



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SALMONELLA TÜRLERİNDE PEFLOKSASİN
DİRENCİNİN BELİRLENİP DİĞER KİNOLONLARLA
KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Duygu ZARİ KAN

**Samsun
Haziran-2016**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SALMONELLA TÜRLERİNDE PEFLOKSASİN
DİRENCİNİN BELİRLENİP DİĞER KİNOLONLARLA
KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Duygu ZARİ KAN

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Keramettin YANIK

Samsun

Haziran-2016

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Duygu ZARİ KAN tarafından Yrd. Doç. Kerametttin YANIK Danışmanlığında hazırlanan SALMONELLA TÜRLERİNİN PEFLOKSASİN DİRENCİNİN BELİRLENİP DİĞER KİNOLONLARLA KARŞILAŞTIRILMASI başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 08 /06 /2016 tarihinde yapılan sınav ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Kerametttin YANIK
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Tuba YILDIRIM
Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

08 /06 /2016

Doç. Dr. Aydın HİM
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benden hiç esirgemeyen, yakın ilgi ve desteğini hep hissettiğim değerli hocam Yrd.Doç.Dr. Keramettin Yanık'a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca bu süreçte beni hep destekleyen bölümümüz öğretim üyeleri Prof. Dr. Asuman Birinci, Prof. Dr. Belma Durupınar, Prof. Dr. Ahmet Yılmaz Çoban, Doç. Dr. Adil Karadağ, Yrd. Doç. Dr. Yeliz Çaycı Tanrıverdi ve Yrd. Doç.Dr. Kemal Bilgin hocalarıma teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı asistan ve laboratuvar personeli arkadaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca eğitimime verdiği destekten dolayı Samsun Halk Sağlığı Laboratuvarı Sorumlusu Dr. Abdullah Güvenli'ye, deneyimleriyle bana yardımcı olan Mikrobiyoloji Uzmanı Dr. Seda GÜDÜL Havuz'a, Lab. Teknisyeni Vicdan Dilekoğlu'na ve İmmunoloji Laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Hayatım boyunca hep yanımda olacak olan destek ve sabırlarını benden hiç esirgemeyen sevgili eşim Öğr. Gör. Mürsel Kan'a, beni anlayışla karşılayan kızlarım Ecem ve Zeynep Kan'a bugüne kadar yetişmemde emeği geçen aileme ve 15 yıl boyunca kayıtlarımı yenilettiren kayınbiraderim İlhan Kan'a çok teşekkür ediyorum.

Bu tezi merhum babam Kemalettin Zari'ye ithaf ediyorum.

Bu çalışma PYO. TIP.1904.15.025 kod numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

SALMONELLA TÜRLERİNDE PEFLOKSASİN DİRENCİNİN BELİRLENİP DİĞER KİNOLONLARLA KARŞILAŞTIRILMASI

Amaç: Çalışmada *Salmonella* spp. türlerinin pefloksasin duyarlılığının belirlenmesi ve nalidiksik asit, siprofloksasin, norfloksasin, ofloksasin, levofloksasin gibi diğer kinolonlarla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmaya 2009-2015 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Samsun Halk Sağlığı Laboratuvarına gelen klinik örneklerden izole edilen 116 adet *Salmonella* spp. suşu dahil edildi. Bu suşların kinolon duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile çalışıldı. Nalidiksik asit ve siprofloksasin zon çapları CLSI'ya göre, pefloksasin, norfloksasin, ofloksasin ve levofloksasin EUCAST'ta göre yorumlandı. Kullandığımız kinolonlardan bir veya daha fazlasına dirençli suşların, siprofloksasin MİK değerleri E-test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle bakıldı. Test edilen kinolonların duyarlılık sonuçları ve test yöntemleri karşılaştırıldı. Chi-Square ve Wilcoxon testlerinde $p < 0,05$ olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen suşların büyük bir çoğunluğu gaita örnekleridir. Çalışmaya alınan 116 *Salmonella* suşundan 12 (%10,3) tanesinde herhangi bir kinolona direnç saptanmıştır ($p < 0,05$). Suşlardan üç tanesi nalidiksik asit ve pefloksasine dirençli, yedi tanesi nalidiksik asit, pefloksasin ve ofloksasine dirençli, bir tanesi nalidiksik asit, pefloksasin ofloksasin ve levofloksasine dirençli, bir tanesi de hepsine dirençlidir. Dirençli suşların E-test siprofloksasin MİK değerleri CLSI'a göre orta duyarlı, EUCAST'ta göre dirençli; sıvı mikrodilüsyon MİK değerleri ise CLSI'a göre orta duyarlı; sadece iki suş dirençli, EUCAST'ta göre hepsi dirençli tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada *Salmonella* spp. türlerinde kinolon direncinin olduğu, bu direncin tespitinde pefloksasin diskinin daha güvenilir olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: İlaç direnci; Kinolonlar; Pefloksasin; *Salmonella*

Duygu ZARİ KAN, Yüksek Lisans

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Haziran-2016

ABSTRACT

DETERMINATION OF PEFLOXACIN RESISTANCE IN *SALMONELLA* SPECIES AND ITS COMPARISON WITH OTHER QUINOLONES

Aim: Determination of pefloxacin sensitivity of *Salmonella* spp, and their comparison to other quinolones like nalidixic acid, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin and levofloxacin are aimed in this study.

Material and Method: 116 *Salmonella* spp. strains isolated from clinical samples obtained from O.M.U. Hospital and Public Health Laboratory between 2009-2015 were included in the study. Quinolone sensitivities of these strains were studied with Bauer- Kirby disk diffusion. Zone diameters of nalidixic acid and ciprofloxacin were interpreted with CLSI; pefloxacin, norfloxacin, ofloxacin and levofloxacin were interpreted with EUCAST. Ciprofloxacin MIC values of strains which were resistant to one or more quinolones were examined with E-test and broth microdilution methods. Sensitivity results and test methods of tested quinolones were compared with each other. The results which were $p < 0,05$ in Chi-Square and Wilcoxon tests were regarded as statistically significant.

Results: Majority of the strains used in the study were isolated from stool samples. Resistance to any quinolones ($p < 0,05$) were detected in 12(% 10,3) of the 116 *Salmonella* strains. Three strains were resistant to nalidixic acid and pefloxacin; seven were resistant to nalidixic acid, pefloxacin, ofloxacin; one was resistant to nalidixic acid, pefloxacin, ofloxacin and levofloxacin; one was resistant to all of them. The E-test ciprofloxacin MIC values of the resistant strains were moderately susceptible according to CLSI and were resistant according to EUCAST whereas their broth microdilution MIC values were moderately susceptible according to CLSI and only two strains were resistant and all of them were found to be resistant according to EUCAST.

Conclusion: There is quinolone resistance in *Salmonella* spp. and pefloxacin disk is more reliable in determining this resistance.

Keywords: Drug resistance; Quinolones; Pefloxacin; *Salmonella*

Duygu ZARİ KAN, Master's Thesis

Ondokuz Mayıs University - Samsun, June-2016

SİMGELER VE KISALTMALAR

ASN	: Asparajin
ASP	: Aspartit Asit
ATCC	: American Type Culture Collection
BGD 2	: Biyogüvenlik Düzeyi 2
BGK	: Biyogüvenlik Kabini
C₃	: Kompleman Sistemi Basamağı
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CİP	: Siprofloksasin
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
EUCAST	: European Committe on Antimicrobial Susceptibility Testing
GLY	: Glisin
HE	: Hektoen Enteric Agar
IMVIC TEST	: İndol, Metil red, Voges - Proskauer, Sitrat
KIA	: Kligler's Iron Agar
LEV	: Levofloksasin
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
NA	: Nalidiksik asit
NOR	: Norfloksasin

OFX	: Ofloksasin
ONPG	: Orto-nitro-fenil- β -galaktopiranozid (β -galaktozidaz testi)
PBP	: Penisilin Bağlayıcı Protein
PEF	: Pefloksasin
PHE	: Fenilalanin
QRDR	: Qinolone Resistance-Determining Regions
SER	: Serin
TSİ	: Triple Sugar Agar
TYR	: Tirozin
UEPLA	: Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağı
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
XLD	: Xylose Lysine Agar

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. <i>Salmonella</i>	2
2.1.1. Tarihçesi	2
2.1.3. Biyokimyasal ve Kültür Özellikleri	4
2.1.4. Taksonomisi ve Terminolojisi	4
2.1.5. Virülans Faktörleri	8
2.1.6. Patogenez.....	10
2.1.7. Epidemiyolojisi	11
2.1.8. Klinik.....	12
2.1.9. Laboratuvar Tanısı	13
2.1.10. <i>Salmonella</i> Enfeksiyonlarında Tedavi	16
2.2. Kinolonlar	21
2.2.1. Kimyasal Yapısı	21
2.2.2. Etki Mekanizması	24
2.2.3. Antimikrobiyal Aktivite	25
2.2.4. Kinolon Direnç Mekanizması.....	26
2.2.5. Kinolon Türleri.....	29
3. MATERYAL VE METOD	36
3.1. Materyal	36
3.1.1. Besiyerleri.....	36
3.2. Metot.....	39
3.2.1. Örneklerin Toplanması.....	39

3.2.2. Suşların Canlandırılması	39
3.2.3. Suşların Duyarlılığının Çalışılması	40
3.2.4. İstatistiksel Analiz.....	45
4. BULGULAR.....	46
4.1. <i>Salmonella</i> Suşlarının Örnek Dağılımı	46
4.2. <i>Salmonella</i> Suşlarının Disk DifüzyonYöntemi ile Belirlenen Kinolon.....	46
Direnç Sonuçları	46
4.3. E-test Sonuçları	52
4.4. Dirençli suşların Siprofloksasin Sıvı Mikrodilüsyon MİK Sonuçları	52
4.5. Dirençli Suşların Pefloksasin Duyarlılık Sonuçlarıyla Siprofloksasin Sıvı.....	53
Mikrodilüsyon MİK Sonuçlarının Karşılaştırılması	53
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	61
KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ.....	70

1. GİRİŞ

Enterobacteriaceae ailesi içinde yer alan *Salmonella* cinsi tıbben önemli patojenleri içermektedir. Tifo ve non-tifoidal salmonelloza sebep olan *Salmonella* türleri geniş yayımlı enfeksiyon hastalıkları oluşturarak dünyada önemli bir halk sağlığı problemine sebep olur (Su ve ark., 2007). Non-tifoidal *Salmonella* dünya çapında gastrointestinal enfeksiyon etkeni olarak en sık görülen bakteriyel patojendir. Çoğu non-tifoidal *Salmonella* enfeksiyonu nadiren antimikrobiyal tedavi gerektirir. Bununla birlikte tifo, bakteriyemi, osteomyelit ve menenjit gibi invazif enfeksiyonlar antimikrobiyal tedavi gerektirir. *Salmonella* tedavisinde in-vitro duyarlılık testlerinin sonuçlarına bağlı olarak genellikle ampicilin, trimetoprim-sulfametoksazol ve üçüncü kuşak sefalosporinler kullanılır (Chen ve ark., 2013). *Salmonella* serotiplerinde özellikle *Salmonella* Typhi'de antibiyotiklere azalmış duyarlılık ve tedavi başarısızlığı endişe vericidir (Murray, 2009). Geleneksel antibiyotiklere dirençli *Salmonella* türlerinin sebep olduğu invaziv enfeksiyonların tedavisinde alternatiflerden birisi florokinolonlardır. Buna rağmen birçok ülkede florokinolon direnci rapor edilmiştir (Su ve ark., 2007).

Kinololonlar bakterilerde DNA giraz (topoizomeraz II) ve topoizomeraz IV enzimini inhibe ederek bakterisidal etki gösterirler (Nazik ve Öngen, 2010). Kinolonlara karşı direnç gelişimi, DNA giraz (*gyrA* ve *gyrB*) ve topoizomeraz IV (*parC* ve *parE*) enzimlerindeki nokta mutasyonlar, hücre zarı geçirgenliğinin azalması, effluks pompasının aşırı çalışmasına bağlı olarak hücre içi birikimin azalması ve plazmid ile aktarılan *qnr*, *gebA* ve *aac(6')*-Ib-cr genleri aracılığı ile olmaktadır (Cattoir ve Nordmann, 2009).

Salmonella türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan kinolonlardan PEF duyarlılık sonuçlarıyla ilgili ülkemizde bilgi bulunmamaktadır. Bu antimikrobiyalin aralık değerleri EUCAST'ta belirtilmiştir.

Ülkemizde kullanılan CLSI klavuzundan EUCAST'a geçiş planlanmıştır. CLSI'dan farklı olarak EUCAST'ta *Salmonella* türlerinin kinolon direncini belirlemek için PEF duyarlılığına bakılması önerilmektedir. Çalışmamızda bu türlerin PEF duyarlılığı belirlenip, diğer kinolonlardan olan NA, NOR, CIP, OFX, LEV duyarlılık sonuçları ile karşılaştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Salmonella*

Salmonella cinsi Enterobacteriaceae ailesi içerisinde bulunan hareketli bakterilerden oluşur (Murray, 2009). Doğada serbestçe yaşayan insan ve hayvan florasında yer alan zoonotik bir ajandır. Hastalık tablosu olarak gıda kaynaklı enfeksiyonlar, ishaller ve ayrıca sistemik enfeksiyonlar oluşturur (THK standart no: B-MT-08).

2.1.1. Tarihçesi

Salmonella ilk olarak 1884 yılında Amerikalı bakteriyolog D.E. Salmon tarafından domuz bağırsağında bulunmuş ve *Bacillus choleraesuis* olarak isimlendirilmiştir. 1900 yılında Lignieres tarafından ismi *Salmonella choleraesuis* olarak değiştirilmiştir (Penner, 1988). Kauffmann 1966 yılında *Salmonella* 'ları taksonomik olarak 4 gruba ayırmıştır (Vazgeçer ve Temiz, 2005). Ewing ise 1972 yılında *Salmonella* 'ları *Salmonella typhi* (tek serovar), *Salmonella choleraesuis* (tek serovar) ve *Salmonella enteritidis* (diğer serovarlar) olarak üç türe ayırmıştır. Ayrıca *Salmonella choleraesuis* ise 7 alt gruba ayrılır. Bu alt türler *choleraesuis*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *bongori* ve *indica* olarak bilinmektedir. Fakat daha sonra *Salmonella choleraesuis* spp. *arizona* farklı bir cins olarak tanımlanmıştır (Vazgeçer ve Temiz, 2005). Crosa ve ark. 1973 yılında DNA hibridizasyonu yaparak *Salmonella* 'nın 4 alt grubunun *Salmonella choleraesuis* spp. *arizona* ile birbirine çok yakın olduklarını ortaya koymuşlardır. Daha sonra 1984 yılında *Salmonella* cinsi 5 alt gruba ayrılmıştır (Vazgeçer ve Temiz, 2005). 1986 yılında Mikrobiyoloji XIV Uluslararası Con Sistematik Bakteriyoloji Uluslararası Komitesi'nde *Salmonella* türlerinin isimleri *Salmonella enterica* olarak değiştirilmiştir (Penner, 1988). 1987 yılında bu komitede Le Minor ve Popoff *Salmonella enterica* 'nın yedi alt türü olduğunu ve *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* türlerinin *Salmonella enterica* grubuna alınmasını kabul etmiştir. Bu öneri Amerika Birleşik Devletler'indeki Hastalık Kontrol Merkezi (CDC) ve diğer laboratuvarlar tarafından da kabul edilmiştir. Fakat kısa süre sonra *Salmo-*

nella enterica grubunun altı alt tür olduğu kabul edilmiştir (Koneman's,1997). Böylelikle *Salmonella* cinsi 6 alt tür içeren *Salmonella enterica* ve *Salmonella bongori* olmak üzere iki türe ayrılmıştır (Vazgeçer ve Temiz, 2005). Önceleri *Salmonella bongoride* alt tür olarak tanımlanmasına rağmen 1989 yılında enzim elektroforezindeki farklılıklara dayanılarak tür olarak değerlendirilmiştir. *Salmonella* Enterobacteriaceae ailesindeki en karmaşık cinsdir. Sınıflandırılması ve adlandırılması defalarca değişmesine rağmen günümüzde hala bir kesinlik kazanamamıştır (Ustaçelebi, 1999).

2.1.2.Morfoloji

Salmonella bakterisi (Şekil 1) 2-5 µm boyunda 0,7-1,5 µm eninde gram negatif, fermenter çomaklardır (Ustaçelebi, 1999). Dış somatik O polisakkaridi, lipid A (endotoksin) ve kor polisakkaridi (ortak antijen) yapıları lipopolisakkarid yapısını oluşturur. *Salmonella* sporsuz ve kapsülsüz bir bakteridir. *Salmonella paratyphi B* az miktarda kapsül oluşturur (Ustaçelebi, 1999). *Salmonella*'lar çevresindeki peritriş kirpikleriyle hareketlidirler. *Salmonella gallinarum* ve *Salmonella pullorum* hareketsizdir. *Salmonella* suşlarının çoğunda tip I mannoza duyarlı ve hemaglutinasyon yapan fimbrialar vardır. *Salmonella gallinarum*'da mannoza dirençli fimbrialar vardır. *Salmonella paratyphi A* ise fimbriasızdır (Ustaçelebi, 1999).



Şekil 1. *Salmonella* (Anonim 2016 a)

2.1.3. Biyokimyasal ve Kültür Özellikleri

Salmonella'lar fakültatif anaerobik bakterilerdir. Adi agarda 35-37 °C 16-24 saatte kolaylıkla ürerler (Ustaçelebi, 1999; THK standart no: B-MT-08). Üremeleri için en iyi derece 37°C, pH 7,4' dür (Ustaçelebi, 1999). KIA (Kligler's Iron Agar) veya TSI (Triple Sugar Agar) besiyerinde asit/alkali, gaz (+) reaksiyon oluştururlar ve H₂S üretirler. Laktozu fermente eder. Lizin ve ornitin dekarboksilaz testleri pozitifdir (Murray, 2009). Arginin dihidrolaz reaksiyonu suşa göre değişir. *Salmonella*'ların fermente ettiği diğer karbonhidratlar arabinoz, mannitol, mannoz, maltoz, ramnoz, ksiloz, dulcitol, trehaloz, sorbitol dür. IMVIC testi (- + - +) dir. Üreyi hidrolize etmezler ve ONPG reaksiyonu negatiftir (Ustaçelebi, 1999). Sadece *Salmonella typhi* diğer *Salmonella* serotiplerinden farklıdır. Glukoz ve karbonhidratlardan gaz oluşturmaz. H₂S üretimi azdır ve KIA'da ince yuvarlak tabaka halindedir. Bu sonuçlarla *Salmonella typhi* ön tanısı konulabilir (Ustaçelebi, 1999).

2.1.4. Taksonomisi ve Terminolojisi

Fransa' daki Pasteur Enstitüsü *Salmonella* serotiplerinin antijenik formüllerini tanımlar ve saklar (Popoff, 1997; 2000). *Salmonella* cinsi bakteriler *Salmonella enterica* ve *Salmonella bongori* olmak üzere iki tür altında toplanmıştır. Ayrıca *Salmonella enterica* 6 alt türden oluşur (Murray, 2009).

- ❖ *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (I)
 - ❖ *Salmonella enterica* subsp. *salamae* (II)
 - ❖ *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* (IIIa) (Monofazik türler)
 - ❖ *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb) (Difazik türler)
 - ❖ *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* (IV)
 - ❖ *Salmonella enterica* subsp. *indica* (VI)
- S. bongori* eskiden alttür V olarak bilinirdi (Murray, 2009).

Salmonella cinsindeki bakteriler 1926 yılında White'ın somatik O antijeni ve H kirpik antijeni farklılığına dayanılarak düzenlediği ve 1972-1978 yılları arası Kauffman'ın genişlettiği şemaya göre serotiplerine ayrılmıştır (Ustaçelebi, 1999). 1966 yılından önce ise

Salmonella'lar ilk izole edildikleri bölgeye, oluşturdukları hastalığa veya ilk izole edildikleri hayvana göre isimlendirilmiştir (Su ve Chiu, 2007). Yeni serotiplerdeki isimlendirmede ise *Salmonella*'ların Kauffman-White şemasındaki antijenik formülleri kullanılmaktadır (Murray, 2009).

Salmonella tarihçesi Tablo 1'de verildi.

