb.) ve domuzlar olmuştur (Anonymous, 2003). EFSA ve ECDC kümes hayvanlarındaki *Salmonella* vakalarının azalmasına yönelik faaliyetler kapsamında bilimsel tavsiyelerde bulunmakta ve özet raporlarında yıllık gelişmelerle ilgili veriler yayınlamaktadır. Uygulanan *Salmonella* kontrol programlarında damızlık, yumurtacı ve etçil tavuk sürülerinde *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Virchow* and *S. Hadar* hedef serovarlar olarak belirlenmiştir. Üye ülkelerde hedef serovarlar için *Salmonella* pozitifliği damızlık sürülerinde %1, yumurtacı tavuk sürülerinde %2 ve broyler sürülerinde %1’den az olması hedef olarak belirlenmiştir (EFSA ve ECDC 2015). *Salmonella* prevalansı üzerine yapılan sorvey çalışmalarında broyler sürülerindeki *S. Infantis* prevalansı en yüksek Macaristan %64’da rapor edilmiş olup, bunu Polonya %8, Çek Cumhuriyet %2,5, Portekiz (%2,5) ve Hollanda (%2) takip etmiştir. Yumurtacı sürülerde ise *S. Infantis* (%11,9), *S. Enteritidis* (%59,9)’ten sonra en yaygın ikinci serovar olarak rapor edilmektedir. *S. Infantis*’in prevalansı ülkeler

arasında farklılıklar göstermekle beraber, Polonya (%21.6), Macaristan (%9.4) ve İspanya (%15,5), bu prevalansın en yüksek rapor edildiği ülkeler olmuştur. (EFSA, 2007a; EFSA 2007b). EFSA 2013 yılında Avrupa’da hayvansal gıda ve yemlerden izole edilmiş toplam 20870 *Salmonella* izolatu arasında en yaygın rapor edilen 10 *Salmonella* serovarı ile ilgili veriler yayınlamıştır. İzolatların %55,8’i tavuk, tavuk eti ve yemlerden izole edilmiştir. *S. Infantis* tavuk (damızlık sürü, broyler ve yumurtacı tavuklar) izolatları arasında en sık rapor edilen serovar olarak bildirilmiştir. Rapor edilen diğer yaygın serovarlar çizelge 1.1’de gösterilmektedir (EFSA ve ECDC 2015).

Türkiye’de veteriner ve tıp alanlarını birlikte kapsayan ulusal düzeyde bir *Salmonella* sörveyans programının olmaması nedeniyle, ülkemizde *Salmonella* *Infantis* prevalansı hakkında bildiklerimiz sınırlı olmasına rağmen *Salmonella* serovarlarının prevalansının araştırılmasına yönelik çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.

**Çizelge 1.1.** 2013 yılında Avrupa Birliği ülkelerinde en yaygın rapor edilen ilk beş *Salmonella* serovarı (EFSA ve ECDC 2015)

| Kaynak              | İzolat Sayısı | Serotiplendirilmiş izolat sayısı | En yaygın görülen serovarlar(a,b) |                      |                      |                      |                     |
|---------------------|---------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
|                     |               |                                  | 1                                 | 2                    | 3                    | 4                    | 5                   |
| Gallus gallus ( c ) | 9971          | 5660                             | Infantis<br>22,7 %                | Mbandaka<br>14,8%    | Enteritidis<br>11,1% | Thompson<br>10,6%    | Livingstone<br>4,0% |
| Broyler             | 8622          | 4613                             | Infantis<br>26,0 %                | Mbandaka<br>17,3%    | Thompson<br>12,6%    | Enteritidis<br>5,9%  | Livingstone<br>4,4% |
| Broyler karkas      | 3436          | 1329                             | Enteritidis<br>37,6%              | Infantis<br>37,4%    | Kentucky<br>4,1%     | 1,4,5,12:i:-<br>3,5% | Typhimurium<br>2,6% |
| Tavuk yemleri       | 47            | 41                               | Senftenberg<br>19,5%              | Typhimurium<br>17,1% | Djugu<br>12,2%       | Oranienburg<br>9,8%  | Nyborg<br>9,8%      |

a: Yüzdelere toplam serotiplendirilmiş izolatlar üzerinden hayvan popülasyonu, gıda ve yem kategorisinin her biri için hesaplandı.

b : Monofazik S. Typhimurium varyantları S. Typhimurium'a dahil edilmeyip ayrı olarak rapor edildi.

c : “Gallus gallus” broyler sürüleri, broyler ve yumurtacı tavukları içermektedir.

Ülkemizde 2008-2014 yılları arasında yedi yıllık bir periyotta tavuk üretim çiftliklerinden alınan çevresel örneklerden izole edilip doğrulama ve serotiplendirme amacıyla Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarı'na gönderilen *Salmonella* izolatlarının serotiplerine göre dağılımları incelenmiştir. Doğrulama ve serotiplendirme amacıyla incelenen toplam 2021 *Salmonella* izolatın 15 farklı serogrup ve 74 farklı serotipe ayrıldığı belirlenmiştir. En sık saptanan *Salmonella* serotipi *S. Infantis* (% 30,6) olup, bunu *S. Enteritidis* (% 21,8) serotipi izlemiştir (Güleşen ve ark., 2015). Yapılan başka bir çalışmada, Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Aralık 2007 ve Temmuz 2010 tarihleri arasında *Salmonella* enfeksiyonu saptanan çocuk hastalardan izole edilen toplam 98 *Salmonella* izolatın 14 farklı *Salmonella* serotipine ayrıldığı belirlenmiştir. Serotip dağılımına bakıldığında *S. Enteritidis* %66,4 ile dominant serovar olarak saptanırken, *S. Infantis* %8,2 ile en sık izole edilen ikinci serovar olarak saptanmıştır (Bayhan ve ark., 2014). *Salmonella* serovarlarının yaygınlığının araştırılmasına yönelik yapılan diğer bir çalışmada, 2013-2014 yılları arasında, Afyon, Balıkesir, Bursa, İzmir, Karaman, Konya, Manisa illerinde bulunan 58 farklı işletmeye ait ticari yumurtacı tavuk kümeslerinde *Salmonella* varlığı araştırılmıştır. *Salmonella* pozitif olan kümeslerde elde edilen 22 *Salmonella* izolatının 20'sinin (%90,90) *Salmonella enterica* subsp. *enterica* olduğu ve en sık görülen serovarların ise, *S. Enteritidis* (%40,9) ve *S. Infantis* (%31,8) olarak belirlenmiştir (Kahya ve ark., 2014).

#### **1.6. *Salmonella*'larda antimikrobiyal direnç ve önemi**

Antibiyotik direnci, mikroorganizmaların kemoterapötik maddelerin tedavi dozunda kullanıldığında meydana getirmiş olduğu etkili ilaç yoğunluğundan etkilenmemesi şeklinde ifade edilebilir. Bu direnç doğal yolla olduğu gibi, sonradan da kazanılabilir. Bunun yanı sıra bir antibiyotiğe dirençli bir mikroorganizma benzer

yapıdaki diğer antibiyotiklere de çapraz direnç gösterebilir (Daş ve Atmaca 2015; Yüce, 2001). Gerek mutasyon gerekse de yatay gen transferi ile antimikrobiyel ajanlara karşı direnç kazanan bakteriler, ortamda bulunan antibiyotikten etkilenmeksizin gelişmekte ve popülasyonda baskın hale gelmektedir. Özellikle plazmid, transpozon ve integronlar aracılığı ile meydana gelen yatay gen transferi, kazanılan antibiyotik dirençliliğinin hızla yayılmasına neden olmaktadır (Yener ve ark., 2012; White ve ark., 2001).

Günümüzde veteriner ve tıp hekimliğinde enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların gösterdikleri direnç büyük sorun teşkil etmektedir. Antibiyotik direnci sonucu hastalıkların tedavi süreleri uzamakta, ekonomik maliyetleri artmakta ve ölüm vakalarında artışlar meydana gelmektedir. Hayvan yetiştiriciliğinde koruyucu amaçla antibiyotik kullanımı, insanlarda reçetesiz antibiyotik temini bu sorunun en büyük kaynağıdır. Gerek veteriner gerekse tıp hekimliğinde antibiyotik tedavisinin yeterli süre uygulanmaması da direnç sorununa kaynak teşkil etmektedir. Ayrıca hastalık etkeninin teşhisi yapılmadan ve antibiyogram testi uygulanmadan geniş spektrumlu ve rezerv antibiyotik kapsamında bulunan ilaçların gelişigüzel kullanımı da bu soruna katkı sağlamaktadır (Daş ve Atmaca, 2015). Bu bağlamda *Salmonella*'ların çoklu antibiyotik direnci, azalan kinolon direnci ve genişletilmiş spekturumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığındaki artış *Salmonella* enfeksiyonlarını halk sağlığı açısından küresel boyutta bir tehdit haline getirmektedir (Franco ve ark., 2015).

En bilinen çoklu direnç profili *S. Typhimurium* DT104 tipinde görülen ampisilin, kloramfenikol, streptomisin, sülfonamid ve tetrasiklinlere karşı gelişen dirençtir. Bu antibiyotiklere ek olarak son zamanlarda gentamisin, trimetoprim ve florokinolonlara karşı da direnç geliştiği rapor edilmiştir (Foley ve Lynne 2008; Briggs ve Fratamico 1999). Kloramfenikol, kanamisin, streptomisin, sülfonamid ve tetrasiklin karşı oluşan direnç, kinolon ve üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı da

artarak devam etmektedir (Yener ve ark., 2012; Carattoli ve ark., 2002).

*Salmonella*'larda ampisilin ve kloramfenikol direncinin yüksek oranlarda görülmesi, *Salmonella* enfeksiyonlarının tedavisinde kinolon ve üçüncü kuşak sefalosporinlerin kullanımını ön plana çıkarmıştır. Ancak son zamanlarda siprofloksasine karşı oluşan direnç de halk sağlığı açısından dikkate alınması gereken bir konudur (Threlfall 2000). İnsanlarda hastalık sebebi olan *S. Typhimurium* DT104 faj tipi, *S. Virchow* ve *S. Hadar*'ın siprofloksasin dirençli suşlarının muhtemel kaynakları kanatlı ve sığırlardır. İngiltere ve Galler ülkelerinde 1994-1997 yılları arası insanlardan izole edilen ve ekstraintestinal enfeksiyona neden olan *S. Typhimurium* DT104, *S. Virchow* ve *S. Hadar* serotiplerinin siprofloksasine artan direnci ile besi hayvanlarında yaygın florokinolon (enrofloksasin) kullanımı arasında sıkı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Threlfall ve ark., 1999).

EFSA ve ECDC, Avrupa ülkelerinde bazı *Salmonella* serovarlarında artan çoklu ilaç direncine dikkat çekmiştir. Yayınlanan özet raporunda, 2014 yılında insanlardan izole edilen *Salmonella* izolatlarında (n=10352), tetrasiklin ( %30,3) , sülfonamidler (%28,6) ve ampisilin ( %28,2)'e karşı yüksek düzeyde direnç olduğu rapor edilmiştir. Bazı ülkelerde oldukça yüksek düzeyde olmakla beraber Avrupa genelinde çoklu ilaç direnci (%26) yüksek düzeylerde bildirilmiştir. İncelenen serovarlardan *S. Kentucky* (%74,6), monofazik *S. Typhimurium* 1,4,[5],12:i- (%69,4) ve *S. Infantis* (%61,9) yüksek düzeyde çoklu ilaç direncine sahip oldukları saptanmıştır (EFSA ve ECDC, 2016).

*Salmonella*'larda antibiyotik direnci, kanatlı türü ve tipine, ülke veya bölgelere, *Salmonella* serovarına, antibiyotiğin etki şekline ve yıllara göre değişebilmektedir. Örneğin hindilerde tavuklara oranla, broylerlerde damızlıklara oranla daha fazla dirençli serotiplere rastlanmaktadır. ABD'de en sık rapor edilen dirençli serotipler arasında *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* yer alırken, Japonya'da *S. Infantis* antibiyotiklere daha fazla direnç geliştiren serotip olarak tespit edilmiştir

(Erol, 2010; Gygles, 2008). Hollanda'daki tavuklardan izole edilen *S. Typhimurium*'da tetrasikline karşı 1984-1989 yıllarında %3.5, 1990-1995 yıllarında %5 ve 1996-2001 yıllarında %28.6 oranında bildirilen direnç, yıllara göre *Salmonella* serovarlarında meydana gelen direnç değişikliğini net olarak ortaya koymaktadır (Van Duijkeren ve ark., 2003).

Antibiyotiklerin uygun kullanılmamasına bağlı gelişen dirençli suşlarda direnç genlerin aktarımı sadece patojen mikroorganizmalara değil, endojen mikroflorada da olabilmekte, karkas kontaminasyonu veya yumurtlama sırasında hayvansal gıdalardan insanlara geçerek insan bağırsak florasında kolonizasyona sebep olabilmektedir (Filazi ve ark., 2015). Antibiyotik direnç oranlarındaki artışın bir sonucu olarak insanlarda tedavide kullanılabilecek antibiyotik alternatifleri son derece azalırken, mortalite artmakta, hastane maliyetleri ise çok ciddi oranlara ulaşmaktadır (Barriere, 2015).

### **1.7. S. Infantis suşlarında antibiyotik direnci**

Kanatlı hayvan ve insanlarda Salmonellozise sebep olan *S. Infantis* aynı zamanda çoklu antibiyotik direnç profiline sahip olduğu için de önemlidir. Avrupa'da buna ek olarak *S. Kentucky*, monofazik *S. Typhimurium* 1,4,[5],12:i:- 'da sayılmaktadır (Nogrady ve ark., 2007; Yavari, 2012; EFSA ve ECDC, 2016).

EFSA ve ECDC, 2016 yılında Avrupa Birliği üye ülkelerdeki insan, hayvan ve gıdalardan izole edilen zoonotik bakterilerin antimikrobiyal dirençliliği üzerine bir özet raporu yayınlamıştır. Bu özet raporda üye ülkelerin 2014 yılına ait insan, hayvan

ve gıda kökenli *Salmonella* izolatlarına ait güncel antibiyotik direnç verilerine yer verilmiştir. EFSA üyesi ülkeler ve Norveç tarafından 2014 yılında insan kökenli 247 serovar ve serogruptan oluşan toplam 14412 *Salmonella* izolatına ait antibiyotik direnç verileri rapor edilmiştir (EFSA ve ECDC, 2016). İnsanlarda rapor edilen toplam 1846 vaka ile en yaygın dördüncü *Salmonella* serovarı olan *S. Infantis*'lerde en yüksek antibiyotik direnç düzeyi tetrasiklin (%48,3), nalidiksik asit (%44) ve sülfonamidlerde (%42) gözlemlenmiştir. Bu yüksek dirençlilik düzeyleri üye ülkeler arasında belirgin farklılıklar da gösterebilmektedir. Klinik tedavide önemi olan siprofloksasin ve sefotaksime olan dirençlilik sırasıyla % 16,4 ve %5,4 olarak diğer tüm *Salmonella* spp.'lere göre daha yüksek düzeyde rapor edilmiştir. *S. Infantis*'lerin siprofloksasin direnç düzeyi en yüksek Slovenya (%81,3) ve Avusturya (%75)'da bildirilmiş olup; seftazidim direnç düzeyi en yüksek İtalya (%64,7)'da gözlenmiştir. Avrupa genelinde insan kökenli *S. Infantis* izolatlarında çoklu ilaç direnci %61,9 olarak bildirilmiş olup, hem siprofloksasin hem de sefotaksime direnç ise %2 olarak rapor edilmiştir. Antibiyotik direnç profilini en yüksek düzeyde rapor eden ülke %11,8 ile İtalya olmuştur (EFSA ve ECDC, 2016)

Avrupa'da 2014 yılında broyler tavuk etlerinden izole edilen 1082 *Salmonella* izolatı arasında en yaygın saptanan serovar *S. Infantis* (%36,8) olarak bildirilmiştir. *S. Infantis* izolatlarının %55'i ise Macaristan ve Slovakya'da rapor edilmiştir. Broyler etlerinden izole edilen *S. Infantis*'lerde tetrasiklin, siprofloksasin ve nalidiksik aside karşı oldukça yüksek düzeyde direnç gözlenirken; azitromisin, kolistin, sefotaksim ve seftazidim dirençliliği saptanmamıştır (EFSA ve ECDC, 2016). Avrupa Birliği üye ülkeleri arasında farklılıklar olmasına rağmen, broyler sürülerinde izole edilen ve serotiplendirilen 2417 *Salmonella* izolatı içinde *S. Infantis* %36,5 saptanma oranı ile en yaygın görülen *Salmonella* serovarı olarak bildirilmiştir. Broyler sürülerinde en sık bildirimi yapan ülke Romanya olup, *S. Infantis* izolatlarının %39,8'ini bu ülkenin rapor ettiği izolatlar oluşturmaktadır. Bu izolatlarda sülfametaksazol ve tetrasikline karşı sırasıyla %82,7 ve %81,3 oranında oldukça yüksek düzeyde direnç saptanırken; ampisiline karşı %10,9 oranında orta düzeyde bir direnç bildirilmiştir. Danimarka ve İspanya hariç diğer üye ülkelerde

siprofloksasin ve nalidiksik aside karşı oldukça yüksek düzeylerde direnç bildirilmiştir. Broyler sürülerinden izole edilen *S. Infantis*'lerin % 80'inden fazlası çoklu ilaç direncine sahip olduğu bildirilmiştir (EFSA ve ECDC 2016).

