

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**TAVUK ETLERİNDE GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAM
ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİ ENTERİK BAKTERİLERİN
İDENTİFİKASYONU VE DİRENÇ PROFİLLERİNİN TESPİTİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Birsen SARICI
B12121212221**

**Gıda Güvenliği ve Beslenme Anabilim Dalı
Gıda Güvenliği Programı**

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR

EYLÜL 2015



T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Yüksek Lisans Tez Onay Belgesi

Enstitümüz Gıda Güvenliği Ana Bilim Dalı Gıda Güvenliği Tezli Yüksek Lisans Programı Y1313.210018 numaralı öğrencisi Birsen SARICI'nın "TAVUK ETLERİNDE GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİ ENTERİK BAKTERİLERİN İDENTİFİKASYONU VE DİRENÇ PROFİLLERİNİN TESPİTİ" adlı tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 01.09.2015 tarih ve 2015/19 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından *oy birliği* ile Tezli Yüksek Lisans tezi olarak *Kabul* edilmiştir.

Öğretim Üyesi Adı Soyadı

İmzası

Tez Savunma Tarihi :18/09/2015

1)Tez Danışmanı: Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR

2) Jüri Üyesi : Prof. Dr. Güner ARKUN

3) Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Burcu ÇAKMAK

Not: Öğrencinin Tez savunmasında **Başarılı** olması halinde bu form **imzalanacaktır**. Aksi halde geçersizdir.

YEMİN METNİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum ‘Tavuk Etlerinde Geniş Spektrumlu Beta Laktam Antibiyotiklere Dirençli Enterik Bakterilerin İdentifikasyonu ve Direnç Profillerinin Tespiti’ başlıklı bu çalışmayı tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadar ki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve etik geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin bibliyografyada gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve ve onurumla beyan ederim

Birsen SARICI

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi ve değerlendirilmesi aşmalarında her türlü desteği sağlayan, katkılarıyla yol gösteren, deneyimleriyle ışık tutan ve değerli birikimlerinden faydalandığım tez danışmanım Prof.Dr. Haydar Özpınar'a tez çalışmamın tüm basamaklarında yardımını benden esirgemeyen değerli arkadaşım İsmail Hakkı Tekiner'e, hayatım boyunca yanımda olan ve beni eğitim adına hep destekleyen sevgili ablalarım, "Olmasaydı tüm bunları asla yapamazdım" diyeceğim kadar hayatımın her noktasında beni destekleyen hakkı ödenemez eşime, annelik görevimi aksatmama rağmen beni sevmekten vazgeçmeyen çocuklarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Birsen SARICI

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
KISALTMALAR.....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Türkiye’de ve Dünya’da Tavuk Sektörüne Genel Bakış.....	3
2.2. Tavuk Yetiştiriciliğinde Antibiyotik Kullanımı.....	5
2.3. Tavuk Etlerinde Mikrobiyolojik Kalite.....	8
2.3.1. Türk Gıda Kodeksi Kriterleri.....	9
2.4. <i>Enterobacteriaceae</i>	10
2.4.1. <i>Enterobacteriaceae</i> Genel Özellikleri.....	10
2.4.2. <i>E. coli</i>	11
2.4.3. <i>K. pneumoniae</i>	11
2.4.5. <i>Citrobacter spp.</i>	12
2.5. Antibiyotikler.....	13
2.5.1. Beta-Laktam Antibiyotikler.....	13
2.6. Antibiyotik Direnci.....	17
2.6.1. Beta-Laktamlara Direnç.....	20
2.6.1.1. Beta Laktam Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları.....	21
2.6.1.2. Beta-Laktamaz Enzim İnhibitörleri ve Enzim İlaç Aktivasyonu.....	21
2.6.2.1. GSBL Tipleri.....	25
2.7. GSBL Tanı Yöntemleri.....	26
2.7.1. GSBL Tarama Testleri.....	27
2.7.2. GSBL Doğrulama Testleri.....	27
2.8. Tavuk Etlerinde GSBL Üreten Enteobakterilerin Epidemiyolojisi.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
3.1. Gereç.....	37
3.1.1. Kontrol Suşları.....	37
3.1.2. Katı besiyerleri.....	38
3.1.3. Kullanılan Alet, Cihaz ve Malzemeler.....	40
3.2. Yöntem.....	41
3.2.1. Numune Hazırlama.....	41
3.2.3. Selektif Zenginleştirme.....	42
3.2.4. Saflaştırma.....	42
3.2.5. Oksidaz Testi.....	43

3.2.6. Fenotipik Yöntemler	43
3.2.6.1.Disk Difüzyon Testi.....	43
3.2.6.2.Disk Difüzyon Konfirmasyonu Testi	44
3.2.7.Vitek® MS ile Tiplendirme	45
3.2.8.Antibiyotik Doğrulama ve MİK Değerlerinin Tayini.....	46
4.BULGULAR	47
4.1.Selektif Zenginleştirme Sonuçları.....	47
4.2.Oksidaz Testi Sonuçları.....	47
4.3. VITEK® MS (bioMérieux) ile Tiplendirme Sonuçları.....	47
4.3.Fenotipik Sonuçlar	48
4.3.1. Disk Difüzyon Testi Sonuçları	48
4.3.2.Disk Difüzyon Konfirmasyonu Testi Sonuçları.....	48
4.4. Antibiyogram Doğrulama ve MİK Tayini Sonuçları	51
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	57
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	77

KISALTMALAR

CAZ	Seftazidim
CTX	Sefotaksim
CPD	Sefpodoksim
CAZ CV	Seftazidim Klavulonik Asitli
CTX CV	Sefotaksim Klavulonik Asitli
CPD CV	Sefpodoksim Klavulonik Asitli
CLSI	Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
DNA	Deoksiribonükleikasit
dk	Dakika
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu
ESBL	Extended Spectrum beta-Lactamases
EE	<i>Enterobacteriaceae</i> Enrichment (özenleştirme besiyeri)
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç dairesi
GSBL	Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar
KNS	Koagülaz negatif stafilokoklar
MHA	Müller Hinton Agar
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
OMP	Outer Membran Protein
RNA	Ribonükleikasit
PBP	Penisilin bağlayan protein
TSA	Tryptic Soy Agar
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Yıllara Göre Antibiyotik Büyütme Faktörlerinin Yasaklanması	7
Çizelge 2.2. Çiğ Et Ürünlerinde Türk Gıda Kodeksi Mikroorganizma Kriterleri	9
Çizelge 2.3. Yıllara göre antibiyotiklere karşı gelişen direnç	19
Çizelge 2.4. Beta laktamazların tercih edilen sübstrat lara göre sınıflandırılması	24
Çizelge 2.5. GSBL Tipleri	26
Çizelge 2.6. GSBL Refersans Zon Çapları	27
Çizelge 2.7. Yöntemlerin karşılaştırılması	32
Çizelge 3.2. Kontrol suşları	38
Çizelge 3.4. Mueller Hinton Agar (MHA) kompozisyonu	38
Çizelge 3.5. Tripton Soy Agar (TSA) kompozisyonu	39
Çizelge 3.7. Kullanılan antibiyotik diskler	43
Çizelge 4.1. Disk Tarama Sonuçları	50
Çizelge 4.2. Antibiyogram Doğrulama Sonuçları	52
Çizelge 4.3. GSBL Tarama ve Konfirmasyon Metotları sonuçlarının Karşılaştırılması	53
Çizelge 4.4. Numune cinsi bazında GSBL pozitif izolatların durumu	54
Çizelge 4.5. GSBL pozitif tanımlanmış enterobakterilerin dağılımı	55
Çizelge 5.1. GSBL pozitif tanımlanmış enterobakterilerin dağılımı	58

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Türkiye’de yıllara göre kişi başına düşen piliç eti tüketimi	3
Şekil 2.2.Dünyadaki tavuk üretim miktarı ve bölgesel dağılımı	4
Şekil 2.3.Dünya piliç eti ticaretinde Türkiye, nin yıllara göre durumu	5
Şekil 2.4.E.coli	11
Şekil 2.5. Sefalosporinlerin Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerindeki etkileri	15
Şekil 2.6. Yıllara göre antibiyotiklere karşı direnç geliştiren bakteriler.....	18
Şekil.2.7. Konjugasyonla genetik yapının aktarılması	20
Şekil 2.8. Beta laktamazların Ambler sınıflandırması	23
Şekil.2.9. Kombine disk yöntemiyle oluşmuş zon görüntüleri	28
Şekil 2.10. Kombine disk yönteminde oluşmuş direnç görüntüsü.....	28
Şekil.2.11. E test yöntemiyle oluşmuş direnç zonları.....	29
Şekil 2.12. Mikrodilüsyon yöntemi	30
Şekil 2.13.Antibiyotik direncinin yayılması	33
Şekil. 3.1.Kültür bazlı çalışma	41
Şekil 3.2.GSBL şüpheli pembe koloniler	42
Şekil 3.3.GSBL şüpheli mavi koloniler	42
Şekil 3.4. Kullanılan antibiyotik diskler ve disk difüzyon çalışması	44
Şekil 3.5. Disk Difüzyon Konfirmasyonu Testi Zon Ölçümleri	45
Şekil 3.6 Vitek®MS cihazı ve slaytların cihaza yerleştirilmesi.....	45
Şekil 3.7. Multiskan spektrofotometre.....	46
Şekil 4.1. Tiplendirme sonuçları	48
Şekil.4.2.Kesinleşen sonuçlara göre sakatat ve karkastaki GSBL pozitif mikroorganizma dağılımı	54
Şekil 4.3.GSBL pozitif izolatların tür dağılımı.....	55

TAVUK ETLERİNDE GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİ ENTERİK BAKTERİLERİN İDENTİFİKASYONU VE DİRENÇ PROFİLLERİNİN TESPİTİ

ÖZET

Geniş spektrumlu beta laktamaz (GSBL)-üreten enterobakterilerin yol açtıkları infeksiyonlar ve bu infeksiyonlara bağlı gelişen ölümler Dünya çapında bir problem olmaktadır. GSBL tipi enzimler penisilinler, sefalosporinler ve monobaktamlar gibi antibiyotikleri hidroliz eden enzimlerdir. GSBL-pozitif enterobakteriler yalnızca hastane ve toplumsal kaynaklı değil, hayvansal kaynaklı gıdalar aracılığıyla da yayılmaktadır. Bu nedenle önemli bir gıda güvenliği ve halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir. Beta-laktam antibiyotiklerin yaygın ve bilinçsiz kullanımı GSBL-üreten bakterilerin yayılmalarında en önemli faktörlerdendir. Tavukçuluk sektöründe koruyucu ve tedavi amaçlı antibiyotik kullanımının yüksek olduğu bilinmektedir. Genel amaçlı ve disk yaklaşımli GSBL tarama testlerinin duyarlılık ve özgüllükleri düşük olduğu için, bulguların antibiyogram doğrulama ve MİK tespiti ile doğrulanması gerekmektedir. Bu araştırmada tavuk etlerinden izole edilen GSBL-üreten enterobakteriler Clinical and Laboratory Standards Institute talimatları takip edilerek fenotipik olarak incelenmiştir. 2014 yılı içinde Marmara Bölgesi ve İstanbul ilinde yerleşik marketler, halk pazarları ve tavuk yetiştirme çiftliklerinden toplam 109 adet tavuk eti ve sakatat örnekleri toplanmıştır. Toplanan örnekler ön zenginleştirme işleminden sonra kromojen GSBL Agar'da selektif zenginleştirme işlemine alınmıştır. Selektif agarda gelişen izolatlar oksidaz testi uygulanmış ve oksidaz negatif GSBL şüpheli izolatlar seçilmiştir. GSBL şüpheli izolatlar Vitek MS (bioMerieux) kütle spektrometresi ile tiplendirilmiştir. Tiplendirmesi yapılan GSBL şüpheli izolatların doğrulamaları Merlin Micronaut-S beta-lactamase VII Kit talimatı takip edilerek yapılmış, MIC okumaları multiscan spektrometre ile alınmış ve veriler Sifin MIC yazılımı ile otomatik olarak değerlendirilmiştir. Tüm fenotipik testler Clinical and Laboratory Standards Institute talimatlarına göre tamamlanmıştır. Disk difüzyon doğrulama ve MİK tespiti sonuçlarına göre toplam 33 adet şüpheli izolat kesin GSBL pozitif olarak tespit edilmiştir. Disk difüzyon taraması izolatların %96,6 CPD, %87,8 CTX ve %45,4 CAZ'a dirençli iken, disk difüzyon konfirmasyonuna göre %93 CPD±CLA'a, %90 CTX±CLA ve %72 CAZ±CLA'a dirençli bulunmuştur. GSBL pozitif izolatlar arasında en baskın fenotip %84,8 *E. coli*, %6,1 *K. pneumoniae*, %6,1 *E. cloacae* ve %3,0 *C. werkmanii* olarak tanımlanmıştır. İki *E.coli* suşunun eş zamanlı GSBL ve Amp-C beta-laktamazları ürettikleri tespit edilmiştir. MİK değerlerine göre izolatların %63,6'sı CAZ'a (16-128 µg/mL) ve %72,7'si CTX'e (≥128 µg/mL) kesin dirençli oldukları görülmüştür. İncelenen tavuk eti örneklerinin GSBL-üreten Enterobacteriaceae suşların varlıkları bakımından risk teşkil ettikleri, bu tip dirençli bakterilerin yayılmalarından tavuk etlerinin önemli rolleri oldukları ve bu tür beta-laktamazları kodlayan direnç genlerinin plazmid aracılı mekanizmalar aracılığıyla türdeş ve farklı bakterilere transfer edilebilecekleri göz önünde bulundurulmalıdır. Sonuç olarak; antibiyotik dirençliliğin yayılmasında hayvansal kaynaklı gıdaların olumsuz etkileri olduğu bu çalışmada ortaya konulmuştur.

Anahtar sözcükler: Enterobacteriaceae, GSBL, Tavuk eti, Gıda Güvenliği, Halk Sağlığı

IDENTIFICATION OF CHICKEN-RELATED ENTEROBACTERIACEAE RESISTANT TO EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAM ANTIBIOTICS AND DETERMINATION OF RESISTANCE PROFILES

ABSTRACT

Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae associated infectious diseases as well as higher rates of mortality are becoming a problem in the World. ESBLs are the enzymes that inactivate a broad range of antibiotics, including penicillins, cephalosporins, and monobactams through hydrolysis. ESBL-positive enterobacteria can disseminate through foods of animal origin, not only in clinical and community settings. This situation is, therefore, considered to be a severe issue for both food safety and public health policies. Intensive and overuse of modern beta-lactam antibiotics are one of the major factors for the wide spread of ESBL-producing bacteria worldwide. In the poultry sector, the antibiotics are widely and extensively used in preventive medicine and disease-treatment. The sensitivity and specificity of disc-approximation testing methods are relatively low. Thus, the findings need to be verified by disc-diffusion testing, including MIC determination for ESBL determination. In this study, ESBL-producing Enterobacteriaceae from the raw chicken meat samples was phenotypically analyzed according to the Guidelines by Clinical and Laboratory Standards Institute. A total of 109 samples, including carcass and offal parts, was collected from markets, public bazaars, and chicken farms located in the region of Marmara, including İstanbul district during the year 2014. After pre-enrichment, the suspensions were selectively enriched in chromogen ESBL agar. The presumptive isolates were exposed to oxidase testing, and the oxidase negative ones were identified by Vitek MS (bioMérieux). After that, the isolates were initially subjected to disc diffusion testing, then subsequently to disc diffusion confirmation using ceftazidim (CAZ), cefotaxime (CTX), and cefpodoxime (CPD) with/without clavulanate (CLA) discs. The suspected isolates were confirmed for ESBL production by Merlin Micronaut-S beta-lactamase VII Kit. The MIC readings were obtained by a multiscan spectrometer, and the readings were automatically analyzed by Sifin MIC software. All the phenotypic testing was performed according to the Guidelines by Clinical and Laboratory Standards Institute. The results showed that 33 ESBL-suspected isolates were confirmed as positive ESBL-producers according to disc diffusion confirmation and MIC determination testing. Based on disc-diffusion testing, the phenotypic resistances against CPD, CTX, and CAZ were found as 96.6%, 87.8%, and 45.4%, respectively. The disc diffusion confirmation revealed that the resistances were determined to be 93% in CPD±CLA, 90% in CTX±CLA, and 72% CAZ±CLA. Of 33 ESBL-positive isolates, the most common phenotype was 84,8% *E. coli*, followed by 6.1% *K. pneumoniae*, 6.1% *E. cloacae*, and 3.0% *C. werkmanii*. Two *E. coli* strains of 33 isolates was also detected to be simultaneously positive for ESBL and Amp-C production. The MIC values revealed that 63.6% of the isolates were resistant to CAZ (16-128 µg/mL), and 72.7% to CTX (≥128 µg/mL). The tested samples of raw chicken meat harboring ESBL-producing Enterobacteriaceae presented a severe risk, with a major role for the dissemination and transfer of ESBL-encoding genes among the identical and/or different species through specific mechanism of plasmid mediated. To conclude, this study suggested that the foods of animal origin may possibly potential reservoirs for the spread of antibiotic resistance.

Keywords: Enterobacteriaceae, ESBL, Chicken meat, Food safety, Public health

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda tavuk eti ucuz, sağlıklı ve besleyici olması nedeniyle toplumun tüm kesimleri ve tüm yaş gruplarında sıkça tüketilen önemli bir gıda kaynağı olmuştur. Yüksek protein ve düşük yağ içeriğine sahip olması, uygun bir doymamış yağ asidi kompozisyonu ve bütün aminoasitleri içermesi, özellikle fiyat açısından ucuz oluşu nedeniyle diğer et ürünlerine oranla tavuk etinin daha fazla tüketilmesini sağlamaktadır (Mead, 2000).

Kanatlılar üzerinde 1949 yılında yapılan bir deneyde antibiyotiklerin bu hayvanlarda büyümeyi arttırdığı tesadüfen fark edilmiş ve bu farkındalık antibiyotiklerin çiftlik hayvanları üzerinde büyüme faktörü olarak kullanılmasında milat olmuştur (Aydın ve Koçak, 1999). Artan talep karşısında tavuk sektörü üretimi hızlandıracak karma yemler ve büyüme faktörü olarak antibiyotiklere yönelmiştir. Bu amaçla hem büyümeyi hızlandırıcı, hem de hastalıkları önleyici özelliğinden dolayı yemlere büyüme faktörleri ilave edilmeye başlanmıştır (Küçükersan, 2002).

Antibiyotiklerin insanlarda sıkça ve yanlış kullanımı ve hayvan üretiminde özellikle profilaktik ve büyümeyi hızlandırıcı olarak kullanımı ile beraber canlıların bağırsağında kommensal olarak yaşayan enterik patojen bakterilerin zamanla bu antibiyotiklere karşı direnç geliştirmeye başladığı görülmüştür (Smet ve ark., 2008; Phillips ve ark., 2004; Hammerum ve Heuer, 2009).

Yan etkilerinin azlığı ve etki mekanizmasının iyi oluşu nedeniyle yoğun kullanılan beta laktam antibiyotiklere karşı geliştirilen direnç, özellikle klinik açıdan halk sağlığı sorunu ve biyolojik tehlike olarak rapor edilmiştir (EFSA, 2011). Hayvanlarda antibiyotik kullanımı devam ettiği sürece hayvanlardan sağlanan gıdalardaki dirençli bakterilerin iyi pişirilmemiş gıdalar veya çapraz kontaminasyonla insanlara geçmesi kaçınılmaz olmuştur (Can ve Çelik, 2008).

GSBL'ler beta laktam antibiyotiklere karşı bakterilerin oluşturduğu enzimlerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalar hayvansal gıdaların GSBL üreten enterobakteriler için bir depo görevi gördüğünü rapor etmiştir (Carattoli, 2008).

GSBL üreten enterobakterilerin çoğunlukla kümes hayvanlarında ve perakende tavuk etinde yaygınlığı birçok ülkede araştırma konusu olmuştur (Blanc ve ark., 2006; Lavilla ve ark., 2008; Smet ve ark., 2008; Randall ve ark., 2011). *Enterobacteriaceae* familyasından olan *Escherichia coli* son on yılda artan oranda geniş spektrumlu beta laktam direnci geliştirmiştir (Smet ve ark., 2009). Bu direnç bütün hayvansal türlerinden izole edilen suşlarda gözlenmiştir. Ancak özellikle kanatlı besin hayvanlarında yoğundur (Bortolaia ve ark., 2010; Diarrassouba ve ark., 2007; Kojima ve ark., 2009; Smet ve ark., 2008). Kümes hayvanlarındaki kontaminasyonun, et ürünlerinin kesimi sonrası iç organlarının çıkarılması sırasında kirlenmiş su veya ete kirliliği ellerle dokunulması yoluyla kolaylıkla olabileceği düşünülmektedir (Alvarez-Fernandez ve ark., 2013). GSBL dirençli enterobakterilerin gıdalarda giderek yaygınlaşması enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde önemli bir tehdit oluşturmaktadır (Anderson, 2003).

Bu çalışma'da Marmara Bölgesi ve çevre illerden toplanan çiğ tavuk eti örneklerinde geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten enterobakterilerin identifikasyonu ve fenotipik yöntemler ile direnç profillerinin tespiti amaçlanmıştır.

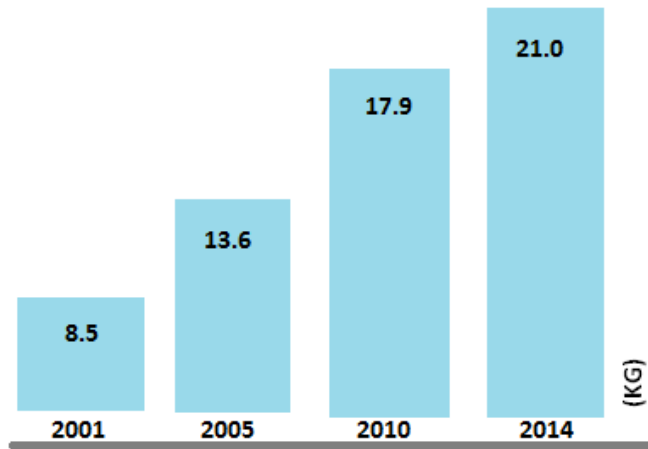
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Türkiye’de ve Dünya’da Tavuk Sektörüne Genel Bakış

Türkiye’de tavukçuluk alanında ilk yatırım 1930 yılında Merkez Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü kurularak yapılmıştır. 1968 yılında dışa bağımlılığın önüne geçmek için yerli hibrit ırklar geliştirilmiş, fakat verimleri beklendiği kadar yüksek olmamıştır. Tavuk ithalatının 1980’de yeniden açılmasıyla entegre tesislerde sektöre eklenerek hızla büyümeye başlamıştır (Keskinöz, 2010). Tavuk etine olan ilginin artması ve artan talebi karşılama adına tavukçuluk sektöründe ciddi bir ilerleme gözlenmiş, tavuk çiftlikleri ve işletmelerinin sayısı hızla çoğalmıştır.

Türkiye’de tavuk eti üretimi yoğun olarak Adana, Mersin, Bolu, Bursa, Elazığ, Düzce, Eskişehir, İstanbul, İzmir, Kayseri, Kocaeli, Manisa, Yozgat, Sakarya ve Manisa illerinde yapılmaktadır. 2014 yılı itibariyle sektörde kayıtlı 15.000 adet kümes üretim yapmaktadır (Besd-Bir, 2014).

Özellikle son on yılda sektördeki üretim dünya devleriyle yarışacak hale gelmiştir. Tavuk eti üretimi 1990’lı yıllarda fert başına 3,8 kg iken 2001 yılında 8,5 kg düzeyine ulaşmıştır. 2014 yılında ise bu oran 21 kg’a kadar çıkmıştır. Bu haliyle bile birçok gelişmiş ülkenin gerisinde olduğumuz söylenebilir (Besd-Bir, 2014)



Şekil 2.1. Türkiye’de yıllara göre kişi başına düşen piliç eti tüketimi (Besd-Bir, 2014).

Daha önceki yıllarda kırmızı etten üretilen sucuk, salam, sosis, burger, döner, köfte ve ızgara gibi birçok ürün günümüzde tavuk eti kullanılarak da üretilmeye başlanmıştır. Bu ve benzeri nedenlere bağlı olarak bütün dünyada tavuk eti tüketimi günümüzde hızlı bir artış göstermiş, bu da tavuk etine ve hammaddesine olan talebi artırmıştır (Şener ve Temiz, 2004). Bu anlamda çeşitli ülkelerin ciddi ekonomik gelir kaynağı haline gelen tavuk üretimini dünyada en fazla A.B.D, Çin ve Brezilya yapmaktadır. Türkiye 2013 verilerine göre, dünya 8.si olarak üretimdeki yerini alsa da sektörün bir yıl sonraki hedefi dünya 3.lüğü şeklinde açıklanmıştır (Besd-Bir, 2014).

