T.C.
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI

# ARAŞTIRMA - GELİŞTİRME DESTEK PROGRAMI
# PROJE SONUÇ RAPORU

## TAGEM/16/AR-GE/28

# TÜKETİME SUNULAN HAYVANSAL GIDALARDAN İZOLE EDİLEN ÇEŞİTLİ GRAM POZİTİF BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK VE BİYOSİT DİRENÇLİLİKLERİ VE AKTİF POMPA GEN PROFİLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**PROF.DR.SUMRU ÇITAK**
**PROF.DR.ENDER YARSAN**
**ARŞ.GÖR.MERYEM BURCU KÜLAHCI**
**ZEHRA ŞAHİN**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ**

**TEMMUZ/2019**
**ANKARA**

**T.C.**
**TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI**
**Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü**

# ARAŞTIRMA - GELİŞTİRME DESTEK PROGRAMI PROJE SONUÇ RAPORU

## TAGEM/16/AR-GE/28

# TÜKETİME SUNULAN HAYVANSAL GIDALARDAN İZOLE EDİLEN ÇEŞİTLİ GRAM POZİTİF BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK VE BİYOSİT DİRENÇLİLİKLERİ VE AKTİF POMPA GEN PROFİLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**PROF.DR.SUMRU ÇITAK**
**PROF.DR.ENDER YARSAN**
**ARŞ.GÖR.MERYEM BURCU KÜLAHCI**
**ZEHRA ŞAHİN**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ**

**TEMMUZ/2019**
**ANKARA**

# ÖNSOZ

TAGEM /16 /AR-GE/28 numaralı ve 'Tüketime Sunulan Hayvansal Gıdalardan İzole Edilen Çeşitli Gram Pozitif Bakterilerin Antibiyotik ve Biyosit Dirençlilikleri ve Aktif Pompa Gen Profillerinin Araştırılması' başlıklı projemiz 18.07.2016 tarihinde desteklenmesi uygun bulunarak sözleşme imzalanmıştır. 265.472,64TL bütçeli projemiz 01.08.2016 tarihinde başlamıştır. 24 ay olarak planlanan projemiz Fakültemiz Laboratuvar binasında Rektörlük Makamının 19/02/2016 tarih ve 190 sayılı oluru ile 4734 Sayılı Kamu İhale Kanununun 19. maddesine göre 22/03/2016 tarihinde yapılmış olan tamir nedeniyle, tamir esnasındaki elektrik, su, doğalgaz kesintilerinden ve kırım işlerinden dolayı laboratuvarlarda uygun çalışma ortamı mevcut olmadığından herhangi bir çalışma yapılamamıştır. Ayrıca 01.04.2017 tarihinde araştırmacı Meryem Burcu KÜLAHCI'nın, 19.12.2017 tarihinde de araştırmacı Zehra ŞAHIN'in 6'şar ay doğum izinlerine ayrılmaları sebebiyle deneysel süreçler aksamaya uğramıştır. Bu nedenle 12 aylık ek süre talep edilmiş ve proje bitiş tarihimiz 18.07.2019 olarak değişmiştir.

Projemizin başlangıç toplantısı 11.10.2016 tarihinde saat 10:30 da Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde TAGEM yetkilileri ve proje ekibimizin katılımı ile gerçekleştirilmiştir.

Projemizde, Kasım 2016 – Mayıs 2017 tarihleri arasında, Ankara'nın çeşitli market, mandıra ve pazarlarında tüketime sunulan 13 çiğ süt, 60 peynir, 18 çiğ tavuk ve 41 et (kıyma, kuşbaşı, fermente et (sucuk, sosis, salam) örneği materyal olarak kullanılmıştır. Gıda örneklerinden *Staphylococcus*, *Enterococcus* ve *Bacillus* cinsi bakterilerin izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen Gram pozitif bakterilerin antibiyotik (ampisilin, sefkuinom, tetrasiklin, gentamisin, enrofloksasin, eritromisin, vankomisin) dirençlilikleri Kirby-Bauer disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testleri (MİK) ile biyosit (benzalkonyum klorit, povidon iyodin, sodyum hipoklorit, hekzaklorofen, triklosan, klorhekzidin) duyarlılıkları yine MİK testi ile belirlenmiştir. Antibiyotiklerden bir veya daha fazlasına dirençli bulunan izolatlar Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID tanımlama kitiyle ve 16S rDNA dizi analizi ile tür seviyesinde tanımlanmıştır. Bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli bulunan Gram pozitif bakteri izolatlarına, efluks pompa inhibitörü rezerpinin antibiyotik ve biyosit MİK değerlerine etkisini belirlemek amacıyla, mikrodilusyon yöntemi ortama biyositlerle beraber 0,01 mg/ml oranında rezerpin eklenerek tekrar edilmiştir. Antibiyotiklerden bir veya daha fazlasına dirençli bulunan izolatların antibiyotik direnç (ermA, ermB, msrA, msrA/B, ereA,ereB, mefA, tetK, tetL, bla, mecA, vanA, vanB, aac (6_)- Ie-aph(2_)-Ia, aph(2'_)-Ib, aph (2'_)-Ic, aph(2'_)-Id) ve efluks pompa proteinlerini (qacA/B, acrB, norE, sugE, smr, efrA, efrB, mdeA, mepA, norA, norB, sepA) kodlayan gen bölgelerini bulundurmaları real time pzr (RT-PCR) ile test edilmiştir.

**İÇİNDEKİLER**

**ÖZET** ..... **3**
**ABSTRACT** ..... **4**
**KISALTMA TANIMLARI** ..... **5**
**ŞEKİLLER DİZİNİ** ..... **7**
**ÇİZELGELER DİZİNİ** ..... **8**
**1. GİRİŞ** ..... **8**
**2. LİTERATÜR ÖZETİ** ..... **13**
2.1. *Staphylococcus* Cinsi Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması ..... 13
2.2. *Bacillus* Cinsi Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması ..... 13
2.3. *Enterococcus* Cinsi Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması ..... 14
2.4. *Staphylococcus*, *Bacillus* ve *Enterococcus*'ların Gıdalardaki Önemi ..... 15
2.4.1. *Staphylococcus*'ların Gıdalardaki Önemi ..... 15
2.4.2. *Bacillus*'ların Gıdalardaki Önemi ..... 15
2.4.3. *Enterococcus*'ların Gıdalardaki Önemi ..... 16
2.5. Antibiyotik Direnci ve Direnç Mekanizmaları ..... 17
2.5.1. Hedef Değişikliği veya Fazla Üretimi ..... 18
2.5.2. Geçirmezlik (İmpermeabilite) ..... 18
2.5.3. Enzimatik İnaktivasyon veya Parçalama ..... 18
2.5.4. Efluks ..... 19
2.5.5. Alternatif Metabolik Yolların Kazanılması ..... 19
2.5.6. Biyofilm Oluşturma ..... 19
2.6. Biyositler (Antiseptik ve Dezenfektanlar) Hakkında Genel Bilgi ..... 20
2.7. Biyosit Direnci ..... 21
2.7.1. Hedef Değişikliği ..... 21
2.7.2. Geçirmezlik (İmpermeabilite) ..... 22
2.7.3. Efluks ..... 22
2.8. Gram Pozitif Bakterilerde Bulunan Efluks Pompa Genleri ..... 23
2.9. Biyosit – Antibiyotik Direnci Arasındaki İlişki ..... 24
2.10. Efluks Pompa İnhibitörleri ..... 24
**3. MATERYAL VE YÖNTEM** ..... **26**
3.1. Gıda örneklerinin toplanması, izolasyon ve ön tanımlamalarının yapılması ..... 26
3.1.1. Gıda örneklerinde *Staphylococcus* izolasyonu ve ön tanımlamasının yapılması 26
3.1.2. Gıda örneklerinde *Bacillus* izolasyonu ve ön tanımlamasının yapılması ..... 26
3.1.3. Gıda örneklerinde *Enterococcus* izolasyonu ve ön tanımlamasının yapılması ... 27
3.2. İzolatların Antibiyotik Dirençliliklerinin Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemiyle Belirlenmesi ..... 28
3.3. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Dirençliliklerinin Mikrodilusyon (MİK) Yöntemiyle Belirlenmesi ..... 29
3.4. Bakteri İzolatlarının Biyositler İçin Minimal İnhibitör Konsantrasyon Değerlerinin (MİK) Belirlenmesi ..... 29
3.5. Antibiyotik Direnci Gösteren Bakterilerin BD BBL Crystal Tanımlama Kiti ile Tanımlanması ..... 30
3.6. Rezerpinin Antibiyotik Direnci ve Biyosit MİK Değeri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi . 31
3.7. Antibiyotik Direnci Gösteren Bakterilerin Tanımlanması ..... 32
3.8. Real Time PZR ile Antibiyotik Direnç ve Efluks Pompa Genlerinin Belirlenmesi ..... 35
3.8.1. Hedeflenen Gen Bölgelerinin Primerlerinin Tasarlanması ..... 35
3.8.2. Real Time PZR Reaksiyonu ve Protokolü ..... 37
**4. BULGULAR VE TARTIŞMA** ..... **39**
4.1. Bulgular ..... 39
4.2. Tartışma ..... 64
**5. SONUÇ** ..... **64**
**KAYNAKLAR** ..... **79**
**ÖZGEÇMİŞLER** ..... **92**

## ÖZET

Günümüzde hayvan yetiştiriciliğinde gerek hastalıkların tedavisi ve önlenmesi gerekse hayvansal gıdaların verimini arttırmak amacıyla antibiyotik ve biyositlerin kullanımının oldukça yaygın olması ekonomi ve halk sağlığı açısından ciddi sorunlar yaratmaktadır. Araştırmamızda, Ankara ilinde çeşitli marketlerde satışa sunulan 132 et ve süt ürünü örneğinden izole edilen 77 *Staphylococcus*, 83 *Bacillus* ve 79 *Enterococcus* izolatında antibiyotik ve biyosit direnç dağılımları ve antibiyotik direnç ve efluks pompa genlerinin varlığı araştırılmıştır. Efluks pompası inhibitörü olan rezerpinin, antimikrobiyal duyarlılığın arttırması için kullanılabileceği yapılan birçok çalışmada önerilmektedir. Bu çalışmada da rezerpinin antimikrobiyal direncine etkisi araştırılmıştır.

En yüksek antibiyotik direnç oranları, *Staphylococcus* izolatlarında tetrasiklin (%24,7), *Bacillus* izolatlarında ampisilin (%38,5), sefkuinom (%51,8), gentamisin (%10,8) ve eritromisin(%14,5) ve *Enterococcus* izolatlarında ise eritromisin (%81), sefkuinom(%89,8), tetrasiklin (%21,5) ve enrofloksasin (%44,3) antibiyotiklerine belirlenmiştir. İzole edilen 239 Gram pozitif bakterinin 132'si bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli olarak tespit edilmiştir. Bu izolatların BBL crystal Gram pozitif tanımlama kiti ve 16S rDNA dizi analizi yöntemleriyle tür bazında tanımlamaları yapılmıştır. Test edilen biyositlerin hepsine yüksek MİK değerleri gösteren izolatlar üç cinste de mevcuttur. MİK testleri sonucunda antibiyotik ve biyositlere dirençli olarak belirlenen izolatlara, ortama rezerpin eklenerek rezerpinin MİK değerine etkisi araştırılmıştır. Rezerpinin *Staphylococcus*'larda ampisilin duyarlılığını %25, tetrasiklin duyarlılığını %27,8, triklosan duyarlılığını %20,7, povidon iyodin duyarlılığını %34,5 arttırdığı belirlenmiştir. *Bacillus*'larda ampisilin duyarlılığını %31,6, eritromisin duyarlılığını %100, gentamisin duyarlılığını %25, sefkuinom duyarlılığını %38,1, triklosan duyarlılığını %26,9, *Enterococcus*'larda ise, ampisilin duyarlılığını %100, eritromisin duyarlılığını %55,3, vankomisin duyarlılığını %100, sodyum hipoklorit, klorhekzidin ve triklosan duyarlılığını %10,1 oranında arttırdığı belirlenmiştir.

Antimikrobiyal maddelerin, gıda sektöründe ve toplumda sık uygunsuz ve rastgele kullanımının, gerek bizim araştırmamız gerek diğer çalışmalar değerlendirildiğinde var olan direncin artıp yayılmasını hızlandıracağını göstermektedir. Çalışılan 132 Gram pozitif bakteri izolatında tetK (%52,8), tetL (%16,7), msrA (%55,8), mefA (%20,9), bla (%25,4) antibiyotik direnç genleri yüksek oranda tespit edilmiştir. Ayrıca efluks pompa genlerinden qacA/B (%16,7), acrB (%21,2), norE (%66,7), sugE (%43,9), smr (%43,9), efrA (%65,2), efrB (%68,9), mdeA (%37,9), sepA (%22,7) yüksek oranda tespit edilen genlerdir.

Araştırmamızda tüketime sunulan hayvansal gıdalardan izole ettiğimiz Gram pozitif bakterilerin antimikrobiyal direnç genleri bulundurmaları, bu direnç genlerinin kromozomal ve kromozom dışı genetik materyallerle patojenlere ve normal flora bakterilerine aktarmaları riski sebebiyle, halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmaktadır.

Efluks pompası kaynaklı animikrobiyal direncinin, efluks pompası inhibitörü rezerpin kullanımı ile belli bir oranda azaltılabileceği fakat bu alanda daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.



**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal direnci, Efluks pompası, Rezerpin

**INVESTIGATION OF ANTIBIOTIC AND BIOCIDE RESISTANCE AND EFFLUX PUMP GENE PROFILES OF GRAM POSITIVE BACTERIA ISOLATED FROM FOOD OF ANIMAL ORIGIN**


## ABSTRACT

The widespread use of antibiotics and biocides in animal husbandry, both for the treatment and prevention of diseases and to increase the yield of animal foods, creates serious problems in terms of economy and public health. In this study, antibiotic and biocide resistance profile and antibiotic resistance and efflux pump genes were investigated in 77 *Staphylococcus*, 83 *Bacillus* and 79 *Enterococcus* isolated from 132 meat and dairy products sold in various markets in Ankara. It is suggested in many studies that, reserpine, an efflux pump inhibitor, can be used to increase antimicrobial susceptibility. In this study, the effect of reserpine on antimicrobial resistance was investigated.

We determined highest resistance to tetracycline (24.7%) in *Staphylococcus* isolates, ampicillin (38.5%), cefquinome (51.8%), gentamicin (10.8%) and erythromycin (14.5%) in *Bacillus* isolates, erythromycin (81%), cefquinome (89.8%), tetracycline (21.5%) and enrofloxacin (44.3%) in *Enterococcus* isolates. Of the 239 Gram positive bacteria isolated, 132 were found to be resistant to one or more antibiotics. These isolates were identified on the basis of species by BBL crystal Gram positive identification kit and 16S rDNA sequence analysis methods. Isolates showing high MICs to all of the biocides tested were available in all three genus. As a result of MIC tests, the effect of reserpine on MIC value was investigated by adding reserpine to the isolates determined to be resistant to antibiotics and biocides. Reserpine increased ampicillin sensitivity 25%, tetracycline sensitivity 27.8%, triclosan sensitivity 20.7%, povidone iodine sensitivity 34.5% in *Staphylococcus* isolates. Reserpine also increased ampicillin sensitivity 31.6%, erythromycin sensitivity 100%, gentamycin sensitivity 25%, cefquinome sensitivity 38.1%, triclosan sensitivity 26.9% in *Bacillus* isolates. In *Enterococcus* isolates, reserpine increased ampicillin sensitivity 100%, erythromycin sensitivity 55.3%, vancomycin sensitivity 100%, sodium hypocloride, clorhexidine and triclosan sensitivity 10.1%.

Our research and other studies suggests that frequent inappropriate and random use of antimicrobial agents in the food chain and society will accelerate the spread of existing antibiotic and biocide resistance. The antibiotic resistance genes tetK (52.8%), tetL (16.7%), msrA (55.8%), mefA (20.9%), bla (25.4%) were found to be high in 132 Gram positive bacteria isolates. Furthermore, among the efflux pump genes qacA/B (16.7%), acrB (21.2%), norE (66.7%), sugE (43.9%), smr (43.9%), efrA (65.2%), efrB (68.9%), mdeA (37.9%), sepA (22.7%) are highly detected.

The presence of antimicrobial resistance genes of Gram-positive bacteria isolated from foods of animal origin presented in our study is an important threat to public health due to the risk that these resistance genes are transferred to pathogens and normal flora bacteria by chromosomal and extrachromosomal genetic materials.

It is thought that animicrobial resistance from efflux pump can be reduced to a certain extent with the use of efflux pump inhibitor reserpine, but further studies are needed in this area.