Tablo 1. *Salmonella* tarihçesi (Murray, 2009'dan)

Le Minor ve ark. : 1984	Ewing: 1986	CDC: 1989
Cins: <i>Salmonella</i> Salmonella 'ların hepsi ve Arizona'lar 5 alt cinsten oluşan tek bir cinsten oluşur.	Cins: <i>Salmonella</i>	Cins: <i>Salmonella</i>
Altçins I : Tipik <i>Salmonella</i> <i>S.choleraesuis</i> <i>S.hirschfeldii</i> <i>S.typhi</i> <i>S.paratyphi A</i> <i>S. paratyphi B</i> <i>S.typhimurium</i> <i>S.enteritidis</i> <i>S.gallinarum</i>	1. <i>S.enterica</i> subsp <i>enterica</i> 2. <i>S.enterica</i> subsp <i>salamae</i> 3. <i>S.enterica</i> subsp <i>arizonae</i> 3.b. <i>S.enterica</i> subs. <i>diarizonae</i> 4. <i>S.enterica</i> subsp <i>houtenae</i> 5. <i>S.enterica</i> subsp <i>bongori</i>	Cins: <i>Salmonella</i> Altgrup 1 suşları Çoğu serotip <i>S.choleraesuis</i> <i>S.paratyphi A</i> <i>S.gallinarum</i> <i>S.pullorum</i>
Altçins II: Atipik <i>Salmonella</i> <i>S.salamae</i> Altçins III: <i>S.arizone</i> Altçins IV: Atipik <i>Salmonella</i> <i>S.houtenae</i> Altçins V: Duksitol, ONPG ve KCN testleri (+) olanlar <i>S.bongor</i>		Altgrup 2 suşları <i>S.salamae</i> Altgrup 3a suşları <i>S.arizone</i> Altgrup 3b suşları <i>S. diarizonae</i> Altgrup 4 suşları <i>S.houtenae</i> Altgrup 5 suşları <i>S.bongori</i> Altgrup 6 suşları <i>S.choleraesuissubsp indica</i>

Kauffman-White şemasında *Salmonella*'lar şu şekilde gösterilmiştir; O antijenleri, Vi antijeni:H antijeni faz 1 antijen(ler) i: faz 2 antijen(ler) i (varsa Olmayan faz için - işa-

reti konur. Aynı serotipin bazı suşlarında bulunmayan antijenler ise () parantez içinde ve altı çizilerek gösterilir (Ustaçelebi, 1999). Ör. *Salmonella typhi* için 4,5,12:i:1,2 dir.

Belirli *Salmonella* serotiplerinin Kauffman-White şemasına göre antijenik formülleri Tablo 2’de verildi.

Tablo 2. Belirli *Salmonella* serotiplerinin Kauffman-White şemasına göre antijenik formülleri (Ustaçelebi, 1999’dan)

Serogrup	Serotip	O Ag	H 1. Ag Faz	H2 .Ag Faz	Antijenik Formül
A	<i>S. paratyphi A</i>	1, 2, 12	A	(1, 5)	<u>1</u> , 2, 12 : a : (1, 5)
B	<i>S. paratyphi B</i>	1, 4, (5), 12	B	1, 2	1, 4, (5), 12 : b : 1, 2
B	<i>S. typhimurium</i>	1, 4,(5), 12	I	1, 2	<u>1</u> , 4,(5), 12 : i : 1, 2
C	<i>S. choleraesuis</i>	6, 7	(c)	1, 5	6, 7 : (c) : 1, 5
C2	<i>S. newport</i>	6, 8	e, h	1, 2	6, 8 : e, h : 1, 2
D1	<i>S. typhi</i>	9, 12, (vi)	D	-	9, 12, (vi) : d : -
D2	<i>S. enteritis</i>	1, 9, 12	g, m	(1, 7)	<u>1</u> , 9, 12 : g, m : (1, 7)
E1	<i>S. anatum</i>	3, 10	e, h	1, 6	3, 10 : e, h : 1, 6
E2	<i>S. newington</i>	3, <u>15</u>	e, h	1,6	3, <u>15</u> : e, h : 1,6
E3	<i>S. minneapolis</i>	3, <u>15</u> , 34	e, h	1,6	3, <u>15</u> , 34 : e, h : 1,6

Ag:Antijeni

Salmonella isimlendirmesinde cins isimleri büyük harfli ve italik, tür isimleri italik, alttür isimleri italik yazılır (Su ve Chiu, 2007). *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ‘nın serovarları italik yazılmaz ve baş harfi büyük yazılır. Ör.*Salmonella enterica* subsp. *enterica* Typhimurium veya *Salmonella* Typhimurium olarak yazılabilir.

Tifo dışı sıklıkla karşılaşılan *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotipleri ve antijenik yapıları Tablo 3’de verildi.

Tablo 3.Tifo dışı sıklıkla karşılaşılan *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotipleri ve antijenik yapıları (THK standart no: B-MT-08, 2015'den)

Serogrup	Serotip	Antijenik Formül
D	<i>Salmonella</i> Enteritidis	1, 9, 12, g, m; -
B	<i>Salmonella</i> Typhimurium	1, 4, 5, 12; i ; 1,2
	<i>Salmonella</i> Agona	4, 12; f, g, s ; -
	<i>Salmonella</i> Heidelberg	1, 4, 5, 12; r ; 1,2
	<i>Salmonella</i> Saintpaul	1, 4, 5, 12 ;e, h; 1, 2
C	<i>Salmonella</i> Virchow	6, 7 ; r ; 1, 2
	<i>Salmonella</i> Infantis	6, 7 ; r ; 1, 5
	<i>Salmonella</i> Hadar	6, 8 ; z10 ; e, n, x
	<i>Salmonella</i> Newport	6, 8 ; e, h ; 1, 2
	<i>Salmonella</i> Kentucky	8, 20 ; i ; z6
	<i>Salmonella</i> Corvallis	8,20 ; z4, z23 ; (z6)
E	<i>Salmonella</i> Seftenberg	1, 3, 19 ; g , (s), t; -

Salmonella alt tür I'in serotiplerine antijenik formülün yanı sıra ilk bulunduğu coğrafik bölge ile ilgili adlandırma kullanılır (Popoff, 2001). Diğer alt türlerdeki serotipler tür adından sonra antijenik formülleri yazılarak düzenlenir. Örneğin *Salmonella* serotip II 50:z:e,n,x (Murray, 2009). Hala klinisyenler bile *Salmonella* isimlendirilmesine yabancıdır (Su ve Chiu, 2007). Başlangıçta her serotip ayrı bir tür olarak kabul edilmiştir. Bugün Kauffman-White şemasına göre tanımlanmış 2400 tane *Salmonella* serotipi vardır (Koneman's, 1997).

Tifo ve Paratifo etkeni olarak sıklıkla karşılaşılan *Salmonella* serotipleri ve antijenik yapıları Tablo 4'de verildi.

Tablo 4. Tifo ve Paratifo etkeni olarak sıklıkla karşılaşılan *Salmonella* serotipleri ve antijenik yapıları

(THK standart no: B-MT-08, 2015'den)

Serogrup	Serotip	Antijenik formül
D	<i>Salmonella</i> Typhi	9,12,Vi ; d ; -
A	<i>Salmonella</i> Paratyphi A	1,2,12; a ; 1,2
B	<i>Salmonella</i> Paratyphi B	1, 4, 5, 12 ; b ; 1, 2
C	<i>Salmonella</i> Paratyphi C	6, 7, V ; c ; 1,5

2.1.5. Virülans Faktörleri

Yüzey Antijenleri

O somatik antijeni karbonhidrat yapısındadır. Alkol ve ısıya dirençlidir. Hücre duvarındaki LPS (lipopolisakkarit) dış komponentidir. Herbir O alt ünitesi dört ile altı şekerden oluşur. O alt ünitesi antijenik faktörlere göre O serogruplarını belirler. O grubu harflerle ve sayılarla gösterilir (Ör. *Salmonella enteritis* O:9 grubuna veya D grubuna aittir). Tanımlamada A'dan E₁ e kadar O grup antiserumları kullanılır (Murray, 2009).

H antijeni (flajellin) protein yapısındadır. Çok sayıda flajellin yapısı biraraya gelip flagellar filamentini meydana getirir. Antijenik olarak değişen kısmı yüzeye açılan kısmıdır. *S. Typhi* ve *S. Enteritis*'te tek flajeller antijen varken diğer *Salmonella*'larda iki farklı flajeller antijen vardır. Bunlar iki farklı yapıda kirpik oluştururlar (Ustaçelebi, 1999). Bu antijenleri sunma şekline göre monofazik ve difazik suşlar belirlenir. Her flajeller antijen çoklu antijenik faktörlerden oluşur. Tanımlamada broth kültürü ve tüp aglütinasyonu kullanılır. İlk olarak H tiplendirme antiserumları ile test edilir. Broth kültürde, suş antijenini belirlemek için aynı anda steril faz antiserumlardan biri eklenir ve üreme durdurulur. Üremesi belirginleşen diğer faz antijeni sunan hücreler tespit edilir. Broth kültürdeki harekette belirleyicidir (Murray, 2009).

Vi antijeni N-asetilglukozamin üronik asitten oluşmuş polisakkarit yapıda, kapsüller antijendir. *Salmonella* Typhi identifikasyonunda önemlidir. *Salmonella* Typhi şüpheli izolatlarda önce O grup D antiserumla ve Vi antiserumla lam aglütinasyonu yapılır. Vi antiserumla pozitif sonuç verip, O antiserumu negatif sonuç verebilir (Murray, 2009). Çünkü Vi kapsüller polisakkaridi yüzeysel somatik antijen olup, O grup antijenleri örter (Ustaçelebi, 1999). Bu yüzden bakteri süspansiyonu 15 dak. kaynayan suda ısıtılıp, kapsüller yapısı ortadan kaldırılmalı ve O antiserumları ile tekrar test edilmelidir (Murray, 2009).

Dokuya Girişi Sağlayan Faktörler

Salmonella bakterisinin konak organizma yüzeyindeki reseptörlere bağlanması ve hücreye girişi O antijeninin yan zinciri ile olur. Bu yan zincir yapısı serotipleri belirler. Ayrıca yan zinciri olan S koloni tipli suşlar daha virülandır. *Salmonella*'ların bazısında bulunan fimbria da bakterinin hücreye tutunmasını ve virülansını artırır (Murray, 2009).

Endotoksinler

Salmonella'ların hücre duvarındaki LPS'de bulunur. LPS molekülünün polisakkarit kısmı O antijenini yapar. Lipid A kısmı toksiktir. Endotoksinler buldukları kişide lökopeni, ateş, hipoglisemi ve letal şok tablosu oluşturur (Bilgehan, 2004).

Enterotoksinler

Salmonella suşlarında ısıya duyarlı ve dirençli enterotoksinler vardır (Bilgehan, 2004).

Sitotoksinler

Enterit tablosu oluşturan toksinlerdir. *Salmonella enteritis* ve *Salmonella choleraesuis* bol miktarda enterotoksit salgılayarak enterit oluşturur (Bilgehan, 2004). *Salmonella* Typhi suşları sitotoksin az salgılamasına rağmen Vi antijeni taşıdığı için daha virülandır. Vi antijeni C₃'ün bakteriye tutunmasına engel olup, nötrofillerce fagositoz edilmesini engeller. Ayrıca makrofaj içinde hidrojen peroksidin sitolitik etkisini yok edip, bakterinin hücre içinde canlı kalmasını sağlar. *Salmonella*'lardaki enterotoksin, sitotoksin ve endotoksinler bağırsakta inflamasyon, nekroz, kanama ve kolit yapar (Ustaçelebi, 1999).

Salmonella'ların konak organizmadan demir sağlamak için sentezledikleri sideroforlarda virülansı artırır (Ustaçelebi, 1999).

Salmonella bakterisinin diğer önemli virülans faktörleri alternatif sigma faktör σ (RpoS) regülatörü ile adaptif aside tolerans yanıtı (ATY)'dır. Bu virülans faktörleri; enfeksiyonun intestinal fazında, mide asiditesi, safra tuzu, mukus antimikrobiyal peptidler, yetersiz oksijeni gibi olumsuz çevresel koşullar altında, bakterinin fagozom veya fagolizom içinde canlılığını sürdürebilmesini sağlamaktadır (Sırıken, 2013).

2.1.6. Patogenez

Salmonella hücre içi yerleşim gösteren patojen bakteridir. Makrofajlara, dendritik ve epitelyal hücrelere invazyon yapar. Gastrik asite karşı tolerans gösterir (Sırıken, 2013). Vücuda alınmasından 7-14 gün sonra bağırsak boşluğundaki epitelial hücre, dendritik hücre ve makrofajlar tarafından alınır. Bu hücrelere invazyon yaparak submukozaya geçerler. Mideden sonra ince bağırsak mukozasındaki peyer plaklarında bulunan M (mikro kıvrım) hücreleri ve enterositlerin içine girerler. Endositik vakül içinde çoğalırlar. Makrofaj içinde mezenterik lenf bezlerine gelip çoğalırlar, kana karışırlar. Karaciğer, dalak ve kemik iliği makrofajlarına tutunup, çoğalırlar. Tekrar tekrar çoğalıp kana karışırlar (Ustaçelebi Ş, 1999). Peyer plaklarında ülser ve nekrozlar oluştururlar. Bakteri diyare şeklinde dışarı atılır (Ustaçelebi, 1999).

Enfeksiyon oluşturması için ağız yoluyla 10^6 - 10^8 bakteri alınmalıdır. Enfeksiyon oluşturması; alınan bakteri sayısına, *Salmonella* serotipine, virülansına ve konağın savunmasına bağlıdır (Ustaçelebi, 1999). *Salmonella*'lar hücre içine invazyon ve makrofaj içinde çoğalmaları sırasında, lizozomal enzimler, reaktif oksijen radikalleri, hidrojen peroksit ve savunma sisteminin elemanları gibi birçok olumsuz koşul ile karşılaşmaktadırlar. Olumsuz koşulları aşip, bakterinin enfeksiyon oluşturabilmesi için bir dizi gen ekspresyonuna gereksinimi vardır (Sırıken, 2013). İnvazyondan, hücre içinde canlılığını sürdürebilmesinden ve ekstra intestinal yayılımdan sorumlu olan virülans faktörlerini kodlayan genler *Salmonella* patojenite adaları (SPA) içinde yer alır. SPA'nın horizontal gen transferi ile kazanılmış olduğu düşünülmektedir. Patojenite adalarının bazıları *Salmonella* cinsi içinde korunmuş olarak bulunurken, bazıları sadece belli serotiplere özgüdür. *Salmonella* serotipleri arasındaki virülans faktörleri ve enfeksiyonlarının şiddeti açısından farklılıklar SPA'nın bakteride bulunması ve özelliklerine göre değişir. SPA-1 ve SPA-2'de *Salmonella* enfeksiyonları-

nın intestinal fazını kapsayan virülans genler yer almaktadır. *Salmonella* virülans gen kümeleri 12 tane patojenite adası içinde yerleşim göstermektedir. Diğer SPA'lar içinde bakterinin hücre içinde canlılığını sürdürmesini, çoklu antibiyotik direncini ve sistemik enfeksiyon oluşumu için gerekli olan virülans faktörlerini kodlayan genler bulunmaktadır (Sırıken, 2013).

Patojenite adası I (PAA I); *Salmonella*'nın saldığı invazyon proteinleri (Ssps) ve proteinleri konakçı hücre sine enjekte eden tip III sekresyon sistemini kodlar (Sırıken, 2013).

Patojenite adası II (PAA II); bakterinin konakçı immün sisteminden kaçmasına izin veren ve bu fonksiyon için ikinci bir tip III sekresyon sistemini sağlayan genleri içerir. Enfeksiyonda inflamatuvar yanıt *Salmonella* enfeksiyonunu gastrointestinal kanalda sınırlar, prostaglandinleri salgılatır, c-AMP ve aktif sıvı sekresyonunu uyarır (Sırıken, 2013).

2.1.7. Epidemiyolojisi

Bulaş fekal - oral yolla olur. İnsanlara bulaş kümes hayvanları ve ürünleri özellikle yumurta aracılığıyla olur. Salmonellozlu hasta ve taşıyıcılar dışkı ve idrarları ile bol bakteri atarlar (Bilgehan, 2004). Enfeksiyonun görülme sıklığı yaz ve sonbahar aylarında en yüksek düzeydedir. Yapılan bir çalışmada *Salmonella* bakterisi görülme oranının ilkbahar da gösterdiği artışın sonbahara kadar sürdüğünü göstermiştir (Gülmez ve ark., 2012).

Salmonella alttür I suşları insanlardan ve sıcakkanlı hayvanlardan izole edilir. Alt tür II, IIIa, IIIb, IV suşları ve *Salmonella bongori* soğukkanlı hayvanlardan ve çevreden izole edilir. *Salmonella* Typhi ve Paratyphi mutlak insan patojenidir. Başka rezervuarı yoktur. Diğer *Salmonella* serotiplerinin aksine safra kesesinde sağ kalabilir. Kronik taşıyıcılık oluşturabilir. Bu enfeksiyonlar insandan insana geçer. *Salmonella* hem insanlarda hem de insan dışı konakçıda hastalığa sebep olur, konak özgülüğü yoktur (Murray, 2009).

WHO verilerine göre gıda kaynaklı enfeksiyonların %25'i yetersiz hijyen, kontamine ekipman, kontamine gıda işleyicileri gibi faktörlere bağlı olarak işleme, taşıma ve saklama gibi aşamalarda ki çapraz kontaminasyona bağlıdır (Chen ve ark, 2013).

Salmonella Typhi enfeksiyonları için enfeksiyöz doz düşüktür. İnsandan insana yayılım sıklıdır. Diğer *Salmonella* serotiplerinin hastalık oluşturabilmesi için bol bakteriye (10^6

-10⁸ bakteri) ihtiyaç vardır. Eğer kontamine olmuş gıda uygun olmayan şekilde saklanırsa (oda sıcaklığında bekletilirse) organizma çoğalarak bu yoğun miktara ulaşabilir. Çocuk ve yaşlılarda, lösemi, lenfoma, orak hücre hastalıklarına bağlı immunsupresif hastalarda ve düşük gastrik asiditeye sahip olan kişilerde enfeksiyöz doz daha düşüktür (Chen ve ark, 2013). *Salmonella* türleri arasında en sık görülen türün *Salmonella* Enteritidis olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Ülkemizde Erdem ve ark.(2004)'nın yaptığı çok merkezli bir çalışmada da en sık gözlenen serovar % 47,7 ile *Salmonella* Enteritidis, ikincisi %34,7 ile *Salmonella* Typhimurium olarak saptanmıştır. *Salmonella* Typhi %2,9 oranında bulunmuştur (Erdem ve ark., 2004).

UEPLA kapsamında 2007-2011 yılları arasında yapılan bir çalışmaya katılan laboratuvarlarda da en fazla *Salmonella* bakterisi izole edilmiştir. *Salmonella* serotipleri sıklık sırasına göre S. Enteritidis (%65,7), S. Typhimurium (%6,1) ve S. Paratyphi B (%5,7) olarak sıralanmıştır (Levent ve ark.22 nd ECCMID, 2012). Dolunay Gülmez ve arkadaşlarının çalışmasında da en sık görülen serogrup %61,4 ile *Salmonella* Enteritis olmuştur (Gülmez ve ark., 2012).

2.1 8. Klinik

Salmonella 'lar gastroenterit, enterik ateş, bakteremi, sepsisemi, hafif ya da orta şiddette gıda zehirlenmeleri, kronik asemptomatik taşıyıcılık yapar. Hastalığın tipi ve derecesi konağın duyarlılığına ve suşun virülansına bağlı olarak değişim gösterir. *Salmonella*'ların dışkıdan atılımı 5 hafta kadar sürer. Bakterimiyemi %5-10 oranında görülür (Chen ve ark, 2013).

Gastroenterit

Genellikle *Salmonella* Enteritis ve *Salmonella* Typhi sebep olmaktadır (Ustaçelebi, 1999). Gastroenteritin semptomları kontamine gıda ya da suyun tüketiminden 6 ile 48 saat sonra başlar. Bulantı, kusma, kansız ishal, ateş, miyalji, başağrısı ve abdominal kramplar ve hastalığın akut döneminde kolon tutulumu olur (Bilgehan, 2004).

Sepsisemi

Genelde *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi ve *Salmonella choleraesuis* türleri bakteriyemi yapabilir (Ustaçelebi, 1999). *Salmonella* bakteriyemisinin immün

sistemi baskılanmış hastalarda, çocuklarda ve yaşlılarda görülme olasılığı yüksektir. *Salmonella*'lar bakteriyemi yanında lokal süperatif enfeksiyonlar (osteomyelit, endokardit, artrit gibi) geliştirebilir (Bilgehan, 2004).