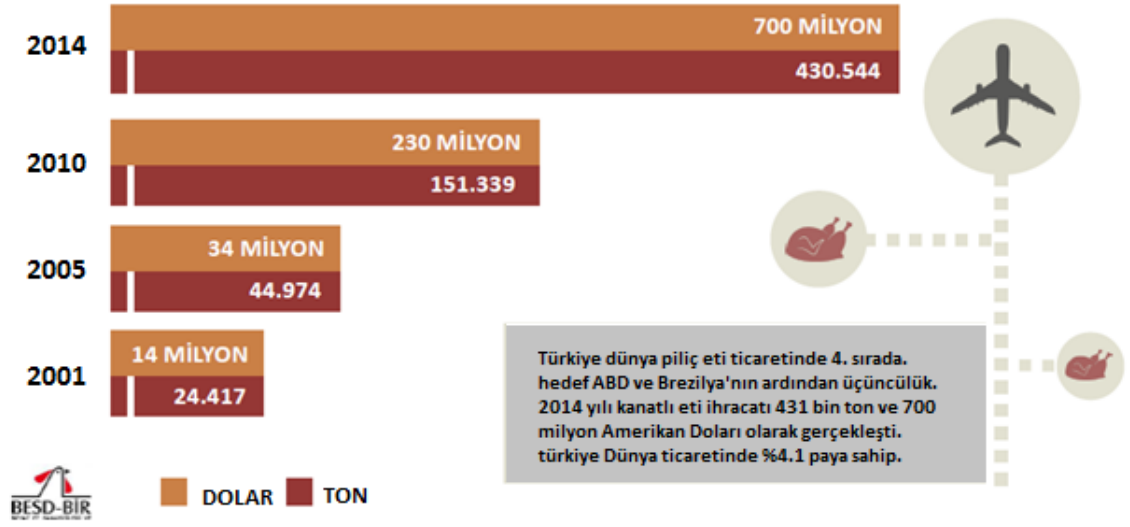


Şekil 2.2.Dünyadaki tavuk üretim miktarı ve bölgesel dağılımı (Best-Bir,2014).

Türkiye piliç eti üretiminde 2013 yılı itibariyle dünyada 8. sırada yerini almıştır (Best-Bir, 2014).

Sektördeki sürekli artan üretim sayesinde Türkiye’de piliç eti ithalatı neredeyse sıfır düzeyine ulaşmıştır. Hatta ihracatta birçok dünya ülkesiyle yarışacak hale gelinmiştir (Besd-Bir, 2014).Türkiye tavuk ihracatında da son on yılda giderek artan bir eğilim göstermiş ve bu anlamda ciddi rakamlara ulaşmıştır. Özellikle yakın komşu ülkelere yapılan ihracat, nakliye masraflarındaki düşüş ile ülke ekonomisine daha fazla katkı sağlamaktadır.

A



Şekil 2.3. Dünya piliç eti ticaretinde Türkiye, nin yıllara göre durumu (Besd-Bir, 2014).

Türkiye piliç eti ticaretinde 2014 verilerine göre dünya dördüncüsü olmuştur (Besd-Bir, 2014).

Tavukçuluk sektörü Türkiye tarım ve hayvancılık sektöründe en güçlü sektörlerden biridir. Tavukçuluk sektöründe 2014 yılı verilerine göre 600.000 kişi istihdam edilmekte; hammadde üreticisi, çiftçisi, sektörle ilgili esnaf, yem, ilaç, aşı, yan sanayi, nakliye ve pazarlama dalları da dâhil olmak üzere yaklaşık 2,4 milyon kişi bu sektörden geçimini sağlamaktadır (Best-Bir, 2014). Sektörün 2014 yılı itibariyle yıllık cirosu 5,25 milyar ABD dolarını bulmuş ve ülke ekonomisindeki yerini sağlamlaştırmıştır (Besd-Bir, 2014).

2.2. Tavuk Yetiştiriciliğinde Antibiyotik Kullanımı

İnsanların dengeli beslenmeye verdiği önem, artan kırmızı et fiyatları karşısında kırmızı et alım gücünün azalması ve hayvansal protein açığının kapatılması adına tavuk üretiminin hızlı bir şekilde artırılmasına yönelik önlemlerin alınmasını zorunlu kılmıştır (Aynagöz, 1993). 1949 yılında kanatlılar üzerinde yapılan bir deneyde antibiyotiklerin bu hayvanlarda büyümeyi arttırdığı tesadüfen fark edilmiş ve bu farkındalık antibiyotiklerin çiftlik hayvanları üzerinde büyüme faktörü olarak kullanılmasında milat olmuştur (Aydın ve Koçak, 1999). Bu keşifle beraber uzun yıllardan beri infeksiyonların önlenmesi, gelişimin hızlandırılması, verimin ve

yemden yararlanmanın artırılması amacıyla antibiyotikler ve kemoterapötikler yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Kaya ve ark., 2007; Keskinöz, 2010). FAO raporları kanatlıların %80'inin yaşamlarının belli dönemlerinde veya tamamında antibiyotiklere maruz kaldığını göstermektedir (Can ve Çelik, 2008).

Antibiyotiklerin kanatlılarda yoğun kullanımı zamanla bu maddelere karşı dirençli bakterilerin gelişimine ve özellikle ilacın yasal bekleme süresi dolmadan kesimhaneye giden hayvanların dokularında antibiyotik kalıntı risklerinin artmasına neden olmuştur (Can ve Çelik, 2008).

Büyüme faktörü olarak kullanılan kemoterapötiklerin etki mekanizmaları tam olarak açıklanmasa da bu konuda üç farklı hipotez ileri sürülmüştür (Anadon ve Martinez-Larranaga, 1999; Butaye ve ark., 2003)..

Besin maddelerinin emilimini engelleyen toksik metabolizma ürünlerinin üretimini inhibe ederek.

Gastrointestinal sistemdeki patojen mikroorganizmaların gelişimini engelleyerek.

Subklinik infeksiyonları azaltarak veya önleyerek

Son yıllara araştırmacılar yukarıdaki etkileri göstermesi bakımından antibiyotiklere alternatif olabilecek doğal ürün arayışına girmiş ve probiyotikler, prebiyotikler, organik asitler ve enzimler gibi büyümeyi ve gelişmeyi arttırıcı ürünlere yönelmişlerdir (Küçükersan, 2002).

Probiyotikler hayvan sindirim sistemindeki mikrofloranın ekolojik dengesini düzene sokmak ve bu ortamdaki patojen bakterilerin zararlı hale gelmesini önlemek ve hayvanların yemden yararlanmasını arttırmak amacıyla içme sularına katılan bakteri, maya ve mantar kültürleri içeren biyolojik ürünlerdir. Prebiyotikler ise normal sindirim enzimleri tarafından sindirilmeyip bağırsaktaki yararlı mikroorganizmaların gelişimini teşvik eden besin maddeleridir (Aşan ve Özcan, 2006).

Canlı hayvan tarafından sindirilmeyen bir karbonhidrat olan inulin, prebiyotik özelliğinden dolayı son yıllarda oldukça dikkat çekmektedir. Yapılan çalışmalar kanatlı besinlerine katılan inulinin kolonik *Bifidobakter* ve *Laktobasil* popülasyonunda önemli derecede artış meydana getirmekte ve hayvan gelişimini pozitif yönde etkilediğini bildirmektedir (Aşan ve Özcan, 2006).

2.2.1. Antibiyotik Kullanımını Azaltmaya Dönük Çalışmalar

Antibiyotiklerin büyümeyi ilerletici anabolik madde olarak kullanımı ile ilgili yapılan ilk kontrol adımı 1969'da, İsveç Komitesi tarafından yapılmıştır. Bu komite antibiyotiklerin hayvan üretiminde veteriner kontrolü olmaksızın kullanımına

sınırlandırma getirmiştir. Avrupa Birliği ise 1970'lerin başında hayvansal yemlerde tedavi amaçlı kullanılan bazı (bkz.Çizelge2.1.) antibiyotiklerin ruhsatlarını yürürlükten kaldırmıştır (Tuncer, 2007).

Çizelge 2.1.Yıllara Göre Antibiyotik Büyütme Faktörlerinin Yasaklanması (Tuncer, 2007).

YIL	ÜLKE	KARAR
1969	İsveç	Antibiyotik büyütme faktörleri bilimsel olarak yasaklandı.
1970	AB	Antibiyotik büyütme faktörlerinde geçici sınırlandırmalar başladı.
1970	İngiltere	Penisilin ve tetrasiklin yasaklandı.
1971	AB	Tetrasiklin yasaklandı.
1971	İsveç	Tetrasiklin ve antibiyotik büyütme faktörlerinin bir kısmı yasaklandı.
1986	İsveç	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı.
1997	AB	Avoparsin yasaklandı.
1998	Hollanda	Olaquinox yasaklandı.
1998	Danimarka	Virjinamisin ve antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı.
1998	İsveç	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı.
1998	AB	Tylosin fosfat, çinko basitrasin, sipiramisin, virjiniamisin yasaklandı.
1999	İngiltere	Tylosin fosfat, çinko basitrasin, spiramisin, virjiniamisin yasaklandı.
2006	AB	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı.
2006	Türkiye	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı.

Antibiyotiklerin aşırı ve uygun olmayan şekillerde kullanımı ile bu maddelere karşı mikroorganizmaların geliştirdiği direnç, AvrupaBirliği'ni harekete geçirmiş ve 1998-1999 yıllarında kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde büyüme faktörü olarak antibiyotik kullanımına geniş ölçüde yasaklamalar getirilmiştir (Anadon ve Martinez-Larranaga,1999; Casawell ve ark., 2003).

Karma yemlerde uzun yıllardır kullanımı yasak sistemik etkili bazı antibiyotiklerin ise hala yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Değişik isimler altında ve çoğu kaçak olarak ülkeye sokulan bu antibiyotiklerin gıdalardaki antibiyotik kalıntıları ve

artan direnç dikkate alınarak daha sıkı denetimlerle kullanımının tamamen engellenmesi kaçınılmaz olmuştur (Keskinöz, 2010).

2.3. Tavuk Etlerinde Mikrobiyolojik Kalite

Tavuklarda mikrobiyolojik kontaminasyon daha kuluçka döneminde başlamaktadır. Kuluçka ve büyüme döneminde kümes ortamı, yem, su, çevrede olabilecek birçok mikroorganizma ve özellikle patojenlerin varlığı önemli kaynaklardır (Karapınar ve Gönül, 1998). Canlı tavukların derisinde 1 cm²'de yaklaşık 1,5x10³ adet bakteri bulunmaktadır. Bu populasyon içinde hayvan derisinin normal florası yanında tüy, toprak ve dışkı kaynaklı organizmalar da mevcuttur. Tavuk ürünlerine bulunan önemli mikroorganizmalar *Enterobakter*, *Alkaligenes*, *Esherichia*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter-Moraxella*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* ve *Salmonella* türleridir (Ünlütürk ve Turantaş, 2015).

Tavuk eti besin öğeleri nedeniyle pek çok mikroorganizmanın çoğalması için uygun Delialioğlu N, Öcal ND, Emekdaş G: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* türlerinde genişlemiş spektrumlu betalaktamaz oranları, ANKEM Derg 2005;19(2):84-7. 6. Eskitürk A, Korten V, Söyletir G: Akut bakım Delialioğlu N, Öcal ND, Emekdaş G: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* türlerinde genişlemiş spektrumlu betalaktamaz oranları, ANKEM Derg 2005;19(2):84-7. 6. Eskitürk A, Korten V, Söyletir G: Akut bakım kaynaklı enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar açısından; *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp.; özellikle *S. aureus*, *Enterobacter*'ler, *Shigella* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., *E. coli*, *Pseudomonas* spp., Koliform grubu bakteriler, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp. ve *Clostridia* açısından sıklıkla kontamine olduğunu göstermektedir (Mullerat ve ark., 1994; Adams ve Moss, 1995; Ünlütürk ve Turantaş, 1998; Mead, 2000; Conner ve ark., 2001; Elmalı ve Yaman, 2004; Efe ve Gümüşsoy, 2005; Ös ve Karaboz, 2005).

Bu kontaminasyon tavuk etinin kuluçka dönemiyle başlayıp kesimhaneden sofralara ulaşacağı noktaya kadar tüm zincirde devam etmektedir ve bu zincirin uzunluğu ise çoğu zaman kontaminasyon kaynağına ulaşmayı güçleştirmektedir (Angulo, Noargund ve Chiller, 2004).

2.3.1. Türk Gıda Kodeksi Kriterleri

E.coli birçok gıdada gıda hijyen indikatörü olarak ele alınsada Türk Gıda Kodeksi GSBL pozitif enterik bakterileri tavuk eti hijyeni bakımından indikatör olarak henüz kabul etmemektedir. Türk Gıda Kodeksi'nin tavuk etiyle ilgili genel hijyen kriterleri çizelge 2.2'de sunulmuştur.

Çizelge 2.2. Çiğ Et Ürünlerinde Türk Gıda Kodeksi Mikroorganizma Kriterleri (TGK,2015)

Gıda	Mikroorganizmalar	Numune alma planı		Limitler ⁽¹⁾	
		n	c	m	M
3. Et ve et ürünleri					
3.1. Karkas, parça etler, kıyma ve sakatat					
3.1.1. Kasaplık hayvanların karkası, çiğ kırmızı et ve kıyma, kanatlı karkası ve çiğ kanatlı eti (soğutulmuş, dondurulmuş) ve dondurulmuş hindi kıyma	TAMB ⁽²⁾	5	2	10 ⁵	10 ⁶
	<i>S. aureus</i> ⁽⁴⁾	5	2	10 ³	10 ⁴
	<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0/25 g-mL	
	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
	<i>E. coli</i> O157:H7	5	0	0/25 g-mL	
3.1.2. Sakatat	<i>C. perfringens</i>	5	2	10 ³	10 ⁴
	<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0/25 g-mL	
	<i>E. coli</i> O157:H7	5	0	0/25 g-mL	

⁽¹⁾ : Aksi belirtilmedikçe limit kob/g-mL olarak değerlendirilir. kob: Koloni oluşturan birim (katı besiyerinde)

⁽²⁾ : TAMB: Toplam aerobik mezofilik koloni sayısı

⁽³⁾ : En Muhtemel Sayı (EMS) Yöntemi

⁽⁴⁾ : Koagülaz pozitif stafilokoklar

n : Analize alınacak numune sayısı

c : m ile M arasındaki sayıda mikroorganizma ihtiva eden kabul edilebilir en fazla analize alınacak numune sayısı

m : (n – c) sayıdaki analize alınacak numunenin 1 gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı

M : c sayıdaki analize alınacak numunenin 1 gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı

2.4. Enterobacteriaceae

2.4.1. Enterobacteriaceae Genel Özellikleri

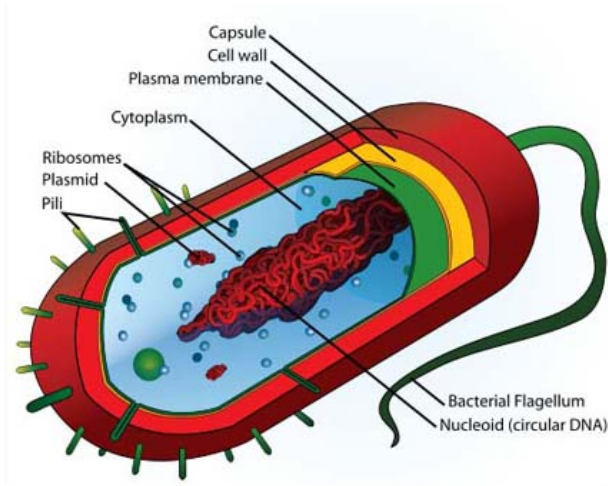
Klinik mikrobiyolojide en önemli bakteri ailesi olarak bilinen enterobakteriler özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonların başlıca nedenlerindedir. Ayrıca bu bakteriler; septisemi, üriner sistem enfeksiyonları, pnömoni, kolesistit, kolanjit, peritonit, yara enfeksiyonları, menenjit, gastroenterit gibi birçok hastalığa neden olmaktadır. *Enterobacteriaceae*, doğal yerleşim yerleri insan ve hayvanların bağırsak sistemi olan heterojen, gram negatif ve çomak şekilli geniş bir ailedir (Yemen, 2010).

Enterobacteriaceae familyası içerisinde DNA homolojisi, biyokimyasal özellikleri, serolojik reaksiyonları, bakteriyofaj duyarlılıkları ve antibiyotik direnç profillerine göre sınıflandırılmış en az otuz cins, 140 tür, çok sayıda biyogrup ve henüz adlandırılmamış birçok enterik grup yer almaktadır. Bu bakteriler doğada, toprakta, sularda ve familyaya adını veren özelliği olarak birçok canlının bağırsak florasında yaygın olarak bulunmaktadır. Bu ailede insan için önemli olan *Salmonella*, *Escherichia*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* gibi sayısı 25'e yakın cins bulunmaktadır (Yemen, 2010).

Tüm Enterobakter üyeleri aerob, fakültatif anaerob, sporsuz, glikozu fermente eden, nitratları nitrite indirgeyen, katalaz enzimi pozitif, sitokrom *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia pestis* oksidaz enzimi negatif, gram negatif basillerdir. Familya içerisindeki bazı cinsler insan için her zaman patojen iken, bazıları ise (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) mikroflorada yer alırlar ancak buldukları normal vücut bölgelerinden ayrıldıklarında fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilirler. Bakterilerin bulaşması bazen hayvanlardan insana, bazen insandan insana, bazen de insanın kendi florasında bulunan mikroorganizmalar kendi kendine endojen enfeksiyonlara yol açabilir (Tünger ve ark., 2005).

2.4.2. *E. coli*

E.coli'nin doğal yaşam ortamı insan ve hayvanların bağırsaklarıdır. Bu nedenle *E.coli*, su ve besinlerdeki fekal kirlenmenin bir belirtisidir ve gıda ürünlerinde hijyen indikatörü olarak kullanılır. Normal insan sindirim sisteminde 10^6 ile 10^9 kob/g arasında bulunmaktadır (Tham, 2012). Bağırsak florasının normal bir üyesi olan *E.coli* ile konak organizma arasında uyumlu bir ilişki olmasından dolayı bakteri normalde hastalık yapmaz. Ancak, iç organlara veya kana geçmesi halinde (örneğin idrar yolu enfeksiyonu ile mesaneye geçmek gibi) veya başka bir konak organizmanın sindirim sistemine geçmesi durumunda, *E. coli* bir patojen olabilir. Bu nedenle *E.coli*, uygun koşullarda endojen enfeksiyonlara neden olan fakültatif patojen veya fırsatçı patojen bir bakteri olarak kabul edilmektedir. En sık rastlanan bağırsak dışı *E.coli* enfeksiyonu idrar yolu enfeksiyonudur (Tünger ve ark., 2005).



Şekil 2.4. *E.coli* (www. msxlaps.org.)

2.4.3. *K. pneumoniae*

En belirgin özellikleri geniş polisakkarit yapıda kapsülünün bulunması, buna bağlı olarak besiyerlerinde mukoid koloniler oluşturması ve tümünün hareketsiz olmasıdır. Laktoz fermentasyonu ve üreaz enzimi pozitifdir. Normalde sağlıklı insan bağırsağında %5 oranında (10^4 kob/g/dışkı) bulunur.

K. pneumoniae ampicilin ve karbenisiline doğal olarak dirençlidir. Diğer betalaktam antibiyotiklere ise özellikle salgıladığı betalaktamaz enzimi nedeni ile direnç geliştirebilmektedir. Yayılması endemikten daha çok epidemiktir (Tham, 2012). GSBL varlığı ilk defa *K. pneumoniae* da tespit edilmiştir.

2.4.4. *E. cloaceae*

Enterobacter toprakta ve sularda oldukça yaygın bulunan bakteri grubudur. *Enterobacter* türlerinin büyük bir bölümü hareketli, sitrat ve ornitin dekarboksilaz testlerinde pozitif ve glikozdan gaz oluşturabilirler. Bu cinsin çeşitli türleri özellikle hastane ortamında olmak üzere birçok organ ve sistemde enfeksiyona neden olabilen fırsatçı patojenlerdir. Hastane ortamında en önemli özellikleri birçok antibiyotiğe dirençli olmalarıdır (Kılıçturgay, 1994). *Enterobacter* cinsi kromozomal kökenli indüklenebilir betalaktamazlar bulundurmaktadır. Bu enzim normalde çok düşük düzeyde sentezlenmesine rağmen ortama eklenen betalaktam antibiyotik varlığında enzim üretimi indüklenerek normalin çok üstünde salgılanır. Bu enzimler birinci, ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinler ve ampisilin gibi birçok penisilini parçalayabilirler. Bazı enterotoksijenik grupları özellikle gıda kaynaklı zehirlenmelerde büyük rol oynar ve çeşitli enfeksiyonlara yol açabilmektedirler. *Enterobacter* grubu bakterilerin yaygın olmalarına neden olarak bilhassa böceklerin büyük rol oynadığı bildirilmektedir. Gıda maddelerinin elle işlenmesi durumunda elde bulunma sıklığının %25 oranında olduğu fakat bu bakteri grubunun ellerde olma sebebinin hijyen eksikliği değil de daha çok bitkisel temastan kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Huber, 2000).

2.4.5. *Citrobacter spp.*

İnsan ve hayvanlarında dışkı florasında yer alan bu bakteriler, toprak, su ve gıdalardan da izole edilebilirler. Gıdalara geçişleri genellikle hayvansal atıklar yoluyla olmaktadır. Genellikle fırsatçı patojen olarak idrar yolu sepsislerine neden olurlar. Glikozdan asit ve gaz yaparlar. Bazı suşları laktozu geç fermente ederken bazı gruplar fermente edemezler. Sitrat pozitif, lizin dekarboksilaz testi ise negatiftir, hareketlidirler ve genelde H₂S meydana getirirler. Boğaz enfeksiyonlarından, idrar yolu enfeksiyonlarından, balgam, kan ve yaralardan fırsatçı veya sekonder patojen olarak izole edilebilirler (Kılıçturgay, 1994).

Kromozomal kökenli indüklenebilir beta-laktamazlar bulundururlar. Bu enzimler birinci kuşak sefalosporinler ve ampisilin gibi birçok penisilini parçalayabilirler. Hastane ortamında ise karbapenemler hariç tüm beta laktam antibiyotiklere dirençli hale gelirler (Yemen, 2010).

2.5.Antibiyotikler

Antibiyotikler çeşitli mikroorganizma türleri tarafından sentezlenen ve diğer mikroorganizmaların gelişiminin ve üremelerinin durdurulması (bakteriyostatik etki) veya mikroorganizmaların öldürülmesi (bakterisidal etki) şeklinde etki gösteren doğal ya da sentetik maddelerdir. Geniş spektrumlu antibiyotikler çok sayıda Gram negatif ve Gram pozitif mikroorganizmaya etki gösterdiği halde dar spektrumlu antibiyotikler sınırlı sayıdaki mikroorganizma üzerinde etkilidir (Tünger ve ark, 2005).

Antibakteriyel maddeler bakteriler üzerinde beş farklı yoldan etki gösterirler.

Kimyasal yapılarıdaki benzerlik yolu ile metabolizmanın bozulması: Sülfonamidler

Nükleik asit sentez ve fonksiyonlarının bozulması: Kinolonlar, Rifamisin, Nitrofurantoin.

Protein sentezinin inhibasyonu: Aminoglikozidler, Tetrasiklinler, Kloramfenikol, Makrolid antibiyotikler.

Sitoplazma zarının fonksiyon ve yapısının bozulması: Polimiksinler.

Hücre duvarı sentezinin inhibasyonu: Beta-laktam antibiyotikler, glikopeptid antibiyotikler,basitrasin (Bozkaya, 2002).

2.5.1.Beta-Laktam Antibiyotikler

Bakteri hücre duvarı sentezini inhibe ederek ve bir ölçüde de otolitik enzimleri aktive ederek bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerdir (Delialioğlu ve ark., 2005). Beta laktam antibiyotikler memelilerde hücre duvarı bulunmayışı, memeliler üzerinde toksisite göstermemeleri ve geniş spektrumlu oluşları nedeniyle klinikte en çok tercih edilen antibiyotik grubudur (Bozkaya, 2002).

Bakteri hücre duvarının sentezi transpeptidaz, karboksipeptidaz ve endopeptidazlar gibi bazı özel enzimler tarafından düzenlenir. Bu enzimlere beta laktam antibiyotikleri bağlayabilme özellikleri nedeniyle penisilin bağlayan proteinler (PBP) denir (Tünger ve ark, 2005). Beta laktam antibiyotikler etkilerini, beta laktam halkasındaki siklik asit bağlarını parçalayıp, beta laktam ajanlarının etkisini ortadan kaldırarak gösterirler (Gür, 2004). Hücre duvar yapısı bozulan bakteride osmotik direnç kaybı ve buna bağlı ölüm oluşur (Sarı, 2005).

Beta laktam antibiyotikler Penisilinler, Sefalosporinler, Monobaktamlar, Karbapenemler ve Beta laktamaz inhibitörleri (klavulonat, sulbaktam, tazobaktam) olmak üzere beş grupta incelenebilirler (Yemen 2010).

Penisillinler

Penisilinler *Penicillium* cinsi küflerin özel besiyerlerinde ürettikleri ekstraktlardır. Tüm penisilinler ortak bir yapıyı paylaşırlar. Temel yapısı bir tiazolidin halkası, bir betalaktam halkası ve bir amino grubu yan zincirden oluşmaktadır (6 amino penisilolik asit). Penisilindeki beta laktam halkası bakteri tarafından parçalandığında geriye kalan ürünün antibakteriyel etkisi yoktur. Penisillin aktivitesinde ilk aşama ilacın hücre reseptörlerine bağlanmasıdır. Penisilin'in PBP bağlanmasıyla beraber peptidoglikan tabakanın sentezi inhibe olur otolitik enzimler devreye girer ve hücre lisiz olur. Dolayısıyla penisilin'in etki edebilmesi için aktif hücre duvarı sentezi gereklidir (Yemen, 2010).