**Keywords:** Antimicrobial resistance, Efflux pump, Reserpine

## KISALTMA TANIMLARI

| Kısaltma | Açıklama |
|---|---|
| ABC | (ATP)-binding cassette |
| AbgT | p-aminobenzoyl-glutamate transporter |
| ADB | Azide Dekstrose Broth |
| AFLP | Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizm |
| AM | Ampisilin |
| ARDR-PZR | Amplified Ribozomal DNA Restriction Analysis |
| Ark. | Arkadaşları |
| + | Artı |
| ATP | Adenin Trifosfat |
| bp | Baz çifti |
| ≥ | Büyük eşit |
| β | Beta |
| BC | Benzalkonyum klorür |
| b-laktamaz | Beta laktamaz |
| BHI | Brain-Heart Infusion Broth |
| BPW | Buffered Peptone Water |
| °C | Santigrat derece |
| $Ca^{+}$ | Kalsiyum |
| CCCP | Karbonil siyanid m-klorofenil hidrazon |
| CFQ | Sefkuinom |
| cfu | Colony forming units |
| CH | Klorhekzidin |
| CLSI | Clinical and Laboratory Standarts Instute |
| CN | Gentamisin |
| DMSO | Dimetil slfoksit |
| DNA | Deoksiribonükleikasit |
| DNaz | Deoksiribonükleikasit enzimi |
| dk | Dakika |
| E | Eritromisin |
| - | Eksi |
| ENO | Enrofloksasin |
| F | Forward |
| g/gr | Gram |
| GRAS | Genel Olarak Güvenilirliği Kabul Edilen |
| H | Hassas |
| $H^{+}$ | Hidrojen |
| HC | Hekzaklorofen |
| INF271 | N-(2-Methoxyphenyl)-N-(2-naphthyl)urea |
| INF55 | 5-Nıtro-2-phenylindole |
| $K^{+}$ | Potasyum |
| ≤ | Küçük eşit |
| KAB | Kuaterner Amonyum Bileşikler |
| KNS | Koagulaz negatif *Staphylococcus* |
| L | Litre |
| LAB | Laktik asit bakterisi |
| MATE | Multidrug and toxic compound extrusion |

| | |
|---|---|
| µg | Mikrogram |
| MİK | Minimal İnhibitör Konsantrasyonu |
| mm | Milimetre |
| µm | Mikrogram |
| mM | Mikrometre |
| MFS | Major facilitator superfamily |
| MHA | Mueller Hinton Agar |
| ml | Milimetre |
| µl | Mikrolitre |
| mol | Molekül |
| MRSA | Metisiline Dirençli *Staphylocuccus aureus* |
| MSSA | Metisiline Duyarlı *Staphylocuccus aureus* |
| MSA | Mannitol Salt Phenol-Red Agar |
| n | İzolat sayısı |
| $Na^+$ | Sodyum |
| NaCl | Sodyum Klorür |
| ng | Nanogram |
| NMP | 1-naftilmetil) piperazin |
| PABA | Para-aminobenzoat |
| PAβN | Fenil arjinin betanaftilamid |
| PACE | Proteobacterial antimicrobial compound efflux |
| PBP | Penisilin bağlayan protein |
| PBS | Fosfatlı tuz tamponu |
| pH | Power of hidrojen |
| PI | Povidin iyodin |
| PZR | Polimeraz zincir reaksiyonu |
| R | Reverse |
| r | Rezerpinli |
| RT-PCR | Real time pzr |
| rDNA | Ribozomal Deoksiribonükleikasit |
| RND | Resistancenodulation- division |
| rRNA | Ribozomal ribonkleikasit |
| SBA | Slanetz-Bartley Agar |
| SC | Sodyum hipoklorit |
| SMR | Small multidrug resistance |
| sn | Saniye |
| T | Triklosan |
| TE | Tetrasiklin |
| Tm | Erime noktası |
| TMH | Transmembran heliks |
| TSB | Triptic Soy Broth |
| qPCR | Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu |
| UV | Ultraviyole |
| V | Volt |
| VA | Vankomisin |
| VRE | Vankomisine dirençli *Enterococcus* |
| % | Yüzde |
| WHO | Dünya Sağlık örgütü |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Resim 1.Mannitol Salt Agar üzerinde *Staphylococcus*'ların görünüşü.....26
Resim 2.Nutrient Agar üzerinde *Bacillus*'ların görünüşü .....27
Resim 3.Slanetz Bartley besiyeri üzerinde *Enterococcus*'ların görünüşü.....28
Resim 4.Antibiyotik Dirençlilik Testi .....28
Resim 5. Biyosit MİK belirleme testi.....30
Resim 6.Biyosit MİK belirleme testi.....30
Resim 7. BBL Crystal GP ID Panel kapaklarının kapatılması .....31
Resim 8.BBL Crystal Panel Viewer Cihazı.....31
Resim 9. MİK yöntemi ile antibiyotik dirençlilik testinin reserpin eklenerek tekrarlanması .....32
Resim 10.MİK yöntemi ile biyosit dirençlilik testinin reserpin eklenerek tekrarlanması .....32
Resim 11.*Staphylococcus* izolatlarının 16s rDNA bölgelerin PZR ile çoğaltıldıktan sonra jel görüntüsü .....34
Resim 12.*Bacillus* izolatlarının 16s rDNA bölgelerin PZR ile çoğaltıldıktan sonra jel görüntüsü .....34
Resim 13.*Enterococcus* izolatlarının 16s rDNA bölgelerin PZR ile çoğaltıldıktan sonra jel görüntüsü .....35
Resim 14.Real Time PZR çalışma plağı .....38
Resim 15.bla geni Tm analiz tablosu .....58
Resim 16.bla geni amplifikasyon eğrileri.....58
Resim 17.efrA geni Tm analiz tablosu .....60
Resim 18.efrA geni amplifikasyon eğrileri .....60
Resim 19.efrB geni Tm analiz tablosu .....60
Resim 20.efrB geni amplifikasyon eğrileri .....61
Resim 21.. mdeA geni Tm analiz tablosu.....61
Resim 22.mdeA geni amplifikasyon eğrileri .....61
Resim 23.mecA geni Tm analiz tablosu.....61
Resim 24.mecA geni amplifikasyon eğrileri .....62
Resim 25.mepA geni Tm analiz tablosu .....62
Resim 26.mepA geni amplifikasyon eğrileri .....62
Resim 27.msrA geni Tm analiz tablosu .....62
Resim 28.msrA geni amplifikasyon eğrileri .....63

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3. 1. Araştırmamızda kullanılan antibiyotik diskleri ve duyarlılık sınırları .....29
Çizelge 3. 2. Çalışmamızda kullanılmak üzere tasarlanan primerler.....36
Çizelge 3. 3. Literatürden alınan primer dizileri.....37
Çizelge 3. 4. Real Time PZR cihazının çalışma protokolü .....38
Çizelge 4. 1. Araştırmada materyal olarak kullanılan gıda örneklerinin dağılımı .....39
Çizelge 4. 2. Gıda örneklerinden izole edilen Gram pozitif bakterilerin, izole edildikleri materyallere göre dağılımları.....39
Çizelge 4. 3. Disk difüzyon testine göre *Staphylococcus*, *Bacillus* ve *Enterococcus* izolatlarının antibiyotik direnç dağılımları.....39
Çizelge 4. 4. MİK testine göre antibiyotik dirençli bakteri izolat sayısı ve yüzdeleri.....40
Çizelge 4. 5. Çalışılan biyositlerin Gram pozitif bakteri izolatlarındaki en yüksek ve en düşük MİK değerleri.....40
Çizelge 4. 6. BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Staphylococcus* izolatlarının tür dağılımı .....40
Çizelge 4. 7. (Devamı) BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Staphylococcus* izolatlarının tür dağılımı.....41
Çizelge 4. 8. BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Bacillus* izolatlarının tür dağılımı.....41
Çizelge 4. 9. (Devamı) BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Bacillus* izolatlarının tür dağılımı.....42
Çizelge 4. 10. BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Enterococcus* izolatlarının tür dağılımı.....43
Çizelge 4. 11.(Devamı) BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Enterococcus* izolatlarının tür dağılımı .....44
Çizelge 4. 12. Antibiyotik dirençli *Staphylococcus* izolatlarının rezerpin ilavesi ile bulunan MİK değerleri.....45
Çizelge 4. 13. Antibiyotik dirençli *Bacillus* izolatlarının rezerpin ilavesi ile bulunan MİK değerleri.....45
Çizelge 4. 14.(Devamı) Antibiyotik dirençli *Bacillus* izolatlarının rezerpin ilavesi ile bulunan MİK değerleri.....46
Çizelge 4. 15. Antibiyotik dirençli *Enterococcus* izolatlarının rezerpin ilavesi ile bulunan MİK değerleri.....47
Çizelge 4. 16. (Devamı) Antibiyotik dirençli *Enterococcus* izolatlarının rezerpin ilavesi ile bulunan MİK değerleri.....48
Çizelge 4. 17. Rezerpin eklenerek tekrarlanan deney sonucunda antibiyotik MİK değeri 4 kat ve daha fazla azalan izolat sayıları.....49
Çizelge 4. 18. *Staphylococcus* izolatlarına biyosit+rezerpin uygulaması sonucundaki MİK değerleri.....50
Çizelge 4. 19. *Bacillus* izolatlarına biyosit+rezerpin uygulaması sonucundaki MİK değerleri.51
Çizelge 4. 20. *Enterococcus* izolatlarına biyosit+rezerpin uygulaması sonucundaki MİK değerleri.....52
Çizelge 4. 21.(Devamı) *Enterococcus* izolatlarına biyosit+rezerpin uygulaması sonucundaki MİK değerleri.....53
Çizelge 4. 22. Rezerpin eklenerek tekrarlanan deney sonucunda biyosit MİK değeri 4 kat ve daha fazla azalan izolat sayıları.....53
Çizelge 4. 23. *Staphylococcus* izolatlarının BBL Crystal bakteri tanımlama kiti ve 16S rDNA dizi analizi ile tanımlama sonuçları .....54
Çizelge 4. 24. *Bacillus* izolatlarının BBL Crystal bakteri tanımlama kiti ve 16S rDNA dizi analizi ile tanımlama sonuçları.....55
Çizelge 4. 25. *Enterococcus* izolatlarının BBL Crystal bakteri tanımlama kiti ve 16S rDNA dizi analizi ile tanımlama sonuçları.....56
Çizelge 4. 26. *Enterococcus* izolatlarının BBL Crystal bakteri tanımlama kiti ve 16S rDNA dizi

analizi ile tanımlama sonuçları.....57
Çizelge 4. 27. bla geni qPCR sonucu, örnek bir plak sonucu.....59
Çizelge 4. 28. Antibiyotik direnci gösteren Gram pozitif izolatların real time pzr ile belirlenen eritromisin direnç genleri ve yüzdeleri.....63
Çizelge 4. 29. Antibiyotik direnci gösteren Gram pozitif izolatların real time pzr ile belirlenen tetrasiklin, vankomisin ve beta laktam grubu antibiyotiklere direnç genleri ve yüzdeleri.....63
Çizelge 4. 30. Antibiyotik direnci gösteren *Bacillus* izolatlarının real time pzr ile belirlenen gentamisin direnç genleri ve yüzdeleri.....64
Çizelge 4. 31. Antibiyotik direnci gösteren ve biyosit duyarlılığı azalmış izolatların real time pzr ile belirlenen efluks pompa genleri ve yüzdeleri.....64

## 1. GİRİŞ

Antimikrobiyal direnç, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneğidir. Antimikrobiyal direnç gelişimi ve yayılımı genellikle gereksiz ve uygunsuz antibiyotik kullanımına bağlanmakla birlikte, 1940'lı yıllarda antibiyotiklerin kullanılmadığı bazı adalarda toprak ve dışkı örneklerinde tetrasiklin ve streptomisin antibiyotiklerine dirençli bakteriler bulunduğu; antibiyotik direncinin yalnızca yaygın antibiyotik kullanımı sonucu değil, bakterilerin olumsuz çevre koşullarında yaşamını sürdürmek için kullandığı savunma sürecinin bir parçası olduğu da belirtilmektedir. Ancak antibiyotiklerin yoğun şekilde kullanıma girmesi ile birlikte yıllar içinde çoğul dirençli mikroorganizmalar ortaya çıkmakta ve bunlarla oluşan infeksiyonların sağaltımında büyük sorunlar yaşamaya başlamıştır. Günümüzde tüm dünyada bir yandan hızla yeni ilaçlar geliştirmekte iken, öte yandan bunlara süratle direnç kazanan mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonlar bildirilmekte ve sorunun boyutu gün geçtikçe büyümektedir (Yüce, 2001).

Antibiyotiklerin hayvan enfeksiyonlarında tedavi ve koruyucu amaçlı uygunsuz kullanımı, hayvan beslenmesinde verim artırıcı olarak yer alması , gıda zincirinde kalıntı ve insan hekimliğinde de ilgili antibiyotiklerin kullanılması nedeniyle patojenik bakterilerde antimikrobiyal direncin gelişmesi büyük bir endişe yaratmaktadır (Lange ve ark., 2005; Yılmaz ve ark., 2016). Bu direnç genlerini taşıyan patojen veya normal flora bakterileri gıdalar yoluyla insan florasına kolonize olarak  Bu durumun hem hayvan hem de insan sağlığı için giderek artan bir tehdit oluşturduğu yapılan araştırmalarda ortaya konmuştur (Can ve ark, 2008; Doyle, 2006; Garcia ve ark., 2004). Hayvanlarda mastitis tedavisi sonucu metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*'ların (MRSA), tavuk yemlerine katılan büyümeyi uyarıcı avoparsin kullanılması ile oluşan vankomisin dirençli *Enterococcus faecalis*'lerin gelişimi örneklerinde olduğu gibi uygunsuz antibiyotik kullanımı sonucu birçok bakteride antibiyotiklere karşı oluşan direncin giderek artması ve bu direnç genlerinin bakteriler arası aktarılması, insan ve hayvan tedavisini olumsuz yönde etkilemektedir (Suller ve ark., 1999; Borgen ve ark., 2000; Doyle, 2006; Yılmaz ve ark., 2016).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Staphylococcus, Enterococcus* ve *Bacillus* cinsleri gıdalardan kontaminant bakteri olarak izole edilmektedir (Braga ve ark., 2013; Yurdakul ve ark., 2013; Özçelik ve ark., 2009). Bu bakterilerden *S. aureus*'lar hayvanlarda mastitis, insanlarda da gıda zehirlenmesi başta olmak üzere çeşitli hastalıkların nedeni olmaktadırlar (Yurdakul ve ark., 2013). Koagülaz negatif stafilokoklar da uzun süredir kommensal ve kontaminant bakteriler olarak değerlendirilmelerine karşın insanlarda patojenik etkilerinin olduğu bilinmektedir. *Bacillus cereus* iki farklı enterotoksin oluşturarak bağırsaklarda gıda kaynaklı hastalıklara sebep olmaktadır (Kursun ve ark., 2011). *Enterococcus*'lar endokardit, üriner enfeksiyonlar, intraabdominal abseler, yara ve dekubitus enfeksiyonları, akut ya da kronik safra kesesi iltihabı, menenjit, hastane kaynaklı pnömoni ve septisemi gibi enfeksiyonlara neden olabilirler (Menteş, 2007).

*Enterococcus*'lar pek çok yararlı özellik taşırken potansiyel patojenik özellikler de sergileyebilirler. Bu mikroorganizmalar starter kültür olarak yararlı rol oynarlarken, diğer taraftan da bazı süt ürünlerinde *Enterococcus*'ların fekal orijinli olanları hakkında kuvvetli bir soru işareti vardır. Fermente gıdalardan izole edilen *Enterococcus*'ların potansiyel veya araştırılan patojeniteleri üzerine; hayvan model sistemlerinde daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır. *Enterococcus* içeren gıdaların sağlık riski olmaksızın tüketiminin uzun bir tarihi olmasına karşın *Enterococcus*'ların GRAS (Generally Recognised As Safe - Genel Olarak Güvenilirliği Kabul Edilen) mikroorganizma olarak kabul edilmesi çok daha fazla çalışmayı gerektirmektedir (Halkman, 2000*). Gıdalarda, Enterococcus* türleri gıdalarda fekal kontaminasyon göstergesi olarak değerlendirilmekte, ısıl işlem görmüş et ürünlerinde yüksek sıcaklığa karşı dirençli olma özelliğinden dolayı pastörizasyon sonrası canlı kalarak ya da dilimleme ve paketleme gibi işlem basamaklarında çapraz kontaminasyona bağlı olarak üründe bozulma yapabilmektedirler (Braga ve ark., 2013). Son on yıl içerisinde,

antibiyotiklerin tarım, hayvancılık ile beşeri alanda yoğun bir şekilde ve bilinçsiz olarak kullanılması sonucunda, özellikle gıdalardan izole edilen *Staphylococcus*, *Enterococcus* gibi bakterilerde çoklu antibiyotik dirençten sorumlu genlerin artan bir hızla yayıldığı birçok çalışmada gözlenmektedir. Bu durum bütün dünyada insan sağlığını tehdit eden başlıca sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. (Pesavento ve ark., 2007; Jamet ve ark., 2012).

Gıda sektöründe önemle dikkat edilmesi gereken hususlardan biri biyositlerin kullanımıdır. (Fuentes ve ark., 2012). Biyositlerde bakteriyel direnç 1950 ve 1960lı yıllarda saptanmıştır, çünkü gıda endüstrisinde bakteri sanitasyonu için biyositlerin kullanımı o dönemde başlamıştır (Lerma, 2013). Gıdalara mikrorganizmaların bulaşması ve bunun sonucunda oluşan gıda kaynaklı enfeksiyonların önlenmesinde temizlik ve dezenfeksiyonun önemi büyüktür (Fuentes ve ark., 2012). Günümüzde gıda sektöründe hijyeni sağlamada biyositlerin kullanımı oldukça popüler olmuştur (Marquez ve ark., 2017). Giderek artan kullanımları, diğer antimikrobik maddelerde olduğu gibi, bunlara karşıda bir direncin gelişip gelişmediği sorusunu gündeme getirmiştir. Konu ile ilgili çalışmalar antibiyotik direnci kadar olmasa bile, son yıllarda üzerine önem verilen konulardan biri haline gelmiştir (Öztürk, 2002).Biyositler, gıda zinciri yoluyla insan gıda kaynaklı patojenlerinin, çiğ gıda ürünlerinden veya bunların üretimi sırasında kontaminasyon yoluyla bulaş riskini azaltmak, gıdada bozulmaya sebep olan bakterilerin inaktive edilmesi ve gıda üretim tesislerini ve ekipmanları mikroorganizmalardan arındırmak gibi birçok amaçla kullanılmaktadır. (Fuentes ve ark., 2012). Gıda sektöründe kullanılan biyositler, klor içeren dezenfektanlar, katyonik kuaterner amonyum bileşikleri, alkol bazlı dezenfektanlar, biguanidler, iyotlu bileşikler, hekzaklorofen ve triklosanlardır. (Metin ve Öztürk, 1995; Fuentes ve ark., 2012). Ancak bu sektörde biyositlerin yaygın ve bilinçsiz kullanılmasının, antibiyotiklerde olduğu gibi mikroorganizmaların direnç genleri kazanmasına veya başlangıçta duyarlı olan mikroorganizmaların adaptasyonuna yol açtığı belirtilmektedir.Gıda orijinli dirençli bakterilere, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, *E. coli, Enterococcus, Campylobacter, Yersinia* örnek verilebilir (Meyer ve ark., 2008, Miles ve ark., 2006). Ayrıca giderek büyüyen bir tehlike de antibiyotik ve biyositler arasında çapraz direnç oluşumudur (Şencan, 2003; Langsrud, 2003; Meyer, 2006, Lerma,2013).

