

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK BAKTERİYOLOJİ VE
İNFEKSİYON HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Murat TUĞRUL

**EDİRNE YÖRESİNDEN İZOLE EDİLEN
SALMONELLA'LARIN ANTİBİYOTİK
DUYARLILIKLARI VE VİRÜLANS FAKTÖRLERİYLE
PLAZMİDLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

103330

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

(Uzmanlık Tezi)

103330

Dr. R. Erkal ÖZKAN

EDİRNE-2001

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren, her zaman yakın ilgi ve desteğini aldığım Prof. Dr. Murat TUĞRUL'a, Doç. Dr. Metin OTKUN'a, Doç. Dr. Filiz AKATA'ya, Yrd. Doç. Dr. Müşerref OTKUN'a, Yrd. Doç. Dr. Özlem TANSEL'e, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Servisi ve Laboratuvarı çalışanlarına, rotasyon yaptığım bilim dallarında beraber çalıştığım tüm hocalarımla ve asistan arkadaşlarıma, tez verilerinin istatistiksel analizlerini yapmamda yardımlarını esirgemiyen Yrd. Doç. Dr. Mevlüt TÜRE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim ve tez döneminde yakın ilgisini ve desteğini gördüğüm sevgili eşime ve kızıma, her türlü fedakarlığı göstererek bizleri bu günlere getiren, tek dilekleri bizi daha iyi koşullarda görmek olan anne ve babama teşekkürlerimi sunarım.

Dr.R. Erkal ÖZKAN

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
BULGULAR.....	37
TARTIŞMA.....	51
SONUÇLAR.....	64
TÜRKÇE ÖZET.....	66
İNGİLİZCE ÖZET.....	67
KAYNAKLAR.....	69

KISALTMALAR

CDC	=	Centers for Diseases Control and Prevention
ABD	=	Amerika Birleşik Devletleri
MSHA	=	Mannoza duyarlı hemaglutinasyon
MRHA	=	Mannoza dirençli hemaglutinasyon
MDa	=	Megadalton
kb	=	kilobaz
MİK	=	Minimum inhibitör konsantrasyon
SFTS	=	Steril fizyolojik tuzlu su
PGB	=	Peptone glucose buyyon
ESBL	=	Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
AMC	=	Amoksisilin-klavulanik asit
AMP	=	Ampisilin
GN	=	Gentamisin
NET	=	Netilmisin
AK	=	Amikasin
TOB	=	Tobramisin
CXM	=	Sefuroksim
CTX	=	Sefotaksim
CAZ	=	Seftazidim
CRO	=	Seftriakson
NA	=	Nalidiksik asit
CIP	=	Siprofloksasin
SXT	=	Trimetoprim-sulfametoksazol
TE	=	Tetrasiklin

IPM = İmipenem
CFP = Sefaperazon
ATM = Aztreonam
KZ = Sefazolin
RIF = Rifampisin



GİRİŞ VE AMAÇ

Salmonella infeksiyonları dünyada en yaygın görülen infeksiyonlar arasındadır. Besin zehirlenmelerinin % 60-90'ı *Salmonella*'larla oluşmaktadır (1). Dünyada tifo gibi genel infeksiyon şeklindeki hastalıklar son yıllarda azalmaktadır, ancak birçok ülkede hijyenik koşullarda iyileşmeye rağmen çeşitli *Salmonella* serotipleriyle oluşan besin zehirlenmeleri salgın ölçülerine varmaktadır (2). *Salmonella typhi* dışındaki *Salmonella* serotipleriyle oluşan infeksiyonlar genellikle ateş ve ishale özellenen kendi kendini sınırlayan kısa süreli akut enterokolitlerdir. Fakat beş yaşından küçük çocuklarda ve altta yatan hastalığı olan yetişkinlerde bu bakteriler antibiyotik tedavisi gerektiren bakteriyemilere yol açabilirler (3). Dünyada her yıl yaklaşık 1.3 milyar kişide görülen tifo dışı salmonelloz olgusunun 3 milyonu, 16 milyon tifo olgusunun 600.000'i ölümlerle sonuçlanmaktadır (4). Ayrıca salmonellozlar hayvanlarda da önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Salmonella infeksiyonlarının ve salgınlarının doğru, eksiksiz irdelenebilmesi için ayrılan serotiplerin ayrıntılı bir biçimde tanımlanması gerekir. *Salmonella*'ların tiplendirilmesi ve çeşitli özelliklerinin araştırılması; bir olgu ile diğer olguların ilişkilerini, bir olgunun yiyecekler ve diğer bulaşma yolları, hayvanlar, coğrafi bölge, mevsim-ay-gün gibi süreçlerle ilişkilerini ortaya koyabilir (2).

Son 10 yılda insanlardan ayrılan ve bir veya daha fazla antimikrobiyal ajana dirençli *Salmonella* serotipleri konusunda pek çok yayın vardır (5). DT104 olarak da adlandırılan çoğul ilaç dirençli *S. typhimurium* serotipiyle oluşan infeksiyonlarda hastaneye yatış ve ölüm oranı diğer tifo dışı salmonellozların iki katıdır (4). Bu tür infeksiyonların tedavisinde ampirik olarak kullanılacak ilaçlara karar verebilmek için ayrılan tüm *Salmonella* serotiplerinin antimikrobiyal ilaçlara karşı direnci sürekli izlenmelidir. Yine halk sağlığı açısından antimikrobiyal direncin izlenmesinde *Salmonella* serotipleri yararlı bir indikatör

organizmadır ve *Salmonella* serotiplerindeki direnç diğer bağırsak bakterilerindeki dirençle paralel seyretmektedir (6).

Serotipleme, biyotipleme, faj tiplendirme, antimikrobiyal duyarlılık gibi geleneksel yöntemlerin yanında plazmid profil analizi gibi moleküler teknikler de epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmaktadır (7). Tifo dışı *Salmonella* kökenleri insanda bakteriyemi ve sistemik infeksiyonlar oluşması ile yakın ilişkisi olan virülans plazmidleri içerir. Bu nedenle *Salmonella*'ların virülans plazmidlerinin saptanmasının klinik önemi bulunmaktadır (8).

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 1995 ile Temmuz 2000 tarihleri arasında ayrılan *S. typhi* ve *S. paratyphi A* dışındaki *Salmonella* kökenlerinin antimikrobiyal duyarlılıklarının, virülans faktörlerinin ve plazmid profillerinin saptanması, antimikrobiyal direncin ve virülans faktörlerinin plazmidlerle olan ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.



GENEL BİLGİLER

Ondukuzuncu yüzyıldan önce tifüs ve tifo birbirine karıştırılıyordu. Pierre Louis 1829'da tifoda ince barsaklar, lenf düğümleri, dalak ve derideki patolojik lezyonları, bağırsaktaki hemoraji ve perforasyonu gösterdi. Gerhard 1836'da tifo ile tifüs arasındaki farkları belirledi. Eberth 1880'de tifodan ölen hastaların lenf düğümü ve dalağında tifo basilini gördü. Gaffky 1884'de tifolu bir hastanın dalağından bakteriyi ilk kez ayırdı (9). *Salmonella* adı 1885'te Amerikalı bir patoloğ olan Salmon'un hasta domuzların bağırsağından ilk kez *S. choleraesuis*'i ayırmasından dolayı verilmiştir. Widal 1896'da tifo basillerinin nekahat dönemindeki hastaların serumları ile karşılaştırıldığında çöktüğünü ve hareketlerini yitirdiğini saptayıp, ilk kez aglütinin sözcüğünü kullanmıştır. Aynı yıl Peiffer ve Kalle ısıyla öldürülmüş basillerden oluşan ilk aşığı denemişlerdir. *Salmonella*'ların bugün hala kullanılan serotiplendirme ve sınıflandırılması, Kauffman ve White'ın 1920-1940 yılları arasında yüzey antijenleri ve antikorlar ile yaptıkları çalışmaların ürünüdür. Smith ve Reagh 1903'de O ve H antijenlerini saptadılar. H antijenlerinin bifazik olduğu 1918, 1922 ve 1925'te değişik araştırmacılar tarafından açıklandı (10, 11).

Theodore Woodward ve arkadaşları 1948'de tifolu hastaları kloramfenikol ile başarılı bir şekilde tedavi ettikten sonra tifo tedavisinde modern çağ başlamıştır (10, 11).

Ochiai ve Akiba 1959'da Japonya'da ayırdıkları *Shigella flexneri* serotiplerinin büyük bir kısmının aynı antibiyotik direnç paternine sahip olduklarını ve aynı hastaların dışkılarından ayırılan *Escherichia coli*'lerinde aynı direnç paternine sahip olduklarını gördüler. Bu gözlem araştırmacıların bu direnç özelliğinin bir bakteri türünden diğerine bulaşmış olabileceğini düşünmelerine yol açtı. İki yıl sonra Watanabe ve Fukasawa yaptıkları deneylerle bu düşünceleri doğruladılar. Direncin bir plazmid tarafından yönetildiğini ve

konjugasyonla *Shigella* 'lardan *E.coli*'lere ve bunlardan tekrar duyarlı *Shigella*'lara geçirilebildiğini gösterdiler (12).

Enterobacteriaceae ailesinde tek bir *Salmonella* cinsi bulunur. *Salmonella*'lar bu ailedeki en karmaşık cinstir. Bu cinsin sınıflandırma ve adlandırılması defalarca değiştirilmiştir ve tam olarak kesinlik kazanmamıştır (13, 14)

Salmonella'lar lipopolisakkarid O (somatik) ve protein H (kirpik) antijenlerinin farklılıklarına dayanılarak 1926'da White'ın düzenlediği ve 1972-1978'de Kauffmann'ın genişlettiği şemaya göre serotiplere ayrılırlar (13, 15). *Salmonella* cinsi içinde antijence farklı 2600'den çok serotip vardır (4).

Bazı araştırmacılar *Salmonella* cinsini biyokimyasal özelliklerine göre üç türe (*S. typhi*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis*) ayırmayı önermişlerdir. Bu sınıflandırma göre *S. typhi* ve *S. choleraesuis* türleri yalnızca birer serotip içerirler ve bilinen 2600 serotip *S. enteritidis* içinde yer alır (13).

Günümüzde *Salmonella* ve *Arizona* cinslerinin deoksiribonükleik asit (DNA) benzerlikleri nedeniyle tek bir tür içinde toplanması (*Salmonella enterica*), çeşitli fenotipik özelliklerine ve DNA benzerliklerine bakılarak yedi alt türe ayrılması kabul edilmektedir (1, 9, 10, 13, 15). Altgrup 5'de yer alan *S. bongori*'yi ayrı bir cins olarak kabul edip, *Salmonella*'ları *S. enterica* ve *S. bongori* şeklinde iki cins olarak kabul edenler de vardır (4, 14, 16). İnsanlarda ve sıcak kanlı hayvanlarda infeksiyonlara yol açan en yaygın serotipler alt tür I'e aittir ve insanlardan ayrılan *Salmonella*'ların % 99'u alt tür I serotipleridir. Diğer alt türlere ait serotipler, soğuk kanlı hayvanlarda ve doğada yaygındır (4, 13, 14).

Salmonella'ların serolojik tiplendirmesinde kullanılan 3 esas antijeni vardır: Bakteri hücrelerinin yüzeyi, O antijenlerini oluşturan lipopolisakkarid (LPS) yapısındadır. Isıya, alkole dayanıklı, formole dayanıksızdır. O antijenlerinin antijenik kısmı, polisakkarid bölümünce belirlenir. Antijenik O faktörlerini belirleyen en yüzeydeki O antijen polimeri kısmıdır. Bu bölüm birçok defa tekrarlayan oligosakkarid birimleri içerir. *Arizona* serotiplerini de kapsayacak şekilde 67 O antijeni vardır. Bir *Salmonella* serotipi belirli O antijenini veya antijenlerini içermesine göre O serogruplarına yerleştirilir. O antijenleri rakamlarla gösterilir.

H antijeni protein yapısındadır. Isıya ve alkole duyarlı, fakat formole dayanıklıdır. *Salmonella* serotipleri iki değişik antijen yapısında olan kirpikler oluştururlar. Bunlar difazik *Salmonella*'lardır. Bu antijen yapılarına özgül faz ve özgül olmayan faz ya da

1. faz ve 2. faz adı verilir. Bazı *Salmonella* serotiplerinde ise daima aynı antijen veya antijen kombinasyonlarını taşıyan kirpik oluşur. İki fazları yoktur. Bunlara monofazik serotipler denir. Özgül faz antijenleri küçük harflerle, harfler yetmeyince de z harfi yanına numara ilavesiyle, özgül olmayan faz antijenleri ise rakamlarla gösterilir.

S. typhi, *S. paratyphi C*, *S. dublin* serotipleri yüzeyel Vi antijeni içerir. Vi antijeni O antijeninin en dışında onu çevreleyen glikolipid yapısında bir antijendir. O antijenlerini örttüğü için bakterinin O antijenlerine karşı hazırlanmış bağışık serumlarla aglutinasyon vermesini önler. Bakteri ısıtılınca Vi antijeni bakteri hücresinden ayrılıp ortama geçer. Böylece ısıtılmış bakteri süspansiyonu O antijenlerine karşı hazırlanmış anti-O serumlarıyla aglutinasyon verir.

Salmonella'lar O antijenlerine göre serogruplara ve alt serogruplara, H antijenlerine göre de serotiplere ayrılır. *Salmonella* serotipleri Kauffmann-White şemasında taşıdıkları O ve 1. faz, 2. faz H antijenlerine göre sıralanır ve adlandırılır. Önce O antijenleri ve varsa Vi antijeni, sonra sırasıyla 1. faz H ve 2. faz H antijenleri yazılarak gösterilir. Olmayan faz için – işareti konur. O serotipin bazılarında bulunmayan antijenler ise altı çizilerek veya parantez içinde [] gösterilir (1, 10, 13, 14, 17).

Farklı serotiplerin farklı epidemiyolojileri olması nedeniyle günlük kullanımda, diğer bakterilerden farklı olarak, her *Salmonella* serotipi tür adları gibi adlandırılmaktadır. Bunun sonucu pek çoğu yaptığı hastalığa (*S. enteritidis*), ayrıldığı hayvana (*S. gallinarum-pullorum*), ayıran araştırmacıya (*S. schottmülleri*), ayrıldığı ülkeye (*S. panama*), bölgeye (*S. kentucky*), şehre (*S. istanbul*), hastaneye (*S. virchow*) göre tür adı verilen 2600'e yakın *Salmonella* belirlenmiştir (1, 14). Günümüzde bakterinin alt türün numarası belirtildikten sonra bakterinin antijenik formülü yazılmaktadır. Bu sayısal adlandırma sistemi karışık olduğundan alt tür I serotiplerinin adları saklı tutulmuştur. Yani *Salmonella serotip Typhimurium*, kısaca *Salmonella typhimurium* olarak yazılırken alt tür numarası yazılmaz, bu serotipin bir adı olduğundan alt tür I'e ait olduğu anlaşılmaktadır (1, 13, 14). Amerikan Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nin (Center for Diseases Control and Prevention -CDC-) önerisi de klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının serotiplendirme sonuçlarını basitleştirilmiş olarak bildirilmesi yönündedir (13).

SALMONELLA'LARDA MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLER

Salmonella'lar 2-5 µm boyunda, 0,7-1,5 µm eninde sporsuz, kapsülsüz basillerdir. *S. gallinarum-pullorum* hariç çepeçevre çok sayıda (peritriş) kirpiklerle hareketlidirler.

Bakteriyolojik boyalarla kolay ve iyi boyanırlar. Gram negatifdirler. Çoğu *Salmonella* serotipinde tip 1 (mannoza duyarlı –MS-) ve hemaglutinasyon yapan fimbriyalar bulunur (10, 14). *S. gallinarum* ve başka serotiplerde tip 2 (mannoza dirençli –MR-) fimbriyalar bulunmaktadır. *S. paratyphi A* fimbriyasızdır (13).

Salmonella'lar aerop ve fakültatif anaerop bakterilerdir. En iyi üreme ısısı 37 °C olmakla birlikte 7-48 °C arasında üreyebilirler (14). Özellikle besin zehirlenmesi yapan *Salmonella*'ların düşük sıcaklıklarda üremesinin önemi vardır (17). Buyyonda homojen bulanıklık oluştururlar. Kolay ürerler. Üreme ortamında kan, serum, glukoz gibi zenginleştirici maddelere gereksinim duymazlar (10). Laktoza etki etmezler. Oksidaz negatifdirler. Sukroz, adonitol, salisine etki etmezler. *S. typhi* ve *S. gallinarum* dışındaki serotipler glukoz, mannit, maltozu hem asit hem gaz, *S. typhi* ve *S. gallinarum* ise yalnız asit yaparak parçalarlar. *S. paratyphi A* dışında genel olarak H₂S (hidrojen sülfid) yaparlar. İndol olumsuz, metil kırmızısı olumlu, Voges-Proskauer olumsuz olup sitratlı besiyerlerinde ürerler, üreyi parçalayamazlar. ONPG (Ortho-nitro phenyl galactopyranoside) deneyi olumsuzdur (13, 17).

Salmonella'lar ısıya dayanıksızdır. 55 °C'de 1 saatte, 60 °C'de 20 dakikada ölürlar. Kuruluğa dayanıksızdırlar. Ancak gün ışığından uzak nemli ortamlarda, kanalizasyon sularında, kuyu sularında ve toprakta uzun süre canlı kalabilirler. Soğuğa çok dirençlidir. Soğuk yiyecek ve içeceklerde uzun süre canlılıklarını koruyabilmeleri besin maddelerinden kaynak alan salgınlara yol açabilmeleri açısından önemlidir.

Fenol ve krezole duyarlıdır. Normal yoğunluktaki klor konsantrasyonu sulardaki *Salmonella*'ları öldürür. Dışkı parçaları ve diğer organik maddeler içindeki *Salmonella*'lara dezenfektanlar etkisizdir (13).

Salmonella'ların bazı boyalar ve kimyasal maddelere karşı özel dirençleri vardır. Kristal viyole, brillant yeşili, malaşit yeşili, deoksikolat, safra tuzları, lityum klorür, bizmut sitrat ve tetrasyonat gibi maddeler uygun yoğunluklarda *Escherichia coli*'yi inhibe ettikleri halde *Salmonella*'lara karşı etkisizdirler ya da üremelerini arttırıcı etki yaparlar. Bu maddeler *Salmonella*'ların üretilmesi için seçici besiyerlerinin yapımında kullanılmaktadırlar (13, 14).

Salmonella'lar ile oluşan salgınları saptamada diğer tekniklerle beraber faj tiplendirme de kullanılmaktadır (18-21). 1950'lerden beri çeşitli *Salmonella* serotipleri faj tiplendirme yöntemiyle referans laboratuvarlarında incelenmektedir. Faj tiplendirme şemaları çeşitli kaynaklardan ayrılmış serolojik olarak farklı bakteriyofajların belirli bir serotipte oluşturdukları lizis modeline dayanmaktadır (13). *S. typhimurium*'un 272 kadar faj tipi

vardır (14). Rutin uygulamada 31 faj kullanılmaktadır; bu fajların yetersiz kaldığı durumlarda 4 faj daha ilave edilmektedir (13). *S. enteritidis*'in 50'den fazla faj tipi vardır, rutin uygulamada 15 faj kullanılmaktadır (2, 13, 14).

Salmonella'ların birincil yerleşim yerleri insan ve kuşlar, evcil hayvanlar ve kemirgenlerin bağırsağıdır. Lağım suları, toprak, nehirler, diğer sularda da bulunurlar. Uygun şartlar altında sularda haftalarca, toprakta yıllarca canlı kalabilirler (14). Bazı incelemeler *Salmonella*'ların doğal ortamlarda uzun süre canlı kalıp çoğalabildiklerini ve içerdikleri direnç plazmidlerini de aktarabildiklerini göstermiştir (22). İnsanların kullandığı birçok besin maddesinden de ayrılmışlardır (4, 14, 20, 21, 23-26). *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *S. paratyphi C*, *S. sendai* değişmez insan serotipleridir. *S. gallinarum*, *S. abortusequi* gibi bazı serotiplerin ise yalnız hayvanlarda infeksiyona yolaçtığı saptanmıştır (1, 14). *S. pullorum* ve *S. gallinarum* kümes hayvanlarına, *S. dublin* sığırlara, *S. abortus* koyunlara, *S. choleraesuis* domuzlara yerleşme eğilimi gösterir (13).

Alt tür I sıklıkla memelilerden ayrılır. Diğer alt türler nadiren insan ve diğer memeliler için patojendir. Alt tür II, III_A, III_B, IV yaygın olarak soğuk kanlı hayvanların bağırsaklarında bulunurlar (14).

Ancak teorik olarak her *Salmonella* serotipi ile insanda en azından gastroenterit şeklinde infeksiyon oluşabileceği veya klinik belirtiyeye neden olmaksızın bir süre yerleşerek portörlüğe neden olabileceği kabul edilir (1, 13).

Salmonelloz tüm dünyada yaygın bir halk sağlığı sorunudur (1, 4, 6, 10, 13, 25-35). Besin zehirlenmeleri arasında en çok ekonomik kayıba salmonellozlar neden olur. Son yıllarda tifo insidansı giderek azalmakta, buna karşın tifo dışı salmonelloz insidansında artış görülmektedir (10, 13, 14).

S. typhi ve *S. paratyphi*'ler sadece insanlarda hastalık yapar. Bundan dolayı hastalığın bulaşması sadece hastalardan veya taşıyıcılardan olmaktadır. Bakterinin bulaşması sıklıkla insan dışkıyla kontamine besin veya suyun alımıyla olmaktadır (10, 13). İnsandan insana bulaşma nadirdir. Tifolu hastaların bakımıyla uğraşan sağlık personelinin ellerini iyi yıkamaması sonucu bulaşma olabilir. Tifo halen global bir halk sağlığı sorunudur. Dünyada her yıl 16 milyon kişi tifoya yakalanmaktadır. Tifonun endemik olduğu bölgelerde, bir yaş üstü bebeklerde insidans daha yüksektir. Bir yaş altı bebekler tifoya yakalandığında hastalık daha ciddi seyretmekte ve komplikasyon oranı daha yüksek olmaktadır.

Bağışıklık sistemi baskılanmış olanlarda, safra ve üriner sistem anomalisi olanlarda, hemoglobinoz, sıtmal, şistozomiyazisli, bartonellozlu, histoplazmozlularda hastalık daha

ciddi seyredir. Gelişmekte olan ülkelerde özellikle dirençli *S. typhi*'lerle oluşan salgınlarda morbidite ve mortalite oranları daha yüksektir (10).

İnsanda hastalık oluşturan *S. typhi* dışı *Salmonella* serotiplerinin başlıca kaynağı hayvansal besinlerdir (10). Son yıllarda tavuklardan ve yumurtadan bulaşan *S. enteritidis* kaynaklı birçok salgın bildirilmiştir (10, 13, 25–27, 36, 37). İnsana bulaştırma açısından en başta kümes hayvanları, bunların ürünleri, özellikle yumurta gelir. *S. enteritidis* tavukların yumurtalıklarında enfeksiyona neden olur. Bunun sonucunda yumurtanın kabuğu oluşmadan enfekte olması insanlara ve tavuklara bulaşması açısından önemlidir (9, 25, 36). *S. enteritidis*, üreyen tavuk sürüleri arasında vertikal bulaşa neden olabilir. Bir sürüye bulaşma olduktan sonra çevredeki kemirgenlere de bulaşacağından ve gübrede de bakteri bulunacağından enfeksiyonu elimine etmek zordur (25). Piyasada satılan paketlenmiş tavuklarda taşıyıcılık oranı % 16-20 olarak bulunmuştur (26, 38). Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yumurtaların % 0.01 ile % 0.1 arasındaki bir oranının *S. enteritidis* içerdiği tahmin edilmektedir. *S. enteritidis* salgınları pişirilmemiş yumurta, yumurta içeren gıdalar, az pişirilmiş kümes hayvanlarının yenilmesiyle oluşmaktadır. Yumurtayı sarısı katılaşıncaya kadar pişirmek, pastörize süt ürünleri kullanmak halk sağlığı açısından önemlidir (10). Sığır ve domuz etinden, süt ve süt ürünlerinden, evde beslenen kedi, köpek, kaplumbağa, sürengelelerden de bulaş olabilir. Sürengelelerin % 90'ının *Salmonella* taşıyıcısı olduğu gösterilmiştir. Gıdalarla bulaşma sık görülse de halen suyla bulaşan salgınlar bildirilmektedir (10). Alt yapının yeterli ve sağlıklı olmadığı yerlerde kanalizasyon sularının içme ve kullanma suyuna karışması sonucunda salgınlar oluşabilir (13). İnsan ve hayvan dışkıyla kirlenmiş meyve ve sebzelerin yenilmesiyle de salgınlar olabilir. Taze sıkılmış portakal suyu, dilimlenmiş domatesden kaynaklanan salgınlar bildirilmiştir (10).

Tüm dünyada insan *Salmonella* kökenlerinde antibiyotik direnci artmaktadır. Bunun nedeni olasılıkla insanlardaki antibiyotik kullanımı ve hayvan yemlerine katılan antibiyotiklerdir. Yüksek oranda (% 50) kloramfenikol, trimetoprim-sulfametaksazol (SXT), ampisilin (AMP) direnci Afrika, Asya ve Güney Amerika'dan bildirilmektedir. Direnç gelişmiş ülkelerde de yaygın bir sorundur. Son yıllarda çoğul dirençli (ampisilin, kloramfenikol, streptomisin, sulfonamid, tetrasiklin) faj tip DT104 *S. typhimurium*'la oluşan enfeksiyonlar birçok Avrupa ülkesinden ve Amerika'dan bildirilmektedir (4, 39–44). ABD'de DT104'ün oranı 1979-1980'de % 1'den az iken, 1996'da % 34'e yükselmiştir. *S. typhimurium* DT104 ile oluşan enfeksiyonlarda mortalite ve morbidite oranı daha yüksektir.