Doğal penisilinler ve penisilinaza dayanıklı penisilinler Gram-pozitif bakteriler üzerinde etkilidirler. Her ne kadar insan mikroflorasında yer alan çoğu *E. coli*, aminopenisilinlere duyarlı ise de hastane kökenlerinde plazmidlerle yayılan direnç yaygındır. *Shigella sonnei*, *Salmonella typhi* dâhil çoğu *Salmonella*'lar beta-laktamaza bağlı direnç gösterirler. Ayrıca *Klebsiella*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas* türleri ve *Bacteriodes fragilis*'lerin çoğu penisilinlerin bu sınıfına dirençlidir. Çünkü tüm aminopenisilinler Gram negatif ve Gram-pozitif bakterilerin beta-laktamaz enzimlerine duyarlıdır. Bugün için Gram negatif basil enfeksiyonlarında aminopenisilinler rastgele yada gelişmiş seçilmemelidir (Demir,2006).

Sefalosporinler

İlk kez 1945'te *Cephalosporin acremonium* mantarından izole edilmiş olan sefalosporinler, penisilinden farklı olarak beta-laktam halkası yanında penisilindeki 5 üyeli tiazolidin halkası yerine, 6 üyeli bir dihidrotiazin halkası bulundurulur (Bozkaya, 2002). Doğal sefalosporinlerin etki mekanizması düşüktür fakat çeşitli amino grupları eklenerek farmakolojik özellikleri farklı birçok türler elde edilmektedir. Dihidrotiazin halkasında fazladan bulunan karbon atomu 3. pozisyonda da yeni yan dalların ilavesi ile daha değişik ve çok sayıda sefalosporinler elde edilmesine olanak sağlamıştır. Uygulama kolaylığı sağlaması açısından sefalosporinler aşağıdaki gibi 4 kuşak şeklinde sınıflandırılmıştır (Sarı, 2005).

1. kuşak sefalosporinler: Sefalotin, sefazolin, sefaloridin, sefaleksim, sefapirin, sefradin, sefadroksil, sefasetril, seftezol.

2. kuşak sefalosporinler: Sefuroksim, sefoksitin, sefamandol, sefonisid, sefonarid, sefaklor, sefotiam, sefmetazol, sefotetan.

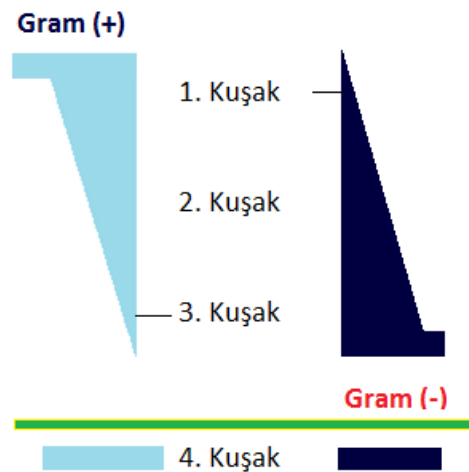
3. kuşak sefalosporinler: Sefotaksim, seftizoksim, sefooperazon, seftriakson, moksolaktam, seftazidim, sefsulodin, sefmenoksim, sefpiramid

4. kuşak sefalosporinler: Sefepim, sefpirom

Parenteral uygulanan 1. kuşak sefalosporinlerin etkinlikleri birbirine benzerdir. Yalnızca sefazolinin stafilokoklara etkinliği biraz daha az, Gram negatif basillere etkinliği diğer 1. kuşak üyelerine göre biraz daha fazladır. Birinci kuşak sefalosporinlerden herhangi birisi in vitro antibiyotik duyarlılık testinde diğerlerinin yerine kullanılabilir. İkinci kuşak sefalosporinler, birinci kuşağa göre stafilokok ve streptokoklara daha az, Gram negatif basillere ve anaeroblara daha fazla etkilidir. Sefoksitin, Gram negatif basillerin ürettiği bazı betalaktamazlara dirençlidir ve bazı *Enterobacteriaceae* tarafından üretilen betalaktamazların oldukça etkili indükleyicisidir (Eraç, 2000).

İkinci kuşak sefalosporinler Gram negatif bakterilere 1.kuşak tan daha iyi etkilidirler ve 1. Kuşağa göre beta laktamazlara karşı daha dirençlidirler (Bozkaya, 2002).

Üçüncü kuşak sefalosporinler Gram negatif basillere (*E.coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus mirabilis*, *Serratia*) karşı yaygın olarak kullanılan sefalosporinlerdir. 3. kuşak sefalosporinlere karşı gelişen direnç beta-laktamaz inhibitörleri ile kombine edilerek bakterilere karşı güçlendirilmiştir (Bozkaya, 2002).



Şekil 2.5. Sefalosporinlerin Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerindeki etkileri

Monobaktamlar: Monosiklik beta-laktamlar olarak bilinen monobaktamların klinikte kullanılan tek türü aztreonamdır. 1981 yılında *Chromobacterium spp* un fermentasyon ortamından elde edilmiş olan aztreonam daha sonra sentetik olarak üretilen ilk monobaktam antibiyotik unvanını almıştır (Bozkaya, 2002).

Penisilin ve sefalosporinlerden ayrılan en önemli özelliği beta -laktam halkasına birleşik bir başka halka içermemeleridir. Aztreonam, Gram negatif bakterilerde PBP 3'e bağlanarak hücre duvarı sentezini inhibe eder. Gram-pozitif bakterilerin PBP'sine bağlanamadığı için bu bakteriler üzerinde etkisi yoktur. Anaerob bakterilerin PBP'sine ise düşük affinite gösterir. Bu yüzden etki alanı Gram negatif aerob bakteriler ile sınırlıdır (Sarı, 2005). Birçok plazmidik ve kromozomal beta laktamaz etkisine dirençli olduğundan *Enterobacteriaceae* ailesi ve *Pseudomonas* türleri gibi birçok Gram negatif çomaklara etkilidirler (Demir, 2006; Balıkçı ve Kayacan, 2007).

Karbapenemler: Bu grubun klinikte kullanılan ilk üyesi imipenemdir. 1976 yılında bir toprak bakterisi olan *Streptomyces cattelya* nın fermentasyon ortamından ortamından elde edilen tienamisin nin yarı sentetik türevidir (Bozkaya, 2002). Sefalosporinlerdeki bir çift bağ içeren 5 üyeli halka yapısında bir metilenin yerine bir sülfürün geçmesiyle diğer beta-laktam ajanlardan ayrılır. Beta-laktamların en geniş spektrumlu grubudur (Demir, 2006). Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin PBP 1 ve PBP 2 lerine bağlanarak etki gösterirler. Bu nedenle Gram pozitif ve Gram negatif aerop ve anaerop bakterilerin çoğuna etkili ultra geniş spektrumlu bir beta laktam antibiyotiktir (Bozkaya, 2002). GSBL ve AmpC enzimini fazla miktarda üreten Gram negatif bakterilere karşı etkinliklerini korurlar (Livermore, 2000). Çok geniş etki spektrumu, iyi klinik etkinliği, uygun güvenlik profili ile karbapenemler, ağır infeksiyonların başlangıç tedavisinde ilk tercih edilecek olan antibiyotikler içinde oldukça değerlidir (Bonfiglio, 2002).

Karbapenemlerin ikinci üyesi olan meropenemlerin gram negatifler üzerindeki etkisi imipenemden daha fazladır (Bozkaya, 2002). Bu grupta bulunan İmipenem ve Meropenem şuan kullanılmakta ertapenem ve parapenem ise yeni geliştirilen karbapenemlerdir. Birçok Gram negatif çomak, Gram pozitif kok ve anaerop bakteriye etkilidir (Balıkçı ve Kayacan, 2007).

Karbapenemler çok geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteye ve birçok beta laktamaza karşı stabiliteye sahiptirler (Demir, 2006).

2.6. Antibiyotik Direnci

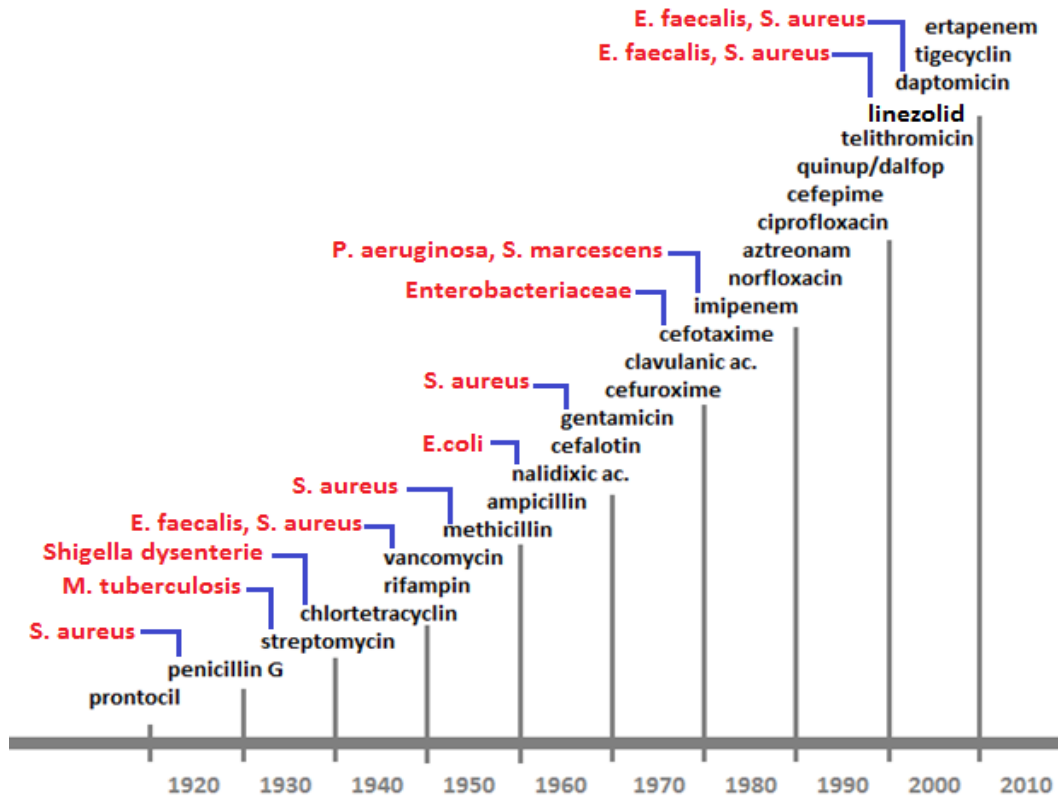
Antibiyotik direnci bazı mikroorganizmaların antibiyotiklerden etkilenmemesi veya antibiyotiğe duyarlı bir süşun çeşitli direnç mekanizmalarından biri ile dirençli hale dönmesi, olarak tanımlanabilir (Yemen, 2010).

Bakteriler antibiyotiklere karşı doğal bir dirence sahip olabilecekleri gibi transpozan ve plazmidler gibi hareketli genetik parçacıkları alarak basit mutasyonlar ile veya endojen antibiyotik direnç mekanizmalarının yeniden düzenlenmesi ile dirençli hale gelebilirler (Baskın,2005).

Alexander Fleming (1929) penisilini küf mantarlarından elde etmiş, 1940'ta ise Chain ve Florey tarafından saflaştırılarak bakteriyel enfeksiyonlardan korunma ve tedavilerinde etkili ve güvenilir aşama kaydedilmiştir (Bozkaya, 2002). Ancak, hemen arkasında 1940 yılında Abraham ve Chain'in penisilinazı bulması ile penisilin bakteriyel hastalıkların tedavisinde kesin çözüm olmayacağı anlaşılmıştır (Demirtürk ve Demirdal 2004).

Takiben bir çok yeni antibiyotik geliştirilmiş ancak mikroorganizmalar bulunan her antibiyotiğe yeni bir yolla direnç geliştirmeyi başarmıştır.

Günümüzde *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp, gibi Gram negatif bakteriler ile *Staphylococcus aureus*, *Enterokoklar*, Koagulaz negatif stafilokoklar (*KNS*) gibi Gram pozitif bakteriler en fazla direnç sorunu yaşanan bakterilerdir (Demirtürk ve Demirdal, 2004).



Şekil 2.6. Yıllara göre antibiyotiklere karşı direnç geliştiren bakteriler

Antibiyotik direnci doğal olarak o mikroorganizmada olabileceği gibi daha çok antimikrobik madde ile temas ettikten sonra veya tekrarlanan tedaviler sırasında kazanılmış olan dirençtir. Bakteriler geliştirdikleri bu direnci çeşitli genetik değişimler ve seleksiyonlarla dahada geliştirerek yeni dirençli kökenler ortaya çıkarıp yayılmaktadırlar (Öztürk, ve ark., 2008).

Çizelge 2.3.Yıllara göre antibiyotiklere karşı gelişen direnç

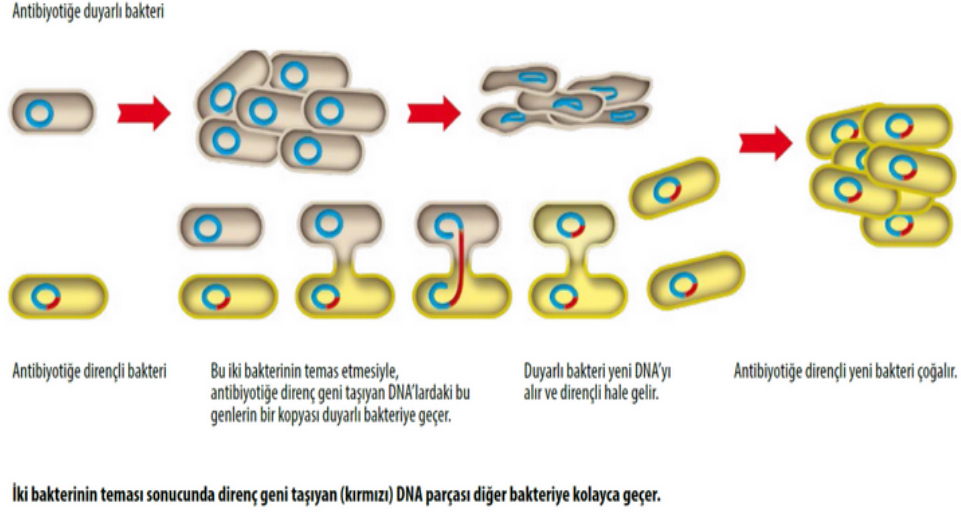
Antibiyotik	Keşfedilişi/ Kullanıma Girişi	Direncin Bildirilişi	Direnç Mekanizması	Bakteriler
Penisillin G	1940-1943	1940	Penisillinaz	<i>S. aureus</i>
Sitreptomisin	1944-1947	1947	S12 ribozomal mutasyon	<i>M.tuberculosis</i>
Tetrasiklin	1948-1952	1952	Effluks	<i>Shigella dysenterie</i>
Eritromisin	1952-1955	1956	23S rRNA metilasyon	<i>S. aureus</i>
Vankomisin	1956-1972	1988,2004	D-Ala-D-Ala replasement	<i>E. faecalis, S. Aureus</i>
Metisiillin	1959-1961	1961	MecA. (PPP2a)	<i>S. aureus</i>
Gentamisin	1963-1967	1969	Modifiye enzim	<i>S. aureus</i>
Nalidisik as.	1962-1964	1966	Topolsormeraz mutasyon	<i>E. coli</i>
Sefotaksim	1975-1981	1981,1983	AmpC betalaktamaz, GSBL	<i>Enterobacteriaceae</i>
Imipenem	1976-1987	1986	Adquired karbapenemaz	<i>P. aeruginosa, S. Marcescens</i>
Linezolid	1979-2000	1999	23S RNA muatasyon	<i>S. aureus, E. faecalis</i>
Daptomisin	1980-2004	2005	?	<i>S. aureus, E. faecalis</i>

Kazanılmış direncin yayılımı kromozomlar, transpozonlar veya plazmidler aracılığı ile olabilmektedir.

Kromozomal direnç kromozomlarda kendiliğinden gelişen bir mutasyon sonucu oluşmaktadır ve başka türden bakterilere yayılmamaktadır (Işık, 2007).

Transpozonlara bağlı direnç; kendini eşleyemeyen küçük DNA parçacıkları olan traspozonlarla kromozomdan plazmide, plazmidden plazmide, plazmidden DNA'ya veya bakteriyofaja aktarılabilen direçtir (Işık 2017).

Direnç genlerini taşıyan ekstrakromozomal hareketli genetik yapılar bir bakteriden diğerine transdüksiyon, transformasyon, konjugasyon ve transpozisyon gibi mekanizmalarla aktarılır (Sığırcı, 2010).Özellikle kısa sürede gelişip yayılan çoklu ilaç direnci ekstrakromozomal hareketli genetik yapılardan kaynaklanan dirençtir (Işık, 2007).



Şekil 2.7. Konjugasyonla genetik yapının aktarılması

(<http://jurnaller.com/2014/12/antibiyotik-direnci-nasil-gelisiyor>)

Plazmidlere bağlı direnç bakterilerde bulunan ve DNA'dan bağımsız replike olabilen ekstrakromozomal parçacıklar tarafından geliştirilen dirençtir. Plazmid genleri genellikle ilaçları parçalayan enzimlerin üretilmesinden sorumlu genlerdir ve günümüzde klinikte görülen direncin ana sorumlularıdır (Sığırcı, 2010)

2.6.1. Beta-Laktamlara Direnç

β -laktamlar, peptidoglikan sentezinde görevli olan transpeptidaz ve karboksipeptidazları inhibe edip, hücre duvar sentezini durdurarak etki gösterirler (Bush, 1995). Ancak bakterisidal etkileri, bakteriyel otoliz enzimlerinin aktivasyonuna bağlıdır (Medeiros, 2000). Beta- laktamazlar, beta -laktam antibiyotiklere karşı oluşan direncin ana sebebidir ve etkisini beta -laktam halkasındaki siklik amid bağını parçalayarak gösterirler (Bush, 1995). Hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı etki eden ve sıklıkla tercih edilen antibiyotikler olan betal-laktam grubu antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizması en önemli direnç mekanizmalarından biridir (Tang, 2014).

İlk olarak 1983 yılında *K. pneumoniae* şuşlarında tanımlanan beta laktamaz enzimi başta *Enterobacteriaceae* ailesi olmak üzere birçok bakteri türünün en önemli direnç mekanizmalarından birisidir. Beta-laktam antibiyotiklerin hedeflerine bağlanmaları ve etkinlik göstermeleri için GN bakterilerde porin (Outer Membran Protein, OMP)

adı verilen içi su dolu protein kanalcıklarından geçmeleri, sitoplazmik membranla dış membran arasındaki periplazmik boşlukta yer alan beta-laktamazlardan etkilenmemeleri gerekmektedir (Kfoury ve Araj, 2003).

Plazmidlere bağlı direnç bakterilerde bulunan ve DNA'dan bağımsız replike olabilen ekstrakromozomal parçacıklar tarafından geliştirilen dirençtir. Plazmid genleri genellikle ilaçları parçalayan enzimlerin üretilmesinden sorumlu genlerdir ve günümüzde klinikte görülen direncin ana sorumlularıdır (Sığırcı, 2010)

2.6.1.1. Beta Laktam Antibiotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları

Gram negatif bakterilerde beta-laktam direnci; penisilin bağlayıcı proteinlerin (PBP) yokluğu veya değişimi, beta-laktamaz üretimi ve hücre duvarındaki otolitik enzimlerin aktivasyonu ile PBP'lere erişimin engellenmesi olacak şekilde muhtemel üç mekanizma ile meydana gelmektedir (Kunz ve Brook, 2010).

Lisanslı tüm antibiyotikler içinde beta-laktam ilaçların sayısal ağırlığı %70'e yakındır. Ancak, gereksiz-uygunsuz-yoğun kullanım ve hastanelerde enfeksiyon kontrol yöntemlerinin yeteri kadar uygulanmaması nedeniyle bakterilerin bu antibiyotiklere olan direnci yıllar içinde hızla artmıştır. Beta-laktamaz sentezi enterik Gram (-) bakteriler için en önemli antibiyotik direnç mekanizmasıdır (Dağlar ve Öngüt, 2012).

2.6.1.2. Beta-Laktamaz Enzim İnhibitörleri ve Enzim İlaç Aktivasyonu

Antibakteriyel aktiviteleri zayıf olduğundan beta laktamaz inhibitörleri tek başına antibiyotik olarak kullanılmamaktadır. Kimyasal yapıları penisiline benzeyen bu maddelerden klinikte en yaygın olarak kullanılanları klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam'dır (Bozkaya, 2002).

Beta laktamaz inhibitörlerinin yapısal olarak beta laktam grubuna özgü amid bağları vardır. Ancak yan zincirlerinde farklılık göstermektedirler. Yapıları açısından beta-laktamazlara geri dönüşümsüz bağlanarak antibiyotiğin inaktivasyonunu engellerler (Balıkçı ve Kayacan, 2007) Daha sonra inhibitör enzim tarafından parçalanır. Bu nedenle beta laktamaz inhibitörleri intihar inhibitörleri olarak da adlandırılırlar (Bozkaya, 2002). Beta-laktam antibiyotiklere karşı klinikte görülen direncin en önemli sebebi beta-laktamaz kodlayan genlerin bakteri kromozomunda yerleşik plazmid, tranpozon, ve integron gibi hareketli genetik elemanlarda bulunmasıdır.

2.6.2.Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar(GSBL)

Geniş spektrumlu beta-laktamazlar ilk olarak Philippon, Arlet ve Lagrange tarafından 1994 yılında 1., 2., 3. ve 4. kuşak sefalosporinleri ve monobaktamları inaktive eden plazmid kodlu beta laktamazlar olarak tanımlanmışlardır (Gonzalez ve ark., 2013).

GSBL üreten enterobakteriler insanların ve sıcakkanlı hayvanların bağırsağında yarı parazit olarak yaşayan Gram negatif mikroorganizmalardır. Aynı zamanda hem insan hem hayvan infeksiyonlarına sebep olabilen önemli zoonotik araçlardır (Duffy ve ark., 2008).

Gram negatif patojenlerde beta laktam antibiyotiklere karşı oluşturulan direncin en önemli faktörü beta laktamazlardır. Penisilinler, monobaktamlar, sefalosporinler ve hatta karbapenemler bile beta laktamaz enzimleri tarafından hidroliz edilebilmektedir (Polat,2014).

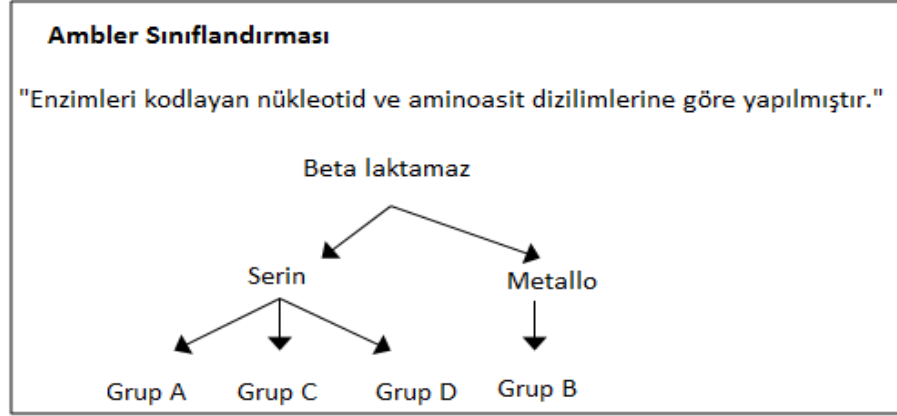
Klasik olarak tanımlanan GSBL'lerin büyük çoğunluğu TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimlerinden köken almıştır. Bu üç enzimin türevleri dışında son yıllarda bunlardan köken almayan CTX-M, PER VEB gibi genişlemiş spektrumlu enzimlerin sayısında artış olmuştur (Dağlar ve Öngüt, 2012). Son yıllarda toplum kökenli infeksiyonlardan izole edilen suşlarda

CTX-M enzimlerinin varlığı daha fazla ön plana çıkmıştır (Kang ve ark., 2012)

Beta-laktamazlar, Ambler (Moleküler sınıflama) ve Bush-Jacoby-Medeiros (Fonksiyonel sınıflama) olmak üzere günümüzde geçerli iki farklı sınıflama ile sınıflandırılmıştır (<http://www.lahey.org/Studies>)

Ambler Sınıflandırması

Ambler sınıflandırmasında beta-laktamazlar, enzimleri kodlayan nükleotid dizilerine göre dört sınıfa ayrılır. A, C ve D sınıfı beta-laktamazlar, serin betalaktamazlar; B sınıfı beta laktamazlar ise metallo beta- laktamazlar olarak isimlendirilirler.



Şekil 2.8. Beta laktamazların Ambler sınıflandırması (Demir, (2006).

Bush-Jacoby-Medeiros Sınıflaması

Beta-laktamazları; penisilin, oksasilin, karbesilin, sefaloridin, geniş spektrumlu sefalosporinler ve imipenem karşı hidrolitik spektrumları ve klavulanik aside duyarlılıkları gibi biyokimyasal özelliklerini ve fiziksel özelliklerini esas alarak Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 olmak üzere dört grupta toplamıştır. Bugün için en geçerli sınıflama şekli budur (Bush ve ark., 1995).

Çizelge 2.4. Beta laktamazların tercih edilen sübstrat lara göre sınıflandırılması

Beta laktamaz (Bush grubu)	Moleküler grup (Ambler)	Tercih edilen sübstrat	Klavulanik asit ile inhibisyon
I	C	Sefalosporinler (SP)	-
2a	A	Penisilinler (P)	+
2b	A	SP,P	+
2be	A	P, dar ve geniş spektrumlu SP'ler, monobaktam	+
2br	A	P	+/-
2c	A	P, karbenisilin	+
2d	D	Kloksasilin, P	+/-
2e	A	SP	+
2f	A	P,SP, karbapenem	+
3	B	Beta laktam, karbapenem	-
4	belirtilmemiş	P	-

Günümüzde substrat profili, moleküler yapısı inhibitörlere duyarlılık derecesi hidrolitik etkinliği gibi birçok özellik açısından tanımlanmış 400'den fazla β -laktamaz vardır (Tenover ve ark., 2003)

Klasik TEM ve SHV türü enzimlerden nokta mutasyonu ile gelişmiş olan GSBL ler, son 30 yılda önemli bir direnç mekanizması olarak ortaya çıkmış olup tanımlanan enzim sayısı 200'e ulaşmıştır. Bu enzimleri kodlayan genlerin çoğu plazmidler ile yayılım göstermekte ve genellikle beraberinde beta-laktam yapısında olmayan diğer antibiyotiklere karşı da direnç genleri taşımaktadır (Dağlar ve Öngüt, 2012). Son yıllarda GSBL'lerin yüksek kapasite göstermeleri mutasyon mekanizmaları ve evrimleşmelerine bağlanmıştır (Gniadkowski, 2008).

Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri, GSBL etkisini bloke etmekte, bu yüzden de sıklıkla beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonlarına duyarlılık göstermektedirler (Chanawong, 2001).

TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin gibi beta-laktam antibiyotiklere direnç oluşturmaları nedeniyle geniş spektrumlu enzimlerdir. *Enterobacteriaceae* ailesinde yaygındırlar.

GSBL'ler köken aldıkları TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 ana enzimlerinden farklı olarak oksiiimino grubu sefalosporin ve monobaktamları hidroliz edebilmektedir. Sefamisinlere etkili olmamaları GSBL'leri AmpC tipi beta-laktamazlardan ayıran önemli özellikleridir (Sturenburg, 2003).

GSBL'lerin *Klebsiella*'larda yaygın olmasının nedeni kesin olarak belirlenememiştir. Ancak bu bakterilerde spontan mutasyonların daha sık geliştiği, türdeşlerine ve diğer bakterilere direnç özelliklerini aktardıkları ileri sürülmüştür (Akova, 2004).

2.6.2.1. GSBL Tipleri

Klasik olarak tanımlanan GSBL'lerin büyük çoğunluğu TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimlerinden köken almıştır. Köken alınan ana enzimin moleküler yapısındaki aminoasitlerden bir ile dördünün yerine farklı aminoasitlerin gelmesi sonucu diğer farklı GSBL'ler oluşur. Oksiiimino beta-laktamlar ve monobaktamlar gibi antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucunda TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 ana enzimlerinin aktif bölgelerinden 1-7 aminoasit değişikliği ile oluşan GSBL'ler; sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim, sefpirom ve sefepim gibi oksiiimino sefalosporinleri hidroliz edebilmektedirler. Günümüzde geçerli olan iki farklı sınıflama şekline göre sınıflandırılmış tipleri mevcuttur (Akova, 2004).

Çizelge 2.5. GSBL Tipleri

Tip	Bush-Jacoby-Medeiros grubu	Tercih edilen substrat	Beta laktamaz inhibitörlerinde duyarlılık	Önemli kaynaklar
TEM ve SHV	2be	Penisilinler, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler ve monobaktamlar	Duyarlı	<i>Escherichia coli</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i>
CTX-M	Penisilinler ve sefalosporinler	Duyarlı	<i>Salmonella enterica</i> , <i>E. coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i>
OXA	2d	Penisilinler ve kloksasilin	OXA-18 dışında tümü dirençli	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

2.7. GSBL Tanı Yöntemleri

Son yıllarda *Enterobacteriaceae* türlerinin GSBL üretim prevalansında artış, plazmid aracılığı ile kolay yayılmaları, salgınlara sebep olmaları, bu bakterilere bağlı mortalitenin artması gibi ciddi klinik problemlere neden olmalarından ve rutin duyarlılık testler ile tanımlanmalarının güç olmasından dolayı özel yöntemler ile doğru saptanmaları gerekmektedir (Gülay, 2004).

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy), DIN (Deutsches Institut für Normung), CA-SFM (Cominite de l'Antibiogramme de la Societe Française de Microbiologie), NWGA (Norwegian Working Group on Antimicrobials), SRGA (Swedish Reference Group of Antibiotics), CRG (Commissie Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen) gibi uluslar arası kabul görmüş enstitüler GSBL tanı yöntemleri ve standartları oluşturmuşlardır. Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) gibi uluslararası kuruluşlar GSBL üreten enterobakteri familyası için, çeşitli kontrol grubu suşlar (*E. coli*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*) kullanarak GSBL üretiminin doğrulanmasının önermiştir

(Çoban, 2012)GSBL üreten bakteriler geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aztreonama dirençli oldukları halde rutin antibiyotik duyarlılık testlerinde duyarlı olarak bulunabilirler,buda günümüzde en etkili tedavi seçeneği olan karbapenemlere karşı direnç gelişimine ve tedavi başarısızlığına yol açabilir (CLSI, 2013; Henshke Bar Meir ve ark., 2006).

2.7.1. GSBL Tarama Testleri

CLSI disk difüzyon testini ESBL tarama yöntemi olarak önermektedir.Bu yöntemde göre sefpodoksim, seftazidim, aztreonam, sefotaksim, seftriakson antibiyotiklerine karşı duyarlılığının ve direncin saptanması gerekmektedir. Disk difüzyon sonucu oluşan zon çapları CLSI tarafından belirlenen zon çapları sınırları içerisinde olmalıdır. Duyarlılığının azaldığı durumlarda ise doğrulama testlerinin yapılması gerekmektedir (CLSI, 2013).

Çizelge 2.6. GSBL Refersans Zon Çapları (CLSI, 2013)

Antimikrobiyal Ajan	Zon çapları (mm)		
	S	I	R
Sefotaksim (30µg)	≥26	23-25	≤22
Seftazidim (30µg)	≥21	18—20	≤17
Sefpodoksim (10µg)	≥21	18—20	≤17

S: Duyarlı

I:Orta

R:Dirençli

2.7.2. GSBL Doğrulama Testleri

Doğrulama testlerinde GSBL'lerin beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olma özelliğinden faydalanılmaktadır. Yoğun olarak kullanılan yöntemler;

1.Kombine disk yöntemi. Bu amaçla klavulonik asit içeren ve içermeyen seftazidim(CAZ), ve sefotaksim(CTX) diskleri kullanılır. Kombinasyon diskleri etrafındaki zon, klavulonik asit içermeyen disk etrafındaki zona kıyasla ≥ 5 mm daha genişse, izolat GSBL üretimi açısından pozitif kabul edilir (CLSI, 2013).



Şekil 2.9. Kombine disk yöntemiyle oluşmuş zon görüntüleri
(<http://www.mjima.org/fulltext.aspx>)

2.Çift disk sinerji yöntemi

Plağın ortasına bir amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC 20/10µg) ile seftazidim (CAZ), veya sefotaksim (CTX), aztreonam (ATM) veya sefpodoksim (POD) diskleri yerleştirilir.

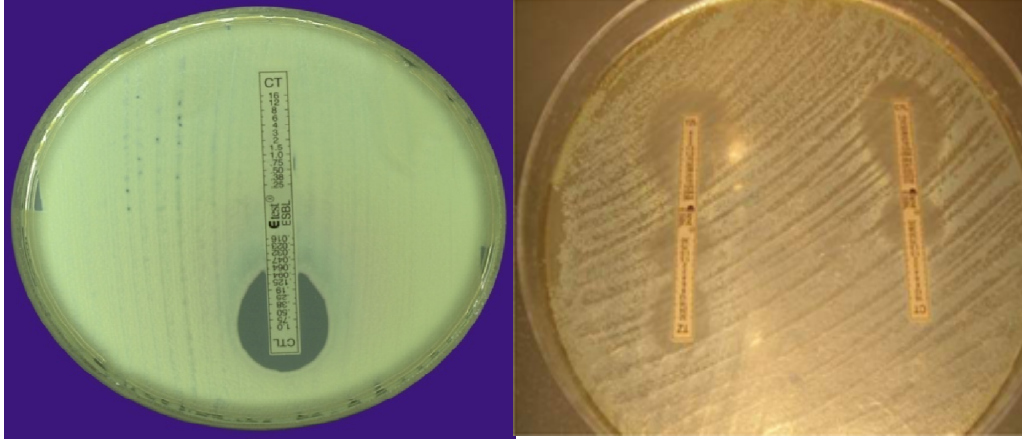
Sefalosporin veya aztreonam etrafındaki inhibisyon zonunun AMC diskine doğru genişlemesi veya arada bakterinin üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL varlığını işaret eder (Gülay, 2004).



Şekil 2.10. Kombine disk yönteminde oluşmuş direnç görüntüsü

3. E test yöntemi“E-test GESBL” stripleri ile yapılmaktadır. Bir ucunda seftazidim diğer ucunda seftazidim ve klavulanik asit içerecek şekilde hazırlanmıştır. Eliptik inhibisyon zonunun stripi kestiği değer MİK değerini vermektedir. İki uç arasındaki değerleri birbirine oranlandığında MİK değerinde ≥ 8 kat fazla azalma olması GSBL varlığını gösterir.

Benzer şekilde sefotaksim ve sefotaksim-klavulanik asit içeren E-test stripleri de bulunmaktadır (Dağlar ve Öngüt., 2012)

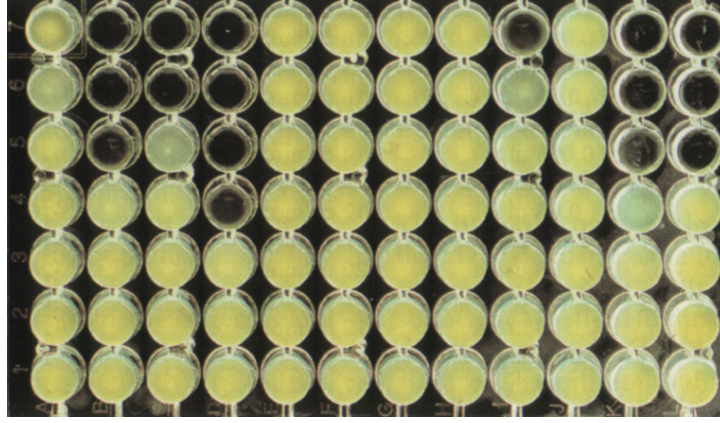


Şekil.2.11. E test yöntemiyle oluşmuş direç zonları

4. Mikrodilüsyon yöntemi

MİK (Minimum İnhibitör Konsantrasyonu) bir mikroorganizmanın üremesini engelleyen en düşük ilaç derişimidir. Dilüsyon testleri, bir antimikrobiyal ajanın bir mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek veya öldürmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu belirlemek için uygulanır. Dilüsyon testleri tüp dilüsyon ve agar dilüsyon olmak üzere iki şekildedir. Tüp dilüsyon metodunda besiyeri olarak katyon (kalsiyum ve magnezyum) eklenmiş Mueller-Hinton Broth kullanılır. Mikroorganizmanın standart bir süspansiyonu (0,5 McFarland) hazırlanıp, antimikrobiyal ajanın çeşitli dilüsyonlarını içeren her bir tüpe eşit miktarlarda eklenir. Ayrıca antibiyotik içermeyen, üremenin göstergesi olan kontrol tüpüne de eklenir ve 35°C'de bir gecelik inkübasyona bırakılır. (Demirpek, 2012).

Fenotipik yöntemleri doğrulama ve MİK değerlerini tespit etme amacıyla kullanılan bu yöntemde zon çapı küçüldükçe MİK değerlerinde büyüme olması beklenir (Demirpek, 2012). Sefotaksim ve seftazidim MİK değerleri, hem tek başına hem de klavulanik asit varlığında saptanır. Klavulanik asit varlığında MİK değerlerinde ≥ 8 kat azalma GSBL göstergesi olarak kabul edilir (Dağlar ve Öngüt., 2012).



Şekil 2.12. Mikrodilüsyon yöntemi

5. Üç boyutlu test

Standart disk difüzyon testi için ATCC 25922 *E. coli* suşu inoküle edilmiş plağın ortasına sefoksitin diski konulur. Diskten 5 mm uzaklıkta olacak şekilde yarıklar açılır ve yarıklara pipet yardımıyla 25-30 µL elde edilen enzimlerden konulur. inhibisyon zonuyla kesişen yarıklardaki suşlardan 3 mm'ye eşit ve 3mm'den fazla distorsiyona neden olanlar “üç boyutlu test pozitif” olarak kabul edilir (Barroso, Freitas ve Lito, 2000).

6. Boronik asit yöntemi

Bu yöntemde Boronik asidin AmpC beta-laktamaz aktivitesini inhibe etme özelliğinden yararlanır. Boronik asit yönteminin *K. pneumoniae* karbapenemaz pozitif suşlarının belirlenmesinde oldukça başarılı olduğu bildirilmiştir. Fakat ticari hazır elde edilebilir

olmaması ve sonuçların açıklanması için bir güne daha ihtiyaç duyulması nedeniyle rutin olarak kullanılmamaktadır (Patel ve ark., 2009)

7. Otomatize sistemler

Bakteriyolojide kullanılan VITEK 2 (bioMerieux) ve Phoenix (Becton Dickinson), Mikro-scan panel test gibi otomatize sistemler kullanılmaktadır. Bu sistemler; GSBL varlığını, tüm penisilinleri, sefalosporinleri ve aztreonamı dirençli olarak rapor ederler. Bu sistemlerin özellikle *K. pneumoniae* suşlarındaki karbapenem direncini saptamakta yetersiz olduğu bildirilmiştir (Endimiani ve ark., 2010). Mikro dilüsyon ve otomatize sistemlerin karşılaştırıldığı durumda. İki yöntem arasındaki uyumu oranları tüm antibiyotiklerde %97'nin üzerinde hesaplanmıştır (Gülmez Hasçelik, 2008).

VITEK[®]MS (bioMérieux)

MASS Spektrometre (MALDI-TOF MS; Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry). Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon /iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi, proteinlerin peptit kütle parmak izi analiz tekniğidir. MALDI TOF yöntemi tüm bakteri hücrelerinden protein profillerinin çıkarılmasında kullanılabilecek bir yöntemdir. Bu profillerin referans bir spektra ile karşılaştırılması sonucu ile bakteriler kolaylıkla tanımlanabilmektedir (Rıfat ve ark., 2014).

Matriks destekli lazer iyonizasyonunda (MALDI) lazer dalga boyunu en iyi şekilde absorbe eden ve biyo molekülleri ışığın doğrudan tahribatından koruyan bir matriks varlığı söz konusudur. Bu duruma en uygun matriks aromatik maddelerdir. Bu matriks varlığında analizi yapılacak molekülün yüzeyden kopması ve iyonizasyonu için gereken enerjiyi lazer ışımından alan bir çarpışma iyonizasyonu tekniğidir. Bu teknikte, her bir lazer atışında meydana gelen iyonların çözülmesi ve ayrılması için atış analizörüne ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple MALDI ile birlikte kullanılan iyon ayırıcı kütle analizörü “time of flight” ya da “Uçuş zamanı” (TOF) analizörüdür. Hareket anında her bir peptit bir paket iyonla temsil edilir. Bu iyonlar dar bir aralıkta ki kinetik enerjiye sahip olarak hareket ederler. Hızlı hareket eden iyonlar reflektöre ilk önce ulaşır ve kinetik enerjisi sıfır olana kadar bu hareket devam eder. TOF, iyonların ağırlıkları ile doğru orantılı bir süre içinde dedektöre ulaşmasını sağlamaktadır (Karataylı ve Bozdayı, 2008). Bu teknik biyomoleküllerin (protein, peptid, şeker) ve büyük organik moleküllerin (polimer, denimer, makro molekül) analizine olanak sağlayan, kütle spektrometresinde kullanılan hassas bir tekniktir (Çetinkaya ve Ayhan, 2012). Bu nedenle MALDI TOF mikrobiyolojide daha fazla kullanılmaktadır

Çizelge 2.7. Yöntemlerin karşılaştırılması (Dağlar ve Öngüt, 2012)

Yöntem	Avantajları	Dezavantajları
CLSI GSBL tarama testleri	Uygulama ve yorum kolaylığı	GSBL'ler her zaman dirençli olmayabilir
Çift disk sinerji	Uygulama ve yorum kolaylığı	Diskler arası mesafeler halen standart değil
Üç boyutlu test	Uygulama ve yorum kolaylığı	GSBL'ye özgül değildir.
E test	Uygulama kolaylığı	Duyarlılığı çift disk sinerji yönteminden daha düşük
Otomatize sistemler	Uygulama kolaylığı	Karbapenem dirençli <i>K. pneumoniae</i> suşlarındaki direnci saptamada düşük duyarlılık
İzoelektrik odaklama	Olası enzim gruplarını sınıflandırarak PCR testine öncül olma özelliğindedir.	Uygulama zor, benzer izoelektrik noktali enzimleri ayetmekte yetersiz
PCR	Kolay uygulama, gen ailesine spesifik	TEM ve SHV varyantları arasında ayırım yapmada yetersiz
Oligotiplendirme	Özgül TEM varyantları saptanabilir	Yeni varyantlar tespit edilememekte
PCR-RFLP	Uygulama kolay, spesifik nükleotid değişiklikleri saptanabilir	Spesifik nükleotid değişiminin saptanmalıdır
Nükleotid dizi analizi	Altın standart. Yeni enzimler saptanabilir	Uygulanma zor, maliyet yüksek

2.8.Tavuk Etlerinde GSBL Üreten Enterobakterilerin Epidemiyolojisi

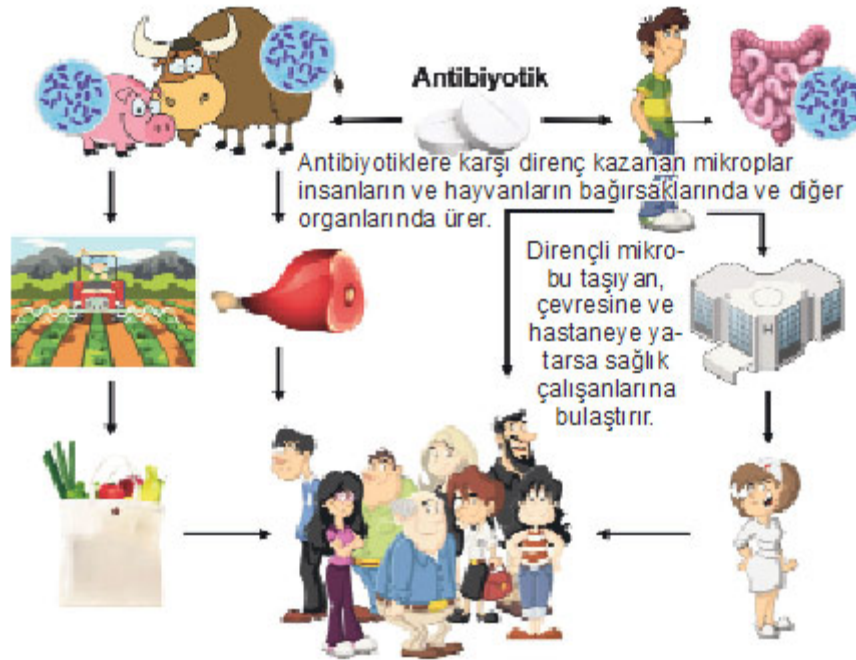
Dünyada yoğun bir şekilde üretimi ve tüketimi gerçekleşen tavuk ürünlerinde dirençli enterik bakterilerin varlığı Dünyada yapılan bir çok çalışmada rapor edilmiştir fakat ülkemizde bu alanda yapılan çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır (Stuart ve ark., 2013; Stuart ve ark., 2012; Depoorter ve ark., 2012; Schwaiger ve ark., 2012; Lopez-Cerero ve ark., 2012 ; Laube ve ark., 2014; Gonzalez ve ark., 2013; Overdeest ve ark., 2011; Campo ve ark., 2014 ; Schaumburg ve ark., 2014 ; Kaya ve ark., 2007 ;Ata ve ark., 2015 ;Keskinöz, 2010)

Gonzalez ve ark., (2013) İspanya Navara'da "Et ürünlerinde geniş spektrumlu betalaktamaz üreten enterobakterin yaygınlığı" başlıklı çalışmada kümes hayvanlarının et ürünleri içerisinde ESBL üreten enterobakter açısından en yüksek yaygınlığa sahip olduğunu gösterdi (%84). Bu çalışmada direnç profili en yüksek bakteri *E. coli* (%71) olarak rapor edildi.

Stuart ve ark., (2013). Hollanda'da "Hastalardaki ve kümes hayvanlarındaki izolatlarındaki eş AmpC betalaktamaz genleri ve plazmit çeşitleri" başlıklı çalışmada 98 adet üçüncü nesil sefalosporin'e dirençli tavuk eti örneğinin %12 sinde AmpC üreten *E.coli* tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada kümes hayvanlarından insanlara beta-laktamaz genlerini taşıyan *E. Coli*'nin transfer olabileceğini önermişlerdir.

Skockova ve ark., (2015). Çek Cumhuriyetinde “Parakende etlerdeki *E. coli*’lerin antimikrobik dirençleri” başlıklı çalışmalarında sığır izolatları ile kıyaslandığında kümes hayvanlarında daha yüksek bir direnç değerleri tespit etmişlerdir. Ayrıca bu sonuca dayanarak kümes hayvanlarındaki geniş spektrumlu betalaktamazların üretimi açısından en risk taşıyan et kaynağı olduğunu önermişlerdir.

Deporter ve ark., (2012). Belçika da “Besi hayvanlarının etlerinin tüketimi ile insanların üçüncü nesil sefalosporine dirençli *E. coli* maruziyetinin değerlendirilmesi” başlıklı çalışmalarında besi hayvanlarının %35’inin üçüncü nesil sefalosporinlere dirençli olduğunu maruziyetin büyük bir bölümünün çapraz kontaminasyondan kaynaklandığını bu maruziyetin halk sağlığı için son derece riskli olduğunu ve dirençli antimikrobik genlerin insan bağırsağındaki bakterilere transfer ihtimalinin mümkün olabileceğini önermişlerdir.



Şekil 2.13. Antibiyotik direncinin yayılması

Lopez-Cerero ve ark., (2012). İspanya'nın güneyinde “Geniş spektrumlu betalaktamaz üreten *E. coli*’lerin çığ kümes hayvanları etinde artan kolonizasyonu” başlıklı çalışmalarında 2010 yılı itibarı ile GSBL taşıyan *E. coli* oranını % 93,3

olarak tespit etmişlerdir. 2007’de yapılan başka bir çalışmada direncin % 62,5 iken üç yıl içerisinde %93,3’e yükselişine dikkat çekmişlerdir.

Schwaiger ve ark., (2012). Almanya Bavyera da “Kesimhaneden ve perakende satıştan alınmış tavuk ve domuz etinden yalıtılmış antibiyotiğe dirençli enterobakterilerin yaygınlığı” başlıklı çalışmalarında % 67 *E. coli*, %16 *Enterobakter* türleri, %8 *Citrobakter* türleri, %12 *Klebsiella*, %8 *Salmonella* tespit etmişlerdir. *Klepsiellanın* kesimhaneden alınan örneklerde *E. coli* dışındaki en yaygın form olduğunu tespit etmişlerdir. *Enterobakter*, *Citrobakter* ve *Klebsiella* kesimhaneden alınan örneklerde *E. coli* dışındaki en yaygın bakteriler olup, kesimhaneden alınan örneklerle kıyaslandığında dirençli bakteri yaygınlığını perakende et örneklerinde daha yüksek bulunmuşlardır.

Stuart, ve ark., (2012). Hollanda da yaptığı “Organik ve geleneksel tavuk etindeki GSBL kontaminasyonunun kıyaslanması” başlıklı çalışmada 98 çiğ tavuk örneğini (60 geleneksel, 38 organik) incelemiş ve geleneksel örneklerde %100, organik ürünlerde %84 GSBL pozitif mikroorganizma tespit edilmişlerdir.

Overdevest ve ark., (2011). Hollandada yaptıkları çalışmalarında insan kan örnekleri ve rektal sürüntülerinden elde ettikleri *E. coli* izolatlarıyla çiğ tavuk etindeki geniş spektrumlu beta laktamaz genleri taşıyan *E. coli* izolatlarını incelenmiş ve çiğ tavuk etindeki GSBL içeren *E. coli* prevalansını %79,8 olarak rapor etmişlerdir.

Kaya ve ark., (2007) Türkiye de yaptıkları “ tavuklardan izole edilen *E.coli*, *Klebsiella* ve *Enterokoklarda* antibiyotik duyarlılık durumları” başlıklı çalışmalarında tavuk intestinal sisteminden identifiye edilen 80 *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz tespit edememişler fakat %17,5 örnekte yüksek düzey aminoglikozit direnci tespit etmişlerdir.

Gündoğan ve Avcı (2013). Türkiyede yaptıkları çalışmada “hayvan orjinli yiyeceklerde geniş spektrumlu betalaktamaz üreten *E. coli* ve *Klebsiella* türlerinin antibiyotik direnç prevalansı” başlıklı çalışmalarında 50 *Klebsiella oxytoca* nin %26, 45 *E. coli* nin % 44 ve 13 *Klebsiella*’nında %38,5’ini GSBL pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada çift disk sinerji yöntemi yapılmış antibiyotik doğrulama ve MİK değeri taini yapılmamıştır.

Ata ve ark., (2015).Türkiye de yaptıkları“Türkiye’nin çeşitli bölgelerindeki tavuk karkaslarından izole edilen *Salmonella* seovarlarının çoklu ilaç dirençliliği ve geniş spektrumlu beta laktamaz aktivitesi” başlıklı çalışmalarında 930 tavuk karkasından

izole edilen 99 *Salmonella* izolatı 12 farklı antibiyotiğe karşı test edilmiş, izolatların %46'sında çoklu ilaç direnci görülmüş olup %1 oranında geniş spektrumlu beta laktamaz rapor etmişlerdir.