Bakterilerde kazanılmış dirence neden olduğu bilinen mekanizmalardan biri de dışa atım pompalarının aşırı ifade edilmesidir. Dışa atım pompalarının neden olduğu direncin önüne geçilebilmesi ve duyarlılığının artması için efluks pompa inhibitörleri dirençle mücadelede ilgi çekici araştırma alanlarından birisidir. Efluks pompa inhibitörü olarak adlandırılan, çeşitli bileşikleri dışa atımı inhibe etme yeteneğine sahip olan bileşikler; peptidomimetikler, proton iyonoforları, alkoloidler, piperazin türevleri, $Ca^{+}$ antagonistleri, fenotiyazinler, selektif seratonin geri alım inhibitörleri, proton pompa inhibitörleri, makrolid türevleri ve piperidin-karboksilik asit türevleri olarak sınıflandırılmaktadır. Alkoloid sınıfı içerisinde yer alan rezerpin, P-glikoproteini inhibe ettiği bilinen ve antihipertansif olan bir bitkisel efluks pompa inhibitörüdür (Sun ve ark, 2014; Aygül, 2015). Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde çığır açan antibiyotiklerin, kısa veya uzun vadede direnç gelişimine yenik düşmesi kaçınılmaz görünmektedir. Buna rağmen efluks pompa inhibitörlerinin kullanımıyla bu durumun belirli ölçüde geciktirilebileceğini gösteren çalışmalar yapılmaktadır.

Bu projede, Ankara ilinde çeşitli marketlerde satışa sunulan et ve süt ürünlerinden, *Staphylococcus*, *Enterococcus* ve *Bacillus* cinsi bakterilerin izolasyonu, tür tanımı, izolatlardaki antimikrobiyal direnç fenotipik ve genotipik olarak belirlenmiştir. Ayrıca antibiyotik ve antiseptiklere direnç gösteren izolatlara efluks pompası inhibitörü olan rezerpinin etkisi, efluks pompası proteinlerini kodlayan gen bölgelerinin varlığı ile direncin kaynağı antibiyotik ve biyosidal direnç arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları antibiyotik-biyosit direnci arasındaki ilişki, bu direnci taşıyan genlerin belirlenmesi ve özellikle bu genleri taşıyan bakterilerle kontamine gıda ürünlerinin tüketilmesinin engellenmesi ile halk sağlığı ve ekonomik açısından önemli çıktılar sağlamıştır. Bu sayede

gıda zincirinde antimikrobiyal direncin izlenmesi, bu dirençle hayvancılıkta ve gıda sektöründe kullanılan biyosidal maddelerin kullanımının denetlenmesi için altyapının oluşturulması, personel, yetiştiriciler ve sahada çalışan veteriner hekimler başta olmak üzere kamuoyunun bilinçli antimikrobiyal kullanımı konusunda bilgilendirilmesi hedeflenmektedir. Antimikrobiyal maddelerin daha az ve uygun kullanımları, enfeksiyon kontrolünün daha iyi yapılması, yeni ajanların geliştirilmesi, direncin gelişiminin yavaşlatılmasının gerekliliği, gıda alanındaki çalışmaların önemini daha da arttırmaktadır. Amacımız çalışmamızın sonucunda elde edilen yeni bilgilerle önemli bir katkı sağlamanın yanında bu alanda çalışacak araştırmacılara yol gösterici olmaktadır.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1. *Staphylococcus* Cinsi Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması

*Staphylococcus*'lar gram pozitif, spor oluşturmayan, 0.5-1.5 µm çapında, hareketsiz, çeşitli pigmentasyon gösteren ve genelde üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşturan koklardır. Stafilokoklar, esteraz, lipaz, hiyaluronidaz, jelatinaz, koagülaz, proteaz, kazeinaz, fosfolipaz, deoksiribonükleaz (DNaz), β-glukosidaz ve üreaz gibi çeşitli enzimler üretmektedirler (Güçlü 2019).

Günümüzde tanımlanmış 53 *Staphylococcus* türü ve 28 alt türü bulunmaktadır. 1884 yılında Rosenbach *Staphylococcus* cinsini tanımlamıştır (Rosenbach, 1884). Etten, süt ve süt ürünlerinden, idrar yollarından, derilerden ve solunum yolundan izole edilen Stafilokoklar, düşük su içeren ortamlarda yaşayabilirler ve kurumaya karşı dirençlidirler. Tuz içeren besiyerinden (% 7.5 NaCl) daha kolay izole edilmektedirler.

*Staphylococcus aureus*, çeşitli toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli bir nedenidir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına, cerrahi alan enfeksiyonlarına ve kemik ve eklem enfeksiyonlarına neden olur. Hastane kaynaklı bakteriyeminin yaygın bir nedenidir ve hastane kaynaklı solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkilidir. Ayrıca, stafilokok ilişkili mastitis enfeksiyonu olan sığırlar kaynaklı pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleriyle bulaşan önemli bir gıda patojenidir. Koagülaz-negatif stafilokoklar, insan derisi mikroflorasının ortak bileşenleridir ve peynir ve sosis gibi fermente gıdaların üretilmesinde lezzet ve aroma oluşumunda önemli bir rol oynarlar. Son yıllarda, koagülaz negatif stafilokokların neden olduğu hastane enfeksiyonları vakalarında bir artış olmuştur (Abulreesh, 2011).

Bazı türleri novobiyosine dirençlidir. Genel olarak furazolidon ve nitrofurana duyarlıdır ve düşük seviyelerde eritromisin ve bacitracin'e dirençlidirler. Genellikle fenoller ve bunların türevleri, salisilanilitler, karbanilitler ve halojenler (klor ve iyot) ve bunların türevleri gibi antibakteriyellere karşı hassastırlar (De Vos ve Garrity, 2009).

### 2.2. *Bacillus* Cinsi Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması

*Bacillus*'lar çubuk şeklinde, düz veya hafif kavisli hücreler, tek tek, çiftler halinde, zincir ve bazen de uzun filamentler oluşturacak şekilde bulunabilmektedirler. Endosporlar bir hücrede birden fazla olmamak üzere oluşturulur; bu sporlar birçok olumsuz koşula karşı çok dirençlidir. Gram pozitif, Gram negatif veya sadece büyümenin erken aşamalarında Gram pozitif olabilirler (Priest ve Whitman, 2015). Günümüzde tanımlanmış 379 *Bacillus* türü ve 7 alt türü bulunmaktadır.

Çoğunlukla topraktan veya doğrudan veya dolaylı olarak toprakla kirlenmiş olabilecek su, gıda maddeleri ve klinik örneklerden izole edilmiştir. Sporların ısıya, radyasyona, dezenfektanlara ve kurutmaya karşı direnci, türlerin ameliyathanelerde, cerrahi pansuman malzemelerinde, farmasötik ürünlerde ve yiyeceklerde sıkıntılı durumlar oluşturmalarına neden olmaktadır. Çoğu türün patojenik potansiyeli çok azdır veya yoktur. İnsanlarda veya diğer hayvanlarda hastalık ile nadiren ilişkilidir; istisna olarak antraks ajanı *Bacillus anthracis*; diğer birkaç tür, gıda zehirlenmesine ve fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilir *ve Bacillus thuringiensis* türleri, omurgasızlar için patojeniktir (De Vos ve Garrity, 2009). Çoğu *Bacillus anthracis* suşu penisiline karşı hassastır, dirençli olan bakteriler hakkında da çok az yayın bulunmaktadır; bu antibiyotik tedavinin temelini oluşturmaktadır ve organizmanın diğer antibiyotiklere duyarlılığı konusunda az sayıda çalışma yapılmıştır. *Bacillus anthracis*, birçok sefalosporine karşı dirençlidir. *Bacillus cereus* ve *Bacillus thuringiensis* geniş spektrumlu beta-laktamaz üretir ve bu nedenle penisilin, ampisilin ve sefalosporinlere dirençlidir; ayrıca trimetoprim'e karşı dirençlidirler. Suşlar hemen hemen her zaman klindamisin, eritromisin, kloramfenikol, vankomisin ve aminoglikositlere karşı hassastır ve genellikle tetrasiklin ve

sülfonamidlere duyarlıdırlar (Priest ve Whitman, 2015).

### 2.3. *Enterococcus* Cinsi Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması

*Enterococcus*'lar, aerobik ya da fakültatif anaerobik, katalaz (-), kok şeklindedirler. Besin gereksinimleri komplekstir. Gelişebilmeleri için gerek B vitaminleri ve gerekse bazı temel amino asitler açısından pek çok gram (+) bakteriden daha fazla besin maddesine gereksinim duyarlar. Laktozu fermente edebilirler, arabinoz pozitif ve pürivat negatiftirler. Karbonhidratları fermente ederek L (+) laktik asit oluştururlar ve bu özelliklerinden dolayı tipik homofermentatif laktik asit bakterileri olarak bilinirler, ancak gaz oluşturmazlar. Karbonhidrat metabolizmaları için Embden-Mayerof-Parnas yolunu kullanırlar (Karataş, 2005). İdeal üreme ısısı 35°C'dir. %6.5 NaCl'de ürerler. %40 safra varlığında eskülini hidrolize ederler. Glikozdan gaz oluşturmazlar ve glikoz fermentasyonunun son ürünü laktik asittir. 60ºC'ye 30 dakika dayanıklıdır. Kanlı agarda 0,5-1,5 mm boyutunda, (streptokoklardan daha büyük) kabarık, gri-beyaz renkte koloniler yaparlar. Bazen zayıf bir alfa hemoliz meydana getirebilirlerse de genellikle nonhemolitiktirler (Barbosa, 2009; Sayıner, 2008; Ortigosa, 2008).

*Enterococcus*'lar insan ve hayvanların gastrointestinal sistemlerinin doğal üyeleridir. Doğada; toprak, su, bitki, kuşlar, böcekler ve memelilerde yaygın olarak bulunur (Foulquié Moreno ve ark., 2006; Carasi ve ark., 2014). 55 tür ve bugüne kadar 16S rDNA sekansları temelinde rapor edilen 2 alt tip vardır (LPSN, 2017). Son yıllarda giderek artan oranda çoklu ilaca direnç gösterdikleri bulunmuştur. Agregasyon maddesi, kollajen yapışması, sitolisin, hemolizin, *Enterococcus* yüzey proteini, jelatinaz ve hyaluronidaz ile ifade edilen hücre duvarı adezyonu, *Enterococcus*'larda belirlenen virülans faktörlerinin tipik örnekleridir (Aslam ve ark., 2012; Camargo ve ark., 2014; Abouelnaga ve ark., 2016).

Enfeksiyona neden olan *Enterococcus* cinsi bakteriler arasında en sık izole edilen türler *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dur. Meydana gelen enfeksiyonlarda, *E. faecium*, antibiyotiklere karşı *E. faecalis*'ten daha dirençli olmasıyla dikkat çekmekte ve patojenik *E. faecium*'un çok çabuk antibiyotik direnç mekanizması geliştirebilmesinin ve bu özelliğini transfer edebilme kabiliyetinin sağlık açısından önemli bir risk olduğu düşünülmektedir (Karataş, 2005).

Bazı *Enterococcus*'lar, endokardit, bakteriyemi, idrar yolu ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonları gibi hastane enfeksiyonlarının önemli nedenleri olarak kabul edilmektedir (Togay ve ark., 2010; Camargo ve ark., 2014; Abauelnaga ve ark., 2016). *Enterococcus* türlerinde vankomisin direnci (VRE), tedavide ciddi bir sorun olarak ilk kez Batı Avrupa ve Amerika Birleşik Devletlerinde ortaya çıkmıştır. Bunu takiben VRE izolasyonu yaygın ve değişik coğrafi bölgelerden sürekli olarak bildirilmiştir. VRE suşları genotipik ve fenotipik özelliklerine göre sınıflandırılır. Bilinen fenotipler arasında sadece *vanC* intrensek olma özelliğine sahiptir. *VanA* ve *vanB* tipi direnç *E. faecium* ve *E. faecalis*'te tanımlanmış olup kazanılmış dirençlerdir (Menteş ve ark., 2007). Avoparsinin büyütme faktörü olarak kanatlı yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılmasıyla, *Enterococcus*'larda vankomisine karşı çapraz direnç geliştiği ve bu direncin de *S. aureus*'a aktarıldığı bildirilmiştir (Can ve ark., 2008). Glikopeptide dirençli özellikle vankomisine dirençli *Enterococcus*'ların sayısının artmasıyla birlikte bu türler dünya çapında önemli bir problem olarak ortaya çıkmaktadır. Glikopeptidler immun sistemi zayıf ya da bastırılmış bireylerde birkaç enfeksiyona karşı en son çare olarak kullanılan antibiyotiklerdir. *Enterococcus*'ların glikopeptit direnci oluşumu ve yayılımının, bir glikopeptit olan avoparsin antibiyotiğinin besi hayvanlarında büyüme ve gelişmeyi uyarıcı bir ajan olarak kullanılmasından kaynaklandığı öne sürülmektedir. Çiftlik hayvanları için özellikle tavuk yemlerinde glikopeptitlerin antimikrobiyal büyüme hızlandırıcı olarak kullanılmasıyla Avrupa'da gıda kaynaklarından, çiftlik hayvanlarından ve çevreden VRE izole edilmesi arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Devriese ve ark., 1996). İsveç'te yapılan başka bir çalışmada da tavuklarda *E. faecium, E. gallinarum, E. faecalis* türleri izole edilmiş olup en

fazla *E. faecium* da vankomisin dirençliliği %50 oranında tespit edilmiştir. Bu ülkelerde avoparsin kullanımı 1995 yılına kadar devam etmiştir (Teuber ve ark., 1996). İtalya'da avoparsin yasağından önce (1997 Mart) ve yasaktan 18 ay sonra (1998 Ekim) olmak üzere iki ayrı dönemde tavuk örneklerin çalışılmış ve *vanA* geni aranmıştır. Bu geni içeren suşlar yasağın uygulanmasından 18 ay sonra yetiştirilen tavuk örneklerinden izole edilen suşlarda %14.6'dan %8'e varan bir düşüş gözlemlenmiştir. İzole edilen türler; *E. faecium, E. durans* ve *E. hirae*'dir. En sık rastlanan suş *E. faecium* olup oran %9.3'ten %7'ye düşmüştür (Schroeder ve ark., 2004).

## 2.4. *Staphylococcus*, *Bacillus* ve *Enterococcus*'ların Gıdalardaki Önemi

### *2.4.1. Staphylococcus'ların Gıdalardaki Önemi*

*Staphylococcus* spp. insan ve hayvanların normal mikrobiyotalarında bulunan genelde zararsız olan fırsatçı patojenlerdir(Worthing ve ark.,2018). *Staphylococcus* cinsi koagülaz-pozitif (KPS)ve koagülaz negatif (KNS) olmak üzere iki genel gruba ayrılmıştır. Ana habitatları insan ve hayvanların deri, deri bezleri ve mukoz membranlarıdır, birçok türü de gıdalar ve insan sağlığı için önem arz etmektedir (Resch ve ark.,2008). Hayvanlarda mastitits, kene ateşi, periorbital ekzama, osteomiyelit, artrit gibi, insanlarda ise toksik şok sendromu,solunum sistemi enfeksiyonları, endokardit, gıda zehirlenmeleri, septik artrit, osteomiyelit, menenjit, sepsis ve bakteriyemi gibi yaşamı tehdit eden hastalıklara yol açmaktadırlar (Tel ve ark., 2012).

*S. aureus,* dünyada en sık görülen gıda kaynaklı hastalık olan gıda zehirlenmelerine sebep olan en önemli stafilokok türüdür. Bu bakterinin virülens faktörlerinden biri olan ısıya dayanıklı enterotoksin, hayvan veya insanlardan, et ve süt ürünleri gibi hayvansal gıdalara, üretim, işleme veya saklama aşamalarında bulaşan bakterinin aşırı çoğalması sonucu üretilmekte ve ciddi gıda intoksikasyonlarına sebebiyet vermektedir (Özdemir ve Keyvan, 2016). KNS türlerinden *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* ve *S. haemolyticus* en iyi bilinen insan patojenleridir ve çeşitli deri ve idrar yolu enfeksiyonlara kaynak oluşturmaktadırlar. Bunun dışında kalan birçok KNS türü gıdaların normal kontaminatları olarak güvenli kabul edilmektedir. Hatta peynir ve fermente gıda ürünlerine renk ve aroma vermesi açısından başlangıç kültürlerinde eklenmektedirler (Coton ve ark., 2010).

Antimikrobiyal ajanların hayvancılıkta tedavi, korunma ve büyüme faktörü olarak aşırı kullanılmasının, antibiyotik dirençli bakterileri taşıyan ve yayılımına neden olan hayvan kaynakları oluşturacağı belirtilmektedir. Stafilokoklar patojenitelerinin yanında hızla antibiyotik direnci kazanmaları ile de insan ve hayvan sağlığı için tehlike oluşturmaktadırlar. Antibiyotik direncinin, plazmid ve transpozonlar gibi hareketli genetik materyallerle farklı cins ve türler arasında aktarıldığı ve gıdaların dirençli bakteriler açısından ciddi bir rezervuar oluşturduğu bilinmektedir (Chajecka-Wierzchowska ve ark., 2015). Son yıllarda stafilokokların da içinde bulunduğu birçok gıda kaynaklı bakterinin antibiyotik direncinin gıdalarda yayılımına sebep olduğu rapor edilmiştir (Simeoni ve ark., 2008, Piessens ve ark.,2012).

### *2.4.2. Bacillus'ların Gıdalardaki Önemi*

*Bacillus*'lar birçok enzim ve spor üretmeleri gibi fizyolojik özellikleri sayesinde doğada hemen hemen tüm ortamlarda bulunmaktadırlar. Sporlar bakterilere, sıcak, soğuk, radyasyon, kuruma ve dezenfektanlar gibi faktörlere dayanıklılık kazandırmaktadır. Toprak, bitkiler, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemleri, çiğ ve pişmiş gıdalar gibi birçok ortamdan izole edilebilmektedirler (Turnbull ve ark., 1991).

Ürettikleri amilaz, proteaz, lipaz, hemolizin, beta laktamaz gibi enzimlerler ve antimikrobiyaller sebebiyle biyoteknolojide ve sanayinin birçok alanında

kullanılabilmektedirler. Ayrıca bakteri sporlarının mide enzimlerini aşarak bağırsağa ulaşma olasılığının yüksek olması, sağlık ve gıda sektörlerinde insan ve hayvanlarda probiyotik gıda desteği olarak bağışık indükleyici, bağırsak düzenleyici ve patojenlere karşı antimikrobiyal olarak kullanılmalarına olanak vermektedir (Adimpong ve ark., 2012, Logan 2012, Konuray ve ark., 2017).