Salgın ve sporadik olgulardan ayrılan edilen *Salmonella*'larda üçüncü kuşak sefalosporin direnci hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerden bildirilmektedir. Bu direnç plazmid tarafından kodlanan ve transfer edilebilen bir dirençtir. İnsan ve hayvan *Salmonella* kökenleri arasında kinolon direnci *gyrA* veya *gyrB* DNA giraz genindeki mutasyonlardan dolayı oluşmaktadır (10). Kinolon direnci ABD'de ve İngiltere'de hayvanlarda kinolon kullanımından sonra artmıştır (10, 26).

Sefalosporinlere karşı genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL), kromozomal ve plazmid kökenli sefalosporinazlar, beta-laktamaz inhibitörlerine karşı beta-laktamazların aşırı üretimi, inhibitörlere dirençli beta-laktamazlar, kromozomal sefalosporinazlar, karbapenemlere karşı karbapenemazlar, kinolonlara karşı DNA girazda değişiklikler ve pompa sistemleri, trimetoprim-sulfometoksazole karşı folat sentez yolunda yeni enzimlerin sentezi, aminoglikozidlere karşı plazmid veya transpozon kökenli aminoglikozid yapısını değiştiren enzimler, tetrasikline karşı kromozom veya plazmid kontrolünde pompa sistemi veya ilacın etkisizleştirilmesi *Salmonella*'larda antimikrobiyal ilaçlara karşı güncel önemi olan direnç mekanizmalarıdır (45).

İnfeksiyon kontrol komitesinin dikkatli çalıştığı hastanelerde salmonellozun nosokomiyal bulaşma riski düşüktür. Kronik taşıyıcı veya hasta aile bireylerinden yenidoğan ve süt çocuklarına bulaşma riski yüksektir. Yaşlılarda *Salmonella* bakteriyemisi ve bağırsak dışı infeksiyon riski daha yüksektir. AIDS'lilerde salmonelloz riski genel popülasyona göre 20 ile 100 kat daha fazladır (10).

ABD'de her yıl yaklaşık 40.000 salmonelloz olgusu bildirilmektedir. Salmonellozların yaklaşık % 1 ile % 5'i bildirildiği gözönüne alınırsa gerçek sayı 2-4 milyon, yıllık harcanan para yaklaşık 2 milyar ABD dolarıdır (9). ABD'de en sık ayrılan serotip *S. enteritidis*'tir, ardından *S. typhimurium* gelmektedir (5, 10, 36, 44, 46). Türkiye ve dünyanın diğer ülkelerinde de sıralama benzer şekildedir (6, 31, 47, 48)

BELİRLEME

Biyokimyasal testler aglütinasyon testlerinden önce yapılmalıdır. Epidemiyolojik araştırmalarda kökenlerin ilk tanımlanmaları geleneksel biyokimyasal ve serolojik yöntemlerle yapılır. Daha ileri tanımlamalar ve ayrımlar için faj tiplendirme, kolisin tiplendirme, direnç tiplendirmesi gibi fenotipik özelliklere dayanan yöntemler kullanılır. Bu yöntemler plazmid ve kromozomal DNA'yı temel alan genotiplendirme, dış zar protein profillerinin ayrımı ve lipopolisakkarid içeriğinin incelenmesiyle tamamlanmaktadır.

Bunun yanı sıra bakterilerin belirleme ve tiplendirilmesinde, epidemiyolojik çalışmaların kolaylaştırılmasında ve virülans ile direncin epidemiyolojik incelenmesinde, bakterinin plazmid ve kromozomal DNA'sının genetik özelliklerine dayanarak yapılan polimeraz zincir tepkimesi (PCR), DNA hibridizasyon yöntemleri, plazmid profillerinin incelenmesi ve restriksiyon enzim analizi yöntemleri kullanılmaktadır (10, 13-15, 18, 21, 26, 48, 49).

SALMONELLA'LARIN VİRÜLANS FAKTÖRLERİ

Virülans faktörleri mikroorganizmanın hastalığı neden olabilmesi için gereken bakteriyel ürünlerdir (50-53). Bakterilerin virülans faktörleri ve hastalığa yol açış mekanizmaları bilinirse, hastalığa neden olmaları önlenebilir. Virülans faktörlerinden herhangi birisinin kaybı, virülansın azalmasına veya tamamen kaybolmasına yol açar (51). *Salmonella*'larda infeksiyonun çeşitli safhalarını etkileyen virülans faktörleri tanımlanmıştır. Bunlar arasında; toksinleri, lipopolisakkaridi, yapışma ve hareket faktörleri, konak hücrelerine giriş ve penetrasyon için gerekli faktörler, hücre içi yaşama ve çoğalma yeteneği, siderofor üretimi, serumun öldürücü etkisine direnç yeteneği ve virülans plazmidini yer alır (13, 50, 51).

Salmonella'lar enterotoksin, sitotoksin, endotoksin (lipid A) olmak üzere en az üç toksin salgırlar. Bu toksinlerin patogenezdaki rolü tam olarak aydınlatılmamıştır. *Salmonella* enterotoksinleri kolera toksisine benzer. *S. typhimurium*'un ısıya duyarlı toksini *E.coli*'ye klonlandıktan sonra, bu rekombinant kökenin tavşan bağırsağında sıvı sekresyonuna neden olduğu görülmüştür. Her iki toksin de G_m gangliozidlere bağlanır ve adenilat siklazı etkileyerek hücre içi siklik adenzin monofosfat seviyesini arttırlar. Kolera toksiniyle *Salmonella* toksini arasındaki bu benzerlik gastroenteritin nedeninin toksin olduğunu düşündürmüştür.

Salmonella'larla oluşan gastroenteritte bağırsak epitel yüzeyindeki yoğun hasar sadece enterotoksin aktivitesiyle açıklanamaz. Uç bölgelerinin kaybından dolayı villüslerde kısalma ve diğer sitopatik değişiklikler bağırsak epitelinde gözlenmiştir. Dışkıda kan varlığı da doku hasarının belirtisidir. *Salmonella* bakterilerinin dış membranının lipopolisakkarid dışındaki bileşenlerinin ökaryotik hücrelerde protein sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu da bir sitopatik aktivite özelliğidir. Fakat bu faktörün patogenezdaki rolü belirsizdir.

LPS'nin lipid A kısmı birçok toksik aktiviteye sahip güçlü bir endotoksindir. Etkilerinin çoğunu makrofaj ve lenfositleri etkileyerek gösterir. Makrofajlardan salınan çeşitli faktörlerin etkisiyle ateş, lökositoz ve hipotansiyon gibi sonuçlar ortaya çıkar (51).

LPS üzerinde en çok çalışılan virülans faktörüdür. Lipid A, kor ve O kısmından oluşur. Lipid A bakteriyel dış membranın ayrılmaz bir parçasıdır. O kısmı tekrarlayan oligosakkarid zincirlerinden oluşur. *Salmonella*'ların konak organizmada reseptörlere bağlanması ve hücre içinde yaşaması O antijeninin yan zincirleriyle ilişkilidir. O'ya özgül yan zincirlerinde bozukluk olan R kökenler avirulandır (13). Bununla birlikte LPS'in virülansdaki rolü karmaşıktır. LPS *Salmonella*'ların intestinal epitel hücrelerine invazyonu için gereklidir (51).

LPS'in diğer bir rolü de kompleman sisteminin alternatif yoldan aktivasyonudur (54, 55). LPS oksijen radikallerinden ve diğer bakterisidal maddelerden bakteriyi koruyarak makrofajların içinde canlı kalmalarına katkıda bulunabilir (51).

Salmonella'ların ileuma yerleşmeleri ve peristaltik hareketle oradan atılmamaları bakterinin bağırsak epitel hücrelerine invazyonunu sağlayacak bazı faktörlere sahip olduğunu gösterir. *Salmonella*'larda fimbriya ve mannoz dirençli hemaglutinin olmak üzere iki tane yapışma faktörü bildirilmiştir (51, 56, 57). Fimbriyalar bakterilerde bulunan flajellalardan ayrı uzantılardır. Fimbriyalar da flajellalar gibi hücre çeperini delip dışarı çıkan sitoplazmik uzantılardır (58). Birçok patojen bakteride fimbriyaların epitel hücrelerine yapışarak kolonizasyon ve invazyonu sağlayan önemli bir virülans faktörü oldukları kabul edilmektedir (50, 59). Fimbriyalı sferoblastların yapışma ve hemaglutinasyon yeteneklerine sahip olmaları, fimbriyasızların ise bu özellikleri göstermemeleri yapışmanın hücre duvarından çok fimbriyalar ile ilgili olduğunu kanıtlamaktadır (58). Fimbriyalar eritrosit, lökosit, epitel hücreleri ve *Candida albicans* gibi maya hücrelerine yapışırlar. Hücrelere karşı bu afiniteleri bakterilerin çeşitli tip eritrositleri aglutine edebilmesinde de rol oynamaktadır. Böylece hemaglutinasyon bakteri hücrelerinin membran yüzeylerine bağlanma yeteneklerinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (58). Tip 1 fimbriyaların yapışması için gereken D-mannoz içeren reseptörler birçok hayvan türünün eritrositlerini de içeren hücrelerinde bulunur (51, 56, 60). Tip 1 fimbriyalar mannoza duyarlı hemaglutinasyon yapırlar (MSHA) ve bu yapışma özelliği D-mannoz ile inhibe olur (9, 56, 57, 59, 61, 62). *Salmonella*'ların % 80'inde tip 1 fimbriya bulunur ve bu kromozom tarafından kodlanır (13, 56, 63).

Salmonella'ların virülansında tip 1 fimbriyaların rolü sınırlıdır (13, 51). Fimbriyalı ve fimbriyasız kökenler ağız yoluyla verildiğinde fimbriyalıların biraz daha virülan olduğu, fakat fimbriyasızların da ileum mukoza yüzeyine yapışabildiği görülmüştür (51).

Salmonella'larda tip 1 fimbriya dışında ince kümeleştirici fimbriya, uzun polar fimbriya (LPF), plazmidde kodlanan fimbriya (PEF) ve sadece *S. enteritidis*'te bulunan SEF14 fimbriyaları bulunur (9, 37, 64-68). SEF14 dışındaki fimbriyalar bakterinin konak epitel hücrelerine tutunmasında rol oynarken, SEF14 makrofajlarla bakteri arasındaki etkileşimde rol oynadığı gösterilen ilk *Salmonella* fimbriyasıdır. *S. typhimurium*'da bu rolü fimbriyal olmayan adezinler oynamaktadır (66).

Bazı *Salmonella* serotiplerinin salgıladığı bir maddenin de mannoza dirençli hemagglütinasyona (MRHA) neden olduğu saptanmıştır. Fimbriyal olmayan mannoza dirençli hemagglütininer *Salmonella*'ların birçok farklı serotipi tarafından, fakat genellikle alt tür I tarafından oluşturulur. *S. typhimurium* ve *S. enteritidis* serotiplerinde saptanan bu salgısal maddeye insanda invazif hastalıklara neden olan *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *S. dublin* gibi türlerde rastlanmamıştır (51, 56, 69). *Salmonella*'ların memeli hücrelerine yapışmasında fimbriyal olmayan mannoza dirençli hemagglütininerin önemi vardır (56).

Flajella *Salmonella*'larda hareketi sağlar ve virülansa katkısı vardır. Flajella gastrointestinal sistemde kolonizasyon için gerekli değildir, fakat karaciğer ve dalakta canlı kalmak için ve makrofaj içinde çoğalmak için gereklidir (51).

Salmonella virülansında gerekli düzenleyici proteinler Tablo I'de verilmiştir.

Tablo I: *Salmonella* virülansında gerekli düzenleyici proteinler *

Düzenleyici	Tip	Gereken Sinyal	Hedef Gen	Biyolojik fonksiyon (lar)
PhoPQ	uyarıcı/algılayıcı 2 komponentli sistem	Mg ²⁺ , asidik pH	phoN,pags,prgs, pmrAB,hilA, phopQ,diğerleri	makrofaj içi canlılık,epitel hücrelerine invazyon,lipid A modifikasyonu,antimikrobiyal peptid ve safra direnci
OmpR/EnvZ	uyarıcı/algılayıcı 2 komponentli sistem	osmolarite	ompC,ompF, diğerleri	intestinal epitele kolonizasyon,sif formasyonu,makrofaj apoptozisi
SirA	2 komponentli sistemin uyarıcısı	?	hilA(SPI-1),SPI-4,SPI-5 genleri	bakteriyel invazyon, enteropatogenez ?
HilA	2 komponentli sistemin uyarıcısı	alkalin pH, düşük oksijen, SirA ilişkili aktivasyon	invF(SPI-1), SPI-4,SPI-5 genleri	bakteriyel invazyon, enteropatogenez ?
InvF	AraC benzeri düzenleyici	HilA ilişkili aktivasyon	sip/ssp ve inv spa-org	bakteriyel invazyon
SsrAB	uyarıcı/algılayıcı 2 komponentli sistem	asidik pH ?	SPI-2 genleri,hilA,sipC, prgK (SPI-1)	makrofaj içi canlılık,hücre içi üreme,sistemik hastalık
RpoS	alternatif σ^{30} faktör	açlık, stress	spvR,asid tolerans yanıtı, diğer	açlık stress yanıtı, asit direnci,Peyer plaklarına kolonizasyon, makrofaj içi canlılık, sistemik hastalık
RpoS	alternatif σ^E faktör	ısı, hasarlı protein	htrA,por,diğerleri	makrofaj içi canlılık,hücre içi üreme,sistemik hastalık
CRP/Cya	-	cAMP seviyesi	spvR,diğerleri	açlık stress yanıtı, sistemik hastalık
FurA	CRP benzeri düzenleyici	demir- açlık	Birçok	asit direnci
SpvR	LysR benzeri düzenleyici	RpoS ilişkili aktivasyon	SpvR,spvABCD	sistemik hastalık
SlyA	transkripsiyonel düzenleyici	?	?	M hücrelerini yok etme,makrofaj içi canlılık,oksidatif strese direnç
MviA	düzenleyici aile yanıtı	?	RpoS	asitden korunma,farede virulans
Dam	GATC bölgesinde adeninin metilasyonu	?	Virülans plazmidi, tanımlanamayan diğerleri	sistemik hastalık

* :Tablo 4 nolu kaynaktan alınmıştır.

Hayvanlardaki demirin çoğu transferrin ve laktoferrin gibi demir bağlayan proteinlere bağlı şekilde bulunur. Sideroforlar bakteriler tarafından sentezlenen ve demiri konak proteinlerinden alıp bağlayarak bakteriye taşıyan maddelerdir. Bağırsak bakterileri buldukları ortamdan demir alabilmek için enterobaktin ve aerobaktin tipi sideroforlar geliştirirler (51, 70-73).

Salmonella'larda enterobaktin sentezi aerobaktin sentezinden daha yaygındır. Enterobaktin senteziyle ilgili genler kromozomal, aerobaktin senteziyle ilgili genler kromozomal veya plazmid kaynaklıdır (70, 73).

Enterobaktin sentezleyemeyen mutant *S. typhimurium* ile yapılan deneylerde bakterinin virülan olmadığı görüldüğünden, siderofor üretimi *Salmonella*'lar için bir virülans faktörü olarak kabul edilmektedir (51, 70, 71, 73).

Serumun öldürücü etkisine direnç invazif bakterilerin önemli bir virülans özelliğidir. Serum, bakterilerin çoğu için öldürücü olan ve bakteriyel infeksiyonlara karşı önemli bir konak savunmasını oluşturan maddeler içerir (54, 55, 74-79).

Salmonella'lara kompleman direncini veren özellik LPS'nin O zincirinin uzunluğudur. Dış membran proteini, Rck (resistance to complement killing-komplemana direnç proteini-) bakteriyi komplemanın öldürücü etkisinden korur. Kompleman sisteminde C5'den C9'a kadar olan komponentlerin aktivasyonu membran saldırı kompleksini doğurur. Polimerize olan C9 molekülleri silindirik tüp şeklini alırlar ve oturdukları hücre membranına gömülerek delik açarlar. Bu olayın oluşması Rck tarafından önlenir. *Rck* geni *S. dublin* ve *S. typhimurium*'da büyük virülans plazmidinde yer alır (75).

Bazı *Salmonella* serotipleri boyutu 30-62 Megadalton (MDa) arasında olan bir virülans plazmidi taşırlar. Bunlar *S. dublin*, *S. gallinarum-pullorum*, *S. abortusovis*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis* ve *S. typhimurium*'dur. Serotipler arasında virülans plazmidi farklı olmasına rağmen tüm virülans plazmidlerinde *spv* (*Salmonella* plasmid virulence) genlerini içeren 8 kilobaz'lık (kb) bir bölgenin olduğu görülmüştür. Bu bölgedeki iki transkripsiyon ünitesinde organize olmuş 6 gen (*spvR* ve *spvABCD orfE*) bulunur (2, 4, 80-87).

Virülans plazmidinde bunlara ek olarak virülansa katkısı olan diğer genetik belirleyiciler de bulunur (87). *Spv* proteinlerinin fonksiyonu halen bilinmemektedir (4, 14, 80, 85). *In vitro* koşullarda bu genler eksprese olmazken makrofajlar ve diğer tüm memeli hücrelerinde hücre içi ortam *spv* genlerinin ekspresyonunu indükler. Gıda azlığı *Salmonella* virülans genlerinin regulasyonunda kritik bir sinyaldir (4, 84). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar ile virülans plazmidlerinin, *Salmonella*'ların bakteriyemi oluşturmasını kolaylaştırdığı, buna karşın gastroenterit oluşturmasında etkili olmadığı gösterilmiştir (14, 80). Virülans plazmidi insanlarda bağırsak dışı infeksiyonlarda bakterinin yaşamasını kolaylaştırırken, gastroenterit için gerekli değildir. İnsanlarda gastroenterite neden olan bazı *S. typhimurium* kökenlerinde virülans plazmidi bulunamamıştır (14).

Sistemik infeksiyonun gelişmesi için ek bakteriyel faktörler gereklidir. Virülans plazmidi olmayan *S. typhi* farede virülan değilken, virülans plazmidi bulunan *S. gallinarum-pullorum* da sistemik infeksiyona yol açamaz (4, 14).

PATOGENEZ

Gönüllülerde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre 10^3 'ten daha az *Salmonella* bile gastroenterit oluşturabilmektedir. Alınan miktar kuluçka süresini, semptomları ve hastalığın ciddiyetini etkilemektedir. En önemli konak faktörü azalmış mide asiditesidir (4, 10). Streptomisin verilen farelerde normal floranın azaldığı ve infeksiyon oluşturmak için gereken dozun % 50 kadar azaldığı görülmüştür. Aynı etki antibiyotik alan insanlarda da gözlenmiştir (9).

Ağız yoluyla alınan *Salmonella*'lar bağırsak infeksiyonlarına karşı ilk savunma yeri olan mideyi geçmek zorundadır. *Salmonella*'lar düşük pH'da canlı kalabilmek için asit tolerans yanıtı geliştirirler (4, 88). Bu yanıt bakterinin mideden geçişinde rol oynar. Mideyi geçen bakteriler pankreas salgılarına, safranın etkisine, ince bağırsak Paneth hücrelerinin salgıladığı katyonik peptidlerin antimikrobiyal etkisine direnerek, mukus engelini aşarak enterositlere ve M (microfold) hücrelerine ulaşırlar. Salgısal immunglobülin A ve intestinal mukus *Salmonella*'ların enterositlere penetrasyonunu önlemede rol oynayabilir. M hücreleri *Salmonella*'ların ilk hedefidir ve 30-60 dakika içinde bu hücrelerin içine girerler. *Salmonella*'lar aynı zamanda, normalde fagositoz görevi olmayan bağırsak epitel hücrelerini uyarırlar ve bu hücrelerin içine de girerler. Bu olaya bakterinin yönlendirdiği endositoz denir. *Salmonella*'lar membran büzüşmesi adı verilen bir mekanizma ile hücre içine alınır. Bakteri hücreye yapıştığında hücre yüzeyinde membran büzüşmesine yol açan gelip geçici yeniden düzenlenmeye yol açar. Aktin, vinkulin, vimentin ve ezrin gibi hücre iskelet proteinlerinin lokalize birikimi bakterinin girişine yol açan bir alanın oluşumuyla sonuçlanır. Bu olay invazyon (*inv*) genleri olarak adlandırılan bir grup gen tarafından kontrol edilir. Mukozayı geçen *Salmonella*'lar makrofaj ve lenfositlerle karşılaşılırlar (4, 9, 10).

Makrofajlar ve nötrofiller *Salmonella* infeksiyonlarını önlemede esas rolü oynarlar. *Salmonella*'ların bağırsaktan dolaşıma geçebilmeleri ve tifo tablosunu oluşturabilmeleri için makrofajlar içinde canlı kalabilmeleri gerekmektedir. Kültür pozitif tifolu hastalarda bakterilerin çoğunun mononükleer hücre fraksiyonunda olduğu görülmüştür. *Salmonella*'lar er geç kemik iliği, dalak, karaciğer ve Peyer plaklarındaki doku makrofajları tarafından alınırlar. Tifonun belirtileri bakteriler bu hücrelerin içinde yeterli sayıya ulaştınca başlar. Semptomların nedeni bakterilere yanıt olarak makrofajlar tarafından salınan sitokinler olabilir.

S. typhimurium infeksiyonu *in vivo* farelerde oluşturulmuştur. Hücre içine giren *Salmonella* hücre membranına bağlı vakuoller oluşturur. Bu vakuoller lizozomal bölüme

birleşir ve ortam asidik hale gelir. Bakterilerin çoğu makrofajlar tarafından öldürülür. *Salmonella*'lar makrofaj apoptozisini tetikleyerek makrofaj ölümüne neden olurlar. Bakterilerin makrofajlar ve epitel hücreleri tarafından fagositozu onları nötrofillere karşı koruyamaz. Başlangıç miktarının % 10'undan azı fagositoz sonunda canlı kalabilir (4, 9, 10).

In vitro infeksiyondan birkaç saat sonra makrofajların içinde iki farklı *Salmonella* popülasyonu görülür. Birincisi büyük fagozomların içinde bulunup hızla bölünen gruptur. Bu popülasyon hızla ürer ve makrofajları öldürür. Sonuçta makrofaj içindeki *Salmonella*'lar serbest kalırlar. *In vivo* bu grup salmonellozun akut fazından sorumludur.

İkinci popülasyon fagolizozomlara lokalize olmuş bölünmeyen gruptan oluşur. Bu popülasyon lizozomal ürünlerin toksik etkilerine direnir ve *Salmonella*'ların vücutta uzun süre nasıl canlılığını sürdürdüğünü açıklar. Kemik iliğindeki makrofajlarda uzun süre yaşayan *Salmonella*'lar kronik taşıyıcılığı açıklar ve bazı hastalarda görülen çok geç relapslardan sorumludur (4, 75).

Reaktif oksijen ara ürünleri DNA'ya zarar verir ve bakterilerin oksidatif fosforilasyon mekanizmasını bozar. *Salmonella*'ların ürettiği katalaz ve süperoksit dizmutaz reaktif oksijen ara ürünlerini yok eder.

Lizozomal granüllerin içinde hücre içi bakterilerin hücre duvarında kanallar açarak onları öldüren birkaç katyonik peptid üretilir. *Salmonella*'lar bu peptidlere en az iki mekanizma ile direnirler. *Salmonella*'ların ürettiği SapA (A) peptid, konak hücrenin antimikrobiyal peptidi ile kompleks oluşturur. Sap lokusunda kodlanan (SapB, SapC, SapD) diğer proteinlerin yardımıyla SapA-peptid kompleksi sitozol içine taşınarak peptidaz enziminin yardımıyla degranule edilir (4, 75).

Salmonelloz patogeneğinde birçok bakteriyel faktör rol alır. *Salmonella* virülansında önemli olan bu genlerin çoğu *Salmonella* Patojenite Adası (*Salmonella* *Pathogenicity* *Island*, SPI) olarak adlandırılan gen kümesinin içinde yer alır. *Salmonella*'larda birçok küçük patojenite adacığının yanında beş büyük patojenite adası saptanmıştır.

SPI-1'in kodladığı tip III sekresyon sistemi bakterinin intestinal epitele invazyonu için gereklidir. SPI-1 ayrıca demir transport sistemini kodlar. SPI-2'in kodladığı tip III sekresyon sistemi bakterinin epitel hücreleri ve makrofajların içinde yaşaması için gereklidir. SPI-3 bakterinin makrofajların içinde yaşaması ve düşük Mg^{2+} 'lu ortamda üremesi için gereklidir. SPI-4 ve SPI-5'in fonsiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte makrofajların içinde yaşamak için gereken genleri içerdikleri bilinmektedir. Bunların yanında *Salmonella* kromozomunda virülans için gerekli, adacık olarak adlandırılan küçük bölgeler vardır.

Gen transkripsiyon düzeyindeki birçok proteinin sentezini kontrol eden düzenleyici proteinler de *Salmonelloz* patogenezi için gereklidir. Bunlardan en çok çalışılan PhoP/PhoQ sisteminde makrofaj içinde canlılık, katyonik antimikrobiyal peptidlere ve asit pH'ya dayanıklılık, epitel hücrelerine invazyon için gereken düzenleyici genler yer alır. Gönüllülerde yapılan çalışmalarda PhoP/PhoQ mutant *S. typhi*'nin insanlar için virülan olmadığı görülmüştür (4, 9, 10, 89-92).

Salmonella'ların büyük yüzey molekülleri de patogeneze rol alır. *S. typhi*'nin Vi antijeni antikor ilişkili opsonizasyonu önler, peroksida karşı direnci artırır, komplemana karşı direnç sağlar. Vi antijeni *Salmonella*'ların nötrofiller tarafından fagositozunu önler. Lipopolisakkaridin lipid A kısmı memeli hücreleri için güçlü bir toksindir ve LPS *S. typhimurium*'un farelerde virülansı için gereklidir.