Keskinöz, (2010). Adana bölgesinde tavuk çiftliklerinden *Enterobacteriaceae* üyelerinin izolasyonu ve antibiyotik dirençlilik dağılımı başlıklı tez çalışmasında GSBL direnci saptıyamamış fakat çoklu ilaç direncini belirlediği çalışmada, 1., 2., ve 3., yem dönemlerinde incelediği etlik tavuklarda 31 farklı antibiyotiğe karşı direnç sorgulamıştır.2. yem döneminde direncin %100 çıkmasını kullarılan yemlerdeki yüksek oranda anıbiyotiğe bağlamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Gereç

Temmuz ve Eylül 2014 tarihleri arasında Sakarya, Kocaeli ve İstanbul illerinde yerleşik marketler, kasaplar, şarküteriler, halk pazarları ve tavuk yetiştiricilerinden 77 adet karkas tavuk etleri ve 32 adet tavuk sakatatları olmak üzere toplam 109 adet numune toplandı. Alınan örnekler 4⁰C’de özel soğuk taşıma kutusunda (Aviterm 180 Thermobox, İstanbul, Türkiye) laboratuvara getirildi ve bekletilmeden analize alındı. Toplanan numunelerin dağılımı Çizelge 3.1. de sunuldu.

Çizelge 3.1. Numunelerin Dağılımı

	Cinsi	Durumu	Adet (n)	%	
Tavuk Eti	Karkas tavuk eti	Açık	42	38,5	
		Ambalajlı	26	23,9	
		Kümes	9	8,3	
		Toplam	77	70,7	
	Tavuk sakatata	Açık	18	16,5	
		Ambalajlı	14	12,8	
		Kümes	-	-	
		Toplam	32	29,3	
	Genel Toplam			109	100

3.1.1. Kontrol Suşları

Bu çalışmada CLSI 2013 talimatlarına uygun şekilde kontrol amaçlı *Eschericia coli* ATCC 25922 (GSBL negatif kontrol) ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (GSBL pozitif kontrol) suşları kullanıldı.

Çizelge 3.2. Kontrol suşları

Suş tipi	Kodu	Markası	Kullanım amacı
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	Oxoid CL7050	GSBL negatif suş
<i>K. pneumoniae</i>	ATCC 700603	Oxoid CL3074	GSBL pozitif suş

3.1.2. Katı besiyerleri

Çizelge 3.3. Kromojen GSBL selektif agar bileşimi

Bileşen Tanımı	Miktarı (gr/lt)
Pepton karışımı	43,2
Kromojenik karışım	1
Agar	15
Selektif karışım	0,5

59,2 gr toz Kromatik GSBL Agar (Liofilchem, İtalya) 1 lt distile su ile karıştırıldı. Hazırlanan çözelti otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildi. Steril edilen çözelti 50°C’ye kadar soğutuldu. Soğutulan besiyerine GSBL+AmpC suplemanı (Liofilchem, İtalya) eklendi ve tümüyle çözünene kadar karıştırıcıda tutuldu. Hazırlanan solüsyon petri plaklarına dökülerek, 4-6°C’de saklamaya alındı.

Çizelge 3.4. Mueller Hinton Agar (MHA) kompozisyonu

Bileşen Tanımı	Miktarı (gr/lt)
Sığır Eti Ekstraktı	2
Kazein Asit Hidrolizatı	17.5
Nişasta	1.5
Agar No.1	17
Kalsiyum İyonları	50-100 mg/lt
Magnezyum İyonları	20-35 mg/lt

38 gr toz Mueller Hinton Agar (MHA) (LABM, İngiltere) 1 lt distile su ile karıştırıldı. Elde edilen çözelti 121 °C’de 15 dk steril edildi. Steril edilen çözelti 47°C ye kadar soğutulurak petri plaklarına döküldü ve 4-6°C’de saklamaya alındı.

Çizelge 3.5. Tripton Soy Agar (TSA) kompozisyonu

Bileşen Tanımı	İçerik (gr/lt)
Kazeinin Pankreatik Dijesti	15
Soya Fasulyesi Küspesi Papaik Dijesti	5
Sodyum Klorür	5
Agar	12

1 litre saf su için 37 gr toz Tripton Soy Agar (LABM, İngiltere) 1 lt distile su içinde 10 dk iyice eriyene kadar manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Solüsyon otoklavda 121 °C’de 15 dk sterilize edilerek 47 °C ye kadar soğumaya bırakıldı. Soğuyan solüsyon petri plaklarına dökülerek, 4-6°C’de saklanmaya alındı.

Enterobacteriaceae Enrichment broth (EE broth)

Enterobacteriaceae üyesi bakterilerinin gelişimini destekleyen seçici sıvı bir besiyeridir.EE broth, Mossel *Enterobacteriaceae*’ nın büyümesini kolaylaştırmak için Mossel, Visser ve Cornelissen tarafından geliştirilmiştir (Mossel ve ark., 1963). EE broth, hasarlı veya yaralanan hücrelerin iyileşmesi için zengin bir ortam sağlayan, zenginleştirme suyu olarak kullanılmaktadır (Hartman ve Minnich, 1981).

Çizelge 3.6. *Enterobacteriaceae* Enrichment broth (EE broth) Bileşimi

Bileşen Tanımı	Miktarı (g/L)
Kurutulmuş dana safrası	20
Enzimatik jelatin	10
Sodyum fosfat dibazik	8
Dekstroz	5
Potasyum fosfat, monobazik	2
Parlak Yeşil	0,015

45 g EE buyyon (Mossel-7603) tartılarak 1 L suda süspanse edilir. 100oC' deki su banyosunda 30 dk bekletilir. Otoklavlanmadan soğuması beklenir ve kullanılacağı ana kadar oda sıcaklığında bekletilir. 25°C' de koyu siyah-yeşilimsi renktedir.

3.1.3. Kullanılan Alet, Cihaz ve Malzemeler

- 1000 µl mikro pipet (Brand, Almanya)
- 90 mm steril plastik petri (Fıratpen, Türkiye)
- 10 µl steril tek kullanımlık öze (LP İtaliana)
- Ağzı zipli steril numune torbası (İnterscience, Fransa)
- Steril tuzlu su çözeltisi (% 0,85 NaCl₂) (Eczacıbaşı Baxter, Türkiye)
- 0,5 McFarland Standart Solüsyonu (Biomérieux, Fransa)
- Steril ucu pamuklu eküvyon çubuğu (Cultiplast, İtalya)
- 100 mm cam deney tüpü
- Bactident Oksidaz Oksidaz kiti (Merck, Almanya)
- GSBL Tarama antibiyotik diskleri (MAST, Almanya)
- Otoklav (Hirayama, Japonya)
- Su banyosu (Stuart, İngiltere)
- 37°C inkübatör (Binder, Almanya)
- 4-6 °C buzdolabı (Arçelik, Türkiye)
- Distile su cihazı (Aquatron A4000, Almanya)
- GF6100 model elektronik hassas terazi (AND GF-6100, Japonya)
- Homojenizatör (Easymix, Fransa)

3.2.Yöntem

3.2.1.Numune Hazırlama

Soğuk numune taşıma kutusunda 4⁰C'de laboratuvara getirilen numuneler bekletilmeden analize alındı. Her bir numuneden 25 gr miktar steril forsep ve steril bistüri yardımıyla alınarak AND GF-6100 model hassas elektronik terazide tartıldı. Tartılan miktar bek alevi ortamında filtrelili homojenizasyon torbası ((Interscience, Fransa) içine konuldu. Bu işlem her numune için tekrarlandı ve her tartım sırasında olası bulaşmayı önlemek için forsep, bistüri ve diğer tutucu aletler %70'lik etil alkol (24102 Sigma-Aldrich) çözeltisine batırıldıktan sonra bek alevinde sterilize edildi.

3.2.2.Ön zenginleştirme

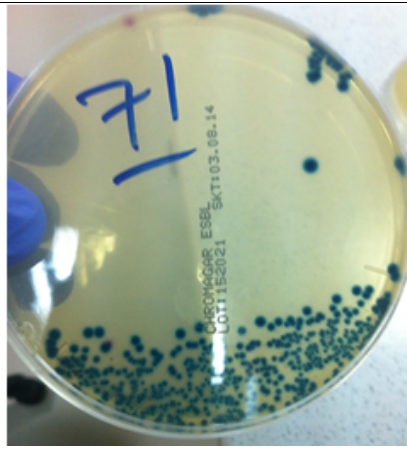
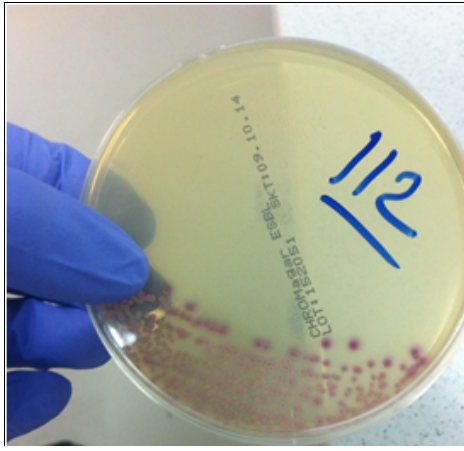
Madde 3.2.1'de hazırlanmış ve tartımı tamamlanarak steril homojenizasyon torbaları (İnterscience, Fransa) içine konulmuş numunelerin üzerine kullanma talimatına göre hazırlanmış 225 ml *Enterobacteriaceae* Enrichment Buroth ,(LABM, İngiltere) steril mezür yardımıyla döküldü. Ağzıları dikkatlice kapatılan torbalar homojenizatörde (AES Easy Mix, Fransa) 4 dk süresince homojenize edildi. Homojenize edilen süspansiyon 37⁰C'de 18-24 saat gece aşırı inkübasyona bırakıldı.



Şekil. 3.1.Kültür bazlı çalışma

3.2.3. Selektif Zenginleştirme

Madde 3.2.2’de ön zenginleştirme işlemi tamamlanmış olan süspansiyondan steril bir öze yardımıyla alınan 10 µl bek alevi ortamında GSBL kromojen ağara(Liofilchem, İtalya) sürüntü ekim yapıldı. Ekim işlemi tamamlanan petriler 37⁰C’de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı.İnkübasyon sonunda üretici firma (Liofilchem, İtalya) talimatları takip edilerek petrilerde gelişen kolonilerden ve tipik 1-2 mm çapında yeşil renkli koloniler GSBL şüpheli *Klepsiella (K). Pneumoniae*’ye ve pembe–mor renkli koloniler ise GSBL şüpheli *E. coli*’ye işaret etti.



Şekil 3.2.GSBL şüpheli pembe koloniler Şekil 3.3.GSBL şüpheli mavi koloniler

3.2.4 Saflaştırma

Madde 3.2.3’de elde edilen GSBL şüpheli izolatlar saflaştırmak için TSA besi yerine pasaj edildi ve 37 °C de 18-24 saat tekrar inkübasyona bırakıldı. Saflaştırılan izolatların saklanması için %90 tripton soy buyyon (TSB) (LABM, İngiltere) ve %10 gliserol içeren stok solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan solüsyon 2 ml Eppendorf tüplerine konularak, 121 °C’de 15 dk sterilize edildi ve soğumaya bırakıldı. Soğuyan stok solüsyonu tüplerine steril bir öze yardımıyla inkübasyonu tamamlamış saf izolatlar inoküle edildi ve vortekslendi. Tiplendirme, disk difüzyon, disk difüzyon doğrulama ve MİK değeri testlerinde kullanılmaları amacıyla -20 °C’de derin dondurucuda saklanmaya alındı.

3.2.5.Oksidaz Testi

Madde 3.2.4'de saflaştırılan izolatlar Merck Bactident Oxidase (Merck, Almanya) kiti talimatları takip edilerek oksidaz testine alındı. Negatif sonuç veren koloniler bir sonraki aşamada Vitek® MS (bioMerieux, Fransa) aleti ile tiplendirmeye alındı.

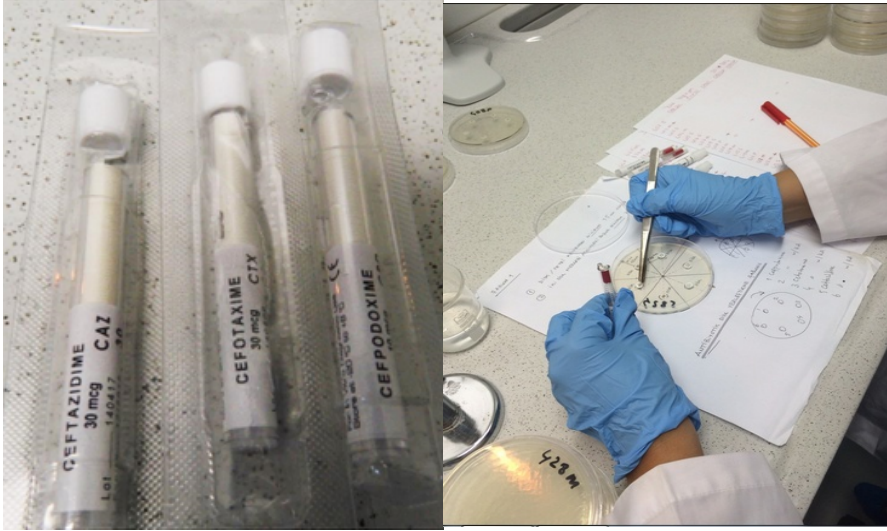
3.2.6. Fenotipik Yöntemler

3.2.6.1.Disk Difüzyon Testi

Tiplendirmesi yapılan şüpheli kolonilerden saf düşen tek bir koloni steril tuzlu su çözeltisinde (%0,85 NaCl₂) süspansiyon edildi. Süspansiyon 0,5 McFarland standartına göre (10⁸kob/ml) ayarlandı. Süspansiyondan steril eküvyon çubuğu yardımıyla Mueller Hinton Agara (LiofilChem, İtalya) sürüntü ekim yapıldı. Besiyeri süspansiyonu emene kadar 1-2 dk beklenildi. Süspansiyon tümüyle emildikten sonra, besiyerine steril forsepe yardımıyla sefpodoksim (CPD), sefotaksim (CTX) ve seftazidim (CAZ) içeren kullanıma hazır antibiyotik diskleri yerleştirildi (Mast GSBL CPD10, İngiltere). Diskler yerleştirilirken oluşacak zonların birbirleri ile çakışmaması için MAST talimatları takip edildi. Zon çapları CLSI (2013) talimatlarına göre değerlendirildi. Buna göre, zon çapları en az birisi CPD ve CAZ ≤17 mm ve CTX≤22 mm olan izolatlar GSBL şüpheli kabul edilerek disk difüzyon konfirmasyonu testine alındı.

Çizelge 3.7.Kullanılan antibiyotik diskler

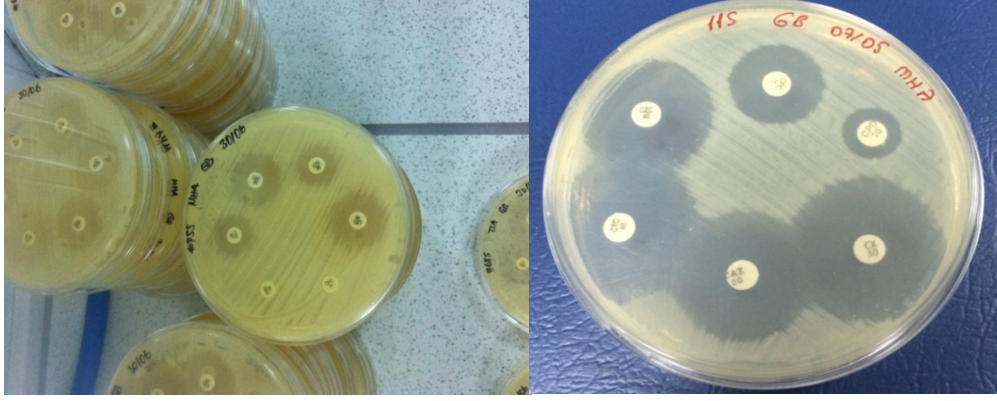
Antibiyotik disk	Kısaltması
Seftazidim 30 µg	CAZ 30
Sefpodoksim 10 µg	CPD 10
Sefotaksim 30 µg	CTX 30
Seftazidim 30 µg/klavulanat 10 µg	CAZ CV
Sefpodoksim 10 µg/klavulanat 1 µg	CPD CV
Sefotaksim 30 µg/klavulanat 10 µg	CTX CV



Şekil 3.4. Kullanılan antibiyotik diskler ve disk difüzyon çalışması

3.2.6.2. Disk Difüzyon Konfirmasyonu Testi

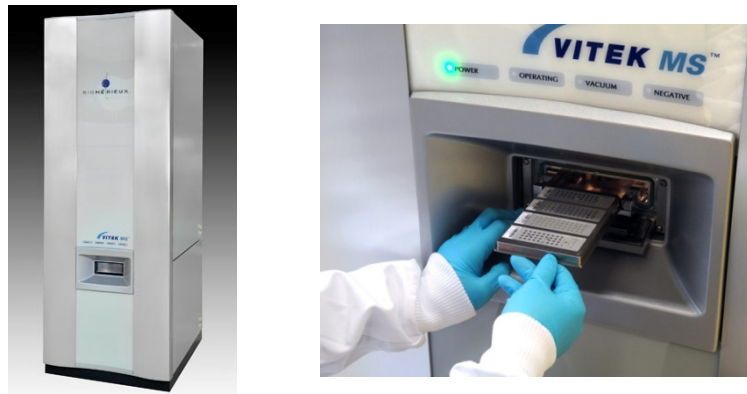
Disk difüzyon konfirmasyonu testi için koloniler steril tuzlu su çözeltisinde (%0,85 NaCl₂) süspanse edildi. Süspanسیون 0,5 McFarland standartına göre (10^8 kob/ml) McFarland Birimi Hücre Densitometresi (bioMerriex, Marcy I'Etoile Fransa) ayarlandı. Süspanسیونdan steril eküvyon yardımıyla Mueller Hinton Agar hazır besi yerine sürüntü ekim yapıldı. Steril forsep yardımıyla Sefpodoksim (CPD10 mg), Sefotaksim (CTX 30mg) ve Seftazidim (CAZ 30mg) ± klavulanik asit (CV 10 µg) içeren kullanıma hazır MAST D67C ESBL tarama kiti prosedürü takip edilerek petri plağına 3 disk yerleştirildi. Diskler CLSI (2013) talimatlarına göre ve MAST D67C GSBL doğrulama kiti talimatları takip edilerek zon bölgeleri birbirlerini baskılamayacak şekilde ve disk merkezleri arasında en az 25 mm ile petri kenarından en az 15 mm uzaklık kalacak şekilde konumlandırıldı. Plaklar ters çevrilerek 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda türdeş disklerin zon çapları arasındaki difereansiyel fark CLSI talimatına göre en az 5 mm ve üzeri olan koloniler antibiyogram doğrulama ve MİK değerlerinin tespiti için analize alındı.



Şekil 3.5. Disk Difüzyon Konfirmasyonu Testi Zon Ölçümleri

3.2.7.Vitek® MS ile Tiplendirme

Madde 3.2.5'te oksidaz negatif sonuç veren saflaştırılmış Gram (-) enterobakteri izolatları Vitek® MS (bioMérieux, Fransa) aleti ile tiplendirme aşamasına alındı. Slayt pozitif kontrol kuyucuğuna referans suş *E.coli* ATCC 8739 ve diğer kuyucuklara ise GSBL şüpheli izolatlar 1 µl steril öze yardımıyla sürüm yapıldı. Sürümü yapılan her bir kuyucuğa mikropipet yardımıyla 1 µl matris solüsyonu (bioMérieux, Fransa) pipetlendi. Slayt, tüm kuyucukları oda koşullarında kuruyana kadar 1-2 dk bekletildi. Cihaz yazılımına slayt barkodu okutuldu ve örneklerin olduğu kuyucuklar işaretlendi. Hazır slayt kasete yerleştirildi ve aletin okuma işlemi programından başlatıldı. Okuma tamamlandığında sonuçlar veritabanından not alındı



Şekil 3.6 Vitek®MS cihazı ve slaytların cihaza yerleştirilmesi

3.2.8. Antibiyotik Doğrulama ve MİK Değerlerinin Tayini

Disk difüzyon konfirmasyon testine göre GSBL şüpheli kolonilerin fenotipik doğrulaması ve MİK değerlerinin tespiti Micronaut-S beta-lactamase VII kiti (Merlin Diagnostika, Almanya) prosedürü takip edilerek yapıldı. GSBL şüpheli izolatlar eküvyon çubuk ile steril tuzlu su çözeltisine (%0,85 NaCl₂) süspansiyon edildi. Süspansiyon 0,5 McFarland standartına göre (10⁸ kob/ml) McFarland Birimi Hücre Densitometresi (bioMerriex, Marcy l'Etoile Fransa) ayarlandı. Süspansiyondan mikropipet yardımıyla 50 µl alınarak steril 11 ml Muller Hinton Buyyona (Merck, Darmstad, Almanya) pipetlendi. Tüpler vorteklenerek Steril küvetlere boşaltıldı. Farklı dilisyonlarda antibiyotikler içeren plak kuyularına her kuyucuğa 100 µl gelecek şekilde inoküle edildi. İşlemi tamamlanan plaklar 37 °C de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu tamamlanan plaklar cihaza (Thermo Scientific™ Multiskan™ FC Mikroplate spektrofotometresiyle (405 nm)) yerleştirilerek okutma işlemi yapıldı. .

MİK değerleri ve antibiyogram doğrulama analizi sonucu hangi bakterilerin GSBL pozitif veya negatif olduğu, tespit edilip otomatik olarak MCN6 yazılımı (Sifin, Germany) ile okuma sonuçları değerlendirildi. Sonuçlar fenotipik sonuçlarla karşılaştırıldı ve kesin GSBL pozitif veriler kaydedildi.



Şekil 3.7. Multiskan spektrofotometre

4.BULGULAR

Bu çalışmada Sakarya, Kocaeli ve İstanbul'daki, halka açık pazarlar, marketler, kasaplar ve tavuk kümeslerinden toplanan 77 karkas ve 32 tavuk sakatları olmak üzere 109 çiğ tavuk numunesi geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklere dirençli enterik bakterilerin identifikasyonu ve direnç profillerinin tespiti amacıyla analize alındı. Ön zenginleştirme sonrası GSBL selektif agara sürme yöntemiyle ekimi yapıldı. Toplam 109 numunenin 33 adetinde (%30,2) GSBL pozitif enterik bakteri izole edildi..

4.1.Selektif Zenginleştirme Sonuçları

GSBL selektif besiyerine ekimi yapılan 109 adet çiğ tavuk örneğinde şeffaf, mavi ve pembe olmak üzere üç farklı koloni gelişti. Bazı petrilerde hem pembe hem mavi koloniler oluşurken, bazı petrilerde tek renk koloniler gözlemlendi. Şüpheli izolatlar TSA besiyerine geçilerek saflaştırılması yapıldı.

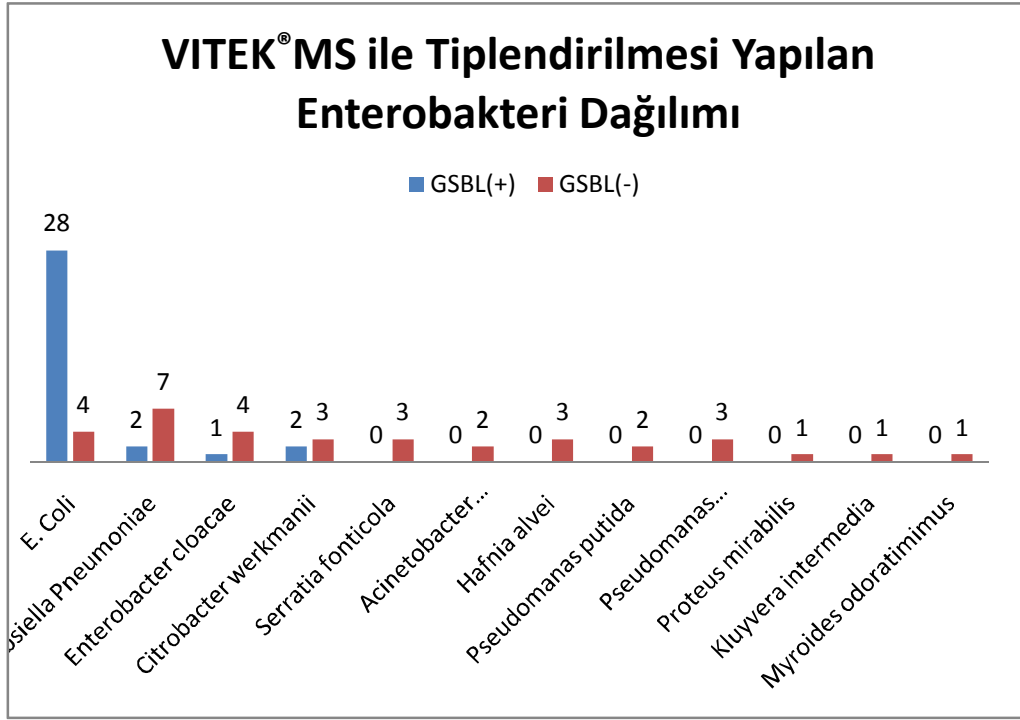
4.2.Oksidaz Testi Sonuçları

GSBL selektif besiyerinde üremesi görülen 178 tipik koloniye Merck Bactident Oksidaz(Merck, Almanya) kiti talimatı takip edilerek oksidaz testi yapıldı. Oksidaz negatif bulunan izolatlar, VITEK® MS (bioMérieux) ile tiplendirmesi yapıldı ve daha sonra GSBL tarama testine alındı.