*Bacillus*'ların patojen olan çok az türü vardır. İnsanlar için en önemli patojen türü hayvansal kaynaklı şarbon etkeni olan *B.anthracis*'tir. Şarbon kutanöz, intestinal ve pulmoner şarbon olarak görülebilen oldukça bulaşıcı ve ölümcül olabilen bir hastalıktır(Turnbull ve ark., 1991). *B.cereus*, *B.subtilis*, *B.pumilus* türleri genellikle hayvansal kaynaklı gıdalarda çoğalarak toksinleriyle gıda zehirlenmelerine sebep olmaktadırlar (Logan, 2012). *Bacillus* kaynaklı gıda zehirlenmelerinin en önemli kaynağı *B.cereus*'tur. *B.cereus* iki tip zehirlenmeye sebep olmaktadır bunlar, emetik tip ve diyareal tiptir. Emetik tip, serölid denilen ısıya dayanıklı bir toksin, diyareal tip ise enterotoksin kaynaklıdır (Adimpong ve ark., 2012, Chon ve ark., 2012). *B.cereus* pastörize süt, dondurma, et gibi hayvansal gıda ürünlerinin raf ömürlerinin kısalmasına ve gıda intoksikasyonu riskinin ciddi bir oranda artmasına sebep olmaktadır (Cui ve ark., 2016).

Birçok türü non-patojen olan *Bacillus*'ların antibiyotik dirençleri ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır. *B.cereus*, *B.mycoides*, *B.thrungiensis* türlerinin penisiline doğal dirençli oldukları bilinmektedir. Gıda üretiminde ve diyete katkı olarak kullanılan mikrobiyal kültürlerin antibiyotik direnç bulundurması, kommensal ve patojen bakteriler arasında direnç gelerinin aktarılması riskini oluşturduğundan toplum sağlığı açısından endişe verici olarak görülmektedir. Çeşitli çalışmalarda insan hayvan ve gıdalardan izole edilen *Bacillus* spp.'nin kloramfenikol,tetrasiklin, eritromisin, linkomisin, penisilin ve streptomisin gibi antibiyotiklere dirençli olabildiği gösterilmiştir (Adimpong ve ark., 2012).

### *2.4.3. Enterococcus'ların Gıdalardaki Önemi*

*Enterococcus*'lar laktik asit bakterilerinin (LAB) temel üyeleridir. Et, süt, peynir, sebzeler, su yüzeyleri ve bitkiler gibi çeşitli gıda kaynaklarında bulunabilir (Jamet ve ark., 2012). *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin yapılan birçok araştırmada gıdalarda en fazla sıklıkta izole edilen mikroorganizmalar olduğu belirtilmiştir. *E. durans, E. gallinarum, E. mundtii, E. raffinosus* daha az sıklıkta bulunmaktadır (Giraffa, 2002; Nes ve ark., 2007; McGowan ve ark., 2006; Frazzon ve ark., 2010; Aslam ve ark. 2012; Jahan ve ark., 2013; Klibi ve ark., 2013; Pasevento ve ark., 2014).

*Enterococcus*'lar, gıda olgunlaşma süreçlerinde starter veya probiyotik kültürler olarak faydalı bir rol oynayabilir (Klibi ve ark., 2013; Abouelnaga ve ark., 2016; Gaglio ve ark., 2016). Bu mikroorganizmalar starter kültür olarak yararlı rol oynarken, diğer taraftan da bazı süt ürünlerinde *Enterococcus*'ların fekal orijinli olanları hakkında kuvvetli bir soru işareti vardır. Fermente gıdalardan izole edilen *Enterococcus*'ların potansiyel veya araştırılan patojeniteleri üzerine; hayvan model sistemlerinde daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır. *Enterococcus* içeren gıdaların sağlık riski olmaksızın tüketiminin uzun bir tarihi olmasına karşın *Enterococcus*'ların GRAS (Generally Recognised As Safe- Genel Olarak Güvenilirliği Kabul Edilen) mikroorganizma olarak kabul edilmesi çok daha fazla çalışmayı gerektirmektedir (Frazzon ve ark., 2010). Gıdalarda, *Enterococcus* türleri fekal kontaminasyon göstergesi olarak değerlendirilmekte, ısıl işlem görmüş et ürünlerinde yüksek sıcaklığa karşı dirençli olma özelliğinden dolayı pastörizasyon sonrası canlı kalarak ya da dilimleme ve paketleme gibi işlem basamaklarında çapraz kontaminasyona bağlı olarak üründe bozulma yapabilmektedirler (Braga ve ark., 2013). Ek olarak, bazı *Enterococcus*'lar, çoğunlukla *E. faecalis* ve *E. faecium*, gıda patojenlerinin ve bozulma mikroorganizmalarının büyümesini önleyebilen laktik asit, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler gibi inhibe edici maddeler üretirler (Raafat ve ark., 2016).

Bazı *Enterococcus* türlerinin virülans genleri vardır ve sıklıkla yaygın antibiyotiklere yüksek direnç gösterirler. Cocconcelli ve ark. (2003), model peynir ve fermente sucuk üretiminde klinik kaynaktan alınan *Enterococcus faecalis*'in antibiyotik direnç ve virülans genlerini fermentasyon sırasında gıda kaynaklı *Enterococcus faecalis*'e transfer edebildiğini göstermişlerdir (Cocconcelli ve ark., 2003). İnsanlarda kullanılan antibiyotiklerin çoğuna karşı direnç kazanmanın yanı sıra doğal dirençte taşırlar (Sallem ve ark., 2016). Antibiyotik direnci, dirençli genlerin farklı türler ve cinsler arasında plazmidler ve transpozonlar tarafından yatay transferiyle sağlanır (Belgacem ve ark., 2010; Jahan ve ark. 2016). Güvenlik nedeniyle, gıdalardaki starter kültürlerinin seçilmesinde temel bir kriter, *Enterococcus*'ların aktarılabilir antibiyotik direncinin olmamasıdır (Frazzon ve ark., 2010; Oladipo ve ark., 2013).

Hayvan kaynaklı gıdalarda antibiyotiğe dirençli *Enterococcus*'ların varlığı, bazı yazarlar tarafından bildirilmiştir (Kasımoğlu - Doğru ve ark., 2010; Aslam ve ark., 2012; Abouelnaga ve ark., 2016). Gıdalardan insanlara bulaşma olasılığı yüksektir (Carasi ve ark. 2014). Bu nedenle, gıdalardan izole edilen *Enterococcus*'ların potansiyel antibiyotik direnci açısından test edilmesi gerektiği öne sürülmüştür (Togay ve ark., 2010; Klibi ve ark., 2013).

Gıdalardan izole edilen *Enterococcus*'lardaki direnç genleri az pişmiş yada pişmemiş et tüketimi sonrası insanlara genetik transferle geçiş olduğu bu çalışmada vurgulanmıştır. Fermente etlerden izole edilen *Enterococcus* türlerinin, klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus* türleriyle genetik akrabalığı araştırılmış ve tetrasiklin direnç geni olan *tetM*'nin konjugasyon yoluyla transfer olduğu saptanmıştır (Jahan ve ark., 2015).

Sanlıbaba ve arkadaşları (2018), Türkiye'de satılan tavuklardan izole edilen *Enterococcus*'ların izolasyonu ve antibiyotik dirençlerinin belirlenmesine odaklanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, *E. faecium*'un tavukta bulunan dominant *Enterococcus* türü olduğunu göstermiştir. Ankara'da tavuklardan izole edilen *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarının antibiyotik direncinin yayılması için potansiyel bir kaynak olarak değerlendirilebileceğini açıkça göstermiştir. Tüm izolatlar arasında,% 97.93 *Enterococcus* suşu üç veya daha fazla antimikrobiyal maddeye direnç göstermiştir. Bu çalışmada bildirilenlere benzer sonuçlar Jahan ve ark., (2013), Abouelnaga ve ark. (2016) ve Rafaat ve ark. (2016) örnek verilebilir. Ayrıca *Enterococcus* izolatlarında Bulajic ve ark. (2015) çoğu beş antimikrobiyale (% 35.05), ardından dört antimikrobiyale (% 32.98) dirençli olarak saptanmıştır. Ek olarak, çiğ tavuk örneklerinden izole edilen *Enterococcus* türleri arasında çoklu antibiyotik direnci yaygınlığı halk sağlığı için ciddi bir tehdit olduğunu ve hayvancılıkta antibiyotiklerin kontrollü kullanımı, Türkiye'de oldukça düşündürücü olduğunu bildirmiştir (Sanlıbaba ve ark., 2018).

### 2.5. Antibiyotik Direnci ve Direnç Mekanizmaları

Antibiyotik direnci; bir bakteri türünün bazı suşlarının antibiyotikten etkilenmemesi ya da antibiyotiğe duyarlı bir suşun çeşitli direnç mekanizmalarından biri ile dirençli hale dönmesi olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde çeşitli antibiyotiklerin toplumda tüketiminin artması, immun sistemi bozulmuş hastaların sayısında artma olması, yoğun bakım ünitelerinin sayısının artması, gıda endüstrisinde antibiyotik kullanımı gibi nedenlerle bakterilerdeki antibiyotik direnci giderek artmaktadır (Demirtürk ve Demirdal, 2004).

Bakteriler, antibiyotiklere doğal (intrinsik) olarak dirençli olabilmektedir. Bu direnç türü bakterilerin temel özelliğidir ve antimikrobiyal kullanımı ile ilişkili ve kalıtsal değildir. Doğal direnç, bu mikroorganizmaların tür özelliği olarak ilacın hedefi olan yapıyı tanımamalarının veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefine ulaşamamasının bir sonucudur. Örneğin ilacın dış membrandan geçememesi nedeni ile Gram negatif bakteriler vankomisine doğal olarak dirençlidir veya bakterilerin L formları ve Mycoplasma'lar gibi çepersiz mikroorganizmalar penisilin gibi hücre duvar sentezi inhibitörlerine doğal dirençlidir. Aynı şekilde metabolik olarak inaktif olan bakteri sporları doğal dirençlidir. Çünkü birçok ilacın etkili olabilmesi için bakterinin aktif üreme döneminde olması gereklidir (Yüce, 2001).

Diğer bir direnç yolu ise kazanılmış dirençtir. Bir bakteri genetik özelliklerindeki değişimlere bağlı olarak duyarlı olduğu bir antibakteriyel ajandan etkilenmeyebilir. Bu durumda o bakteri direnç kazanmış olur. Genetik kaynaklı direnç kromozomal veya kromozom dışı elemanlara bağlı olabilir. Kromozomal direnç, bakteri kromozomunda kendiliğinden (spontan) oluflan mutasyonlar sonucu ortaya çıkar. Spontan mutasyonlar bazı fiziksel ve kimyasal faktörlerle oluşabilir ve sonuçta bakteri hücresinde yapısal değişimler oluşur. Böylece hücrenin ilaca permealibitesi azalabilir veya hücre içinde ilacın hedefinde değişiklikler olabilir. Streptomisin, aminoglikozid, eritromisin, linkomisine karşı bu tür direnç görülebilir. Ekstrakromozomal direnç, çeşitli yollarla aktarılan plazmid, transpozon ve integron adı verilen genetik elemanlara bağlıdır(Yüce, 2001; Öztürk, 2002; Capita ve Alonso-Calleja, 2013). Bakterilerin antibiyotiklere direnç kazanmasının birçok mekanizması bulunmaktadır. Bu mekanizmalar sonraki bölümlerde özetlenmiştir.

### 2.5.1. Hedef Değişikliği veya Fazla Üretimi

Antimikrobiyal ajanların hücrede bağlandıkları reseptörlerde oluşan tüm değişiklikler, ajanın hücre içine girmesine engel olarak ve mikroorganizmanın ajana dirençli olmasına neden olabilmektedir. Örneğin ribozomal DNA veya diğer kilit elementlerin mutasyona uğraması antimikrobiyalin bağlanamaması ve sonuçta antimikrobiyal etkini kaybına yol açmaktadır. Bu mekanizmaya örnek olarak, belirli penisilin direnci tiplerinde gözlenen penisilin bağlayıcı proteinlerin (PBP'ler) yapısal değişikliği, aminoglikozitleri, makrolidleri veya tetrasiklinleri etkisiz hale getirebilen ribozomal değişiklikler ve DNA-giraz modifikasyonları ile fluorokinolonlara direnç gelişmesi verilebilir. Öte yandan, glikopeptit antibiyotikler, uzayan peptidoglikan polimerinin pentapeptid zincirinin terminal D-alanil-D-alaninine bağlanarak etki ederler. *Staphylococcus* spp.'de bu bileşiklere duyarlılıkta azalma, hücre duvarı peptidoglikanın içindeki glikopeptid bağlanma bölgelerinin aşırı üretilmesinden kaynaklanabilmektedir (Capita ve Alonso-Calleja, 2013).

### 2.5.2. Geçirmezlik (İmpermeabilite)

Dış membran geçirgenlik değişimleri sonucu gelişen direnç antibiyotik molekülünün hücre içine girişinin sınırlandırılması ile gelişmektedir. Antibiyotiklerin etki gösterebilmesi için öncelikle hedeflerine ulaşması gereklidir. Örneğin, beta-laktam ajanlar PBP'lere bağlanabilmek için sitoplazmik zarın dış yüzüne ulaşmalıdır. Peptidoglikan tabaka, geniş aralıkları nedeniyle antibiyotiklerin bakteri hücresine girişine engel oluşturmaz. Ancak, Gram negatif bakterilerin dış zarı, antibiyotikler ve ortamdan alınacak diğer moleküller için yarı geçirgen bir engel oluşturmaktadır. Bu nedenle, dış zar yapısı tüm Gram negatif bakterilere Gram pozitiflerden farklı bir avantaj sağlamaktadır (Çiftçi ve Aksoy, 2015).

### 2.5.3. Enzimatik İnaktivasyon veya Parçalama

Enzimatik inaktivasyon, bakteriler, antimikrobik maddeleri değiştiren veya bozan bir veya daha fazla enzim ürettiğinde ve bunu bakterilere karşı inaktif hale getirdiğinde meydana gelir. Bu enzimler tipik olarak belirli bir antimikrobiyal veya antimikrobiyal sınıfına özgüdür. Bu, beta-laktam halkasını hidrolize eden beta-laktamazların bakteriyel üretimi yoluyla beta-laktam antibiyotiklerini etkileyen yaygın bir direnç mekanizmasıdır (Capita ve Alonso-Calleja, 2013). Birçok araştırmacı, biyositlerin enzimatik dönüşümünün bakterilerde, özellikle ağır metaller (gümüş ve bakır; katyonun metale enzimatik indirgenmesi), parabenler, aldehitler (formaldehit dehidrojenaz), peroksijenler (formaldehit dehidrojenaz) katalaz, süper oksit dismutaz ve alkil hidroperoksidazlar)a karşı bir direnç mekanizması olduğunu gözlemlemişlerdir (SCENIHR, 2009).

Antimikrobiyal direncine sebep olan enzimleri kodlayan genlerin bazıları bakteriyel kromozomlarda ortaya çıkmasına rağmen, genellikle transpozonlar veya plazmitler gibi hareketli elemanlarda bulunur. Enzim aracılı inaktivasyon nedeniyle makrolid ve tetrasiklin

(TetX ile) direnci örnekleri de bilinmektedir. Kloramfenikole direnç tipik olarak asetil transferazlar ile sağlanmaktadır (Poole, 2002).

### 2.5.4. Efluks

Efluks pompaları, hücreye nüfuz eden antimikrobiyalleri aktif olarak alan ve hücre içi konsantrasyonlarını etkili seviyelerin altına düşüren taşıma proteinleridir. Efluks birkaç antimikrobiyal için tarif edilmiştir. Bir bileşiğe özel olabilir veya katkı maddeleri ve antibiyotikler gibi çeşitli bileşikler üzerinde çalışabilir (Capita ve Alonso-Calleja, 2013). Antibiyotik direncinin bir aracı olarak efluks, en yaygın olarak hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilerdeki tetrasiklinlerle (örneğin TetA, TetB, TetK pompaları) ve florokinolonlarla ilişkilidir. tet genleri genellikle plazmid veya transpozonlarda kodlanır ve bu nedenle direnç, bu genlerin harici kaynaklardan edinilmesinden kaynaklanır. Bu pompalar, kromozomal olarak kodlanmış bu efluks sistemlerinin mutasyonel hipereeksresyonu sonucu ortaya çıkan hem doğal hem de kazanılmış dirence katkıda bulunmaktadır. Bu efluks sistemlerinin çoğu, makrolidlere, b-laktamlara, aminoglikozitlere ve tetrasikline karşı direnç sağlar. Makrolidlere karşı efluks kaynaklı direnç, Gram-pozitif bakterilerde de tarif edilmiştir. Kloramfenikol direnci de efluks yoluyla sağlanabilmektedir (Poole, 2002).

*S.aureus*'ta çoklu direnç gelişimine neden olan bazı proteinler QacA, NorA ve daha spesifik olarak MsrA ve TetK proteinleridir. Bunların varlığı florokinolonların, makrolid ve tetrasiklin grubu antibiyotiklerin hücre dışına atılmasına neden olmaktadır (Zarakolu, 2003).

*B. subtilis*'te bulunan bmr proteini ilk keşfedilen çoklu antibiyotik pompa proteinlerindendir. Bu taşıyıcı protein kloramfenikol, puromisin, etidyum bromür, rodamin ve tetrafenilfosfonyum gibi yapısal olarak farklı birçok antimikrobiyal maddeye bakteriyel direnci sağlamaktadır. Bmr efluks pompası, *S.aureus*'taki norfloksasini hücre dışına pompalayan norA proteiniyle homoloji göstermektedir. Proteinler arasındaki benzerlik, efluks pompalarının birçok substratı tanıyabileceğini düşündürmüş ve yapılan çalışmalarla da gerçekten böyle olduğu kanıtlanmıştır. O zamandan beri efluks pompalarının hem patojenik hem de patojen olmayan bakterilerde bulunduğu, ifade edildiği ve önemleri anlaşılmıştır (Andersen, 2015).

Gram pozitif bakterilerde antibiyotik direnci için önemli olan efluks pompası genleri, ertromisini hücre dışına pompalamayı sağlayan ermA, ermB, msrA/B, ereA,ereB, mefA, tetrasiklini pompalayan tetK, tetL, beta laktam grubu antibiyotikleri pompalayan bla ve mecA, vankomisini pompalayan vanA, vanB,vanC, gentamisinin atılmasını sağlayan aac (6_)- le-aph(2_)-la, aph(2'_)-lb, aph (2'_)-lc, aph(2'_)-ld gibi genlerdir (Fernandes-Fuentes ve ark., 2014).