Enterik Ateş

Salmonella Typhi tifo ateşi olarak adlandırılan ateşli bir hastalık etkenidir. Paratifo ateşi ise hastalığın daha hafif bir şekli olup, *Salmonella* Paratyphi A, *Salmonella* Schottmuelleri (önceden *Salmonella* Paratyphi B) ve *Salmonella* Hirschfeldii (önceden *Salmonella* Paratyphi C) tarafından oluşturulur (Murray, 2009). Bakteri alındıktan sonra bağırsak hücrelerinden lenf organlarına geçer. Plazma hücreleri ve monosit içerisinde çoğalıp, parçalanıp, karaciğer, dalak ve kemik iliği gibi organlara taşınır. Safra yollarına yerleşir. Oradan bağırsaktaki peyer plaklarında ülser ve nekrozlar oluşturur. Baş ağrısı, miyalji, yorgunluk ve iştahsızlık gibi şikayetler ve gastrointestinal semptomlar başlar (Bilgehan, 2004). Enterik ateş ciddi bir klinik hastalıktır ve hastalığın endemik olduğu ülkelere seyahat etmiş olmak riski arttırır (Murray, 2009).

Asemptomatik Kolonizasyon

Bir yıldan kısa süren taşıyıcılık geçici, bir yıldan uzun süren taşıyıcılık kronik taşıyıcılıktır. Tifo ve paratifo ateşinden sorumlu *Salmonella* suşlarının % 3'ü insanda kolonize olmaya devam edebilir. Safra kesesi de rezervuardır. Taşıyıcılık 40-60 yaş ve kadınlarda daha siktir (Bilgehan 2004). *Salmonella* taşıyıcılığında CİP ve NOR 5-7 gün kullanılır (Andriole, 1998).

2.1.9. Laboratuvar Tanısı

Örneklerin Toplanması

Hastadan dışkı örneği steril, temiz ve kuru bir kap içine alınır. Kültür için gönderilen taze dışkı taşıma besiyeri içinde değilse, laboratuvara kısa sürede ulaştırılmalı ve 2 saat içinde işleme tabi tutulmalıdır. Eğer dışkı taşıma besiyeri içinde ise buzdolabında 4 °C de saklanıp, 24 saat içinde laboratuvara gönderilir. Laboratuvar istem formundaki bilgi ile örnek etiketi uyusmalıdır. Örnek teslim alındığında sıvı, şekilli, katı veya kanlı olursa belirtilmelidir. Aynı gün içerisinde aynı hastadan birden fazla dışkı örneği alınmamalıdır.

Dökülmüş saçılmış karışmış, etiketsiz ve yukarıda belirtilen şartlara uymayan örnekler laboratuvara kabul edilmez (Çıragil, Başustaoğlu ve Yıldırım, 2007).

Örneklerin Ekimi

Dışkı örneklerinden *Salmonella* izolasyonunda hafif seçiciden yüksek seçiciye değişen plak besiyerleri kullanıldı. Düşük seçicilikte besiyerleri Mac Conkey agar (MAC) ve Eozin Metilen Mavisidir (EMB). Mac Conkey agar içeriğindeki kristal viyole ve safra tuzları ile gram pozitif mikroorganizmaları baskılayan, gram negatif enterik patojenlerin iyi üremesine ve koloni görünümleri ile ayırt edilmesine izin veren düşük seçici özellikte bir besiyeridir (Ustaçelebi, 1999; Murray, 2009). Orta derecede seçici besiyerleri XLD, desoxycholatecitrate agar, Salmonella-Shigella agar ve HE'dir. Yüksek seçici besiyerleri bizmut sülfid agar ve brillant green agardır. XLD, bizmut sülfid agar ve HE Salmonella saptanmasında kullanılan H₂S indikatörüne sahip besiyerleridir (Ustaçelebi, 1999).

Salmonella spp. şüpheli koloniler için kullanılan plaklarda beklenen koloni görünümleri aşağıda listelendi:

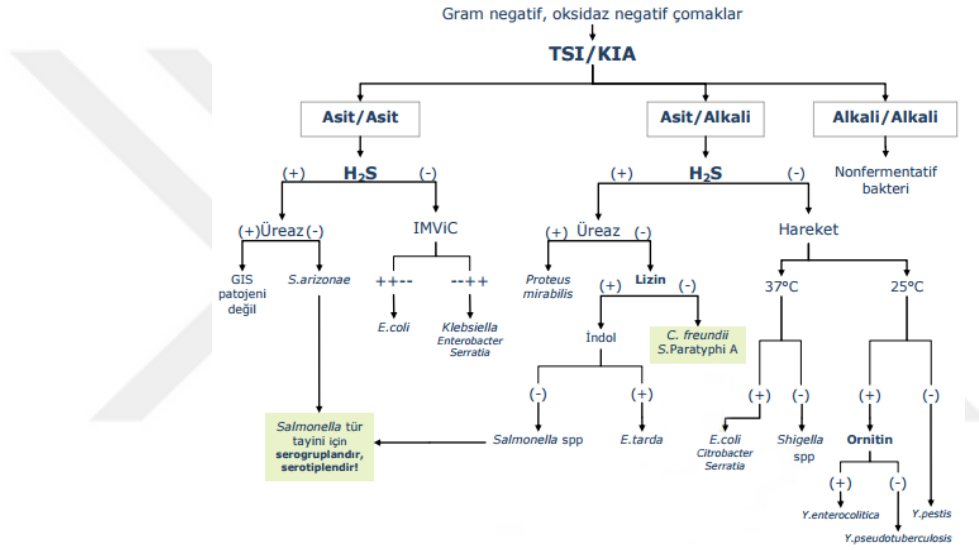
- (a) MAC (veya EMB) agar; şeffaf ve renksiz koloniler
- (b) XLD agar; siyah merkezi olan (H₂S oluşturan) koloniler. Bazı *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A, *Salmonella* Pullorum, *Salmonella* Gallinarum serotipleri siyah merkezi olmayan koloniler oluşturabilirler.
- (c) SS agar ; siyah merkezi olan (H₂S oluşturan) koloniler
- (d) HE agar ; siyah merkezi olan (H₂S oluşturan) koloniler
- (e) Selenite broth(THSK, standart no: B-MT-08, 2015)

Zenginleştirme işlemi için dışkı örneklerinde *Salmonella* bakterisini yakalama olasılığını artırmak için yüksek selektifli sıvı zenginleştirme besiyeri kullanılmıştır. Dışkı örneklerinden *Salmonella* izolasyonunda tetrahionat broth, brillant green ve selenite broth seçici zenginleştirici besiyeri olarak kullanılmıştır. Akut dönemdeki hastalardan alınan örnekler, zenginleştirme besiyerine ekilmeden direkt plak besiyerine ekilebilir (THSK standart no: B-MT-08, 2015).

İdentifikasyon yöntemlerinden olan morfolojik ve biyokimyasal identifikasyonda üremeler 24 saat sonra değerlendirilir. *Salmonella*'lara özgü seçici besiyerindeki şüpheli

kolonilerden TSİ veya KIA gibi besiyerlerine ekim yapılır. 35-37°C de 4-6 saat inkübe edilir. *Salmonella* suşlarının birçoğu bu besiyerlerinde asit/alkali, gaz (+) reaksiyon gösterir ve glikozu gaz üreterek fermente ederler (Baron ve ark., 1994; Ustaçelebi, 1999). Lysine iron agar da önemli bir tarama testidir. Çünkü *Salmonella* suşları lysini dekarboksile ederler ve H₂S meydana getirirler (Murray, 2009).

Tanımlama için Şekil 2 'de verilen akış şemasından yararlanılır.



Şekil 2. *Salmonella* spp. tanısında biyokimyasal tanımlama testlerine ait şema (THSK, standart no: B-MT-08, 2015).

Serolojik identifikasyon, kültürde üreyen bakterinin biyokimyasal tanımlaması için yapılır. Bundan sonra uygun polivalan ve monovalan antiserumlarla serogrup/serotip tayini için lam aglütinasyon testi uygulanır. Kauffmann-White Şeması üzerinden bakterinin O (somatik), H (flajel) ve Vi (kapsüler) antijenleri formülize edilir ve serogrup / serotip tayin edilir (Baron ve ark., 1994). İzolatların O serogrubunun belirlenmesi *Salmonella* olarak değerlendirilmesi için yeterlidir. Yalnızca biyokimyasal tiplendirme veya yalnızca serogrup tespitine dayalı sonuç tanı için geçerli kabul edilmez (Baron ve ark., 1994; THSK, standart no: B-MT-08, 2015).

Enterik ateş tanısında ilk önce kan kültürü alınır. Hastalığın evresine göre dışkı, idrar gibi klinik örneklerden etken olan *S. Typhi* (ya da Paratifo etkenlerinin) izolasyon ve tanımlanması yapılır. *Salmonella* serotip Typhi'nin O ve H antijenlerini ile aglütine olan antikorları ölçen Grubel-Widal testi antikorların özgül olmayan nedenlerle de yükselme olasılığı nedeniyle etkeni tam olarak belirleyemez (THSK, standart no: B-MT-08, 2015). Tam olarak serotipin belirlenmesi referans laboratuvarları tarafından yapılır (Murray, 2009). *Salmonella* ile ilgili kültürler ve tanımlama işlemleri asgari BGD 2 laboratuvar şartlarında, mutlaka sertifikalı bir sınıf-IIA BGK içinde yapılmalı ve sertifikalı serolojik kit kullanılmalıdır (THSK, standart no: B-MT-08, 2015).

Salmonella'lar laboratuvarında üretilmeleri durumunda yetkili makamlara bildirilmesi zorunlu olan D grubu bildirim zorunlu hastalıklar grubuna girmektedir. Bildirim sistemine ek olarak, Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağı (UEPLA) kapsamında, seçilmiş merkezlerde farklı klinik örneklerden üretilen *Salmonella*'lar Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (eski adıyla Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi) Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarı'na gönderilmekte ve burada ayrıntılı tiplendirmeleri yapılmaktadır (Gülmez ve ark., 2012). *Salmonella* izolatları Referans Laboratuvarlarında O (somatik) antijeni, H (flageller) antijeni ve Vi (kapsüler) antijeninin belirlenmesine göre serotiplendirilir (Ustaçelebi, 1999; THSK, standart no: B-MT-08, 2015).

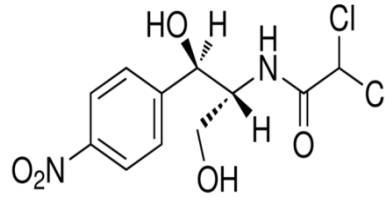
2.1.10. *Salmonella* Enfeksiyonlarında Tedavi

Salmonella'ların sebep olduğu enterit için antibiyotik tedavisi önerilmez. Fekal izolatlarda rutin duyarlılık testleri tedavi için bakılmaz. Fakat direnç paternlerinin belirlenmesi sürveyans çalışmalarında değerlidir (Baron ve ark., 1994; Murray, 2009). Tedavi gerektiren olgular invaziv enfeksiyonlar, çocuklar, yaşlılar ve bağışıklık yetmezliği olan kişilerdir (Chen ve ark., 2013). *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi ve diğer bakteriler ile gelişen yaygın enfeksiyonlar mutlaka antibiyogram yapılarak seçilmiş uygun bir antibiyotik ile tedavi edilmelidir. *Salmonella* Typhi ve *Salmonella* Paratyphi taşıyıcıları da belirlenip, tedavi edilmelidir (Murray, 2009). *Salmonella* tedavisinde kloramfenikol, karbapenem, trimetoprim-sülfametoksazol, geniş spektrumlu bir sefalosporin ve florokinolonlar kullanılır (Baron ve ark, 1994; Chen ve ark, 2013). *Salmonella* serotiplerinde özellikle

Salmonella Typhi'de antibiyotiklere azalmış duyarlılık ve tedavi başarısızlığı endişe vericidir (Murray, 2009).

Kloramfenikol

Kimyasal yapı olarak dikloroasetik asit grubu içeren benzen türevidir. Bakterilerin protein sentezini inhibe eder (Leblebicioğlu, 2003). Şekil 3'de görüldüğü üzere yapısında nitrobenzen halkası içermektedir (Murray, 2009).



Şekil 3. Kloramfenikol yapısı (Ustaçelebi, 1999'dan)

Kloramfenikol protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki göstermektedir (Murray, 2009). Bunu ribozomun 50 S ünitesine bağlanarak yapmaktadır. Peptidiltransferaz enzimini inhibe etmekte ve bakteri transpeptidaz işlemi yapamamaktadır.

Antimikrobiyal aktivite olarak geniş spektrumlu ilk antibiyotiklerdendir. Gram negatif ve pozitif birçok bakteri yanında riketsiya, mikoplazma, klamidya ve spiroketlere de etkilemektedirler (Leblebicioğlu, 2003). *Salmonella enterica* serovar Typhi ve diğer *Salmonella*'lara duyarlıdır (Murray, 2009).

Kloramfenikol topikal, oral ve parental yolla alınır. Vücutta her organa dağılır (Leblebicioğlu, 2003). Karaciğerde inaktive olur ve idrarla atılmaktadır. Yarılma ömrü 4 saattir (Murray, 2009). Toksikitesi yüksektir. Tifo ve Paratifo'da hala önemlidir. Fakat diğer *Salmonella* enfeksiyonuna bağlı gastroenteritte kloramfenikol yerine florokinolonlar, ampisilin ve trimetoprim-sülfametoksazol tercih edilmektedir. Tifo taşıcılığında ise kullanılmaz (Leblebicioğlu, 2003).

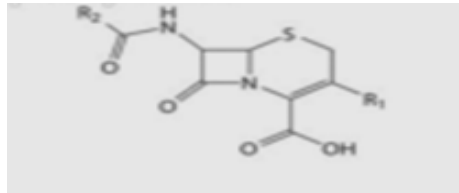
Kloramfenikale direnç mekanizmaları; bakteri kromozomuna bağlanmada değişiklik, nitroredüksiyon ve asetilasyonla inaktivasyon, hücre duvarından antibiyotik geçişinin azalması ve aktif pompalama atımından oluşmaktadır (Leblebicioğlu, 2003). Enterik bakte-

rilerdeki direnç plazmid aracılı *cat* geni aracılığı ile olur ve bakteriler arasında aktarılmaktadır. Bu gen kloramfenikolu inaktive eden asetiltransferaz enzimini salgılamaktadır (Murray, 2009).

Amerika'da *Salmonella* Typhi ve diğer *Salmonella*'lara karşı kloramfenikol direnci gözlenmiştir. Ülkemizde *Salmonella* Typhi'de kloramfenikol direnci görülmemiştir. Fakat *Salmonella* B grubunda % 20 oranında direnç vardır (Leblebicioğlu, 2003). 1970'li yılların başında beş yıl içinde Hindistan, Vietnam, Endonezya, Kore, Şili, Meksika ve Bangladeş'de *Salmonella*'da plazmid aracılı kloramfenikol direnci bulunmuştur (Harish ve Menezes, 2011).

Sefalosporinler

Kimyasal yapı olarak sefalosporinler beta laktam halkası ve dihidrothiazin halkasından oluşan 7-aminosefalosporanik asit çekirdeğine sahiptir (Şekil 4). Ayrıca sefalosporinler *Cephalosporium acremonium* bakterisinin fermentasyon ürünüdür. Kimyasal yapısındaki 3. ve 7. pozisyonda olan değişikliklerle mikrobiyal aktiviteleri farklılaşmaktadır (Murray, 2009).



Şekil 4. Sefalosporinler yapısı (Anonim 2016 b)

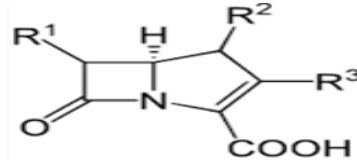
Etki mekanizması olarak penisilinlerden tiazolidon halkası yerine dihidrothiazin halkasının (sefem çekirdeğinin) bulunmasıyla ayrılmaktadır. Penisilin bağlayıcı proteinlere bağlanarak, hücre duvar sentezini engeller ve bakteriyi öldürmektedir (Leblebicioğlu, 2003). Ayrıca hücre zarındaki otolitik enzimleri etkileyerek, bakterisidal etki yapmaktadır (Murray, 2009). Sefalosporinler parenteral ve oral olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Parenteral sefalosporinler metabolik, mikrobiyolojik ve farmakolojik özelliklerine göre birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü kuşak olmak üzere dörde ayrılmaktadır.

Antimikrobiyal aktiviteleri kuşak sayısı arttıkça gram pozitif etkinlik azalırken, gram negatif etkinlik artmaktadır. Üçüncü kuşak sefalosporinler Enterobacteriaceae ailesini etkilemektedir. Sefalosporinlerin bu etkinliği beta laktamazlara dayanıklılıklarından ve gram negatif basillerin hücre duvarından kolayca geçmelerindedir (Murray, 2009). Sefalosporinler geniş spektrumu, yan etkilerinin azlığı nedeniyle yaygın kullanılan antibiyotiklerdir (Leblebicioğlu, 2003). Sefalosporinlerin genelde parenteral formları kullanılmaktadır. Plesantaya, synovial, plevral, perikardial ve peritoneal sıvıya geçmekte ve safradan atılmaktadır (Murray, 2009).

Sefalosporinlere direnç beta-laktamaz yapımı, hücre duvar geçirgenliğinin azalması ve PBP'lerdeki değişim sonucu gelişmektedir (Leblebicioğlu, 2003).

Karbapenemler

Kimyasal yapı olarak beta laktam sınıfında olup diğer beta laktamlardan farklı olarak 6. pozisyonundaki trans konfigürasyonda hidroksietil yan zinciri vardır ve bisiklik nükleusta oksijen veya sülfür atomu eksiktir (Şekil 5). Hidroksi yan zincir beta laktamazlara dayanıklılığı sağlamaktadır (Murray, 2009).



Şekil 5. Karbapenem yapısı (Anonim 2016 c)

Karbapenemler hücre duvar sentezini inhibe eden, tek bir beta laktam molekülü bulunduran bir beta laktamadır. Penisilini bağlayan proteinlerle bağlanmakta ve hücre lizisine neden olmaktadır.

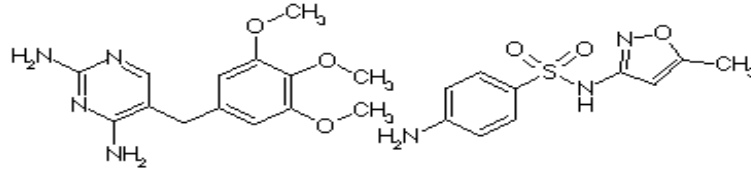
Antimikrobiyal aktivitesi en geniş spektrumu olan antibiyotiktir. Enterik, nonenterik, gram negatif bakterilere, anaerobik bakterilere ve beta laktamaz salgılayan bakterilere

de etkili geniş spektrumlu antibiyotiktir. Karbapenemler oral yoldan alınmaz, damar yoluyla alınmaktadır. Vücut sıvılarında yayılmaktadır. Toksikiteeri düşüktür (Leblebicioğlu, 2003).

Karbapenemler bakterilerin periplazmik boşluğuna membran porinleri (OprD) aracılığı ile geçmektedir. Direnç bu porin proteinlerin değiştirilmesi ile antibiyotiğın hücreye alınmasının engellenmesiyle oluşmaktadır (Leblebicioğlu, 2003). Diğer direnç ise karbapenemazların (metallo-beta laktamazlar) üretilmesiyle olmakta ve karbapenem nükleusun inhibe etmektedir (Murray, 2009). 2010 yılında karbapenem dirençli *S.Typhimirum* türü idrar yolu enfeksiyonundan elde edilmiştir (Su ve Wu, 2012).

Trimetoprim-Sülfametoksazol (TMP-SMZ)

Bakteriler nükleik asit sentezi için gerekli olan folik asiti kendisi yapar. Paraaminobenzoik asit (PABA) folik asitin sentezinde ön maddedir (Leblebicioğlu, 2003). Kimyasal yapı olarak (Şekil 6) paraaminobenzoik asite benzeyen sulfanilamide derivesidir (Murray, 2009). TMP-SMZ enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ilk antibiyotik grubu olan sülfonamidler içinde kullanılmaktadır (Leblebicioğlu, 2003).



Şekil 6. Trimetoprim-Sülfametoksazol (TMP-SMZ) yapısı (Anonim 2016 d)

TMP bakteriyal dihidrofolat redüktazı, sülfonamidler ise dihidrofolat enzimini inhibe etmektedir. Folat metabolizmasındaki inhibisyonundan dolayı bakteri DNA sentezi engellenmektedir (Murray, 2009).