4.3. VITEK® MS (bioMérieux) ile Tiplendirme Sonuçları

Oksidaz negatif sonuç veren ve GSBL tiplendirmesi yapılan 72 adet izolat, Vitek® MS (bioMérieux, Fransa) paneli ile analiz edildi. 5 suş, veri tabanı yetersizliği veya şahsi hatalarımız yüzünden tanımlanamazken 67 suş cihazın tanımladığı belirli güvenilirliklerde tanımlandı. Tanımlanan enterik bakteriler (*E.coli*, *K. pneumoniae*, *Citrobacter werkmanii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia fonticola*, *Acinobacter baumannii*, *Hafnia alvei*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*

mirabilis, *Kluyvera intermedia*, *Myroides odoratimimus*) olarak belirlendi ve sonuçlar tabloda sunuldu.



Şekil 4.1. Tiplendirme sonuçları

4.3.Fenotipik Sonuçlar

4.3.1. Disk Difüzyon Testi Sonuçları

Oksidaz negatif bulunan 67 adet Gram negatif enterik bakteri GSBL varlığı bakımından tarama testine alındı. Sefpodoksim (CPD), Sefotaksim (CTX) ve Seftazidim (CAZ) içeren kullanıma hazır MAST CPD10 GSBL tarama kiti(Mast Group ESBL Kit CPD10,İngiltere) prosedürü takip edilerek petri plağına 3 disk yerleştirildi. GSBL tarama testi yapılan ve zon çapları CLSI (2013) talimatlarına göre CPD ve CAZ için ≤ 17 mm ve CTX için ≤ 22 mm dirençli zon çapı ölçümü veren koloniler dirençli sayıldı. Sonuçlar (%45) CAZ, (%96) CPD, (% 87) CTX şeklinde rapor edildi ve en fazla direnç (%96) ile CPD'e gösterildi.

4.3.2.Disk Difüzyon Konfirmasyonu Testi Sonuçları

Disk difüzyon testi sonucu şüpheli sayılan 65 izolat disk difüzyon konfirmasyon testine alınarak, antibiyogram doğrulaması yapıldı. CLSI (2013) kriterlerine göre Sefpodoksim (CPD 10 mg), Sefotaksim (CTX30mg) ve Seftazidim (CAZ 30mg)

klavulanik asit (CV10 µg) içeren kitler kullanıldı. 62 izolat belirlenen zon çapının altında kalarak GSBL şüpheli sayıldı.

GSBL şüpheli disk difüzyon sonuçları, kombine disk difüzyon konfirmasyon testi ile tekrar incelendi. İnceleme sonucu izolatlarda CLSI 2013 talimatlarına göre (%72) CAZ CV, (%90) CTX CV ve (%93) CPD CV dirençli tür tespit edildi. Sonuçlar çizelge 4.2..de sunuldu. Yapılan çift sinerjide CAZ CV, CPD CV, CTX CV zon ölçümleri 5 mm fark dikkate alınarak yapıldı.

Disk difüzyon konfirmasyon sonuçlarına göre izolatların tanesi CLSI 2013 kriterlerine göre belirlenen zon çapının altında kalarak GSBL şüpheli sayıldı.

Çizelge 4.1.Disk Tarama Sonuçları

Tipi	CAZ	CAZ CV	Δ	CTX	CTX CV	Δ	CPD	CPD CV	Δ
<i>E. cloacae</i>	16	19	3	23	30	7	12	25	13
<i>Escheria coli</i>	28	30	2	20	32	12	10	22	12
<i>Escheria coli</i>	13	26	13	9	28	19	8	18	10
<i>Escheria coli</i>	17	27	10	11	21	10	0	22	22
<i>Escheria coli</i>	17	27	10	20	30	10	12	25	13
<i>K. pneumoniae</i>	23	28	5	12	28	16	0	19	19
<i>Escheria coli</i>	17	27	10	18	28	10	8	23	15
<i>Escheria coli</i>	24	29	5	16	30	14	0	20	20
<i>Escheria coli</i>	13	27	14	9	30	21	0	17	17
<i>Escheria coli</i>	20	29	9	14	28	14	0	23	23
<i>Escheria coli</i>	20	28	8	13	30	17	6	23	17
<i>K. pneumoniae</i>	18	27	9	11	30	19	6	23	17
<i>Escheria coli</i>	18	28	10	11	30	19	6	23	17
<i>Escheria coli</i>	14	16	2	12	33	21	14	24	10
<i>Escheria coli</i>	18	30	12	11	30	19	6	20	14
<i>Escheria coli</i>	13	24	11	22	29	7	12	22	10
<i>Escheria coli</i>	23	28	5	13	28	15	0	20	20
<i>Escheria coli</i>	25	28	3	14	30	16	0	20	20
<i>Escheria coli</i>	19	22	3	19	24	5	9	20	11
<i>Escheria coli</i>	14	18	4	20	22	2	0	7	7
<i>Escheria coli</i>	20	25	5	10	25	15	6	19	13
<i>Escheria coli</i>	17	21	4	14	19	5	7	7	0
<i>Escheria coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Escheria coli</i>	22	27	5	24	32	8	14	19	5
<i>C. werkmanii</i>	23	27	4	30	30	0	12	18	6
<i>Escheria coli</i>	18	26	8	20	30	10	15	21	6
<i>E. cloacae</i>	20	28	8	12	28	16	11	22	11
<i>Escheria coli</i>	20	30	10	25	34	9	20	28	8
<i>Escheria coli</i>	19	25	6	19	30	11	10	24	14
<i>Escheria coli</i>	10	22	12	20	28	8	0	15	15
<i>Escheria coli</i>	10	22	12	20	28	8	0	15	15
<i>Escheria coli</i>	14	23	9	20	27	7	0	17	17
<i>Escheria coli</i>	9	24	15	15	22	7	0	13	13

4.4. Antibiyogram Doğrulama ve MİK Tayini Sonuçları

Disk difüzyon konfirmasyon testine göre GSBL şüpheli sayılan 62 izolatın fenotipik doğrulaması ve MİK(Minimal inhibasyon konsantrasyonu değerlerinin tespiti Micronaut-S beta-lactamase VII kiti (Merlin Diagnostika, Almanya) prosedürü takip edilerek yapıldı. Sonuç olarak 33 izolat CLSI kriterlerine göre kesin GSBL pozitif sayıldı. MİK değerleri tespit edildi ve tablo da sunuldu. Kesinleşen sonuçlara göre 109 çiğ tavuk numunesinden (%30,2) oranında GSBL pozitif sonuç rapor edildi.

Çizelge 4.2. Antibiyogram Doğrulama Sonuçları

Tipi	CTX	MİK	MİK	MİK	CAZ	MİK	MİK	MİK	MER	MİK	MİK	MİK	COX	MİK	FRT	MİK	CEP	MİK	CMC	MİK	MBL	KPC	ESBL	AMP-C
<i>E. cloacae</i>	R	32	16	≤0,25/4	R	64	>32	≤0,25/4	S	≤1		≤0,25	S	8	S	≤0,5	S	4	R	=1/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	16	=16/4	R	128	16		S	≤1		≤0,25		I	1	R	64	R	=32/4	-	-	+	-	
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	>32	≤0,25/4			2	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	R	64		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	>32	≤0,25/4	R	32	8	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	8	S	≤0,5	R	128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>				≤0,25/4	S	≤1	0,5	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>K.pneumoniae</i>	R	>128	>32	=32/4	R	64	32				32		S	8	S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	32	32	≤0,25/4	R	128	>32	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	S	4		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	>32	≤0,25/4	I	32	2	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	R	128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	>32	=16/4	R	128	>32	=2/4	S	≤1	2	1	R	>32	I	1	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	128	>32	≤0,25/4	I	8	4	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	I	16		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	128	32	=0,5/4	R	128	32	≤0,25/4	S	≤1	1	0,5	S	≤4	S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	+
<i>K.pneumoniae</i>	R	>128	>32	≤0,25/4	R	32	32	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	>32	≤0,25/4	R	32	16	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25			S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	128	>32	≤0,25/4	R	128	>32	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	R	64		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	>32	≤0,25/4	R	64	16	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>				≤0,25/4	R	32	>32	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5				≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	128	32	≤0,25/4	R	16		≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	I	16		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	>32	≤0,25/4	S	≤1	0,5	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>			>32	=16/4	R	>128	>32	=16/4	I	2	32	4	R	32	S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	64	8	=32/4	R	64	16	=8/4	S	≤1			R	>32	S	≤0,5	I	16		=4/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	>32	≤0,25/4	S	4	1	≤0,25/4				≤0,25	S	8	S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	32	=8/4	R	64	2	=1/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	R	>32	S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	16		=8/4	R	16	8	=4/4	S	≤1		1	R	>32	S	≤0,5	S	8		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>					S	≤1			S	≤0,5			S	≤4	S	≤0,25	S	≤1			-	-	+	-
<i>C. werkmanii</i>					S	≤1			S	≤0,5			R	>16	S	≤0,25	S	≤0,25			-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>					R	>16			S	≤0,5			R	≤4	S	≤0,25	S	≤1			-	-	+	-
<i>E. cloacae</i>					S	4			S	≤0,5			R	>8	S	≤0,25	I	16			-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>					I	16			S	≤0,5			S	≤4	S	≤0,25	S	≤1			-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>					S	≤1			S	≤0,5			S	≤4	S	≤0,25	S	≤1			-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	>32	≤0,25/4	R	128	16	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	+
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	>32	≤0,25/4	R	16	16	≤0,25/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	S	≤4	S	≤0,5	R	>128		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	32	16	=2/4	I	8	2	=0,5/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	R	>32	S	≤0,5	S	2		≤0,25/4	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	R	>128	>32	=16/4	R	16	8	=16/4	S	≤1	≤0,25	≤0,25	R	>32	S	≤0,5	R	64		≤0,25/4	-	-	+	-

Kombine disk difüzyon doğrulama testi pozitif sonuç veren GSBL ve AmpC üreten izolatların antibiyogram doğrulama sonuçları 72,7 CTX'e, %63,6 CAZ'a, %30 COX'ye, %57,7 CEP'e direç gösterdiklerini ortaya koydu. Bu izolatlar için MİK değerleri CTX'e karşı ≥ 128 $\mu\text{g/mL}$, CAZ'a karşı 16-128 $\mu\text{g/mL}$, COX'a karşı 4-32 $\mu\text{g/mL}$, ve CEP'e karşı 1-128 $\mu\text{g/mL}$ dilüsyon aralıkları arasında değişiklik gösterdi.

Çizelge 4.3. GSBL Tarama ve Konfirmasyon Metotları sonuçlarının

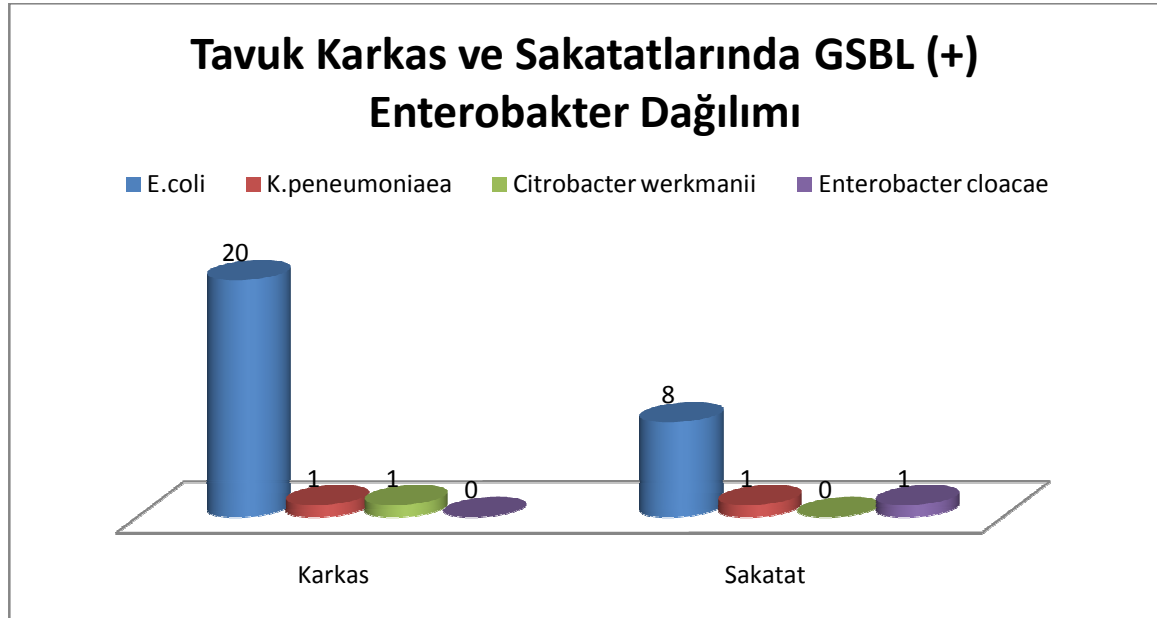
	GSBL tarama sonucu	Antibiyotik doğrulama ve MİK değeri tespiti sonucu	İki metod arasındaki GSBL(+) çıkma oranları (%)
VITEK®MS ile tiplendirmesi yapılan mikroorganizmalar	GSBL(+) mikroorgani zma sayısı (62)	GSBL(+) mikroorgani zma sayısı (33)	
<i>E. coli</i>	32	28	87,5
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	6	2	33,3
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	2	50
<i>Citrobacter werkmanii</i>	5	1	20
<i>Serratia fonticola</i>	2	0	0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	0	0
<i>Hafnia alvei</i>	4	0	0
<i>Pseudomonas putida</i>	1	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	3	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0	0
<i>Kintermedia</i>	1	0	0
<i>Myroides odoratimimus</i>	1	0	0

Karşılaştırılması

GSBL pozitif olduğu kesinleşen numunelerin, numune durumları ve GSBL bulunma oranları Çizelge 4.4 de verildi. Tavuk numunelerini toplama şekline göre sınıflandırdığımızda direkt çiftlikten alınan kümes damızlık numunelerde yalnızca *E.coli* izole edildi. Ambalajlı numunelerde *E.coli* ve *E. cloacae* izole edilirken açık döküm şeklinde satılan tavuk örneklerinden alınan numunelerde ise *K. pneumonia*, *E. cloacae* ve *C. werkmanii* tespit edildi.

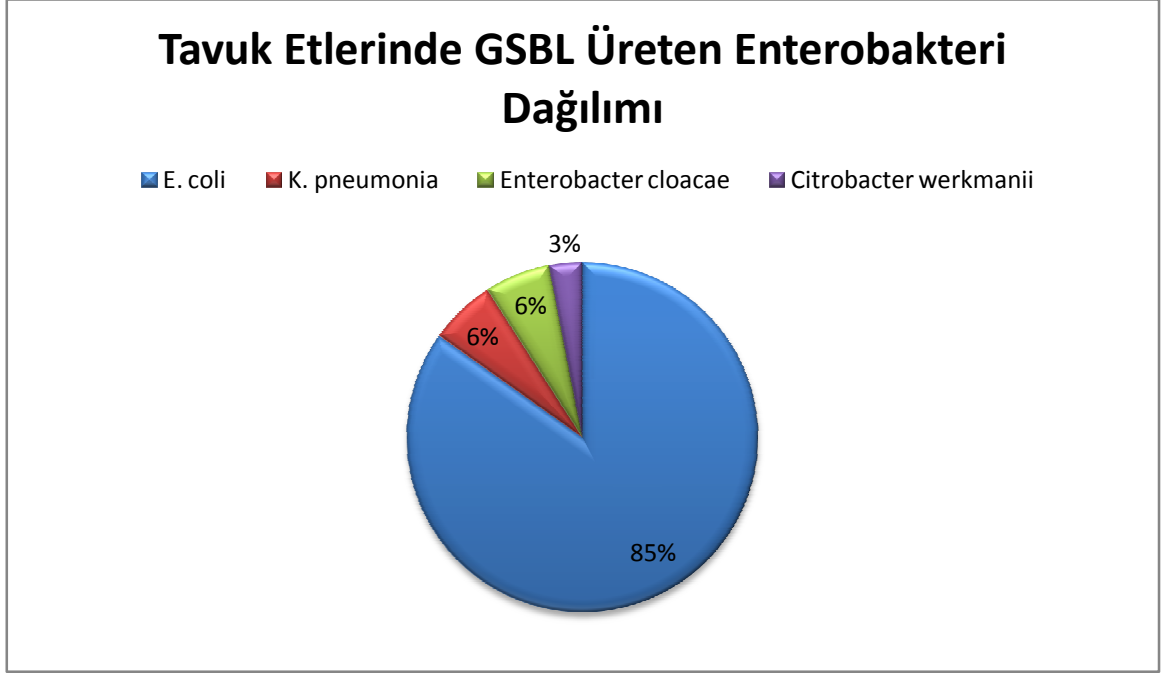
Çizelge 4.4. Numune cinsi bazında GSBL pozitif izolatların durumu

Tavuk Eti Tipi	Ambalaj Durumu	Bakteri Tipi	İzolat Sayısı (n)	İzolat yüzdesi (%)
Karkas	Açık Döküm	<i>Citrobacter</i>	1	4.5
		<i>K. pneumoniae</i>	1	4.5
		<i>E.coli</i>	12	54.6
	Kapalı Ambalajlı	<i>E.coli</i>	5	22.8
	Kümes	<i>E.coli</i>	3	13,6
	Ara Toplam		22	100
Sakatat	Açık	<i>Enterobacter</i>	1	9,1
		<i>K.pneumoniaea</i>	1	9,1
		<i>E.coli</i>	5	45,4
	Kapalı ambalajlı	<i>Enterobacter</i>	1	9,1
		<i>E.coli</i>	3	27,3
	Kümes	-	-	-
Ara Toplam		11	100	
Toplam		33		



Şekil 4.2. Kesinleşen sonuçlara göre sakatat ve karkastaki GSBL pozitif mikroorganizma dağılımı

Fenotipik doğrulama sonunda 33 GSBL pozitif izolattan %84 *E. coli*, %6,06 *K. pneumonia*, %6,06 *E. cloacae*, %3,03 *C. werkmanii* olarak tanımlandı. Sonuçlar Şekil 4.5. de sunuldu.



Şekil 4.3. GSBL pozitif izolatların tür dağılımı

Çizelge 4.5. GSBL pozitif tanımlanmış enterobakterilerin dağılımı

Tanımlanan mikroorganizma	%	n
<i>E. coli</i>	84	28
<i>K. pneumonia</i>	6,06	2
<i>E. cloacae</i>	6,06	2
<i>C. werkmanii</i>	3,03	1
Toplam	100	33

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada çiğ tavuk eti ve sakatatlarında geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklere dirençli enterobakterlerin identifikasyonu ve direnç profillerinin tespiti amacıyla Marmara Bölgesindeki çeşitli illerin halka açık pazar, market ve kasaplarından alınan toplam 109 örnek üzerinde çalışıldı. Toplam 109 numunede %30,2 kesin GSBL pozitif enterobakter izolatu tespit edildi. Kullanılan metot açısından gıdalarda antibiyotik direnci belirlemede, disk difüzyon, disk difüzyon doğrulaması ve daha sonra antibiyotik doğrulama ve MİK değerlerinin tespiti yapılması yönüyle Türkiyede yapılan ilk çalışmadır.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde “difüzyon”ve “dilüsyon”olmak üzere başlıca iki metod uygulanmaktadır. Difüzyon testleri içerisinde disk difüzyon özellikle tercih edilmektedir ve sonuçlar sıvı dilüsyon metoduyla doğrulanmaktadır. Bu çalışmada ISO 21528-2 standartları takip edilerek çalışılmıştır. Buna ek olarak Vitek MS Maldi tof ile tiplendirme ve MİK değerlerinin tayini gibi doğrulama yöntemleride ve CLSI 2013 prosedürlerine göre uluslararası kabul görmüş yöntem ve standartlar’da uygulanmıştır. Bu çalışmada GSBL üreten enterobakterilerin frekansı/bulunma sıklığı %30,2 olarak tespit edilmiştir.

Ön zenginleştirme sonrası selektif besiyeri (GSBL)’ye ekim yapılan izolatların VITEK®MS (bioMérieux) ile yapılan tiplendirme sonuçları *E.coli*, *K. pneumoniae*, *C. werkmanii*, *E. cloacae*, *S. fonticola*, *A. baumannii*, *H. alvei*, *P.putida*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *K. intermedia*, *M. odoratimimus* olarak belirlendi ve bu alanda yapılan çalışmalarda dünya literatürüyle (*E.coli*, *E.cloacae*, *Salmonella spp.*, *K.pneumoniae* ve *Citrobacter spp.*) uyumluluk gösterdi (Gonzalez ve ark., 2013; Tham ve ark., 2012).Kesinleşen sonuçlara göre tanımlanan GSBL pozitif mikroorganizmalar ve oranları Çizelge 5.1. da sunulmuştur.

Çizelge 5.1. GSBL pozitif tanımlanmış enterobakterilerin dağılımı

Bakteri Tipi	%	n
<i>E. coli</i>	84	28
<i>K. pneumonia</i>	6,06	2
<i>E. cloacae</i>	6,06	2
<i>C. werkmanii</i>	3,03	1
Toplam	100	33

Yapılan disk difüzyon sonucun göre beta-laktam duyarlılık motifleri değerlendirildiğinde en yüksek direnç sefpodoksimine gösterildi (CPD %96,9). Disk difüzyon testi yapılan izolatların %45,4 CAZ, %96,9 CPD, % 87,8 CTX olmak üzere en yüksek direncin CPD'ne karşı geliştirildiği görülmüştür. Disk difüzyon konfirmasyon sonuçları % 72 CAZ CV, %90 CTX CV ve %93 CPD CV olmak üzere diskdifüzyon sonuçlarını desteklemiş ve paralellik göstermiştir.

Ülkemizde bu alanda yapılan çalışmaların sayısı oldukça az ve metod açısından bizim kullandığımız şekliyle mevcut değildir. Türkiyede gıda alanında yapılan antibiyotik direnç belirleme çalışmalarında yalnızca fenotipik yöntemlerle identifikasyon yapılmış şu ana kadar antibiyogram doğrulama ve MİK değerleri tespiti yapılmamıştır. Kaya ve ark., (2007) Çalışmalarında tavuk intestinal sisteminden izole edilen 80 *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarında GSBL direnci tespit etmedikleri çalışmalarında bazı antibiyotikler için direnç durumlarını bildirilmişlerdir.Çalışmada %17,5 örnekte yüksek düzey aminoglikozit direnci tespit edilerek yükselmekte olan antibiyotik direncine vurgu yapılmıştır.

Kaya (2007); tavukların çekum içeriğinden alınan numunelerde ki *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında antibiyotik direnç ve duyarlılık durumlarını incelediği çalışmasında *E.coli* deki en yüksek duyarlılığın IMP (imipenem)den sonra CAZ (%96) karşı gösterildiğini rapor etmiştir. Bu çalışmada CAZ(45,4)ile diren profili sergilemiştir.Kaya,yaptığı çalışmada metod açısından fenotipik yöntem kullanılmıştır ve sonuçlar GSBL negatif olarak rapor edilmiştir. Kaya'nın çalışmasında GSBL açısından hiçbir pozitif örneğin olmamasını bizim çalışmamızla karşılaştırdığımızda tavuk etlerindeki kontaminasyonun tavuk etinin kesim sonrası olabileceğini düşündürdü. Bu çalışmanın kısıtlayıcı tarafı direk kesimhaneden örnek

alınamamasına bağlı olarak kontaminasyonun hangi aşamada olduğuyla ilgili yorum yapılamayışı olmuştur.

Türkiyede hayvan orjinli yiyeceklerde GSBL üreten *E. coli* ve *Klebsiella* türlerinin antibiyotik direnç prevalansını çıkarmayı amaçlayan Gündoğan ve Avcı (2013), 50 *Klebsiella oxytoca* nin %26, 45 *E. coli* nin % 44, 13 *Klebsiella* 'nında %38,5'i GSBL pozitif olduğu tespit edilmiştir Bu çalışmada çift disk sinerji metodu kullanılmış, antibiyotik doğrulama ve MİK değeri tespiti yapılmamıştır. 2013 te yapılan çalışma sonuçlarımızı destekler nitelikte olsada yalnızca fenotipik tespit yapmış olmalarından dolayı yeterli değildir. Nitekim yalnızca disk difüzyon ve disk difüzyon konfirmasyon sonuçlarımıza baktığımızda GSBL oranı % 66 iken antibiyotik doğrulama ve MİK değerleri tespiti sonunda %33'e dışmüştür. İki yöntem arasındaki %50 lik fark tarama testlerinin bu alanda yapılan çalışmalarda yeteri kadar güvenilir olmayacağını dışündürmüştür. Metotlar arasındaki uyum oranları (bkz) izelge 4.3.'te sunulmuştur.

Öte yandan tüm Dünyada ihracatı ve ithalatı gerçekleşen tavuk etinde farklı çalışmalardan elde edilen verilerin karşılaştırılabilmesi için sadece aynı metodolojinin kullanılıyor olması yeterli olmamaktadır. Dolayısıyla verilerin MİK değerleriyle birlikte verilmesi orijinal verilerin hızlı ve kolay bir şekilde değerlendirilebilmesi açısından önem taşıyacaktır.

Yine Türkiye de yapılan farklı bir çalışmada 930 tavuk karkasından izole edilen 99 *Salmonella* izolatı 12 farklı antibiyotiğe karşı test edilmiş, izolatların %46'sında çoklu ilaç direnci görülüp %1 oranında GSBL direnci bulunmuştur (Ata ve ark 2015). Yaptığımız çalışmayla karşılaştırdığımızda GSBL direncinin *Salmonella* gibi hayvansal gıdalarda yoğun bulunan enterik bakteriden ziyade *E.coli* ve *Klepsiella* gibi hastane kökenli bakterilerde yükselişi dikkat çekicidir. Görüldüğü gibi Türkiyede bu alanda yapılan çalışmalar antibiyotiklerin kalıntı riskleri ve fenotipik yöntemlerle antibiyotiklerin direnç durumlarını tespit etmenin ötesine geçememiştir. Klinik alanda yapılan birçok çalışma olsada gıda alanında yapılan çalışmalar sınırlı sayıda kalmıştır.