### 2.5.5. Alternatif Metabolik Yolların Kazanılması

Bazı antibiyotikler metabolik yollardaki enzimler gibi davranmaktadır. Dirençli bakteriler, antimikrobiyal etkiyi atlayıp yeni bir metabolik yol geliştirerek antibiyotiği etkisiz hale getirirler. Sülfonamidler ve trimetoprim, bakteriler için gerekli bir vitamin olan folik asidin biyosentezine girerler. Sülfanomidler para-aminobenzoat (PABA) ile yarışarak, folat sentezinin yapıtaşlarından olan 7,8-dihidropteroatın sentezini engellerler. Trimetoprim de benzer olarak dihidrofolatın tetrahidrofolata indirgenmesini engellemektedir. Sülfonamidlere ve trimetoprime karşı direnç, sırasıyla sülfonamidler ve trimetoprim için duyarlılığı ve afiniteyi azaltan, değiştirilmiş dihidropteroat sentaz ve dihidrofolat redüktaz sentezi ile metabolik değişime dayanmaktadır (Schmitz, Perdikouli ve ark., 2001).

### 2.5.6. Biyofilm Oluşturma

Çoğu bakteri doğal veya abiyotik yüzeylerle ilişkilidir ve serbest hücrelerden ziyade biyofilm olarak büyür. Biyofilmler, yüzeylerde oluşan ve doğada bulunan mikroorganizmalar

için yaygın bir büyüme şekli olan bir ekzopolimerik manto içinde (dış-polimerler ve hücre dışı enzimler) bulunan mikroorganizmaların ortak yapılarıdır. Biyofilmlerdeki bakteri hücreleri, çeşitli mekanizmalar ile biyositlere ve antibiyotiklere karşı artan direnç gibi serbest hücrelerden farklı özellikler göstermektedir. Bu mekanizmalar; hücre dışı polimerik matriks nedeniyle aktif moleküllerin biyofilm boyunca difüzyonunun azaltılması, biyofilmde yüksek bakteri konsantrasyonu olması, fizyolojik durumun modifiye edilmesi: azalmış metabolizma ve büyüme hızı, porin sentezinin azalması ile membran geçirgenliğinin değiştirilmesi, çok ilaca direnç operonlarının ve efluks pompalarının indüksiyonu, antimikrobiyal bileşikleri parçalayan enzimlerin aşırı üretimi ve pasifleşme (dormansi)dir (Capita ve Alonso-Calleja, 2013).

### 2.6. Biyositler (Antiseptik ve Dezenfektanlar) Hakkında Genel Bilgi

Mikroorganizmalar üzerine değişik mekanizmalarla mikrobisit veya mikrobiostatik etki gösteren antiseptik ve dezenfektanlar, diğer yaygın bir terimle biyositler günümüz tıp pratiğinde yaygın kullanım alanı bulan maddeler arasındadır. Bu maddeler, hastaneler, diğer sağlık kurumları ve veterinerlikte kullanılmaktadır. Özellikle nozokomiyal infeksiyonların önlenmesi ve kontrolünde ilgili maddelerden geniş ölçüde yararlanılmaktadır. Ayrıca hazır gıda sanayiinde ve kozmetik sektöründe ilgili maddelerin koruma amacıyla kullanımının giderek artması biyositlerin kullanım alanlarını genişletmiştir (Öztürk, 2002).

Biyositler, gıda endüstrisinde temizlik ve dezenfeksiyon programlarında yer alan, patojenik ve bozulmaya neden olan bakterileri kontrol amacıyla kullanılan en önemli silahtır (Holah, Taylor ve ark., 2002). Giderek artan kullanımları, diğer antimikrobik maddelerde olduğu gibi, bunlara karşı da bir direncin gelişip gelişmediği sorusunu gündeme getirmiştir. Konu ile ilgili çalışmalar antibiyotik direnci kadar olmasa bile, son yıllarda üzerine önem verilen konulardan biri haline gelmiştir (Öztürk, 2002).

Biyositler, hücrede özgül bir hedefi bulunan antibiyotiklerden daha geniş bir etki spektrumuna sahiptir; çünkü bunların mikroorganizmalar üzerinde daha çok hedefi bulunmaktadır. Antibiyotiklerde olduğu gibi biyosit maddeler de değişik mekanizmalarla mikroplar üzerinde üremeyi durdurucu veya öldürücü etki gösterir. Bunların özellikle bakteriler üzerine etki mekanizmaları diğer mikroorganizmalara (virüs, protozoon) göre daha iyi belirlenmiştir. Aynı madde bir veya daha fazla mekanizma ile etki edebilir. Biyositler, hücre duvarını bozma (sentezi önleme, lipidleri, eritme), sitoplazma zarını bozma, protoplazmayı pıhtılaştırma, hücre içi bileşenlerinin dışarıya sızmasına neden olma, hücre homeostazini bozma, mikropların enzim, koenzim ve diğer protein yapılarını bozma (oksitleme, alkilleme...), elektron transportu ve oksidatif fosforilasyonu inhibe etme, makromoleküllerle etkileşme veya bunların sentezini önleme gibi mekanizmalarla etki etmektedir (Öztürk, 2002, Keskin ve Kök, 2007; Eryilmaz ve Akin, 2008).

En önemli biyosit tipleri;

Alkoller
Aldehitler (Formaldehit, gluteraldehit)
Biguanidler (Klorhekzidin)
Diamidinler
Halojen salan maddeler
İyot ve İyodoforlar (Povidon iyodür)
Gümüş Bileşikleri
Peroksijenler (Hidrojen peroksit)
Fenoller
Kuaterner Amonyum Bileşikleri (Benzalkonyum Klorid) ‘dir(Öztürk, 2002; Keskin ve Kök, 2007; Eryilmaz ve Akin, 2008).

## 2.7. Biyosit Direnci

Biyositler, antibiyotiklere göre daha az dikkat edilmesine rağmen, antimikrobiyal direncine sebep olabilirler (Morente, Fernández-Fuentes ve ark., 2013). Gıda zinciri boyunca antimikrobiyal direncin seçilim ve yayılımı birincil olarak antibiyotik, ikincil olarak ise biyositlerin kullanımıyla artmaktadır. Bazı biyosit direnç tiplerinin bakteriler arasında aktarılabildiği ve en azından birinin gelecekte önemi artan bir problem olarak karşımıza çıkabileceği yönünde kanıtlar bulunmuştur (Fraise, 2002). Marker olarak antibiyotik direnç geni eklenmiş olan genetiği değiştirilmiş tarım ürünleri, gıda zincirine kasten eklenen, aktarılma olasılığı olan antibiyotik direnç geni içeren mikroorganizmalar ve sub-letal dozda yapılan gıda işleme teknikleri de endişe kaynağı olmaktadır (Capita ve Alonso-Calleja, 2013).

Biyosit direnci, bir kromozomal genin mutasyonu veya amplifikasyonu yoluyla veya ekstrakromozomal genetik elementlerin (plazmitler ve transpozonlar) direnç genleri kazanması ile ortaya çıkabilir. Direncin biyosit inaktivasyonundan kaynaklanabildiği bilinmektedir, ancak nispeten nadirdir ve birkaç biyosit sınıfına (organik cıva bileşikleri) özgüdür. Daha yaygın olarak ve muhtemelen biyositler için hücresel hedeflerin çokluğunun bir sonucu olarak, direnç hücre zarf geçirgenliği veya artmış efluks faaliyetinden kaynaklanmaktadır (Poole, 2002).

Biyosit direnci de antibiyotik direncinde olduğu gibi doğal (intrinsik) direnç ve kazanılmış direnç olarak oluşabilmektedir. Doğal direnç, bakterilerin doğal fenotipik özellikleri ile oluşan ve kromozomal genler ile kontrol edilen dirençtir. Bu direnç genellikle antiseptik ve dezenfektanlarınhücre içine alımlarının azalması ile olmaktadır. Bakteri sporları, değişik gram negatif bakteriler ve mikobakteriler doğal olarak birçok biiyosidal maddeye dirençlidir. Fizyolojik adaptasyon da doğal bir direnç mekanizmasıdır. Bu adaptasyona en önemli örnek olarak biyofilm oluşumu gösterilebilir. Biyofilm içindeki bakteriler, biyosidal maddelere daha dirençlidirler. Antibiyotik direncinde olduğu gibi, biyofilm tabakası çeşitli mekanizmalarla bakterilere direnç kazandırmaktadır (Çağlar, 2005).

Yüksek moleküler ağırlıklı maddeler, *Staphylococcus*'ların ve vegetatif *Bacillus sp*. duvarından kolayca geçebilmektedir. Bu nedenle gram pozitif bakteriler KAB ve klorhekzidin dahil değişik biyositlere karşı duyarlıdır. Bununla birlikte bakteri üreme hızı ve üreme ortamındaki besin kısıttlamaları, biyositlere karşı duyarlılığı değiştirebilir; daha dirençli formlar meydana gelebilir. *Enterococcus*'lar genel olarak *Staphylococcus*'lardan daha dirençli olmakla birlikte son yılların sorun bakterileri olan vankomisin dirençli *Enterococcus* kökenlerinin vankomisin duyarlı olanlara göre biyositlere daha dirençli olduklarına dair bir kanıt elde edilememiştir (Öztürk, 2002).

Kazanılmış direnç, mutasyon veya kromozom dışı genetik materyallerin kazanılması ile edinilen dirençtir ve söz konusu biyosidallerin kademeli olarak artan çeşitli dozlarına maruz kalma ile gerçekleşmektedir. Gram negatif bakteriler, genellikle antiseptik ve dezenfektanlara karşı spor oluşturmayan bakteriler ve mikobakteriyal olmayan gram pozitiflere göre daha dirençlidirler (Keskin ve Kök, 2007). Plazmid aracılıkla kazanılmış direnç, civa bileşikleri ve diğer metal tuzları için saptanmıştır ve son yıllarda değişik biyositlere karşı özellikle *Staphylococcus*'larda olmak üzere direnç geliştiği görülmektedir.

### 2.7.1. Hedef Değişikliği

Bakteriyel hücre içerisinde birçok spesifik hedefi olan antibiyotiklerin aksine, biyositlerin birden çok hücresel bileşeni etkilediği görülmektedir ve bu nedenle, hedef bölge mutasyonlarının biyosit direncine neden olması nadir görülen bir durumdur (Morente, Fernández-Fuentes ve ark., 2013). Diş macunları, sabunlar, deterjanlar ve cerrahi temizleyicilerde kullanılan popüler bir bakterisidal ve fungusidal bir ajan olan triklosana, bakterilerin yağ asidi sentezinde önemli rolü olan fabI geninde oluşan bir anlamsız mutasyon

oluşarak ajanın tanınmaması ile direnç gelişebilmektedir. Bazı bakterileri suşları Kuaterner Amonyum Bileşiklerini (KAB) N-de alkilasyon yolu ile parçalayabilmektedir ve bu onları dirençli hale getirmektedir. Gıda ve diğer endüstrilerde sık ve gereğinden fazla KAB içeren dezenfektanların kullanımı, bu suşlar üzerinde seçici baskı oluşturup dirençli suşların çoğalarak ortamda üstün hale geçmesine neden olmaktadır (Paul, Chakraborty ve ark., 2019).

### 2.7.2. Geçirmezlik (İmpermeabilite)

Antimikrobiyal maddelerin etki gösterebilmeleri için hücredeki hedef bölgelerine ulaşmaları gerekmektedir. Bakterilerde çeşitli mutasyon veya adaptasyonlar yoluyla dış membran geçirgenliğinin azalması, direncin gelişmesine neden olmaktadır. Gram negatif bakterilerde kazanılmış biyosit toleransından geçirgenlik değişikliklerinin sorumlu olduğunu belirten birçok yayın bulunmaktadır. Bu yayınlar, yüzey hidrofobikliği, dış zar yapısı, zar proteinlerinin ve dış zar yağ asidi bileşimindeki değişikliklerin bu direnci oluşturabildiğini söylemektedir (Morente, Fernández-Fuentes ve ark., 2013). Yine de, son veriler bir direnç mekanizması olarak dış membran bariyer geçirgenliğinin, ek direnç mekanizmaları (efluks ve b-laktamazlar) ile beraber çalıştığında önemli olduğunu göstermektedir. Ayrıca membran geçirmezliğinin biyofilm mekanizması ile desteklendiğinde de ciddi önem oluşturabileceği belirtilmiştir (Poole, 2002).

### 2.7.3. Efluks

Biyosit direncine sebep olan efluks pompası proteinleri içinde antibiyotikleri de barındıran geniş bir ajan topluluğunu hücre dışına pompalamakla görevlidir (Morente, Fernández-Fuentes ve ark. 2013). Günümüzde tanımlanmış yedi büyük bakteriyel çoklu antimikrobiyal efluks pompası ailesi bulunmaktadır, bunlar; adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette (ABC) süperailesi, resistancenodulation- division (RND) ailesi, major facilitator superfamily (MFS), small multidrug resistance (SMR) ailesi, multidrug and toxic compound extrusion (MATE) ailesi, proteobacterial antimicrobial compound efflux (PACE) ailesi ve p-aminobenzoyl-glutamate transporter (AbgT) ailesidir. Bu aileler amino asit sekans benzerlikleri substrat profilleri, substrat pompalamada kullandıkları enerji kaynaklarına göre sınıflandırılmışlardır. Ailelerin büyük çoğunluğunun en az bir üyesinin, yüksek çözünürlüklü yapı tespiti ile, transmembran helikslerin (TMH) sayısı da dahil olmak üzere protein yapısal organizasyonu doğrulanmıştır (Ahmad, Nawaz ve ark., 2018).

Efluks pompaları, RND ailesi örneğinde olduğu gibi, sadece iç membran taşıyıcıları değildir aynı zamanda dış membran kanalları ve periplazmik adaptör proteinleridir. RND ailesinden pompaların, *Pseudomonas aeruginosa*'da (MexB) ve *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium*'da (AcrB) belirgin antibiyotik direnci ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. Gram pozitif bakterilerde MFS ailesinden pompa proteinlerini kodlayan genler, *Staphylococcus aureus*'ta NorA ve *Streptococcus pneumoniae*'da PmrA gibi, tanımlanmıştır (Navidinia ve Goudarzi, 2019).

Gram pozitif bakterilerde, efluks pompa proteinleri yaygın olarak bulunmakta olup, son yıllarda yoğunlaşan çalışmalar stafilokok, streptokok, enterokok gibi klinik önemi olan bakterilerin çoklu ilaç direncinde bu proteinlerin etkin rol oynadığını ortaya koymaktadır. Hücre duvarı yapısı sebebiyle Gram pozitif bakterilerde efluks pompa sistemlerinin organizasyonu Gram negatif bakterilerden daha basit bir yapıdadır ve proteinler hücre zarında bulunmaktadır. *S.aureus*'ta sentezi plazmid kontrolündeki qacA ve smr pompa proteinlerinin, antiseptik ve dezenfektanlara; sentezi kromozomal genlerin kontrolünde olan NorA'nın ise hidrofilik kinolonlara yüksek düzey dirence yol açması, hastane enfeksiyonlarının kontrolü açısından önem taşımaktadır. Varlığı ilk kez *S.epidermidis*'te gösterilen ABC ailesine ait MsrA proteininin homoloğu, *S.aureus*'un klinik izolatlarında da gösterilmiş olup makrolid ve streptogramin B direnciyle ilişkili bulunmuştur. Çok yeni olarak,

ilk kez bir MATE tipi pompa proteininin de (MepA), *S.aureus*'ta biyosit ve florokinolon direnciyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Hasdemir, 2007).

### 2.8. Gram Pozitif Bakterilerde Bulunan Efluks Pompa Genleri

Gram pozitif hücre zarfı, ince bir tabaka fosfolipid üzerinde kalın bir tabaka peptidoglikan tabakadan oluşmaktadır. Gram negatif bakterilerde ise iki katmanlı hücre duvarı ve hücre zarı bulunmaktadır. Gram negatif bakterilerde hücre zarı ve hücre duvarı katmanlarını içeren çok bileşenli kompleks bir çoklu ilaç pompa sistemi, Gram pozitif bakterilerde ise tek bir transmebran bileşeni vardır. Klinik açıdan önemli ilaçların dışa atımını sağlayan RND süperailesi pompa proteinlerinin gram negatif bakterilerde hücre iç ve dış mebranının her üç katmanını da kapsayan bileşenleri mevcuttur. Bu sebeple yıllarca Gram pozitif bakterilerde RND süperailesi proteinlerinin bulunmadığı düşünülmekteydi fakat 2001 yılında RND süperailesinden olan yerP proteininin *Bacillus subtilis*'te bulunması bu fikrin değişmesini sağlamıştır. Daha sonra diğer büyük çoklu ilaç pompası süperaileleri gen ve proteinlerinin (MFS, ABC, MATE,SMR, PACE, AbgT) de Gram pozitif bakterilerde iyi bir şekilde temsil edildiği belirlenmiştir (Li ve ark., 2016; Ahmad, Nawaz ve ark., 2018).

Gram pozitif bakteriler içinde biyosit direnç genleri en iyi *S.aureus*'ta çalışılmıştır. *S.aureus*'ta bulunan kromozom tarafından kodlanan en önemli genler, norA (MFS), norB (MFS), norC (MFS), mepA (MATE), mdeA (MFS), sepA (n.d), sdrM (MFS), lmrS (MFS), plazmidler tarafından kodlanan en öneli genler ise qacA (MFS), qacB(MFS), smr (SMR), qacG(SMR), qacH(SMR) ve qacJ(SMR)'dir (Costa ve ark,2013). *Bacillus subtilis*'te en iyi çalışılan efluks pompa genleri, bmr (MFS), blt (MFS), lmrA (ABC), bmrA, bmrC/D (ABC), mdtP (MFS), yerP (RND), ebrA/B (SMR)dir. *Enterococcus*'larda en çok çalışılan efluks pompa genleri ise, emeA (MFS), efrA/B (ABC), efmA (MFS)'dır.