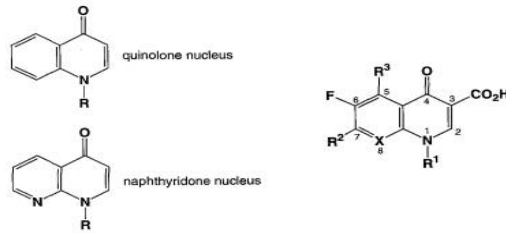
TMP-SMZ kronik *Salmonella* taşıyıcılığını elimine etmede kullanılmaktadır (Leblebicioğlu, 2003). Türkiye’de TMP-SMZ şeklinde kombine preparatları kullanılmaktadır. Gram negatif ve gram pozitif birçok bakteriye bakterisidal etkisi bulunmaktadır (Leblebicioğlu, 2003).

Trimetoprim direnci hücre geçirgenliğinin değişmesi, bakterilerin ilaç bağlama kapasitelerinin azalması ve dihidrofolat redüktaz enziminin aşırı üretimiyle oluşmaktadır. Plazmid aracılı dihidrofolat redüktaz üretimi de önemli bir direnç mekanizmasıdır. Enterobacteriaceae ailesinde görülmektedir (Hooper ve Jacoby, 2015).

2.2. Kinolonlar

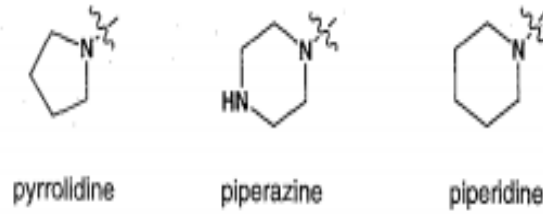
2.2.1. Kimyasal Yapısı

Kinolonlar sentetik olarak elde edilmiş kimyasal maddelerdir. Antibakteriyal etkili kemoterapötiklerdir. Bu yüzden antibiyotik olarak kabul edilmezler (Hooper, 2010). Şekil 7’de görüldüğü üzere birinci pozisyonda nitrojen (N), 3. Pozisyonda karboksil ve 4. karbon atomunda çift bağla bağlanmış oksijen (O) içeren iki halkadan oluşan temel kinolon çekirdek yapısı bulunmaktadır (Nazik ve Öngen, 2010). Kinolon çekirdeği 8. pozisyonunda karbonun yerine nitrojen bulunmasıyla naphthridone çekirdeğine dönüşmektedir (Andriole, 1998).



Şekil 7. Kinolonların genel yapısı (Andriole VT, 1998’den)

Kinolonların antibakteriyal aktiviteleri için pyrodine halkasına ihtiyaç duymaktadır (Şekil 8). Genel yapısında da 3. pozisyonda karboksilik asit, 4. pozisyonda keton yapısı ve 1. pozisyondaki nitrojende R¹ yapısı (siklik diamin halkaları) bulunmaktadır. C₂ pozisyonunda bir yapı bulunmaz; fakat bazen R¹ ile bir halka oluşturmaktadır. Kinolonların 6. pozisyonda flor bulunursa florokinolonlar olarak isimlendirilmektedir. Gram pozitif bakterilere karşı etkinliği artmaktadır. 7. pozisyonda R² (siklik diamin halkaları) yapısı yani piperazin yapısının olmasıyla gram negatif bakterilere karşı aktiviteleri artmaktadır. Yapısında 8. pozisyonda flor, klor, metoksi gibi çok küçük yapılar bulunabilmektedir (Andriole, 1998).



Şekil 8. Diamin halkaları (R1, R2, R3) (Andriole VT, 1998'den)

Kinolonların çekirdeğindeki N-1, C-6, C-7 ve C-8 yapısındaki değişikliklerle antimikrobiyal aktivitesi, farmokinetiği ve metabolik özelliklerde gelişmeler olmaktadır (Andriole, 2005). Yapısına piperazinil, metil piperazinil, dimetil piperazinil, pirolidinil, metoksi grubu gibi çeşitli yapılar katılarak yeni florokinolonlar türetilmiştir (Nazik ve Öngen,2010). Pozisyon C-6 daki değişikliklerle DNA giraz önleyici aktivite ve hücre içine giriş artmaktadır (Andriole, 2005). Pozisyon C-8'e ikinci flor eklenmesiyle hücre geçişi, fototoksitite artmakta ve yarılanma ömrü uzamaktadır. Pozisyon C-7'ye piperazin eklenmesi yarılanma ömrünü uzatmaktadır. C1-7 halkasının alkilasyonu aerobik gram pozitifliği arttırmaktadır. Aynı zamanda C1-7 piperazin halkasının uzak atomuna metil eklenmesi biyolojik aktiviteyi yükseltmektedir (Andriole, 2005).

Kinolonların yapısı Tablo 5'de verildi.

Tablo 5. Kinolonların yapısı (Andriole, 1998'den)

YAPISI	ADI	
1.Kuşak kinolonlar		
1,8 Naphthyridine (carboxylic acid)		
7-Methly	Nalidiksik asit	
6,7,8 yan zincir yapıları		N-1 yan zincir
2. Kuşak kinolonlar		
6-Fluoro-7-piperazinyl	Norfloksasin	Ethyl
	Pefloksasin	Ethyl
	Siprofloksasin	Cyclopropyl
	Ofloksasin	1-8(O)cyclic acid

İlk bulunan kinolon 1962 yılında NA olmuştur. Kinolonlar zamanla NA'nın kimyasal yapısındaki değişikliklerle, sentez edildikleri sıraya ve antimikrobiyal etkinliklerine göre birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü kuşak olarak sınıflandırılmıştır (Leblebicioğlu, 2002).

Kinolonların sınıflandırılması Tablo.6'da verildi.

Tablo 6. Kinolonların sınıflandırılması (Ulusoy, 2010'dan)

Birinci kuşak kinolonlar

Nalidiksik asit
Oksolinik asit
Sinoksasin
Piromidik asit
Pipemidik asit
Flumekin

İkinci kuşak kinolonlar

Norfloksasin
Pefloksasin
Enoksasin
Siprofloksasin
Lomefloksasin
Ofloksasin

Üçüncü kuşak kinolonlar

Levofloksasin
Sparfloksasin
Gatifloksasin
Grepafloksasin

Dördüncü kuşak kinolonlar

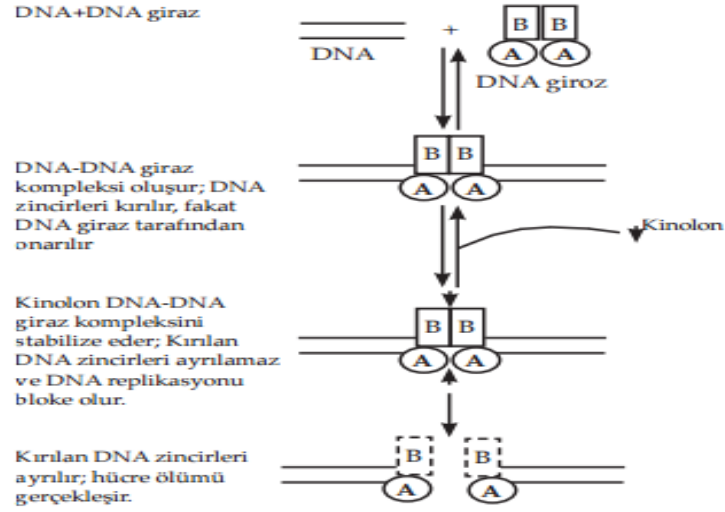
Trovfloksasin
Moksifloksasin
Gemifloksasin

Kinolonların moleküler yapıları ve bakteriyal aktiviteleri geliştikçe yan etkileri artmaktadır (Andriole, 1998).

2.2.2. Etki Mekanizması

Bakteri hücrelerine basit difüzyonla ve gram negatif bakterilerde hücre zarındaki porinler aracılığı ile alınmaktadır (Leblebicioğlu, 2002). Kinolonlar DNA sentezini inhibe ederek bakterisidal etki göstermektedir. Bunun için temel hedefleri DNA giraz (topoizomeraz II) ve topoizomeraz IV enzimi inhibisyonudur (Nazik ve Öngen, 2010). Topoizomeraz I ve III'e ise etkili değildir (Andriole, 2005). DNA giraz ve topoizomeraz IV sitoplazmik enzimlerdir (Hooper and Jacopy, 2015). DNA giraz; DNA replikasyonu, rekombinasyonu ve onarımından sorumlu bir enzimdir (Nazik ve Öngen, 2010). DNA segmentinin iki iplikçliğini kesip, aradan DNA iplikçığı geçirip, kesdiği onarır (Gülay, 2002). Sırasıyla gyrA ve gyrB tarafından kodlanmış olan iki eşit A alt birimi ve iki eşit B alt biriminden (A₂ B₂) oluşan tetramerik bir yapısı bulunmaktadır. DNA giraz DNA molekülünün fosfat grupları ile kovalent bağ meydana getirmektedir (Nazik ve Öngen, 2010). DNA giraz, enzim inhibisyonunu DNA giraz alt birimine bağlanarak göstermektedir (Leblebicioğlu, 2002). Topoizomeraz IV ise replikasyon sonucu birbirine karışmış DNA iplikçiklerinin ayrılıp yavru hücrelere geçmesini sağlamaktadır (Gülay, 2002). Topoizomeraz IV, parC ve parE tarafından kodlanan iki parC ve iki parE dört alt birimlerinden oluşmaktadır (Nazik ve Öngen, 2010). Topoizomeraz IV gram pozitif bakterilerde kinolonların ilk hedefi, gram negatiflerde ikinci hedefidir (Cengiz, 2010). Topoizomeraz enzimlerinin etki mekanizmalarında DNA çift zincirine etki gryA ve parC üzerinde iken, ATP- az aktivitesi gryB ve parE üzerinde lokalizedir (Hooper and George, 2015).

Kinolonların etki mekanizması Şekil 9'da verildi.



Şekil 9. Kinolonların etki mekanizması (Fish ve North, 2001'den)

Kinolonlar gram negatiflerde DNA giraz üzerine etkili iken, gram pozitiflerde topoisomerez IV üzerine etkilidir (Murray ve ark, 2009; Nazik ve Öngen, 2010). Çok yüksek dozlarda ise protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik de etki yapmaktadırlar (Nazik ve Öngen, 2010).

2.2.3. Antimikrobiyal Aktivite

Kinolonların tümü *Enterobacteriaceae* üyelerine karşı etkilidirler. Birinci kuşak kinolonlar gram negatiflere etkili iken, gram pozitifleri etkilemezler. İkinci kuşak kinolonlar gram negatif ve gram pozitif bütün bakterileri etkilemektedir. Üçüncü kuşak kinolonlarda ise bu etkinlik daha fazladır. Dördüncü kuşak kinolonların anaeroplara karşı etkinliği yüksektir (Leblebicioğlu, 2003).

Kinolonlar 1980'lerde sadece *Enterobacteriaceae* üyelerinin enfeksiyonlarında etkili iken yapılarındaki değişiklikler sonucu özellikle CİP ve OFX'in bulunmasıyla genital, üriner, solunum sistemi, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında kullanılmıştır (Andriole, 1998).

Kinolonların farmakinetik özellikleri yapılarındaki modifikasyonlara göre farklılık arz eder. Kinolonlarda C-6 pozisyonuna flor eklenmesi DNA giraz inhibitör aktivitesini artırır, bakteri hücrelerine girişi kolaylaştırmaktadır. C-8 pozisyonuna ikinci flor eklenmesi

ilacın absorbesini ve fototoksitesini artırır, yarılanma ömrünü uzatmaktadır. Kinolonların alkilasyonu yarılanma ömrünü ve dokuya girişi sağlamaktadır. C-7 pozisyonuna piperazin grup eklenmesi gram negatif bakterilere karşı aktivitesini, bu bölgenin alkilasyonu ise aerobik gram pozitif bakterilere karşı aktiviteyi arttırmaktadır. Bunlara ek olarak C-7 piperazin halkasının ucundaki nitrojene metil grubunun eklenmesi bioyararlanımı ve yarılanma ömrünü uzatmaktadır. C-7 pozisyonundaki piperazin halkasına 2-metil grubunun eklenmesi oral etkiyi bunun yanında C-5 pozisyonuna amino grup eklenmesi lipofilikliğini arttırmaktadır. N-1 pozisyonunda siklopropil grubunun eklenmesi aerobik, gram pozitif ve gram negatif aktivitenin artmasına neden olmaktadır (Andriole, 2005).

Kinolonlar vücut doku ve sıvılarına iyi penetre olmaktadır. En iyi penetre oldukları doku bronşial dokulardır. Ayrıca fagositlerin içine girip, makrofaj konsantrasyonunu 14 kat artırdıklarından *Salmonella* gibi hücre içi bakterilerine mükemmel etkinlik sağlamaktadırlar (Murray, 2009). Yapılarının gelişmişliğine bağlı olarak mikrobiyal etkinlikleri artar; fakat yan etkileri fazlalaşmaktadır. Kinolonların hemen hemen hepsi böbrekten elimine edilmektedir (Andriole, 1998).

Genel olarak kinolonların etkili olduğu hastalıklar; üriner sistem enfeksiyonları, seksüel geçişli hastalıklar, solunum yolu hastalıkları, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, kemik enfeksiyonları ve nötrojenik kanser hastalıklarıdır (Andriole, 1998).

2.2.4. Kinolon Direnç Mekanizması

Kinolonlarda direnç mekanizması doğal ve kazanılmış direnç olmak üzere iki tanedir. Doğal direnç bakterinin sentezlediği enerjiye ihtiyaç duyan dışa atım pompalarıyla, kazanılmış direnç ise hedef enzimler olan DNA giraz ve topoizomerez IV'deki kromozomal mutasyonlarla olmaktadır (Nazik ve Öngen, 2010). Kinolon direnç belirleyici olarak adlandırılan QRDR bölgesi, DNA giraz ve topoizomerez IV de bulunmaktadır (Cengiz, 2010). Florokinolonlara karşı direnç DNA girazı kodlayan gyrA ve gyrB ve topoizomerez IV'ü kodlayan parC ve parE genlerindeki nokta mutasyonlar sonucunda gelişmektedir (Osawa ve ark., 2014). Bu mutasyonlar sonucu DNA girazın ve topoizomerez IV'ün alt birimlerinde değişiklik olması ve ilaç geri atım pompalarının çalışması en temel kinolon

direnç mekanizmasıdır (Nazik ve Öngen, 2010). Gram negatif bakterilerde direnç daha çok gyrA bölgesindeki değişim sonucu olmaktadır. Direnci oluşturan bu değişim amino ucundaki enzim aktif bölgesindeki tirozin molekülü çevresinde bulunmaktadır. Bu bölgeye QRDR bölgesi denmektedir. Normalde tirozin molekülü kesik DNA uçlarına kovalent olarak bağlanmaktadır (Gülay, 2002). GyrB'deki mutasyon gyrA'ya göre daha azdır. *Salmonella*'da nokta mutasyonların olduğu yüksek frekanslı QRDR bölge aminoasitlerin 67 ve 106 arasındaki aminoasitler olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2013; Cengiz, 2010). Mutasyona eğilimli bu noktalar gyrA içinde 83 ve 87, gyrB içinde 464, parC içinde 57, 80 ve 84. kodonda bulunmaktadır. ParE içinde de önemli kodonlar tespit edilmiştir (Su ve Chiu, 2007; Cengiz, 2010). ParC bölgesindeki mutasyon tek başına florokinolon duyarlılığını değiştirmez fakat parC ve parE birimlerindeki mutasyon diğer direnç mutasyonları ile birlikte yüksek direnç geliştirir ve MİK değerini arttırmaktadır (Cengiz, 2010; Eaves ve ark., 2004). DNA giraz ve topoizomeras IV mutasyonları kinolonların sitoplazmik konsantrasyonunu da değiştirerek de direnç oluşturabilmektedir (Hooper ve Jacopy, 2015).

Kinolonların diğer hedefi gram negatif bakterilerde sitoplazmik membran ve dış membrandır. Florokinolonlar küçük ve yüklü moleküllerden oluşmaktadır. Bu moleküller dış membrandan porin proteinleri aracılığı ile difüzyon yoluyla geçerler. Direnç gelişimi bu porin sayısının ve bakteri içindeki ilaç birikiminin azalmasıyla oluşmaktadır. Ancak porin sayısının azalması kinolonlara dirençte tek başına yeterli değildir. Bakteri içinde ilaç birikiminde sitoplazmik membrandaki efluks pompa sisteminin de görevi bulunmaktadır. Bu pompa sistemi, dış membran ve membran füsyon proteinlerinden oluşmaktadır. Bu yapılarıdaki değişiklik sonucu kinolon direnci gelişmektedir (Murray, 2009; Hooper ve Jacopy, 2015). Efluks pompa sistemi gram pozitif bakterilerde de vardır ve sayısının artması düşük düzey florokinolon direncine neden olmaktadır (Hooper, 2001). *Salmonella*'da pompaya bağlı kinolon direnci AcrAB pompasının ekspresyonuna bağlı oluşmaktadır (Hooper ve Jacopy, 2015).

Kinolonlar için diğer bir direnç mekanizması ise plazmid aracılı dirençtir. Bu direncin varlığı ilk kez 1998 yılında Martinez-Martinez ve ark.(1998) tarafından 1994 yılında idrar örneğinden izole edilen CİP dirençli *K.pneumoniae* suşunda gösterilmiştir. Bu plaz-

mid pMG252 plazmididir ve konjugasyon yoluyla qnr genini aktarmaktadır (Cengiz, 2010). PMQR direnç mekanizması; qnr genleri, aac(6')-Ib-cr, oqxAB ve qepA genetik determinantları içermektedir (Fang, 2015). Qnr gen grupları büyük olasılıkla pentapeptid yapısında tekrarlayan proteinlerdir. Bu proteinler, kinolonların inhibitör etkisinden DNA, DNA giraz ve topoizomeraz IV enzim komplekslerini koruyarak kinolonlara duyarlılığı azaltmaktadır (Strahilevitz ve ark., 2009). Düşük bakteri direnci oluştururken, gyrA birimindeki mutasyonların etki potansiyelini arttırmaktadır (Cengiz, 2010). Konjugasyon yoluyla başka bakterilere de geçtiği ve NA, NOR, CİP, LEV, PEF MİK değerlerini 4-16 kat artırdığı saptanmıştır (Martinez-Martinez, 1998; Fang, 2015). QnrA proteini düşük düzeyde kinolon direncini üretmektedir (Kim ve Hooper, 2014). PMQR direncinin qnrA haricinde qnrS, qnrC, qnrB, qnrD gibi çeşitleri vardır (Martinez-Martinez, 1998). Bu dirençler florokinolonların MİK'lerinde artışa neden olmaktadır. Bu gen bölgesi tarafından kodlanan qnr proteinleri, DNA giraz enzimini kinolonların etkisinden korumaktadır (Andriole, 1998; Kim ve Hooper, 2014). Qnr direnci tek başına düşük düzeyde kinolon direncine neden olurken, diğer direnç mekanizmaları ile birleşirse yüksek düzeyde kinolon direncine sebep olmaktadır (Kim ve Hooper, 2014). Bu nedenle kinolon dirençli suşlarda bu gen bölgelerin yanında ek direnç mutasyonları araştırılmalıdır (Andriole, 1998). QnrS geni Amerika Birleşik Devletlerindeki *Salmonella enterica* serovar Anatum suşunda bir plazmid üzerinde tespit edilmiştir (Böneman ve ark., 2006; Strahilevitz ve ark., 2009). Çin'de de 4 tane qnrD geni taşıyan *Salmonella enterica* suş insanlardan izole edilmiştir ve CİP'e azalmış duyarlılık gösterdiği bulunmuştur (Cavaco ve ark., 2009; Strahilevitz ve ark., 2009).