Gıdalarda GSBL üreten enterobakterilerin varlığını saptamaya yönelik çalışmalar tüm Dünyada yapılmaktadır (Stuart ve ark., 2013; Stuart ve ark., 2012; Depoorter ve ark ., 2012; Schwaiger ve ark., 2012; Lopez-Cerero ve ark., 2012 ;Laube ve ark., 2014; Gonzalez ve ark., 2013; Overdevest ve ark., 2011; Kaya ve ark., 2007 ;

Campos ve ark., 2014 ;Ata ve ark., 2015 ;Schaumburg ve ark., 2014 ;Keskinöz, 2010;Yıldırım, 2010).

Tavuk etlerinde GSBL prevalansı çeşitli ülkelere göre farklılık göstermektedir. Hollanda da %94 olan GSBL direnci Dünyanın en fazla tavuk üretimi yapan üç ülkesinden biri olan Çinde %13,9 olarak bildirilmiştir (Stuart ve ark., 2012; Zhang ve ark., 2012).Yaptığımız çalışmada çıkan sonuçlarımız % 30,2 ile Hollandanın çok altında fakat Çin'in üzerinde çıkmıştır. Genellikle gelişmiş ülkelerde sağlık sektöründe kullanılan antibiyotik miktarının fazla oluşuyla hastane kökenli enterobakterilerdeki direncin yükselişi paralellik gösterebilir gıda alanında böyle bir yorum yapmak henüz doğru olmayacaktır.

Antibiyotiklerin insanlarda (yoğun bakım ünitelerinin ve hastanede yatış sürelerinin giderek uzaması) ve hayvanlarda (gıda endüstrisinde özellikle çiftlik hayvanlarında anaflaktik uygulanması) sürekli ve yanlış kullanımı, yayılımdaki ana etken olarak düşünülmektedir (Philips ve ark 2004; Demirtürk ve Demirdal 2004; Bandura ve ark 2014). Türkiyede antibiyotiklerin büyüme faktörü olarak kullanımı 21/01/2006 tarihinden itibaren tümüyle yasaklanmış (Resmi Gazete: sayı:26056; Tuncer, 2007) olmasına rağmen karma yem fabrikalarının ürettiği yemlerin kontrolleri etkili bir şekilde yapılamadığından bu yemlerin sektörde kullanımının önüne geçilememektedir. (OECD, 2015; Anonim, 2003).

Antibiyotik direnci toplum sağlığını baskılayan ve tüm Dünyada endişeyle takip edilen önemli bir sorundur (Bush ve ark 2011). İnsanlardaki direnç antibiyotiklerin yaygın kullanımı özellikle gelişmiş ülkelerde gelir düzeyinin artışına bağlı olarak hastanelerdeki yatma süresinin artması ve fazlaca antibiyotik kullanımı sonucu oluşan direnç karşısında geniş spektrumlu yeni antibiyotiklerin geliştirilmesini ve buna bağlı olarak antibiyotik direnç prevalansının giderek artışına sebep olmuştur (Laxminarayan ve ark., 2013).

Hayvanlardaki artan direncin ise veteriner hekimlikteki kullanılan aminoglikozitler, Beta-Laktamlar, (Penisilin ve sefalosporin), glikopeptitler, polipeptitlerler, tetrasiklinler, makrolidler, sulfanomidler gibi antimikrobik maddelerin kümes hayvanlarının üretimi sırasında yoğun ve yanlış kullanılmasına bağlı olarak ortaya çıktığı ve özellikle çiğ tavuk ürünlerinde ortaya çıkan dirençli bakterilerin insanlarda sıkça kullanılan antibiyotiklere dahi yoğun bir direnç kazandığı bildirilmiştir (Jacoby, 2015; Hammerun ve Heuer 2009) . Dirençli bakterilerin besin ürünleri

vasıtasıyla hayvanlardan insanlara geçişini raporlayan bir çok çalışma mevcuttur (Thorsteinsdottir ve ark., 2011) .

Enterik bakteriler başlıca sepsis, üriner sistem ve solunum yolu infeksiyonları olmak üzere intraabdominal infeksiyonlar, pinemöni, yara yeri infeksiyonları hatta menenjitte sebep olabilmekte ve bu infeksiyonlarda gelişen komplikasyon riski ve ölüm oranı giderek artmaktadır (Tükenmez- Tigen ve Mülazımoğlu, 2012). Gelişen direnç karşısında tedavilerin maliyeti ve süresinde artmalar başlamıştır. Dolayısıyla antibiyotiğe dirençli bakterilerin yayılımını infeksiyon hastalıklarının başarılı bir şekilde tedavisini güçleştiren önemli bir problem olarak değerlendirmek gerekmektedir (Anderson, 2003) .

Dünya çapında birçok insanın diyetinin önemli bir bölümünü oluşturan tavuk eti, fiyatının ucuz olması, B vitamini ve birçok mineral açısından zengin olması, yağ oranının düşük, sindiriminin kolay, sağlıklı ve besleyici bir protein kaynağı olması sebebiyle beslenmede fazlaca tercih edilmektedir (İnci ve ark 2014) .

Ülkemizde hergeçen gün artarak devam eden tavuk eti tüketimi 1990'lı yıllarda fert başına 3,8 kg iken 2001 yılında 8,5 kg düzeyine ulaşmış hatta 2014 yılında ise bu miktar 21 kg'a kadar çıkmıştır. (Besd Bir, 2014) .

Tavuk eti ve ürünlerinin insan beslenmesindeki büyük önemine karşılık, insan sağlığını olumsuz etkileyebilecek, ciddi enterik hastalıklara ve infeksiyonlara yol açabilen patojen ve/veya fırsatçı bakteriler ile bulaşma olasılığı yüzünden, gıda güvenliği açısından risk oluşturabilmektedir. Bu nedenle tavuk eti ve ürünlerinde insan sağlığına zararlı bazı mikroorganizmaların varlıkları ve bulunma üst sınırları ulusal ve uluslararası otoriterler tarafından belirlenmiştir. Türkiyede Türk Gıda Kodeksi tarafından belirlenen gıda hijyeni kriterleri giriş bölümünde tablo halinde sunulmuştur.

Gıda güvenliği bakımından önemli indikatör mikroorganizmaların varlıkları, rutin kontrolleri ve antibiyotik kalıntılarının takibi 4/5/2012 tarihli ve 28282 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği ile denetlenmektedir. Ancak, zararlı bakteriler ve antibiyotik kalıntılarına dair yönetmelikler var olmasına rağmen, antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların tavuk eti ve ürünlerinde denetlenmesine dair Türkiye ve yurtdışında henüz bir talimat /yönerge yürürlüğe girmemiştir. Bu açıdan bakıldığında, tavuk eti ve ürünlerinde yetiştiricilikten itibaren antibiyotiklerin

kullanımının denetlenmesi, gıdalarda varlıklarının araştırılması ve olası yayılma yollarının anlaşılması bakımından, bu çalışmada yapıldığı şekilde antibiyotiklere dirençli bakterilerin tip ve bulunma sıklıklarının düzenli olarak takibi tavsiye edilmektedir (EFSA 2011). Bu nedenle, bu çalışma tavuk etlerinde mevcut olan dirençli bakterilerin varlıklarını saptamayı amaçlaması açısından ayrıca önem taşımaktadır

Tavuk ürünlerine genel olarak *Enterobakter*, *Alkaligenes*, *Esherichia*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter-Moraxella*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* ve *Salmonella* gibi bazı mikroorganizmalar mevcuttur (Ünlütürk ve Turantaş, 2015). İnsan beslenmesinde önemli bir protein kaynağı olan tavuk ürünlerinin kesimden sonra, tüylerin yolunması, iç organlarının çıkarılması, yıkanması, haşlanması, üretimi, nakliyesi ve tüketiciye ulaşana kadar geçen depo süresi esnasında gerekli hijyenik kurallara uyulmaması veya ete elle dokunulması, etin kontamine su ve diğer gıda maddeleriyle teması ile kolaylıkla enterobakteriler tarafından kontamine olabildiğinin mümkün olduğu bildirilmiştir (Alvarez- Fernandez ve ark 2013) .

Tavuk etinin yeterince pişirilmemesi veya çapraz kontaminasyon gibi çeşitli nedenlerle insan sindirim sistemine ulaşan GSBL dirençli enterobakteriler aynı genleri insan mikroflorasındaki yararlı bakterilerde aktarması olasılığı, direncin yayılmasında dikkate alınması gereken önemli bir konudur.

Gıda kaynaklı enterobakteriler'deki üçüncü nesil sefalosporinlere karşı dirence katkı sağlayan plazmid kodlu beta-laktamazların artan yaygınlığı halk sağlığı açısından Dünya çapında tanınan bir sorundur. Yakın zamanda yapılan çalışmalar GSBL genlerinin, onların plazmidlerinin ve bu plazmidleri barındıran *E.coli* izolatlarının geçişinin kümeden insanlara doğru olabileceğini öngörmüştür (Overdeest ve ark., 2011; Leverstein-Van Hall ve ark. 2011) .

Chiaretto ve ark (2008) ise çiftlik hayvanları, evcil hayvanlar, yabani hayvanlar ve çevresel atıklardan aldığı örneklerden GSBL pozitif *E.coli* ve *Salmonella* türleri izole ettikleri çalışmalarında toplum kökenli GSBL üreten mikroorganizmaların yayılımının, hayvanlardan insanlara veya insanlardan hayvanlara olabileceği öngörmüşlerdir. Carratoli (2008) ise hayvanların GSBL üreten enterobakteriler için depo görevini gördüğünü savunmuştur.

Sonuçlar veteriner hekimlikte aşırı ya da bilinçsiz antibiyotik kullanımı, hijyenik olmayan koşullarda hayvansal gıdaların paketlenmesi, nakliyesi gibi sebepleri

düşündürsede dirençli bakterilerin insanlardan hayvanlara, hayvanlardan insanlara akışının olduğunu anlamak için ileri düzey moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

Seksenli yıllarda GSBL üreten suşların çoğu hastane kökenli iken 2000' den sonra toplum kökenli ve gıda kökenli suşlarda da GSBL tespit edilmeye başlanmıştır. 1980'li yıllarda Avrupada özellikle *K.pneumoniae* de sık görülmekte olan GSBL, günümüzde özellikle *E.coli* açısından ilk sırayı almaktadır. GSBL yaygınlığı toplumsal alanda dikkate değer oranda artışıyla sağlıklı bireylerin dışkılarından bile izole edilmiştir. Toplum kökenli fekal taşıyıcılığın 2001 yılında %2,1, 2002 yılında %7,5, 2010 yılında %11,3' e yükseldiğini rapor edilmiştir (Canton ve ark 2008; Mirelis ve ark, 2003; Wickramasinghe, 2012).

Belçikada canlı besi hayvanlarından yalıtılan *E.coli* suşlarının %35'i 3. nesil sefalosporinlere karşı dirençli bulunmuştur. Oluşan direnç, yoğun besi hayvancılığına ve tavuktaki çapraz kontaminasyona bağlanmıştır. CLSI 2013 standartlarına uygun ve bu çalışmayla aynı metodoloji kullanılmış ve arkasından genetik analizler yapılmıştır. İnsan sağlığı için son derece kritik öneme sahip bu dirençli antimikrobik genlerin insan bağırsağındaki bakterilere transferinin muhtemel olduğu öngörülmüştür. (Deporter ve ark., 2012).

Hollanda'da yapılan benzer bir çalışmada ise insan kan örnekleri ve rektal sürüntülerinden elde edilen *E. coli* izolatlarıyla çığ tavuk etindeki geniş spektrumlu beta laktamaz genleri taşıyan *E. coli* izolatları incelenmiş ve çığ tavuk etindeki GSBL içeren *E. coli* prevalansı %79,8 olarak belirlenmiş ve bizim çalışmamızdaki *E. coli* prevalansı(%84) ile paralellik göstermiştir. (Overdeest ve ark., 2011).

İspanya Navara'da kümes hayvanlarının et ürünleri içerisinde GSBL üreten enterobakteriler açısından (%84) oranla en yüksek yaygınlığa sahip olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada direnç profili en yüksek bakteri *E. coli* (%71) olarak rapor edilmiştir (Gonzalez ve ark., 2013).

Yaptığımız çalışmada direnç profili en yüksek bakteri olarak *E. coli* (%84) tespit etmiş olmamız literatürle paralellik göstermiştir. İspanyanın güneyinde tavuk etlerinde yapılan diğer bir çalışmada GSBL taşıyan *E. coli* oranının 2007'de % 62,5 iken 2010 yılı itibarı ile % 93,3 'e yükseldiği bildirilmiş ve üç yılda artarak devam eden dirençli enterobakterilerin tavuk etindeki varlığına dikkat çekilmiştir (Lopez-Cerero ve ark., 2012)

Almanya Bavyera da çiğ tavuk etinden izole edilen GSBL prevelansı % 67 *E. coli*, %16 *Enterobakter* türleri, %8 *Citrobakter* türleri, %12 *Klebsiella*, %8 *Salmonella* olarak tespit edilmiştir. *Klebsiella*'nın kesimhaneden alınan örneklerde, *E. coli* dışındaki en yaygın form olduğuna vurgu yapılmış, *Salmonella* 'nın tavuk etinde %17, domuz etinde % 0,4 olduğu, *Enterobakter*, *Citrobakter* ve *Klebsiella*'nın kesimhaneden alınan örneklerde *E. coli* dışındaki en yaygın bakteriler olup, kesimhaneden alınan örneklerle kıyaslandığında dirençli bakteri yaygınlığı perakende et örneklerinde daha yüksek bulunmuştur (Schwaiger ve ark., 2012).

Bu anlamda, yaptığımız çalışmada açık döküm satılan ürünlerdeki *E.coli* prevelansının yaygınlığı Dünya literatürü ile uyum göstererek tavuk ürünlerinin kesim sonrası perakende satış ve nakliye sırasında çapraz kontaminasyona maruz kaldığını düşündürmüştür. Ülkemizde sürekli değişen yönetmelikler tavuk ürünlerinin marketlerdeki satışının kapalı olmasına nihayet karar vermiş olup açık döküm tavuk ürünleri satışı Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından 5 Şubat 2015'te 29266 sayılı resmi gazetede yayımlandığı şekliyle yasaklanmıştır.

Özellikle 3. kuşak sefalosporinlere karşı oluşan direnç çoğu zaman Beta laktam+ Beta laktamaz kombinasyonlarına karşı da oluşarak multi dirence sebep olmaktadır (Demirtürk ve Demirdal 2004). Hollandada kümes hayvanlarındaki enterobakterilerde GSBL direnç prevelansı %94 olan bir çalışmada 98 adet üçüncü nesil sefalosporin'e dirençli tavuk eti örneğinin %12 sinde AmpC üreten *E.coli* olduğu tespit edilmiştir (Stuart ve ark, 2013) Bu çalışmada 33 adet GSBL pozitif izolatın 2 tanesinde (%6) AmpC üreten *E. coli* tespit edilmiştir, çalışmamız bu bakımdanda literatür ile paralellik göstermiştir.

Ülkemizde ve birçok Dünya ülkesinde organik tavuk üretiminde, antibiyotik kullanılmamasına bağlı olarak, dirençli bakterilerin organik tavuk etlerinde bulunmayacağı düşünülse de yapılan çalışmalar organik diye ifade edilen birçok besinin bu anlamda masum olmadığını göstermiştir.

Hollanda da “Organik ve geleneksel tavuk etindeki GSBL kontaminasyonunun kıyaslanması” başlıklı çalışmada 98 çiğ tavuk örneği (60 geleneksel, 38 organik) incelenmiş geleneksel örneklerde %100, organik ürünlerde %84 GSBL pozitif mikroorganizma tespit edilmiştir. *E. coli*'de belirlenen GSBL genleri geleneksel et örnekleri ile büyük oranda aynı bulunmuştur (Stuart ve ark., 2012).

Dirençli bakterilerin yayılımındaki hız tüm Dünyanın dikkatini çeken ciddi bir halk sağlığı olarak karşımıza çıkmaktadır. Sığır izolatları ile kümes hayvanlarından izole edilen izolatlar GSBL direnci bakımından karşılaştırılınca ve kümes hayvanlarının enterobakteriler açısından daha yüksek dirence sahip olduğu ayrıca bu sonuca dayanarak kümes hayvanlarındaki geniş spektrumlu beta-aktamazların üretimi açısından en risk taşıyan et kaynağı olduğunu önerilmiştir (Skockova ve ark., 2015). Sonuç olarak tavuklarda kesin olarak yasaklanmasına rağmen anabolik madde olarak ve anafilaktik olarak kullanılan antibiyotiklere maruziyetin fazla oluşu ve alternatif anabolik ürünlerin değerlendirilmesi gerektiği düşünülmüştür.

Hayvanlarda anabolik madde olarak antibiyotiklerin kullanımı yasaklanmış olsada çiftliklerde kaçak kullanılan karma yemlerin önüne geçilemeyişi gerçeği ve artan talep karşısında üreticiler büyümeyi hızlandırıcı farklı anabolik maddeleri değerlendirmeye başlamıştır. Anabolik madde olarak değerlendirilen inülinin kanatlılarda kolonik mikrobiyal ekoloji, hayvan sağlığı, yumurta kabuk kalitesi, yem etkinliği üzerinde olumlu etkilere sebep olduğu ve kanatlı beslenmesinde probiyotik olarak kullanılabilmesi yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır (Aşan ve Özcan 2006).

Son yıllarda Türkiyede ve Dünyada yem katkı maddesi olarak kullanılan biyoteknolojik ürünlerden humik asit, malik asit, asetat, propiyonat, bütirat, gibi organik asitler bağırsak pH sını düşürerek ve patojen bakterilerin gelişimini engelleyerek, prebiyotik ve probiyotikler bağırsak florasını yararlı mikroorganizmalar lehine çevirerek ve yemden yararlanmayı arttırarak, tıbbi ve aromatik bitkiler ile esansiyel yağlar gibi antibiyotiklere alternatif büyüme faktörleri yoğun bir şekilde araştırılmaktadır (Karademir ve Karademir, 2003). Bu anlamda yem katkı maddesi olarak kullanılan humik asidin kısmi olarak anabolik etki yaptığı ve humik asit kalitesindeki artışla bu etkinin daha fazla artacağı önerilmiştir (Öztürk 2012).

Ucuz ve besleyici olması sebebiyle fazlaca tüketilen tavuk ürünlerinin GSBL üreten *Enterobacteriaceae* içermesi ve bu gıdalarla beslenen insanlara aktarılan bu genlerin hastalıklarda kullanılan aynı grup antibiyotiklere karşı gösterebilecekleri direnç sebebiyle tedavisinin olumsuz etkilenebileceği düşünülmekte ve bu anlamda gıdalardaki antibiyotik dirençleriyle ilgili gen karakterizasyonu çalışmalarının genişletilerek yapılması öngörülmektedir.

Yaptığımız çalışmada kullanılan metod açısından fenotipik yöntemlerin GSBL belirlemede yeterli olmadığı, GSBL tarama sonuçlarının MİK değerleri tespiti ve mikrodilüsyon ile doğrulanması gerektiğini ortaya koymuştur.

Sonuç olarak; bu çalışmada İstanbul ili ve çevre bölgelerinde satışı sunulan karkas tavuk etleri ve sakatat ürünlerinde fenotipik yöntemler ile yapılan incelemelerde GSBL pozitif enterik bakteriler kesin şekilde tespit edilmiştir. Bu bakımdan, GSBL pozitif enterobakterler içeren tavuk etlerinin tüketici ve sağlığı bakımlarından risk teşkil ettikleri anlaşılmıştır. GSBL pozitif enterobakterilerin gıdalardaki yaygınlığı ve halk sağlığı açısından risk faktörlerinin değerlendirilmesi açısından daha ileri genetik çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Akova, M.**,(2004).Dikkat:Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz(GSBL) var!!Ankem derg., 18(ek 2):98-103
- Aerestrup,F.M., Hasman, H., Agerso, Y., Jensen, L.B., Harksen, S.,Svensmark, B.** (2006).First description of blaCTX-M-1carrying Escherichia coli isolates in Danish primary food production.The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 57, 1258-1259.
- Anadon, A., MartineLarranaga, MR.**(1999). Residuens of antibikrobal drugs and feed addivites in animal products;regulatory aspects.Livestock Product. Sci., 59, 183-198.
- Adams, M.R. ve Moss, M.O.** (1995). Food Microbiology, The Royal Society of Chemistry, pp. 343-349.
- Anonim**, (2003). Türkiye Hayvancılığı, Hedef 2023-Sorunlar, Çözüm Yolları ve Politika Arayışları, Adana.
- Anderson, D.J.**, (2003). Persistence of antibiyotic resistant bacteria.Current opinion in Microbiology 6, 452-456.
- Angulo, F.J., Nargund, V.N., &Chiller, T.C.** (2004).Evidence of an association between use of anti-microbial agents in food animals and anti-microbial resistance among bacteria isolated from humans and the human health consequences of such resistance .Journal of Veterinary Medicine Series B, 51(8-9),374-379.
- Ata, Z., Dinç, G. Yılbar, A., Müştak, H.,Şahan, Ö.**, (2015).Extended Spektrum beta-lactamase activity and multidrug resistance of salmonella serovors isolated from chicken carcasses from different regions of Turkey.Ankara Ün. Vet. Fak. Derg. 62,119-123
- Aynagöz, Z.**,(1993).Hormon ve benzeri maddelerin hayvan beslemede kullanılması. Doktora semineri.Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Ankara.
- Alvarez-Fernandez,E., Cancelo, A., Diaz-Vega, C., Capita, R., &Alonso-Calleja, C.**(2013).Antimicrobial resistance in *E.coli* isolates from conventionally and organically reared poultry:a comparison of agar disc diffusion and Sensi Test Gram-negative methods.Food Control, 30, 227-234.
- Aşan, M.,Özcan, N.**, (2006).Kanatlı Beslemede İnülinin Prebiyotik olarak önemi;Hayvansal üretim 47(2):48-53
- Aydın,G. ve Koçak,D.**(1999). Bazı Antibiyotiklerin Kanatlı Yemlerinde Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanımlarındaki Sakıncalar ve Avrupa Birliği'nin Bu Konudaki Aldığı Kararlar,s.316-320.VIV Poultry Yutav'99 Uluslar arası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı, İstanbul.
- Balıkçı, A. ve Kayacan, Ç.** (2007). Escherichia coli ve *Klebsiella* Cinsi Bakterilerde Plazmidik Ampc Tipi Beta Laktamaz Direnci. İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu Proje no: T-674 /30062005
- Butaye, P., Devriese, LA., Haesebrouck, F.**(2003). Antimikrobal growth promoters used in animal feed; Effects of less well kown antibiotics on gram-pozitive bacteria. Clinic. Microbial. Rev., 16, 175-188.