Yumurtacı tavuk sürülerinde izole edilen ve serotiplendirilen 878 *Salmonella* izolatu içinde *S. Infantis* %7,6 saptanma oranı ile en yaygın görülen üçüncü *Salmonella* serovarı olarak bildirilmiştir. Genel antibiyotik direnci broylerlere göre daha düşük düzeylerde olduğu bildirilmiştir. İzolatların sadece %31'inin çoklu ilaç direncine sahip olduğu bildirilmiştir (EFSA ve ECDC 2016).

Ülkemizde insan, hayvan, çevresel örnek ve gıdalardan izole edilmiş *S. Infantis*'lerin antibiyotik direnç durumu hakkında bildiklerimiz, sektörler arası verilerin toplandığı ve değerlendirildiği bir *Salmonella* sörveyans programının olmaması nedeniyle sınırlıdır. Ancak ülkemizde *Salmonella* serovarlarının antibiyotik direnç durumlarının araştırılmasına yönelik çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada çevresel örneklerden izole edilen *S. Infantis* izolatlarının trimetoprim/sülfametaksazol ve sülfonamidlere yüksek düzeylerde dirençlilik bildirilirken, yine başka bir çalışmada insanlardan izole edilen *S. Infantis* izolatlarının trimetoprim/sülfametaksazol, nalidiksik asit ve kanamisine olan direnci yüksek düzeylerde tespit edilmiştir (Güleşen ve ark. 2015; Bayhan ve ark., 2014). Yapılan bir tez çalışmasında tavuk kümeslerindeki altlık ve tozdan izole edilen 355 adet *S. Infantis* suşunun antibiyotik dirençlilikleri saptanmıştır. Sülfametaksazol ve tetrasikline olan direnç %90'nın üzerinde bulunmuştur. Ayrıca en yüksek dirençli suş yüzdesi %99,4 ile makrolid grubunda bulunurken, en düşük yüzdenin % 3,3 ile florokinolon grubunda olduğu tespit edilmiştir (Yılmaz, 2014). Yapılan diğer bir çalışmada ise 2012-2013 yılları arasında broyler tavuk dışkılarından izole edilen ve çalışmaya dahil edilen toplam 267 *Salmonella* izolatının antibiyotik dirençlilikleri saptanmıştır. *S. Infantis* %77,2 ile suşlar arasında en yaygın serovar olarak saptanırken, nalidiksik asit (%92,7), sülfonamid (%92,3), tetrasiklin(%88,3), trimetoprim (%78,6), streptomisin (%46,1), ampisilin (%22,8), kloramfenikol (%19),

gentamisin (%2) ve siprofloksasin (%1,9) antibiyotiklerine karşı direnç saptanmıştır (Şahan ve ark., 2016).

Bu tez çalışmasında insan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarında disk diffüzyon yöntemi ile antibiyotik direnç durumlarının araştırılması, düşük düzeydeki kinolon direncinin E-test ve seçilen antibiyotiklere karşı direnci kodlayan genlerin PZR yöntemi ile ortaya konulması amaçlandı.



## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1. Gereç

**2.1.1. Bakteri suşları:** Bu tez çalışmasında Ankara Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edilen tavuk orijinli 100 adet ve Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvar kültür koleksiyonundan temin edilen insan orijinli 50 adet olmak üzere toplam 150 *S. Infantis* suşu kullanıldı. *S. Infantis* suşları çalışmada kullanılabilecek kadar -80 °C’de saklandı. Standart suş olarak antibiyotik duyarlılık testlerinde *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı.

**2.1.2. Besiyerleri:** Suşları canlandırmak için Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar) (Oxoid) ve Nutrient Agar (Oxoid) kullanıldı. Antibiyotik duyarlılık testleri için ise Mueller-Hinton Agar (Oxoid) besiyeri, fizyolojik tuzlu su McFarland 0,5 ( $1 \times 10^8$  cfu/mL) opasite standardı (Remel) kullanıldı.

#### Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar) (Oxoid, İngiltere)

##### İçerik:

###### Base

|                           |        |
|---------------------------|--------|
| Maya ekstraktı.....       | 3,0 g  |
| Sodyum klorür (NaCl)..... | 5,0 g  |
| Ksiloz.....               | 3,75 g |

|                                 |         |
|---------------------------------|---------|
| Laktoz.....                     | 7,5 g   |
| Sukroz.....                     | 7,5 g   |
| L-lizin hidroklorid.....        | 5,0 g   |
| Sodyum tiyosülfat.....          | 6,8 g   |
| Demir (III) amonyum asetat..... | 0,8 g   |
| Fenol kırmızısı.....            | 0,08 g  |
| Sodyum deoksikolat.....         | 1,0 g   |
| Agar.....                       | 9,18 g  |
| Distile su.....                 | 1000 ml |

#### **Hazırlanışı:**

- Agar eriyinceye kadar kaynar su banyosunda tutuldu.
- Bu besiyeri otoklavlanmadan sterilizasyon kaynar su banyosunda besiyeri eritilerek yapıldı. Aşırı ısıtmadan kaçınıldı.
- pH'sı 25 °C'de 7,4±0,2'e ayarlandı.

#### **Nutrient Agar (Oxoid, İngiltere)**

#### **İçerik:**

|                   |        |
|-------------------|--------|
| Et ekstraktı..... | 3,0 g  |
| Pepton.....       | 5,0 g  |
| Agar.....         | 9-18 g |
| Distile su.....   | 1000 m |

#### **Hazırlanışı:**

- Agar 121°C'de 15 dak. otoklavda sterilize edildi.
- pH 25 °C'de 7,0 ± 0,2'e ayarlandı.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan besiyeri, solüsyon ve araçlar;

#### **Mueller Hinton Agar (Oxoid, İngiltere)**

**İçerik:**

|                        |         |
|------------------------|---------|
| Et ekstraktı.....      | 300,0 g |
| Kazein Hidrolizat..... | 17,5 g  |
| Nişasta.....           | 1,5 g   |
| Agar.....              | 17 g    |
| Distile su.....        | 1000 ml |

**Hazırlanışı:**

- Agar 121°C’de 15 dakika otoklavda sterilize edildi.
- pH 25 °C’de  $7,3 \pm 0,2$ ’e ayarlandı.
- 

**Fizyolojik Tuzlu su****İçerik:**

|                           |         |
|---------------------------|---------|
| Sodyum klorür (NaCl)..... | 8,5 g   |
| Distile su.....           | 1000 ml |

**Hazırlanışı:**

- Distile suyun içerisinde sodyum klorür çözdürüldü.
- 121°C’de 15 dak. otoklavda sterilize edildi.
- pH25 °C ‘de  $7,0 \pm 0,2$ ’e ayarlandı.

**2.1.3. Antibiyotik diskleri:** *Salmonella* Infantis suşlarının antibiyotik duyarlılık testleri için Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI)’nin önerdiği konsantrasyonlarda, ampisilin (AMP; 10 µg), sefotaksim (CTX; 30µg ), kloramfenikol (C; 30µg), siprofloksasin (CIP; 5µg), gentamisin ( CN; 30µg ), kanamisin ( K; 30µg ), nalidiksik asit ( NA; 30µg ) , streptomisin ( S10; 10µg ),

tetrasiklin (TE; 30µg ), trimetoprim/ sülfametaksazol (SXT; 1.25/23.75µg ), sülfonamid ( S3; 250 veya 300µg ), seftazidim ( CAZ; 30µg ) olmak üzere 12 adet antibiyotik diski (Oxoid; İngiltere) kullanıldı (CLSI, 2013).

**2.1.4. E-Test Antibiyotik Stripleri:** S. Infantis suşlarında siprofloksasine duyarlılığın belirlenmesinde CLSI'nın önerdiği konsantrasyonda siprofloksasin (CIP; 0.002 – 32µg / mL) E-Test Stripleri (Liofilchem; İtalya) kullanıldı.

#### **2.1.5. PZR'da kullanılan cihaz, kimyasal ve tampon solüsyonlar**

**PZR cihazı:** Çalışmada Thermocycler T1 96 x 0,2 ml tüp, strip ve pleytleri alabilecek şekilde dizayn edilmiş (Biometra, Göttingen) PZR makinası kullanıldı.

**Pipetler:** 0.5-10 µl, 2-20 µl, 10-100 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl (Finnpipette F1, Thermo Scientific, USA)'lik pipetler kullanıldı.

**Vortex:** Fine Vortex (FinePCR, Kore) kullanıldı.

**Spektrofotometre:** DNA ölçümleri için NaNoDrop 1000 (Thermo Scientific, USA) kullanıldı.

**Santrifüj:** Heraeus Pico 17 (Thermo Scientific, USA) ve Mikro 200 (Hettich, Almanya) kullanıldı.

**Jel elektroforez ünitesi:** Gel elektroforez ünitesi 2,3 litre tampon solüsyon haznesi olan (Thermo Owl A2 large Gel System, 20 x 25 cm, Thermo Scientific, USA) ve ünitenin 2 adet tepsisi (U.V. Transmissible (UVT) Gel Tray, Thermo Scientific, USA) kullanıldı.

**Jel elektroforez ünitesinin tarakları:** A2-24D (Thermo Scientific, USA) tarak ile jel

üzerinde 1.5mm kalınlıkta, 6.5 mm genişlikte ve 7µl hacim alabilen 24 adet kuyucuk, A2-36D (Thermo Scientific, USA) tarak ile 1,5 mm kalınlığında, 3.5 mm genişlikte 4 µl hacim alabilen 36 adet kuyucuk açıldı.

**Güç kaynağı:** Ürünlerin göç etmesi için güç kaynağı (Elite 300 Plus Power Supply, Wealtec, USA) kullanıldı. Jel elektroforez aşaması için 500 A, 180 V, 60 dak yürütme yapıldı.

**10X TBE (Tris-borate-EDTA) 1 litre:** Ticari olarak hazırlanmış hali (B52, Thermo Scientific, USA) kullanıldı.

**1X TBE:** 10X'lik TBE'den 1X'lik TBE hazırlandı. 50 ml 10X TBE, 950 ml ddH<sub>2</sub>O içerisine ilave edildi.

**Yükleme solusyonu:** 6x Loading Dye ve GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (SM0321 Thermo Scientific, USA) kullanıldı.

**Agaroz:** Jel hazırlarken Prona Agarose, Biomax kullanıldı.

**Ethidium Bromide boya solüsyonu:** 100 ml ddH<sub>2</sub>O içerisine 1 gr ethidium bromide (Sigma, E-8751, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) (2, 7- Diamino-10 ethyl-9phenyl-phenanthridinium bromide) ilave edilerek 10 mg/ml'lik stok solusyon hazırlandı. Stok karanlıkta +4 °C'de saklandı.

**Görüntüleme cihazı :** Jelin boyanmasını takiben ürünler UV transillüminatörlü bilgisayarlı görüntüleme sistemi (Gene Genius, Syngene, Bio Imaging System, USA) gözlendi.

**Fotoğraf makinası:** UV'de gözlenen ürünler fotoğraf makinası (Digital Graphic Printer, UP-D895, Sony, USA) ile görüntülendi.

**Fotoğraf filmi:** High Glossy Printing Paper, UP-110HG, Sony, US

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Antibiyotik duyarlılık testleri

#### 2.2.1.1. Disk diffüzyon yöntemi

S. Infantis suşları için antibiyotik duyarlılık testlerinde CLSI'da (CLSI, 2013) belirtilen kriterlere göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi izlenerek yapılmıştır. Buna göre suşlar Xylose lysine deoxycholate (XLD) ve Nutrient Agara (NA) pasajları yapıp 37°C'de 18-24 saat inkube edildi. Saf ve taze *Salmonella* Infantis kültüründen 2-3 koloni alınarak, McFarland 0,5 ( $1 \times 10^8$  kob/ml) opasite standardı esas alınarak serum fizyolojik içinde süspanse edildi. Süspansiyondan, steril eküvyon çubuk ile alınarak Mueller Hinton agara yüzeyine sürme yöntemi ile ekimleri yapıldı. Agar yüzeyi oda ısısında kuruduktan sonra (5–10 dk) yüzeyine CLSI'nın önerdiği şekilde ampicilin, sefotaksim, kloramfenikol, siprofloksasin, gentamisin, kanamisin, nalidiksik asit, streptomisin, tetrasiklin, trimetoprim/sülfametoksazol, sülfonamit, seftazidim antibiyotik diskleri yerleştirildi. Ekim işlemleri tamamlanan petriler 24 saat boyunca 37°C'lik etüve inkubasyon için bırakıldı ve antibiyotik direnci değerlendirildi (Çizelge 2.1.) Test sonucunda 3 veya daha fazla antibiyotik sınıfına dirençli bulunan suşlar çoklu antibiyotik dirençli olarak belirlendi.