Yapılan çalışmalarda QRDR gen bölgesinin haricinde plazmid aracılı kinolon direnci ile ilgili aac(6')-Ib-cr, qepA ve OqxAB olmak üzere farklı gen bölgeleri daha tanımlanmıştır (Kim ve Hooper, 2014). Aac(6')-Ib-cr geni 2006 yılında yapılan bir çalışmada bulunmuştur. Bu gen bölgesinin dünyada coğrafik olarak yaygın olduğu ve uzun süre stabilitesini koruduğu belirtilmektedir (Robicsek ve ark, 2006; Cengiz, 2010). Bu direnç gelişimi NOR ve CİP'in 7. Pozisyondaki piperazin halkasındaki nitrojeni asetilleyerek duyarlılıklarının azalmasına ve düşük seviyeli CİP direncine neden olmaktadır (Strahilevitz ve ark, 2009; Hooper, Strahilevitz: Qinolones. Mandel, 2010; Kim ve Hooper, 2014). Bu du-

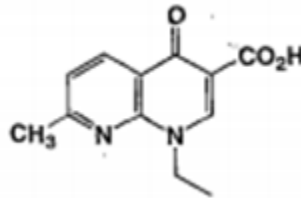
rumda CİP ve NOR etkilenirken, LEV ve OFX MİK değerleri de yükselmektedir (Sjölund-Karlsöon ve ark., 2014). Genel olarak Qnr proteinleri NA, NOR, CİP ve LEV gibi florokinolonların duyarlılığında azalmaya neden olmasına rağmen qnrD taşıyan suşların CİP'e azalmış duyarlılık gösterdikleri, NA'ya ise duyarlı oldukları bildirilmiştir (Robicsek ve ark.,2006). Oqxab ve qepA efluks pompaları kodlayarak kinolon duyarlılığını azaltmaktadır (Strahilevitz ve ark., 2009). QepA (quinolon efflux pump) geni 2007 yılında bulunmuş olup, NOR ve CİP gibi hidrofilik kinolonların hücre dışına pompalanmasına bundan dolayı antibiyotiklerin MİK'lerinin artmasına neden olmaktadır (Yamane ve ark., 2007). PMQR direnç mekanizmaları henüz geleneksel fenotipik yöntemlerle tespit edilemeyen buna rağmen tedavide başarısızlığa katkıda bulunan ve azaltılmış kinolon duyarlılığı biçiminde değerlendirilen direnç mekanizmalarıdır (Strahilevitz ve ark., 2009).

Direnç mekanizmasından biride membran proteinlerinin yapısal değişimine bağlı olarak ilacın hücre içi birikimini azaltan *mar* mutasyonlarıdır. *Mar* mutasyonlarının olduğu bölge NA, CİP ve NOR direncinden sorumlu bölgedir (Cengiz, 2010).

2.2.5. Kinolon Türleri

Nalidiksik Asit

1962 yılında ilk bulunan kinolondur. 1963 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde idrar yolları enfeksiyonları tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Andriole, 1998). NA; malarya tedavisi için üzerinde çalışılan klorokinin sentezi ve saflaştırılması sırasında Lesher ve ark. tarafından bulunmuştur (Ulusoy, 2010). Yapısında iki halkadan oluşan nafridin halkası içermektedir (Leblebicioğlu, 2002). Şekil 10'da görüldüğü üzere temel olarak iki nitrojen çekirdeklerinin 1. Pozisyonunda azot ve 8. pozisyonunda nitrojene bağlı C₂H₅ ve 7.pozisyonunda CH₃ yapısı vardır (Nazik ve Öngen, 2010).



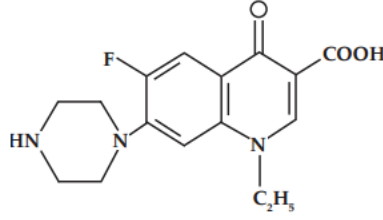
Şekil 10. Nalidiksik asit yapısı (Andriole, 1998'den)

NA birinci kuşak kinolonlar olarak sınıflandırılmıştır (Nazik ve Öngen, 2010). Oral formları mevcuttur. Plazma ve doku konsantrasyon düzeyi düşüktür. Etki alanının dar olması ve idrarda yüksek konsantrasyona ulaşmasından dolayı sadece üriner sistem enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Enterobacteriaceae üyelerine bakterisid etkilidir (Leblebici-oğlu, 2002; Nazik ve Öngen, 2010).

NA etkisini DNA giraz üzerinden gösterir. NA direnci için gyrA'nın QRDS'sinde tek nokta mutasyon gerekmektedir (Harish ve Menezes, 2011). Tek mutasyon sonucu direnç genelde gyrA geninin QRDR'desindeki Ser 83 ve Asp 87 kodonları arasında değişiklik oluşturmaktadır (Cengiz, 2010; Chen ve ark., 2013). GyrA genindeki tek mutasyon NA gibi dar spektrumlu kinolona direnç oluştururken, florokinolonlara azalmış duyarlılık göstermektedir. GyrA veya gyrB genlerinin ikinci mutasyonu florokinolonlara tam dirence aracılık etmektedir (Aarestrup, 2003). NA'ya karşı topoizomerez mutasyonu sonucu oluşan direnç disk difüzyon testi ile gösterilmektedir. Ancak PMQR direnç mekanizması sonucu oluşan direnç disk difüzyon testi ile gösterilemeyebilir (Sjölund-Karlsöon ve ark., 2014). Zaten NA direnci için plasmid aracılı direnç mekanizmasına gerek yoktur. QRDR direnç mekanizması yeterlidir (Deak ve ark., 2015; Skov ve ark., 2015).

Norfloksasin

1980 yılında bulunmuştur. NA yapısının 7. pozisyona siklik diamin piperazin eklenmesiyle oluşan birinci kuşak kinolon olan pipemidik asitten türetilmiştir. Pipemidik asitin 6. pozisyonundaki N (Nitrojen) atomuna flor ve N-1 yan zincirine etil grubu eklenmesiyle NOR oluşmaktadır (Andriole, 1998). Kinolonların temel yapısı olan nafridin halkasındaki C-6 pozisyonuna bir flor molekölü ve C-7'ye siklik diamin piperazin eklenmesiyle oluşmuş ikinci kuşak kinolonlardan ilkidir (Şekil 11). C-6 pozisyonuna eklenen bir flor molekölü nedeniyle florokinolon olarak adlandırılmaktadır (Andriole, 2005). Klinik kullanıma 1986 yılında girmiştir (Nazik ve Öngen, 2010).



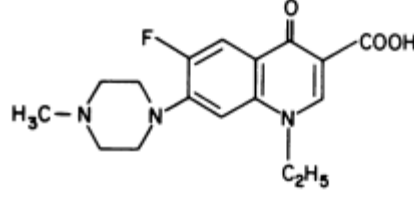
Şekil 11. Norfloksasin Yapısı (Hooper, 2010'dan)

İkinci kuşak kinolonların aerob, gram negatif ve gram pozitif etkinlikleri vardır. Anaeroblara etkisizdirler (Andriole, 2005). Dokulara absorpsiyonu yüksek ve yarılanma ömürleri 1. kuşak kinolonlara göre uzundur. İdrar yolu enfeksiyonları, cinsel yolla bulaşan hastalıklar, prostat ve *Pseudomonas* enfeksiyonlarında kullanılabilmesine rağmen sadece üriner sistem enfeksiyonlarında tercih edilmektedir. Ülkemizde kullanılması kısıtlanmıştır (Leblebicioğlu, 2002). Hastalarda yalnızca oral yolla 2×400 mg/gün olarak uygulanmaktadır (Leblebicioğlu ve ark., 2003).

NOR direnç mekanizması gyrA alt ünitesindeki pozisyon 83 deki serin aminoasitinin, triptofana değişmesi ile oluşmaktadır. Böylece NOR'un DNA giraz kompleksine bağlanması azalmaktadır (Hooper, 2001). Ayrıca qnr geninin aac(6')-Ib-cr varyantı NOR direncine neden olmaktadır (Cengiz, 2010).

Pefloksasin

NOR yapısında ufak bir değişiklik sonucu uzak nitrojen ucuna metil grubu eklenmesiyle PEF üretilmiştir. Şekil 12'de görüldüğü üzere Japonya'da 7-piperazin yapısındaki değişikliklerle üretilen kinolonlar arasında tek ruhsat almış kinolondur (Andriole, 1998). NOR'a göre yarı ömrü daha kısa ve biyoyararlanımı daha yüksek olup % 100'e ulaşmaktadır. Menenjitte bos sıvısına en yüksek konsantrasyondageçen kinolondur. Gram negatiflerin etkili olduğu pnömonilerde kullanılmaktadır (Dündar, 1992). Hastalara oral yolla 2×400 mg/gün, intravenöz yolla 2×400 mg/gün olarak uygulanmaktadır (Leblebicioğlu ve ark., 2003).



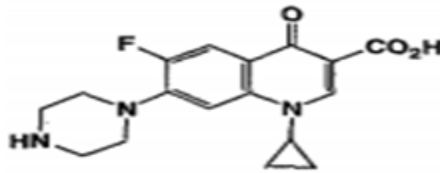
Şekil 12. Pefloksasin yapısı (Andriole VT, 1998'den)

PEF yüksek oranda metabolize olarak idrarla atılmaktadır. Hepatik yolla elimine edilmektedir. Karaciğer yetmezliği olanlarda yarılanma ömrü uzamaktadır (Murray , 2009; Leblebicioğlu ve ark., 2003).

NOR ile yapıları birbirine yakın olduğundan direnç mekanizmaları da hemen hemen aynıdır. PEF direnç mekanizması QRDR ve qnr genindeki mutasyonlar sonucu gelişmektedir. Sadece aac(6')-1b-cr geninin oluşturduğu direnç mekanizması PEF'i etkilememektedir (Skov ve ark., 2015).

Siprofloksasin

1981 yılında bulunmuştur. Şekil 13'de görüldüğü üzere, NOR'un yapısına birinci pozisyonda bir siklopropil grubu eklenmesiyle oluşmuştur (Harish ve Menezes, 2011). 1987 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde üriner sistem enfeksiyonları dışında cinsel yolla geçen hastalıklarda, solunum ve deri hastalıklarında da kullanılan ilk kinolon olarak tanıtılmıştır (Andriole, 1998).



Şekil 13. Siprofloksasin yapısı (Andriole, 1998'den)

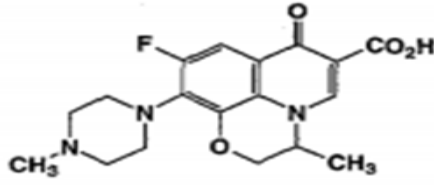
En güçlü gram negatif ve anti-pseudomonal etkinlik CİP'indir (Aygün, 2002). Zaman içinde yeni antibiyotikler bulunsa bile bu özelliğini korumaktadır. İkinci kuşak kinolonlar arasında en fazla etkili kinolondur. Üriner sistem enfeksiyonlarında, ürogenital ve rektal gonorede, kemik ve eklem enfeksiyonlarında, diyarede, deri ve yumuşak doku en-

enfeksiyonlarında ve salmonellozda kullanılmaktadır. Karaciğer ve safrada en yüksek konsantrasyona ulaşan kinolondur. Bakteri sitoplazma membranını zedeleyerek bakteri içine girip en güçlü antibakteriyal etkiyi göstermektedir. Aynı zamanda ülkemizde en fazla kullanılan kinolondur (Ulusoy, 2010). CİP oral yolla alındığında %70 'i emilir, % 35-40 'ı metabolize olmadan dışarı atılmaktadır. Hastalarda oral yolla 2×250-500 mg/gün, intravenöz yolla 2×200 veya 1×400 mg/gün olarak uygulanmaktadır(Leblebicioğlu ve ark., 2003).

CİP direnci için birden fazla genin birikimli etkisi, artan membrane geçirgenliği, aktif efluks pompa ve plasmid aracılı gene ihtiyaç duyulmaktadır(Harish ve Menezes, 2011).Qnr geninin aac(6')-Ib-cr varyantının oluşturduğu aminoglikozid asetil transferaz düşük düzey CİP direncine yol açmaktadır (Murray, 2009; Cengiz, 2010). Ayrıca direnç için QRDR bölgesinde iki nokta mutasyona ihtiyaç duyulmaktadır (Stevenson, 2007).

Ofloksasin

1991 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde kullanım ruhsatı almıştır. NOR yapısına, 1-8(O) siklik halkasında bulunan sülfür ve oksijen atomları arasında oluşan yedek bir halka eklenmiştir (Şekil 14). Üriner sistem enfeksiyonları, prostatit, gastrointestinal enfeksiyonlarda kullanılmaktadır. OFX özellikle tifo, basilli dizanteri ve akut bakteriyel diyarelerde kullanılan ilaçlara direnç geliştiğinde en etkili seçenektir. Klamidya enfeksiyonlarında kinolonlar içinde en etkili OFX'dir. Kemik dokusuna geçişi kolay olduğundan osteomyelit tedavisinde kullanılmaktadır. Biyoyararlanımı en yüksek olan kinolondur ve tamamı absorbe olmaktadır. Renal yolla elimine edilmektedir (Leblebicioğlu ve ark., 2003). Diğer kinolonlara göre daha kararlı bir yapısı vardır ve % 5 den daha azı biyoformasyona uğramaktadır (Andriole, 1998) OFX'nin % 90'ı metabolize olmadan idrara ile dışarı atılmaktadır. Hastalarda oral yolla 2×200 mg/gün veya 1×400 mg/gün, intravenöz yolla 2×200 mg/gün olarak uygulanmaktadır. İyi tolere edildiklerinden yan etkisi azdır (Leblebicioğlu ve ark., 2003).



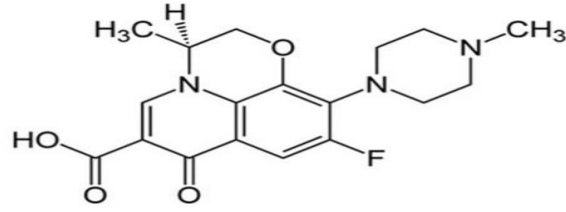
Şekil 14. Ofloksasin yapısı (Andriole, 1998'den)

OFX direnç mekanizmasında topoizomeraz mutasyonlarının etkili olduğu bulunmuştur (Sjölund-Karlsöon ve ark., 2014).

Levofloksasin

OFX ile aynı yapıda olup onun L-izomeridir (Şekil 15). Fakat gram-pozitiflere etkinliği iki kat artmıştır. Kinolon çekirdeğinin C-7 pozisyonundaki piperazin grubundaki değişikliklerle oluşmaktadır. Bu değişiklik kinolonlara streptokoksik aktivite kazandırmaktadır. Üçüncü kuşak kinolonlar arasında olan LEV yanında sparfloksasin, grepafloksasin *Streptococcus pneumoniae*'ye karşı oldukça etkili olduklarından solunum yolu kinolonları veya yeni kinolonlar olarak adlandırılmaktadırlar. Uzun yarılanma süreleri vardır (Leblebicioğlu, 2002). Ülkemizde LEV yaygın olarak kullanılmaktadır (Andriole, 1998). Toplum kökenli pnömoni, akut sinüzit, üriner sistem enfeksiyonları, kronik bakteriyel prostatit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında kullanılmakta ve iyi tolere edilmektedir. Hastalarda oral yolla 1×500 mg/gün veya 2×500 mg/gün, intravenöz yolla 1×500 mg/gün veya 2×500 mg/gün olarak uygulanmaktadır (Leblebicioğlu ve ark., 2003). LEV en sık bildirilen yan etkileri bulantı ve ishaldir (Hurst ve ark., 2002; Ulusoy, 2010).

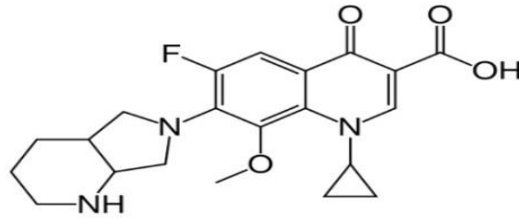
Üçüncü kuşak kinolonlara karşı direnç gelişimi iki basamaklıdır ve bundan dolayı daha az direnç geliştiği ileri sürülmektedir (Baştürk ve ark., 2008).



Şekil 15. Levofloksasin yapısı (Andriole, 1998'den)

Moxifloksasin

Ülkemizde 2002 yılında kullanıma giren tek dördüncü kuşak kinolonlardandır. Kimyasal yapısı Şekil 16'da gösterilmiştir. Üçüncü kuşak kinolonlara göre *Streptococcus pneumoniae*'ye etkisi daha fazladır. Gram negatif ve anaeroplara etkinliği güçlüdür (Ulu-soy, 2010). Toplum kökenli pneumonide, akut sinüzit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Sadece oral formu mevcuttur (Leblebicioğlu, 2002). Hastalarda oral yolla 1×500 mg/gün olarak kullanılmaktadır (Leblebicioğlu ve ark., 2003).



Şekil 16. Moksifloksasin yapısı (Aldred ve ark, 2014'den)

3. MATERYAL VE METOD

Çalışma için 09.04.2015 tarihinde B.30.2.ODM.0.20.08/1687 sayılı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu raporu alındı.

3.1. Materyal

3.1.1. Besiyerleri

Kanlı Agar

Genel kullanım besiyeri olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda *Salmonella* suşlarının saklama besiyerinden alınıp, tekrar canlı kültürlerinin yapılması için kullanıldı.

İçeriği: Triptikaz veya Pepton	15 g
Soytone (Soya enzimatik hidrolizati)	5 g
NaCl	5 g
Agar	15 g
Saf su	1000 ml (Bilgehan, 2004)

Hazırlanması: Isıtılarak eritildi ve pH 7,3 e ayarlandı. Sonra 50 °C'ye kadar soğutuldu. Defibrine koyun kanından eklendi. Karıştırılıp, plaklara dağıtıldı. Soğuyunca +4 °C'de saklandı (Bilgehan, 2004).

Eozin Metilen Mavisi (EMB)

Özellikle Enterobacteriaceae ailesindeki bakterileri ayırt etmek için kullanılmaktadır. Laktoz ve sukroza etki eden bakteriler asit oluşturup, besiyeri içindeki boyaları çöktürmektedir. *Salmonella* bakterisi şekerleri fermente etmediğinden saydam renksiz koloniler oluşturmaktadır (Bilgehan, 2004).

İçeriği: Pepton	10 g
Laktoz	5 g
Sükroz	5 g
K ₂ HPO ₄	2 g
Agar	13,5 g
Eozin	0,4 g
Metilen mavisi	0,065 g
Saf su	1000 ml

Hazırlanması: Hepsi karıştırılıp, kaynatılarak eritildi. 121 °C’ de 15 dak. steril edildi.
Ph:7,1 olarak ayarlandı (Bilgehan, 2004).

Mueller-Hinton Agar

Antibiyogram yapmak için kullanılan besiyeridir.

İçeriği:	Sığır et suyu	300 ml
	Kazein hidrolizat	17,5 g
	Nişasta	1,5 g
	Agar	10 g
	Distile su	1000 ml (Bilgehan, 2004)

Hazırlanması: Mueller-Hinton agar tozu üretici firmanın önerileri doğrultusunda kutunun üzerinde yazan miktar kadar tartıldı. Bir litre distile su eklenerek çalkalandı. Sıcak sulu ısı bloğuna (benmari) konularak toz eriyene kadar ısıtıldı. pH 7,2 ile 7,4 arasında ayarlandı. Gevşek şekilde erlenmayerin ağzı kapatıldı ve 121°C’de 15 dakika otoklavlandı. 48±2 °C’deki su banyosunda soğutuldu. Steril bir ortamda, steril plaklara besiyerinin kalınlığı 4 mm ± 0,5mm olacak şekilde dağıldı. Erimiş agar yüzeyinde oluşan baloncuklar, bunzen bekinin alevini agarın yüzeyinden hızla (ve dikkatlice) geçirerek yok edildi (Hinder, 2007; THSK, Ulusal Mikrobiyoloji Standartları AMD-TP-01 / Sürüm: 1.0 / 01.01.2014).

Kasyon Ayarlı Mueller-Hinton Broth (CAMHB)

Mueller-Hinton broth tozu üretici firmanın önerileri doğrultusunda kutunun üzerinde yazan miktar kadar tartıldı. Bir litre distile su eklenerek çalkalandı. Sıcak sulu ısı bloğuna (benmari) konularak toz eriyene kadar ısıtıldı. pH 7,2 ile 7,4 arasında ayarlandı. Gevşek şekilde erlenmayerin ağzı kapatıldı. 121°C’de 15 dakika otoklavlandı. 48±2 °C’deki su banyosunda soğutuldu. Kasyon eklendi. Bunun miktarı da Kalsiyum; 20-25 mg/L, Magnezyum; 10-12,5 mg/L olmalıdır (ISO 20776-1:2006). Yani 1 litre Mueller-Hinton Broth besiyerine 1 ml CaCl (Kalsiyum klorür) ve 2 ml MgCl (Magnezyum klorür) konuldu. Steril bir ortamda, steril cam tüplere dağıtıldı (Hinder, 2007; THSK Ulusal Mikrobiyoloji Standartları AMD-TP-01 / Sürüm: 1.0 / 01.01.2014).