Araştırmamızda çalışılan genlerden qacA/B, MFS süperailesinden, plazmidler tarafından kodlanan, proton hareket kuvveti ile çalışan ve içinde 12 farklı kimyasal sınıftan lipofilik mono ve di katyonlar bulunan 30 farklı antimikrobiyal maddeyi (benzalkonyum klorit, klorhekzidin, diamidinler, boyalar vb.) hücre dışına pompalayan, özellikle *Staphylococcus*'larda çok iyi çalışılmış olan proteinleri kodlamaktadır(Andersen ve ark., 2015). acrB geni, RND süperailesinden, proton hareket kuvveti ile çalışan başta akriflavinler ve florokinolonlar olmak üzere birçok substratı olan proteini kodlamaktadır(Anes ve ark., 2015). norE geninin kodladığı protein, MATE süperailesinden, proton hareket kuvveti ile çalışan (sodyum gradiyent), florokinolonlar başta olmak üzere birçok substratı dışarı atmaktadır. sugE geni, SMR süperailesinden, proton hareket kuvveti ile çalışan, Gram negatif bakterilerde çok iyi tanımlanmış, setiltrimetilamonyum bromür, setilpiridinyum klorür, tetrafenilfosfonyum, benzalkonyum klorür, etidyum bromür ve sodyum dodesil sülfat gibi maddelere direnci sağlamaktadır (Fernández-Fuentes ve ark., 2014). Smr geni ürünü, SMR süperailesinden, proton hareket kuvveti ile çalışan, plazmidlerle kodlanan, Gram pozitif bakterilerde iyi açıklanmış ve benzalkonyum klorür, etidyum bromid gibi maddeleri hücre dışına pompalamakla görevli proteindir. efrA/B, *Enterococcus*'larda iyi açıklanmış, ABC süperailesinden, ATP enerjisini kullanan ve akriflavin, etidyum bromür, safranin O, DAPI, daunomisin, doksorubisin, novobiyosin, arbekasin, doksisiklin ve norfloksasin gibi maddeleri dışarı pompalayan proteinleri kodlamaktadır (Lerma ve ark., 2014). Kromozomda kodlanan mdeA gen ürünü, MFS süperailesinden, proton hareket kuvveti ile çalışan ve benzalkonyum klorür, etidyum bromid, virjinyamisin, novibiosin gibi maddeleri dışarı pompalamaktadır. MATE süperailesinden mepA geni, kromozomda kodlanmakta, proton hareket kuvveti ile çalışmakta (sodyum gradiyent) ve kuaterner amonyum bileşikleri (örneğin benzalkonyum klorür, setirimid, dekalinyum), klorheksidin, tetrafenil-fosfonyum, pentamidin ve boya etidyum bromür, ayrıca glisilinlerin sınıfından bir antibiyotik olan tigesikline bağlanmaktadır. norA ve norB genleri MFS süperailesine bağlıdır, kromozomda kodlanmakta, enerji olarak proton hareket kuvvetini kullanmakta ve proteinleri florokinolonlar, etidyum bromür ve birçok biyositi hücre dışına pompalamaktadırlar. Kromozomal olarak kodlanmış sepA geni, antiseptik

bileşiklere, yani benzalkonyum klorür, klorheksidin glukonat ve boya akriflavine karşı düşük seviyede direnç sağlayan bir efluks pompası olarak tanımlanmaktadır (Andersen ve ark., 2015; Li ve Nikaido, 2009; Costa ve ark., 2013).

### 2.9. Biyosit – Antibiyotik Direnci Arasındaki İlişki

Antibiyotik ve biyositlerin içinde bulunduğu antimikrobiyal ajanlar bakteriler üzerinde bakterisidal veya bakteriyostatik olarak benzer etkiler göstermektedir. Bakteriler bu ajanlara karşı ortak direnç mekanizmalarına sahiptir. Bakterilerin, biyosit maruziyetinden sonra beş ana prensibi takip ederek antibiyotiklere karşı direnç geliştirdiği kanıtlanmıştır. Bunlar, çapraz direnç, maruziyet ile gelişen fenotipik değişiklikler, ortak direnç (co-resistance) (alıcı hücreye hem biyosit hem antibiyotik direnci kazandıran, kromozom dışı genetik materyaller ile edinilen direnç), maruziyet sonucunda daha toleranslı alt popülasyonların gelişmesi ve biyosit ve antibiyotik maruziyeti sonrası hasarlı DNA'yı onarmak için bakterilerdeki SOS tepkisinin etkinleşmesi ile DNA hasarında ani artışlardan kurtulma mekanizmasıdır (SCENIHR, 2009).

Çapraz direnç, benzer şekilde etkili bileşikler veya ajanları tolere etmek için aynı stratejiyi kullanan belirli bir toksik maddeye karşı geliştirilmektedir. Antimikrobiyal kemoterapi sırasında, mikroorganizmalar onları antimikrobiyallere karşı dirençli kılan bir kaçış mekanizması olarak mutasyona uğrarlar (Paul, Chakraborty ve ark., 2019). Giderek büyüyen bir tehlike de antibiyotikler ve biyositler arasında çapraz direnç oluşumudur. Özellikle gıda alanında yaygın olarak kullanılan biyositler ile antibiyotikler arasındaki çapraz direnç önemli halk sağlığı sorunlarına yol açabilir. Çapraz direnç iki antibakteriyel ajan hedefe ulaşmak için aynı yolu kullanıyorsa (ör. porinler gibi), benzer etki mekanizmasına sahip ise (ör. protein sentez inhibisyonu gibi) veya benzer direnç mekanizmalarına sahip ise (ör. Permeabilite azalması gibi) ortaya çıkabilir. Biyositler ile çapraz direnç antibiyotiklerle ve/veya dezenfektanlar ile oluşabilir (SCENIHR, 2009; Morente, Fernández-Fuentes ve ark., 2013; Navidinia ve Goudarzi, 2019).

Bakteriler arasında biyositlere en fazla direnç sporlarda görülür. Manto(spor kabuğu) biyositlerin geçişini engeller. Stafilokoklar gibi gram pozitif bakterilerin hücre duvarı biyositlere karşı etkili bir engel oluşturmaz. Mukoid ve/veya slime faktörü taşıyan stafilokoklar kloroksilenol, setrimid ve klorhekzidine daha dirençlidir. Slime faktörü uzaklaştırıldığında dirençli stafilokoklar daha duyarlı hale gelmektedir (Fraise, 2002).

Birçok araştırmacı veteriner izolatları, gıda izolatları ve klinik izolatlar ile yaptıkları çalışmalarda çoklu antibiyotik direnci gösteren izolatların, biyosidal maddelere de duyarlılıkların da azalmış olduğunu gözlemlemişlerdir (Gibbons ve Udo, 2000; Morente, Fernández-Fuentes ve ark., 2013; Fernández-Fuentes, Abriouel ve ark., 2014; Becker, Schneider ve ark., 2018).

### 2.10. Efluks Pompa İnhibitörleri

Bakteriyel çoklu antibiyotik direncine neden olan efluks pompa proteinlerini inhibe ettiği bilinen bazı bileşikler; fenil arjinin betanaftilamid (PAβN), INF271, INF55, karbonil siyanid m-klorofenil hidrazon (CCCP), rezerpin, 1-(1-naftilmetil) piperazin (NMP), birikodar, timkodar, verapamil, milbemisin, klorpromazin, paroksetin ve omeprazoldur. Ancak toksisite problemlerinden dolayı, henüz klinik kullanımı olan bir pompa inhibitörü yoktur. Endüstriyel ve akademik alanda faaliyet yürüten pek çok araştırmacı tarafından, pompa inhibisyonu özelliği keşfedilen doğal ve sentetik kaynaklı pek çok bileşik rapor edilmektedir. Bu çerçevede, patent başvuru örnekleri de olan çeşitli antibiyotik türevi (tetrasiklin, aminoglikozit ve florokinolon analogları) ve antibiyotik dışı bileşikler (indol, üre, aromatik asit, piperidin-karboksilik asit, kinolin türevleri ve peptidomimetikler) sıklıkla çalışılmaktadır. Yapılan çalışmalarla, efluks pompa inhibitörlerinin bazı antibiyotiklerin minimum inhibisyon

konsantrasyonu (MİK) değerlerini düşürdüğü gösterilmiştir (Aygül, 2015).

Rezerpin, P-glikoproteini inhibe ettiği bilinen ve antihipertansif olan bir bitkisel alkaloiddir. Gram pozitif bakterilerde, NorA ve Bmr çoklu ilaç pompa sistemlerini inhibe ettiği ortaya konan ilk bileşiktir. Rezerpin bir efluks pompa inhibitörü olarak çok ilaca dirençli Gram pozitif bakterilerde florokinolon aktivitesini arttırmaktadır. Rezerpin ya da diğer NorA inhibitörlerinin kullanılması *S. aureus*'da NorA pompasını inhibe etmektedir. İn vitro olarak *S. aureus* ve *S. pneumonia*'nın dirençli varyantlarının ortaya çıkışını da azaltmaktadır. Rezerpin tetK determinantını bulunduran MRSA türlerine karşı tetrasiklin aktivitesini de artırmaktadır ve *Lactococcus lactis'teki* çoklu ilaç direncini sağlayan ABC efluks sisteminin üyesi olan LmrA'yı inhibe ettiği de gösterilmiştir (Alqwai, Poelarends ve ark., 2003).

## 3. MATERYAL VE YÖNTEM

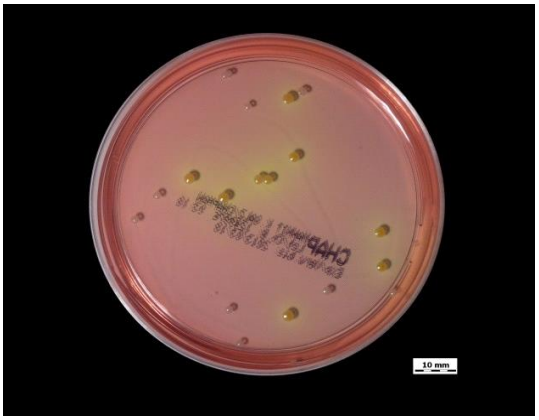
### 3.1. Gıda örneklerinin toplanması, izolasyon ve ön tanımlamalarının yapılması

Kasım 2016 – Mayıs 2017 tarihleri arasında, Ankara'nın çeşitli market, mandıra ve pazarlarında satışa sunulan 13 çiğ süt, 60 peynir, 18 çiğ tavuk ve 41 et (kıyma, kuşbaşı), fermente et (sucuk, sosis, salam) örneği materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler soğuk zincir koşulları dikkate alınarak, steril kapların içinde laboratuvar ortamına getirilmiş ve aynı gün içinde çalışılmıştır.

#### 3.1.1. Gıda örneklerinde *Staphylococcus* izolasyonu ve ön tanımlamasının yapılması

Araştırmamızda Türk Standartları Enstitüsünde belirtilen esaslara göre çiğ süt örnekleri steril 200 ml 'lik şişelere alınmıştır. Laboratuvara getirilen 25 ml çiğ süt örneğinden 225 ml'lik steril Buffered Peptone Water (BPW, Merck, 107228) kullanılarak sırasıyla $10^{-1}$, $10^{-2}$, $10^{-3}$' lük dilusyonlar hazırlanmıştır. Analiz için laboratuvara steril koşullarda getirilen 25 g peynir örnekleri steril bir kapta tartılmış, 225 ml steril Ringer Çözeltisi'nde (Merck, 115525) ezilerek homojenize edilerek $10^{-1}$, $10^{-2}$, $10^{-3}$' lük dilusyonları hazırlanmıştır. 25 g et ve tavuk örnekleri steril kaplarla laboratuvara getirilmiş, 225 ml'lik steril BPW içine alındıktan sonra $10^{-1}$, $10^{-2}$, $10^{-3}$' lük dilusyonları hazırlanmıştır. Bütün dilüsyonlardan, Mannitol Salt Phenol-Red Agar'a (MSA, Merck, 105404) 0,1 ml ekim yapılarak 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, 2011).

MSA besiyerinde sarı zon oluşturan sarı-parlak kolonilere ve kırmızı-mor zon oluşturan beyaz şüpheli kolonilere gram boyama, katalaz, oksidaz testleri uygulanmıştır. Gram pozitif (+), üzüm salkımı şeklinde kok, katalaz pozitif (+) ve oksidaz negatif (-) olan koloniler *Staphylococcus* olarak adlandırılmıştır. Araştırmamızda yapılacak tüm deneyler için kontrol suş olarak *S.aureus* ATCC 29213 kullanılmıştır (Chajecka-Wierzchowska ve ark., 2015).




Resim 1.Mannitol Salt Agar üzerinde *Staphylococcus*'ların görünüşü (http://www.bacteriainphotos.com/mannitol_agar.html)

#### 3.1.2. Gıda örneklerinde *Bacillus* izolasyonu ve ön tanımlamasının yapılması

Araştırmamızda Türk Standartları Enstitüsünde belirtilen esaslara göre çiğ süt örnekleri steril 200 ml 'lik şişelere alınmıştır. Laboratuvara getirilen 25 ml çiğ süt örneğinden 225 ml'lik steril BPW içerisine alınarak $10^{-1}$'lik dilusyonları hazırlanmıştır. Analiz için laboratuvara steril koşullarda getirilen 25 g peynir, et ve tavuk örnekleri steril bir kapta tartılmış, 225 ml steril Ringer Çözeltisinde ezilerek homojenize edilerek yine $10^{-1}$ dilusyonları hazırlanmıştır. Bu dilusyonların bulunduğu erlenler $80^0$C'de 10 dakika sıcak su banyosunda bekletilerek pastörizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra soğutulan dilüsyonlardan,

Nutrient Agar (NA, Merck, 105450)'a 0,1 ml ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, 2011).

NA besiyerinde spesifik yayvan, şeffaf veya mat, çiçeksi görüntü oluşturan gram boyama, katalaz, oksidaz, spor boyama testleri uygulanmıştır. Gram pozitif (+), sporlu basil, katalaz pozitif (+) ve oksidaz pozitif (+) olan koloniler *Bacillus* olarak adlandırılmıştır. Araştırmamızda yapılacak tüm deneyler için kontrol suş olarak *B. cereus* ATCC 11778 kullanılmıştır (Yılmaz ve ark., 2006).



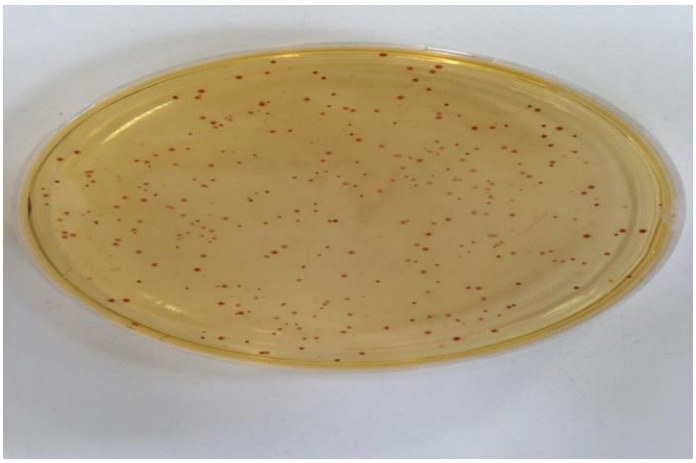
Resim 2.Nutrient Agar üzerinde *Bacillus*'ların görünüşü
(Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Meryem Burcu Külahcı tarafından çekilmiştir.)

### 3.1.3. Gıda örneklerinde *Enterococcus* izolasyonu ve ön tanımlamasının yapılması

Araştırmamızda Türk Standartları Enstitüsünde belirtilen esaslara göre çiğ süt örnekleri steril 200 ml 'lik şişelere alınmıştır. Laboratuvara getirilen 25 ml çiğ süt örneğinden 225 ml steril Azide Dekstrose Broth (ADB, Merck, 101590) besiyerine ilave edilerek $10^{-1}$ dilüsyonlar hazırlanmıştır. Analiz için laboratuvara steril koşullarda getirilen 25 g peynir, et ve tavuk örnekleri steril bir kapta tartılmış, 225 ml steril ADB besiyerine ezilerek homojenize edilerek $10^{-1}$ lik dilusyonları hazırlanmıştır. Ön zenginleştirme amacı ile 37°C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. $10^{-1}$ dilüsyondan Slanetz-Bartley Agar (SBA, Merck, 105262) besiyerine ekim yapılarak 48-72 saat $37^0$C'de inkübe edilmiştir. SBA besiyerinde üreyen tipik kırmızı ve pembe renkteki koloniler kanlı agar besiyerine pasajlanarak 24-48 saat $37^0$C'de inkübasyona bırakılmış ve bu kolonilere *Enterococcus* tanımlanması için çeşitli biyokimyasal testler uygulanmıştır (Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, 2011).

Yapılan gram boyama ve katalaz testleri sonucunda; gram pozitif, katalaz negatif özellik gösteren şüpheli *Enterococcus* suşlarına; $10^0$C'de ve $45^0$C'de üreme, % 6,5'luk NaCl'de üreme ve eskülin hidroliz testi uygulanmıştır. $10^0$C'de ve $45^0$C'de üreme pozitif (+), % 6,5'luk NaCl'de üreme pozitif (+), eskülin hidrolizi pozitif (+) olan kolonilere *Enterococcus* ön tanısı konulmuştur. Araştırmamızda yapılacak tüm deneyler için kontrol suş olarak *E. faecalis* ATCC 51299 kullanılmıştır.

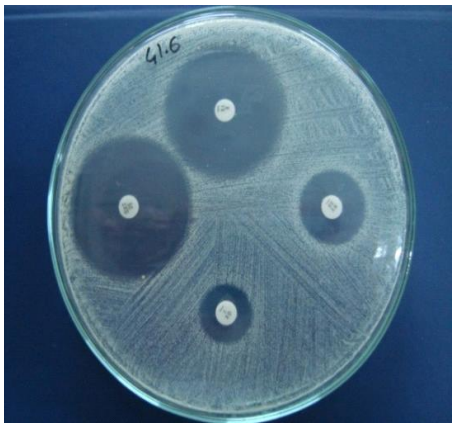
İzole edilen bakteri kültürleri Brain-Heart Infusion Broth (BHI, Merck, 110493) içerisinde kültüre edilip rutin kullanım için $4^o$C'de, uzun süreli saklamak içinse $-20^o$C'de %20'lik gliserollü buyyon içerisinde muhafaza edilmiştir.



Resim 3.Slanetz Bartley besiyeri üzerinde *Enterococcus*'ların görünüşü
(Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Zehra Şahin tarafından çekilmiştir.)

### 3.2. İzolatların Antibiyotik Dirençliliklerinin Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemiyle Belirlenmesi

Antibiyotik duyarlılık testi Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nde (CLSI) (CLSI, 2013) belirtilen kriterlere göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapılmıştır. *Staphylococcus*, *Bacillus* ve *Enterococcus* izolatları Mueller Hinton Agar (MHA, Merck, 105435) besiyerine ekilip 30-35$^{o}$C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, kültürlerden 2-3 koloni alınarak, 0,5 MacFarland bulanıklık standardına eşdeğer olacak şekilde serum fizyolojik içinde süspanse edilmiştir. Süspansiyondan, steril eküvyon çubuk ile alınan izolatlar MHA besiyeri yüzeyine sürme yöntemi ile ekilmiştir. Besiyeri yüzeyi kuruduktan sonra antibiyotik diskleri yerleştirilerek 37°C'de 18-24 saatlik inkübasyon sonucunda oluşan antibiyotik inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölçülmüştür. Elde edilen zon çapları CLSI da [CLSI, 2013] belirtilen zon çaplarıyla karşılaştırılarak *Staphylococcus*, *Bacillus ve Enterococcus*' ların antibiyotiklere hassas ve dirençli olarak değerlendirilmesi yapılmıştır. Çalışılan izolatlar için ampisilin (AM,10µg), sefkuinom (CFQ,30µg), tetrasiklin (TE,30µg), gentamisin (CN,10 µg), enrofloksasin (ENO,15µg), eritromisin (E,15µg) antibiyotikleri kullanılırken, *Enterococcus*'larda bu antibiyotiklere ek olarak vankomisin (VA,30 µg) çalışılmıştır. İzolatlar Çizelge 3.1'de belirtilen (CLSI, 2013), inhibisyon zon çaplarına göre hassas ve dirençli olarak değerlendirilmiştir.