**Çizelge 2.1.** CLSI'ya göre *Salmonella* suşlarının antibiyotik duyarlılık zon çapları

| Antibiyotik                          | Disk<br>µg       | Zon Çapları (mm) |                     |             |
|--------------------------------------|------------------|------------------|---------------------|-------------|
|                                      |                  | Dirençli<br>(R)  | Orta Duyarlı<br>(I) | Duyarlı (S) |
| Ampisilin (AMP)                      | 10 µg            | ≤13              | 14-16               | 17≥         |
| Sefotaksim (CTX)                     | 30 µg            | ≤22              | 23-25               | ≥26         |
| Kloramfenikol (C)                    | 30 µg            | ≤12              | 13-17               | ≥18         |
| Siprofloksasin (CIP)                 | 5 µg             | ≤20              | 21-30               | ≥31         |
| Gentamisin ( CN)                     | 30 µg            | ≤12              | 13-14               | ≥15         |
| Kanamisin ( K)                       | 30 µg            | ≤13              | 14-17               | ≥18         |
| Nalidiksik asit (NA)                 | 30 µg            | ≤13              | 14-18               | ≥19         |
| Streptomisin (S10)                   | 10 µg            | ≤11              | 12-14               | ≥15         |
| Tetrasiklin (TE)                     | 30 µg            | ≤11              | 12-14               | ≥15         |
| Trimetoprim<br>Sülfametaksazol (SXT) | 1.25/23.75<br>µg | ≤13              | 14-16               | ≥17         |
| Sülfonamid (S3)                      | 250 or<br>300 µg | ≤12              | 13-16               | ≥17         |
| Seftazidim (CAZ)                     | 30 µg            | ≥21              | 18-20               | ≤17         |

#### 2.2.1.2. E-test yöntemi

S. Infantis suşlarının siprofloksasine olan duyarlılığının belirlenmesinde CLSI' da belirtilen kriterlere göre E-test yöntemi uygulandı (CLSI, 2013). Buna göre suşların Nutrient agardaki taze ve saf kültürlerinden 2-3 koloni alındı ve bulanıklıkları McFarland 0,5 ( $1 \times 10^8$  cfu/mL) opasite standardı esas alınarak serum fizyolojik içinde süspanse edildi. Süspansiyondan, steril eküvyon çubuk ile alınarak

Mueller hinton agar yüzeyine sürme yöntemi ile ekimleri yapıldı. Agar yüzeyi oda ısısında kuruduktan sonra (5–10 dk) siprofloksasin E-Test şeritleri steril bir pens yardımıyla yerleştirildi. Ekim işlemleri tamamlanan petriler 37°C’lik etüvde 24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında eliptik inhibisyon bölgesinin E-Test şeridi ile kesiştiği nokta minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak okunup CLSI standartlarına göre değerlendirildi (Çizelge 2.2).

**Çizelge 2.2.** CLSI’ya göre *Salmonella* suşlarının siprofloksasin’e karşı MİK değerleri

| Antibiyotik             | Strip<br>µg     | MİK değeri (µg/mL) |                  |             |
|-------------------------|-----------------|--------------------|------------------|-------------|
|                         |                 | Dirençli (R)       | Orta Duyarlı (I) | Duyarlı (S) |
| Siprofloksasin<br>(CIP) | 0,002 –<br>32µg | ≥1                 | 0.12-0,5         | ≤0,06       |

### 2.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Antibiyotik duyarlılık testleri yapılan *S. Infantis* suşlarına ait antibiyotik direnç genlerinin ve kodladıkları direnç varlığını ortaya koymak amacıyla Polimeraz zincir reaksiyonu için sırasıyla genomik DNA ekstraksiyonu, amplifikasyon, elektroforez ve görüntüleme işlemleri gerçekleştirildi.

### 2.2.2.1 Genomik DNA ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu, Queipo-Ortuño, ve ark. (2008) yaptığı çalışmaya uygun şekilde aşağıda belirtildiği gibi yapıldı. Ekstraksiyonu yapılan DNA örnekleri amplifikasyon işlemleri yapılana kadar -20°C’de template DNA olarak kullanılmak üzere saklandı.

#### Kaynatma yöntemi

- Bakteri süspansiyonları 10.000 rpm’de 3 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant döklüldü ve 500 ml FTS eklendi.
- 12.000 rpm’de 3 dakika santrifüj edildi ve üstteki sıvı atıldı.
- 20 µl distile su eklendi.
- 100 °C’de 10 dakika kaynatıldı.
- 12.000 rpm’de 3 dakika santrifüj edildi ve elde edilen DNA bundan sonraki işlemlerde kullanılmak üzere -20 °C’de saklandı.

**2.2.2.2 Primerler:** Yapılan literatür araştırmalarında *S. Infantis*’in antibiyotik direnç genlerinin PZR ile belirlenmesinde kullanılan primerlere ait sekanslar Çizelge 2.3’de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.3.** Primerlerin baz dizileri, bağlandıkları spesifik gen bölgeleri, PZR ürünlerinin uzunlukları

| Primer<br>Adı        | Sekans                                                   | Hedef<br>Gen  | Ürün<br>Uzunluğu | Literatür           |
|----------------------|----------------------------------------------------------|---------------|------------------|---------------------|
| aphA1 F<br>aphA R    | 5'-AAACGTCTTGCTCGAGGC-3'<br>5'-CAAACCGTTATTCATTCGTGA-3'  | <i>aphA1</i>  | 461 bp           | Bolton ve ark. 2013 |
| tet(A) F<br>tet(A) R | 5'-GCTACATCCTGCTTGCCT-3'<br>5'-CATAGATCGCCGTGAAGA-3'     | <i>tet(A)</i> | 210 bp           | Guerra ve ark. 2001 |
| tet(B) F<br>tet(B) R | 5'-TTGGTTAGGGGCAAGTTTTG-3'<br>5'-GTAATGGGCCAATAACACCG-3' | <i>tet(B)</i> | 600 bp           | Bolton ve ark. 2013 |
| tet(G) F<br>tet(G) R | 5'-GCTCGGTGGTATCTCTGC-3'<br>5'-AGCAACAGAATCGGGAAC-3'     | <i>tet(G)</i> | 500 bp           | Guerra ve ark. 2001 |

### 2.2.2.3. PZR Optimizasyonu

PZR karışımı her bir örnek için 25 µl'lik final hacim olacak şekilde, optimizasyon için primer, MgCl<sub>2</sub>, dNTP, hedef DNA miktarları, Ta ısı derecesi ve buna göre değişen ddH<sub>2</sub>O miktarları ile aşağıdaki gibi hazırlandı.

### 2.2.2.4. PZR Amplifikasyonları

PZR amplifikasyonları için Carattoli ve ark. (2005) tarafından önerilen yöntem ile optimize edildi. Amplifikasyonlar için kullanılan reaksiyon karışımı ve amplifikasyon koşulları aşağıda verilmiştir.

#### Reaksiyon karışımı:

|                           |         |
|---------------------------|---------|
| Steril ddH <sub>2</sub> O | 14,8 µl |
| 10xPZR tampon çözeltisi   | 2,5 µl  |
| dNTP(10mM)                | 0,5 µl  |
| Forward primer,10 pmol    | 1 µl    |
| Reverse primer,10 pmol    | 1 µl    |
| MgCl <sub>2</sub> (25 mM) | 3 µl    |
| Taq DNA polimeraz         | 0,2 µl  |

olacak şekilde 23 µl'lik hacime tamamlanarak hazırlandı.

Bu ana karışımdan 23'er µl dağıtıldı ve her tüpe 2 µl örnek DNA's eklenerek toplam reaksiyon hacmi 25 µl'ye tamamlandı. Bu karışıma göre hazırlanan örnekler çoğaltma için önceden programlanan thermal cycler cihazına yerleştirildi. Örneklerin hazırlanması sırasındaki hata ve kontaminasyonlar belirlemek için pozitif ve tepkime karışımına kalıp DNA'nın yerine distile su negatif kontrol olarak kullanıldı.

#### Amplifikasyon Koşulları

|                 |   |           |
|-----------------|---|-----------|
| 94 °C, 3 dakika | } | 30 siklus |
| 94 °C, 1 dakika |   |           |
| 54 °C, 1 dakika |   |           |
| 72 °C, 1 dakika |   |           |
| 72 °C, 7 dakika |   |           |
| + 4 °C, ∞       |   |           |

$T_a$  (bağlanma sıcaklığı) her bir primer için ayrı ayrı  $T_a$  (°C)=  $2 \times (A+T) + 4 \times (G+C)$  formülünden hesaplanırken,  $T_m$  (uzama süresi) beklenen PZR ürününün baz çifti (bç) cinsinden uzunluğuna göre tayin edildi.

#### 2.2.2.5. Agaroz jel elektroforez agaroz jelin hazırlanması

Amplifikasyon sonrasında oluşan ürünlerin değerlendirilmesi için %1,5 agaroz jel hazırlandı. Agaroz jel hazırlanırken tampon solüsyon olarak 0,5 TBE tamponu kullanıldı. Agaroz 200 ml TBE tamponu içerisinde mikrodalga fırında eritildikten sonra, 8µl etidyum bromür ilave edilerek 20 cm'lik yatay jel elektroforez tablasına döküldü. 5mm kalınlığında dökülen agaroz üzerine elektroforez tarağı takılarak jelin katılaşması için 20 dakika beklenildi. Bu süre sonunda taraklar jele zarar vermeden çıkartıldı (Sambrook ve ark., 1989).

Jel elektroforez tablası elektroforez tankına yerleştirildikten sonra, elektroforez tankın içerisine TBE tampon solusyonu jelin 1mm uştune gelecek kadar ilave edildi. Elde edilen amplifikasyon uşrulerinden 10µl alınarak, 2µl 6X loading dye ile karıştırıldı. Bu karışımın hepsi jele yuşklendi. DNA uşrnekleri 180 voltta 60 dakika elektroforez işlemine tabi tutuldu (Sambrook ve ark., 1989).

#### **2.2.2.6. Görüntüleme iřlemi**

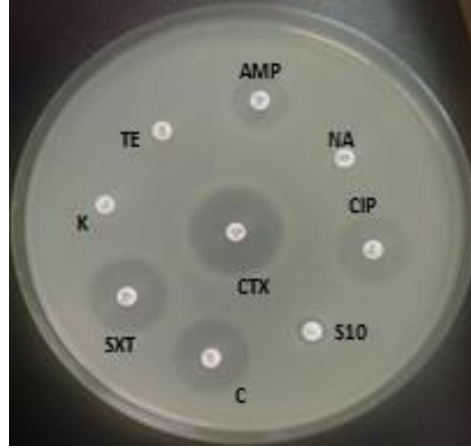
Jeldeki uşrnekler bilgisayarlı UV transilluminatör kutusu içine yerleştirilerek görüntülendi ve fotoğraflar çekilerek termal printerden kopyalar alındı.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Antibiyotik duyarlılık testlerine ait bulgular

##### 3.1.1 Disk diffüzyon bulguları

Tez kapsamında Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile tavuk orijinli 100 adet ve insan orijinli 50 adet olmak üzere toplam 150 adet *Salmonella* Infantis suşunun antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı. Duyarlılık testleri için penisilin grubu (ampisilin), sefalosporin grubu (sefotaksim ve seftazidim), amfenikoller grubu (kloramfenikol), kinolon grubu (nalidiksik asit ve siprofloksasin), tetrasiklin grubu (tetrasiklin), aminoglikozid grubu (gentamisin, kanamisin ve streptomisin), sülfonamid grubu (sülfonamid) ve benzilprimidin-sülfonamid gruplarının bir kombinasyonu olan trimetoprim/sülfametaksazol antibiyotikleri seçildi. Antibiyotik duyarlılık testlerinin kontrolünde standart suş olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, CLSI'nın kriterlerine göre değerlendirildi. *S. Infantis* suşlarının disk diffüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinin Mueller Hinton agardaki örnek görüntüsü Şekil 3.1'de verilmiştir.

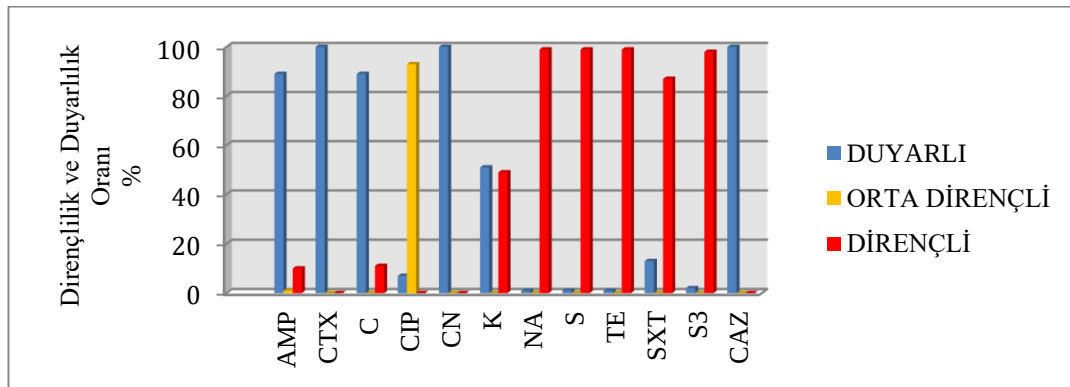


**Şekil 3.1.** Disk diffüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinin Mueller hinton agar üzerindeki örnek görüntüsü. (AMP; ampisilin, NA; nalidiksik asit, CIP; siprofloksasin, S10; streptomisin, C; kloramfenikol, SXT; trimetoprim/sülfametaksazol, K; kanamisin, TE; tetrasiklin, CTX; Sefotaksim )

İnsan orijinli 50 adet *S. Infantis* suşunun; 17(%2)'si kanamisine, 43(% 86)'sı nalidiksik aside, 42(%84)'si streptomisine, 41(%82)'i tetrasikline, 35(%70)'i trimetoprim/sülfametaksazole ve 41(%82)'i sülfonamide karşı dirençli bulundu. Suşların 1(%2)'i kloramfenikol'e ve 23(%56)'ü siprofloksasine orta düzeyde dirençli olarak saptanırken, ampisilin, gentamisin, sefotaksim ve seftazidim'e karşı direnç saptanmadı. İnsan orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotik duyarlılık durumları Çizelge 3.1 ve Şekil 3.2'de verilmiştir

**Çizelge 3.1.** İnsan orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotik duyarlılık durumları

| Antimikrobiyal ajan (Disk ) | Duyarlı  | Orta Düzeyde Dirençli | Dirençli |
|-----------------------------|----------|-----------------------|----------|
|                             | % (n=50) |                       |          |
| AMP                         | 100      | 0                     | 0        |
| CTX                         | 100      | 0                     | 0        |
| C                           | 98       | 2                     | 0        |
| CIP                         | 44       | 56                    | 0        |
| CN                          | 100      | 0                     | 0        |
| K                           | 66       | 0                     | 34       |
| NA                          | 14       | 0                     | 86       |
| S10                         | 16       | 0                     | 84       |
| TE                          | 18       | 0                     | 82       |
| SXT                         | 30       | 0                     | 70       |
| S3                          | 18       | 0                     | 82       |
| CAZ                         | 100      | 0                     | 0        |

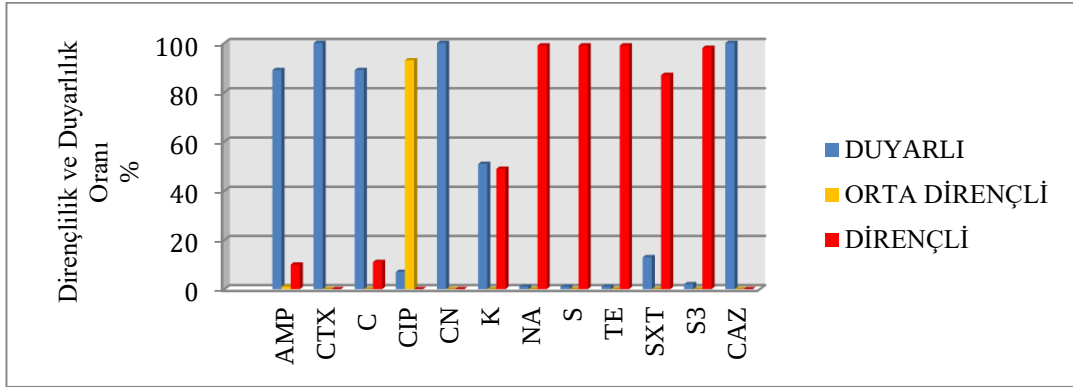


**Şekil 3.2.** İnsan orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotik duyarlılığı

Tavuk orijinli 100 adet *S. Infantis* suşun 11(%11)'i kloramfenikol'e, 49(%49)'u kanamisin'e, 87(%87)'si trimetoprim/sülfametaksazol'e, 98(%98)'i sülfonamide, 99(%99)'u nalidiksik asit, streptomisin ve tetrasikline karşı dirençli bulundu. Suşların 1(%1)'i ampsiline karşı orta düzeyde dirençli saptanırken, 10(%10)'u dirençli bulundu. Suşların 93(%93)'ü ise siprofloksasin'e karşı orta düzeyde dirençli olarak bulundu. Sefotaksim, gentamisin ve seftazidim'e karşı direnç saptanmadı. Tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotik duyarlılık durumları Çizelge 3.2 ve Şekil 3.3'de verilmiştir.