TSİ (Üç Şekerli Demirli Agar)

Gram negatif bakterilerin glikoz, sukroz ve laktoza olan etkilerine, H₂S oluşturup oluşturumama durumuna dayalı ön tanı besiyeridir.

İçeriği: Polypepton	20 g	
Laktoz	10 g	
Sukroz	10 g	
Dektroz	1 g	
Sodyum kloride	5 g	
Ferric ammonyum sulfat	0,2 g	
Sodyum tiyosulfat	0,2 g	
Agar	13 g	
Fenol kırmızısı	0,025 g	
Saf su	1000 ml	pH: 7, 3

Hazırlanması: Maddeler karıştırılıp, su banyosunda eritildi. 121 °C' de 15 dakika steril edildi. Tüplerde 2,5-3 cm'lik kısmı dik, üst kısmı yatık olarak donduruldu (Bilgehan, 2004).

Üre Agar

Bakterilerin üreyi hidrolize edip etmediğini belirleyen besiyeridir.

İçeriği: a) Üre Baz Eriyiği:

Pepton	1 g
NaCl	5 g
KH ₂ PO ₄	2 g
D- glukoz	1 g
Üre	20 g
Fenol kırmızısı	12 mg
Saf su	100 ml
Ph:6,8	

b) Agar Eriyiği

Agar	15 g
Saf su	900 ml

Hazırlanması: Üre baz eriyiği hazırlanıp süzme işlemi ile steril edildi. Agar eriyiği de 121 °C’de 15 dak. steril edildi. Her iki eriyik karıştırılıp, pH 6,8’e ayarlandı (Bilgehan, 2004).

3.2. Metot

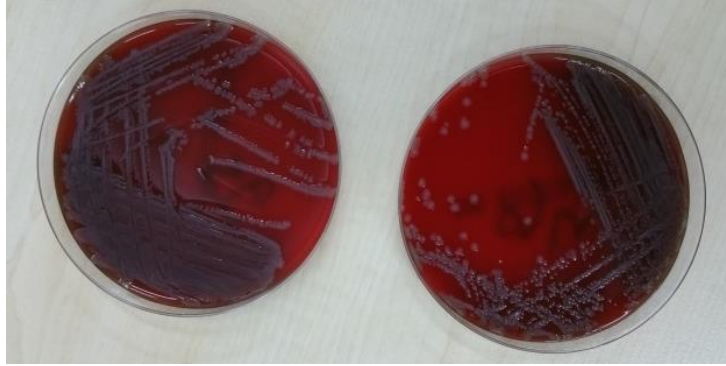
Salmonella türlerinin kinolon duyarlılıklarının belirlenmesinde Kirby-Bauer disk difüzyon, E-test, sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı.

3.2.1. Örneklerin Toplanması

"*Salmonella* Türlerinde Pefloksasin Direncinin Belirlenip Diğer Kinolonlarla Karşılaştırılması" adlı araştırma için 2009-2015 tarihleri arasında çeşitli klinik birimlerden Tıp Fakültesi Hastanesi bakteriyoloji laboratuvarına gönderilen örneklerden izole edilmiş 104 adet ve Samsun Halk Sağlığı Laboratuvarından elde edilen 12 adet suş çalışmaya alındı.

3.2.2. Suşların Canlandırılması

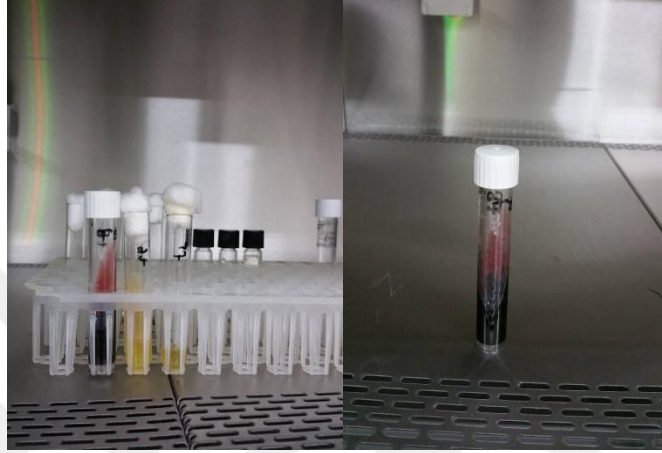
Saklama besiyerine ekilerek - 20 °C de saklanan *Salmonella* suşları kanlı agara ve EMB agara ekim yapıldı. Şekil 17’de görüldüğü üzere 22-24 saatlik inkübasyondan sonra saf kültürleri elde edildi.



Şekil 17. *Salmonella* suşlarının kanlı agar görüntüsü (Çalışmamızdan)

İnkübasyon sonunda karışık üreme olan plaklar tek koloni düşecek şekilde tekrar pasajlandı. Saf kültürdeki bakterinin *Salmonella* türü olduğunu teyit etmek için TSİ ve üre besiyerleri kullanıldı. Kuşku kolonilerden iğne öze ile alınan materyal TSİ besiyerininin önce dip kısmına batırılıp, yatık kısmın yüzeyinde zik zak çizerek ekim yapıldı. Aynı zamanda kuşku koloniler üre besiyerine de ekildi. Ekimler 37 °C’de 18-24 saat inkübe edildi. *Salmonella* bakterisi glukozu fermente edip, laktoz ve sukrozu parçalamadığından

TSİ besiyerinde dipte sarı, yatık kısımda kırmızı renk ve ferrik amonyum sulfata etki ederek, ferröz sülfid yaptığından siyah renk oluşturmaktadır. Kuşku kolonilerin TSİ besiyerindeki bu görüntüsü ve üre besiyerindeki negatif sonucuna göre Şekil 18'de görüldüğü gibi *Salmonella* bakterisi olarak teyit edildi.



Şekil 18. *Salmonella* suşlarının TSİ ve üre besiyerindeki görüntüsü (Çalışmamızdan)

3.2.3. Suşların Duyarlılığının Çalışılması

Tüm *Salmonella* suşlarının florokinolon duyarlılığı; NA (Bioanalyse 30 µg, lot no: 140711), PEF (Oxoid, 5µg, lot no: 1465722), NOR (Bioanalyse, 10µg, lot no: 141126D), CİP (Oxoid, 5µg, lot no: 1348421), OFX (Bioanalyse, 5µg, lot no:131028), LEV(Oxoid, 5µg, lot no:1400174) diskleri kullanılarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Çalışmada kalite kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATTC 25922 kullanıldı.

Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi

Çalışmamızdaki *Salmonella* suşların florokinolonlara karşı direncini belirlemek için NA, PEF, NOR, OFX, CİP ve LEV antibiyotik diskleri kullanıldı. EUCAST disk difüzyon metodunun referans yöntem olarak kabul ettiği Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi uygulandı.

Kirby-Bauer disk difüzyon yönteminde besiyeri olarak *Salmonella*'lar için MH (Mueller-Hinton) agar kullanıldı. Besiyerinin kalınlığı 4 mm ± 0,5 mm olacak şekilde dö-küldü. Agar yüzeyi kullanılmadan önce kurutuldu. Şekil 19'da görüldüğü üzere *Salmonella*

suşlarının McFarland 0,5 bulanıklık standartı yoğunluğunda süspansiyonunu yapıldı (M02-A12, EUCAST 2015).



Şekil 19. Bakteri inokulumu hazırlanması (Çalışmamızdan)

Bu değer *Escherichia coli* için yaklaşık $1-2 \times 10^8$ cfu/ml'ye karşılık gelen değerdir. Daha yoğun inokulum süspansiyonu inhibisyon zonunun azalmasına yol açarken, daha az inokulum ise tersine bir etkiye sebep olacaktır. Süspansiyonun yoğunluğunu ayarlamakta Şekil 20'de görüldüğü üzere fotometrik bir McFarland cihaz kullanıldı.



Şekil 20. McFarland Cihazı (Çalışmamızdan)

Hazırlanan süspansiyon 15 dak içinde plağın yüzeyine, üç yönlü sürülüp, en son plak çevresinde gezdirip, yayıldı. NA, PEF, NOR, OFX, CİP ve LEV diskleri 15 dk içinde yerleştirildi. Diskleri yerleştirdikten sonra 15 dk içinde plaklar ters çevirildi. Plaklar

35±1°C’de, 16-20 saat inkübe edildi. İnhibisyon zonları kumpas cihazı ile ölçüldü (Şekil 21).



Şekil 21. İnhibisyon zonlarının kumpas cihazı ile ölçüm sonuçlarının yorumlanması (Çalışmamızdan)

Antibiyotiklerinden NA, CİP Clinical And Laboratory Standarts Institute (CLSI) M100-S25 standardına, PEF, NOR, OFX ve LEV sonuçları The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)’ta belirtilen zon çapları kriterlerine göre değerlendirildi. Sonuçlar karşılaştırıldı. Şekil 22’de çalışma plakları gösterildi.



Şekil 22. Çalışma Plakları (Çalışmamızdan)

Gradyent Difüzyon Yöntemi (E-test Yöntemi)

Agarlı besiyerinde dilüsyon yöntemidir. Kantitatif ölçüm yapar. Gittikçe artan konsantrasyonlarda antibiyotik içeren inert plastik şeritler kullanılmaktadır.

Çalışmamızda kinolon dirençli suşların CİP Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerleri E-test yöntemi ile çalışıldı. İlk önce dirençli suşlar subkültüre edilip, canlandırıldı. *Salmonella* suşlarının inokulum süspansiyonunu McFarland 0,5 standart yoğunluğunda hazırlandı. İnokulum süspansiyonu hazırlandıktan sonra steril pamuklu eküvyonla alınıp, fazla sıvının bırakılmasından sonra tüm agar yüzeyine yaklaşık 60°'lik açılarla üç kez yayıldı. Eküvyon son olarak plağın çevresinde gezdirilip 15 dakika içinde Müller-Hinton Agar'a inoküle edildi. Derin dondurucuda (en az - 20C°de) saklanan şeritler 15 dakika içinde agar yüzeyine yerleştirildi. 35 °C'de 18-20 saat inkübasyon yapıldı.

Sonuçlarının Yorumlanması

Elips şeklindeki inhibisyon alanının sribi kestiği nokta MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) değeri olarak verildi. Bu değerler EUCAST ve CLSI M100-S25 standartında belirtilen MİK kriterlerine göre belirlendi. CİP E-test MİK değerleri 0,19-0,75 µg/ml arasında bulundu.

Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Çalışmamızda dirençli bulduğumuz suşlara CİP için ISO 20776 (2006) standartları ve CLSI M100-S25 kriterleri kullanılarak sıvı mikrodilüsyon yapıldı. Bunun için steril plastik mikrodilüsyon plakları, besiyeri olarak katyonu ayarlanmış Müller-hinton broth (KAMHB) ve CİP standart toz formundan hazırlanan stok çözeltisi kullanıldı. Stok çözeltisi Tablo 7'de belirtilen çözücülerle hazırlandı.

Tablo 7. Antimikrobik ilaçların stok çözeltilerinin hazırlanması için gerekli çözücü ve sulandırıcıları (EUCAST, 2015)

ANTİBİYOTİK	ÇÖZÜCÜ	SULANDIRICI
Siprofloksasin	Su	Su

Antimikrobik ilacın stoğunu hazırlamak için gereken sulandırıcı hacmi aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{Hacim(mL)} = \frac{\text{Ağırlık(mg)} \times \text{Potens}(\mu\text{g/ml})}{\text{Konsantrasyon}(\mu\text{g/ml})}$$

Bu formüle göre CİP toz formundan 0,100 g tartılıp, formül için 100 mg'a çevrildi. Potensi % 100, konsantrasyon değeri 4096 µg/ml alındı.

$$\text{Hacim(mL)} = \frac{1000 \times 100 \text{ mg}}{4096} = 24,4 \text{ ml distile su ile sulandı.}$$

Çalışma için 2550 µl müller- hinton broth + 10 µl stok çözeltiden alındı. Antibiyotik başlangıç dilüsyonu hazırlandı. Sıvı mikrodilüsyonda ilk önce 100 µl müller- hinton broth bütün mikro plate kuyucuklarına dağıtıldı. Sonra antibiyotik stok çözeltisi ilk kuyucuğa konmadan, ikinci kuyucuktan başlayarak 100 µl konuldu, pipetaj yapıldı ve 100 µl geri çekilip, diğer kuyucuğa konuldu. Böylece seri dilüsyonlar yapıldı. Son kuyucuktaki miktardan 100 µl pipetle çekilip, dışarı atıldı. Bakteri inokulumu 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlandı. Hazırlanan bakteri inokulumu 1:100 oranında broth ile sulandırıldı (990 µl broth + 10 µl bakteri). Hazırlanmış mikro plate 100 µl 1:100 oranında sulandırılmış bakteri inokulumu eklendi. Son kuyucuğa konulmadı. İlk kuyucuklar üreme kontrolü, son kuyucuklar sterilite kontrolü olarak alındı. Böylece sıvı mikrodilüsyonla 4-0.003 mg/L MİK değerleri arasında çalışıldı. Çalışmada kalite kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATTC 25922 kullanıldı (ISO 20776-1, 2006). Kalite kontrol suşunun EUCAST QC tablosundaki geçerli değer aralığı 0,004-0,016 olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızdaki değeri de kabul edilebilir sınırlar içindedir (EUCAST QC Tables,2015-10-09).

Duyarlılık Sonuçlarının Yorumlanması

MİK, bakterilerinin mikrodilüsyon kuyucuklarındaki üremesini tamamen inhibe eden ve çıplak gözle belirlenebilen en düşük ilaç konsantrasyonudur. MİK belirlenirken antibiyotik içeren kuyucuklardaki üreme yoğunluğu, kontrol kuyucuğundaki (antibiyotiksiz) üreme yoğunluğu ile kıyaslandı. Bir testin geçerli olabilmesi için, pozitif kontrol kuyucuğunda kabul edilebilir üremenin (belirgin bulanıklık) oluşması gerekir. MİK değeri olarak üremede kontrol ile kıyaslandığında %80 bir azalmanın olduğu konsantrasyon okunmalıdır. Bir mikrodilüsyon testinde arada üreme olmamış tek bir kuyucuk görülürse

en yüksek MİK okunmalıdır. Arada birden fazla üreme olmayan kuyucuğun olduğu ilaçlara ilişkin sonuçlar bildirilmemelidir (AMD-TP-04 / Sürüm: 1.0 / 01.01.2014). Bu değerler EUCAST ve CLSI M100-S25 Standartında belirtilen MİK kriterlerine göre değerlendirildi. Sonuçlar karşılaştırıldı.

CLSI ve EUCAST'taki CİP MİK değerleri Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. EUCAST ve CLSI'a göre siprofloksasin MİK breakpoint değerleri

	MİK BREAKPOINT(mg/L)		
	S	I	R
EUCAST	≤ 0,06	-	> 0,06
CLSI	≤ 0,06	0,12 -0,5	≥ 1

3.2.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 21.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edilmektedir. Değişkenler arasındaki ilişki Chi-Square test ile yapılmıştır. E-test ve sıvı mikrodilüsyon çalışma sonuçlarını karşılaştırmak için Wilcoxon testi kullanılmıştır. Test istatistiği sonucu için p değerleri karşılaştırılarak ($p < 0,05$) sonuç bulundu.

4. BULGULAR

4.1. *Salmonella* Suşlarının Örnek Dağılımı

Çalışmamıza en çok gaita örneklerinden izole edilen suşlar dahil edildi. Suşların izole edildiği örnek türleri Tablo 9’de verildi.

Tablo 9. *Salmonella* suşlarının izole edildiği örnek türleri

ÖRNEK TÜRÜ	SAYI (%)
Gaita	108 (93,1)
Kan	6 (5,2)
İdrar	1(0,9)
Yara	1 (0,9)

4.2. *Salmonella* Suşlarının Disk Difüzyon Yöntemi ile Belirlenen Kinolon Direnç Sonuçları

Antibiyotik duyarlılık sonuçları CLSI ve EUCAST önerileri doğrultusunda ayrı ayrı verildi.

CLSI disk difüzyon zon çapı yorumlama değerleri Tablo 10’da verildi.

Tablo 10. CLSI disk difüzyon zon çapı yorumlama değerleri ($\mu\text{g}/\text{mm}$) (CLSI M100-S25)

ANTİBİYOTİK	DİSK İÇERİĞİ	ZON ÇAPI		
		YORUMLAMA		
		KRİTERLERİ(mm)		
		S	I	R
Siprofloksasin	5 μg	≥ 31	21-30	≤ 20
Levofloksasin	5 μg	-	-	-
Ofloksasin	5 μg	-	-	-
Norfloksasin	10 μg	-	-	-
Nalidiksik asit	30 μg	≥ 19	14-18	≤ 13
Pefloksasin	Uygun değil			

EUCAST disk difüzyon zon çapı yorumlama değerleri Tablo 11’de verildi.

Tablo 11. EUCAST disk difüzyon zon çapı yorumlama değerleri (EUCAST 2015-01-01)

ANTİBİYOTİK	DİSK İÇERİĞİ	ZON ÇAPI	
		YORUMLAMA	
		KRİTERLERİ(mm)	
		S	R
Ciprofloksasin	5 μg	-	-
Levofloksasin	5 μg	≥ 22	≤ 19
Ofloksasin	5 μg	≥ 22	≤ 19
Norfloksasin	10 μg	≥ 22	≤ 19
Pefloksasin	5 μg	≥ 24	≤ 24
Nalidiksik asit	Uygun değil		

Çalışmamızda kullandığımız 116 *Salmonella* suşundan 12 (% 10,3) tanesinde kinolon direnci saptandı. Bu direnç oranı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Suşlardan üçü NA ve PEF dirençli, CİP orta duyarlı olarak saptandı. Altı suş ise NA, PEF, OFX dirençli, CİP orta duyarlı olup bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). *Salmonella* suşlarında NA ve PEF antibiyotiklerinden sonra direnç oranı ve etki düzeyi en yüksek OFX antibiyotığıdır.

Suşların duyarlılık sonuçları Tablo 12’de verildi.

Tablo 12. *Salmonella* suşlarının kinolon grubu antibiyotiklere karşı duyarlılık sonuçları

ANTİBİYOTİKLER	N (%)
NA, PEF(R), CİP(I)	3(2,6)
NA, PEF, OFX(R), CİP(I)	6(5,2)
NA, PEF, OFX (R), CİP(S)	1(0,9)
NA, PEF, OFX, LEV (R), CİP(I)	1(0,9)
NA, PEF, NOR, OFX, CIP, LEV (R)	1(0,9)
TOPLAM	12(10,3)

N: Suş Sayısı Na:Nalidiksik asit, PEF: Pefloksasin, CİP: Siprofloksasin, OFX:Ofloksasin, NOR: Norfloksasin, LEV: Levofloksasin, R:Dirençli, I; Orta Duyarlı , S:Duyarlı

Dirençli Suşların Florokinolon Duyarlılık Sonuçları Tablo 13’de verildi.

Tablo 13. Dirençli suşların florokinolon duyarlılık sonuçları

N	ANTİBİYOTİKLER					
	NA	PEF	CİP	NOR	OFX	LEV
3	R	R	I	S	S	S
7	R	R	I	S	S	S
9	R	R	I	S	S	S
23	R	R	I	S	R	R
35	R	R	I	S	R	S
45	R	R	I	S	R	S
52	R	R	S	S	R	S
68	R	R	I	S	R	S
69	R	R	R	R	R	R
70	R	R	I	S	R	S
71	R	R	I	S	R	S
88	R	R	I	S	R	S

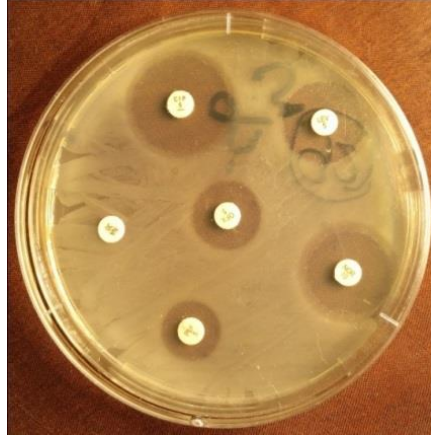
N: Suş Numarası R: Dirençli S: Duyarlı I: Orta Duyarlı

Disk difüzyon yöntemiyle tespit edilen NA, PEF dirençli, CİP orta duyarlı suşlar için örnek resim Şekil 23’de verildi.



Şekil 23. NA, PEF(R), CİP(I) suş

Disk difüzyon yöntemiyle tespit edilen NA, PEF ve OFX dirençli, CİP orta duyarlı suşlar için örnek resim Şekil 24’de verildi.