Resim 4.Antibiyotik Dirençlilik Testi (Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Meryem Burcu Külahcı tarafından çekilmiştir.)

Çizelge 3. 1. Araştırmamızda kullanılan antibiyotik diskleri ve duyarlılık sınırları

| Antibiyotikler | Antibiyotik konsantrasyonu (µg) | Zon çapı (mm) | |
|---|---|---|---|
| | | Hassas | Dirençli |
| Ampisilin(AM) | 10 µg | ≥29 | ≤28 |
| Sefkuinom (CFQ) | 30 µg | ≥23 | ≤22 |
| Tetrasiklin(TE) | 30 µg | ≥19 | ≤14 |
| Gentamisin (CN) | 10 µg | ≥15 | ≤12 |
| Enrofloksasin (ENO) | 15 µg | ≥23 | ≤22 |
| Eritromisin (E) | 15 µg | ≥23 | ≤13 |
| Vankomisin (VA) | 30 µg | ≥17 | ≤14 |

Disk difüzyon yöntemine göre antibiyotik dirençli izolat sayısı ve yüzdeleri Çizelge 4.3'te ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

### 3.3. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Dirençliliklerinin Mikrodilusyon (MİK) Yöntemiyle Belirlenmesi

Test maddeleri uygun çözücüler olan; %95 etanol (eritromisin), steril distile su (sefkuinom, gentamisin, tetrasiklin, vankomisin), fosfat tamponu, pH: 6.0, 0.1 mol/L (ampisilin), %1 dimetil sülfosit (DMSO) (enrofloksasin) çözünmeleri sağlandıktan sonra steril distile su ile 1024 µg/ml konsantrasyonda hazırlanmaları için stok solüsyon olarak CLSI kriterlerine göre hazırlanmıştır (CLSI, 2013).

Araştırmamızda; antibiyotik olarak; ampisilin (AM; Sigma), sefkuinom (CFQ, İntervet), tetrasiklin (TE; Fluka), gentamisin (CN; Sigma), enrofloksasin (ENO, Bayer), eritromisin (E, Bilim), vankomisin (VA, Sigma) kullanılmıştır. Antibiyotik direnç ve duyarlılığının belirlenmesinde mikrodilüsyon yönteminin kullanıldığı testte 100µl Mueller Hinton Broth (MHB, Merck, 110293) besiyeri içeren 96-kuyulu mikroplakta (U taban) her bir antibiyotiğe ait CLSI'da belirtilen direnç ve duyarlılık sınırlarına göre hazırlanmış başlangıç dilüsyon solüsyonları eklenerek çift katlı dilüsyonları (≤512 µg/ml) yapılmıştır**.** Kuyulara 0,5 McFarland yoğunluğunda taze hazırlanmış bakteri kültür süspansiyonundan $2x10^5$cfu/ml yoğunlukta tüm kuyulara 10 µl ilave edilerek 37ºC'de 16-18 saat inkübe edilmiştir. Makroskobik olarak üreme görülmeyen en düşük konsantrasyon Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları olarak (MİK) belirlenmiştir. Besiyeri, kültür ve çözücü kontrolleri testte 2 paralel olarak çalışılmıştır.

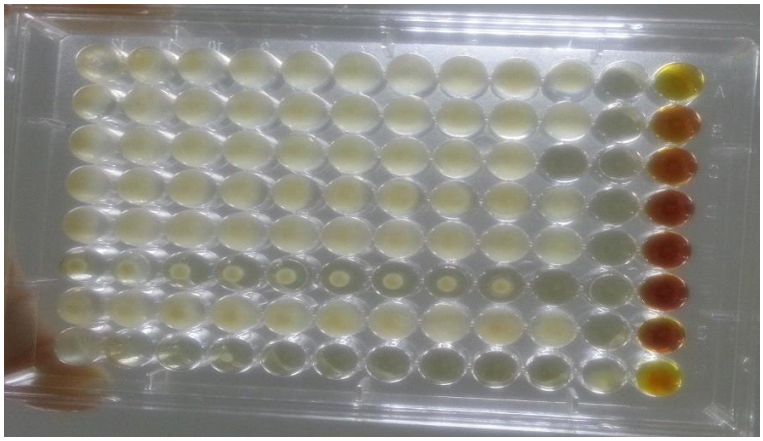
Tüm bakteri izolatları her bir antibiyotik için belirlenen MİK değerleri CLSI kriterlerine göre dirençli ve duyarlı kabul edilmiştir (CLSI 2013). Buna göre; ampisilin (S≥0.25; R≤0,5 µg/ml), sefkuinom (S≥2; R≤8 µg/ml), tetrasiklin (S≥4; R≤16 µg/ml ), gentamisin (S≥4; R≤16 µg/ml), enrofloksasin (S≥0.25; R≤1 µg/ml), eritromisin (S≥0.5; R≤8 µg/ml), vankomisin (S≥4, R≤32)dir.

### 3.4. Bakteri İzolatlarının Biyositler İçin Minimal İnhibitör Konsantrasyon Değerlerinin (MİK) Belirlenmesi

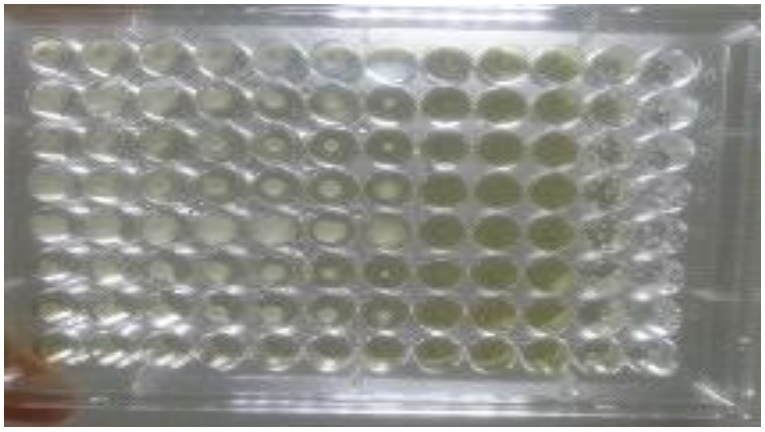
Biyosidal test maddeleri, uygun çözücüleri olan %95 etanol (klorhekzidin, hekzaklorofen), steril distile su (benzalkonyum klorür, sodyum hipoklorit, povidon iyodin), etanol (triklosan) ile çözünmeleri sağlandıktan sonra steril distile su ile 1024 µg/ml (klorhekzidin, hekzaklorofen, benzalkonyum klorür, triklosan), 100 mg/ml (sodyum hipoklorit), 100 g/l (povidon iyodin) konsantrasyonlarda stok solüsyonları hazırlanmıştır.

Araştırmamızda kullanılan biyosidal maddeler klorhekzidin (CH, Sigma), hekzaklorofen (HC, Sigma), benzalkonyum klorür (BC, Sigma), sodyum hipoklorit (SC, Merck), povidon iyodin (PI, Sigma), triklosan (T, Sigma)dır.

Biyosit MİK değerlerinin belirlenmesinde mikrodilüsyon yönteminin kullanıldığı testte 100µl MHB (Merck, 110293) içeren 96-kuyulu mikroplakta (U taban) hazırlanmış başlangıç dilüsyon solüsyonları eklenerek çift katlı dilüsyonları yapılmıştır**.** Kuyulara 0,5 McFarland yoğunluğunda taze hazırlanmış kültür süspansiyonundan $2x10^5$ cfu/ml yoğunlukta tüm kuyulara 10 µl ilave edilerek 37ºC'de 16-18 saat inkübasyon sonrası makroskobik olarak üreme görülmeyen en düşük konsantrasyon Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları olarak (MİK) belirlenmiştir. Besiyeri, kültür ve çözücü kontrolleri testte 2 paralel olarak çalışılmıştır.



Resim 5. Biyosit MİK belirleme testi
(Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Meryem Burcu Külahcı tarafından çekilmiştir.)



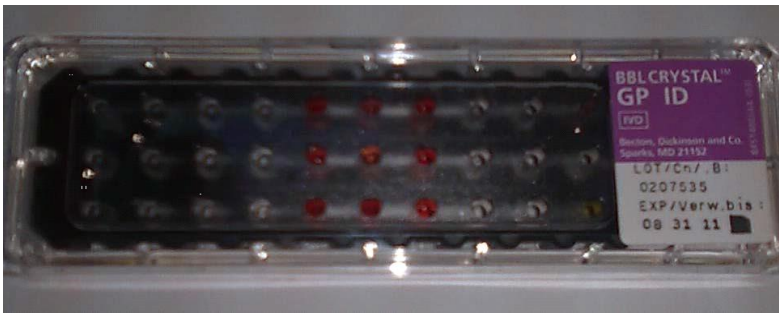
Resim 6.Biyosit MİK belirleme testi (Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Meryem Burcu Külahcı tarafından çekilmiştir.)

### 3.5. Antibiyotik Direnci Gösteren Bakterilerin BD BBL Crystal Tanımlama Kiti ile Tanımlanması

Disk difüzyon yöntemi ile antibiyotiklerin bir veya birden fazlasına direnç gösterdiği belirlenen Gram pozitif bakteri izolatları seçilerek, Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID tanımlama kitiyle tanımlamaları yapılmıştır.

Bu test için izolatların Triptic Soy Broth (CASO, TSB, Merck, 100800) içerisindeki 18-24 saatlik kültürleri kullanılmıştır. Bu kültürlerden alınan 100 µl, kit içinden çıkan sıvı çine inoküle edilerek 0,5 McFarland bulanıklık olacak şekilde ayarlanmıştır. Vortex ile iyice homojenize edilen bakteri süspansiyonları, BBL Crystal Base paneline boşaltılmış ve tüm kuyucukların süspansiyonla dolması sağlanmıştır. BBL Crystal GP ID Panel kapakları kapatılmıştır.

Paneller ters çevrilerek 35-37$^{o}$C'de, nemli ortamda 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda paneller BBL Crystal Panel Viewer cihazı kullanılarak ve BBL Crystal Gram-Positive Identification Color Chart tablosu yardımıyla okunmuş ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonuçları bilgisayar ortamında, BBL Crystal Identication System programına aktarılarak tür tanımlaması yapılmıştır.



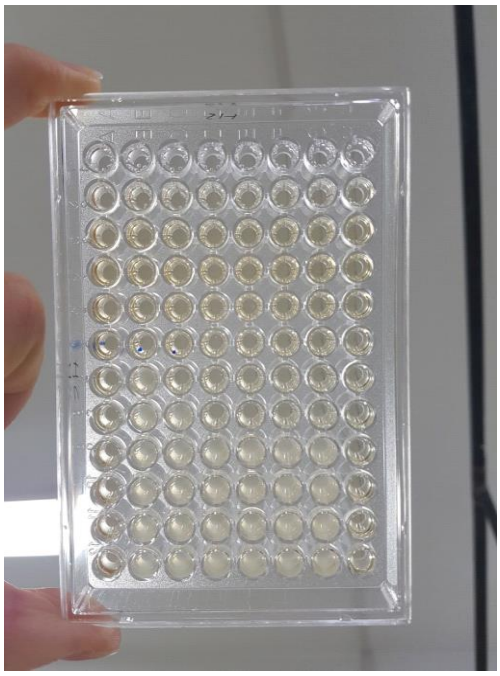

Resim 7. BBL Crystal GP ID Panel kapaklarının kapatılması (Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Meryem Burcu Külahcı tarafından çekilmiştir.)




Resim 8.BBL Crystal Panel Viewer Cihazı (Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Meryem Burcu Külahcı tarafından çekilmiştir.)

### 3.6. Rezerpinin Antibiyotik Direnci ve Biyosit MİK Değeri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Daha önce, antibiyotiklerden bir veya birden fazlasına direnç gösterdiği belirlenen Gram pozitif bakteri izolatları, antimikrobiyal dirençlerinin rezerpin duyarlı efluks pompa sistemiyle olup olmadığını belirlemek amacıyla, mikrodilusyon yöntemi ortama antibiyotik ve biyositlerle beraber 0,01 mg/ml oranında rezerpin eklenerek tekrar edilmiştir. Rezerpin eklendiğinde oluşan MİK değeri ile eklenmediğinde görülen değer oranlanmış ve oranın 4 katı ve üzeri görülmesi durumunda direncin rezerpin duyarlı efluks pompası ile olabileceği düşünülmüştür (Gibbons ve Udo, 2000).



Resim 9. MİK yöntemi ile antibiyotik dirençlilik testinin reserpin eklenerek tekrarlanması (Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Meryem Burcu Külahcı tarafından çekilmiştir.)



Resim 10.MİK yöntemi ile biyosit dirençlilik testinin reserpin eklenerek tekrarlanması (Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Zehra Şahin tarafından çekilmiştir.)

### 3.7. Antibiyotik Direnci Gösteren Bakterilerin Tanımlanması

Antibiyotiklerden bir veya birden fazlasına dirençli olduğu belirlenen 132 Gram pozitif bakteri izolatı (29 *Staphylococcus*, 52 *Bacillus*, 79 *Enterococcus*) seçilerek, önce laboratuvarımızda fenotipik (biyokimyasal) olarak tanımlanmıştır. Daha sonra da doğrulama amacıyla, izolatların genomik DNA izolasyonları yapılmış ve 16s rDNA bölgeleri PZR ile çoğaltılıp, agaroz jelde görüntülendikten sonra DNA dizi analizleri hizmet alımı yapılan firmalar tarafından yapılmıştır.

İzolatların genomik DNA izolasyonu:

Hizmet alımı ile 16S rDNA dizi analizi yapılacak olan izolatların genomik DNA izolasyonları laboratuvarımızda ticari (ROCHE High Pure PCR Template Preparation) kit ile yapılmış olup hemen kullanılmayacak olan DNA'lar çalışma yapılıncaya kadar -20$^0$C'de saklanmıştır. DNA izolasyonu için ticari kitin protokolü *Staphylococcus*, *Bacillus* ve *Enterococcus* izolatları için optimize edilmiştir.

DNA İzolasyonu:

1. Sıvı besiyerinde üremiş olan bakteri kültüründen 1500 µl alınıp eppendorf tüpe aktarılarak, 3000g de 5 dk santrifüjlenmiştir.
2. Süpernatant kısmı atılarak üzerine 300 µl fosfatlı tuz tamponu (PBS) eklenip vortekslenmiştir. Eppendorf tüp 95$^0$C'de 7 dakika inkübe edilmiştir.
3. İnkübasyon sonunda eppendorf tüpe *Staphylococcus* için 30 µl lizostafin (10 mg/ml, 50mM Tris buffer içerisinde), diğer bakteriler için 30 µl lizozim (10 mg/ml, 50mM Tris buffer içerisinde) eklenerek 37$^0$C'de 20 dakika inkübe edilmiştir.
4. İnkübasyondan sonra 300 µl Binding Buffer ve 75 µl Proteinaz K eklenip iyice vortekslenmiş (Max hızda) ve arkasından 70$^0$C de 10 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında tekrar iyice vortekseleme yapılmıştır.
5. Daha sonra 150 µl Isopropanol eklenip, pipetaj ile iyice karıştırılmıştır.
6. Total karışım toplama tüpü (Collection Tube) üzerine oturtulmuş filtre tüplerine yüklenmiştir.
7. 1 dk 8000g de santrifüj yapılmıştır.
8. Toplama tüpü atılmış ve filtre yeni bir tüpe yerleştirilmiştir.
9. 500 µl Inhibitor Removal Buffer eklenip, 1 dk 8000g de santrifüj yapılmıştır.
10. Toplama tüpü atılıp ve filtre yeni bir tüpe yerleştirilmiştir.
11. 500 µl Wash Buffer eklenip, 1 dk 8000g de santrifüj edilmiştir.
12. Toplama tüpündeki sıvı atılıp,500 µl Wash Buffer tekrar eklenerek 1 dk 8000g de santrifüj edilmiştir.
13. Altındaki süpernatant atılarak filtreye bir şey eklenmeden 8000g de 15 sn çevrilerek filtre tampondan uzaklaştırılmıştır.
14. Filtreler yeni 1.5 ml ependorf tüplerine yerleştirilmiştir.
15. 50 µl önceden +70$^0$C ye ısıtılmış Elution Buffer filtrelere eklenip 1 dk 8000g de santrifüj edilmiştir.
16. Toplanan DNA'nın miktarı ve kalitesi Biotek Epoch Take3 Plate cihazı ile ölçülmüştür.
17. PZR yapılmayacak ise DNA'lar -20$^0$C de saklanır. PZR başlanacak ise karışım hazırlanana kadar +4$^0$C de saklanabilir.