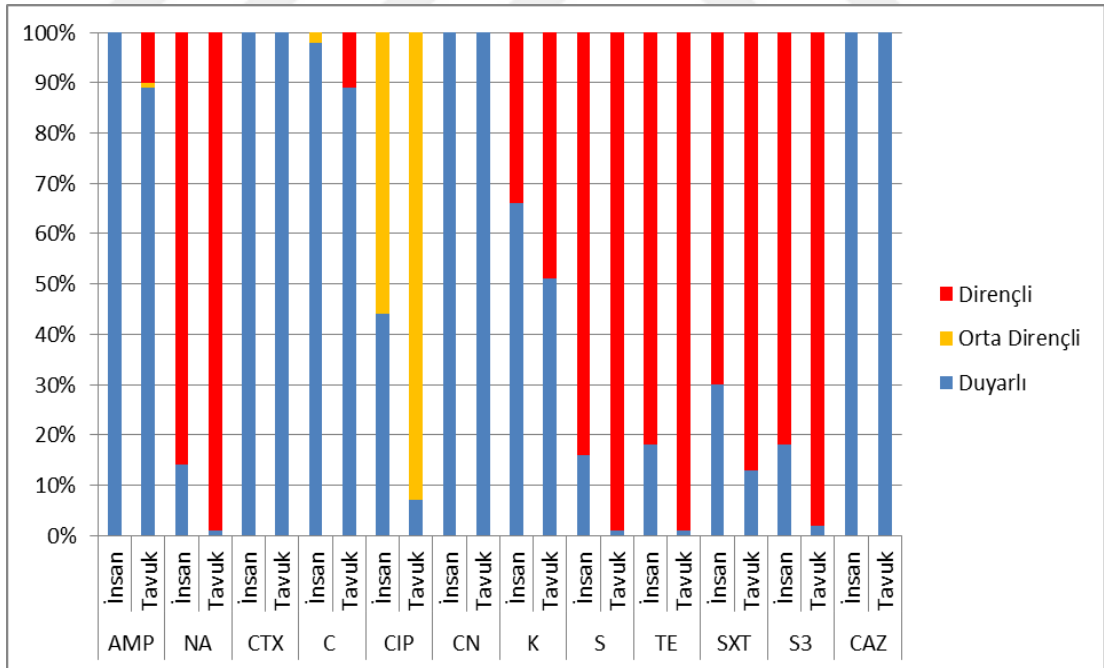
**Çizelge 3.2.** Tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotiklere duyarlılık durumları

| Antimikrobiyal ajan (Disk ) | Duyarlı   | Orta Düzeyde<br>Dirençli | Dirençli |
|-----------------------------|-----------|--------------------------|----------|
|                             | % (n=100) |                          |          |
| AMP                         | 89        | 1                        | 10       |
| CTX                         | 100       | 0                        | 0        |
| C                           | 89        | 0                        | 11       |
| CIP                         | 7         | 93                       | 0        |
| CN                          | 100       | 0                        | 0        |
| K                           | 51        | 0                        | 49       |
| NA                          | 1         | 0                        | 99       |
| S10                         | 1         | 0                        | 99       |
| TE                          | 1         | 0                        | 99       |
| SXT                         | 13        | 0                        | 87       |
| S3                          | 2         | 0                        | 98       |
| CAZ                         | 100       | 0                        | 0        |



**Şekil 3.3.** Tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotiklere duyarlılık dağılımları

İnsan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotik duyarlılık durumlarının karşılaştırılması Şekil 3.4.'te verilmiştir

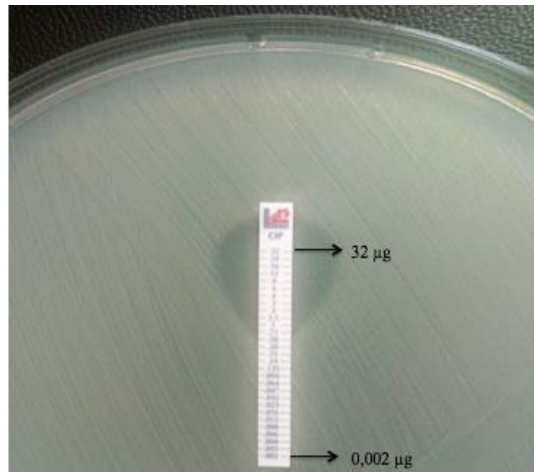


**Şekil 3.4.** İnsan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının antibiyotik dirençlilik durumlarının karşılaştırılması.

İnsan orijinli *S. Infantis* suşlarının %82'sinde çoklu antibiyotik direnci saptandı. En yaygın gözlenen Na-S10-Te-Sxt-S3 ve K-Na-S10-Te-Sxt-S3 çoklu direnç profilleri sırasıyla %36 ve %34 olarak bulundu. Suşların %14'ü tüm antibiyotiklere karşı duyarlı olarak bulundu. Tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının %99'unda çoklu antibiyotik direnci bulundu. En yaygın gözlenen Na-S10-Te-Sxt-S3 ve K-Na-S10-Te-Sxt-S3 çoklu direnç profilleri sırasıyla %39 ve %34 olarak saptandı.

### 3.1.2 E-test bulguları

Tavuk ve insan orijinli *S. Infantis* suşlarında siprofloksasin direncinin belirlenmesi amacıyla yapılan Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemine ilave olarak E-test yöntemi de kullanıldı. *S. Infantis* suşlarının E-test yöntemi ile siprofloksasin duyarlılık testlerinin Mueller hinton agardaki örnek görüntüsü Şekil 3.5'de verilmiştir.



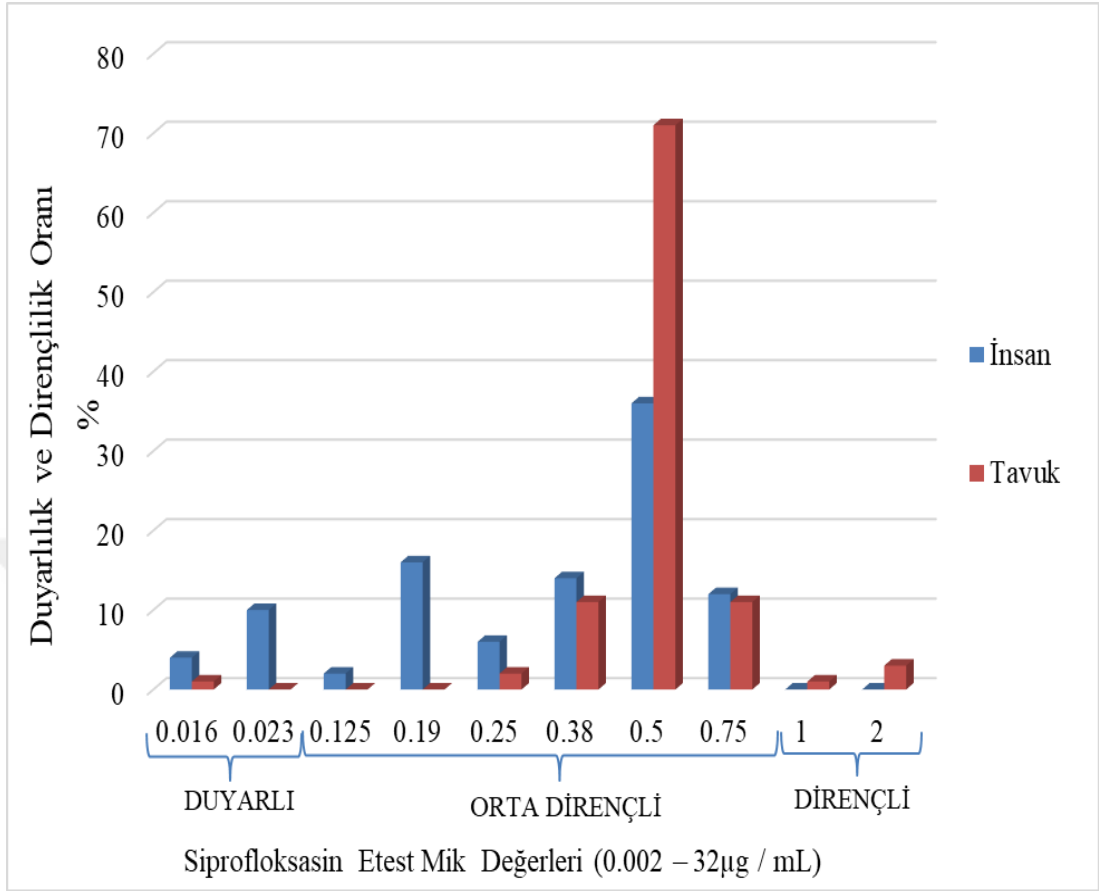
**Şekil 3.5.** E-test yöntemi ile siprofloksasin duyarlılık testlerinin Mueller Hinton agardaki örnek görüntüsü

E-test yöntemi ile insan orijinli suşların; 7(%14)'si siprofloksasine duyarlı bulunurken, 43(%86)'ü orta düzeyde dirençli bulundu. Siprofloksasine dirençli bir suş saptanmadı. Tavuk orijinli suşların 1(%2)'i siprofloksasine duyarlı olarak bulunurken, 95(%95)'i orta düzeyde dirençli ve 4(%4)'ü dirençli olarak bulundu. Suşların E-test yöntemi ile siprofloksasine olan dirençlilik durumları Çizelge 3.4'te verilmiştir.

**Çizelge 3.3.** S. Infantis suşlarının E-test yöntemiyle siprofloksasine karşı antibiyotik duyarlılık durumları

| S. Infantis<br>suşları     | Siprofloksasin E-Test Yöntemi ile Dirençli/Duyarlı<br>Saptanan Suş Sayıları ve Yüzdeleri<br>n(%) |                                 |                            |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
|                            | Siprofloksasin<br>Duyarlı                                                                        | Siprofloksasin<br>Orta Dirençli | Siprofloksasin<br>Dirençli |
| İnsan Orijinli<br>( n= 50) | 7(%14)                                                                                           | 43(%86)                         | 0(%0)                      |
| Tavuk orijinli<br>(n=100)  | 1(%1)                                                                                            | 95(%95)                         | 4(%4)                      |

Tavuk orijinli S. Infantis suşlarının siprofloksasin dirençlerinin insan orijinlilere göre yüksek düzeyde olduğu saptandı. E-test MİK değerlerine göre insan ve tavuk orijinli suşların siprofloksasin direnci karşılaştırmalı olarak Şekil 3.6'de verilmiştir.



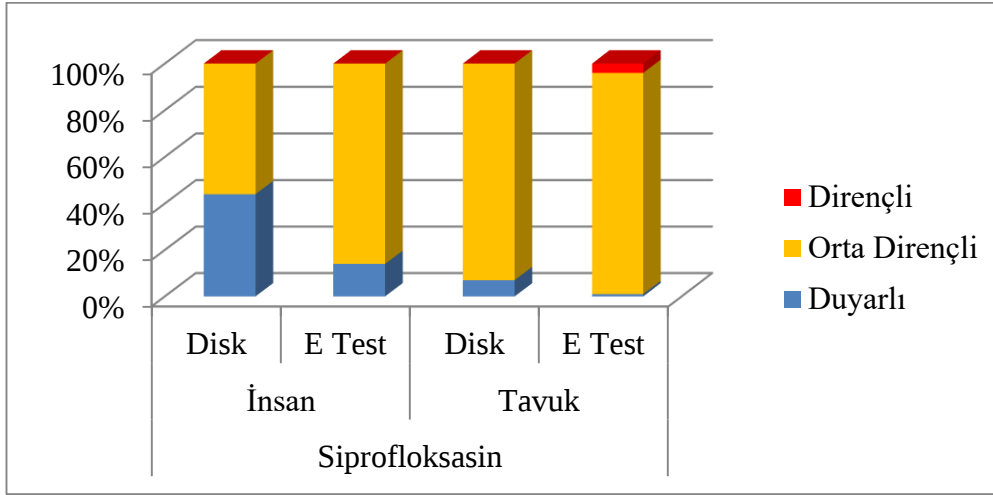
**Şekil.3.6.** İnsan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarında E-test yöntemi ile elde edilen siprofloksasin Mik değerlerinin karşılaştırılması

İnsan orijinli suşlarda disk diffüzyon yöntemi ile duyarlı bulunan 22 suşun E-test yöntemi ile 7'si benzer şekilde duyarlı ancak 15'inin orta düzeyde dirençli olduğu saptandı. Orta dirençli olarak saptanan 28 suşun tamamı E-test yöntemiyle de orta düzeyde dirençli olarak bulundu. Tavuk orijinli suşlarda disk diffüzyon yöntemi ile duyarlı bulunan 7 suşun, E-test yöntemi ile sadece 1'nin benzer şekilde duyarlı olduğu diğer 6 suşun siprofloksasine orta düzeyde dirençli oldukları saptandı. Disk diffüzyon yöntemi ile orta düzeyde dirençli oldukları saptanan 93 suşun ise E-test yöntemi sonuçlarına göre 89'unun yine orta düzeyde dirençli ancak 4'ünün yüksek düzeyde dirençli olduğu saptandı. İnsan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının disk diffüzyon ve E-test yöntemi ile elde edilen antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik testlerine ait karşılaştırmalı sonuçları Çizelge 3.4'de verilmiştir.

**Çizelge 3.4.** Disk diffüzyon ve E-test yöntemlerine göre insan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının siprofloksasine karşı duyarlı ve dirençli saptanan suşların karşılaştırılması

| Disk diffüzyon yöntemi ile<br>Siprofloksasin Dirençli/Duyarlı<br>saptanan suş sayıları |                                                   | E-Test yöntemi ile siprofloksasin<br>Dirençli/Duyarlı saptanan<br>suş sayıları |                                               |                                         |
|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------|
|                                                                                        |                                                   | Siprofloksasin<br>dirençli suş<br>sayısı                                       | Siprofloksasin<br>orta dirençli suş<br>sayısı | Siprofloksasin<br>duyarlı suş<br>sayısı |
| İnsan orijinli <i>S. Infantis</i><br>suşları (n=50)                                    | Siprofloksasin duyarlı suş<br>sayısı (n=22)       | 0                                                                              | 15                                            | 7                                       |
|                                                                                        | Siprofloksasin<br>orta dirençli suş sayısı (n=28) | 0                                                                              | 28                                            | 0                                       |
|                                                                                        | Siprofloksasin dirençli suş<br>sayısı (n= 0 )     | 0                                                                              | 0                                             | 0                                       |
| Tavuk orijinli <i>S. Infantis</i><br>suşları (n=100)                                   | Siprofloksasin duyarlı suş<br>sayısı (n=7)        | 0                                                                              | 6                                             | 1                                       |
|                                                                                        | Siprofloksasin<br>orta dirençli suş sayısı (n=93) | 4                                                                              | 89                                            | 0                                       |
|                                                                                        | Siprofloksasin dirençli suş<br>sayısı (n= 0)      | 0                                                                              | 0                                             | 0                                       |

Disk diffüzyon ve E-test yöntemi ile elde edilen sonuçlara göre siprofloksasine karşı duyarlılık ve dirençlilik dağılımları Şekil 3.7’de verilmiştir.