Şekil 24 . NAL, PEF, OFX(R), CİP (I) suş

Disk difüzyon yöntemiyle tespit edilen NA, PEF ve OFX dirençli, CİP duyarlı suş için örnek resim şekil 25’de verildi.



Şekil 25 . NAL, PEF, OFX(R), CİP (S) suş

Disk difüzyon yöntemiyle tespit edilen NA, PEF, OFX ve LEV dirençli, CİP orta duyarlı suş için örnek resim Şekil 26’de verildi.



Şekil 26. NAL, PEF, OFX, LEV (R), CİP (I) suş

Disk difüzyon yöntemiyle tespit edilen NA, PEF, OFX, LEV ve CİP dirençli suş için örnek resim Şekil 27’de verildi.



Şekil 27. NAL, PEF, OFX, NOR, CİP, LEV (R) suş

Disk difüzyon yöntemiyle tespit edilen NA, PEF, OFX, LEV ve CİP duyarlı suşlar için örnek resim Şekil 28’de verildi.



Şekil 28. Duyarlı suşlar

4.3. E-test Sonuçları

Kinolonların herhangi birine dirençli saptanan 12 suşun CİP E-test MİK değerleri 0,19-0,75 arasında saptandı. Bu değerler Tablo 14'te verildi.

Tablo 14. E-Test ile saptanan CIP MİK sonuçları

N	MİK (mg/L)
3	0,25
7	0,19
9	0,25
23	0,5
35	0,19
45	0,25
52	0,25
68	0,38
69	0,75
70	0,38
71	0,38
88	0,25

N:Suş numarası

Bu sonuçlar EUCAST'a göre değerlendirildiğinde suşların CİP antibiyotigine dirençli oldukları, CLSI'a göre ise orta duyarlı oldukları tespit edildi.

4.4. Dirençli suşların Siprofloksasin Sıvı Mikrodilüsyon MİK Sonuçları

Dirençli suşların CİP MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle de çalışıldı. Dirençli suşların sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle bulunan CİP MİK değerleri Tablo 15'de verildi.

Tablo 15. Dirençli suşların sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle bulunan siprofloksasin MİK değerleri.

N	MİK(mg/L)
3	0,25
7	0,25
9	0,5
23	0,5
35	0,25
45	0,25
52	0,25
68	1
69	1
70	0,5
71	0,25
88	0,25

N: Suş Numarası

CİP sonuçları EUCAST'a göre değerlendirildiğinde suşların hepsi dirençli, CLSI'a göre ise suşlardan ikisi dirençli, diğerleri orta duyarlıdır. 68 numaralı suş E-test yöntemiyle 0,38mg/L, sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle 1 mg/L; 69 numaralı suş E-test yöntemiyle 0,75mg/L, sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle 1 mg/L saptandı. Sadece bu iki suşun MİK değerleri E-test yöntemiyle uyuşmadı.

4.5. Dirençli Suşların Pefloksasin Duyarlılık Sonuçlarıyla Siprofloksasin Sıvı Mikrodilüsyon MİK Sonuçlarının Karşılaştırılması

Çalışmamızda NA dirençli bulduğumuz 12 suş PEF'e dirençli bulundu. Bu suşların CİP MİK değerleri E-test ve sıvı mikrodilüsyonla çalışıldı ve MİK değerlerinde artış saptandı.

PEF duyarlılık sonuçlarının CİP MİK sonuçlarıyla karşılaştırılması Tablo 16'da verildi.

Tablo 16. Pefloksasin duyarlılık sonuçlarının siprofloksasin MİK sonuçlarıyla karşılaştırılması

N	PEF DUYARLILIK	E-TEST (mg/L)	SIVI MİKRODİLÜSYON (mg/L)
3	R	0,25	0,25
7	R	0,19	0,25
9	R	0,25	0,5
23	R	0,5	0,5
35	R	0,19	0,25
45	R	0,25	0,25
52	R	0,25	0,25
68	R	0,38	1
69	R	0,75	1
70	R	0,38	0,5
71	R	0,38	0,25
88	R	0,25	0,25

N:Suş sayısı PEF: Pefloksasin

Farklı suşlardan birinin; CLSI 'ya göre E-test MİK değeri 0,38 mg/L olup ara değer, sıvı mikrodilüsyon MİK değeri 1 mg/L olup dirençli, diğer suşunda E-test MİK değeri 0,75 mg/L olup ara değer, sıvı mikrodilüsyon MİK değeri 1 mg/L olup dirençli, EUCAST'a göre ise hepsi dirençli bulundu. E-test sonuçları istatistiksel analiz sonucunda

normal dağılıma sahip olmadığı tespit edilmiştir ($p=0,007$; $p<0,05$). Sıvı mikrodilüsyon sonuçları da istatistiksel olarak normal dağılıma sahip olmadığı tespit edilmiştir ($p=0,001$; $p<0,05$). Bu nedenle saptanan bu farklıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamaktadır ($p=0,090$; $p>0,05$). Uygulanan her iki yöntem arasında istatistiksel açıdan bir farklılık görülmemektedir.



5. TARTIŞMA

Toplumda gıda ile kolaylıkla bulaşan ve salgınlarla önemli enfeksiyonlara neden olabilen *Salmonella* türlerinin neden olduğu bazı klinik tablolar duyarlılıklarının saptanması, enfeksiyon kontrol önlemlerinin hızla alınması ve enfeksiyonun büyük çaplı bir salgına dönüşmeden önlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. *Salmonella* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlarda erişkin hastalarda CİP ve OFX kullanılmaktadır (Murray, 2009).

Bir bakteri aynı türeviden elde edilmiş antibiyotiklerden birine dirençli ise diğer antibiyotiklere de dirençli kabul edilir. Fakat bu kural her zaman geçerli değildir. Özellikle yeni keşfedilen, yaygın kullanımda olmayan antibiyotiklere direnç gelişimi daha geç olduğundan aynı türev antibiyotiklerin duyarlılıkları farklı olabilmektedir (Gülay, 2002). Her kinolonun DNA giraz'a affinitesi farklıdır. Bu yüzden bazı bakteriler bir kinolona dirençli iken diğerine duyarlı olabilir (Aygün, 2002).

Cavaco ve arkadaşları NA dirençli suşların diğer kinolon türevlerine duyarlı olabileceği ancak bu suşlarda kinolonlara karşı gelişebilecek direnci göstermesi bakımından NA direncinin önemli olduğunu vurgulamıştır (Cavaco ve Aarestrup, 2009). Diğer çalışmalarda NA diskinin; disk difüzyon testinde sadece topoizomeraaz enzim mutasyonları sonucu oluşan direnci gösterdiğini (Lunn ve ark, 2010) ve bu direncin de özellikle gyrA gen mutasyonları ve eflüks pompa sisteminin aşırı üretimi sonucu olduğunu belirtmişlerdir (Cavaco ve Aarestrup, 2009). *Salmonella*'da NA direnci ile ilgili ülkemizde yapılan çalışmalarda Gülmez ve ark. 34 merkezi kapsayan çalışmasında NA direncini %16,7 (Gülmez ve ark, 2012), Çilli ve ark. %16,5 (Çilli ve ark, 2006), Erciş S ve ark. %12,3 (Erciş S ve ark., 2006), Erdoğan H. ve ark. %14,3 (Erdoğan H. ve ark., 2016) olarak bulmuşlardır. İtalya'da yapılan bir çalışmada NA direnci %1,8 (Zottola ve ark, 2013), Sırbistan'da %2,2 (Kozoderović ve ark, 2012) olarak bulunmuştur. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1996-2003 yılları arasında yapılan bir çalışmada da NA direnci %1,6 olarak tespit edilmiştir (Stevenson, 2007). Amerika Birleşik Devletlerindeki yapılan bir çalışmada ise *Salmonella* enteritis türlerinde 1996 yılında %0,9 olan oranın 2010 yılında %5,2 çıktığını ve bunun gelişmişlik düzeyi düşük ve kalabalık ülkelere seyahatle bağlantılı olduğu vurgulanmıştır (O'Donnell ve ark, 2014). Ayrıca NA direnci oranı; Çinde %61,7 (Zhao ve ark, 2016),

Taylan'da %83,2 (Utrarachkij ve ark, 2016), Malezya'da %35,7 (Thong ve ark, 2015) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda saptanan NA direnci (%10,3) gelişmiş Avrupa ülkelerinde yapılan çalışmalara göre yüksek, yurt içindeki çalışmalara göre ise yakın oranda saptanmıştır. Gelişmişlik düzeyi düşük ve kalabalık ülkelerdeki kinolon direnç oranı ise yüksektir. Bunun *Salmonella* enfeksiyonu ve kinolon kullanım oranının yüksekliğine bağlı olabileceği düşünülmektedir. NA direnci topoizomeraz mutasyonlarından kaynaklanmaktadır (Deak ve ark, 2015b). Çalışmamızda kinolon direnci araştırdığımız 12 suşta (%10,3) NA direnci tespit edildi. Çalışmalarda kinolon direnci öncelikle kinolonların en basiti olan NA'ye karşı gelişmektedir. Ancak çalışmamızda NA direnci olan suşların hepsi PEF'e de dirençli saptanmıştır. Bu suşlarda Stevenson ve ark. nin bu konudaki yorumlarına benzer olarak topoizomeraz mutasyonunun yanında qnr gen mutasyonunda olabileceği düşündürmüştür (Stevenson ve ark., 2007). Ancak bazı çalışmalarda PEF direncinin *Salmonella*'larda sadece aac(6')-Ib-cr gen mutasyonu ile kazanılan kinolon direncini gösteremeyeceğini ve bu genin az sayıda olduğunu belirtilmektedir. (Veldman K ve ark., 2011, Sjölund- Karlsson ve ark., 2009).

Çalışmalarda yukarıda anlatılan topoizomeraz mutasyonu ve qnr gen direnci yanında plazmid aracılı gelişen direnç mekanizmasından aac(6')-Ib-cr ve gepA geni taşıyan suşların CIP dirençli veya orta duyarlı saptanabileceği bildirilmektedir (Stevenson ve ark., 2007; Sjölund- Karlsson ve ark., 2009). Çalışmamızda NA ve PEF dirençli ve CIP orta duyarlı saptanan üç (%2,6) izolat bulunmuştur, bu üç izolatın duyarlılık sonuçları istatistiksel olarak $p=0,077$ olup ($p>0,05$) anlamlı değildir. Bu suşlar için olası topoizomeraz, qnr, gep A ve aac(6')-Ib-cr gen mutasyonlarının bu dirence neden olabileceğini düşündürmüştür.

Cavaco ve ark. yaptıkları çalışmada *Salmonella* suşlarında OFX direncine topoizomeraz enziminin QRDR'sindeki bir veya daha fazla mutasyon veya qnr mutasyon direncinin neden olduğunu belirtmişlerdir. Aac(6')-Ib-cr gen mutasyonu taşıyan *Salmonella* türlerinde, disk difüzyon yöntemiyle OFX direnci tespit edilemez. Oysa dirençli suşlarda CIP direnci hem disk difüzyonla hem de mikrodilüsyon testiyle gösterilebilir. Fakat qnr ve aac(6')-Ib-cr direnç genlerini taşıyan *Salmonella* türlerini belirlemek için CIP mikrodilüsyon testi önerilmiştir (Cavaco ve Aarestrup, 2009). Ayrıca aac(6')-Ib-cr ve gep A geni taşıyan suşların disk difüzyon testinde CIP dirençli veya orta duyarlı saptanabileceği bildi-

ılmaktadır (Stevenson ve ark., 2007). Çalışmamızda NA, PEF, OFX dirençli, CİP orta duyarlı altı (%5,2) ayrıca NA, PEF, OFX dirençli ve CİP duyarlı bir (% 0,9) izolat bulundu. Buna göre çalışmamızda NA, PEF ve OFX dirençli ve CİP orta duyarlı saptanan suşlar istatistiksel olarak $p=0,001$ olup ($p<0,05$) anlamlıdır. Bu suşlarda topoizomeraz enziminin QRDR'sindeki bir veya daha fazla mutasyonun veya *qnr* gen mutasyonlarının olduğu, bu suşlarda disk difüzyon testinde CİP direnci görülmeyip, orta duyarlı veya duyarlı olabilmesinin (Stevenson ve ark., 2007) *aac(6')*-*lb-cr* geni mutasyonu sonucu olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda NA, PEF, OFX dirençli diğer kinolonlara duyarlı bir (%0,9) suş için yukarıda belirtildiği gibi sadece topoizomeraz enziminin QRDR'sindeki bir veya daha fazla mutasyonun yada *qnr* gen mutasyonlarının olabileceğini ve CİP duyarlılığının *aac(6')*-*lb-cr* gen mutasyonu sonucu olabileceğini düşündürmüştür (Stevenson ve ark., 2007). Fakat tüm suşlar içinde sadece bir suшта bu direncin görülmesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Kim ve ark. tarafından yapılan çalışmada *qnr* gen mutasyonu ve *gry A* geninin QRDR'sinde de tek nokta mutasyon (Ser83- Phe yer değiştirmesi) tespit edilen *Salmonella* suşlarında NA, CİP ve LEV direnci görülmüştür (Kim ve ark, 2013). PEF ve OFX direncine de topoizomeraz enziminin QRDR'sindeki bir veya daha fazla mutasyonun veya *qnr* mutasyonunun neden olduğunu belirtilmiştir (Stevenson ve ark., 2007; Sjölund- Karlsson ve ark., 2009). CİP orta duyarlılığına *aac(6')*-*lb-cr* ve *gcp A* geni mutasyonunun neden olduğu ifade edilmiştir. (Stevenson ve ark., 2007). Çalışmamızda NA, PEF, OFX ve LEV dirençli ve CİP orta duyarlı bir izolat (%0,9) saptandı. Bu izolat için olası topoizomeraz geninin QRDR 'sinde tek nokta mutasyon (Ser 83- Phe) ve *qnr* gen mutasyonları birlikte olabileceği gibi *aac(6')*-*lb-cr* ve *gcp A* gen mutasyonları da taşıyabileceğini düşündürmektedir. Bu direnci gösteren tek bir izolat olması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Bazı çalışmalarda *Salmonella* türlerinde *aac(6')*-*lb-cr* ve *qepA* gen mutasyonunun NOR ve CİP direncini etkilediğini, OFX ve LEV MİK değerlerini yükseltebileceğini belirtilmiştir (Deak ve ark., 2015a, Cavaco ve Aarestrup, 2009 - Yamane ve ark, 2007). Başka

bir çalışmada da NOR (%5,8) ve CIP (%8,3) dirençli *Salmonella* türleri tespit edilmiştir (Zhao ve ark, 2016). Çalışmamızda tespit edilen altı farklı kinolona dirençli bir (%0,9) suş tespit edilmiştir. Bu suşun NA, PEF, OFX, LEV direnci için yukardaki çalışmalarda belirtilen olası direnç genlerinin yanında NOR ve CİP direnci için *aac(6')*-*lb-cr* ve *qepA* gen mutasyonlarını taşıyabileceğini de düşündürmektedir. Bu direnci gösteren tek bir izolat olduğu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Cavaco ve Aarestrup *Salmonella* türlerinin kinolon direnç belirleyicilerinin NA disk difüzyon sonuçları ve CİP MİK değerlerinin olduğunu belirtmektedir. Çünkü disk difüzyon yönteminde NA direnci *qnr* ve *aac(6')*-*lb-cr* direnç genlerini taşıyan *Salmonella* izolatlarını belirlemede etkili değildir. Bu genlerin mutasyonuna bağlı direncin tespiti için CİP ve NOR mikrodilüsyon testi gereklidir (Cavaco ve Aarestrup, 2009). NA direncinin aynı zamanda *Salmonella* suşlarında azalmış CİP duyarlılığını gösterebileceği belirtilmektedir (Çilli ve ark, 2006). Çalışmamızda yukarıdaki çalışmalara benzer şekilde NA dirençli suşlar sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle CİP dirençli (MİK > 0.06 mg/L) olarak saptandı. Bu suşlar aynı zamanda PEF'e de dirençli bulunması NA ve PEF disklerinin, CIP duyarlılığını doğru olarak temsil edebileceğini düşündürmektedir.

Salmonella 'larda *gryA* geninin QRDR'sindeki tek nokta mutasyon sonucu oluşan Ser-82 ile Phe, Ser 83 ile Tyr, Asp-87 ile Asn, Asp-87 ile Gly arasındaki yer değişikliğinin (Crump ve ark, 2015), *qepA*, eflüks pompa sistemi, *qnr* proteinleri ve *aac(6')*-*Ib-cr* gen mutasyonlarının (Hakanen ve ark., 2001; Sjölund- Karlsson ve ark, 2009), CIP duyarlılığını azalttığını belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalarda CİP duyarlılığının Güneydoğu Asya'da %3,9 dan %23,5 yükseldiğini (Hakanen ve ark., 2001), Malezya' da %30,7 (Thong ve ark, 2015), Brezilya'da % 23,01 oranında olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda azalmış CİP duyarlı izolat oranının (%10,3) diğer çalışmalardan daha düşük bulunması bu suşların yukarda belirtilen mutasyonlara sahip olabileceklerini düşündürmektedir. Ancak çalışmamızda fenotipik yöntemlerin kullanılması planlandığı için genotipik olarak bu direnç mekanizmaları araştırılmamıştır.

CİP disk difüzyon sonuçları ile MİK sonuçları arasında tutarsızlıkların görüldüğü çalışmalar vardır (Sjölund-Karlsson ve ark., 2014). Bir çalışmada 136 suşun 11 tanesinde

CİP MİK ≥ 1 ug/L bulunurken, CİP disk difüzyon sonucu orta duyarlı (21-30 mm) bulunmuştur (Deak ve ark. 2015). Çalışmamızda buna benzer olarak NA ve PEF dirençli bulunan 12 suşun 10 tanesinin siprofloksasin duyarlılığı disk difüzyon testiyle CLSI'a göre orta duyarlı, EUCAST'a göre mikrodilüsyon testiyle dirençli saptandı.

Yapılan çalışmalarla CİP MİK değerinin 0,12-0,5 mg/ L olması tek mutasyona bağlı iken iki veya daha fazla mutasyon CİP MİK değerini yükseltir (Sjölund-Karlsson ve ark, 2014; Skov ve ark, 2015). Bir çalışmada da 28 tane NA dirençli suşun 24 tanesinde CİP MİK değerleri 0,125-0,5 mg/L bulunmuşken, sadece 1 tanesinde CİP MİK değeri MİK ≥ 1 mg /L bulunmuştur (O'Donnell ve ark, 2014). Bizim çalışmamızda NA ve PEF dirençli 12 suşun 10 tanesinde sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle CİP MİK değerleri 0,12-0,5 mg/L olup tek nokta mutasyon, 2 tanesinin de CİP MİK değeri 1 mg/L olup iki veya daha fazla mutasyon geçirmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Florokinolon duyarlılığının belirlenmesinde sıvı mikrodilüsyon testi (MİK) ve E-test kullanılır. Genel eğilim olarak sıvı mikrodilüsyon yöntemine kıyasla E-testte daha yüksek ya da daha düşük değerler kaydedilmiştir (Fang ve ark, 2015). Bazı çalışmalarda E-test ile sıvı mikrodilüsyon teknikleri arasında uyumun % 89,6 olduğu bu tür farklılıkların olabileceğini belirtilmektedir (Fang ve ark, 2015; Deak ve ark, 2015a). Çalışmamızda sıvı mikrodilüsyon ve E-test ile çalışılan CIP duyarlılık MİK değerlerinde iki izolatta farklı değerler bulunmuştur. Bu suşlardan birinin; E-test MİK değeri 0,38 mg/L olup orta duyarlı, sıvı mikrodilüsyon MİK değeri 1 mg/L olup dirençli, diğer suşunda E-test MİK değeri 0,75 mg/L olup orta duyarlı, sıvı mikrodilüsyon MİK değeri 1 mg/L olup dirençli, EUCAST'ta göre ise sonuçların hepsi dirençlidir. Ayrıca bu suşların CİP MİK sonuçlarının dirençli tespit edilmesinde qnr gen mutasyonlarının etkili olduğu düşünülmüştür. Çünkü qnr geni düşük etkili kinolon direncini kodlar ve bu geni taşıyan suşlar fenotipik olarak direnç göstermeyebilirler (Cavaco ve Aarestrup, 2009). Ancak; EUCAST sınır değerlerinin kinolon direncinde kullanımı duyarlılık metodları arasındaki sonuç farklılıklarının da önüne geçmiştir.