Sitotoksinler, fimbriyal adezinler, virülans plazmidini de salmonelloz patogenezinde rol oynar (4, 9, 10).

S. typhi dışı *Salmonella*'ların neden olduğu gastroenteritin mekanizması kapsamlı araştırmalara rağmen halen tam olarak anlaşılabilmiştir. *Salmonella*'larda antijenik olarak kolera toksinine ve *E.coli*'nin ısıya dayanıksız toksinine benzeyen enterotoksinler tanımlanmıştır. Bunlardan hiçbirisi saf olarak elde edilememiştir.

Bakterilerin enterositlere girişi, bağırsağın immun yanıtı veya her iki mekanizma da ishalin nedeni olabilir. *Salmonella*'ların enterositlere girişiyle birlikte birçok biyokimyasal değişiklik olur. Bu değişiklikler damar geçirgenliğinin artması ve lökosit kemotaksisi ile sonuçlanır.

Tifoda ince bağırsak mukozasında mononükleer hücre birikimi olurken, diğer *Salmonella* gastroenteritlerinde ince ve kalın bağırsak mukozasında yoğun nötrofil birikimi olur. *Salmonella* gastroenteritlerinde insan bağırsak epitelini güçlü bir nötrofil kemotaktik faktör olan interlökin-8 salgılar. Nötrofillerin salgıladığı toksik maddeler ve degranülasyon, inflamasyon ve sonuçta doku hasarına neden olur. Sıvı sekresyonu ve bağırsak mukoza hücreleri arasından sızıntı oluşur (4, 9, 10, 93).

Bir mikroorganizmanın virülansı, mikroorganizma ile konağın infeksiyonu sınırlama yeteneği arasındaki karmaşık bir etkileşime bağlıdır. *S. typhi* insanlarda tifoya yol açarken farelerde virülan değildir. Bunu tersine *S. typhimurium* insanda gastroenterite neden olurken, farelerde öldürücü infeksiyona neden olur.

Salmonelloz riski AIDS'lilerde, organ transplantasyonu yapılanlarda, lenfoproliferatif hastalığı olanlarda, mide asiditesi azalmış olanlarda, antibiyoterapi sonucu endojen florası değişenlerde, kronik gastrointestinal hastalığı bulunanlarda daha yüksektir (10).

SALMONELLA'LARIN YAPTIĞI HASTALIKLAR

Salmonella'larla kontamine gıda ve suların ağızdan alınından sonra insanlarda dört tip klinik tablo oluştururlar:

- 1-) Genel infeksiyon niteliğinde hastalıklar (tifo ve paratifo),
- 2-) Gastroenterit,
- 3-) Bakteriyemi ve lokal organ hastalıkları,
- 4-) Taşıyıcılık.

Genel İnfeksiyon Niteliğinde Hastalıklar (Tifo ve Paratifo)

Bu tip infeksiyonu yapan serotipler *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *S. paratyphi C*, ve *S. typhimurium*'dur. Etken *S. typhi* olduğunda hastalık tifo, diğer serotipler olduğunda paratifo adını alır. Tifo ve paratifonun kliniği genellikle birbirinin aynı olmasına rağmen paratifo tifodan daha hafif seyrlidir.

S. typhi sağlıklı ve duyarlı kişi tarafından ağız yoluyla alındıktan sonra mideye gelir. *S. typhi* mide asidine duyarlıdır, fakat gıdalarla alındığında bu etkiden korunabilir. Alınan bakteri miktarı infeksiyon oluşma olasılığını etkiler. Gönüllülerde yapılan çalışmalarda 10^5 bakteri verilenlerin % 28'inde infeksiyon gelişmiştir. Bakteri miktarı 10^9 'a çıkartıldığında bu oran % 95'e çıkmıştır. Konağa ait özelliklerle ilişkili olarak hastalık oluşturabilen doz değişir. En önemli konak faktörü azalmış mide asiditesidir. 10^{2-3} bakteri bile hastalık gelişimine neden olabilir (10, 11).

Tifonun kuluçka süresi, alınan bakteri sayısına, konağın immun durumuna bağlı olmak üzere 5 ile 21 gün arasında değişir. Hastalığın klinik seyri hastadan hastaya farklılık gösterir. Hafif belirtilerle, akşamları 37.5-38.5 °C ateşle kendini gösteren hafif şekilde seyredebileceği gibi, bazen de ağır ölümcül seyir gösterebilir. Tipik bir tifo seyrinde hastalığın ortalama süresi 4 haftadır (11).

Bir-iki gün süren kırıklık, iştahsızlık, baş ağrısı gibi yakınmalarla kendini gösteren bir prodromla başlar. Hastalığın 1. haftasında hergün 1-2 °C yükselen vücut ısısı haftanın sonunda 39-40 °C'ye ulaşır. İştahsızlık, yorgunluk, genel vücut ağrıları, frontal bölgede fazla olmak kaydıyla künt ve sürekli bir baş ağrısı ateşe eşlik eder. Hastaların üçte ikisinde nonproduktif öksürük yakınması vardır. Yaklaşık % 10'unda burun kanaması olur. Hastaların

sadece % 10 ile 40'ında başlangıçta karın ağrısı vardır (10, 11). Deri sıcak ve kurudur, çoğu kez terleme olmaz. Bu haftada daha çok kabızlık olur. Eger ishal şikayeti olursa bu genellikle ateş başlamadan önce kaybolur (10). İlk haftada klinik bulgu olarak ateş ve karın alt kadranda palpasyonla duyarlılık vardır. Vücut ısısı hergün artarak günler içinde yükselir, bu döneme invazyon-efervesens dönemi denir (11, 13).

Tifonun ikinci ve üçüncü haftasında hastalığa ait tipik klinik bulgular gelişir. Tüm belirtilerde şiddetlenme olur. Ateş 40 °C'ye bazen 41-42 °C'ye çıkar ve devamlı bir hal alır. Hastanın genel durumu bozuk, ağır hasta görünümündedir. Ateş bu haftalarda devamlı bir şekilde devam eder. Hastaların % 50'sinden azında nabız sayısı ateşe göre düşük kalır. Buna rölatif bradikardi veya diskordans denir. Hastaların % 30'unda karın üst kısmı ve göğüste "tache rose" denilen makülo-papüler döküntü ortaya çıkar. Bu döneme fastigium dönemi denir.

Komplikasyon görülmezse 3. haftadan sonra ateş düşmeye başlar, yavaş yavaş düşerek 4. haftanın sonuna doğru normale döner. Bu rezolüsyon-defervesens dönemidir (11, 13).

Tifoda komplikasyonlar genellikle tedavi edilmeyen olgularda 2.-3. ve 4. haftalarda görülür. Barsak kanaması, barsak perforasyonu, toksik ensefolapati, myokardit, tromboflebit, akut kolesistit, pnömoni, septik artrit, endokardit, karaciğer ve dalak absesi yol açabileceği komplikasyonlardır (10, 11, 13).

Tifonun kesin tanısı etkenin üretilmesiyle konur. Kan, kemik iliği ve bağırsak sekresyonları kültür için kullanıldığında duyarlılığı % 90'ın üstündedir (10). Serolojik tanıda kullanılan Widal testi O ve H antikorlarını gösteren bir aglütinasyon testidir. Yalancı negatiflik nedeniyle bu testi kullanımdan kaldıran laboratuvarlar vardır. Kültür pozitif tifolu hastaların yaklaşık üçte birinde Widal testinin negatif kalmasının nedeni tam olarak bilinmemektedir (11). *S. typhi* ve diğer *Salmonella*'ların tanısı için DNA problemleri geliştirilmiştir, fakat bunlar halen ticari olarak satılmamaktadırlar ve duyarlılıkları kültür kadar yüksek değildir (10).

Gastroenterit

Salmonella infeksiyonlarının en sık görülen şeklidir, herhangi bir serotiple oluşabilir. Kontamine gıdaların alınmasından 6-48 saat sonra genellikle bulantı, kusma ile başlar. Kısa süre sonra kramp tarzında karın ağrısı ve ishal başlar. Dışkılamamanın sıklığı ve niteliği ishalin süresi değişkendir. Günde birkaç kez olan yumuşak kıvamlı dışkılamadan, ağır kolera benzeri dışkılamaya kadar değişen özellikte olabilir. Bazı olgularda kanlı, mukuslu ishal ve tenesmus vardır. Olguların önemli bir kısmında ateş, üşüme, titreme görülür. Baş ağrısı, miyalji ve diğer

sistemik semptomlar görülebilir. Dışkıda lökosit daha az sıklıkla eritrosit görülür. Hastalık apandisit ve inflamatuvar bağırsak hastalığını taklit edebilir. İshal kendi kendini sınırlar ve ortalama 3-7 günde geçer. On günden fazla süren ishalde başka bir tanıdan kuşkulandırılmalıdır. Ateş 48-72 saat içinde geriler (10, 11, 13).

Özellikle bebeklerde ve yaşlılarda aşırı sıvı kaybına bağlı olarak hipovolemik şok gelişebilir (11).

Bakteriyemi ve lokal organ hastalıkları

Bakterilerin kana karışması, çeşitli organlara yayılması ve yerleşmesiyle gelişen infeksiyon tipidir. Klasik olarak *S. choleraesuis* ve *S. dublin* ateş ile birlikte bakteriyemi tablosuna yol açarlar. *Salmonella*'ların hepsi bakteriyemi yapabilir. *Salmonella* gastroenteriti sırasında % 5 oranında geçici bakteriyemi olur. Altta yatan hastalığı olanlarda, bebeklerde bakteriyemi önemli sonuçlara yol açabilir. Bakterilerin yerleştiği organa ve sistemlere göre pyelonefrit, artrit, osteomyelit, plörezi, menenjit, kolanjit, karaciger absesi ortaya çıkar. Lokalize infeksiyonlar olguların yaklaşık % 5-10'unda ortaya çıkar (3, 10, 11, 13, 94-100).

Taşıyıcılık

Bir *Salmonella* infeksiyonundan sonra ortalama taşıyıcılık süresi 4 haftadır (10, 26). Kronik taşıyıcılık ise dışkı veya idrarda *Salmonella*'ların 1 yıldan daha uzun sürede pozitif olmasıdır. *S. typhi* dışı *Salmonella*'larda kronik taşıyıcılık % 0.2-0.6 oranında görülürken, *S. typhi*'de % 1-4 oranında görülmektedir. Taşıyıcılık kadınlarda ve safra kesesi taşı veya disfonksiyonu olanlarda daha fazladır. Safra taşlarının içinde *S. typhi*'nin antibiyotik ve antikor etkisinden korunduğu düşünülmektedir. Kronik *S. typhi* taşıyıcılarında mesane ve gastrointestinal sistem kanseri insidansı daha yüksek bulunmuştur (10, 11, 13).

TEDAVİ VE KORUNMA

Tifo tedavisinde eskiden beri kullanılan ilaçlar kloramfenikol, ampisilin ve trimetoprim-sulfometoksazoldur. Bu ilaçlara karşı başta direnç gelişimi olmak üzere çeşitli nedenlerle tedavide yeni ilaçlar kullanılmaya başlanmıştır (10, 11, 13, 101). Günümüzde kinolonlar, çocuklarda, gebelerde ve süt emzirenlerde üçüncü kuşak sefalosporinler, özellikle seftriakson seçilecek ilaçtır. Ağır hastalarda steroidler kullanılabilir (5, 10, 11, 13, 26, 102-104).

Salmonella gastroenteritlerinde destekleyici tedavi, sıvı ve elektrolit kaybının yerine konması önemlidir, antibiyotik tedavisi gereksizdir (5, 10, 11, 13, 26, 102-107).

Antibiyotik tedavisi taşıyıcılığı arttırır. Fakat hastaneye yatmayı gerektiren ağır ishallerde, ishal ve ateşin 5 günü geçtiği olgularda, altta yatan hastalığı olanlarda, bebeklerde, yaşlılarda antibiyotik tedavisi gerekir.

Taşıyıcılık tedavisinde ampisilin, trimetoprim-sulfometokzasol, kinolonlar 4-6 hafta süreyle, ayrıca safra ve böbrek taşı varsa eradikasyon için cerrahi tedavi de önerilmektedir (10, 11, 13).

Korunma yöntemlerinden birisi tifoya karşı aşılama'dır. Parenteral ölü aşı, parenteral Vi polisakkarid içeren aşı ve attenüe Ty21a kökeninin kullanıldığı canlı oral *S. typhi* aşısı olmak üzere üç tip ticari aşı vardır. Aşıların koruyuculuğu % 100 değildir. Ayrıca bu aşılar diğer *Salmonella* serotiplerine karşı bağışıklık sağlamaz. *Salmonella* infeksiyonlarının kontrolü, kişisel hijyen kurallarının dikkatle uygulanmasına, temiz su ve yiyeceklerin sağlanmasına, kanalizasyon sisteminin kurulmasına, kronik taşıyıcıların tanı ve tedavilerinin sağlanmasına bağlıdır (10, 11, 13).

GEREÇ VE YÖNTEM

BESİYERLERİ

Üreticisi tarafından özel bir hazırlanış yöntemi önerilmeyen tüm besiyeri ve solüsyonlar önerilen miktarlarda hazırlanarak distile suda eritildikten sonra 1 litreye tamamlanıp, pH'ı ayarlanıp otoklavda 121 °C 'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Salmonella-Shigella Agar (SS)(Acumedia Manufactures Inc. Baltimore, ABD):

Beef extract	5	gr
Dipeptone	5	gr
Lactose	10	gr
Bile salts	8.5	gr
Sodium citrate	8.5	gr
Sodium thiosulfate	8.5	gr
Ferric citrate	1	gr
Brilliant green	0.00033	gr
Neutral red	0.025	gr
Agar	13.5	gr

Mac Conkey Agar (Acumedia Manufactures Inc. Baltimore, ABD):

Pancreatic digest of gelatin	17	gr
Pancreatic digest of casein	1.5	gr
Peptic digest of animal tissue	1.5	gr
Lactose	10	gr

Bile salts mixture	1.5	gr
Sodium chloride	5	gr
Neutral red	0.03	gr
Crystal violet	0.001	gr
Agar	13.5	gr

Eosine Methylen Blue Agar (EMB) (Oxoid Unipath Ltd. Hampshire, İngiltere):

Peptone	10	gr
Lactose	10	gr
Dipotassium hydrogen phosphate	2	gr
Eosine	0.4	gr
Methylen blue	0.06	gr
Agar	15	gr

Kanlı Agar ((Difco Laboratories Michigan, ABD):

Beef heart infusion	500	gr
Trypticose	10	gr
Sodium chloride	5	gr
Agar	15	gr

Benmaride 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra %5 steril defibrine koyun kanı steril şartlarda ilave edilip petrilere döküldü.

Selenite Buyyon (SB)(Oxoid Unipath Ltd. Hampshire, İngiltere):

Peptone	5	gr
Lactose	4	gr
Sodium phosphate	10	gr

4 gr. sodium biselenit eklendi..

GN Buyyon (GN)(BBL Becton Dickinson and Company. Cockeysville, ABD):

Pancreatic digest of casein	10	gr
Pancreatic digest of animal tissue	10	gr
Dextrose	1	gr
D-Mannitol	2	gr
Sodium citrate	5	gr
Sodium desoxycholate	0.5	gr

Di potassium phosphate	4	gr
Mono potassium phosphate	1.5	gr
Sodium chloride	5	gr

Triple Sugar Iron Agar (TSI) (Difco Laboratories. Michigan, ABD):

Yeast extract	3	gr
Sodium chloride	5	gr
Lactose	10	gr
Sucrose	10	gr
Glucose	1	gr
Ferrous amonium sulphate	0.2	gr
Sodium thiosulphate	0.025	gr
Agar	3	gr

Christensen Urea Agar (Oxoid Unipath Ltd. Hampshire, İngiltere):

Peptone	1	gr
Glucose	1	gr
Sodium chlorid	5	gr
Monopotassium phosphate	2	gr
Phenol red	0,017	gr
Agar	20	gr

900 ml distile suda eritilerek, 50 °C'ye soğutulduktan sonra 100 ml distile suya 29 gr. üre agar bazı konulup eritilerek filtreden (FP 030/3 Schlerchen & Schcell GmbH, Almanya) geçirilerek besiyerine katıldı.

Simmons- Citrate Agar (Difco Laboratories. Michigan, ABD):

Sodium chloride	5	gr
Magnesium sulphate	0.2	gr
Amonium dihidrogen phosphate	1	gr
Dipotassium phosphate	1	gr
Sodium citrate	2	gr
Bromthymol blue	0.08	gr
Agar	15	gr

Lysine Iron Agar (LIA) (Acumedia Manufactures Inc. Baltimore, ABD):

Peptone	5	gr
Yeast-extract	3	gr
Glucose	1	gr
L-lysine	10	gr
Ferric ammonium citrate	0.5	gr
Sodium thiosulphate	0.04	gr
Bromocresol purple	0.02	gr
Agar	14.5	gr

Motility Indole Ornithine Medium (MIO) (Difco Laboratories. Michigan, ABD):

Bacto yeast extract	3	gr
Bacto peptone	10	gr
Bacto tryptone	10	gr
Bacto L-ornithine HCL	5	gr
Bacto dextrose	1	gr
Bacto agar	2	gr
Bacto brom cresol purple	0,02	gr

Phenylalanine Agar (FA)(BBL Becton Dickinson and Company. Cockeysville, ABD):

DL- Phenylalanine	2	gr
Yeast Extract	3	gr
Sodium chloride	5	gr
Sodium phosphate	1	gr
Agar	12	gr

Mueller Hinton Agar (MHA) (Oxoid Unipath Ltd. Hampshire, İngiltere):

Beef,dehydrated infusion	300	gr
Casein hydrolysate	17.5	gr
Starch	1.5	gr
Agar	17	gr

Mueller Hinton Buyyon (MHB) (Oxoid Unipath Ltd. Hampshire, İngiltere):

Beef, dehydrated infusion	300	gr
Casein hydrolysate	17.5	gr
Starch	1.5	gr

Tryptone Soy Buyyon (TSB) (Oxoid Unipath Ltd. Hampshire, İngiltere):

Pancreatic digest of casein	17	gr
Papaic digest of soybean meal	3	gr
sodium chloride	5	gr
Di-basic potassium phosphate	2.5	gr
Glucose	2.5	gr

Luria-Bertani Buyyon (LB):

Tryptone (Oxoid)	10	gr
Yeast extract (Oxoid)	5	gr
Sodium chloride (Sigma)	10	gr

Peptone Glucose Buyyon (PGB):

Peptone (Difco)	10	gr
Glucose (Difco)	10	gr
Bromothymol blue (Sigma) (etanolde %	5	ml

1.5'luk stok solusyonundan)

Distile suda eritildikten sonra içine bromothymol blue eklendi ve 1 litreye tamamlandı.

SOLÜSYON VE MİYARLAR

Altında özel bir hazırlanış şekli tarif edilmeyen solüsyon ve miyarlar bir miktar distile suya katıldıktan sonra sonra 1 litreye tamamlanıp, otoklavda 121 °C 'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Phosphate Buffer Solüsyon (PBS) pH 6, 0.01 mol/L:

Potassium phosphate (Sigma)	11	gr
Di-potassium hydrogen phosphate anhydrous (Merck)	2.2	gr

Phosphate Buffer Solüsyon (PBS) pH 8, 0.01 mol/L:

Potassium phosphate (Sigma)	16.3	gr
Di-potassium hydrogen phosphate anhydrous (Merck)	0.9	gr

Phosphate Buffer Solüsyon (PBS) pH 7.2, 0.01mol/L:

Di-sodium hydrogen phosphate anhydrous (Merck)	14.2	gr
Mono-basic sodium phosphate dihydrate (Merck)	15.6	gr

1 mol/L NaOH Solüsyonu :

NaOH (Sigma)	40	gr
--------------	----	----

2.5.mol/L NaOH Solüsyonu:

NaOH (Sigma)	100	gr
--------------	-----	----

5 mol/L NaOH Solüsyonu:

NaOH (Sigma)	200	gr
--------------	-----	----

0.05 N HCL Solüsyonu :

HCL (Merck)	4.2	ml
-------------	-----	----

Madde ölçüldü.

Tris-EDTA Buffer (TE) :

10 mM Tris-HCL (pH 8)	1	litre
1 mM EDTA (pH 8)	1	litre

Birer litre 20MM Tris-HCL ve 2mM EDTA solüsyonunun karışımından oluşturuldu.

20 mM Tris-HCL Solüsyonu:

Trisma base (Sigma)	2.42	gr
HCL (Merck)	0.84	ml

Maddeler distile suda eritildikten sonra 1 litreye tamamlandı.

2 mM EDTA Solüsyonu:

EDTA (Sigma)	0.744	gr
--------------	-------	----

Eritme Tamponu Solüsyonu:

Steril distile su	4.25	ml
% 15 SDS	3	ml

250 mM Tris	4	ml
5 N NaOH	150	μ l

5 N NaOH kullanımdan hemen önce katılarak hazırlandı.

250 mM Tris Solüsyonu:

Trisma-base (Sigma)	30.27	gr
---------------------	-------	----

% 15 SDS Solüsyonu:

SDS (Sigma)	15	gr
-------------	----	----

Distile suda eritilip 1 litreye tamamlandı. Koyu renkli şişede karanlıkta saklandı.

Tris-Acetic acid glacial-EDTA (TAE) Solüsyonu :

Trisma base (Sigma)	242	gr
Acetik acid glacial (Sigma)	57.1	ml
0.5 m EDTA (pH 8)	100	ml

0.5 M EDTA Solüsyonu:

EDTA (Sigma)	186.1	gr
--------------	-------	----

Kloroform-İzoamil Alkol Solüsyonu:

Kloroform (Sigma)	24	ml
İzoamil alkol (Sigma)	1	ml

Maddeler karıştırılarak koyu renkli şişede saklandı.

Yükleme Tamponu Solüsyonu:

Bromphenol blue (Sigma)	25	gr
Ficoll (Sigma)	1.5	gr

Maddeler tartıldı. 9.5 ml steril distile suda eritilerek filtreden geçirilerek sterilize edildi. Oda ısısında koyu renkli şişede saklandı.

Plazmid Jeli:

Agaroz (Sigma)	0.800	gr
----------------	-------	----

Madde tartıldı. 1/50 oranında distile su ile sulandırılmış TAE buffer içine konarak 100 ml'ye tamamlandı. Kullanımdan önce mikro dalga fırında ısıtılarak eritildi.

% 2 D-Mannoz Solüsyonu:

D-Mannoz (Sigma) 2 gr

Madde tartıldı. Steril fizyolojik tuzlu suda eritilerek 100 ml'ye tamamlandı. Otoklavda 121 °C 'de 15 dk sterilize edildi.

% 3 Eritrosit Süspansiyonu :

Üç kez yıkanmış eritrosit süspansiyonu 3 ml

Deneyde kullanılan koyun kanı Edirne Belediye Mezbahasından, O Rh(+) insan kanı sağlıklı bir denekten sağlandı. Pıhtılaşması önlenmiş olan kanlardan 3 ml steril santrifüj tüpüne alınarak 3-5 dakika kadar santrifüj edildi. Üstte kalan plazma alınarak üstüne 3 ml steril fizyolojik tuzlu su eklenerek tekrar santrifüj edildi. Bu yıkama işlemi üç kez tekrarlanarak üstte kalan sıvı kısım alındıktan sonra dipte kalan çökeltiden 3 ml alındı. Steril fizyolojik tuzlu suya katılarak 100 ml'ye tamamlandı.

İndol Ayracı:

4-(Dimethylamino)-benzaldehyde (Merck) 2 gr

Saf alkol 190 ml

HCl (Merck) 40 ml

Taze olarak hazırlandı, koyu renkli şişelerde +4 °C'de saklandı.

Phenylalanine deaminase Miyarı (FAD):

Ferric chlorid (Merck) 12 gr

HCl (%37) 2.5 ml

Distile su ile 10 ml'ye tamamlandı koyu renkli şişelerde + 4 °C'de saklandı.

DENEYLER

1- Kökenlerinin Toplanması ve Tanımlanması

Hastalardan alınan dışkı örnekleri SS ve EMB agar ayrıca GN ve SB sıvı besiyerlerine ekildi. Ekimden 6-8 saat sonra SB ve GN besiyerlerinden SS agara ekim yapıldı. Ekim yapıldıktan sonra besiyerleri aerop koşullarda 36.5 °C'de 16-18 saat inkübe edildi. EMB agarda laktoz negatif, şeffaf, SS agarda laktoz negatif, şeffaf ve H₂S yapmış kolonilerin *Salmonella* cinsinden olabileceği düşünülüp biyokimyasal testler yapılmıştır. Biyokimyasal test sonuçları şu şekilde değerlendirilmiştir:

TSI besiyeri 36.5 °C'de bir gece aerop olarak inkübe edildi. Ertesi gün besiyerindeki renk değişimi, gaz varlığı ve H₂S oluşumuna bakıldı. Dip kısım sarı, yatık kısımda kırmızı renk oluşumu, asit-alkali görünüm, siyah renk varlığı, H₂S pozitif, hava kabarcıklarının varlığı, gaz oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Simmon's Citrat besiyeri 36.5 °C'de bir gece aerop olarak inkübe edildi. Sitrat kullanımının olup olmadığı araştırıldı. Besiyeri renginin değişmesi ve üreme olması sitrat pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Christensen Urea agar 36.5 °C'de bir gece aerop olarak inkübe edildi. Üreaz varlığı araştırıldı. Besiyeri renginin değişmemesi üreaz negatif olarak değerlendirilmiştir.