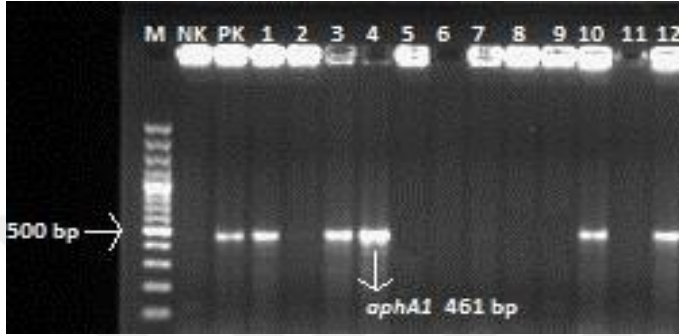
**Şekil 3.7.** Disk diffüzyon ve E-test yöntemi ile elde edilen sonuçlara göre siprofloksasine karşı duyarlılık ve dirençlilik dağılımları.

### 3.1.3 PZR Bulguları

Fenotipik olarak antibiyotik duyarlılıkları saptanan insan ve tavuk orijinli toplam 150 adet *S. Infantis* suşunda kanamisin ve tetrasiklin direnç genlerinin varlığı araştırıldı. Kanamisin direncinde rol oynayan *aphA1* ve tetrasiklin direncinde rol oynayan *tet(A)*, *tet(B)* ve *tet(G)* genlerine spesifik primerlerin kullanıldığı konvansiyonel monopleks-PZR yöntemi uygulandı. Bu yöntemin özgüllüğünü ortaya koymak için pozitif ve negatif kontrol suşları kullanıldı. *S. Infantis* suşlarındaki antibiyotik direnç genlerinin varlığı ile antimikrobiyal duyarlılık disk diffüzyon test sonuçları karşılaştırıldı.

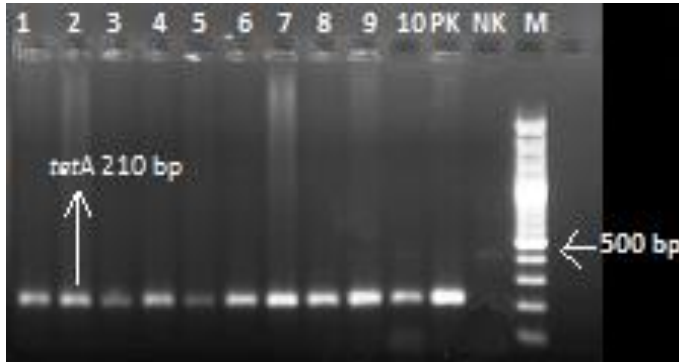
Kanamisin direncinde rol oynayan *aphA1* geni insan orijinli suşların sadece 1 (%2)'inde saptanırken, tavuk orijinli suşların 62 (%62)'sinde saptandı (Şekil 3.8). Tetrasiklin direncinde rol oynayan direnç genlerinden *tet(A)* geni insan ve tavuk orijinli suşlarda sırasıyla 41(%82)'inde ve 98 (%98)'inde bulundu (Şekil 3.9). İnsan

ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının hiçbirinde *tet(B)* genin varlığı saptanmadı. *Tet(G)* geni ise insan orijinli suşların 25(%50)'inde saptanırken tavuk orijinli suşların 63 (%63)'ünde saptandı. Tavuk ve insan orijinli *S. Infantis* suşlarında saptanan direnç genlerinin dağılımı Çizelge 3.6'da verilmiştir.



**Şekil 3.8.** *aphA1* geninin jel elektroforez görüntüsü

M: 100 bp marker; NK: negatif kontrol; PK: pozitif kontrol; 1, 3, 4, 10 ve 12 no'lu örnekler pozitif; 2, 5, 6, 7, 8, 9 ve 11 no'lu örnekler negatiftir.



**Şekil 3.9.** *tet(A)* geninin jel elektroforez görüntüsü

M: 100 bp marker; NK: negatif kontrol; PK: pozitif kontrol; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 no'lu örnekler pozitif

**Çizelge 3.5.** *S. Infantis* suşlarında direnç genlerinin dağılımı

| Direnç geni    | İnsan Orijinli (n=50) |                 | Tavuk Orijinli (n=100) |                 |
|----------------|-----------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
|                | Pozitif<br>n(%)       | Negatif<br>n(%) | Pozitif<br>n(%)        | Negatif<br>n(%) |
| <i>aphA1</i>   | 1(2)                  | 49(98)          | 62(62)                 | 38(38)          |
| <i>tet (A)</i> | 41(82)                | 9(18)           | 98(98)                 | 2(2)            |
| <i>tet (B)</i> | 0(0)                  | 50(100)         | 0(0)                   | 100(100)        |
| <i>tet (G)</i> | 25(50)                | 25(50)          | 63(63)                 | 37(37)          |

Kanamisin duyarlı/dirençli bulunan *S. Infantis* suşlarında *aphA1* gen varlığı Çizelge 3.6’de verilmiştir.

**Çizelge 3.6.** Kanamisin duyarlı/dirençli bulunan *S. Infantis* suşlarında *aphA1* gen varlığı

| Disk Diffüzyon<br>Yöntemi ile Kanamisin<br>Dirençli/Duyarlı<br>Saptanan Suş Sayıları |                                  | Kanamisin direnç geni <i>aphA1</i> |                                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
|                                                                                      |                                  | <i>aphA1</i> Direnç Geni<br>(+)*   | <i>aphA1</i> Direnç Geni<br>(-)** |
| İnsan orijinli<br><i>S. Infantis</i> suşları<br>(n=50)                               | Kanamisin<br>Dirençli<br>(n=17 ) | 1                                  | 16                                |
|                                                                                      | Kanamisin<br>Duyarlı<br>(n=33)   | 0                                  | 33                                |
| Tavuk orijinli<br><i>S. Infantis</i> suşları<br>(n=100)                              | Kanamisin<br>Dirençli<br>(n=49 ) | 41                                 | 8                                 |
|                                                                                      | Kanamisin<br>Duyarlı<br>(n=51)   | 21                                 | 30                                |

\*(+) Direnç geni saptanan

\*\*(-)Direnç geni saptanmayan

Fenotipik olarak tetrasiklin duyarlı/dirençli bulunan insan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarında *tet(A)*, *tet(B)* ve *tet(G)* direnç genlerinin varlığı Çizelge 3.7’de verilmiştir.

**Çizelge 3.7.** Tetrasiklin duyarlı/dirençli bulunan *S. Infantis* suşlarında *tet(A)*, *tet(B)* ve *tet(G)* direnç genlerinin varlığı

| Disk diffüzyon yöntemi ile tetrasiklin Dirençli/Duyarlı saptanan suş sayıları |                              | Tetrasiklin direnç genleri      |                                  |                                 |                                  |                                 |                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
|                                                                               |                              | <i>tet (A)</i> Direnç geni (+)* | <i>tet (A)</i> Direnç geni (-)** | <i>tet (B)</i> Direnç geni (+)* | <i>tet (B)</i> Direnç geni (-)** | <i>tet (G)</i> Direnç geni (+)* | <i>tet (G)</i> Direnç geni (-)** |
| İnsan orijinli <i>S. Infantis</i> suşları (n=50)                              | Tetrasiklin dirençli (n=41 ) | 41                              | 0                                | 0                               | 41                               | 21                              | 20                               |
|                                                                               | Tetrasiklin duyarlı (n=9 )   | 0                               | 9                                | 0                               | 9                                | 4                               | 5                                |
| Tavuk orijinli <i>S. Infantis</i> suşları (n=100)                             | Tetrasiklin dirençli (n=99 ) | 98                              | 1                                | 0                               | 99                               | 63                              | 36                               |
|                                                                               | Tetrasiklin duyarlı (n=1)    | 0                               | 1                                | 0                               | 1                                | 0                               | 1                                |

\*(+) Direnç geni saptanan

\*\*(-)Direnç geni saptanmayan

#### 4. TARTIŞMA

Bu çalışmada insan orijinli 50 adet *S. Infantis* suşunun; 17(%14)'si kanamisine, 43(% 86)'sı nalidiksik aside, 42(% 84)'si streptomisine, 41(%82)'i tetrasikline, 35(%70)'i trimetoprim/sülfametaksazole ve 41(% 82)'i sülfanamide karşı dirençli bulundu. Suşların 1(%2)'i kloramfenikol'e ve 23(%56)'ü siprofloksasine orta düzeyde dirençli olarak saptanırken, ampisilin, gentamisin, sefotaksim ve seftazidim'e karşı direnç görülmedi.

Abbasoğlu ve Akçelik (2011), broyler *S. Infantis* suşlarının (n=18) kanamisin, tetrasiklin, streptomisin, sülfonamid bileşikleri ve nalidiksik aside karşı yüksek düzeyde direnç tespit etmişlerdir.

Ceyssens ve ark. (2015), 2009-2013 yılları arasında insanlardan izole edilen *Salmonella enterica* izolatlarının %67'sinin en az 1 antibiyotiğe karşı direnç gösterdiğini, %32,4'ünün çoklu ilaç direncine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, *S. Infantis* ve *S. Kentucky* serotiplerinin siprofloksasin ve sefotaksime karşı 5 yıllık süre boyunca artan bir dirençlilik olduğunu bildirmişlerdir.

EFSA ve ECDC (2016), yıllık raporunda insan orijinli *S. Infantis*'lerde en yüksek antibiyotik direnç düzeyini tetrasiklin (%48,3), nalidiksik asit (%44) ve sülfonamitlere (%42) karşı rapor edilmiştir. Siprofloksasin ve sefotaksime olan dirençlilik sırasıyla % 16,4 ve %5,4 olarak diğer tüm *Salmonella* spp.'lere göre daha yüksek düzeyde rapor edilmiştir. Siprofloksasin direnç düzeyini Slovenya %81,3 ve Avusturya %75 oranında en yüksek rapor eden ülkeler olmuştur. İtalya, Sefotaksim ve seftazidim'e karşı dirençliliği %64,7 oranında en yüksek rapor eden ülke olmuştur.

İnsan orijinli *S. Infantis* suşlarının %61,9 oranında yüksek düzeyde çoklu ilaç direncine sahip oldukları rapor edilmiştir.

Bu araştırmada elde edilen antibiyotik direnç bulguları araştırmacıların elde ettikleri bulgulara göre farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıkta en önemli faktör, suşların orijinlerinin farklı olmasından kaynakladığı düşünülmektedir.

Tez çalışmasında tavuk orijinli 100 adet *S. Infantis* suşunun; 11(%11)'i kloramfenikol'e, 49(%49)'u kanamisin'e, 87(%87)'si trimetoprim sülfametaksazol'e, 98 (% 98)'i sülfonamide, 99(%99)'u nalidiksik asit, streptomisin ve tetrasikline karşı dirençli bulundu. Suşların 1 (%1)'i ampisiline karşı orta düzeyde dirençli saptanırken, 10(%10)'u dirençli bulundu. Suşların 93(%93)'ü ise siprofloksasin'e karşı orta düzeyde dirençli olarak bulundu. Sefotaksim, gentamisin ve seftazidim'e karşı direnç saptanmadı.

Mladen ve ark. (2014), Sırbistanda 2012 yılında broyler karkasından (n=17) ve insanlardan (n=5) izole ettikleri *S. Infantis* suşlarının ampisilin ve nalidiksik asit (%95,5), tetrasiklin(%91), sefotaksim/klavulanik asit(%69,2)'e karşı yüksek düzeyde dirençli olduklarını tespit etmişlerdir. Siprofloksasin, gentamisin ve trimetoprim sulfametaksazole karşı duyarlı olarak tespit etmişlerdir. Broyler orijinli suşlar ampisilin, sefotaksim/klavulanik asid ve tetrasikline karşı direnç olarak tespit edilirken, insan orijinli suşların ampisilin, tetrasiklin ve nalidiksik aside dirençli tespit etmişlerdir.

Shadada ve ark. (2006), kanatlılardan izole ettikleri *S. Infatis* suşlarını streptomisin (%97), sülfametaksazol (%95,6), oksitetrasiklin (%94,8), ofloksasin (%36,3), kanamisin (%11,1) ve ampisilin (%0,7)'e karşı dirençli olarak tespit etmişler.

Kudaka ve ark. (2006), tavuk etleri ve broylerlerden yaygın olarak izole ettikleri *S. Infantis* suşlarında, broyler izolatlarının tetrasiklin (%99), streptomisin(%76), trimetoprim/sülfametaksazol (%71) ve kanamisin(%50)'e karşı dirençli olduklarını tespit etmiş olup, tavuk etleri izolatlarında da benzer düzeyde yüksek direnç tespit etmişlerdir. Çalışmada suşların ampisilin, gentamisin, nalidiksik asit ve kloramfenikole %99-%100 oranlarında duyarlı oldukları belirlemişlerdir.

Yener ve ark. (2012), çoğunluğu tavuk etlerinden olmak üzere hayvansal kaynaklı gıda örneklerinden izole edilen 41 *Salmonella* spp.'nin antibiyotik dirençlilik profillerini araştırmak için yaptıkları çalışmada, izolatların %100'ü sülfonamid, %66'sı tetrasiklin, %59'u nalidiksik asit, %51'i trimetoprim/sulfametoksazol, % 49'u siprofloksasin, %39'u kanamisine karşı dirençli olarak tespit etmişlerdir. İzolatların %59'unun, beş ya da daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduğu belirlenmiştir.

Asgharpour ve ark. (2014), 2009-2011 yılları arası tavuklardan izole edilen 50 *S. Infantis* suşunun tamamını nalidiksik asit, tetrasiklin ve streptomisine karşı dirençli olarak tespit etmişlerdir. Suşların seftazidim, ampisilin ve gentamisine karşı direnci sırasıyla %28, %10 ve %2 olarak tespit edilmiştir. Siprofloksasin ve sefotaksime karşı direnç tespit etmemişlerdir.

Ghoddusi ve ark. (2015), tavuk orijinli 44 *S. Infantis* suşunun tamamını tetrasikline karşı dirençli olarak saptamışlardır. Kloramfenikole karşı dirençlilik %79 oranında tespit edilirken, ampisilin, sefotaksim, ve trimetoprim sülfametaksazole karşı %100 duyarlı olarak tespit edilmiştir.

Avşaroğlu ve ark. (2007), 2005-2006 yılları arasında Ankara'da tavuk eti ve kıymadan izole ettikleri *S. Infantis* suşlarında kanamisin, neomisin, nalidiksik asit, streptomisin, spektinamisin, sulfametaksazol, tetrasiklin ve trimetoprim sulfametaksazole karşı direnç tespit etmişlerdir.

Rahmani ve ark. (2013), broyler çiftliklerinden izole ettikleri 27 *S. Infantis* suşunu tetrasiklin, nalidiksik asit, streptomisin ve siprofloksasine karşı %100 dirençli olarak tespit etmişlerdir.

Şahan ve ark. (2016), 2012-2013 yılları arasında broyler tavuk dışkılarından izole ettikleri çeşitli *Salmonella* serovarlarında antibiyotik direnci ortaya koymak için yaptıkları çalışmada dominant serotip olarak bulunan *S. Infantis* (%77,2) suşlarının antimikrobiyallere karşı direnç oranları nalidiksik aside %92,7, sülfonamide %92,3, tetrasikline %88,3, trimetoprim %78,6, streptomisin %46,1, ampisiline %22,8, kloramfenikole %19, gentamisine %2 ve siprofloksasine %1,9 olarak tespit etmişlerdir. Sefotaksime karşı bir direnç tespit etmemişlerdir. Çalışmada kullanılan *Salmonella* suşlarının %89,51'i en az üç ve üçten fazla antimikrobiyole dirençli olduğu bildirilmiş olup, direnç çoğunlukla trimethoprim (%67), tetrasiklin(%60) ve streptomisine(%58)' karşı bildirilmiştir.