- Bonfiglio, G., Russo, G., Nicoletti, G.** (2002). Recent developments in carbapenems. *Expert Opin Investig Drugs*, 11(4): 529-544.
- Bush, K., Jacoby, G.A., Medeiros, A.A.** (1995). A functional classification scheme for beta lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agent Chemother*. 39: 1211-1233.
- Bush, K., Courvalin, P., Dantaş, G., Davies, J., Eisentein, B., Huovinen, P., Jacoby, G.A., Kishony, R., Kreiswirth, B.N., Kutter, E., Lerner, S.A., Levy, S., Lewis, K., Lomovskaya, o., Miller, J.h., Mobashery, S., Piddock, L.j.V., Projan, S., Thomas, C.M., Tomasz, A., Tulkens, P.M., Walsh, T.R., Watson, J.D., Witkowski, J., Witte, W., Wright, G., Yeh, P., Zgurskaya, H.ı.,** (2011). Tackling antibiotic resistance. *Nat.Rev.Microbiol*. 9, 894-896.
- Bradford, P.A., Urban, C., Mriano, N., Projan, S.J., Rahal, J.J., Bush, K.** (1997). Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC β -lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother*, 41: 563-569.
- Badura, A., Luxner, J., Feierl, G., Reinthaler, F.F., Zarfel, g., Galler, H., Pregartner, G., Riedl, R., Grisold, A.J.** (2014). Prevalence antibiotic resistance patterns and molecular characterization of *Escherichia coli* from Austrian sadpits. *Environmental Pollution* 194,24-30.
- Barroso H., Freitas VA., Lito LM.** (2000): Survey of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum β -lactamases at a Portuguese hospital: TEM-10 as the endemic enzyme. *J Antimicrob Chemother*;45: 611-6.
- Baskın H.** (2005). Mikroorganizmanın çevreye uyumu ve biyofilm: “Quorum Sensing”(Çoğunluğu Algılama). XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi. *Klinik Dergisi* , 18 (Özel Sayı): 9-10.
- BESD-BİR;** <http://www.besd-bir.org/istatistikler>
Besd-Bir;gidaguvencigi.ankara.edu.tr/wp-content/.../2014/11/Dr.Sait-KOCA.pptx
- Blanc, V., Mesa, R., Saco, M., Lavilla, S., Prats, G., Miro, E., Navarro, F., Cortes, P., Llagostra, M.** (2006). ESBL –and plasmidic class C beta- lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Veterinary Microbiology* 118,299-304.
- Bortolaia, V., Guardabassi, L., Trevisani, M., Bisgaard, M., Venturi, L., Bojesen, A.M.** (2010). High diversity of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* isolates from Italian broiler flocks. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54, 1623-1626.
- Bozkaya, E.** (2002). Tıbbi Mikrobiyoloji 1 .istanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Nobel Tıp Kitapevi, 107-133.
- Bilge (Ös), F. Ve Karaboz, İ.** (2005). İzmir’de Piyasada Açıkta Satışa Sunulan Bazı Gıdaların *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinleri bakımından incelenmesi. *Orlab-Online Mikrobiyoloji Dergisi*, 03:06, 1-6.
- Conner, D.E., M.A. Davis, and L. Zhang,** (2001). Poultry-borne Pathogens: Plant Considerations. Pages 137–159 in *Poultry Meat Processing*. A. R. Sams, ed. CRC Press, Boca Raton, FL..
- Carattoli, A.** (2008). Animal reservoirs for extended spectrum beta-lactamase producers. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(Suppl. 1), 117-123.
- Can, H. Yeşim, Çelik, T. Haluk.** (2008). Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı ve kalıntı riski. *Vet. Hekim Der. Derg.* 79(4): 35-40

- Casewell, M., Friis, C., Marco, E., McMullin P. Ve Phillips, I.** (2003).The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health.Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 52, 159-161.
- Chanawong, A., M'Zali, FH., Heritage, J., Lulitanond, A.** (2001). Hawkey PM. SHV-12, SHV-5, SHV-2a and VEB-1 extended-spectrum beta-lactamases in Gram negative bacteria isolated in a university hospital in Thailand. *J Antimicrob Chemother*, 48: 839-852.79
- Chiaretto, G., Zavagnin, P., Bettini, F., Mancin, M., Minorello, C., Saccardin, C. and Ricci, A.** (2008) Extended spectrum b-lactamase SHV-12-producing Salmonella from poultry. *Vet Microbiol* 128, 406–413.
- Çetinkaya, E. ve Ayhan, K.** (2012).Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler TekniklerKaraelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, 2(1):53-62.
- Çoban,A.Y.,**(2012).<http://www.klimik.org.tr/wpcontent/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf>
- CLSI. Clinical and Laboratory Standarts Institute** (2013). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement, CLSI Document M100-S23, CLSI,Wayne PA.
- Cantón, R., Novais, A., Valverde, A., Machado, E., Peixe, L., Baquero, F. ve Coque, TM.,**(2008). Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing **Enterobacteriaceae in Europe.** *Clin Microbiol Infect. Suppl,1*, 144-153.
- CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute.** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Twenty-Third Informational Supplement, CLSI Document M100-S23, CLSI, Wayne PA, (2013).
- Diarrassouba, F., Diarra, M.S., Bach, S., Delaquis, P., Pritchard, J., Topp, E., Skura, B.J.** (2007).Antibiotic resistance and virulence genes in commensal Escherichia coli and *Salmonella* isolates from commercial broiler farms.Journal of Food Protection 70, 1316-1327.
- Demirtürk, N. Ve Demirdal, T.** (2004). Antibiyotiklerde direnç sorunu.Kocatepe Tıp Dergisi, 5(2):17.
- Delialioğlu, N., Öcal, N.D., Emekdaş, G.**(2005). Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Escherichia coli ve *Klebsiella* Türlerinde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Oranları. *Ankem Dergisi*, 19 (2): 84-87.
- Demirpek,U.,**(2012).<http://www.klimik.org.tr/wpcontent/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf>
- Demir, N.** (2006). Gram Negatif Bakterilerde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üretimine Katkıda Bulunan Çeşitli Risk Faktörlerinin Araştırılması. Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, s. 6-16.
- Dağlar, D. Ve Öngüt, G.**(2012).Genişlemiş spektrumlu be-laktamazlar ve tanı yöntemleri. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi; 1: 1-9..
- Duffy, G., Lynch, O.A.& Cagney, C.** (2008).Tracking emerging zoonotik pathogens from farm to fork.*Meat Science*, 78,34-42.
- Deporter, p., Persons, D., Uyttendaele, M., Butaya, P.,De Zutter, L., Dieric, K., Herman, L., Imberechts, H., Van Huffel, X. Dewulf, J.** (2012).Assesment of human exposuure to 3rd generation cephalosporin resistant E. coli(CREC) through consumption of broiler meat in Belgium. *International Journal of Food Microbiology* 159, 30-38.

- Demir, N.**, (2006). Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimine katkıda bulunan çeşitli risk faktörlerinin araştırılması, uzmanlık tezi. Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Tezi.
- EFSA.** (2008). Foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. *The EFSA Journal*, 765, 1-87
- EFSA.** (2011): Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. *EFSA Journal*, 9, 2322-2417.
- EUCAST** (2013). Guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance.
- Eraç, B.** (2000). İdrar Yolu Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Beta Laktam Direncinin Araştırılması. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, s. 8-15, 22.
- Elmalı, M. Ve Yaman, H.**, (2004). Thermophilic *Campylobacter* spp. on frozen poultry carcasses. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 10: 27-30. F
- Efe, M. ve Gümüşsoy KS.**, (2005). 9. Ankara garnizonunda tüketime sunulan tavuk etlerinin mikrobiyolojik analizi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 14, 151-157.
- Endimiani, A., ve ark.** (2010) Rapid identification of blaKPC-possessing Enterobacteriaceae by PCR/electrospray ionization-mass spectrometry. *J. Antimicrob. Chemother.* 65:1833–1834.
- FAO.**(2014). Faostat: Food balance sheets. Available at <http://faostat.fao.org/site/610>
- FAO/WHO/OIE.** (2008). Joint FAO/WHO/OIE expert meeting on critically important antimicrobials . Report of meeting held in FAO, Rome ,Italy, November 2007, Geneva, Switzerland.
- FAO.**Status Report on Antimicrobial Resistance, 2015. <http://www.fao.org/3/a-mm736e.pdf>,
- Geser N., Stephan R., Hächler H.**, (2012). Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae in food producing animals, minced meat and raw milk. *BMC Veterinary Research*, 8:21, doi:10.1186/1746-6148-8-21.
- Gniadkowski, M.** (2008). Evolution of extended-spectrum beta-lactamases by mutation. *Clinical Microbiology and Infection*. 14(Suppl. 1), 11-32.
- Gülay, Z.** (2004). ESBL'lerin tanı yöntemleri. Ünal S, Vahaboğlu H, Leblebicioğlu H, Öztürk R, Köksal İ (eds). *Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar*. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara
- Gülmez, D., Hasçelik, G.**, (2008). Enterokok Suşlarının Antimikrobiyal Duyarlılıklarını Belirlenmesinde Mikrodilüsyon Yöntemi ile Phoenix Otomatize Sisteminin Karşılaştırılması. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. *XII. International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology (IUMS) kongresi*
- Gür, D.** (2004). GSBL'lerin genel özellikleri ve GSBL tipleri: genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar, yeni ve yeniden gündeme gelen enfeksiyonlar. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara, s. 5-12-15.
- Gündoğan, N., Avcı, E.**, (2013). Prevalence and antibiotic resistance of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species isolated from foods of animal origin in Turkey. *Afr. J. Microbiol. Res.* Vol. 7(31), pp. 4059-4064, 2 August, 2013 DOI: 10.5897/AJMR12.943. ISSN 1996-0808 ©2013 Academic Journals.

- Gonzalez, D., Ojer-Usoz, E., Vitas, A.I., Leiva, J.,Gorcia-Jalon, I., Febles-Caquero, A.,Escoleno, M.S.** (2013).Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in meat products sold in Navarra, Spain.Meat science 93,316-321.
- Harold, C., Neu, MD.** (1985). Relation of structural properties of beta-lactam antibiotics to antibacterial activity. Am J Med .(Suppl 2A): 2-13.
- Henshke Bar Meir R., Yinnon A.M., Rudensky B., Attias D., Schlesinger Y. ve Raveh D.** (2006). “Assessment of the clinical significance of production of extended spectrum beta lactamases (ESBL) by *Enterobacteriaceae*” *Infection*, 34, 66-74.
- Hartman, P.A, Minnich, S A.,**(1981).Automation for rapid identificasyon of *salmonella* in foods. J.Food Prot. 44:385-386
- Hammerum, A., M., & Heuer, O.E.** (2009). Human health hazards from antimicrobial- resistant *Escherichia coli* of animal orjin. Clinical Infectious Disaeses, 48, 916-921.
- Huber, T.W.,**(2000). Enterobacter. In Encyclopedia of Food Microbiology. 598-603. (RK Robinson, CA Batt, PD Patel eds). Academic Press, NY.
- Işık, F.** (2007). Kan kültürlerindenizole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz saptanmasında üç yöntemin karşılaştırılması ve antimikrobiyal duyarlılıklarının araştırılması.Uzmanlık tezi.Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Konya.
- İnal, T.** (1992).Besin Hijyeni, Hayvansal GıdalarınSağlık Kontrolu, Final Ofset A.S. 1-30
- İnci, H., Kaya, E., Şengül, T., Söğüt, B.**(2014). Bingöl İlindeki Kanatlı eti tüketiminin Yapısı. Türk Tarım ve doğa bilimleri Dergisi. 1(1):17-24
- Jacoby, George A. , Mills, Debra M. ve Chow N.,** (2015). Role of -Lactamases and Porins in Resistance to Ertapenem and Other -Lactams in *Klebsiella pneumoniae*. Vol. 48, No. 8.
- Karataylı, Ö. ve Bozdayı, A.M.,** (2008). Prtoeomiks ve gastroenteroloji. Güncel Gastroenteroloji, 12(2): 72-76.
- Kaya, S., Çetin, E., Arıkan, S.,Tetik, T., Kesbiç, H., Yaşar, S.,** (2007).Tavuklarda izole edilen *E. coli*, *Klebsiella* ve enterokoklarda antibiyotik duyarlılık durumları.S.D.ü.Tıp Fak. Dergisi. 14(2); 24-27
- Kunz, A., ve Brook, I.,** (2010) Emerging Resistant Gram-Negative Aerobic Bacilli in Hospital-Acquired Infections Chemotherapy 2010;56:492–500
- Kfoury JNS, Araj GF.,**(2003).Recent development in B-lactamases and extended spektrum Blactamases.British Journal Medicine ;327:1209-13
- Karademir, G., Karademir, B.,**(2003).Yem Katkı Maddesi olarak kullanılan biyoteknolojik ürünler.Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg. 43(1) 61-74
- Kojima, A., Asai, T., Ishihara, K., Morioka, A., Akimoto, K., Sugimoto, Y., Sato, T., Tamura, Y., Takahashi, T.** (2009).National monitoring for antimicrobial resistance among indicator bacteria isolates from food-producing animals in Japan.Journal of Veterinary Medical Science 71, 1301-1308.
- Keskinöz,C.** (2010).Tavuk Çiftliğinden *Enterobacteriaceae* Üyelerinin İzolasyonu ve Dirençlilik Dağılımı.Yükseklisans Tezi.Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Adana (S)1-9.
- Karapınar, M. Ve Gönül, Ş.A.** (1989).Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar.Gıda Mikrobiyolojisi.Birinci baskı,Mengi Tan Basımevi,140,112-122,134-135.
- Kang, Cl., Wi, Ym., Lee, My., et al** .(2012). Epidemiology and risk factors of community onset infections caused b extended-spectrum beta-lactamase- producing *Echerichia coli* strains .J Clin Microbiol.50(2):312-7.

- Kılıçturgay, K.** (1994). Klinik Mikrobiyoloji, Yenileştirilmiş 2. Baskı, 87-103.
- Küçükersan, K.**, (2002). Büyütme faktörleri. Türk-Koop.Ekin, 20, 31-34.
- Lavilla, S., Gonzalez-Lopez, J.J., Miro, E., Dominguez, A., Llagostera, M., Bartolome, R.M., Mirelis, B., Navarro, F., Prats, G.** (2008). Dissemination of extended-spectrum beta –lactamase –producing bacteria: the food-borne outbreak lesson. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 61, 1244-1251.
- Leverstein-van Hall, M.A., Dierikx, C.M., Cohen, S.J., Voets, G.M., van den Munckhof, M.P., van Essen-Zandbergen, A., Platteel, T., Fluit, A.C., van de Sande-Bruinsma, N., Scharinga, J., Bonten, M.J.M., Mevius, D.J.** (2011). Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. Clin. Microbiol. Infect. 17, 873-880.
- Lopez-Cerrero, L., Egea, P., Torres, E., Gomez-Sanchez, M.C., Serrano, M., Sanchez-Ortiz, M.D.N., Rodriguez-Bano, J., Pascual, A.** (2012). Increased raw poultry meat colonization by extended spectrum beta-lactamase- producing *Escherichia coli* in the South of Spain : international Journal of Food Microbiology, 159, 69-73.
- Livermore, DM., Woodford, N.**, (2000). Carbapenemases: a problem in waiting? *Curr Opin Microbiol* ,3: 489-495.
- ISO 21528-2: 2004: Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae. International Organization for Standardization
- Mullerat, J., Klapes, N.A. ve Sheldon, B.W.** (1994). Efficacy of Salmide, a sodium chlorit based oxy-halogen disinfectant, to inactivate bacterial pathogens and extend shelf-life of broiler carcasses, Journal of Food Protection, 57(7), 596-603.
- Mossel, Vissar, Cornellisen,** (1963). J. Appl. Bacteriol, 26:444
- Mead, G.C.** (2000). Fresh and further-processed poultry. The Microbiological Safety and Quality of Food. Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. (eds), Volume I, An Aspen Publication, pp. 445-471.
- Medeiros, AA.** (2000). Cooperative evolution of mechanisms of beta lactam resistance. *Clin Microbiol Infect.* 6 (s3): 3-5.
- Mirelis, B., Navarro, F., Miro, E., Mesa, R.J., Coll, P., Prats, G.**, (2003) Community transmission of extended-spectrum beta-lactamase. *Emerg Infect Dis* 9(8):1024–1025
- OECD Ekonomik iş birliği ve Kalkınma Örgütü.** Report for Global Antimicrobial Use in The Livestock Sector, 2015.
Erişim: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=TA/D/CA/APM/WP\(2014\)34/FINAL&docLanguage=En](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=TA/D/CA/APM/WP(2014)34/FINAL&docLanguage=En)
- Overdeest, I., Willemsen, I., Rijnsburger, M., Eustace, A., Xu, I., Hawkey, P., Heck, m., Savellkoul, P., Vanderbroucke-Grauls, C., van der Zwaluw, K., Huijdens, X., Kluytams, J.**, (2011). Extended-spectrum beta- lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 1216-1222
- Öztürk, E.**, (2012). Beslemede Humik Asitlerden beklenen etki Gözlenebiliyor mu? S.A.Ü. Fen Edebiyat Derg. 1
- Öztürk CE, Kaya AD, Göçmen Ş, Arslan E.**, (2008). Toplum kaynaklı idrar yolu infeksiyonu etkeni olan *Escherichia coli* izolatlarının fosfomisin ile idrar yolu infeksiyonlarında sık kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları. *ANKEM* ; 22(2): 81-4.
- Patel JB, Rasheed JK, Kitchel B.**, (2009) Carbapenemases in Enterobacteriaceae: activity, epidemiology, and laboratory detection. *Clin Microbiol Newsletter*; 31(8): 55-62. 44.

- Pool K.,**(2004). Resistance to beta-lactam antibiotics. *Cell Mol Life Sci* ; 61: 2200-23.
- Philippon, A., Arlet, G., Jacoby, GA.** (2002) Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46:1-11.
- Polat, M. Seyit** (2014).Muş Yöresinde Toplum kökenli klebsiella suşlarının antimikrobiale duyarlılığının araştırılması. Yüksek lisans tezi.
- Phillips, I., Casewell, M., Cox, T., de Groot,, B., Fiis, C., Jones, R., Nightingale, C., Preston, R., Wandell, J.** (2004).Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health?A critical review of published data.*Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53,28-52.
- Rahal, JJ.** (2000). Extended-spectrum beta lactamases:how big is the problem? *ClinMicrobiol Infect.* 6 (2): 2-6
- Randall, L.P.,Cloutring, C., Horton, R.A., Coldham, N.G., Wu G., Clifton-Hadley,F.A., Davies, R.H., Teale, C.J.** (2011).Prevalence of Escherichia coli carrying extended-spectrum beta-lactamases (CTX-M and TEM 52)from broiler chickens and turkeys in Great Britain between 2006 and 2009. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 66, 86-95.
- Réglier-Poupet H, Naas T, Carrer A, et al.** (2008): Performance of chromID ESBL, a chromogenic medium for detection of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases, *J Med Microbiol*; 57(3): 310-5.
- Rıfat, E.A., Tekiner, İ.H., Özpınar, H.,** (2014). Halk sağlığı açısından İçme Ve Kullanma Sularında Koliform ve Fekal Koliform Bakterilerin Varlıklarının Klasik ve MASS Spektrometresi Yöntemiyle İncelenmesi *Gıda eknolojileri Elektronik Dergisi*, 9(2):20-32.
- Smet, A., Martel, A., Persoons, D.,Dewulf, J., Heyndrickx, M., Catry, B., et al.** (2008).Diversity of extended-spectrum beta –lactamases and class C beta –lactamases among cloacal *Escherichia coli* isolates in Belgian broiler farms. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 52(4), 1238-1243.
- Smet, A., Martel, A., Persoons, D.,Dewulf, J., Heyndrickx, M.,Herman, L., Haesebrouck, F., Butaye,P.**(2009). Broad-spectrum beta lactamases among *Enterobacteriaceae* of animal origin :molecular aspects, mobility and impact on public health.*FEMS Microbiology nReviews* 34, 295-316.
- Smet, A., Rasschaert, G., Martel, A., Persons, D., Dewulf, J., Butaye, P., Catry, B., Haesebrouck, F., Herman, L., Heyndrickx, M.,** (2010).İnsitü ESBL Conjugation from avian to human *Escherichia coli* during cefotaxime administration .*Journal of Applied Microbiology* 110, 541-549.
- Sığırcı, F.**(2010).*Klebsiella* spp. Suşlarında Ceftriaxone ve İmipenem Dirençlilik Frekansının Saptanması.Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, s.1-13.
- Sarı, H.,**(2005). Karbapenemlere dirençli gram-negatif basil izolatlarında imipenem-EDTA / meropenem-EDTA disk yöntemi ve modifiye hodge testi ile metallo-beta-laktamaz varlığının araştırılması. Uzmanlık tezi, İstanbul.
- Sturenburg, E., Mack, D.** (2003). Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect.*,47 (4): 273-95.
- Skockova,A.,Koloçkova,İ.,Bogdanovicova,K.,Karpiskova,R.**(2015).Characterizing and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from retail meats purchased in the Czech Republic:*Food Kontrol*:47,401-406.
- Schwaiger, K., Huther, S. Hölzel, C., Kampf, P., Bauer, J.** (2012). Prevalence of antibiotic-resistant *enterobacteriaceae* isolated from chicken and pork meat

purchased at the slaughterhouse and at retail in Bavaria, Germany. *International Journal of Food Microbiology*, 154,206-211.

Stuart, J.C., van den Munckhof, T., Voets, G., Scharringa, J., Fluit, A., Hall, M.L., (2012). Comparison of ESBL contamination in organic and conventional retail chicken meat. *int.J. Food Microbiol.* 154, 212-214.

Stuart, J.C., Voets, G.M., Fluit, A.C.Scharringa, J., Schapendonk, C., Munckhof, T., Hall, M.A.L.(2013). Identical plasmid AmpC beta-lactamase genes and plasmid types in *E. coli* isolates from patients and poultry meat in the Netherlands. *International Journal of Food Microbiology*, 16. 359-362.

Şener ,A.,Temiz, A.(2004). Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi Cilt: 02 Sayı: 10 Sayfa: 1-28 www.mikrobiyoloji.org/pdf/702041001.pdf

Teuber, M., (2001). Veterinary use and antibiotic resistance. *Curr. Opin.Microbiol.*, 4, 439-499.

Thorsteinsdottir, T. R., Haraldsson, G., Fridriksdottir, V., Kristinsson, K.,G.,Gunnarsson, E. (2012).Prevalence and genetic relatedness of antimicrobial resistant *Echerichia coli* isoleted from animals, foods and humans in Iceland.*Zoonoses Public Health*, 57, 189-196.

Tang S S, Apisarnthanarak A, Hsu LY. (2014). Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community-and healthcareassociated multidrug-resistance bacteria. *Advanced Drug Delivery Reviews*.

Tenover, F. C., P. M. Raney, P. P. Williams, J. K. Rasheed, J. W. Biddle, A. Oliver, S. K. Fridkin, L. Jevitt, and J. E. McGowan, Jr. 2003. Evaluation of the NCCLS extended-spectrum beta-lactamase confirmation methods for *Escherichia coli* with isolates collected during Project ICARE. *J. Clin. Microbiol.*41:3142-3146.

Tigen, E., Mülazımoğlu, L. (2012).Toplum Kökenli İnfeksiyonlarda Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar ve Klinik önemi.İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve araştırma hastanesi . Klinik mikrobiyoloji anabilimdalı. Review.

Tünger, A., Çavuşoğlu, C., Korkmaz, M.(2005).Mikrobiuoloji, Dördüncü baskı,Asya Tıp Kitabevi, 18-31,137-160.

Thorsteinsdottir, T. R., Haraldsson, G., Fridriksdottir, V., Kristinsson, K. G., &Guanarsson, E. (2010). Prevalence and genetic relatedness of antiicrobial resistant *Escherichia coli* islated from animals, foods and humans in Iceland.*Zoonoses Public Health*, 57, 189-196.

Tuncer, H.İ. (2007).Karma Yemlerde Kullanımı Yasaklanan Hormon, Antibiyotik, Antikoksidiyal ve İlaçlar.Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg., 47(1):29-37.

Thomson, KS., Sanders, CC. (1992). Detection of extended spectrum beta lactamases

in members of the family *Enterobacteriaceae*: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. *Antimicrob Agent Chemother.*, 36 (9): 1877-1882

Tham,J. (2012).“Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing *Enterobacteriaceae*: Epidemiology, Risk Factors and Duration of Carrige” Department of Clinical Sciences, Malmö, *Infectious Disease Research Unit, Lund University*.

Ulusal hastane enfeksiyonları sürveyans sistemi<http://uhes.saglik.gov.tr/>

TGK;Resmi gazete ,13 şubat 2015,sayı:29266

Ünlütürk, A. Ve Turantaş, F. (1998). Et ve Et Ürünlerinde Mikrobiyolojik Bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar ve Muhafaza yöntemleri. Gıda Mikrobiyolojisi,Birinci baskı, Mengi Tan Basımevi,s.272-276.

Ünlütürk, A. Ve Turantaş, F. (2015).Gıda Mikrobiyoloji 4. Baskı s (269-280).

Van de Sande- Buruinsma, N., Grundmann, H., Verloo, D., Tiemersma, E., Monen, J., Goossens, H., Ferech, M., (2008). European antimicrobial resistance surveillance system group ,European surveillance of antimicrobial consumption Project group, Antimicrobial drug use and resistance in Europe . *Emerg. Infect. Dis.* 14.1722-1730.

Verloo, D., Butaye, P., Dierick, K., Imberechts, H. (2003).Descriptive epidemiology of the resistance observed in *Escherichia coli* isolated from healthy cattle, pigs and broilers, their meat and products.Proceedings of the Flemish society for Veterinary Epidemiology and Economics, Torhout,Belgium,p.67 (December).

Yemen, O.Ş. (2010).Tıbbi Mikrobiyoloji, Nobel Tıp Kitabevi, 160-254.

Zheng, H., Zeng, Z., Chen, S., Liu, Y., Yao, Q., Deng, Y., Chen, X., Lv, L., Zhuo, C.,Chen, Z. Ve Liu, J.H.(2012): Prevalence and characterisation of CTX-M β -lactamases amongst *Escherichia coli* isolates from healthy food animals in China. *Int J Antimicrob Agents*,39, 305-310.

Wickramasinghe NH¹, Xu L, Eustace A, Shabir S, Saluja T, Hawkey PM.(2012). High community faecal carriage rates of CTX-M ESBL-producing *Escherichia coli* in a specific population group in Birmingham, UK. *J Antimicrob Chemother.* ;67(5):1108-13. doi: 10.1093/jac/dks018.

(www. msxlaps.org) Erişim; 04.10.2015

(http://jurnaller.com/2014/12/antibiyotik-direnci-nasil-gelisiyor) Erişim; 04.10.2015

(<http://www.mjima.org/fulltext.aspx>) Erişim; 04.10.2015

(<https://www.google.com.tr/search>) Erişim; 04.10.2015

(https://www.google.com.tr/search?q=youtube&oq=youtube&aqs=chrome..69i57.1193j0j4&sourceid=chrome&es_sm=93&ie=UTF-8#q=E.+test+y%C3%B6ntemi) Erişim; 04.10.2015

(https://www.google.com.tr/search?Antibiyotik+direncinin+yayılması&es_sm=93&biw=1440&bih=799&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0CAcQ_AUoAmoVChMIoPHlZrOtyAIVBlssCh05KQwA#imgrc=-xRP0qEk6yr_yM%3A) Erişim; 04.10.2015

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyadı :Birsen SARICI-Biyolog/Biyoloji öğretmeni
Doğum Yeri ve Tarihi : Tortum-26.12.1979
Cep Telefonu :+ 90 (505) 650 21 72
E-Posta : b.sarici@hotmail.com
Eğitim Bilgileri :
Lisans :Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji,2001
Yüksek Lisans :Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fenbilimleri Enstitüsü,
BiyolojiÖğretmenliği
Yükseklisans :İstanbul aydın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Gıda Güvenliği ve Beslenme, 2015

Evli ve üç çocuk annesidir.