MİO besiyeri 36.5 °C'de bir gece aerop olarak inkübe edilip, ornitin dekarboksilaz, indol varlığı ve hareket araştırılmıştır. Besiyeri renginin değişmemesi ornitin dekarboksilaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. Besiyerinde bulanıklık oluşması ve bakterinin ekim çizgisinden etrafa yayılımı hareket pozitif olarak değerlendirilmiştir. Besiyeri yüzeyine 0,1 ml indol miyarı damlatıldı. Kırmızı renk meydana gelmesi indol pozitif olarak değerlendirilmiştir.

LIA besiyeri 36.5 °C'de bir gece aerop olarak inkübe edildi. Lizin dekarboksilaz varlığı araştırıldı. Ertesi gün besiyeri renginin sararması lizin dekarboksilaz negatif olarak değerlendirilmiştir.

FA besiyeri 36.5 °C'de bir gece aerop olarak inkübe edildi. Ertesi gün besiyeri yüzeyine FAD miyarı damlatıldı. Renk değişikliği olmaması negatif olarak değerlendirilmiştir.

Biyokimyasal test sonuçlarında TSI'de asit-alkali görünüm, H₂S pozitif, gaz pozitif, sitrat pozitif, üreaz negatif, hareketli, ornitin dekarboksilaz pozitif, indol pozitif, lizin dekarboksilaz negatif, FAD negatif bakteriler *Salmonella* olması olası kökenler olarak kabul edilmiştir.

Test sonuçlarına göre *Salmonella* olması olası kökenler *Salmonella* anti-serumlarıyla (Difco Laboratories, Michigan, ABD) karşılaştırılarak tür düzeyinde belirleme yapılmıştır (108, 109). *Salmonella* olarak tanımlanan bakteriler -70 °C de %10'luk skim milk besiyerinde (yağsız süt tozu, Pınar Süt Mamülleri A.Ş. İzmir) saklanmıştır. Stoklanmış bakteriler çalışma anında iki kez % 5 koyun kanlı agara pasajlanmış ve saflık açısından tekrar kontrol edilmiştir.

2- Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması

Kökenlerde antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon ve agar dilüsyon yöntemleri ile araştırıldı. Kalite kontrol kökeni olarak her iki yöntemde de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 veya *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanıldı. Agar dilüsyon yöntemi altın standart kabul edilmiştir. Major uyumsuzluk, bir yöntem ile duyarlı bulunan bakterinin diğer yöntemle

dirençli bulunması, minör uyuşmazlık bir yöntem ile ara duyarlı bulunan bakterinin diğer yöntemle duyarlı veya dirençli bulunması olarak tanımlanmıştır (110). Disk difüzyon ve agar dilüsyon yönteminde orta duyarlı kökenler dirençli olarak kabul edilmiştir.

2a- Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon testleri Mueller Hinton agar besiyerinde NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) önerilerine göre yapılmıştır (111). Amoksisilin/klavulanik asit (AMC) (20/10 µg), sefoksitin (FOX) (30 µg), sefoperazon (CFP) (75 µg), seftriakson (CRO) (30 µg), seftazidim (CAZ) (30 µg), sefotaksim (CTX) (30 µg), imipenem (IPM) (10 µg), aztreonam (ATM) (30 µg), gentamisin (GN) (10 µg), amikasin (AK) (30 µg), tobramisin (TOB) (10 µg), netilmisin (NET) (30 µg), sefazolin (KZ)(30µg) diskleri (Oxoid, İngiltere) kullanılmıştır. Ayrıca özel disk dizilimiyle (çift diskli sinerji testi) genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) varlığı aranmıştır (112).

Taze kültür örneklerinden 3-5 koloni alınıp Mueller-Hinton buyyona ekildi. 36.5 °C'de 2,5-3 saat bekletildi. Daha sonra tüp bulanıklığı 10⁸ cfu/ml'ye eşdeğer bulanıklığa sahip Mc Farland 0.5 standardına göre ayarlandı. Mueller-Hinton agar besiyeri yüzeyine eküvyon ile inokulum sürülerek yayıldı. Antibiyotik diskleri konulmadan evvel nemin absorbe edilmesi için 2-3 dakika beklendi. Çift disk sinerji testi için disk difüzyon testi her köken için 9 mm çaplı iki ayrı petride yapıldı. Birinci petriye ortaya AMC diski ve bundan 2.5 cm uzaklıkta olacak şekilde çevresine CTX, CAZ, ATM, CRO, CFP ve KZ diskleri, ikinci petriye ortaya FOX, bundan 2.5 cm uzaklıkta olacak şekilde çevresine GN, NET, AK, IPM, TOB diskleri, ortadaki diskler hariç otomatik dağıtıcı (Oxoid) ile ortadaki diskler steril bir pensetle yerleştirildi. Diskler yerleştirildikten sonra plaklar 36.5 °C'lik etüve kaldırıldı. Bir gecelik inkübasyondan sonra plaklardaki inhibisyon zon çapları kumpas ile ölçüldü (111). AMC ve FOX'a duyarlı, ATM veya üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli veya bu antibiyotiklerin disklerinin AMC diskine bakan kısmındaki zonunun genişlemesi ESBL varlığı olarak değerlendirilmiştir (112, 113).

2b- Agar Dilüsyon

Agar dilüsyon testi ile antibiyogram NCCLS önerilerine göre (111) yapılmış ve ampisilin (AMP), AMC, CRO, CAZ, siprofloksasin (CIP), nalidiksik asit (NA), tetrasiklin (TE), trimetoprim/sulfametoksazol (SXT), CTX, GN, NET, TOB, AK, sefuroksim (CXM) için minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri saptanmıştır. AMP, AMC ve TE aktif maddeleri Fako İlaçları A.Ş., CAZ aktif maddesi Glaxo-Wellcome İlaçları A.Ş., SXT ve

CXM aktif maddeleri Roche Müstahzarları San. A.Ş., CIP aktif maddesi Bayer Türk Kimya San. Tic. Ltd. Sti., CTX aktif maddesi Hoechst Marion Roussel San. ve Tic. A.Ş., NET ve TOB aktif maddeleri Eczacıbaşı İlaç San. ve Tic. A.Ş., AK aktif maddesi Abfar İlaç San. ve Tic. A.Ş., NA, GN, rifampisin (RIF), CRO aktif maddeleri Sigma Chemical Co. ABD. şirketinden antibiyotik potensleri belirtilmiş olarak temin edilmiştir. Aktif maddelerin antibiyotik potensleri *S. aureus* ATCC 29213 ve *E. coli* ATCC 25922 kullanılarak kontrol edilmiştir.

Antibiyotikler aşağıdaki formüllere göre tartılarak hazırlanmıştır:

$$\text{Ağırlık(mg)} = \frac{\text{Hacim(ml)} \times \text{Konsantrasyon}(\mu\text{g})}{\text{Antibiyotik potens}} \quad \text{Hacim(ml)} = \frac{\text{Ağırlık(mg)} \times \text{Antibiyotik potens}}{\text{Konsantrasyon}(\mu\text{g})}$$

Yukarıdaki förmüllere göre gerekli ölçümler yapılarak 2560 µg/ml olacak şekilde antibiyotik stok solusyonları hazırlandı. Antibiyotikler önce Tablo II'de gösterilen uygun eriticilerde eritildi. Ardından sulandırıcı ile gerekli hacime tamamlanarak filtreden geçirilerek sterilize edilmiştir.

Tablo II: Kullanılan eritici ve sulandırıcılar

Antibiyotik	Eritici	Sulandırıcı
AMP	PBS pH 8	PBS pH 6
Amoksisilin	PBS pH 6	PBS pH 6
Klavulanik asit	PBS pH 8	PBS pH 6
CAZ	CAZ ağırlığının 1/10 kadar sodyum karbonatlı steril distile su	Steril distile su
NA	½ hacim distile su üstüne 1 mol/L NaOH ekleyerek	Steril distile su
Trimetoprim	Son hacmin 1/10'u kadar 0.05 N HCL	Steril distile su
Sulfametoksazol	½ hacim distile su üstüne 2.5 mol/L NaOH ekleyerek	Steril distile su
TE, CTX, CIP, CRO NET CXM, GN, TOB, AK	Steril distile su	Steril distile Su

13 adet steril tüp alınarak ikinci tüpten itibaren hepsine 2 ml steril distile su konuldu. İlk tüpe 2560 µg/ml'lik stok solusyonundan 2 ml konuldu. İkinci tüpe de 2 ml konularak birkaç kez karıştırıldı. İkinci tüpten 2 ml alınarak sırasıyla 13. tüpe kadar titrasyon uygulandı. Son tüpten alınan 2 ml dışarı atıldı. İlk tüpteki 2560 µg/ml olan antibiyotik konsantrasyonu son tüpte 0.6 µg/ml'ye indi.

Otoklavdan çıkan MHA benmaride 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 1'den 13'e kadar numaralandırılmış steril petrilere 18 ml MHA, 2 ml antibiyotik solusyonu dökülerek karıştırıldı. Oda ısısında donmaya bırakıldı. Böylece antibiyotikler 10 kez seyreltilerek ilk petride 256 µg/ml, son petride 0.06 µg/ml'lik antibiyotik konsantrasyonuna ulaşıldı. Her test için antibiyotik içermeyen kontrol besiyerleri hazırlandı. *S. aureus* ATCC 29213 ve *E. coli* ATCC 25922 kökenleri kontrol olarak kullanıldı.

İnokulum hazırlamak için 24 saatlik taze kültür örneklerinden 3-5 koloni alınıp Mueller-Hinton buyyona ekildi. 36.5 °C'de 2,5-3 saat bekletildi. Daha sonra tüp bulanıklığı 10⁸ cfu/ml'ye eşdeğer bulanıklığa sahip Mc Farland 0.5 standardına göre ayarlandı. Steril U dipli microplate'ler kullanılarak çukurlara 10 µl bakteri süspansiyonundan 90 µl MHB konuldu. Kırksekiz uçlu inokulatör ile microplate'den alınan bakteriler önce kontrol, sonra en düşük konsantrasyonlu MHA plağından başlayarak sırasıyla agar yüzeyine inokule edildi. Bakterilerin ekildiği noktalar tamamen kuruyana kadar plaklar oda ısısında bırakıldı. Sonra 36.5 °C'lik etüvde 16-20 saat inkübe edildi. Antimikrobiyalin mikroorganizmanın üremesini engellediği en düşük konsantrasyon minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak belirlendi. Kökenlerin %50'inin üremesini önleyen MİK değeri MİK₅₀, %90'ının üremesini önleyen MİK değeri ise MİK₉₀ olarak kabul edildi (111). İki veya daha çok antimikrobiyala dirençli suşlar çoklu dirençli suş kabul edildi (106).

3- Virülans İle İlgili Deneyler

3a- Eritrosit hemaglutinasyonu

Salmonella'ların insan ve koyun eritrositleriyle olan hemaglutinasyonu mannoz varlığında ve yokluğunda araştırıldı. Deneye başlamadan önce bakteriler önce kanlı agara ardından fimbriyaların tam olarak belirmesi için 24-48 saatte bir beş kez TSB'a (10 ml) pasajlanarak 36.5 °C'de inkübe edildi. Sonuncu pasajdan sonra TSB tüpleri 3700 devirde 20 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı kısım steril pipetle alınarak dipte kalan çökelti 1 ml steril fizyolojik tuzlu su ile tekrar süspansiyon edildi. U dipli microplate'in her çukuruna 50'şer µl, bakteri süspansiyonu, % 3'lük insan veya koyun eritrosit süspansiyonu, steril fizyolojik tuzlu su (SFTS) konularak karıştırıldı. Mannoz dirençli hemaglutinasyon için SFTS yerine % 2 D-mannoz içeren steril SFTS solusyonu kullanıldı. Negatif kontrol % 3'lük insan veya koyun eritrosit süspansiyonunun ve SFTS'nin karıştırılmasıyla yapıldı. Bir gecelik +4 °C'de bekletildikten sonra hemaglutinasyon varlığı çıplak göz ile değerlendirildi (50, 114).

Eritrositlerin microplate çukurunun dibinde kenarları düzensiz, girintili çıkıntılı, kalınca bir çember ya da düzensiz bir kitle halinde toplanması pozitif hemaglutinasyon

reaksiyonu olarak, eritrositlerin çukurun dibinde düzgün bir daire şeklinde çökmesi de negatif sonuç olarak değerlendirildi (69).

Bakteri süspansiyonu eklenen çukurda gözlenen hemaglutinasyon eğer % 2 D-mannoz içeren SFTS solusyonu konulan çukurda da gözlenirse mannoz dirençli hemaglutinasyon (MRHA) olarak değerlendirildi.

Bakteri süspansiyonu eklenen çukurda gözlenen hemaglutinasyon eğer % 2 D-mannoz içeren solusyonu konulan çukurda yoksa bu mannoz duyarlı hemaglutinasyon (MSHA) olarak değerlendirildi (50, 69, 114).

3b- Serumun Öldürücü Etkisine Direnç

Deneyde kullanılan insan serumu sağlıklı bir insandan, tavşan serumu Sigma Chemical. Co. ABD şirketinden temin edildi. Deney U dipli microplate'de yapıldı. Çukurlara 100 µl LB buyyon konuldu. Kanlı agardaki taze kültürlerden 2-3 koloni LB buyyon bulunan çukurlara ekildi. Bir gecelik 36.5 °C'de inkübasyondan sonra çok uçlu inokulatör kullanarak bakteriler yine içinde 100 µl LB buyyon içeren microplate'lere ekildi. Etüvde 2 saat bekletildikten sonra logaritmik üreme döneminde olan bakterilerden 25'şer µl alınarak bir tanesi PGB ve serum, diğeri sadece PGB içeren microplate'lere aktarıldı. Microplate'ler 42 °C'de 3 saat inkübe edildikten sonra çukurlardaki renk değişimi gözlemlendi.

PGB'nin başlangıç rengi olan yeşilin sarıya dönmesiyle o çukurdaki bakterinin ürettiği anlaşıldı. PGB ve serum içeren çukurlardaki sarı renk oluşumu, o kökenin serumun öldürücü etkisine dirençli olduğunu gösterdi (50, 77).

4- Plazmid Ekstraksiyonu

Steril kan kültür şişelerine LB buyyon konularak otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi. Yirmidört saatlik taze kültürlerden içinde LB buyyon olan kan kültür şişelerin ekim yapılarak kan kültür cihazına (Bactec 9240 Becton Dickinson Microbiology Systems Cockeysville, ABD) konuldu. Kan kültürü cihazında besiyeri hem çalkalandı, hem de 36.5 °C'de 16-18 saat inkübe edildi. Bakteriler üretildikten sonra ertesi gün plazmid ekstraksiyonu işlemine başlandı. Kristalize fenol (Sigma) eppendorf tüpüne konularak 58 °C'ye ayarlanmış ısı kuyucuğu cihazına (Techne FDB 02AD, İngiltere) konuldu. Kan kültür cihazından çıkarılan LB buyyondan 1.5 ml eppendorf tüpüne aktarıldı. On dakika buzda bekletildikten sonra soğuk santrifüjde (Heraeus Sepatech Biofuge 22R, Almanya) + 4 °C'de 11700 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üst kısımdaki sıvı kısım döküldükten sonra dipte kalan az miktardaki sıvı steril pipetle alındı. Tüm işlem boyunca ara basamaklarda eppendorf tüpleri

buzun içinde tutuldu. 20 µl TE buffer eppendorf tüplerine konuldu ve tekrar süspansiyon edildi. Ardından 30 saniye kadar karıştırıldı. Eritme tamponu solüsyonu hazırlanarak her eppendorf tüpüne 100 µl konuldu. Yavaşça birkaç kez tersine çevrilerek karıştırıldı. Tüpler 58 °C'ye ayarlı ısı kuyucuğu cihazına yerleştirilerek 45 dk. beklendi. Kloroform-izoamil alkol karışımı eşit miktarda sıvı fenolle karıştırılarak bundan her tüpe 100 µl konuldu. Tüpler yavaşça rengi beyazlaşınca kadar birkaç kez tersine çevrilerek karıştırıldı. Soğuk santrifüjde + 4 °C'de 13500 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Tüplerin üst kısmındaki berrak görünümdeki, eğer varsa plazmidleri de içeren kısımdan 90 µl alınarak başka bir eppendorf tüpüne aktarıldı. Bunun üzerine 20 µl yükleme tamponu eklenerek 15 dakika buzda bekletildi. Bu arada plazmid jeli mikro dalga fırında eritilerek yaklaşık 45-50 °C'ye soğuduktan sonra kalıbına döküldü ve tarakları yerleştirildi. Jel donduktan sonra taraklar yavaşça çıkarılarak jel elektroforez tankına yerleştirildi. Jelin üstüne örtecek şekilde 1/50 oranında distile su ile sulandırılmış TAE tamponu cihaza konuldu. Agarozda taraklar yardımı ile oluşturulan deliklere 30 µl yükleme tamponu eklenmiş plazmid solüsyonu konuldu. Elektroforez cihazı (Stratagene Heather volt 500, ABD) 80volt, 250 mA'e ayarlanarak çalıştırıldı. Yükleme tamponunun oluşturduğu mavi bandın jel içinde ilerleyişi gözle takip edilerek yaklaşık 2-2.5 saat sonra jelin sonuna geldiğinde işleme son verildi. Jel etidyum bromidle boyandıktan sonra ultraviyole ışıkta polaroid film ile görüntü kaydedildi. Kontrol kökeni olarak 98, 42, 23.9, 4.6 MDa ağırlığında dört tane plazmid içeren *E. coli* NTCC 50192 kullanıldı. Kaydedilen görüntü üzerinde plazmid jelindeki deliklerle plazmid bantları arasındaki uzaklık cetvel ile ölçüldü. Yarı-loğaritmik kağıt üzerinde band uzaklığı ve plazmid ağırlığı işaretlenerek kesiştikleri nokta bulundu. Bulunan dört nokta birleştirilerek bir eğri elde edildi. Elde edilen plazmidlerin ölçülen uzaklıkları yarı-loğaritmik kağıda işaretlenerek, bunun eğri ile kesiştiği nokta saptanarak MDa cinsinden plazmid ağırlıkları saptandı. Bu yöntemde kullanılan en büyük plazmid 98 MDa ağırlığında olduğundan, bundan büyük plazmidlerin ağırlıkları >100 MDa olarak kabul edildi (115).

5- Transkonjugasyon

Ampisiline direnç saptanan tüm kökenlerde direncin konjugatif bir plazmid üzerinde olup olmadığını saptamak için alıcı bakteri olarak kökenin direnç profiline göre *E. coli* K-12 (J-53-1 (Nal^R) veya J-53-2 (Rif^R)) kullanıldı. Verici *Salmonella*'ların NA ve RIF duyarlılığı deneyden önce araştırıldı. Verici *Salmonella*'lar ve alıcı *E. coli* K-12 TSB'ye ekildi. Logaritmik üreme fazında iken aynı TSB (3ml) tüpüne 500 µl alıcı *E. coli* K-12 ve 100 µl

verici *Salmonella*'lar konularak karıştırıldı. Bir gecelik 36.5 °C'lik etüvde inkübe edildikten sonra transkonjugantlar AMP (64 µg/ml) ve alıcı bakterinin dirençli olduğu NA (64 µg/ml) veya RIF (64 µg/ml) içeren MHA besiyerine ekildi. Bu besiyerinde *Salmonella*'lar RIF veya NA duyarlı oldukları için, *E. coli* K-12 AMP'ye duyarlı olduğu için üreyemedi. Sadece AMP direncini *Salmonella*'lardan konjugasyonla alan *E. coli* K-12 üreyebildi. Transkonjugantlar bu yolla seçildikten sonra disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılığı ve plazmid profilleri araştırıldı (12).

İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

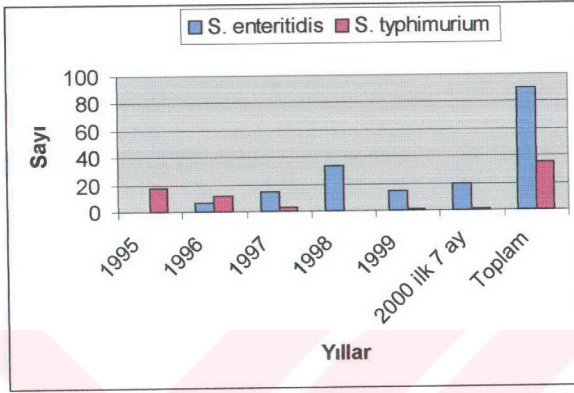
Serotipler arasındaki virülans ve antimikrobiyal direnç farklılıklarını ortaya koymak için tek değişkenli analizler (ki-kare ve Fisher'in kesin ki-kare testi) uygulandı. p değerinin 0.05'den küçük olması durumunda test anlamlı kabul edildi. İstatistiksel karşılaştırmalarda T.Ü. Tıp Fak. Dekanlığı Bilgi İşlem Merkezindeki SSPS (Versiyon 9.0.1, Lisans No:105192) programı kullanıldı.

BULGULAR

Ocak 1995 – Temmuz 2000 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında ayrımı yapılan *S. typhi* dışı *Salmonella* kökenlerinin yıllara ve türlere göre dağılımı Tablo III ve Şekil 1’de gösterilmiştir. Toplam 125 kökenin 90’ı (% 72) *S. enteritidis*, 35’i (% 28) *S. typhimurium*’dur. Edirne’de en sık ayrılan *Salmonella* serotipi *S. enteritidis*’tir. *S. enteritidis* yıllar içinde artma gösterirken *S. typhimurium* ayrımında azalma görülmektedir. *S. enteritidis*’egöre *S. typhimurium*’un ayrım hızındaki azalma 1997’den itibaren istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Bu yıllarda ayrılan iki *S. typhi* ve bir *S. paratyphi A* çalışmaya alınmamıştır. 1995 yılında ayrılan *S. enteritidis*’ler saklanmadığı için çalışmaya sadece *S. typhimurium*’lar alınmıştır.

Tablo III: *Salmonella* kökenlerinin yıllara ve türlere göre dağılımı

Serotip	1995		1996		1997		1998		1999		2000 (ilk 7 ay)		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
<i>S. enteritidis</i>	-		7	37	15	83	33	100	15	94	20	95	90	72
<i>S. typhimurium</i>	18		12	63	3	17	-	-	1	6	1	5	35	28
Toplam	18		19	100	18	100	33	100	16	100	21	100	125	100

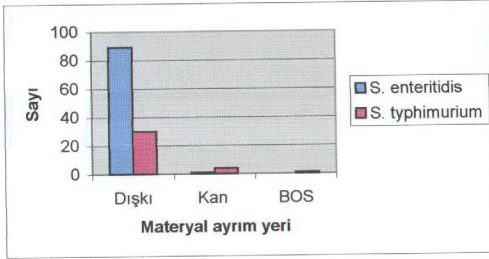


Şekil 1: *Salmonella* kökenlerinin yıllara ve türlere göre dağılımı

Yüzyirmibeş *Salmonella* kökeninden 119'u dışkıdan, beşi kandan, biri BOS'dan ayrılmıştır. Bağırsak dışı ayırım oranı % 5 olarak bulunmuştur. Serotiplere göre dağılımına bakıldığında ise 90 *S. enteritidis* kökeninin 89'u dışkıdan, biri kandan, 35 *S. typhimurium* kökeninin 30'u dışkıdan, dördü kandan, biri beyin omurilik sıvısından (BOS) ayrılmıştır. *S. typhimurium* kökenlerinde bağırsak dışı enfeksiyona yol açma oranı daha yüksek bulunmuştur. *S. enteritidis*'te bu oran % 1 iken *S. typhimurium*'da % 14 idi ($p<0,05$) (Tablo IV ve Şekil 2).

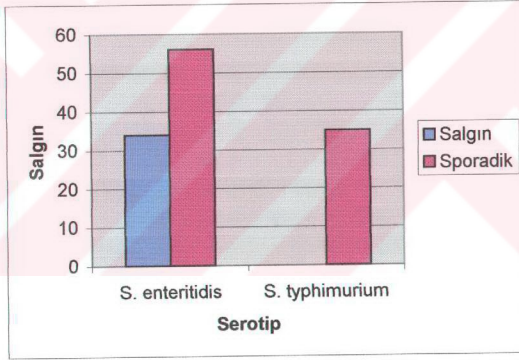
Tablo IV: *Salmonella*'ların ayırım materyallerine göre dağılımı

	Dışkı	Kan	BOS
<i>S. enteritidis</i>	89	1	-
<i>S. typhimurium</i>	30	4	1
Toplam	119	5	1



Şekil 2: *Salmonella*'ların ayırım yerlerine göre dağılımı

Nisan 1998'de ayrılan 18 ve Temmuz 2000'de ayrılan 16 *S. enteritidis* ortak kaynaklı olduğu saptanan iki ayrı salgın sırasında etkilenen hastalardan, diğerleri ortak kaynak öyküsü olmayan sporadik olgulardan elde edilmiştir.



Şekil 3: *Salmonella*'ların epidemiyolojik durumlarına göre dağılımı

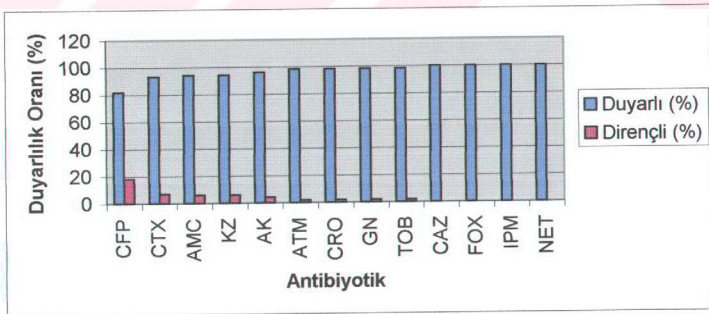
Salmonella kökenlerinde çift disk sinerji testiyle araştırılan genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) varlığı 125 *Salmonella* kökeninin hiçbirisinde saptanmamıştır.

Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre 125 *Salmonella* kökeninin antibiyotik duyarlılık oranları ve duyarlılıklarının dağılımı Tablo V ve Şekil 4'de görülmektedir. Disk difüzyon ve agar dilüsyon yönteminde orta duyarlı kökenler dirençli olarak değerlendirilmiştir. Kökenlerin en duyarlı olduğu antibiyotikler, tamamının duyarlı olduğu imipenem (IPM), seftazidim (CAZ) ve netilmisindir (NET). Daha sonra sırasıyla seftriakson (CRO), aztreonam (ATM), tobramisın (TOB), gentamisine (GN) % 98, amikasin (AK) % 96, sefazolin (KZ) ve amoksisilin-klavulanik aside (AMC) % 94, sefotaksime (CTX) % 93,

sefaperazona (CFP) % 82 oranında duyarlı bulundu. En yüksek direnç hızı % 18 ile CFP'ye karşı saptandı.

Tablo V: Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre *Salmonella* kökenlerinin antibiyotik duyarlılık hızları

Antimikrobiyal	<i>Salmonella</i> kökenleri			
	n = 125			
	Duyarlı		Dirençli	
	n	(%)	n	(%)
Amoksisilin-klavulanik asit	118	(94)	7	(6)
Gentamisin	123	(98)	2	(2)
Netilmisin	125	(100)	0	(0)
Amikasin	120	(96)	5	(4)
Tobramisin	123	(98)	2	(2)
Aztreonam	123	(98)	2	(2)
Sefazolin	118	(94)	7	(6)
Sefoksitin	125	(100)	0	(0)
Sefotaksim	116	(93)	9	(7)
Sefaperazon	103	(82)	22	(8)
Seftazidim	125	(100)	0	(0)
Seftriakson	123	(98)	2	(2)
İmipenem	125	(100)	0	(0)



Şekil 4: Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre *Salmonella* kökenlerinin antibiyotik duyarlılık hızları

Agar dilüsyon testlerinde saptanan MİK, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri tablo VI'de gösterilmiştir.

Tablo VI: 125 *Salmonella* klinik kökenine karşı 14 antimikrobiyalın minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri

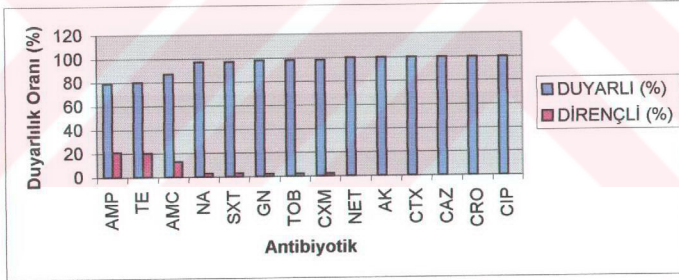
Antimikrobiyal	MİK (µg/ml)			
	Duyarlılık sınırı	En küçük ve en büyük değerler	MİK ₅₀	MİK ₉₀
Amoksisilin-klavulanik asit	≤8/4	<0.125 - 64	1	16
Ampisilin	≤8	<0.125 - >256	2	>256
Gentamisin	≤4	0.125 - 4	0.5	0.5
Netilmisin	≤8	0.125 - 1	0.5	0.5
Amikasin	≤16	0.5 - 4	1	2
Tobramisin	≤4	0.25 - 8	0.5	2
Sefuroksim	≤8	<0.06 - 32	4	8
Sefotaksim	≤8	<0.06 - 2	0.05	0.125
Seftazidim	≤8	<0.06 - 0.5	0.125	0.5
Seftriakson	≤8	<0.06 - 0.25	0.05	0.125
Nalidiksik asit	≤16	2 - >256	4	8
Siprofloksasin	≤1	<0.06 - 0.5	0.125	0.125
Trimetoprim-sulfametoksazol	≤2/38	<0.125/2.3 - 64/1216	0.125	1
Tetrasiklin	≤4	<0.125 - 256	4	128

Bakterilerin MİK değerleri antibiyotik duyarlılık sınırları ile karşılaştırıldığında belirlenen duyarlılık hızları ve bu hızların dağılımı tablo VII ve şekil 5'de görülmektedir.

Agar dilüsyon yönteminde kökenlerin tamamı siprofloksasin (CIP), CRO, CAZ, CTX, AK, NET'dir. Ardından % 98 duyarlılık hızıyla GN, TOB, sefuroksim (CXM), % 97 duyarlılık hızıyla trimetoprim-sulfametoksazol (SXT) ve nalidiksik asit (NA) gelmektedir. Direnç hızı en yüksek % 21 ile AMP'ye karşı saptanmıştır.

Tablo VII: Agar dilüsyon yöntemine göre *Salmonella* kökenlerinin antibiyotik duyarlılık hızları

Antimikrobiyal	Duyarlı		Dirençli	
	n	(%)	n	(%)
AMC	109	(87)	16	(13)
AMP	98	(79)	27	(21)
GN	123	(98)	2	(2)
NET	125	(100)	0	(0)
AK	125	(100)	0	(0)
TOB	123	(98)	2	(2)
CXM	123	(98)	2	(2)
CTX	125	(100)	0	(0)
CAZ	125	(100)	0	(0)
CRO	125	(100)	0	(0)
NA	121	(97)	4	(3)
CIP	125	(100)	0	(0)
SXT	121	(97)	4	(3)
TE	99	(80)	26	(20)



Şekil 5: Agar dilüsyon yöntemine göre *Salmonella* kökenlerinin antibiyotik duyarlılık hızlarının dağılımı

Agar dilüsyon yöntemiyle yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinde IPM, sefoksitin (FOX), CFP, KZ, ATM'nin toz formları bulunamadığı için bu antibiyotiklerle agar dilüsyon yapılamamıştır. Antibiyotik duyarlılık testlerinde altın standart olarak agar dilüsyon yöntemi kabul edilmiştir, agar dilüsyon yapılamayan antibiyotiklerde disk difüzyon testlerinin sonuçları dikkate alınmıştır. Kirby-Bauer disk difüzyon ve agar dilüsyon yöntemi ile GN, NET, TOB, CAZ'ye saptanan antibiyotik duyarlılık hızları aynı bulunmuştur. Diğer antibiyotikler için agar dilüsyon ve disk difüzyon testleri arasında yapılan karşılaştırma

sonucu 11 köken için major uyumsuzluk saptanmış olup sekiz antibiyotik ve 125 bakteri için yapılan toplam $8 \times 125 = 1000$ karşılaştırmada oran % 1.1'dir. Major uyumsuzluklar; AMC'de agar dilüsyon ile dirençli bulunan 10 kökenin disk difüzyonla duyarlı bulunması, AK'ye karşı agar dilüsyonda duyarlı bulunan bir kökenin disk difüzyon yöntemiyle dirençli bulunması olarak ortaya çıkmıştır. İki yöntemin karşılaştırması sonucu saptanan minör uyumsuzluk sayısı ise 15 (% 1.5)'tir. Minör uyumsuzluklar disk difüzyonda orta duyarlı olarak saptanan kökenlerin agar dilüsyonda duyarlı olarak saptanması şeklinde görülüp, en fazla minör uyumsuzluk dokuz olgu ile CTX, iki olgu ile CRO ve dört olgu ile AK'de görülmüştür.

Tablo VIII'de görüldüğü gibi *Salmonella*'ların 16'sı (% 13) hem AMP'ye hem de AMC'ye dirençlidir. Onbir (% 9) köken sadece AMP'ye dirençli bulunmuştur. Kökenlerin 98'inin (% 78) her iki antibiyotiğe de duyarlı olduğu saptanmıştır.

FOX'e dirençli köken yoktur. Sadece CXM'ye dirençli, KZ ve FOX'e duyarlı bir (%1) köken var iken altı (% 5) köken sadece KZ'ye dirençlidir. Bir (%1) köken FOX'e duyarlı iken hem KZ'ye hem de CXM dirençlidir.

Üçüncü kuşak sefalosporinler ve ATM'ye direnç profilleri incelendiğinde CAZ, CRO, CTX'e dirençli köken saptanmamıştır. ATM'ye dirençli olup, üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlı olan iki (%2) köken saptanmıştır. CFP'ye dirençli 22 (18) köken saptanmıştır. Geriye kalan 101 (%80) köken ise ATM ve üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlı olarak bulunmuştur.

Aminoglikozidlere karşı olan direnç profilleri incelendiğinde kökenlerin 123'ü (%98) GN, TOB, NET, AK'ye duyarlıdır. İki (%2) köken ise GN ve TOB'ye dirençlidir.

Kökenlerin dört (%3) tanesi NA'ya dirençlidir. CIP ve IPM'ye dirençli köken yoktur.

Yirmialtı (%21) köken TE'ye, dört (%3) köken SXT'ye dirençli bulunmuştur.

Tablo VIII: Salmonella kökenlerinin antimikrobiyallara direnç profilleri

Direnç profilleri	Salmonella					
	n=125					
n (%)						
Aminopenisilinler						
	AMP	AMC				
	R	R		16 (13)		
	R	S		11 (9)		
	S	S		98 (78)		
Birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler						
	KZ	CXM	FOX			
	R	R	S	1 (1)		
	R	S	S	6 (5)		
	S	R	S	1 (1)		
	S	S	S	117 (92)		
Üçüncü kuşak sefalosporinler ve aztreonam						
	CFP	CAZ	CTX	CRO	ATM	
	R	S	S	S	S	22 (18)
	S	S	S	S	R	2 (2)
	S	S	S	S	S	101 (80)
Karbapenem						
				IPM		
				R		0 (0)
Aminoglikozidler						
	GN	TOB	NET	AK		
	R	R	S	S		2 (2)
	S	S	S	S		123 (98)
Kinolon ve nalidiksik asit						
			NA	CIP		
			R	S		4 (3)
			S	S		121 (97)
Tetrasiklin						
				R		26 (21)
				S		99 (79)
Trimetoprim-sulfametoksazol						
				R		4 (3)
				S		121 (97)

R: Dirençli S: Duyarlı

S. enteritidis ve *S. typhimurium* kökenlerinin antimikrobiyallere duyarlılıkları ayrı ayrı karşılaştırıldığında; AMP, AMC, TE, CFP, KZ'ye karşı direnç *S. typhimurium* kökenlerinde daha yüksektir. *S. enteritidis* ve *S. typhimurium* kökenlerinde AMP direnci sırasıyla %5 ve %63 (p<0,05), AMC direnci %4 ve %34 (p<0,05), KZ direnci %2 ve %14 (p<0,05), CFP direnci %1 ve %60 (p<0,05), TE direnci %3 ve %66 (p<0,05) olarak bulunmuştur.

İki ve daha çok antibiyotiğe dirençli kökenler çoklu dirençli olarak kabul edildiğinde, *S. typhimurium*'ların 22'si (%63), *S. enteritidis*'lerin altısı (%7) çoklu antibiyotik dirençlidir.

Tablo IX: *Salmonella* kökenlerinde serotipe göre antibiyotik duyarlılık hızlarının dağılımı

Antimikrobiyal	<i>S. enteritidis</i>		<i>S. typhimurium</i>		p değeri
	n (%)	Dirençli n (%)	n (%)	Dirençli n (%)	
AMP	85 (95)	5 (5)	13 (37)	22 (63)	<0.05
AMC	86 (96)	4 (4)	23 (66)	12 (34)	<0.05
KZ	88 (98)	2 (2)	30 (86)	5 (14)	<0.05
CFP	89 (99)	1 (1)	14 (40)	21 (60)	<0.05
TE	87 (97)	3 (3)	12 (34)	23 (66)	<0.05
ATM	88 (98)	2 (2)	35 (100)	0 (0)	>0.05
GN	90 (100)	0 (0)	33 (94)	2 (6)	>0.05
TOB	90 (100)	0 (0)	33 (94)	2 (6)	>0.05
NA	86 (96)	4 (4)	35 (100)	0 (0)	>0.05
CXM	89 (99)	1 (1)	34 (97)	1 (3)	>0.05
SXT	89 (99)	1 (1)	32 (91)	3 (9)	>0.05
NE	90 (100)	0 (0)	35 (100)	0 (0)	>0.05
AK	90 (100)	0 (0)	35 (100)	0 (0)	>0.05
CTX	90 (100)	0 (0)	35 (100)	0 (0)	>0.05
CAZ	90 (100)	0 (0)	35 (100)	0 (0)	>0.05
CRO	90 (100)	0 (0)	35 (100)	0 (0)	>0.05
CIP	90 (100)	0 (0)	35 (100)	0 (0)	>0.05
IPM	90 (100)	0 (0)	35 (100)	0 (0)	>0.05
FOX	90 (100)	0 (0)	35 (100)	0 (0)	>0.05

Çalışmaya alınan kökenlerin 117'sinde (%94) bir veya daha fazla sayıda plazmid saptanmıştır. Sekiz kökende (iki *S. enteritidis*, altı *S. typhimurium*) ise plazmid saptanamamıştır. *Salmonella* kökenlerinde büyüklüğü 200-1.5 MDa arasında değişen farklı kombinasyonlarda 19 farklı plazmid bulunmuştur.

S. enteritidis kökenlerinde 20 değişik plazmid profili olduğu saptanmıştır (Tablo X). En sık rastlanan profil 22 (%24) kökende saptanan 90, 35 MDa'lık profildir. Bunlardan 18'i Nisan 1998'de ortaya çıkan salgında belirlenen kökenlerdi. İkinci sık görülen profil 16 (%18) kökende saptanan 80, 34, 2.4 MDa'lık profildi ve bunların hepsi Temmuz 2000'de ortaya çıkan salgında belirlenen kökenlerdi. Üçüncü sık saptanan profil, 12 (%13) kökende saptanan sadece 90 MDa'lık tek bir plazmidin bulunduğu profildir. İki (%2) kökende ise plazmid belirlenememiştir. Kökenlerin 51'inde (%57) 90 MDa'lık plazmid saptanmıştır. Yirmiyedi (%30) kökende 35 MDa'lık, 16 (%18) kökende 34 MDa'lık, 16 (%18) kökende 24 MDa'lık, 10 (%11) kökende ise 20 MDa'lık plazmid saptanmıştır.

S. typhimurium kökenlerinde dokuz değişik plazmid profili saptanmıştır. En sık rastlanan profil 10 (%29) kökende bulunan >100 MDa şeklindeki profildir. İkinci sırada beş (%14) kökende bulunan >100, 20 MDa'lık, üçüncü sırada dört (%11) kökende bulunan >100, 2 MDa'lık profildir. Altı (%17) kökende ise plazmid belirlenememiştir. Kökenlerin 27'inde (%77) >100 MDa'lık bir plazmid bulunmaktadır. Altı kökende (%17) 25 MDa'lık, beş (%14) kökende 20 MDa'lık, 2 (%6) kökende 70 MDa'lık plazmid bulunmaktadır.

S. enteritidis ve *S. typhimurium* kökenlerinde saptanan plazmid profilleri ve en sık bulunan plazmidler tablo X, XI, XII, XIII'de gösterilmiştir.

Tablo X: *S. enteritidis* kökenlerinde saptanan plazmid profilleri

Plazmidler (MDa)	Sayı
20, 3.2	3
24	2
35, 20, 3.2	1
40, 20, 3.2	1
60, 20, 3.2	4
60, 45	1
80, 34, 2.4	16
80	2
90, 20	1
90, 24, 1.5	1
90, 24, 3.8	1
90, 24	11
90, 35	22
90, 35, 24, 2	1
90, 35, 3.2	1
90, 35	1
90	12
>100, 35	1
>100	6
Yok	2

Tablo XI: *S. enteritidis* kökenlerinde en sık bulunan plazmidler

Plazmid (MDa)	Sayı (%)
90	51 (57)
35	27 (30)
34	16 (18)
24	16 (18)
20	10 (11)

Tablo XII: *S. typhimurium* kökenlerinde saptanan plazmid profilleri

Plazmidler (MDa)	Sayı
70	2
>100, 2	4
>100, 12, 4.2	1
>100, 20	5
>100, 25, 1.5	2
>100, 25, 2	1
>100, 25	3
>100, 45	1
>100	10
Yok	6

Tablo XIII: *S. typhimurium* kökenlerinde en sık bulunan plazmidler

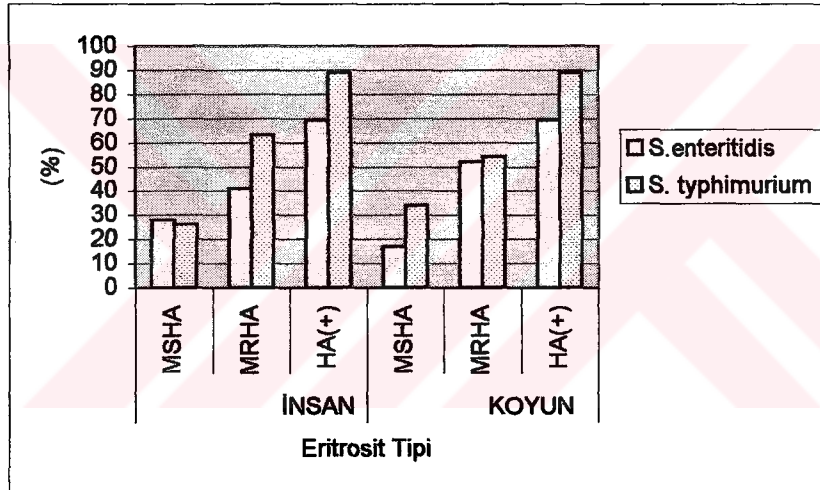
Plazmid (MDa)	Sayı	(%)
>100	27	(77)
25	6	(17)
20	5	(14)
70	2	(6)

AMP'ye dirençli olan 27 (%21) köken konjugasyon deneyine alınmıştır. Bunların beş tanesi *S. enteritidis*, 22 tanesi *S. typhimurium*'dur. Konjugasyon sonucunda iki *Salmonella*, direncini alıcı *Escherichia coli* K-12 (J-53-1)'ye aktarabilmiştir. Bunlardan birisi *S. enteritidis* diğeri *S. typhimurium*'dur. *S. enteritidis*'te bulunan 60, 45 MDa büyüklüğündeki iki plazmidin aynısı transkonjugatta da saptanmıştır. *S. typhimurium*'da bulunan >100, 45 MDa büyüklüğündeki iki plazmidin aynısı transkonjugatta da saptanmıştır. Verici *S. enteritidis* kökeni sahip olduğu AMP, AMC, CTX direncinden sadece AMP direncini, *S. typhimurium* kökeni sahip olduğu AMP, CFP, TE direncinden sadece AMP direncini transkonjugata aktarabilmiştir.

Plazmid profilleri ile antibiyotik dirençleri arasında bir ilişki kurulamamıştır.

Salmonella'ların insan ve koyun eritrositleriyle D-mannoz varlığında ve yokluğunda hemagglütinasyon yapma oranları Tablo XIV ve Şekil 6'da gösterilmiştir. *S. enteritidis* kökenlerinin % 69'u insan ve koyun eritrositleriyle mannoza duyarlı ya da dirençli hemagglütinasyon yapmıştır. *S. typhimurium*'da bu oran % 89 olup aradaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). *S. enteritidis* kökenleri *S. typhimurium* kökenlerine göre insan eritrositleriyle daha az mannoza dirençli hemagglütinasyona (MRHA) yol açmıştır ($p<0,05$).

Her iki serotipin insan eritrositleriyle yaptığı mannoza duyarlı hemagglütinasyon (MSHA) aynı hızda bulunmuştur. Koyun eritrositleriyle MRHA ve MSHA hızları benzer olarak bulunmuştur. Kullanılan eritrositin kaynağı (insan ya da koyun) her iki serotipte de MRHA ve MSHA oluşturma özelliklerini etkilememektedir. Hemagglütinasyon ile plazmid profili arasında ilişki kurulamamıştır.



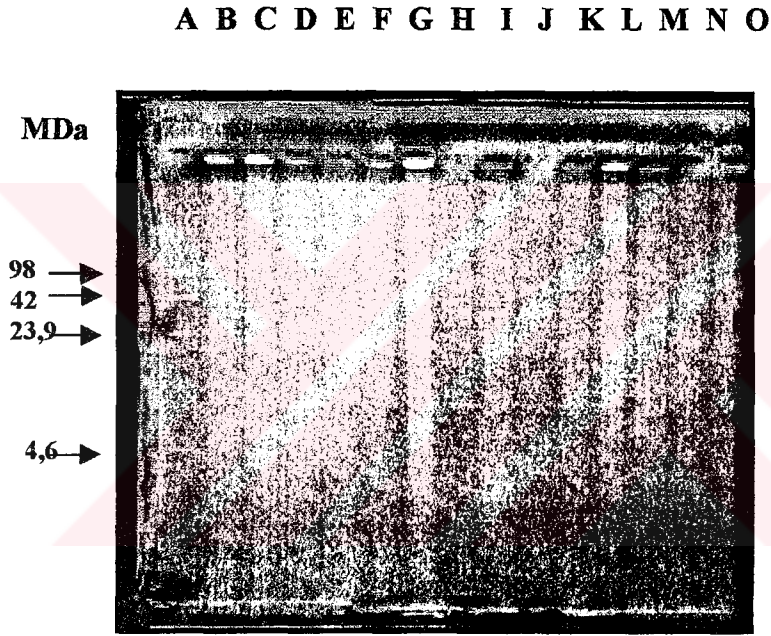
Şekil 6: *Salmonella*'ların değişik tür eritrositler ile hemagglütinasyon ve MRHA, MSHA yapma oranları

Tablo XIV: *Salmonella*'ların değişik tür eritrositler ile hemagglütinasyon ve MRHA, MSHA yapma oranları

Eritrosit Türü	<i>S. enteritidis</i> n= 90				<i>S. typhimurium</i> n= 35				Hemagglütinasyon (+)			
	MSHA		MRHA		MSHA		MRHA		<i>S. enteritidis</i>		<i>S. typhimurium</i>	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
İnsan	25	(28)	37	(41)	9	(26)	22	(63)	62	(69)	31	(89)
Koyun	15	(17)	47	(52)	12	(34)	19	(54)	62	(69)	31	(89)

Kökenlerin tamamı serumun öldürücü etkisine dirençli olarak bulunmuştur. Plazmid profilleriyle serumun öldürücü etkisine direnç arasında ilişki kurulamamıştır.

Ortak kaynaklı olduğu bilinen Nisan 1998'deki salgında ayrılan 18 *S. enteritidis*'in tamamının 90, 35 MDa'lık, Temmuz 2000'de ayrılan 16 *S. enteritidis*'in tamamının 80, 34, 2.4 MDa'lık plazmid profiline sahip oldukları (Resim 1) ve kendi aralarında antimikrobiyal dirençlerinin ve hemagglütinasyon ve serumun öldürücü etkisine direnç özelliklerinin aynı olduğu saptanmıştır.



Resim 1. Sıra A: *Escherichia coli* NTCC 50192, Sıra B-O: Temmuz 2000'de çıkan salgından ayrılan *Salmonella enteritidis* kökenleri

TARTIŞMA

Değişik ortam ve koşullarda canlılıklarını koruyabilen *Salmonella*'ların geniş bir konak alanı vardır (116,117). *Salmonella*'lar insanda bakteriyemi ile seyreden genel infeksiyonlar, lokal infeksiyonlar ve gastroenterit şeklinde klinik tablolar oluştururlar (1, 10, 11, 14, 106). *Salmonella* gastroenteritlerinde antibiyotik verilmesi gerekmekte, hastalık kendi kendine sınırlanmaktadır. Ağır olgularda, sistemik infeksiyon, bakteriyemi ve metastatik yerel infeksiyonlar geliştiğinde antibiyotik tedavisi gerekmektedir. *Salmonella* gastroenteritli olguların % 5'inde bakteriyemi gelişebilir. Bu olgular içinde yenidoğan ve yaşlılar, AIDS'liler, fagositik bozukluğu olanlar, organ nakli yapılanlar, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar, kalp-damar hastalığı olanlar, kemik ve eklem protezi olanlar, hemoglobino patililer, inflamatuvar bağırsak hastalığı olanlar yer alır (10, 107). Bu bakımdan *Salmonella*'ların antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması ve direnç hızlarının belirlenmesi yararlıdır. *S. typhimurium* ve *S. enteritidis* kökenlerinin bakteriyemi ve çeşitli yerel infeksiyonlara yol açtığı çok sayıda araştırmacı tarafından bildirilmiştir (106).

Kökenlerin 90'ı (% 72) *S. enteritidis*, 35'i (% 28) *S. typhimurium*'dur. Özellikle 1997'den itibaren *S. typhimurium*'a göre *S. enteritidis* ayırım hızındaki artış anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

S. typhi dışındaki *Salmonella* türlerinin yaptıkları infeksiyonların kontrolü, bu türlerin yalnız insanda değil hayvanlarda da yerleşebilmeleri nedeniyle güçtür. *S. enteritidis* insan dışında özellikle tavuklarda yumurtalıklara yerleşebilmekte ve bu yolla yumurtaya da geçmektedir. Sağlam kabuklu yumurtaların infekte olması tavuklarla insan arasındaki bulaşmada önemlidir (6, 25). Ancak bu bakteri tavuklara iyi adapte olduğu için herhangi bir hastalık bulgusu oluşturmamakta ve tavukların verimini etkilememektedir (6, 118). Bu durumda ekonomik kayıp görülmemesi nedeni ile yeterli önlem alınmamaktadır (6, 119).

Bir tavuk çiftliğine *S. enteritidis* yerleştikten sonra yok edilmesi çok zordur. Çünkü, artık gübre ve kemirgenler gibi çevresel faktörlerde de *S. enteritidis* bulunmaktadır (25). Bu nedenle tavukçuluk sektörünün gelişmesine paralel olarak *S. enteritidis*'in neden olduğu infeksiyonların oranı tüm dünyada hızla artmaktadır (5, 6, 10, 25, 31, 36, 44, 46-48). Türkiye'de de 1980'lerin sonlarından itibaren *S. enteritidis* ayırımında belirgin artış olduğu bildirilmektedir (119, 120). Edirne'de *S. enteritidis*'in ayırım oranı 1996'da % 37 iken, 1997'de % 83'e, 1998'de % 100'e, 1999'da % 94'e, 2000'de % 95'e çıkmıştır.