EFSA ve ECDC, 2016 yılı raporunda Avrupa'da broyler sürülerinde *S. Infantis* suşlarının sulfametaksazol ve tetrasikline karşı sırasıyla %82,7 ve %81,3 oranında yüksek düzeyde direnç olduğunu rapor etmişlerdir. Çoğu ülkede siprofloksasin direnç düzeyi yüksek düzeylerde bildirilmiştir. Siprofloksasin direnci Bulgaristan, Hırvatistan, Macaristan, Slovakya ve Slovenya'da %100 olarak rapor edilmiştir. Avrupada broylerlerden izole edilen *Salmonella* spp. genel olarak çoklu ilaç direncinin yüksek olmasına en büyük etken yaygın olarak izole ediken *S. Infantis*'lerdir. Bu serovar broylerlerdeki *Salmonella* izolatların gösterdiği çoklu ilaç direncinin %31'inden sorumludur. Broyler etlerinden izole edilen *S. Infantis* suşlarının ampislin-tetrasiklin ve sulfametaksazol çoklu antibiyotik direnci %70'in üzerinde rapor edilmektedir. İtalyada broylerlerden izole edilen *S. Infantis* suşlarında üçüncü kuşak sefalosporinlere ve siprofloksasine karşı yüksek düzeyde direnç olduğu rapor edilmiştir.

Kanatlı orijinli suşlarda bu çalışmada elde edilen nalidiksik asit, tetrasiklin ve streptomisine karşı elde edilen yüksek dirençlilik, diğer araştırmacıların bulgularına benzerlik gösterirken, diğer antibiyotiklere direnç düzeyleri farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu durumun, kanatlılarda kullanılan antibiyotiklerle ilişkili olarak ülkeler arası farklılıktan kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada insan ve tavuk orijinli suşların disk diffüzyon yöntemi ile elde edilen antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik sonuçları karşılaştırıldığında; her iki orijinli *S. Infantis* suşlarının ampisilin, gentamisin, sefotaksim, seftazidim ve kloramfenikole karşı oldukça yüksek düzeyde ( $\geq$  %89) duyarlı oldukları saptandı. İnsan orijinli suşların %44'ü siprofloksasine karşı duyarlı %56'sı orta düzeyde dirençli olarak saptanırken, tavuk orijinli suşların siprofloksasine karşı daha yüksek düzeylerde (%7 duyarlı, %93 orta düzeyde direnç) direnç olduğu saptandı. Kanamisine olan direnç düzeyleri karşılaştırıldığında, insan orijinli suşların (%66 duyarlı, %34 dirençli) ve tavuk orijinli suşların (%51 duyarlı, %49 dirençli) benzer düzeyde duyarlılık ve direnç oranlarına sahip oldukları saptandı. Nalidiksik asit, tetrasiklin, streptomisin, trimetoprim/sülfametaksazol ve sülfonamide olan dirençlilik ise hem insan hemde tavuk orijinli suşlarda oldukça yüksek düzeylerde ( $\geq$  %70) olduğu saptandı.

Bu çalışmada insan orijinli *S. Infantis* suşlarının % 82'sinde çoklu antibiyotik direnci saptandı. En yaygın gözlenen Na-S10-Te-Sxt-S3 ve K-Na-S10-Te-Sxt-S3 karşı çoklu direnç profilleri sırasıyla %36 ve %34 olarak bulundu. Suşların %14'ü tüm antibiyotiklere karşı duyarlı olarak bulundu. Tavuk orijinli *S. Infantis* suşların %99'unda çoklu antibiyotik direnci tespit edildi. En yaygın gözlenen Na-S10-Te-Sxt-S3 ve K-Na-S10-Te-Sxt-S3 karşı çoklu direnç profilleri sırasıyla %39 ve %34 olarak saptandı.

Dionisi ve ark. (2011), çoğu insan orijinli olmak üzere çevresel örnek, gıda ve hayvanlardan izole edilen 70 *S. Infantis* suşunda yaygın olarak Amp-C-S10-S3-Tet-K-Sxt çoklu antibiyotik direnç profilini tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada insan ve tavuk orijinli suşların çoklu dirençlilikleri karşılaştırıldığında, benzer direnç profillerin olduğu görüldü. Gentamisin, seftazidim ve sefotaksime karşı hem insan hem de tavuk orijinli suşlarda bir dirençlilik saptanmazken, nalidiksik asit, streptomisin, tetrasiklin, trimetoprim/sülfametaksazol ve sülfonamide karşı benzer oranda yaygın bir dirençlilik gözlemlendi. İnsan orijinli suşlarda ampisline karşı bir direnç gözlenmezken tavuk orijinli suşların %10'u bu antibiyotiğe karşı dirençli olarak saptandı. Bu çalışmada elde edilen çoklu dirençlik bulguları ile diğer araştırmacıların elde ettikleri bulgular karşılaştırıldığında, tetrasiklin, streptomisin ve nalidiksik asit çoklu dirençliliklerinin benzer olduğu belirlendi. Diğer çoklu dirençliliklerin çalışmalarda farklılık göstermesi, suşların orijinleri ile ilişkilendirilebilir.

Çalışmada E-test yöntemi ile insan orijinli suşların; %14'ü siprofloksasine duyarlı bulunurken, %86'sı orta düzeyde dirençli olarak bulundu. Siprofloksasine dirençli bir suş saptanmadı. Tavuk orijinli suşların %1'i siprofloksasine duyarlı olarak bulunurken, %95'i orta düzeyde dirençli ve %4'ü dirençli olarak bulundu. Tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının siprofloksasin dirençlilikleri insan orijinlilere göre daha yüksek düzeyde olduğu saptandı.

Ercis ve ark. (2006), ülkemizde insan klinik örneklerinden izole ettikleri ve *S. Infantis*'in de yer aldığı C1 grubu *Salmonella* suşlarının %60,5'inde siprofloksasine karşı düşük düzeyde duyarlılık tespit etmişlerdir.

Pribul ve ark. (2015), insan klinik örnekleri, gıdalar ve çevresel örneklerden izole ettikleri tifo dışı *Salmonella* izolatlarının %42,6'sında disk difüzyon ile siprofloksasine karşı direnç tespit etmişlerdir. İzolatları mikrodilüsyon testi ile

incelediklerinde %56,6'sında siprofloksasine karşı direnç saptarken, %36,4'ünde 0.125-0.5 mg/mL arasında MİK düzeyi belirlemiş ve bu suşların siprofloksasine karşı azalmış duyarlılık gösterdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar disk difüzyon ve mikrodilüsyon sonuçları arasında uyumsuzluklar tespit etmiş olup, disk difüzyonun etkin bir tarama testi olduğunu ancak direnç profilini doğru olarak göstermeyeceğini ileri sürmüşlerdir.

National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) 2014 yılı sorveyans raporunda insanlardan izole edilen tifo dışı *Salmonella* izolatlarında siprofloksasine azalan duyarlılığı %4,3 (92/2127) olarak rapor etmiştir (CDC, 2014).

Bu çalışmada insan orijinli suşlarda disk diffüzyon yöntemi ile duyarlı bulunan 22 suşun E-test yöntemi ile 7'si benzer şekilde duyarlı ancak 15'inin orta düzeyde dirençli olduğu saptandı. Orta dirençli olarak saptanan 28 suşun tamamı E-test yöntemiyle de orta düzeyde dirençli olarak bulundu. Tavuk orijinli suşlarda disk diffüzyon yöntemi ile duyarlı bulunan 7 suşun, Etest yöntemi ile sadece 1'nin benzer şekilde duyarlı olduğu diğer 6 suşun siprofloksasine orta düzeyde dirençli oldukları saptandı. Disk diffüzyon yöntemi ile orta düzeyde dirençli oldukları saptanan 93 suşun ise E-test yöntemi sonuçlarına göre 89'unun yine orta düzeyde dirençli ancak 4'ünün yüksek düzeyde dirençli olduğu saptandı. Elde edilen bu bulgular diğer araştırmacıların bulguları ile karşılaştırıldıklarında, insan orijinli suşlarda benzer bulunurken tavuk orijinli suşlarda bu çalışmada elde edilen bulgular yüksek bulunmuştur. Bu farklılık, tavuklarda kullanılan kinolon grubu antibiyotiklerin kullanımları ile ilişkilendirilebilir.

Bu çalışmada disk difüzyon ve E-test yöntemi izlenerek yapılan antibiyotik duyarlılık test sonuçları karşılaştırıldığında, disk diffüzyon yöntemi ile insan orijinli *S. Infantis* suşlarının %44'ü siprofloksasine karşı duyarlı bulunurken %56'sı orta

düzeyde dirençli bulundu. E-test yönteminde ise suşların %14'ü duyarlı olarak bulunurken %86'sı orta düzeyde dirençli olarak saptandı. Tavuk orijinli suşlar disk diffüzyon yöntemi ile siprofloksasine %7 duyarlı, %93 orta düzeyde dirençli saptanırken, E-test yöntemi ile %1 duyarlı, %95 orta düzeyde dirençli ve %4 yüksek düzeyde dirençli olarak bulundu.

Bu çalışmada kanamisin direncinde rol oynayan *aphA1* geni insan orijinli suşların sadece %2'sinde saptanırken, tavuk orijinli suşların %62'sinde saptandı. Tetrasiklin direncinde rol oynayan direnç genlerinden *tet(A)* geni insan ve tavuk orijinli suşlarda sırasıyla %82 ve %98 oranında bulundu. İnsan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının hiçbirinde *tet(B)* genin varlığı saptanmadı. *tet(G)* geni ise insan orijinli suşların %50'sinde saptanırken tavuk orijinli suşların %63'ünde saptandı.

Shahada ve ark. (2010), 2004-2006 yılları arası broylerlerden izole edilen 120 *S. Infantis* suşlarında kanamisin dirençli suşların tamamında *aphA1* geni tespit etmişlerdir. Oksitetrasiklin dirençli saptanan tüm suşlarda *tet(A)* geni saptanırken *tet(B)* ve *tet(G)* geni tespit edilememiştir.

Fonseca ve ark.(2006), Brezilya'da 1999-2001 yılları arası insanlardan izole edilen 35 *S. Infantis* suşunun antibiyotik direnç profillerinin direnç genleri ile ilişkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada, çoklu antibiyotik direnç profili gösteren suşların %97'sinde tetrasiklin dirençliliği tespit edilmiş olup bu dirençliliğin *tet(D)* geni ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Todorovic ve ark. (2015), tavuk orijinli 18 adet *S. Infantis* suşunda tetrasiklin dirençli olarak saptananların *tet(A)* genini barındıklarını tespit etmişlerdir. Tetrasiklin dirençli hiç bir suşta *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*, *tet(E)* ve *tet(G)* genlerini tespit

etmemişlerdir.

Dionisi ve ark. (2011), çoğu insan orijinli olmak üzere çevresel örnek ,gıda ve hayvanlardan izole edilen 70 *S. Infantis* suşunun çoklu antibiyotik direnci gösteren suşlarında direnç gen varlığını ortaya koymak için yaptıkları moleküler analizler sonucunda çoklu direnç gösteren tetrasiklin dirençli 27 suшта *tet(B)*, 6 suшта *tet(A)* geninin varlığı tespit etmişlerdir. Hiç bir suшта *tet(A)* ve *tet(B)* genlerinin varlığını bir arada tespit etmemişlerdir. Kanamisin dirençli 26 suşun tamamında *aphA1* geninin varlığını tespit etmişlerdir..

Gal-Mor ve ark. (2010), insan, tavuk ve gıda orijinli toplam 87 *S. Infantis* suşunda yaygın olarak tetrasiklin direnci tespit etmiş olup, yaptıkları moleküler analizler sonucunda tetrasiklin direncinden *tet(A)* geninin sorumlu olduğunu tespit etmişlerdir.

Hamada ve ark.(2003), çoklu antibiyotik direnç profiline sahip 12 *S. Infantis* suşunun tetrasiklin direncinden sorumlu olarak tüm suşlarda *tet(A)* geni tespit etmişlerdir. Kanamisin dirençliliği ile ilişkili olarak tüm suşlarda *aphA1* genini tespit etmişlerdir.

Ghoddusi ve ark.(2015), tetrasiklin dirençli tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarının hiçbirinde *tet(A)* ve *tet(G)* genini tespit edememişlerdir. Bunun nedeni olarak çalışmada araştırılmayan diğer direnç genlerinin sorumlu olduğunu düşünmüşlerdir.

Nogrady ve ark.(2007), insan ve broyler orijinli *S. Infantis* suşların %72'sini Na-S3-S10-Tet çoklu direnç profiline sahip olarak tespit etmişlerdir.Tetrasiklin

dirençli suşların çoğunda (103/110) *tet(A)* geni tespit edilirken, *tet(B)* geni hiç bir suşta tespit edilmemiştir.

Rahmani ve ark. (2013), broyler çiftliklerinden izole ettikleri 27 *S. Infantis* suşunun tamamını tetrasikline karşı dirençli olarak tespit etmiş olup, tetrasikline dirençli olan suşların tamamında *tet(A)* genin varlığını saptamış olup suşların hiç birinde *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)* ve *tet(G)* genlerini tespit etmemişlerdir.

Shadada ve ark.(2006), kanatlılardan izole ettikleri *S. Infantis* suşlarında oxytetrasiklin dirençli suşların %89'unun *tet(A)*, kanamisin dirençli suşların %40'ının *aphA1* geni taşıdığı tespit etmişlerdir.

Asai ve ark.(2006), tavuk eti ve broyler orijinli *S. Infantis* suşlarında oxytetrasiklin ve kanamisine karşı yüksek düzeyde direnç tespit etmiş olup, tetrasiklin dirençli tüm suşlarda *tet(A)* geni varlığını tespit etmişlerdir. Çalışmada *tet(A)*'dan başka tetrasiklin direncinden sorumlu diğer genler araştırılmamıştır. Kanamisin dirençli tüm suşlarda *aphA1* geni tespit edilmiştir.

Bu çalışmada kanamisin duyarlı bulunan insan orijinli 33 suşun hiçbirinde *aphA1* direnç geni bulunmadı. Kanamisin dirençli bulunan 17 suşun ise sadece 1'inde *aphA1* direnç geni bulundu. Tavuk orijinli suşlardan kanamisin dirençli olarak bulunan 49 suşun 41'inde *aphA1* geni saptanırken, kanamisin duyarlı olarak bulunan 51 suşun ise 21'inde *aphA1* direnç geni saptandı. Tetrasiklin dirençli olarak bulunan insan orijinli 41 suşun tamamında *tet(A)* geni saptandı. Tavuk orijinli suşlarda ise dirençli bulunan 99 suşun 98'inde *tet(A)* geni tespit edildi. Hem insan hem de tavuk orijinli suşların hiç birinde *tet(B)* geni saptanmadı. *Tet(G)* geni, tetrasiklin dirençli olarak bulunan insan orijinli suşların 21'inde saptanırken, duyarlı olarak bulunan suşların 4'ünde tespit edildi. Tavuk orijinli suşlarda ise dirençli bulunan 99 suşun

63'ünde *tet*(G) geni saptandı. Diğer çalışma bulguları ile karşılaştırıldığında elde edilen bulgular benzer bulunmuştur.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında insan ve tavuk orijinli toplam 150 adet *S. Infantis* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile, siprofloksasine karşı azalan direnç ise E-test yöntemi ile saptandı. Tetrasiklin direncinde rol oynayan *tet(A)*, *tet(B)* ve *tet(G)* genleri ile kanamisin direncinde rol oynayan *aphA1* geninin varlıkları PZR yöntemi kullanılarak ortaya konuldu.