Sonuç olarak *Salmonella* türlerinde kinolon direncinin belirlenmesinde sonuçlar kullanılan kinolon türüne, yöntemlere ve değerlendirmede kullanılan klavuzlara göre farklılık göstermektedir. *Salmonella* türlerinde kinolon direncinin tespitinde MİK testinin her

laboratuvarında yapılmaması ve siprofloksasine azalmış duyarlılığın disk difüzyon ile saptanamaması gibi nedenlerden dolayı bu direnç PEF diskinin kullanımıyla daha doğru saptanabilecektir. Ancak bu diskin *Salmonella*'larda sadece aac(6')-1b-cr gen mutasyonu ile kazanılan kinolon direncini saptamada yetersiz kalacağı, bu nedenle gerekli durumlarda diğer kinolonların direncinin belirlenmesi için her kinolonun ayrı ayrı test edilmesi gereklidir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Salmonella türlerine karşı gelişen kinolon direnci öncelikle bu grubun ilk üyesi olan NA'ya karşı gelişmektedir. Diğer kinolon türevlerine karşı duyarlı olsa bile gelişebilecek direnci göstermesi bakımından NA direncinin tespiti önemlidir. Çalışmamızda NA direncinin gösterilmesi gelişebilecek kinolon direni hakkında bilgi vermesi açısından önemli olmuştur. Kinolonlardan PEF duyarlılık sonuçlarıyla ilgili ülkemizde bilgi bulunmamaktadır. Bu antimikrobiyalin kabul edilebilir aralık değerleri EUCAST'ta belirtilmiştir. Son zamanlarda CİP azalmış duyarlılık gösteren *Salmonella* türlerinde tedavi başarısızlıkları bildirilmeye başlanmıştır. Bu yüzden klinik örneklerden izole ettiğimiz *Salmonella* türlerinin PEF direncinin belirlenip diğer kinolonlarla karşılaştırılması kinolonlar arası direncin farklılığının ortaya konması açısından önem taşımaktadır. Bu da tedavi protokollerinin oluşturulmasını etkileyebilir.

2015 yılında ülkemizde kullanılan CLSI klavuzundan Avrupa Birliğinde kullanılan EUCAST klavuzuna geçilmiştir. PEF, EUCAST'ta çalışılması önerilen kinolonlar arasındadır.

Çalışma yapılan *Salmonella* türlerinde PEF ve NA direncinin gösterilmesinin ileride diğer kinolonlara karşı oluşacak olası direnç gelişimini göstermesi açısından önemlidir. Bu nedenle çalışmada NA direncinin gösterilmesi, kinolonlara karşı gelişebilecek direnç hakkında bilgi vermesi çalışmanın özgüllüğü açısından önemlidir.

Çalışmada bundan sonraki aşamada dirençli bulunan suşların moleküler yöntemlerle direnç genlerinin tespiti önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Aarestrup FM, Wiuff C, Molbak K, Threlfall EJ. Is it time to change fluoroquinolone breakpoints for *Salmonella* spp.? *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47(2): 827–829.
- Aldred, KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of Quinolone Action and Resistance. *Biochemistry.* 2014; 53(10):1565–1574.
- Andriole VT. *The Quinolones.* Second Edition, USA, Academic Press. 1998; 1-54
- Andriole VT. The quinolones: past, present and future. *Clin Infect Dis* 2005; 41(2): 113-9.
- Anonim 2016 a: www.foodqualitynews.com
- Anonim 2016 b: www.tr.depositphotos.com
- Anonim 2016 c: www.wikidipedia.com
- Anonim 2016 d: <https://en.wikipedia.org/wiki/Trimethoprim/sulfamethoxazole>
- Aygün G. Akılcı Antibiyotikler II Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumda Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi No: 31. 2002:39-54
- Baron Jo E, Peterson RL, Finegold M. *S.Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology.* 9th edition, Mosby, Incorporated. 1994:362-385
- Baştürk S, Şengöz G, Kart Yaşar K, Yıldırım F. Gram Negatif Bakterilerin Eski ve Yeni Kinolonlara Duyarlılığı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2008;38 (2):56-60.
- Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı.* 4.Baskı, Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi 2004: 646-712.
- Bönemann G, Stiens M, Pühler A, Schlüter A. Mobilizable IncQ-related plasmid carrying a new quinolone resistance gene, qnrS2, isolated from the bacterial community of waste water treatment plant. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2006;50(9):3075-3080.
- Cattoir U, Nordmann P. Plazmid-mediated quinolone resistance in gram-negative bacterial species: An update. *Curr Med. Chem.* 2009; 51: 1028-1046.
- Cavaco LM, Hasman H, Xia, S, Aarestrup FM. qnrD, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovars Kentucky and Bovismorbificans of human origin. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2009; 53:603-608.

- Cavaco LM ve and Aarestrup FM. Evaluation of Quinolones for Use in Detection of Determinants of Acquired Quinolone Resistance, Including the New Transmissible Resistance Mechanisms qnrA, qnrB, qnrS, and aac(6')Ib-cr, in Escherichia coli and Salmonella enterica and Determinations of Wild-Type Distributions. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009; 47(9): 2751–2758.
- Cengiz M. Bakterilerde Kinolon Direncinin Genetiği. *Uludağ University J Fact.Vet. Med*. 2010; 29(1):55-60.
- Chen HM, Wang Y, Su LH, Chiu CH. Nontyphoid Salmonella Infection: Microbiology, Clinical Features and Antimicrobial Therapy. *Pediatrics and Neonatology*. 2013;54(3):147-152.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility Testing; 24th informational supplement. CLSI document M100-S24. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 25th informational supplement. CLSI document M100-S25. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Crump JA, Sjolund-Karlsson M, Gordon MA, Parry CM. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance and Antimicrobial Management of Invasive Salmonella Infections. *Clinical Microbiology*. 2015;28(4):901–916.
- Çilli F, Aydemir Ş, Akıncı P, Tünger A. Salmonella enterica kökenlerinde azalmışiprofloksasin duyarlılığı ve nalidiksik asit tarama testi.*Turkish Journal Infection*. 2006;20(2):103-106.
- Çıragil P. Gastroenteritte Aerobik Patojenler için Dışkı Kültürü.Isenberg HD. Baş ustaoğlu A, Yıldırım ŞT. Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El Kitabı. Üçüncü Baskı. Santa Monica, California.Garcia LSG & Associates, 2007;
- Deak E, Skov R, Hindler JA, Humphries RM. Evaluation of Surrogate Disk Tests for Detection of Ciprofloxacin and Levofloxacin Resistance in Clinical Isolates of Salmonella enterica.*Journal of Clinical Microbiology*. 2015(a); 53(11):3405-3410
- Deak E, Hindler JA, Skov R, Sjolund-Karlsson M, Sokoviç A, Humphries RM Performance of E-test and Disk Diffusion for Detection of Ciprofloksacin and Levofloksacin Resistance in Salmonella enterica. *Journal of Microbiology*. 2015(b); 53(1):298-301

- Dündar V. Norfloksasin, Pefloksasin ve Klinik Kullanımı. *Klinik dergisi*. 1992; 5(1): 29-32.
- Eaves D J, Randall L, Gray DT, Buckley A, Woodward MJ, White AP, Piddock LJV. Prevalence of mutations within the quinolone resistance-determining region of *gyrA*, *gyrB*, *parC*, and *parE* and association with antibiotic resistance in quinolone-resistant *Salmonella enterica*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 2004; 48(10): 4012-4015.
- Ercis S, Erdem B, Haşçelik G, Gür D. Nalidixic Acid Resistance in *Salmonella* Strains with Decreased Susceptibility to Ciprofloxacin isolated from Humans in Turkey. *Jpn J. Infect. Dis.* 2006; (59): 117-119.
- Erdem B, Haşçelik G, Gedikoğlu S ve ark. *Salmonella enterica* serotipleri ve *Salmonella* enfeksiyonları: Türkiye’den on ili kapsayan çok merkezli bir çalışma. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 2004; 38(3):173-86.
- Erdoğan H., Erdoğan A., Arslan H. Türkiye’nin Güneyindeki Bir Tatil Bölgesinde İzole Edilen *Salmonella* Suşlarında Antimik-Robiyal Direnç Oranları. *Nobel Med* 2016; 12(1): 30-34
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2015. Routine and Extended Internal Quality Control As Recommended by EUCAST, version 5.0. Fang FC. Fluoroquinolone resistance in *Salmonella* and the utility of pefloxacin disk diffusion. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015;53(11):3401-3404.
- Ferrari R, Galiana A, Cremades R, Rodríguez JC, Magnani M, Tognim MC, Oliveira TC, Royo G. Plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) and mutations in the topoisomerase genes of *Salmonella enterica* strains from Brazil. *Braz J Microbiol*. 2013;44(2):651-656.
- Fish DN, North DS: Gatifloxacin, an advanced 8-methoxy fluoroquinolone. *Pharmacotherapy* 2001;21(1):35-59.
- Gülay Z. Kinolonlarda direnç problemi. *Ankem Derg*. 2002;16(3):232-237.
- Gülmez D, Gür D, Haşçelik G, Güleşen R, Levent B. Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağına (UEPLA) dâhil olan bir üniversite hastanesinin deneyimleri: Dört yıllık *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* verileri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 2012; 42(3): 85-92.
- Hakanen A, Lindgren M, Huovinen P, Jalava J, Siitonen A, Kotilainen P. New Quinolone Resistance Phenomenon in *Salmonella enterica*: Nalidixic Acid-Susceptible Iso-

- lates with Reduced Fluoroquinolone Susceptibility. *J Clin Microbiol.* 2005;43(11):5775-5778.
- Hakanen A, Kotilainen P, Huovinen P, Helenius H, Siitonen A. Reduced Fluoroquinolone Susceptibility in *Salmonella enterica* Serotypes in Travelers Returning from Southeast Asia. *Emerging Infectious Diseases.* 2001;7(6):996-1001
- Harish BN, Menezes GA. Antimicrobial resistance in typhoidal salmonellae. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 2011;29(3): 223-229.
- Hinder FJ, Munro S. Antimicrobial Susceptibility Testing Preparation of Agar and Broth Media Used in Routine Antimicrobial Susceptibility Tests. Garcia LS, Chief, Henry D, editors. *Clinical Microbiology Procedures Handbook.* Third Edition, USA, ASM Press, 2010 ; 956-965.
- Hooper DC, Strahilevitz J. Quinolones. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practices of Infectious Diseases, 7th Edition.* Philadelphia, Elsevier Churchill Livingstone. 2010; say: 411, say: 419-439 say: 487-510.
- Hooper DC. Emerging Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance. *Emerging Infectious Diseases.* 2001;7(2):337-341.
- Hooper DC and Jacoby GA. Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Annals Of The New York Academy Of Sciences.* 2015; 1354:12–31.
- Hurst M, Lamb HM, Scott LJ, Figgitt DP. Levofloxacin: an updated review of its use in the treatment of bacterial infections. *Drugs.* 2002;62(14):2127-67.
- Humphries RM, Fang FC, Aarestrup FM, Hindler JA. In vitro susceptibility testing of fluoroquinolone activity against *Salmonella*: Recent changes to CLSI standards. *Clinical Infectious Diseases.* 2012;55(8):1107–1113.
- ISO. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems — Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases. ISO Standard 20776-1. Switzerland: International Organization for Standardization; 2006.
- Kim ES ve Hooper DC. Clinical Importance and Epidemiology of Quinolone Resistance. *Infection & Chemother.* 2014;46(4):226-238.

- Kim JH, Cho JK, Kim KS. Prevalence and characterization of plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Salmonella* isolated from poultry in Korea. *Avian Pathol.* 2013; 42(3):221-229.
- Koneman EW, Winn WC Jr, Allen SD, William Janda WM, Procop G, Schreckenberger PC, Woods G. *Koneman's Color and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Sixth Edition, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 1997; 251-254.
- Kozoderović G, Velhner M, Jelesić Z, Golić N, Lozo J, Kehrenberg C. Prevalence of quinolone resistance and mutations in the topoisomerase genes in *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolates from Serbia. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2012;40(5):455-457.
- Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. *Antibiyotikler*. Ankara, 1. Baskı, Bilimsel Tıp Yayınevi 2003; say:275-287, say:253-267, say:267-275, say:381-393.
- Leblebicioğlu H. Yeni Kinolonlarda Mikrobiyolojik ve Klinik Etkinlik. *ANKEM Derg.* 2002;16(3):226-231.
- Levent B, Güleğen R, Kalaycıoğlu H, Sezen F, Gözalan A. On behalf of UEPLA participants. National Enteric Pathogens Laboratory-based Surveillance Network (UEPLA) in Turkey, 22 nd ECCMID, Londra, 2012; 698.
- Lunn AD, Fàbrega A, Sánchez-Céspedes J Vila J. Prevalence of mechanisms decreasing quinolone-susceptibility among *Salmonella* spp. clinical isolates. *International Microbiology* .2010; 13:15-20.
- Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet.* 1998; 351(9105): 797-799.
- Medalla F, Sjölund-Karlsson M, Shin S, Harvey E, Joyce K, Theobald L, Nygren BN, Pecic G, Gay K, Austin J, Stuart A, Blanton E, Mintz ED, Whichard JM, Barzilay EJ. Ciprofloxacin-resistant *Salmonella enterica* Serotype Typhi, United States, 1999-2008. *Emerging Infectious Disease journal.* 2011;17(6):1095-1098.
- M02-A12 Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard Twelfth Edition (2015) This document contains the current Clinical and Laboratory Standards Institute recommended methods for disk susceptibility testin criteria for quality control testing and updated tables for interpretive zone diameters.
- M07-A10: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standart –Tenth Edition (2015) This standard addresses

reference methods for the determination of minimal inhibitory concentrations of aerobic bacteria by broth macrodilution, broth microdilution and agar dilution.

- Nataro JP, Bopp CA, Fields PI, Kaper JB, Strockbine NA. Echerichia, Shigella ve Salmonella.Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA.Çeviri Editörü; Başustaoğlu A.C. Yardımcı Çeviri Editörleri; Yıldırım ŞT, Tanyüksel M, Yapar M. Manual of Clinical Microbiology, 9.Baskı, Atlas Kitapçılık,Ankara. 2009;(1): 671-687.
- Nazik H, Öngen B. Türkiye’de Plazmit Aracılı Kinolon Direnci Ankem Derg 2010; 24(1): 46-54.
- Osawa K, Shigemura K, Shimizu R, Kato A, Kimura M. Katayama Y, Okuya Y, Yutaka S, Nishimoto A, Kishi A, Fujimara M, Yoshida H, Lijima Y, Fujisawa M, Shirakawa T. Antimicrobial Resistance in Salmonella Strains Clinically Isolated in Hyogo, Japan (2009–2012). Jpn. J. Infect. Dis. 2014; 67:54-57
- O’Donnell AT, Vieira AR, Huang JY, Whichard J, Cole D, Karp BE. Quinolone – Resistant Salmonella enterica Serotype Enteritidis Infections Associate with International Travel.Clinical Infectious Diseases Advance Access. 2014;59(9):139-141
- Popoff MY.Antigenic formulas of the Salmonella Serovars, 8 the edition.WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella Pasteur Institute, Paris France. 2001
- Popoff MY, Bochkemühl J, Brenner FW. Supplement 1998 (no.42) to the Kauffmann-White scheme. Res Microbiol.2000;151:63-64.
- Popoff MY. Le Minor L. Antigenic formulas of the Salmonella serovars.7 th Rev. Paris: World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella Pasteur Institutue.1997.
- Penner JL.İnternationall Commitee on Systematic Bacterology Taxonomic Subcommittee on Enterobacteriaceae.Int J Syst Bacteriol.1988; 38:223-224.
- Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC: The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. Lancet Infect Dis 2006; 6(10):629 – 640.
- Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA et al: Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. Nature Medicine. 2006;12(1):83-88.

- Sjölund-Karlsson M, Folster JP, Pecic G, Joyce K, Medalla F, Rickert R, Whichard JM. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance among non-Typhi *Salmonella enterica* isolates from humans in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53(2):2142–2144.
- Sjölund-Karlsson M, Howie RL, Crump JA, Whichard JM. Fluoroquinolone susceptibility testing of *Salmonella enterica* detection of acquired resistance and selection of zone diameter breakpoints for levofloxacin and ofloxacin. *J Clin Microbiol.* 2014; 52(3):877-884
- Skov R, Matuschek E, Sjölund-Karlsson M, Ahman J, Petersen A, Stegger M, Torpdahl M, Kahlmeter G. Development of a Pefloxacin Disk Diffusion Method for Detection of Fluoroquinolone-Resistant *Salmonella enterica*. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53(11):3411-3417.
- Sırıken B. *Salmonella* patojenite adaları. *Mikrobiyol Bul.* 2013; 47(1): 181-188.
- Stevenson JE, Gay K, Barrett TJ, Medalla F, Chiller TM, Angulo FJ. Increase in Nalidixic Acid Resistance among Non-Typhi *Salmonella enterica* Isolates in the United States from 1996 to 2003. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 ;51(1):195-197.
- Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, Robicsek A. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin. Microbiol Rev.* 2009; 22(4):664–689.
- Su LH, Chiu CH. *Salmonella*: Clinical Importance and Evolution of Nomenclature. *Chang Gung Med J.* 2007; 30(3):210-219.
- Su LH, Wu TL, Chiu CH. Development of carbapenem resistance during therapy for non-typhoid *Salmonella* infection. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18(4): E91–E94.
- Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS) *Salmonella* Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojik Tanısı 01.01.2015 / Sürüm: 1.1 / standart no: B-MT-08.
- Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS) Antimikrobiyal-Duyarlılık (AMD) Testlerinde Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması Standart No : AMD-TP-01 Sürüm No 1.0 Onay tarihi 01.01.2015.
- Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Mikrobiyoloji Standartları MIK Saptama Yöntemleri AMD Testleri / Test Prosedürleri / Standart No: AMD-TP-04 / Sürüm: 1.0 / 01.01.2014.

- Thong KL, Ngoi ST, Chai LC, Teh CS. Quinolone Resistance Mechanisms Among *Salmonella enterica* in Malaysia. *Microbial Drug Resistance*. 2015.
- Ulusoy S. 1986'dan 2010'a Kinolonlar. *ANKEM Derg.* 2010;24 (Ek 2): 96-100.
- Ustaçelebi Ş, Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö. Temel Ve Klinik Mikrobiyoloji Ankara Güneş Kitabevi,. 1999; 489-500
- Utrarachkij F, Nakajima C, Siripanichgon K, Changkaew K, Thongpanich Y, Pornraungwong S, Suthienkul O, Suzuki Y. Genetic diversity and antimicrobial resistance pattern of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis clinical isolates in Thailand 2016;22(4):209-215.
- Vazgeçer B, Temiz A. *Salmonella İzolasyonu ve Tanımlanması. Mikrobiyoloji Dergisi.* 2005; 3(4) : 1-27.
- Veldman K, Cavaco LM, Mevius D, Battisti A, Franco A, Botteldorn N, Brunea M, Perrin- Guyomard A, Cerny T, Escobar CDF, Guerra B, Scroheder A, Gutierrez M, Hopkings K, Myllyniemi A, Sunde M, Wasly D, Aerestrup FM. International collaborative study on the occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolated from animals, humans, food and the environment in 13 European countries. *Antimicrob Chemother.* 2011; 66:1278–1286.
- Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Konda T, Arakama Y. New plasmid mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(9):3354-3360.
- Zhao JY, Zhang YK, Xie ZQ, Pan JJ, Su J, Mu YJ, Huang XY, Zhang BF, Xia SL. Characteristics of drug resistance and molecular typing research for *Salmonella* Enteritidis isolated in Henan province from 2011 to 2013. *Zhonghua yu Fang yi xue za zhi* 2016; 50(3):261-265.
- Zottola T, Montagnaro S, Magnapera C, Sasso S, De Martino L, Bragagnolo A, D'Amici L, Condoleo R, Pisanelli G, Lovane G, Pagnini U. Prevalence and antimicrobial susceptibility of salmonella in European wild boar (*Sus scrofa*); Latium Region - Italy. *Elsevier Comparative Immunology, Microbiology and Infection Diseases.* 2013 ;36(2):161-168.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Duygu ZARİ KAN

Doğum Yeri: Samsun

Doğum Tarihi: 28.07.1974

Medeni Hali:Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
1995

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez
Laboratuvarı 1997-2000

İstanbul Bölge Hıfzısıhha Enstitüsü Laboratuvarları
2000-2013

Samsun Halk Sağlığı Laboratuvarı 2013-

E-posta:duyguzarikan55@gmail.com