Nisan 1998'de ayrılan 18 ve Temmuz 2000'de ayrılan 16 *S. enteritidis* ortak kaynaklı olduğu saptanan iki ayrı salgın sırasında etkilenen hastalardan elde edilmiştir.

S. enteritidis salgınlarının % 80'inden fazlası yumurta ve yumurta ile ilişkili besinlerden kaynaklanmaktadır (6, 36). Bu nedenle *S. enteritidis* infeksiyonları ancak yumurtanın soğuk zincir içerisinde saklanması ve özellikle toplu besin hazırlanan yerlerde pastörize yumurta kullanılması ile azaltılabilir. Maliyeti yükselten bu önlemler yerine tüketicilerin yumurtayı sarısı katılaşınca kadar pişirmesi önerilebilir.

Bağırsak dışı yerleşme özelliği, yenidoğan infeksiyonlarındaki önemi ve çoklu antibiyotik direnci nedeniyle tifo dışı salmonelloz etkenleri arasında *S. typhimurium*'un özel bir önemi vardır (121). *S. typhimurium*'un Edirne'de ayırım oranı özellikle 1997'den itibaren belirgin bir biçimde azalmıştır ($p < 0,05$). Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD), Avrupa'da ve dünyanın diğer ülkelerinde de bu azalma eğilimi benzer şekilde sürmektedir (5, 10, 31, 36, 44, 46-48). 1970 ve 1980'li yıllarda tüm dünyada en sık ayrılan tifo dışı *Salmonella* serotipi olan *S. typhimurium*'un ayırımındaki bu azalmanın gerçek nedeni açıklığa kavuşmamıştır.

Aslında *S. typhimurium*'un insan dışı kaynakları *S. enteritidis*'e göre daha çeşitli olup bu bakteri koyun, keçi, tavuk ve hindiler gibi çok çeşitli hayvanları infekte edebilmektedir (6, 122). Ancak bu hayvanlardaki infeksiyonlar et ve diğer hayvan kaynaklı ürünlerin verimini düşürdüğü için veterinerlik alanında ciddi mücadele yürütülmektedir. Antibiyotiklerin veterinerlik alanında kullanımı insan infeksiyonlarının tedavisindeki kullanımına göre çok daha yoğundur. Danimarka'da yıllık kullanılan antibiyotik miktarı insanlarda 40 ton, hayvanlarda 220 ton olarak hesaplanmıştır (6, 123). Dünya antibiyotik kullanımının yaklaşık % 40'ının hayvanlarda olduğu bildirilmektedir (124). Türkiye'de de hayvanlarda tedavi amaçlı kullanılan antibiyotikler arasında penisilin, ampisilin, sulbaktam ampisilin, amoksisilin klavulanik asit, sefalekssin, sefaperazon, siprofloksasin, norfloksasin, tetrasiklin bulunmaktadır (124). Hayvanlarda koruma veya tedavi amaçlı olarak antibiyotik

kullanımı *S. typhimurium* ayırım oranlarını düşürürken bu serotipte direncin hızlı bir şekilde artmasına yol açmaktadır (6, 125). Plazmid profili yöntemi ile hayvanlardan insanlara duyarlı ya da dirençli *S. typhimurium*'ların geçtiği gösterilmiştir (23, 44, 126, 127).

S. typhimurium'un ayırım oranının azalması ve *S. enteritidis*'in baskın hale geçmesinin bir nedeni de toplumsal bağışıklık olabilir.

Çalışmamızdaki *Salmonella*'ların % 5'i bağırsak dışı yerleşim yerlerinden ayrılmıştır. *S. typhimurium* kökenlerinde bağırsak dışı enfeksiyona yol açma oranı daha yüksek bulunmuştur (p<0,05). Gedikoğlu ve ark. (128) Ocak 1987-1989 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim dalı Laboratuvarı'nda ayırımını yaptıkları 383 *S. typhimurium*'un 18'inin (% 5) bağırsak dışı yerleşim yerlerinden elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Rodriguez ve ark. (129) 1991-1996 yılları arasında ayırımını yaptıkları 970 *Salmonella*'nın 80'ini (% 8) bağırsak dışı yerleşim yerlerinden elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Shehabi (130) 1978-1989 yılları arasında Ürdün Üniversitesi Hastanesi'nde ayırım yapılan 592 *S. typhimurium*'un 68'ini (% 11) bağırsak dışı yerleşim yerlerinden elde ettiğini bildirmiştir.

Lee ve ark. (5) ABD'de 1979-1980 yıllarında *Salmonella*'ların kandan ayırım oranının % 1 iken, 1989-1990'da % 11'e yükseldiğini ve bu yükselişin antimikrobiallere olan dirençle paralel seyrettiğini belirterek, direncin artmasıyla bağırsak dışı salmonellozların tedavisinin daha komplike olabileceğini belirtmişlerdir.

Ramos ve ark. (131) 1980-1994 yılları arasında ayırımını yaptıkları 1463 *Salmonella*'nın % 12'sini bağırsak dışı yerleşim yerlerinden elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Yang ve ark. (132) 1989-1996 yılları arasında ayırımını yaptıkları 297 *Salmonella*'nın % 25'ini bağırsak dışı yerleşim yerlerinden elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda *S. typhimurium* kökenlerinin bağırsak dışı yerleşim yerlerinden ayırım oranı diğer araştırmacıların sonuçlarıyla benzerdir. *S. enteritidis* kökenlerinin invazif enfeksiyonlara daha az yol açması virülanslarının *S. typhimurium* kökenlerine göre daha az olduğunu düşündürmektedir.

Salmonella kökenleri geniş spektrumlu sefalosporinlere genellikle duyarlı iken 1988'den itibaren genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) yapan kökenler bildirilmeye başlanmıştır. ESBL'ler en sık *S. typhimurium* tarafından yapılmaktadır (133).

ESBL varlığı üçüncü kuşak sefalosporin ve monobaktamlara direnci ifade etmektedir ve bu antibiyotiklerin duyarlılık sonuçlarına bakılmaksızın dirençli bildirilmesi gerektiğini

ileri sürenler vardır (134, 135). ESBL yapan bir kökenin buna rağmen duyarlı bulunduğu bu grup antibiyotiklerle tedavi edilmesinin mortaliteyi olumsuz yönde etkilemediğine dair çalışmalar olsa da (136) veriler henüz yetersizdir. Bu durumda ESBL saptanan kökenlerle oluşan infeksiyonlarda tedavi için duyarlı bulunduğu üçüncü kuşak sefalosporin ya da monobaktamların önerilmesi henüz erkendir.

Mehr (137) 1997'de İzmir'de yaptığı çalışmada 71 *Salmonella* kökeninin % 38'inin ESBL ürettiğini bildirmiştir. Çalışmamızda ise *Salmonella* kökenlerinde çift disk sinerji testiyle araştırılan ESBL varlığı 125 *Salmonella* kökeninin hiçbirisinde saptanmamıştır.

Türkiye'de ve dünyada bir çok araştırmacı çeşitli klinik örneklerden ayrılan *Salmonella* kökenlerinin antibiyotik direnci konusunda çalışmalar yapmaktadır (5, 44, 102, 106, 121, 128, 130, 137, 138). Bu çalışmaların bir kısmında tüm *Salmonella* serotiplerinin antibiyotik direnç hızları topluca verilmiş, bir kısmında ise serotiplere göre ayrı ayrı verilmiştir.

Wilke ve ark. (138) 1988'de 39 *S. typhimurium*'da direnç hızlarını ampisiline (AMP) % 29, trimetoprim-sulfametoksazole (SXT) % 5 olarak bildirmişlerdir.

Dinçer ve ark. (139) 1990-1993 yılları arasında ayrılmı yapılan 37'si *S. typhimurium*, 24'ü *S. enteritidis*, 13'ü B grubundan 80 *Salmonella* kökeninin antibiyotiklere direnç hızlarını ampisilin-sulbaktama % 61, sefaperazona (CFP) % 61, sefuroksime (CXM) % 61, tetrasikline (TE) % 54, sefalotine % 51, SXT'ye % 50, amoksisilin-klavulanik asite (AMC) % 48 olarak bulduklarını ve kökenlerin tamamının oflaksasine duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Zarakolu ve ark. (121) 1993-1994'de ayrılan 87 *S. typhimurium*'un antibiyotik dirençlerini mikrodilüsyon yöntemi ile araştırarak AMP'ye % 56, sefalotine % 57, sefoksitine (FOX) % 6, seftriaksona (CRO) % 24, SXT'ye % 90 hızında direnç bulmuşlar ve kökenlerin tamamının imipenem (IPM) ve siprofloksasine (CIP) duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Baysallar ve ark. (140) 1993-1994 yıllarında ayrılan değişik serotiplere ait *Salmonella* kökenlerinde direnç hızlarını AMP'ye % 47, AMC'ye % 30, CFP'ye % 12, CRO'ya % 10, seftazidime (CAZ) % 14, gentamisine (GN) % 6, TE'ye % 61, SXT'ye % 36, oflaksasine % 1 bulmuşlar, IPM'ye dirençli köken bulamamışlar ve çoklu direncin daha çok *S. typhimurium* kökenlerinde gözlendiğini belirtmişlerdir.

Tibet ve ark. (106) 1996'da yaptıkları çalışmalarında 103 *S. typhimurium* ve 32 *S. enteritidis* kökeninde direnç hızlarını sırasıyla AMP'ye % 77 ve % 31, AMC'ye % 62 ve 19, TE'ye % 45 ve % 6, GN'ye % 47 ve % 22, CRO'ya % 39 ve 16, CAZ'ye % 43 ve %13 olarak bulmuşlar, CIP ve IPM'ye dirençli köken bulmadıklarını belirterek, *S. typhimurium*'larda

çoklu dirençli köken oranını % 78, *S. enteritidis*'lerde % 31 olarak bulup, *S. typhimurium* kökenlerinin antibiyotiklere direnç hızlarının *S. enteritidis* kökenlerinin direnç hızlarından yüksek oluşunu istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır.

Gedikoğlu ve ark. (128) 1990'da Bursa'da 383 *S. typhimurium* kökeninde AMP'ye % 96, CIP'ye % 25, TE'ye % 68, SXT'ye % 89 hızında direnç bildirmişlerdir.

Mehr (137) 1997'de İzmir'de yaptığı çalışmada 47 *S. typhimurium* kökeniyle çalışmış ve AMP'ye % 100, AMC'ye % 89, GN'ye % 11, tobramisine (TOB) % 45, amikasin (AK) % 43, netilmisine (NET) % 21, SXT'ye % 66, sefotaksime (CTX) % 45, CAZ'ye % 53, CRO'ya % 47 hızında direnç saptamış, kökenlerin tamamının nalidiksik asit (NA), IPM, FOX, CIP'ye duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Lee ve ark. (5) TE'ye % 24, AMP'ye % 14, GN'ye % 4, SXT'ye % 2, NA'ya % 1 hızında direnç bildirmişlerdir.

Prats ve ark. (102) *S. enteritidis* ve *S. typhimurium*'a karşı direnç hızlarını sırasıyla AMP'ye % 21 ve % 85, AMC'ye % 0 ve % 15, CTX'e % 0 ve % 0, SXT'ye % 1 ve % 22, GN'ye % 2 ve % 6, NA'ya % 5 ve % 1, CIP'ye % 0.3 ve % 0 olarak bildirmişlerdir.

Shehabi (130) *S. typhimurium* kökenlerinde AMP'ye % 90, TE'ye % 85, SXT'ye % 79, CTX'e % 9, FOX'e % 8, GN'ye % 8, TOB'ye % 8, CXM'ye % 3, NET'ye % 1 hızında direnç tesbit ettiğini ve kökenlerin tamamının AK, NA ve ofloksasine duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Davis ve ark. (44) *S. typhimurium* kökenlerinde AMP'ye % 65.9, GN'ye % 0.8, TE'ye % 63.5, SXT'ye % 2 hızında direnç bildirmişlerdir.

Yang ve ark. (132) *S. typhimurium* kökenlerinde AMP'ye % 88, AMC'ye % 28, TE'ye % 94, GN'ye % 21, SXT'ye % 16, CXM'ye % 8 direnç hızı bildirmişlerdir.

Çalışmamızda *S. enteritidis* kökenlerinin % 90'ı tüm antimikrobiyallere duyarlı bulunmuştur. Buna karşın *S. typhimurium* kökenlerinde özellikle AMP, AMC, sefazolin (KZ), CFP, TE direnci daha yoğundur ($p<0.05$). Bu direnç farklılığı başka araştırmacıların sonuçlarıyla da benzerlik göstermektedir.

S. enteritidis kökenlerinde AMP'ye % 21-31, AMC'ye % 0-19, TE'ye % 6, GN'ye % 2-22, NA'ya % 1, CAZ'ye % 13, CRO'ya % 16 direnç hızı bildirilmiştir (106). Çalışmamızdaki *S. enteritidis*'lerde AMP'ye % 5, AMC'ye % 4, NA'ya % 4, TE'ye % 3, KZ'ye % 2, ATM'ye % 2, CFP'ye % 1, SXT'ye % 1, CXM'ye % 1, CIP'ye % 0.3 hızında direnç saptanmış, TOB, GN, NET, AK, CTX, CAZ, CRO, CIP, FOX, IPM'ye dirençli köken saptanmamıştır. Kökenlerin % 90'ı denenen tüm antibiyotiklere duyarlı, % 7'si çoklu dirençli

olarak saptanmıştır. Bu çalışmada direnç hızı diğer araştırmacıların bildirdiğinden daha düşük bulunmuştur. Agar dilüsyon yapılan AMP, AMC, TE, SXT için *S. enteritidis*'lerin MİK₉₀ değeri duyarlılık sınırının altında saptanmış olup, bu antimikrobialler endike olduğunda güvenle kullanılabilirler. Her ne kadar *S. enteritidis* duyarlı bir serotip olarak görünse de bu türde de direnç yavaş bir şekilde gelişmektedir (29, 47, 131). Prats ve ark. (102) 1985-1987 ve 1995-1998 yılları arasında ayrılan *S. enteritidis* kökenlerinin antibiyotik direnç hızlarını sırasıyla AMP'ye % 9-21, TE'ye % 0.1-5, SXT'ye % 0-0.8, GN'ye 0.1-1.6, NA'ya % 0.2-5, CIP'ye 0-0.3 olarak bildirmişlerdir. Vatopoulos ve ark. (33) Yunanistan'da 1987'de ayrılan *S. enteritidis* kökenlerinde % 7.9 olan AMP direnç hızının 1991'de % 30.4'e yükseldiğini bildirmişlerdir.

Marsik ve ark (141) 1975 yılında insanların tedavilerinde kullanılan antibiyotiklerin besi hayvanlarında kullanılmasının çoklu ilaç direnci gösteren kökenlerin gelişmesine neden olduğunu ve bu bakterilerin insanlara aktarılabildiğini bildirmişlerdir.

Lee ve ark. (142) ABD'de sağlıklı tavuklardan kesimden sonra ayrılan *Salmonella*'ların % 57'sinin bir veya daha çok antibiyotiğe, % 45'inin iki veya daha çok antibiyotiğe dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Hayvanlardan ve insanlardan ayrılan antibiyotik dirençli *S. enteritidis* kökenleri fenotipik ve genotipik olarak aynıdır (29). Bu nedenle hayvanlarda yoğun antibiyotik kullanımı insanlardaki kökenlerin de direncinin gittikçe artmasına yol açmaktadır (6).

S. typhimurium için aminopenisilinlere direnç hızlarına bakıldığında AMP'ye % 29-100, AMC'ye % 15-89 arasında direnç hızları bildirilmektedir (44, 102, 106, 121, 128, 130, 132, 137, 138, 140). Çalışmamızda AMP'ye % 63, AMC'ye % 34 direnç hızı saptanmıştır. Kökenlerimizde saptadığımız AMP direnci TEM-1, TEM-2, SHV-1 tipi beta-laktamazlar ile açıklanabilir. AMC direnci de bu enzimlerin aşırı yapımına bağlı olabilir (134, 143).

Sefalosporinlerden CPF'ye % 12-61, CXM'ye % 3-61, CTX'e % 5-45, CAZ'ye % 13-53, CRO'ya % 10-47 arasında direnç hızları bildirilmiştir (44, 102, 106, 121, 128, 130, 132, 137, 138, 140). Çalışmamızda *S. typhimurium*'larda CFP'ye % 60, KZ'ye % 14, CXM'ye % 3 hızında direnç saptanmış, CTX, CAZ, CRO, FOX'e dirençli köken saptanmamıştır. CFP'ye direnç hızı diğer sefalosporinlerden oldukça fazla saptanmış olup bu direnç olasılıkla TEM-1, TEM-2, SHV-1 tipi beta-laktamazların dar spektrumlu bir üçüncü kuşak sefalosporin olan CFP'yi de etkileyebilmesi sonucudur (134, 143).

Aminoglikozidlerden GN'ye % 0.8-47, TOB'ye % 8-45, NET'ye % 1-21, AK'ye % 43 hızında direnç bildirilmiştir (44, 102, 106, 130, 132, 137, 140). Çalışmamızda GN'ye % 6, TOB'ye % 6 direnç hızı saptanıp, NET, AK'ye dirençli köken bulunmamıştır. GN ve TOB MİK₉₀ değerleri duyarlılık sınırının altında olup, bu antibiyotikler endike olduğunda kullanılabilir. Türkiye'de daha önceden aminoglikozid direnç mekanizmalarını saptamaya yönelik bir çalışmanın sonuçlarına göre *Salmonella* dışı diğer türler de dahil olmak üzere GN ve TOB direncinden en sık ANT-(2'') enzimi sorumlu tutulmuştur (144). Kökenlerimizdeki GN ve TOB direncinin nedeni olasılıkla bu enzimin varlığıdır.

CIP'ye % 0.3 ile 25 direnç hızı bildirilmiştir (102,128). CIP'ye karşı çalışmaya alınan kökenlerin hiçbirinde direnç saptanmamıştır ve salmonelloz olgularında endike olduğunda güvenle kullanılabilir.

NA'ya karşı % 1 ile 5 direnç hızı bildirilmiştir (5, 102). Çalışmaya alınan *S. typhimurium*'larda NA direnci yok iken *S. enteritidis*'lerde % 4 direnç hızı saptanmıştır. NA kinolonların en eski temsilcisi olup bir süre öncesine kadar Türkiye'de bir üriner sistem antiseptiği olarak kullanılmıştır. Bu nedenle bu dönemden kalan kökenlerin NA ile daha önce karşılaşmış oldukları düşünülebilir.

SXT'ye karşı % 2-90 arasında direnç hızları bildirilmiştir (5, 44, 102, 121, 128, 130, 132, 132, 137, 138) Çalışmamızdaki *S. typhimurium*'larda % 9 direnç hızı saptanmıştır. SXT için MİK₉₀ değeri duyarlılık sınırının altında olup endike olduğunda kullanılabilir. Bu hız birçok araştırmacının saptadığı direnç hızının altındadır. SXT uzun yıllardır kullanılan bir antimikrobiyaldir. Dirençli kökenlerin daha önce SXT ile karşılaşmış oldukları düşünülebilir.

Çalışmamızda IPM ile temsil edilen karbapenemlere karşı hiçbir kökende direnç saptanmamıştır.

TE'ye karşı % 45-94 arasında direnç hızları bildirilmiştir (44, 106, 128, 130, 132). Çalışmamızda *S. typhimurium*'larda % 66 direnç hızı saptanmıştır. Türkiye, çoğul antibiyotik dirençli *S. typhimurium* kökenleri ile ilk olarak 1970'li yıllarda tüm Orta Doğu'ya yayılan bir klon nedeniyle karşılaşmıştır. Bu izolatlarda ampisilin, kanamisin, tetrasiklin, streptomisin ve sulfonamid direnci gösterilmiştir (145). *S. typhimurium* kökenlerimizde saptanmış olan TE direnci bu durumla ilgili olabilir.

Kolay ve etkin bir şekilde kullanılacak epidemiyolojik göstergelerin yokluğu nedeniyle pek çok sporadik salmonelloz olgusunun aslında tanımlanmamış salgınların bir parçası olabileceği ileri sürülmüştür. *Salmonella* salgınlarında serotipleme ve faj tipleme gibi yöntemler ancak salgın kökenleri sık karşılaşılmayan bir serotipe veya faj tipine ait olduğunda

yararlı olabilmektedir (32). *Salmonella*'larda plazmidlerin varlığının 1982'de gösterilmesinden bu yana plazmid profillerine göre tiplene salgınların epidemiyolojik incelemelerinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (32, 101, 116, 146). Plazmid profili araştırması büyük salgınlarda da çok yararlıdır. ABD'nin Illinois eyaletinde 1985 yılında tahminen 150.000-200.000 kişinin etkilendiği salmonelloz salgınının araştırılmasında plazmid profili çalışmalarının büyük yararı olmuştur (147).

Holmberg ve ark. (18) plazmid profili analizinin en az faj tiplene kadar özgül olduğunu belirtmişlerdir. Bunun en önemli nedeni çoğunlukla toplum kökenli infeksiyonların etkeni olarak görülen *Salmonella* serotiplerinde plazmid değişiminin yavaş, bu nedenle de nispeten stabil olmasıdır (148).

Çalışmamızda ortak kaynaklı olduğu saptanan Nisan 1998'deki salgında ayrılan 18 *S. enteritidis*'in tamamının 90, 35 MDa'lık, Temmuz 2000'de ayrılan 16 *S. enteritidis*'in tamamının 80, 34, 2.4 MDa'lık plazmid profiline sahip oldukları ve kendi aralarında antimikrobiyal dirençlerinin ve hemagglütinasyon ve serumun öldürücü etkisine direnç özelliklerinin aynı olduğu saptanmıştır.

Plazmidlerin daha ileri incelenmesi için deoksiribonükleik sit (DNA), özel dizileri tanıyan ve bu bölgelerden DNA'yı kesen restriksiyon enzimleri ile kesilir. Böylece plazmid DNA'sı bu enzimlerin tanıdıkları bölgelerin sayısı ile orantılı sayıda DNA parçasına ayrılır. Agaroz jelde bu parçaların çeşitli sayıda bantları oluşur. Plazmid parmak izi denilen bu yöntemle plazmid profil analizi ile elde edilen ayırım derecesi artmaktadır (2).

S. enteritidis ve *S. typhimurium*'da virülans plazmidleri mol ağırlıkları 30-62 MDA(50-100kb) arasında değişen, serotipler arasında farklılık gösteren, fakat hepsinde *spv* genlerini içeren 8 kb'lik ortak bir bölgenin bulunduğu plazmidlerdir (81). Virülans plazmidlerinin *Salmonella*'ların bakteriyemi oluşturmasını kolaylaştırdığı, buna karşın gastroenterit oluşturmasında etkili olmadığı gösterilmiştir (14, 80).

Dirençin klinik açıdan önemi ele alındığında en büyük sorun bakteri cinsleri ve türleri arasında direnç aktarımıdır (137). Gram olumsuz bakterilerde önemli bir direnç aktarım mekanizması olan konjugasyon, konjugatif plazmid içeren verici kökenlerden alıcı kökenlere fiziksel bir ilişki sonucu, gen aktarımı ile gerçekleştirilen bir mekanizmadır (12).

Ling ve ark. (31) *S. enteritidis*'lerin % 70'inden fazlasının 35-40 MDa'lık virülans plazmidi taşıdığını bildirmişlerdir.

Ahmer ve ark. (83) *S. typhimurium*'ların % 88'inin 60 MDa'lık virülans plazmidi taşıdığını bildirmişlerdir.

Platt ve ark. (86) İskoçya Salmonella Referans Laboratuvarı'nda çevre, insan ve hayvan kaynaklı kökenlerinden oluşan 98 *S. typhimurium*'un % 67'sinin 50-60 MDa'lık bir virülans plazmidi taşıdığını bildirmişlerdir.

Fierer ve ark. (86) *S. typhimurium*'larda DNA probu kullanarak *spv* gen bölgesini araştırdıkları çalışmalarında, dışkı kökenlerinin % 42'sinin, kan kökenlerinin % 76'sının virülans plazmidi taşıdıklarını bildirmişlerdir.

Kapperud ve ark. (32) bir salgında ayrılan 361 *S. typhimurium*'un hiçbirisinin virülans plazmidi taşımadığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda *S. enteritidis*'lerde 27 kökende 35 MDa'lık, 16 kökende 34 MDa'lık, 1 kökende 40 MDa'lık olmak üzere toplam 44 (% 49) kökende virülans plazmidi olarak değerlendirilebilecek boyutta plazmid saptanmıştır.