Tezde elde edilen antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre; hem insan hem de tavuk orijinli *S. Infantis* suşları nalidiksik asit, streptomisin, tetrasiklin, trimetoprim/sülfametaksazol ve sülfonamid'e karşı %70-%99 arasında değişen oranlarda dirençli olarak bulundu. Kanamisin'e karşı insan ve tavuk orijinli suşlarda sırasıyla %34 ve %49 oranlarında dirençlilik saptandı. Ampsilin, gentamisin seftaksim ve seftazidime karşı suşlarda direnç saptanmadı. Dirençli saptanan her bir antibiyotik için direnç oranı tavuk orijinli suşlarda insan orijinlilere göre daha yüksek olarak gözlendi.

Disk diffüzyon yöntemi ile tüm *S. Infantis* suşlarının %77.3'ü siprofloksasine karşı orta düzeyde dirençli olarak saptanırken, E-test yöntemi ile bu oran %92'ye yükselmiştir. Tavuk ve insan orijinli suşların hiçbirinde disk diffüzyon yöntemi kullanıldığında siprofloksasine karşı yüksek düzeyde direnç saptanmazken, E-test yöntemi ile suşların %2.6'sında yüksek düzeyde direnç saptandı. Bu sonuçlar siprofloksasin direncinin ortaya konulmasında E-test yönteminin daha güvenilir olduğunu düşündürmektedir.

Kanamisin direncinde rol oynayan *aphA1* direnç geni tavuk orijinli suşların %62'sinde saptanırken, insan orijinli suşların sadece %2'sinde saptandı. Tetrasiklin

direncinde rol oynayan antibiyotik direnç genlerinden *tet(A)*, *tet(B)* ve *tet(G)* genleri araştırılmış olup tüm suşlarda yaygın olarak *tet(A)* geni saptanmıştır. İnsan orijinli suşlarda *tet(A)* ve *tet(G)* sırasıyla %82 ve %50 oranlarından saptanırken, tavuk orijinli suşlarda bu oranlar %98 ve %63 olarak daha yüksek düzeylerde saptandı. *Tet(B)* geni hiç bir suшта saptanmadı.

S. Infantis suşlarında antibiyotik direncinin hem insan hem de hayvansal orijinli suşlarda izlenmesi ve bu izlemenin düzenli olarak yapılması ve elde edilen bulgulara göre direnç azaltma programlarının belirlenmesi gerekmektedir. Etkin antibiyotik direnç azaltma programlarının yürütülmesi sonrasında, insan sağlığı açısından çok önemli bir konu olan antibiyotik dirençliliğinin *Salmonella* serotiplerinde azalması mümkün olacaktır.

## ÖZET

### **Tavuk ve İnsan Orijinli *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar *Infantis* Suşlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi ile Araştırılması.**

Bu araştırmada, insan ve tavuk orijinli *Salmonella* *Infantis* suşlarında antibiyotik dirençliliği ve bazı antibiyotik direnç genlerinin varlığının araştırılması amaçlandı.

Çalışmada, insan ve tavuklardan izole edilmiş 150 adet *S. Infantis* suşu kullanıldı. Suşların antibiyotik duyarlılık testleri Kirby-Bauer yöntemiyle araştırıldı. Siprofloksasin dirençliliği ayrıca E-test yöntemi ile araştırıldı. Antibiyotik direnç gen varlıklarının tespiti Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemi ile gerçekleştirildi.

Antibiyoqram testi sonucunda, 50 adet insan orijinli suşun, 17(% 34)'si kanamisine, 35(%70)'i trimetoprim/sülfametaksazole, 41(%82)'i tetrasiklin ve sülfonamide, 42(%84)'si streptomisine ve 43 (%86)'ü nalidiksik aside karşı dirençli bulundu. Suşların 1 (% 2)'i kloramfenikole ve 28 (%56)'i siprofloksasine orta dirençli olarak bulundu. Ampisilin, gentamisin, sefotaksim ve seftazidime karşı direnç saptanmadı. Tavuk orijinli suşların, 10 (%10)'u ampisiline, 11(%11)'i kloramfenikole, 49(%49)'u kanamisine, 87(%87)'si trimetoprim/sülfametaksazole, 98(%98)'i sülfonamide, 99(%99)'u nalidiksik asit, streptomisin ve tetrasikline karşı dirençli bulundu. Suşların 93(%93)'ü siprofloksasine karşı orta dirençli olarak saptandı. Gentmisin, sefotaksim ve seftazidime karşı direnç bulunmadı. İnsan orijinli suşların %82'sinde ve tavuk orijinli suşların ise %99'unda çoklu antibiyotik direnci saptandı. Hem insan hemde tavuk orijinli suşlarda yaygın olarak “Na-S10-Te-Sxt-S3” ve “K-Na-S10-Te-Sxt-S3” çoklu antibiyotik direnç profilleri saptandı. Etest yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinde, insan orijinli suşların 43 (%86)'ü siprofloksasine karşı orta dirençli bulundu. Tavuk orijinli suşların 95 (% 95)'i orta dirençli ve 4 (% 4)'ü siprofloksasine karşı dirençli olarak bulundu.

Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile yapılan çalışma sonucunda, tavuk orijinli suşların 62 (%62)'sinde ve insan orijinli suşların 1 (%2)'sinde *aphA1* geni tespit edildi. Tetrasiklin dirençli suşların çoğunda *tet(A)* gen varlığı tespit edildi. *Tet(A)* geni, insan orijinli suşların 41 (%82)'inde ve tavuk orijinli suşların 98 (%98)'inde tespit edildi. *Tet(B)* gen varlığı hiç bir suşta tespit edilmedi. *Tet(G)* geni insan orijinli suşların 25 (% 50)'inde ve tavuk orijinli suşların 63 (%63)'ünde tespit edildi

Bu tez çalışmasında, insan ve tavuk orijinli *S. Infantis* suşlarında farklı antibiyotiklere karşı değişen antibiyotik direnci saptandı. Hem insan hem de hayvansal orijinli bakterilerde, antibiyotik direncinin azaltılması için ulusal bir azaltma programının oluşturulması ve izlenmesi, antibiyotik direncinin kontrol edilmesi için önemlidir.

**Anahtar kelimeler:** Antibiyotik direnç, *S. Infantis*, disk difüzyon, E-test, PZR

## SUMMARY

### **Investigation of Antibiotic Resistance Genes in *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar *Infantis* Strains Isolated from chicken and Human by Polymerase Chain Reaction Method**

In this study, it was aimed to investigate antibiotic resistance and presence of some antibiotic resistance genes in *Salmonella* *Infantis* strains originated from chickens and human.

In the study, 150 *S. infantis* strains isolated from human and chickens were used. Antibiotic susceptibility tests of strains were investigated by Kirby-Bauer method. Ciprofloxacin resistance was also investigated by E-test method. Determining the presence of antibiotic resistance gene was performed by the Polymerase Chain Reaction method.

As a result of antibiogram test; out of 50 originated from human strains, 17 (%34), 35 (%70), 41 (%82), 42 (%84) and 43 (%86) of the strains were resistance to kanamycin, trimethoprim-sulphamethoxazole, tetracycline and sulfonamide, streptomycin and nalidixic acid respectively. Chloramphenicol and ciprofloxacin were found to be moderately resistant in 1 (%2) and 23(%56), respectively. There was no resistance to ampicillin, gentamicin, cefotaxime and ceftazidime. Out of 100 originated from chicken strains, 10 (%10), 11 (%11), 49 (%49), 87 (%87), 98 (%98) and 99 (%99) of the strains were resistance to ampicillin, chloramphenicol, kanamycin, trimethoprim-sulphamethoxazole, sulfonamide and nalidixic acid, streptomycin and tetracycline respectively. Ciprofloxacin was found to be moderately resistant in 93% of strains. There was no resistance to gentamicin, cefotaxime and ceftazidime. Multi-antibiotic resistance was detected in 82% of human-origin strains and 99% of chicken-origin strains. Multiple antibiotic resistance profiles were detected commonly in both human and chicken origin

strains, namely "Na-S10-Te-Sxt-S3" and "K-Na-S10-Te-Sxt-S3". In the antibiotic susceptibility tests performed by E-test method, 43 (86%) of the human origin strains were found to be moderately resistant to ciprofloxacin. 95 (95%) of the chicken origin strains were found to be moderately resistant and 4 (4%) were resistant to ciprofloxacin.

As a result of the study by polymerase chain reaction method, *aphA1* gene was detected in 62 (62%) of the chicken origin strains and 1 (2%) of the human origin strains. The presence of *tet (A)* gene was detected in the majority of tetracycline resistant strains. *Tet (A)* gene was detected in 41 (82%) of human origin strains and 98 (98%) of chicken origin strains. The presence of the *Tet (B)* gene was not detected in any strains. *Tet (G)* gene was detected in 25 (50%) of human origin strains and 63 (63%) of chicken origin strains.

In this thesis study, human and chicken origin *S. Infantis* strains were detected ranging antibiotic resistance to different antibiotics. In both human and animal origin bacteria, the establishment and monitoring of a national reduction program to reduce antibiotic resistance is important for controlling antibiotic resistance.

**Keywords:** Antibiotic resistance, *S. Infantis*, human, chicken, disc diffusion, E-test, PCR

## KAYNAKLAR

- ABBASOĞLU, D., AKÇELİK, M. (2011): Phenotypic and genetic characterization of multidrug-resistant *Salmonella* Infantis strains isolated from broiler chicken meats in Turkey. *Biologia* . **66**: 406-410.
- AGBAJE, M., BEGUM, R.H., OYEKUNLE, M.A., OJO, O.E., ADENUBİ, O.T. (2011). Evolution of *Salmonella* nomenclature: A critical note. *Folia Microbiol.* **56**: 497-503.
- AKAN, M. (2008). Kanatlılarda *Salmonella* İnfeksiyonları ve Kontrolünde Temel Prensipler. *Mektup Ankara*. **6**:3-5.
- ANONYMOUS (2003). European Commission. Regulation 2160/2003/EC of the European Parliament and of the Council of 17 November 2003 on the control of salmonella and other specified food-borne zoonotic agents. *Official J. L.* **325**: 1–15.
- ANONYMOUS (2015). Annual Report on Zoonoses in Denmark 2014. National Food Institute, Technical University of Denmark.
- ASAI, T., ITAGAKI, M., SHIROKI, Y., YAMADA, M., TOKORO, M., KOJIMA, A., TAKAHASHI, T. (2006). Antimicrobial resistance types and genes in *Salmonella* enterica Infantis isolates from retail raw chicken meat and broiler chickens on farms. *J Food Prot.***69**: 214-216.
- ASAI, T., ISHIHARA, K., HARADA, K., KOJIMA, A., TAMURA, Y., SATO, S., TAKAHASHI, T. (2007). Long-term prevalence of antimicrobial-resistant *Salmonella* enterica subspecies enterica serovar Infantis in the broiler chicken industry in Japan. *Microbiol and Immunol.* **51**:111-115.
- ASGHARPOUR, F., RAJABNIA, R., SHAHANDASHTI, E.F., MARASHI, M.A.,KHALILIAN, M., MOULANA, Z. (2014). Investigation of class I integron in *Salmonella* infantis and its association with drug resistance. *Jundishapur J Microbiol.* **7**: 1-5.
- AVŞAROĞLU, D., JUNKER, E., HELMUTH, R., SCHROETER, A., AKCELİK, M., BOZOĞLU, F., GUERRA, B. (2007). Phenotypic and genotypic characterisation of antimicrobial resistance in Turkish *Salmonella* infantis isolates from chicken and minced meat. *Int J Antimicrob Agents* **29**: 112.
- BARRIERE, S.L. (2015). Clinical, economic and societal impact of antibiotic resistance. *Expert Opin Pharmacother* **16**:151-153
- BAYHAN, G.İ., TANIR, G., LEVENT, B., ÖZKAN, Ş., GÜLEŞEN, R., METİN, T.Ö. (2014). *Salmonella* enfeksiyonlarının serotip dağılımı, antibiyotik direnci ve klinik özellikleri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* **34**:137-144.

- BOLTON, D.J., IVORY, C., MC DOWELL, D. (2013). A study of Salmonella in pigs from birth to carcass: Serotypes, genotypes, antibiotic resistance and virulence profiles. *Int J. Food Microbiol.* **160**:298-303.
- BRIGGS, C.E., FRATAMICO, P.M. (1999). Molecular characterization of an antibiotic resistance gene cluster of Salmonella typhimurium DT104. *Int J Antimicrob Agents.* **43**: 846-849
- CARATTOLI, A., TOSINI, F., GILES, W.P., RUPP, M.E., HINRICHS, S.H., ANGULO, F.J., FEY, P.D. (2002). Characterization of plasmids carrying CMY-2 from expanded-spectrum cephalosporin-resistant Salmonella strains isolated in the United States between 1996 and 1998. *Antimicrob Agents Chemother.* **46**:1269-1272.
- CARATTOLI A., BERTINI A., VILLA L., FALBO V., HOPKINS K.L., THRELFALL E.J. (2005). Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *Journal of microbiological methods.* **63**:219-228.
- CEYSSENS, P.J., MATTHEUS, W., VANHOOF, R., BERTRAND, S. (2015). Trends in serotype distribution and antimicrobial susceptibility in *Salmonella enterica* isolates from humans in Belgium, 2009 to 2013. *Antimicrob Agents Chemother.* **59**:544-552.
- CDC (2014). National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS): Human Isolates Surveillance Report for 2014 (Final Report). Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services
- CLSI (2013). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 23rd informational supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- COX, J.M., PAVIC, A. (2010). Advances in enteropathogen control in poultry production. *J. Appl Microbiol.* **108**: 745-755.
- DAŞ, Y.K., ATMACA, E. (2015). Antibiyotik Direncinin Önlenmesi İçin Yapılması Gerekenler ve Çözüm Önerileri. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics.* **1**: 69-75.
- DIONISI, A.M., LUCARELLI, C., BENEDETTI, I., OWCZAREK, S., LUZZI, I. (2011). Molecular characterisation of multidrug-resistant Salmonella enterica serotype Infantis from humans, animals and the environment in Italy. *Int J Antimicrob Agents.* **38**: 384-389
- DE FREITAS NETO, O.C., PENHA FILHO, R.A.C., BARROW, P., BERCHIERI, JR A. (2010) Sources of human non-typhoid salmonellosis: a review. *Rev Brasil Cie Aví.* **12**:01-11
- ECDC (2014). Annual epidemiological report 2014-food and waterborne diseases and zoonoses.  
Erişim Adresi: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/food-waterborne-diseases-annual-epidemiological-report-2014.pdf>  
Erişim Tarihi: 01.03.2016

- EFSA (2007a). Report of the Task Force on Zoonoses. Data Collection on the Analysis of the baseline study on the prevalence of Salmonella in holdings of laying hen flock. *The EFSA J.* **97**:1-85.
- EFSA (2007b). Report of the Task Force on Zoonoses. Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in broiler flocks Part A. *The EFSA J.* **98**:1-85.
- EFSA (2014) EFSA explains zoonotic diseases: Food-borne Zoonoses *Salmonella*, corporate publication.  
Erişim adresi: [http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporatepublications/files/factsheetfoodbornezoonoses2014\\_en.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporatepublications/files/factsheetfoodbornezoonoses2014_en.pdf)  
Erişim Tarihi: 01.03.2016
- EFSA and ECDC (2015). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. *The EFSA J.* **13** :3991
- EFSA and ECDC (2016). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. *The EFSA J.* **14**:4380
- ERCIS, S., ERDEM, B., HASCELİK. G., GUR, D. (2006). Nalidixic acid resistance in Salmonella strains with decreased susceptibility to ciprofloxacin isolated from humans in Turkey. *Jpn J Infect Dis.* **59**:117.
- ERDEM, B. (1999). Enterobacteriaceae. In: *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Ed.: Ustaçelebi, ř., Mutlu, G., Cengiz, A.T., Tümbay, E., İmir, T., Mete, Ö.. Ankara: Güneř Kitabevi. Bölüm: 3 s.:471-515.
- ERDEM, B. (2002). *Salmonella* türleri. In: *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi* Cilt 2, Ed.: Topçu Willike, A., Söyletir, G., Doğanay, M.. **27**: 1586-1597
- EROL, İ. (2010). Zoonotic importance of Salmonella infections. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci.* **1**: 105-113
- FİLAZİ, A., DİKMEN, B.Y., KUZUKIRAN, Ö. (2015). Kanatlılarda antibiyotik direnci. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*, **1**:42-51.
- FOLEY, S.L., LYNNE, A.M. (2008). Food animal-associated challenges: Pathogenicity and antimicrobial resistance. *J Anim Sci.* **86**:149–162.
- FONSECA, E.L., MYKYTCZUK, O.L., ASENSI, M.D., REIS, E.M.F., FERRAZ, L.R., PAULA, F.L., RODRIGUES (2006). Clonality and antimicrobial resistance gene profiles of multidrug-resistant Salmonella enterica serovar Infantis isolates from four public hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *J Clin Microbiol.* **44**: 2767-2772.
- FRANCO, A., LEEKİTCHAROENPHON, P., FELTRIN, F., ALBA, P., CORDARO, G., IURESCIA, M., TOLLI, R., D'INCAU, M., STAFFOLANI, M., DI GIANNATALE, E., HENDRIKSEN, R.S., BATTISTI, A. (2015). Emergence of a Clonal Lineage of Multidrug Resistant ESBL-Producing Salmonella Infantis Transmitted from Broilers and Broiler Meat to Humans in Italy between 2011 and 2014. *Plos One.* **10**: 1-15.