S. typhimurium'larda virülans plazmidi olabilecek boyutta plazmid saptanmamıştır.

Vatopoulos ve ark. (33) Yunanistan'da epidemiyolojik olarak birbiriyle ilişkisiz AMP dirençli 21 *S. enteritidis* kökeniyle çalışarak, plazmid profillerine göre beş gruba ayırmışlardır. Beş kökenden oluşan birinci grubun 38 ve 34 MDa'lık iki, 10 kökenden oluşan ikinci grubun 38, 34 ve 2.5 MDa'lık üç, üç kökenden oluşan üçüncü grubun 38, 34, 15, ve 2.5 MDa'lık dört, bir kökenden oluşan dördüncü grubun 100, 38, 34, 24 ve 15 MDa'lık beş, iki kökenden oluşan beşinci grubun 100, 38 ve 24 MDa'lık üç plazmide sahip olduğunu ve beşinci grubun AMP direncine ek olarak TE ve kanamisin direncine de sahip olduğunu belirtmişlerdir. Konjugasyon sonucu transkonjugata ilk dört grupta AMP direnci ve 34 MDa'lık plazmidin, beşinci grupta AMP, TE ve kanamisin direnciyle birlikte 100 MDa'lık plazmidin geçtiğini göstermişlerdir. Hem 100 hem de 34 MDa'lık plazmidlerde 6.6 MDa'lık bir beta-laktamaz gen lokusunun varlığını göstererek, Yunanistan'daki AMP direncinden 34 ve 100 MDa'lık iki plazmidin sorumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Ling ve ark. (31) çalıştıkları 265 *S. enteritidis*'in % 96'sında bir ile beş plazmid bulunduğunu bildirerek, bir veya daha çok antibiyotiğe dirençli altı *S. enteritidis*'in direnç aktarım özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, 36 ve 63 MDa'lık iki plazmide ve TE, SXT, RIF direncine sahip bir kökenin, transkonjugata SXT ve TE direnciyle birlikte sadece 63 MDa'lık plazmidi geçirmesinden dolayı, SXT ve TE direncinin 63 MDa'lık plazmidde lokalize olduğunu belirtmişlerdir. Yine AMP, sefalotin, rifampisin direncine ve 36 ve 3 MDa'lık iki plazmide sahip bir kökenin, transkonjugata AMP ve sefalotin direnciyle birlikte sadece 3 MDa'lık plazmidi geçirmesinden dolayı, AMP ve sefalotin direncinin 3 MDa'lık

plazmidde yer aldığını olduğunu belirtmişlerdir. Bir, iki veya üç plazmide sahip diğer kökenlerin ise dirençlerini geçiremediğini belirtmişlerdir.

Frost ve ark. (31) ise AMP direncinin 60 MDa'lık plazmidde bulunduğunu olduğunu belirtmişlerdir.

Kariuki ve ark. (30) TE direncinin 65 MDa'lık plazmidde yerleştiğini olduğunu belirterek, plazmid profili ile MİK değerleri arasında ilişki kuramadıklarını bildirmişlerdir.

Holmberg ve ark. (18) AMP, TE, streptomisin (SM) ve karbenisilin direnç paterninin 140 MDa'lık plazmid ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Nakamura ve ark. (149) 65 dirençli *S. typhimurium* kökeninden 25'inin (% 38.5) konjugatif direnç plazmidini taşıdığını ve kökenlerin tamamında bir veya daha çok plazmid bulunduğunu bildirerek, AMP, kloramfenikol (C), sulfodimetoksin (SU), TE direnç paterni ve 110, 60, 6.5, 2.4 MDa'lık plazmid profiline sahip kökenlerde sözü edilen direnç paterninin 110 MDa'lık plazmid ile transkonjugata geçtiğini bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar değişik kökenlerdeki SM, TE direnç paterninin 62 MDa'lık, AMP, kanamisin (CM), C, SM, SU, TE direnç paterninin 62 ve 80 MDa'lık, AMP, SM, SU, TE direnç paterninin 75, 85, 95 MDa'lık, AMP, CM, SM, TE direnç paterninin 95 MDa'lık, AMP, C, CM, SU, TE direnç paterninin 80 MDa'lık, TE direncinin 96 MDa'lık plazmidler ile ilişkili olduğunu belirterek, bazı kökenlerdeki direnç paternlerinin ise aktarılamadığını bildirmişlerdir. (149).

Nastasi ve ark. (47) ise TE direncinin bazı kökenlerde 30, bazı kökenlerde ise 80 MDa'lık plazmidler ile aktarıldığını bildirmişlerdir.

Çalışmaya alınan kökenlerin 117'inde (%94) bir veya daha fazla sayıda plazmid saptanmıştır. Sekiz kökende (2 *S. enteritidis*, 6 *S. typhimurium*) ise plazmid saptanamamıştır. *Salmonella* kökenlerinde farklı kombinasyonlarda 19 farklı plazmid bulunmuştur. Bu sonuçlar diğer araştırmacıların sonuçlarına benzerdir.

Bu çalışmada *S. enteritidis* kökenlerinde 20 değişik plazmid profili olduğu saptanmıştır. Kökenlerin %24'ünde 90, 35 MDa'lık, % 18'inde 80, 34, 2.4 MDa'lık % 13'ünde 90 MDa'lık plazmid profili saptanmıştır. Kökenlerin % 2'sinde ise plazmid saptanamamıştır. Kökenlerin % 57'sinde 90 MDa'lık, % 30'unda 35 MDa'lık, % 18'inde 34 MDa'lık plazmidin bulunduğu saptanmıştır.

S. typhimurium kökenlerinde dokuz değişik plazmid profili saptanmıştır. Kökenlerin % 29'unda > 100 MDa'lık, % 14'ünde >100, 20 MDa'lık, % 11'inde >100 ve 2 MDa'lık plazmid profili saptanmıştır. Kökenlerin % 17'sinde ise plazmid saptanamamıştır. Kökenlerin

% 77'sinde >100 MDa'lık, % 17'sinde 25 MDa'lık, % 14'ünde 20 MDa'lık, % 6'sında 70 MDa'lık plazmidin bulunduğu saptanmıştır.

AMP'ye dirençli olan beş *S. enteritidis* ve 22 *S. typhimurium* konjugasyon deneyine alınmıştır. Konjugasyon sonucunda bir *S. enteritidis* ve bir *S. typhimurium* direncini alıcı *E. coli* J-53-1'e aktarabilmiştir. *S. enteritidis*'te bulunan 60, 45 MDa'lık, *S. typhimurium*'da bulunan >100, 45 MDa'lık plazmid profillerinin aynısı transkonjugatlarda da saptanmıştır. Verici *S. enteritidis* kökeni sahip olduğu AMP, AMC, CTX direncinden sadece AMP direncini, verici *S. typhimurium* kökeni dirençli olduğu AMP, CFP ve TE'den sadece AMP direncini transkonjugata aktarabilmiştir. Plazmidler transkonjugatlara aynen geçtikleri için AMP direncinin hangi plazmid üzerinde bulunduğunu söyleyebilmek mümkün değildir. Konjugasyonla aktarılamayan AMC, CTX, CFP ve TE olasılıkla plazmid dışı genetik elemanlar tarafından (örneğin transpozonlar veya bakteriyel genom) kodlanmaktadır. Yine konjugasyon yapamayan kökenlerdeki dirençler nonkonjugatif plazmidler ya da diğer aktarılamayan genetik elemanlar üzerinde yer alıyor olmalıdır.

Pek çok araştırmacı değişik direnç paternlerin, değişik plazmidlerde yerleştiğini bildirmiştir. Değişik araştırmacıların çalışmalarında aynı direnç paterninin veya antibiyotik direncinin farklı plazmidlerle ilişkili olduğu görülmüştür. Bundan dolayı belli bir antibiyotik direnç paterninin veya tek başına bir antibiyotik direncinin belli bir plazmid ile ilişkisini öne sürebilmek mümkün değildir. Diğer araştırmacılarının bulgularına benzer şekilde çalışmamızda da plazmid profilleri ile antibiyotik dirençleri arasında ilişki kurulamamıştır.

Bakterilerin çeşitli hücre tiplerine yapışma özellikleri, bakterinin konak organizmada infeksiyon oluşturabilmesinin ön koşuludur (150). Pek çok araştırmacı bakterilerin membran yüzeylerine bağlanma yeteneklerini göstermek için onların hemagglütinasyon özelliklerini ve hücre kültürlerinde yapışma yeteneklerini incelemiştir (50, 57, 60, 69, 114, 151).

Jones ve Richardson (57) 37 °C'de üretilen altı *S. typhimurium*'un HeLa hücre kültüründe yapışma aktivitesini incelemişler, *S. typhimurium*'ların tamamının hücrelere yapıştıklarını tesbit ederek, bu yapışmanın D-mannoz ilavesiyle inhibe olmayan, mannoza dirençli bir yapışma olduğunu saptamışlardır. Altı *S. typhimurium*'dan sadece dördünde tip 1 fimbriya bulunduğunu, diğerlerinde fimbriya bulunmadığını, hem fimbriyalı hem de fimbriyasız *S. typhimurium*'ların HeLa hücrelerine yapışmasından mannoza dirençli hemagglutinlerin sorumlu olduğunu bildirmişlerdir.

Kimiran (69) insan eritrositleriyle 11 *S. enteritidis* kökeninden sekizinin MRHA, birinin MSHA yaptığını bildirmiştir.

Coşar (151) 113 *S. typhimurium* kökeninin % 20'sinin MRHA, % 52'sinin MSHA yaptığını bildirmiştir.

Jiwa ve Mansson (114) üçü *S. typhimurium*, sekizi diğer serotiplerden oluşan 11 *Salmonella* kökeniyle yaptıkları çalışmalarda, kökenlerin tamamının kullanılan besiyerine ve sıcaklığa bağlı olmadan kobay eritrositleriyle MRHA yaptığını, CFA (colonization factor antigen) agarda üretilen *Salmonella*'ların tamamının sıcaklığa bağlı olmadan sığır eritrositleriyle MRHA yaptığını, insan eritrositleriyle ise 37 °C'de 10'unun MRHA yaptığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar *Salmonella*'lar arasında mannoz dirençli hemaglutininlerin yaygın olduğunu ve üreme koşullarındaki eksikliklerin bu hemaglutininlerin salınmasını arttırdığını bildirmişlerdir (114).

Gulig ve Curtis (152) *S. typhimurium*'larda virülans plazmidi ile virülans özelliklerinin ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında, virülans plazmidi ile doku kültürü hücrelerinde mannoza dirençli yapışma ve serumun öldürücü etkisine direnç özelliği arasında bir ilişki bulamadıklarını ve kökenlerin % 90'ının insan, tavşan ve kobay serumunun öldürücü etkisine dirençli olduklarını bildirmişlerdir.

Pardon ve ark. (153) ağızdan *S. typhimurium* verilen farelerde, bakterinin Peyer plaklarında kolonize olması için virülans plazmidinin bulunmasının gerekmediğini bildirmişlerdir.

Bukholm ve Figenschau (154) *S. typhimurium*'ların hücre kültürlerindeki invazyon yeteneklerinin plazmid varlığı ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda *S. enteritidis*'lerin % 69'u, *S. typhimurium*'ların % 89'u insan ve koyun eritrositleriyle mannoza duyarlı ya da dirençli hemaglutinasyon yapmıştır. *S. typhimurium*'ların *S. enteritidis*'lerden daha sık hemaglutinasyon yaptığı saptanmıştır ($p<0.05$). İnsan eritrositleriyle *S. typhimurium*'ların % 63'ü MRHA, % 26'sı MSHA, *S. enteritidis*'lerin % 41'i MRHA, % 28'i MSHA yapmıştır. Koyun eritrositleriyle *S. typhimurium*'ların % 54'ü MRHA, % 34'ü MSHA, *S. enteritidis*'lerin % 52'si MRHA, % 17'si MSHA yapmıştır. İnsan eritrositleriyle *S. typhimurium* kökenlerinin *S. enteritidis*'e göre daha sık MRHA yaptığı saptanmıştır ($p<0.05$). Bulgularımız diğer araştırmacıların bulguları ile uyumlu olup, hemaglutinasyon özelliği ile plazmidler arasında herhangi bir ilişki kurulamamıştır.

Serumun öldürücü etkisine direnç yeteneği sepsise yol açan gram olumsuz bakterilerin genel bir özelliğidir (79).

Simmons ve ark. (50) çalıştıkları 39 *Salmonella* kökeninin tamamının serumun öldürücü etkisine dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda da kökenlerimizin tamamı serumun öldürücü etkisine dirençli bulunmuştur. Plazmid profilleriyle serumun öldürücü etkisine direnç arasında ilişki kurulamamıştır.



SONUÇLAR

Sonuç olarak Edirne ve yöresinde ayrılan *Salmonella* kökenleri içinde *S. enteritidis* serotipi baskındır ve yıllar içinde baskınlığı daha da artmaktadır. Bu artışta, bu çalışmaya alınan salgın kökenlerinin de gösterdiği gibi, Edirne'ye dağıtım yapan tavuk çiftliklerinin *S. enteritidis* ile infekte olmaları sorumlu olabilir.

Antibiyotik direnç hızlarının daha yüksek olduğu *S. typhimurium* kökenlerinin ayırım oranındaki düşme bir avantaj olarak düşünülse de *S. enteritidis* kökenleri de zaman için de benzer antibiyotik dirençlerine sahip olacaktır. Bu durumdan kaçınabilmek için invazif infeksiyonun söz konusu olmadığı basit *Salmonella* gastroenteritlerinde antimikrobiyal tedaviden kaçınılmalıdır. Yine hayvanlarda tedavi ya da yemlere koruyucu amaçlı katılan antimikrobiyaller direnç gelişiminde seçici baskı ile direnç hızlarını arttıracak ve zamanla insanlarda invazif infeksiyonların tedavisinde kullanılacak seçeneklerin azalmasına yol açacaktır.

Bu nedenle Edirne'ye dağıtım yapan tavuk çiftliklerinin sürekli olarak kontrol altında tutulmaları büyük önem taşımaktadır. Kontroller sırasında saptanabilecek kökenler plazmid profili analiziyle takip edilebilir. Ayrıca *S. enteritidis* infeksiyonlarından korunmak amacıyla yumurtaların buzdolabında saklanması ve iki saatten daha uzun süreyle ortam ısısında bekletilmemesi, kırık ya da kirli yumurtaların kullanılmaması, çiğ yumurta ile temastan sonra ellerin ve mutfak eşyalarının sabun ve suyla yıkanması, yumurtaların pişirildikten sonra derhal yenmesi, artan yiyeceklerin buzdolabında saklanması, çiğ yumurta tüketiminden kaçınılması önerilmektedir (155).

Gerek *S. enteritidis*, gerekse *S. typhimurium* kökenlerinde saptanan plazmidlerin boyutları bu kökenlerdeki antimikrobiyal dirençle bağlantılı görünmemektedir. Çok küçük boyutlu plazmidler hariç hemen her boyuttaki plazmid direnç genlerini taşıyabilmektedir. Bu

durum plazmidlerde boy değil, fonksiyonun önemli olduğunu göstermektedir. Yine plazmidler ve virölans faktörleri olarak aranan serumun öldürücü etkisine direnç ve mannoza duyarlı ya da dirençli hemaglutinasyon özellikleri arasında bağlantı kurulamamıştır. Çalışmaya alınan kökenlerin tamamının serumun öldürücü etkisine karşı direnç göstermeleri bu faktörün virölansı yüksek kökenlerin ayrımında kullanılamayacağını düşündürmektedir. Mannoza dirençli hemaglutinasyon özelliğinin *S. typhimurium* kökenlerinde daha fazla saptanması ve bu kökenlerin daha çok invazif infeksiyonlarına yol açması MRHA özelliğinin *Salmonella* serotiplerinde virölansa eşlik eden bir faktör olduğunu düşündürmektedir.



ÖZET

Salmonella infeksiyonları dünyada olduğu gibi Türkiye’de de önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu çalışmanın amacı Ocak 1995 – Temmuz 2000 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda ayrılan *Salmonella typhi* dışındaki *Salmonella* serotiplerinde virülans faktörlerini, antimikrobiyal direnç hızlarını ve plazmid profillerini saptamaktır. Virülans faktörlerinden yapışma faktörleri koyun ve insan eritrositleriyle mannoz varlığında (MRHA) veya yokluğunda (MSHA) hemagglütinasyon ile araştırılmış, serumun öldürücü etkisine direnç için tavşan ve insan serumları kullanılmıştır. Disk difüzyon ve agar dilüsyon testleriyle 19 antimikrobiyal ilaca karşı duyarlılık hızları ve çift disk sinerji testiyle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) varlığı araştırılmıştır. Plazmidler alkalen lizis yöntemiyle ekstrakte edilmiş, jel elektroforez ile ayrıştırıldıktan ve etidyum bromür ile boyandıktan sonra UV ışıkta görüntülenmiştir. Çalışmaya 90’ı *S. enteritidis*, 35’i *S. typhimurium* olmak üzere 125 köken alınmıştır. İki ayrı salgından ayrılan 34 *S. enteritidis* dışındaki diğer kökenler ortak kaynak öyküsü olmayan sporadik olgulardan elde edilmiştir. *S. typhimurium* ve *S. enteritidis* kökenlerinde MSHA sıklığı benzer iken, insan eritrositleriyle MRHA *S. typhimurium* kökenlerinde daha sık görülmüştür. Kökenlerin tamamı serumun öldürücü etkisine dirençlidir ve hiçbirinde ESBL saptanmamıştır. Ampisilin, amoksisilin-klavulanik asit, sefazolin, sefoperazon ve tetrasiklin direnci hızları *S. typhimurium*’da daha yüksektir. Sefotaksim, seftriakson, seftazidim, imipenem, siprofloksasin, amikasin, netilmisin tüm bakterilere etkindir. Kırkdört *S. enteritidis* kökeninde virülans plazmidini olarak nitelendirilebilecek yaklaşık 35 MDa’lık plazmid bulunmuştur. Salgın kökenlerinin plazmid profilleri benzerdir. *S. typhimurium* kökenlerinde 60 MDa’lık virülans plazmidini saptanamamıştır. Virülans faktörlerinin ve antimikrobiyal direncin varlığı özel bir plazmid veya plazmid profili ile birlikte değildir.

SUMMARY

COMPARING OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITIES AND VIRULENCE FACTORS BY PLASMIDS OF SALMONELLA SPP. ISOLATED FROM VICINITY OF EDIRNE

Salmonella infections are the important public health problem in Turkey, as in the world. The aim of this study is to detect the virulence factors, the rates of antimicrobial resistances and the plasmid profiles of non-*typhi* *Salmonella* serotypes isolated in Clinical Microbiology Laboratory of Clinical Bacteriology and Infectious Diseases Department, Trakya University Medical Faculty, between January 1995 – July 2000 period. As virulence factors, adhesion factors were detected by haemagglutination of sheep and human erythrocytes in the presence (MRHA) or absence (MSHA) of mannose, and rabbit and human sera were used for to detect the resistance to lethal effect of serum. Susceptibility rates against 19 antimicrobial drugs by disk diffusion and agar dilution tests, and the presence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) by double disk synergy test were screened. Plasmids were extracted by alkaline lysis technique, analyzed by gel electrophoresis and visualised under UV light after staining with ethidium bromide. A total of 125 strains, 90 *S. enteritidis* and 35 *S. typhimurium*, were included in the study. All the strains were isolated from sporadic cases without a common source history, except 34 *S. enteritidis* strains which were isolated from two independent outbreaks. The frequency of MSHA was similar in both of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* strains, while MRHA with human erythrocytes was seen more commonly in *S. typhimurium* strains. All the strains were resistant to lethal effect of serum, and none of them had ESBL. Resistance rates against ampicillin, amoxicillin-clavulanic acid, cefazolin, cefoperazone and tetracycline were higher in *S. typhimurium*. Cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, imipenem, ciprofloxacin, amikacin and netilmicin were effective for all bacteria. Approximately 35 MDa plasmid that could be considered as virulence plasmid was found in

44 *S. enteritidis* strains. The plasmid profiles of outbreak strains were similar. 60 MDa virulence plasmid was not found in any *S. typhimurium* strain. The presence of virulence factors and antimicrobial resistance were not associated with any particular plasmid or plasmid profile.



KAYNAKLAR

1. Töreci K, Anđ Ö: Türkiye'de saptanmış olan *Salmonella* serovarları ve salmonellozların genel değeriendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1991;21:1-18
2. Erdem B: Salmonellaların fenotipik ve genetik özellikleri ile bu özelliklerin epidemiyolojik değeri. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1995;25:40-45
3. Lee SC, Yang PH, Shieh WB, Lasserre R: Bacteremia due to non-typhi *Salmonella*: Analysis of 64 cases and review. J Infect Dis 1994;19:693-696
4. Garcia-Del Portillo F. Molecular and cellular biology of *Salmonella* pathogenesis. In: Cary JW, Linz JE, Bhatnagar D (Eds.). Microbial Foodborne Diseases. 1 st ed. Pennsylvania: Technomic Publishing Co. Inc.,2000:3-49
5. Lee LA, Pühr ND, Maloney EK, Bean NH, Tauxe RV: Increase in microbial resistant *Salmonella* infection in the United States, 1989-1990. J Infect Dis 1993;170:128-134
6. Otkun MT, Özkan E, Öztürk D, Dünder V, Tuğrul M: 1995-1997 yıllarında dışkıdan izole edilen *Salmonella* serotiplerinin dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları. İnfeks Derg 1998;12:181-185
7. Rivera MJ, Rivera N, Castillo J, Rubio MJ, Lus RG: Molecular and epidemiological study of *Salmonella* clinical isolates. J Clin Microbiol 1991;29:927-932
8. Vandebosch JL, Kurlandsky DR, Urdangaray R, Jones GW: Evidence of coordinate regulation of virulence in *Salmonella typhimurium* involving the rsk element of the 95-kilobase plasmid. Infect Immun 1989;57:2566-2568
9. Darwin KH, Miller VL: Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucoza. Clin Microbiol Rev 1999;12:405-428

10. Miller SI, Pegues DA: *Salmonella* species, Including *Salmonella typhi*. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (Eds.). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5 th ed. New York: Churchill-Livingstone Inc.,2000:2344-2363
11. Topçu AW: Tifo ve tifo dışı salmonellozlar. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Editörler). İnfeksiyon hastalıkları'nda. 1.baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., 1996:491-505
12. Akman M : Plazmid'ler-Epizom'lar.Bakteri genetiği teorik-pratik'inde. 2. baskı. Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını, 1983:373-426
13. Erdem B: Enterobacteriaceae. Ustaçelebi S (Editör). Temel ve klinik mikrobiyoloji'de. 1. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti., 1999:471-515
14. Threlfall EJ, Old DC: Salmonella. In: Collier L, Balows A, Sussman M (Eds.). Topley & Wilson's microbiology and microbial infections, 9 th ed. New York: Oxford University Press Inc., 1998: 969-997
15. Threlfall EJ, Frost JA: The identification, typing and fingerprinting of *Salmonella* :Laboratory aspects and epidemiological applications. J Appl Bacteriol 1990;68:5-16
16. Ezaki T, Kawamura Y, Yabuuchi E :Recognition of nomenclatural standing of *Salmonella typhi* (Approved Lists 1980), *Salmonella enteritidis* (Approved Lists 1980) and *Salmonella typhimurium* (Approved Lists 1980), and conservation of the specific epithets *enteritidis* and *typhimurium*. Request for an Opinion. Inter J Sys Evolutionary Microbiol 2000; 50: 945-947
17. Bilgehan H: Enterobacteriaceae familyası. Klinik mikrobiyoloji'de. 8. baskı. İzmir:Fakülteler Kitabevi, 1993:1-81
18. Holmberg SD, Wachsmuth IK, Brenner FH, Cohen ML: Comparison of plasmid profile analysis, phage typing, and antimicrobial susceptibility testing in characterizing *Salmonella typhimurium* isolates from outbreaks. J Clin Microbiol 1984;19:100-104
19. Ridley AM, Threlfall EJ, Rowe B: Genotypic characterization of *Salmonella enteritidis* phage types by plasmid analysis, ribotyping, and pulsed-field gel electrophoresis. J Clin Microbiol 1998;36:2314-2321
20. Liebisch B, Schwarz S: Evaluation and comparison of molecular techniques for epidemiological typing of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar dublin. J Clin Microbiol 1996;34:641-646
21. Borrego JJ, Castro D, Notario MJ, Luque A, Manzanares EM, Avial CR et al: Comparison of epidemiological markers of *Salmonella* strains isolated from different sources in Spain. J Clin Microbiol 1992;30:3058-3064

22. Koul K, Panhotra BR: Isolation, survival & transfer of R-plasmid of *Salmonella typhimurium* in Dal Lake of Kashmir (India). Indian J Med Res 1989;89:138-143
23. Olsvik O, Sorum H, Birkness K, Wachsmuth K, Fjolstad M, Lassen J, et al: Plasmid characterization of *Salmonella typhimurium* transmitted from animals to humans. J Clin Microbiol 1985;22:336-338
24. Tauxe RV, Hughes JM: Food-borne disease. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (Eds.). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5 th ed. New York: Churchill-Livingstone Inc.,2000:2344-2363
25. Altekruze SF, Cohen ML, Swerdlow DL: Emerging foodborne diseases. Emerg Infect Dis 1997;3:285-293
26. Angulo FJ, Johnson K, Tauxe RV, Cohen ML: Significance and sources of antimicrobial-resistant non-typhoidal *Salmonella* infections in the United States. Microbiol Drug Resist 2000;6:77-88
27. Frenzen P, Riggs T, Breuer T, Roberts T, Voetsch D, Reddy S, et al: *Salmonella* cost estimate update using foodnet data. Food Rev 1999;22:10-15
28. Bahrmand AR, Velayati AA: Antimicrobial resistance pattern and plasmid profile of *Salmonella typhi* isolated from an outbreak in Tehran province. Scand J Infect Dis 1997;29:265-269
29. Tassios PT, Markogiannakis A, Vatopoulos AC, Katsanikou E, Velonakis EM, Kremastinou JK, et al: Molecular epidemiology of antibiotic resistance of *Salmonella enteritidis* during a 7-year period in Greece. J Clin Microbiol 1997; 35:1316-1321
30. Kariuki S, Mirza NB, Wasteson Y, Senerwa D, Gathuma JM, Olsvik O: Tetracycline resistance genes in Kenyan hospital isolates of *Salmonella typhimurium*. APMIS 1992;100:629-634
31. Ling JM, Koo IC, Kam KM, Cheng AF: Antimicrobial susceptibilities and molecular epidemiology of *Salmonella enterica* serotype enteritidis strains isolated in Hong Kong from 1986 to 1996. J Clin Microbiol 1998;36:1693-1699
32. Kapperud G, Gustavsen S, Hellesnes I, Hansen AH, Lassen J, Hirn J, et al: Outbreak of *Salmonella typhimurium* infection traced to contaminated chocolate and caused by a strain lacking the 60-megadalton virulence plasmid. J Clin Microbiol 1990;28:2597-2601
33. Vatopoulos AC, Manias E, Balis E, Threlfall EJ, Kanelopoulou M, Kalapothaki V, et al: Molecular epidemiology of ampicillin-resistant clinical isolates of *Salmonella enteritidis*. J Clin Microbiol 1994;32:1322-1325

34. Nolan LK, Wooley RE, Brown J, Payeur JB: Comparison of phenotypic characteristics of *Salmonella* spp isolated from healthy and ill (infected) chickens. Am J Vet Res 1991;52:1512-1517
35. Ishiguro N, Goto J, Sato G: Genetic relationship between R plasmid derived from *Salmonella* and *Escherichia coli* obtained from a pig farm, and its epidemiological significance. J Hyg (Cambridge) 1980;84:365-379
36. Mishu B, Koehler J, Lee LA, Rodrigue D, Brenner FH, Blake P et al: Outbreaks of *Salmonella enteritidis* infections in the United States, 1985-1991. J Infect Dis 1994;169:547-552
37. Rajashekara G, Munir S, Alexeyev MF, Halvorson DA, Wells CL, Nagaraja KV: Pathogenic role of SEF14,SEF17, and SEF21 fimbriyae in *Salmonella enterica* serovar enteritidis infection of chickens. Appl Environ Microbiol 2000;66:1759-1763
38. Kotova AL, Kondratskaya IM, Yasutis IM: *Salmonella* carrier state and biological characteristics of the infectious agent. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol 1988;32:71-78
39. Bolton LF, Kelley LC, Lee MD, Cray PJF, Maurer JJ: Detection of multi-resistant *Salmonella enterica* serotype typhimutium DT104 based on a gene which confers cross-resistance to florfenicol and chloramphenicol. J Clin Microbiol 1999;37:1348-1351
40. Briggs CE, Fratamico PM: Molecular characterization of an antibiotic resistance gene cluster of *Salmonella typhimurium* DT104. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:846-849
41. King NG L, Mulvey MR, Martin I, Peters GA, Johnson W: Genetic characterization of antimicrobial resistance in Canadian isolates of *Salmonella* serovar typhimurium DT104. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:3018-3021
42. Carlson SA, Willson RM, Crane AJ, Ferris KE: Evaluation of invasion-conferring genotypes and antibiotic-induced hyperinvasive phenotypes in multipl antibiotic resistant *Salmonella typhimurium* DT104. Microb Pathog 2000;28:373-378
43. Nastasi A, Mammina C: Surveillance of multidrug-resistant strains of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in southern Italy in the years 1992-1997. Eur J Epidemiol 2000;16:135-139
44. Davis MA, Hancock DD, Besser TE, Rice DH, Gay JM, Gay C, et al: Changes in Antimicrobial resistance among *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates from humans and cattle in the Northwestern United States,1982-1997. Emerg Infect Dis 1999;5:802-806

45. Gülay Z: Antimikrobiyal ilaçlara direnç. Ustaçelebi S (Editör). Temel ve klinik mikrobiyoloji' de. 1. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti., 1999:91-108
46. Lu S, Manges AR, Xu Y, Fang FC, Riley LW: Analysis of virulence of clinical isolates of *Salmonella enteritidis* in vivo and in vitro. *Infect Immun* 1999;67:5651-5657
47. Nastasi A, Mammina C, Cannova L: Antimicrobial resistance in *Salmonella enteritidis*, Southern Italy, 1990-1998. *Emerg Infect Dis* 2000;6:401-403
48. Millemann Y, Lesage MC, Dancla EC, Lafont JP : Value of plasmid profiling, ribotyping, and detection of IS200 for tracing avian isolates of *Salmonella typhimurium* and *S. enteritidis*. *J Clin Microbiol* 1995;33:173-179
49. Fadl AA, Nguyen AV, Khan MI: Analysis od *Salmonella enteritidis* isolated by arbitrarily primed PCR. *J Clin Microbiol* 1995;33:987-989
50. Simmons KW, Wooley RE, Brown J: Comparison of virulence factors and R plasmids of *Salmonella* spp. isolated from healthy and ill swine. *Appl Environ Microbiol* 1988;54:760-767
51. Finlay BB, Falkow S: Virulence factors associated with *Salmonella* species. *Microbiol Sciences* 1988;5:324-327
52. Relman DA, Falkow S: A molecular perspective of microbial pathogenicity. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (Eds.). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5 th ed. New York: Churchill-Livingstone Inc.,2000:2-13
53. Baysal B: Bakteriyel infeksiyonların patogenezi. Ustaçelebi S (Editör). Temel ve klinik mikrobiyoloji kitabında. 1. basım. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti., 1999: 109-112
54. Takasaki CL, Saxen H, Makela PH, Leive L: Complement activation by polysaccharide of lipopolysaccharide: An important virulence determinant of salmonellae. *Infect Immun* 1983;41:563-569
55. Taylor PW, Hughes C: Plasmid carriage and the serum sensitivity of Enterobacteria. *Infect Immun* 1978;22:10-17
56. Old DC, Yakubu DE, Senior BW: Characterisation of a fimbriyal, mannose-resistant and eluting haemagglutinin (MREHA) produced by strains of *Salmonella* of serotype sendai. *J Med Microbiol* 1989;30: 59-68
57. Jones GW, Richardson LA: The attachment to, and invasion of HeLa cells by *Salmonella typhimurium*: the contribution of mannose-sensitive and mannose-resistant haemagglutinating activities. *J Gen Microbiol* 1981;127:361-370

58. Coşar G: Bakteri fimbriyalari. *İnfeks Derg* 1988;2:437-442
59. Brubaker RR: Mechanism of bacterial virulence. *Ann Rev Microbiol* 1985;39:21-50
60. Lindquist BL, Lebenthal E, Lee P, Stinson MW, Merrick JM: Adherence of *Salmonella typhimurium* to small-intestinal enterocytes of the rat. *Infect Immun* 1987;55:3044-3050
61. Müller KH, Collinson SK, Trust TJ, Kay WW : Type 1 fimbriae of *Salmonella enteritidis*. *J Bacteriol* 1991;173:4765-4772
62. Peterson PK, Quie PG: Bacterial surface components and the pathogenesis of infectious diseases. *Ann Rev Med* 1981;32:29-43
63. Korhonen TK, Lounatmaa K, Ranta H, Kuusi N: Characterization of type 1 pili of *Salmonella typhimurium* LT2. *J Bacteriol* 1980;144:800-805
64. Baumler AJ, Tsolis RM, Heffron F: Multiple Fimbriyal Adhesins Are Required for full virulence of *Salmonella typhimurium* in mice. *Infect Immun* 1998;66:2803-2808
65. Thorns CJ, Turcotte C, Gemmel CG, Woodward MJ: Studies into the role of the SEF14 fimbrial antigen in the pathogenesis of *Salmonella enteritidis*. *Microb Pathog* 1996;20:235-246
66. Edwards RA, Schifferli DM, Maloy SR: A role for *Salmonella* fimbriae in intraperitoneal infections. (serial online). <http://www.pnas.org>
67. Fuller MD, Vercoe EA, Woodward MJ, Thorns CJ : Expression of SEF17 fimbriae by *Salmonella enteritidis*. *Appl Microbiol* 1997;25:447-452
68. Grund S, Weber A: A new type of fimbriae on *Salmonella typhimurium*. *J Vet Med* 1988;35:779-782
69. Kimiran A: *Salmonella enteritidis* suşlarında hemaglutinasyon etkinliği ve fimbriyalar (Tez). İstanbul:İ.Ü. Fen Bil.Enstitüsü:1993
70. Erdem B, Erler F, Gerçek D, Gökçen S, Aysev D, Yavuzdemir S: Değişik kaynaklı *Salmonella* suşlarında fenolat ve hidroksamat tipi siderofor sentezi. *İnfeks Derg* 1995;9:75-78
71. Yancey RJ, Breeding SAL, Lankfort CE: Enterochelin(Enterobactin) : Virulence factor for *Salmonella typhimurium*. *Infect Immun* 1979;24:174-180
72. Crosa JH: Genetics and molecular biology of siderophore-mediated iron transport in bacteria. *Microbiol Rev* 1989;53:517-530

73. Erdem B, Erler F: İnsan kaynaklı *Salmonella* suşlarında fenolat tipi siderofor sentezi. Mikrobiol Bül 1995;29:7-13
74. Mol A, Manning PA, Timmis KN: Plasmid-determined resistance to serum bactericidal activity: a major outer membrane protein, the traT gene product, is responsible for plasmid-specified serum resistance in *Escherichia coli*. Infect Immun 1980;28:359-366
75. Kok M, Pechere JC: Nature and pathogenicity of micro-organism. In: Armstrong D, Cohen J (Eds.). Infectious Diseases. London: Harcourt Publishers Ltd., 1999: Section 1: 1.1-1.26
76. Agüero ME, Aron L, Deluca AG, Timmis KN, Cabello FC: A plasmid-encoded outer membrane protein, traT, enhances resistance of *Escherichia coli* to phagocytosis characterisation of monoclonal antibodies specific to SEF 21 fimbriae of *Salmonella enteritidis* and their reactivity with other Salmonellae and Enterobacteria. Infect Immun 1970;46:740-746
77. Moll A, Cabello F, Timmis KN: Rapid assay for the determination of bacterial resistance to the lethal activity of serum. FEMS Microbiol Lett 1979;6:273-276
78. Vandebosch JL, Rabert DK, Kurlandsky DR, Jones GW: Sequence analysis of rsk, a portion of the 95-kilobase plasmid of *Salmonella typhimurium* associated with resistance to the bactericidal activity of serum. Infect Immun 1989;57:850-857
79. Heffernan EJ, Wu L, Louie J, Okamoto S, Fierer J, Guiney DG: Specificity of the complement resistance and cell association phenotypes encoded by the outer membrane protein genes rck from *Salmonella typhimurium* and ail from *Yersinia enterocolitica*. Infect Immun 1994;62:5183-5186
80. Gulig PA, Danbara H, Guiney DG, Lax AJ, Norel F, Rhen M: Molecular analysis of spv virulence genes of the *Salmonella* virulence plasmids. Mol Microbiol 1993;7:825-830
81. Guiney DG, Fang FC, Krause M, Libby S, Buchmeier NA, Fierer J: Biology and clinical significance of virulence plasmids in *Salmonella* serovars. Clin Infect Dis 1995;21 (Suppl 2):146-151
82. Caldwell AL, Gulig PA: The *Salmonella typhimurium* virulence plasmid encodes a positive regulator of a plasmid-encoded virulence gene. J Bacteriol 1991;173:7176-7185
83. Ahmer BM, Tran M, Heffron F: The virulence plasmid of *Salmonella typhimurium* is self-transmissible. J Bacteriol 1999;181:1364-1368
84. Fang FC, Krause M, Roudier C, Fierer J, Guiney DG: Growth regulation of a *Salmonella* plasmid gene essential for virulence. J Bacteriol 1991;173:6783-6789

85. Guilloteau LA, Wallis TS, Gautier AV, MacIntyre S, Platt DJ, Lax AJ: The *Salmonella* virulence plasmid enhances *Salmonella*-induced lysis of macrophages and influences inflammatory responses. *Infect Immun* 1996;64:3385-3393
86. Fierer J, Krause M, Tauxe R, Guiney D: *Salmonella typhimurium* bacteremia: Association with the virulence plasmid. *J Infect Dis* 1992;166:639-642
87. Massey RC, Bowe F, Sheehan BJ, Dougan G, Dorman CJ: The virulence plasmid of *Salmonella typhimurium* contains an autoregulated gene, *rlgA*, that codes for a resolvase-like DNA binding protein. *Plasmid* 2000;44:24-33
88. Garcia-Del Portillo F, Foster JW, Finlay BB: Role of acid tolerance response genes in *Salmonella typhimurium* virulence. *Infect Immun* 1993;61:4489-4492
89. Potard ABB, Solomon F, Kayser J, Groisman EA : The SPI-3 pathogenicity island of *Salmonella enterica*. *J Bacteriol* 1999;181:998-1004
90. Hensel M: *Salmonella* pathogenicity island 2. *Mol Microbiol* 2000;36:1015-1023
91. Ochman H, Groisman EA: Distribution of pathogenicity islands in *Salmonella spp.* *Infect Immun* 1996;64:5410-5412
92. Mecsas J, Strauss EJ: Molecular mechanism of bacterial virulence: Type III secretion and pathogenicity island. *Emerg Infect Dis* 1996;2:271-288
93. Wallis TS, Galyov EE: Molecular basis of *Salmonella* -induced enteritis. *Mol Microbiol* 2000;36:997-1005
94. Meadow WL, Schneider H, Beem MO: *Salmonella enteritidis* bacteremia in childhood. *J Infect Dis* 1985;152:185-189
95. Corberira PG, Ramos JM, Aguado JM, Soriano F : Six cases in which mesenteric lymphadenitis due to non-typhi *Salmonella* caused an appendicitis-like syndrome. *Clin Infect Dis* 1995;21:231-232
96. Ruiz J, Nunez ML, Sempere MA, Diaz J, Gomez J: Systemic infections in three infants due to a lactose-fermenting strain of *Salmonella virchow*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14:454-456
97. Huang LT: *Salmonella* meningitis complicated by brain infarctions. *Clin Infect Dis* 1996;22:194-195
98. Ramos JM, Aguado JM, Corbeira PG, Ales JM, Soriano F: Clinical spectrum of urinary tract infections due to nontyphoidal *Salmonella* species. *Clin Infect Dis* 1996;23:388-390

99. Kamarulzaman A, Briggs RJS, Fabinyi G, Richards JC: Skull osteomyelitis due to *Salmonella* species: Two case reports and review. Clin Infect Dis 1996;22:638-641
100. Guerrero MLF, Perea RT, Rodrigo JG, Garcia AN, Jusdado JJ, Rincon JMR: Infectious endocarditis due to non-typhi *Salmonella* in patients infected with human immunodeficiency virus: Report of two cases and review. J Infect Dis 1996;22:853-855
101. Lamb VA, Mayhall CG, Spadora AC, Markowitz SM, Farmer JJ, Dalton HP: Outbreak of *Salmonella typhimurium* gastroenteritis due to an imported strain resistant to ampicillin, chloramphenicol, and trimethoprim-sulfamethoxazole in a nursery. J Clin Microbiol 1984;20:1076-1079
102. Prats G, Mirelis B, Llovet T, Munoz C, Miro E, Navarro F: Antibiotic resistance trends in enteropathogenic bacteria isolated in 1985-1987 and 1995-1998 in Barcelona. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:1140-1145
103. Ruiz J, Castro D, Goni P, Santamaria JA, Borrego JJ, Vila J: Analysis of the mechanism of quinolone resistance in nalidixic acid-resistant clinical isolates of *Salmonella* serotype typhimurium. J Med Microbiol 1997;46:623-628
104. Herikstad H, Hates P, Mokhtar M, Fracaro ML, Threlfall EJ, Angulo FJ: Emerging quinolone-resistant *Salmonella* in the United States. Emerg Infect Dis 1997;3:371-372
105. Malorny B, Schroeter A, Helmuth R: Incidence of quinolone resistance over the period 1986 to 1998 in veterinary *Salmonella* isolates from Germany. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:2278-2282
106. Tibet M, Cicioglu B, Gerçeker D, Erdem B : *Salmonella typhimurium* ve *Salmonella enteritidis* suşlarının çeşitli antimikrobiklere direnci. Türk Hij Den Biyol Derg 1996;53:1-5
107. Urbarlı A, Özgenç O, İnan N, Esen, N, Gelen F: *Salmonella* ve *Shigella* suşlarının agar dilüsyon yöntemiyle kinolon ve ampisilin duyarlılıklarının araştırılması. İnfeksiyon Derg 1997;11:271-274
108. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM: Enterobacteriaceae. In: Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM (Eds.). Bailey's & Scott's diagnostic microbiology. 9 th ed. Baltimore: Mosby Year Book Inc., 1994:362-385
109. Schreckenbergen PC, Janda SM, Wong SD, Baron EJ: Algorithm for identification of aerobic gram-negative bacteria. In: Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM (Eds.). Bailey's & Scott's diagnostic microbiology. 9 th ed. Baltimore: Mosby Year Book Inc., 1994:438-458

110. Tatman-Otkun M: Hastane infeksiyonlarından izole edilen *Acinetobacter* türlerinde β -laktamazların izoelektrik odaklama yöntemiyle tiplendirilmesi (Tez). Edirne: T.Ü. Sağ Bil Ens:1998
111. National Committee For Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 9 th Informational Supplement. NCCLS Document M100-S9. Pennsylvania :1999
112. Akata F: Gram-negatif bakterilerde beta-laktamaz tipleri ve antibiyogramdan beta-laktamaz tipini tahmin etmede kullanılabilecek yöntemler. *İnfeks Derg* 1997;11:303-309
113. Coşkunhan FK: Seftazidime dirençli nozokomiyal *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının beta-laktam direnç mekanizması (Tez). Kocaeli: K.Ü.Tıp Fak.;1999
114. Jiwa SF, Mansson I: Hemagglutinating and hydrophobic surface properties of salmonellae producing enterotoxin neutralized by cholera anti-toxin. *Vet Microbiol* 1983;8:443-458
115. Kado CI, Liu ST: Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J Bacteriol* 1981;145:1365-1373
116. Schuman JD, Zottola EA, Harlander SK: Preliminary chacterization of a food-borne multipl antibiotic resistant *Salmonella typhimurium* strain. *Appl Environ Microbiol* 1989;55:2344-2348
117. Pohl P, Glupczynski Y, Marin M, Van Robaeys G, Lintermans P, Couturier M: Replicon typing characterization of plasmids encoding resistance to gentamicin and apramycin in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* isolated from human and animal sources in Belgium. *Epidemiol Infect* 1993;111:229-238
118. Editorial:*Salmonella enteritidis* phage type4: Chicken and egg. *Lancet* 1988;2:720-722
119. Karagül E, Dündar V, Özyürek S, Akgül A, Selçuk S: Haydarpaşa Numune Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları Polikliniğine başvuran *Salmonella enteritidis*'in neden olduğu gastro-enterit olguları. *İnfeks Derg* 1992;6:197-198
120. Gedikoglu S, Göral G, Helvacı S: Bursa'da izole edilen *Salmonella* serotipleri. *İnfeks Derg* 1990;4:17-19
121. Zarakolu P, Karabiçak N, Öncül Ö, Güvener E: *Salmonella typhimurium* izolatlarının çeşitli antimikrobiklere in vitro direnci. *Mikrobiol Bült* 1996;30:125-128
122. Threlfall EJ, Frost JA, Ward LR, Rove B: Increasing spectrum of resistance in multiresistant *Salmonella typhimurium*. *Lancet* 1996;1:1054

123. Frimodt-Moller N, Espersen F, Jacobsen B, Schlundt J, Meyling A, Wegener H: Problems with antibiotic resistance in Spain and their relation to antibiotic use in humans elsewhere. *Clin Infect Dis* 1997;25:940
124. Şanlı Y: Veteriner ilaçları rehberi ve bilinçli ilaç kullanımı el kitabı. Ankara: ICCAT İletişim Tanıtım Organizasyon Tic. Ltd., 1998:799
125. Murrey BE: Resistance of *Shigella*, *Salmonella*, and other selected enteric pathogens to antimicrobial agents. *Rev Infect Dis* 1986;8:172-181
126. O'Brien TF, Hopkins JD, Gilleece ES, Medeiros AA, Kent RL, Blackburn BO: Molecular epidemiology of antibiotic resistance in *Salmonella* from animals and human beings in the United States. *N Engl J Med* 1982;307:1-6
127. Olsvik O, Sorum H, Wachsmuth K, Fossum K, Feeley JC: Animal-to-human transmission of both sensitive and resistant *Salmonella typhimurium* demonstrated by plasmid profiling. *Lancet* 1985;19:172-173
128. Gedikoglu S, Göral G, Helvacı S, Kılıçturgay K: *Salmonella typhimurium* enfeksiyonlarının Bursa yöresindeki durumu. *Mikrobiol Bült* 1990;24:95-102
129. Rodriguez M, De Diego I, Mendoza MC: Extraintestinal salmonellosis in a general hospital (1991 to 1996): Relationship between *Salmonella* genomic group and clinical presentations. *J Clin Microbiol* 1998;36:3291-3296
130. Shehabi AA: Extra-intestinal infections with multiply drug-resistant *Salmonella typhimurium* in hospitalized patients in Jordan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14:448-451
131. Ramos JM, Ales JM, Cuenca-Estrella M, Fernandez-Roblas R, Soriano F: Changes in susceptibility of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, and *Salmonella virchow* to six antimicrobial agents in a Spanish Hospital, 1980-1994. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:85-88
132. Yang YJ, Liu CC, Wang SM, Wu JJ, Huang AH, Cheng CP: High rates of antimicrobial resistance among clinical isolates of nontyphoidal *Salmonella* in Taiwan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;17:880-883
133. Barguelli F, Burucoa C, Amor A, Fauchere JL, Fendri C: In vivo acquisition of extended-spectrum beta-lactamase in *Salmonella enteritidis* during antimicrobial therapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14:703-706
134. Livermore DM: β -Laktamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:557-584

135. Thomson KS, Sanders CC: A simple and reliable method to screen isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* for the production of TEM- and SHV-derived extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 1997;3:549-554
136. Emergy CL, Weymouth LA: Detection and clinical significance of extended-spectrum β -lactamases in a tertiary-care medical center. *J Clin Microbiol* 1997;35:2061-2067
137. Mehr MA: Salmonellalarda direnç, çoklu ilaç direnci, beta laktamaz aktivitesi, direnç aktarımı ve plazmid profillerinin araştırılması (Tez). İzmir: D.E.Ü. Sağ Bil Enst 1997:1-97
138. Willke A, Altay G, Erdem B: *Salmonella* cinsi bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. *Mikrobiyol Bül* 1988;22:17-24
139. Dinçer N, Öner YA, Büğet E, Anğ Ö: Değişik grublardan 80 adet *Salmonella* suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları. 26'ncı Türk Mikrobiyoloji Kongresi; 11-15 Nisan 1994; Antalya. Kongre özet kitabı, 41
140. Baysallar M, Küçükarslan A, Albay A, Başustaoğlu AC: Dışkı ve kan örneklerinden izole edilen *Salmonella* serotiplerinin insidansı ve çoklu antibiyotik direnci. *Klinik Derg* 1995;8:32-35
141. Marsik FJ, Parisi JT, Blenden DC: Transmissible drug-resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella* from humans, animals and their rural environments. *J Infect Dis* 1975;132:296-302
142. Lee LA, Threatt VL, Pühr ND, Levine P, Ferris K, Tauxe RV: Antimicrobial resistant *Salmonella spp* isolated from healthy broiler chickens after slaughter. *J Am Vet Med Assoc* 1993;202:752-755
143. Wu PJ, Shannon K, Phillips I: Effect of hyperproduction of TEM-1 β -lactamase on in vitro susceptibility of *Escherichia coli* to β -lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:494-498
144. Gür D, Ünal S, Miller GH, Hare RS, Naples L, Sabatelli FJ, Shaw KJ: Prevalence of aminoglycoside resistance mechanism in Turkish Hospitals in 1996. In: Abstracts of the 37 th Interscience Conference and Antimicrobial Agents and Chemotherapy: 1997 Sep 28-Oct 1; Toronto, Canada
145. Berkman E: Ankara'da salgın yapan çoklu-dirençli *Salmonella typhimurium* suşlarında faj tiplendirmesi ve dirençlilik plazmidini tanımlama yöntemleriyle yapılmış olan bazı çalışmalar. *Mikrobiol Bül* 1982;16:53-65
146. Sulakvelidze A, Kekelidze M, Turabelidze D, Tsanova S, Devdariani L, et al.: Salmonellosis in the Republic of Georgia: using molecular typing to identify the outbreak-causing strain. *Emerg Infect Dis* 2000;6:70-73

147. Swaminathan B, Matar GM: Molecular typing methods. In: Persing DH, Smith TF, Tenovar FC, White TJ (Eds.). Diagnostic molecular microbiology. Principles and Applications. 1 st ed. Rochester: American Society for Microbiology, 1993:32-33
148. Spica JS, Waterman SH, Hoo GW, St.Louis ME, Pacer RE, James SM, et al: Chloramphenicol-resistant *Salmonella newport* traced through hamburger to dairy farms. A major persisting source of human salmonellosis in California. N Engl J Med 1987;316:565-570
149. Nakamura M, Sato S, Ohya T, Suzuki S, Ikeda S: Plasmid profile analysis in epidemiological studies of animal *Salmonella typhimurium* infection in Japan. J Clin Microbiol 1986;23:360-365
150. Clegg S, Gerlach GF: Enterobacterial fimbriae. J Bacteriol 1987;169:934-938
151. Coşar G: The relationship between fimbriae and hemagglutinating activity of *Salmonella typhimurium* strains. KÜKEM 1985;8:21-25
152. Gulig PA, Curtiss R: Plasmid-associated virulence of *Salmonella typhimurium*. Infect Immun 1987;55:2891-2901
153. Pardon P, Popoff MY, Coynault C, Marly J, Miras I: Virulence-associated plasmids of *Salmonella* serotype Typhimurium in experimental murine infection. Ann Inst Pasteur Microbiol 1986;137B:47-60
154. Bukholm G, Figenschau KJ: Invasiveness of enterobacteria related to the presence of high molecular weight plasmids. APMIS 1988;96:30-36
155. Center for Diseases Control and Prevention (USA): *Salmonella enteritidis* infection. (serial online). <http://aepo-xdv-www.epo.cdc.gov/wonder/prevguid/p0000003/entire.htm>