- GAL-MOR, O., VALINSKY, L., WEINBERGER, M., GUY, S., JAFFE, J., SCHORR, Y.I., RAISFELD, A., AGMON, V., NISSAN (2010). Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Infantis. *Israel Emerg Infect. Dis.* **16**: 1754–1757.
- GHODDUSI, A., FASAEI, B.N., KARIMI, V., TAMAI, I.A., MOULANA, Z., SALEHI, T.Z. (2015). Molecular identification of *Salmonella* Infantis isolated from backyard chickens and detection of their resistance genes by PCR. *Iran J Vet Res.* **16**: 293.
- GRIMONT, P.A.D., WEILL, F. (2007). Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. 9<sup>th</sup> ed. Paris: WHO Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella* Institute Pasteur.
- GUERRA, B., SOTO, S.M., ARGUELLES, J.M., MENDOZA, M.C. (2001). Multidrug resistance is mediated by large plasmids carrying a class 1 integron in the emergent *Salmonella enterica* serotype [4, 5, 12: i:–]. *J Antimicrob Agents*, **45**:1305-1308.
- GÜLEŞEN, R., LEVENT, B., ÜVEY, M., AKGEYİK, M. (2015) . 2008-2014 Yılları Arasında Çevresel Örneklerden İzole Edilen *Salmonella* Serotiplerinin Dağılımı ve Antimikrobiyallere Direnç Durumları. 3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. Kongre Kitabı s.:231
- GYLES, C.L. (2008). Antimicrobial resistance in selected bacteria from poultry. *Anim Health Res Rev.* **9**:149-158.
- HAMADA, K., OSHIMA, K., TSUJI, H. (2003). Drug resistance genes encoded in integrons and in extra-integrons: their distribution and lateral transfer among pathogenic Enterobacteriaceae including enterohemorrhagic *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovars typhimurium and infantis. *Jpn J Infect Dis.* **56**: 123-126.
- İZGÜR, M. (2002). *Salmonella*, Koli infeksiyonları In: *Kanatlı Hayvan Hastalıkları*, Ed.: M. İzgür, M. Akan, Ankara: Medisan Yayın Serisi. **4**: 37-126.
- İZGÜR, M. (2006). *Salmonella* İnfeksiyonları In: *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*, Ed.: N. Aydın, J. Paracıkoğlu, Ankara: İlke-Emek Matbaacılık ve Yayıncılık, s.: 116-121.
- KAHYA, S., KESİN, T.B., TEMELLİ, S., ÇARLI, K.T., EYİGÖR, A. (2014). Yumurtacı tavuklarda *Salmonella* izolatlarının tanısı ve tiplendirilmesi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg.* **20**: 939-944.
- KALENDER, H., ŞEN, S. (2008). Tavuk Etleri ve Tavuklardan İzole Edilen *Salmonella enterica* Subsp. *enterica* serovar Enteritidis Suşlarının Faj Tiplendirmesi ve Pulsed-Field Gel Electrophoresis ile Analizi. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg.* **34**: 15-24.
- KUDAKA, J., ITOKAZU, K., TAIRA, K., IWAI A, K. M., SUSU, T., IWANAGA, M. (2006): *Characterization of Salmonella isolated in Okinawa, Japan.* *Jpn J Infect Dis.* **59**: 15-19.
- MLADEN, R., VLADO, T., OLIVERA, B., VERA, K., IVANA, B.L., VLADMIR, P.D. (2014). Antibiotic resistance and molecular studies on *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Infantis isolated in human cases and broiler carcasses. *Acta*

- MILLER, T., PRAGER, R., RABSCH, W., FEHLHABER, K., VOSS, M. (2010). Epidemiological relationship between *Salmonella* *Infantis* isolates of human and broiler origin. *Lohmann Inf.* **45**: 27-28.
- NATARO, J.P., BOPP, C.A., FIELDS, P.I., KAPER, J.B., STROCKBINE, N.A.(2009). *Escherichia*, *Shigella* ve *Salmonella*. In: *Klinik Mikrobiyoloji*. Ed.: Murray, P.R, Baron, E.J, Jorgensen, J.H, Landry M.L, Pfaller MA.. (Çeviri ed.: A.Başustaoğlu). Ankara : Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. Cilt 1, 9. baskı kitabında s.:670-687.
- NOGRADY, N., TOTH, A., KOSTYAK, A., PASZTI, J., NAGY, B. (2007). Emergence of Multidrug-resistant clones of *Salmonella* *Infantis* in Broiler Chickens and Humans in Hungary. *J Antimicrob. Chemother.* **60**: 645-648.
- ORAL, A.İ. (2008). Kanatlı Hayvanlarda Paratifo Enfeksiyonları. *Vilsan Derg.* **9**: 22-23.
- POPOFF, M.Y., BOKHEMUHL, J., GHEESLING, L.L. (2004). Supplement 2002 (no.46) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol.* **155**: 568-570.
- PRIBUL, B.R., FESTIVO, M.L., SOUZA, M.M.S.D., RODRIGUES (2016). Characterization of quinolone resistance in *Salmonella* spp. isolates from food products and human samples in Brazil. *Brazil J Microbiol.* **47**: 196-201.
- QUEIPO, O.M.I., COLMENERO, J.D.D., MACIAS, M., BRAVO, M.J., MORATA, P. (2008). Preparation of bacterial DNA template by boiling and effect of immunoglobulin G as an inhibitor in real-time PCR for serum samples from patients with brucellosis. *Clin Vaccine Immunol* **15**: 293-296.
- RABSCH, W., SIMON, S., HUMPHREY, T. (2013). Public health aspects of *Salmonella* infections. In: *Salmonella in Domestic Animals* Ed.: Barrow PA, Methner U. Wallingford (United Kingdom): CAB International. pp.:351–376.
- RAHMANI, M., PEIGHAMBARI, S.M., SVENDSEN, C.A., CAVACO, L.M., AGERSO, Y., HENDRIKSEN (2013): *Molecular clonity and antimicrobial resistance in Salmonella enterica serovars Enteritidis and Infantis from broilers in three Northern regions of Iran*. *BMC Infect Dis.* **9**: 66.
- RASETA, M., DJORDJEVIC, V., VIDANOVIC, D. (2015). Contamination Routes of *S. Infantis* in food chain of broiler meat production and it's significance for public health. *Procedia Food Sci.* **5**: 254-257.
- SAMIULLAH, S. (2013). *Salmonella* *Infantis*, a Patoential Human Pathogen has an Association with Table Eggs. *Int J Poult. Sci.* **12**: 185-191.
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E.F., MANIATIS, T. (1989). *Molecular Cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY
- SCALLAN, E., HOEKSTRA, R.M., ANGULO, F.J., TAUXE, R.V., WIDDOWSON, M.A., ROY, S.L., JONES, J.L., GRIFFIN, P.M. (2011). Food borne illness acquired in the United States – Major Pathogens. *Emerg Infect Dis.* **17**: 7-15.

- SCHARFF, R.L. (2010). Health related cost from foodborne illness in the United States. Erişim Adres:[<http://www.producesafetyproject.org/reports.>] Erişim Tarihi 05.03.2016
- SHAHADA, F., CHUMA, T., TOBATA, T., OKAMOTO, K., SUEYOSHI, M., TAKASE, K. (2006). Molecular epidemiology of antimicrobial resistance among *Salmonella enterica* serovar *Infantis* from poultry in Kagoshima, Japan. *Int J Antimicrob Agent.* **28**: 302-307
- SHAHADA, F., SUGIYAMA, H., CHUMA, T., SUEYOSHI, M., OKOMATO, K. (2010). Genetic analysis of multi-drug resistance and the clonal dissemination of  $\beta$ -lactam resistance in *Salmonella* *Infantis* isolated from broilers. *Vet Microbiol.* **140**: 136-141.
- SIRIKEN, B., TÜRİK, H. (2013). Poultry Meat and Salmonellosis. *Animal Health Prod and Hyg.* **2**: 174-182.
- ŞAHAN, Ö., ARAL, E.M., ADEN, M.M.A., AKSOY, A., YILMAZ, Ö., JAHED, R., AKAN, M. (2016). Türkiye'deki broyler tavuk işletmelerinden izole edilen *Salmonella* serovarlarının antimikrobiyel direnç durumu. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* **63**: 1-6
- ŞİRELİ, U.T. (2010). *Salmonella* enfeksiyonlarına genel bakış ve yasal uygulamalar. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci.* **1**:114-120
- TABO, D.A., DIGUIMBAYE, C.D., GRAINER, S.A., MOURY, F., BRISABIOS, A., ELGROUD, R., MILLEMANN, Y. (2013). Prevalence and antimicrobial resistance of non-typhoidal *Salmonella* serotypes isolated from laying hens and broiler chicken farms in N'Djamena, Chad. *Vet Microbiol.* **166**: 293-298.
- THRELFALL, E.J., WARD, L.R., ROWE, B. (1999). Resistance to ciprofloxacin in on-typhoidal *Salmonellas* from humans in England and Wales - the current situation. *Clin Microbiol Infect.* **5**: 130-134.
- THRELFALL, E.J. (2000). Epidemic *Salmonella* typhimurium DT 104-a truly international multiresistant clone. *J Antimicrob Chemothe.* **46**: 7-10.
- THRELFALL, E.J., PARRY, C.M. (2008). Antimicrobial resistance in typhoidal and nontyphoidal salmonellae. *Curr Opin Infect Dis.* **21**: 531-538.
- TODOROVIC, D., VELHNER, M., MILANOV, D., VIDANOVIC, D., SUVAJDZIC, L., STOJANOV, I., KRNJAIC, D. (2015). Characterization of tetracycline resistance of *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar *Infantis* isolated from poultry in the northern part of Serbia. *Acta Veterinaria.* **65**: 548-556
- VAN DUIJKEREN, E., WANNET, W.J.B., HOUWERS, D.J., VAN PELT, W. (2003). Antimicrobial susceptibilities of *Salmonella* strains isolated from humans, cattle, pig, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. *J Clin Microbiol.* **41**:3574-3578
- WEGENER, H.C., BAGESSEN, D.L. (1996). Investigation of an outbreak of human Salmonellosis caused by *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar *Infantis* by use of pulsed field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol.* **32**: 125-131.

WHITE, D.G., ZHAO, S., SUDLER, R., AYERS, S., FRIEDMAN, S., CHEN, S., MCDERMOTT, P.F., MCDERMOTT, S., WAGNER, D.D., MENG, J. (2001). The isolation of antibiotic-resistant Salmonella from retail ground meats. *N Engl J Med*. **345**: 1147-1154.

YAVARI, L. (2012). Antibiotic Resistance in Salmonella enterica and the Role of Animal and Animal Food Control. *A literature review of Europe and USA*, 123.

YENER, B., AKÇELİK, N., ŞANLIBABA, P., AKÇELİK, M. (2012). Çoklu ilaç dirençli Salmonella suşlarının tanısı. *Turk. Hij. Den. Biyol. Derg.* **69**: 201-212

YILMAZ, Ö. (2014). Tavuk kökenli Salmonella Infantis suşlarının Antibiyotik duyarlılığı Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

YÜCE, A. (2001). Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Dergi* **14**: 41-46

# ÖZGEÇMİŞ

## I- Bireysel Bilgiler

|                             |                                           |
|-----------------------------|-------------------------------------------|
| Adı                         | Mesut                                     |
| Soyadı                      | AKGEYİK                                   |
| Doğum yeri ve tarihi        | Kurtalan, 1979                            |
| Uyruğu                      | TC                                        |
| Medeni durumu               | Evli                                      |
| Askerlik durumu             | Yaptı                                     |
| İletişim adresi ve telefonu | biologistmessy@hotmail.com<br>05079877403 |

## II- Eğitimi

1996 - 2000 Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi  
1993 - 1996 Bitlis Lisesi  
Yabancı dili: İngilizce

## III- Ünvanları

Biyolog

## IV- Mesleki Deneyimi

|             |                                                                                                                            |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2004-2008   | Batman Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Lab.                                                                                |
| 2008-2011   | Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı,<br>Enterik Patojenler Referans Lab. /ANKARA                                    |
| 2012- ..... | Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji<br>Referans Lab. Daire Başk. Ulusal Enterik Patojenler<br>Referans Lab. /ANKARA |

## V- Bilimsel İlgi Alanları

### Posterleri

- 1- 2007-2009 yıllarında dışkı kültürlerinde izole edilen *Campylobacter* türlerinin değerlendirilmesi. (Gülhane Mikrobiyoloji Günleri – Poster )
- 2- 2005-2010 yılları arasında *Clostridium difficile*'ye bağlı ishal yönünden incelenen örneklerin Elisa, GDH ve toksijenik yöntemlerle değerlendirilmesi. (2010-TMC Kongresi –Poster )
- 3- 2008-2014 Yılları arasında çevresel örneklerden izole edilen *Salmonella* serotiplerinin dağılımı ve antimikrobiyallere direnç durumları. ( 2015-KLİMUD Kongresi –Poster )
- 4- Dışkı örneklerinde Shiga Toksin oluşturan *E. Coli*'lerin serotip, virulans genleri ve antibiyotiklere dirençlerinin değerlendirilmesi. ( 2015 – KLİMUD Kongresi – Poster)

#### **Seminerleri :**

*Salmonella* Enfeksiyonları ve Epidemiyolojisi ( Mart 2013)

#### **Yayınları :**

1. Güleşen R., Levent B., Üvey M., Bayrak H., Akgeyik M. (2016). 2008-2014 Yılları arasında çevresel örneklerden izole edilen *Salmonella* suşlarının Serotip Dağılımı ve Antimikrobiyal duyarlılıkları. *Mikrobiyol. Bul.* **50**: 371-381
2. Güleşen R., Levent B., Demir T., Akgeyik M., Kuran S. (2015 ). Characterization of the Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from human between 2011 and 2014. *Jpn. J. Infect. Dis.* **69**: 390-394

#### **VIII- Diğer Bilgiler**