PZR Karışımı (Mix) Hazırlama:

1 örnek için:

**Forward Primer** (1:10 Sulandırılmış/10µM): 1 µl (Çizelge 3.2, 3.3)
**Reverse Primer**: (1:10 Sulandırılmış/10µM): 1 µl
**AptaTaq Fast PZR Master (5x)**: 4 µl
**DNA Örnekleri**: x µl (Toplam miktar 150-200 ng olacak şekilde denenebilir. Eğer 150 ng dan yüksek ise 150 ng olacak şekilde eşitleme yapılır.)
**Su**: 14-x µl
**Toplam: 20 µl**

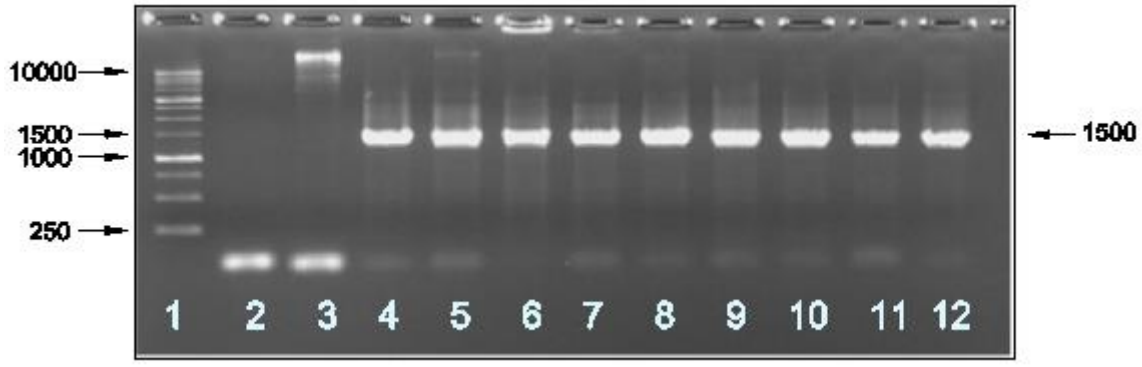
Reaksiyon:

Denatürasyon: 95$^0$C de 60 sn (1x)
PZR: Denatürasyon 95 $^0$C de 5 sn

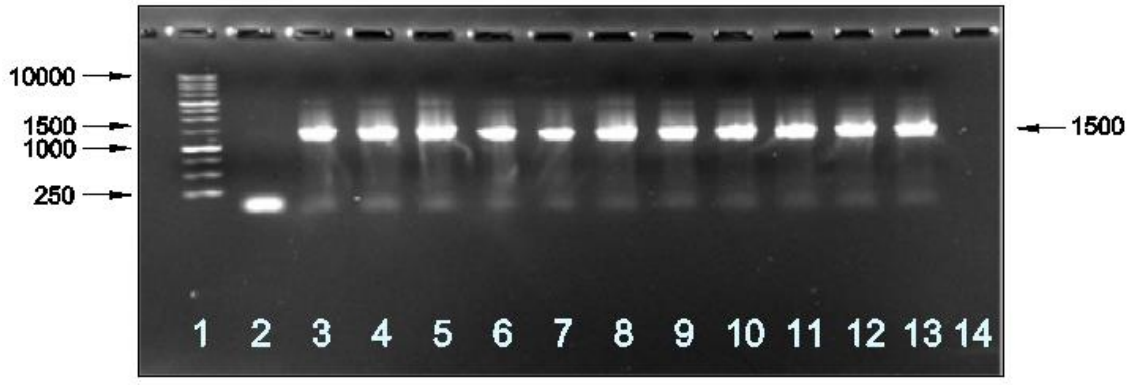
Annealing/Elongation: 56$^0$C de 30 sn } (35x)
Cooling: +4$^0$C de Sonsuz.

5 µl PZR örneği + 1 µl 6x DNA boyası (Runsafe DNA staining reagent)
Jele yüklenerek, 80V da markerların takibi ile yürütülmüştür.

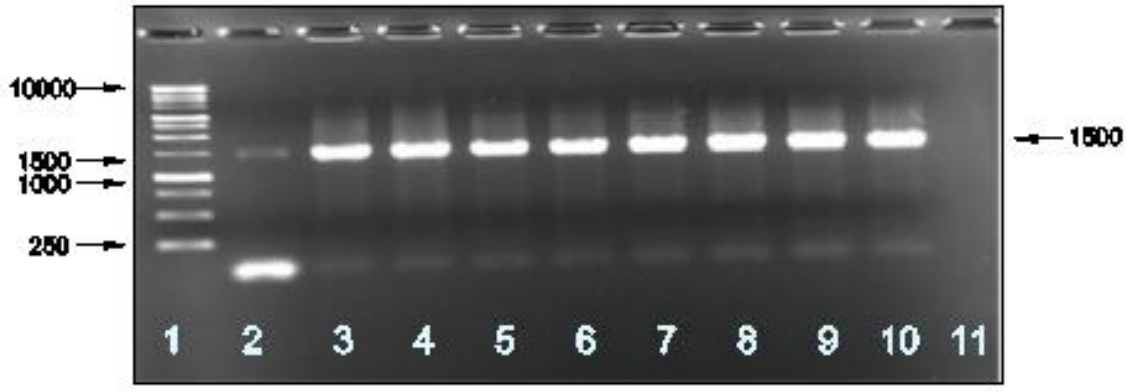
Uygun bölgede yeterli büyüklükte (1500 bp) bant elde edildiğinde PZR ürünleri hizmet alımı yapılan firmaya ulaştırılarak, dizi analizi ile tanımlama yaptırılmıştır.




Resim 11. *Staphylococcus* izolatlarının 16s rDNA bölgelerin PZR ile çoğaltıldıktan sonra jel görüntüsü (1:DNA ladder,marker,2: Negatif kontrol, 3: Çoğalma olmamış örnek, 4-12:Pozitif örnekler ) (Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Meryem Burcu Külahcı tarafından çekilmiştir.)




Resim 12. *Bacillus* izolatlarının 16s rDNA bölgelerin PZR ile çoğaltıldıktan sonra jel görüntüsü (1:DNA ladder,marker,2: Negatif kontrol, 4-13:Pozitif örnekler, 14: Boş kuyucuk ) (Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Meryem Burcu Külahcı tarafından çekilmiştir.)




Resim 13. *Enterococcus* izolatlarının 16s rDNA bölgelerin PZR ile çoğaltıldıktan sonra jel görüntüsü (1:DNA ladder,marker,2: Negatif kontrol (kontaminasyon var), 3-10:Pozitif örnekler, 11: Boş kuyucuk) (Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Zehra Şahin tarafından çekilmiştir.)

### 3.8. Real Time PZR ile Antibiyotik Direnç ve Efluks Pompa Genlerinin Belirlenmesi

Real time pzr (RT-PCR) ile antibiyotik direnç ve efluks pompa genlerinin tespit edilmesi için, öncelikle hedeflenen genlerin ileri ve geri (forward ve reverse) primerleri tasarlanmıştır. Uygulanan yöntemle tasarlanamayan genlerin primer dizileri uygun literatürden alınarak sentezletilmiştir. Çizelge 3.2 ve 3.3'de belirtilen primerler elde edilip uygun olarak sulandırıldırılıp kullanıma hazır hale getirilmiştir. Deneyde Roche marka FastStart Essential DNA Green Master kit kullanılmıştır. Hedeflenen gen bölgesine ait primer çiftleri ile SYBR Green boyası kullanılarak LightCycler 96 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) cihazında çalışma yapılmıştır. Sonuçlar Abs Quant analiz modülü kullanılarak çalışmaya dahil edilen pozitif ve negatif kontrollere göre değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olark 16S rDNA primeri ile kurulmuş karışım, negatif kontrol olarak ise DNA konulmadan hazırlanmış karışım kullanılmıştır.

#### 3.8.1. Hedeflenen Gen Bölgelerinin Primerlerinin Tasarlanması

Primer tasarımı, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/ sitesinde yapılmıştır. Çalışma yapılacak organizma ve gen araması yapıldıktan sonra gelen sonuçlar içerisinden 'complete cds' olan, olabildiğince tüm genom sekansını içeren bölge opsiyonel seçilerek, gene ait sekansın FASTA formatı açıldıktan sonra, yeni bir sekmede http://primer3.ut.ee/ 'e gidilmiştir. FASTA formatından çoğaltılacak bölge için ortalama 800 baza kadar seçilim yapılıp, Primer3 sitesine sekans yapıştırılmıştır. Aynı sayfa içerisinde aşağıdaki kısma hedeflenen ürün bp olarak yazıldıktan sonra Pick primers'e tıklanır, ilk gelen primer dizileri sistemin önerdiği olabilecek en iyi primerlerdir. Primer çiftinin hairpin, self-dimer & heterodimer oluşturma skorlamalarının kontrolü için https://eu.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer sitesine geçilmiştir. Ücretsiz üyelik açılır, ilk primer çifti denenir. Sırası ile hairpin, self dimer ve heterodimer denenir, burada istenen aralık deltaG'nin +2-9 arasında çıkmasıdır. Her iki primer de (F ve R) istenen aralıklarda ise, tasarım tamamlanmıştır. Bu şekilde tasarlanamayan birkaç primerin dizileri uygun makalelerden alınarak sentezlettirilmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3. 2. Çalışmamızda kullanılmak üzere tasarlanan primerler

| Primer adı | Baz Dizileri | |
|---|---|---|
| 16S (Ortak primer) | F | AGAGTTTGATCCTGGCTCAG |
| | R | ACGGCTACCTTGTTACGACTT |
| qacA/B (*Enterococcus*) | F | GCAATTTTCATGGCACTCGG |
| | R | CAGTCCAATCATGCCTGCAA |
| acrB (Ortak primer) | F | ACCAAGTTCATCCACGCCTA |
| | R | AAAGGCTGGGCAAATGACTG |
| sugE (Ortak primer) | F | ACACAGTGATTGGCATGATTG |
| | R | GCATCCCCACAAAGAACCAA |
| smr (*Enterococcus*) | F | CGCAAGTTGGTCAGGTTTAGG |
| | R | ATCTTTGGGGAGTGTGAGGG |
| efrA (Ortak primer) | F | GGAGCGGGACTGTTCAAATC |
| | R | GAATCCGTGAAGCCGAAACC |
| efrB (Ortak primer) | F | TCCTAGATGAGCCAGAAGAAGA |
| | R | GTCCCACAATCGCAACCATT |
| norA (*Enterococcus*) | F | CGATGAGCAGCAACTATCCG |
| | R | ATGGCAAACGGTGAGAGAAC |
| qacA/B (Ortak primer) | F | GCTGCTGTTGAAGAGTCTATGT |
| | R | TGCAAGCTGTTTTATCCCCG |
| smr (*Staphylococcus*) | F | AGATCAGGCACCTTCAACGA |
| | R | GCATGGCGAAAATCCGTAGA |
| mdeA (Ortak primer) | F | TCCATACAATAACCCGCCGA |
| | R | TCGCTTTTCCATGTTGTCGC |
| mepA (Ortak primer) | F | TTTAGGGGCGAGAGGTGAAA |
| | R | TGATTGCAGTACCCAAAGCTG |
| norA (*Staphylococcus*) | F | TGGGGCACTTTTCCAAATCT |
| | R | AGTTCAATCCGCCTGCAAAG |
| sepA (Ortak primer) | F | TCATGATACCTCTGACGGCA |
| | R | ATAAGTACGCCTGCACCCAT |
| ermA (*Enterococcus*) | F | CAAGTACGGCGTGCTAGAAC |
| | R | GCTCTTTGCGGTTGGGTTTA |
| ermB (*Enterococcus*) | F | CCGAACACTAGGGTTGCTCT |
| | R | TGGCGTGTTTCATTGCTTGA |
| msrA (*Enterococcus*) | F | TGTTTGGTTGCCTGTTACGG |
| | R | GCTGCTCCTGGATCAATGTG |
| mefA (*Enterococcus*) | F | TTGGTGTGCTAGTGGATCGT |
| | R | AGACTGACTATAGCCTGCGC |
| tetK (*Enterococcus*) | F | CATTCCGTTTATGCTTGGTTTGT |
| | R | ACACTCATGGTTCCAGGAAAA |
| tetL (*Enterococcus*) | F | CGATTGGTGGAATGATAGCCC |
| | R | TCAGGAATGACAGCACGCTA |
| cat (*Enterococcus*) | F | GCAACTGGAGGAGAGCAATG |
| | R | ATTCGGCGAAATCCTTGAGC |
| vanA (*Enterococcus*) | F | ACGAAGATAGTAGCCCACGG |
| | R | CACGCAGATAATGACCGCAA |

F: Forward, R: Reverse

Çizelge 3. 3. (Devamı) Çalışmamızda kullanılmak üzere tasarlanan primerler

| Primer adı | Baz Dizileri | |
|---|---|---|
| vanB (*Enterococcus*) | F | CGGATCATCACAAACGGCAT |
| | R | GCAAGAGCGTTTTCCTCCAA |
| vanC (*Enterococcus*) | F | CTCAGCAGCAAGTGTGATCC |
| | R | TCCTCGCCATACTTCCCATG |
| bla (*Staphylococcus*) | F | AGCAGATAAGAGTGGACAAGC |
| | R | GCTGTTTCGCTGACTACTTTG |
| mecA (*Staphylococcus*) | F | GGCAGACAAATTGGGTGGTT |
| | R | TGAAGCAACCATCGTTACGG |
| tetK (*Staphylococcus*) | F | TGTCTTGATTGCCCACGTTC |
| | R | TGCAACAGTTCACATGGACG |
| tetL (*Staphylococcus*) | F | AGGAAGCAGAGTTCAGCCAT |
| | R | TAAGGGCACAAATCGCATCG |
| cat (*Staphylococcus*) | F | TAACCTGCCCCGTTAGTTGA |
| | R | TTGTGCGTTGAGAAGAACCC |

F: Forward, R: Reverse

Çizelge 3. 4. Literatürden alınan primer dizileri

| Primer adı | | |
|---|---|---|
| norB (Patel, Kosmidis ve ark. 2010) (Ortak primer) | F | GTAATGGTACTAATTATGATTCGTGTTGG |
| | R | CTGGCAAGAAAGTTAATGAAATGAGAC |
| norE (Swick, Morgan-Linnell ve ark. 2011) (Ortak primer) | F | CTGGCGGCAGCGGTAA |
| | R | TGCCATACAGACACCCACCATA |
| ereA (Sutcliffe, Grebe ve ark. 1996) (Ortak primer) | F | AACACCCTGAACCCAAGGGACG |
| | R | CTTCACATCCGGATTCGCTCGA |
| ereB (Sutcliffe, Grebe ve ark. 1996) | F | AGAAATGGAGGTTCATACTTACCA |
| | R | CATATAATCATCACCAATGGCA |
| msrA/B (Sutcliffe, Grebe ve ark. 1996) (Ortak primer) | F | GCAAATGGTGTAGGTAAGACAACT |
| | R | ATCATGTGATGTAAACAAAAT |
| aac(6)-Ie-aph(2")-Ia (Vakulenko, Donabedian ve ark. 2003) (Ortak primer) | F | CAGGAATTTATCGAAAATGGTAGAAAAG |
| | R | CTAACCATGAGAAATCAGCTAACAC |
| aph(2")-Ib (Vakulenko, Donabedian ve ark. 2003) (Ortak primer) | F | CTTGGACGCTGAGATATATGAGCAC |
| | R | TTCCCACAAAGACTTAACGATGTTTG |
| aph(2")-Ic (Vakulenko, Donabedian ve ark. 2003) (Ortak primer) | F | CCACAATGATAATGACTCAGTTCCC |
| | R | GAGAACGATAGCCTTCGACACC |
| aph(2")-Id (Vakulenko, Donabedian ve ark. 2003) (Ortak primer) | F | GTGGTTTTTACAGGAATGCCATC |
| | R | CCAATATACCTAACCATACTTCTCCC |

F: Forward, R: Reverse

### 3.8.2. Real Time PZR Reaksiyonu ve Protokolü

Bakteri izolatlarının dna izolasyonları yapıldıktan sonra her reaksiyon kuyucuğuna eşit miktarda dna eklenebilmesi için gerekli sulandırmalar yapılmıştır. Reaksiyon için kullanılan Roche marka FastStart Essential DNA Green Master kitin kullanım kılavuzunda belirtilen protokole göre reaksiyon karışımı (mix) hazırlanmış ve cihaz (Roche, LightCycler 96, 05815916001) protokolüne uygun olarak reaksiyon cihazda yürütülmüştür. Çalışılan her gen

için pozitif kontrol olarak, 16s rDNA primerleri ile reaksiyon kurularak yürütülmüştür.

**PZR karışımı Hazırlama**

Primerler 10 mM olacak şekilde sulandırılarak hazırlanmıştır. Daha sonra, reaksiyon karışımı aşağıda yazıldığı gibi son hacim 20 µl olacak şekilde hazırlanmıştır.

| | |
|---|---|
| Master Mix (2x kons.) (hazır) | 10 µl |
| Primerler (F,R) | 0,5-0,5 µl |
| Su | 4 µl |
| DNA | 5 µl |
| Toplam Hacim | 20 µl |

Reaksiyon karışımı hazırlanıp kuyucuklara aktarıldıktan sonra 96 kuyucuklu plakanın üzeri özel jelatin ile kapatılarak cihaza yerleştirilmiştir. Cihazın çalışma protokolü kullanılan primer çiftinin erime sıcaklığı dikkate alınarak, kullanım kılavuzunda tavsiye edildiği üzere aşağıdaki gibi düzenlenerek çalışılmıştır (Çizelge 3.4.).

Çizelge 3. 5. Real Time PZR cihazının çalışma protokolü

| Run Editor | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Detection Format | | Reaction volume (µl) | | |
| Dyes 1: SYBR Green I | | 20 | | |
| Programs | | | | |
| | Temp. ($^0$C) | Ramp ($^0$C/s) | Duration (s) | Acquisition Mode |
| Pre-Incubation | 95 | 4.4 | 600 | None |
| 3-step Amplification | No of cycles:45 | | | |
| | 95 | 4.4 | | None |
| | 58 | 2.2 | 10 | None |
| | 72 | 4.4 | 10 | Single |
| Melting | 95 | 4.4 | 10 | None |
| | 65 | 2.2 | 60 | None |
| | 97 | 0.1 | 1 | 5 Readings/ $^0$C |



Resim 14.Real Time PZR çalışma plağı (Fotoğraf, G.Ü.Fen Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Meryem Burcu Külahcı tarafından çekilmiştir.)

# 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

## 4.1. Bulgular

Kasım 2016 – Mayıs 2017 tarihleri arasında, Ankara'nın çeşitli market, mandıra ve pazarlarında satışa sunulan 13 çiğ süt, 60 peynir, 18 çiğ tavuk ve 41 et (kıyma, kuşbaşı, fermente et (sucuk, sosis, salam) olmak üzere toplam 132 gıda örneği materyal olarak kullanılmıştır (Çizelge 4.1). 77 *Staphylococcus*, 83 *Bacillus* ve 79 *Enterococcus* olmak üzere toplam 239 Gram pozitif bakteri izolatı (Çizelge 4.2) elde edilmiştir.

Çizelge 4. 1. Araştırmada materyal olarak kullanılan gıda örneklerinin dağılımı

| Materyal | Çalışılan örnek sayısı |
|---|---|
| Peynir | 60 |
| Çiğ Süt | 13 |
| Çiğ Tavuk | 18 |
| Et | 41 |
| TOPLAM | 132 |

Çizelge 4. 2. Gıda örneklerinden izole edilen Gram pozitif bakterilerin, izole edildikleri materyallere göre dağılımları

| Gıda örnek adı | Çalışılan örnek sayısı | *Staphylococcus* | | *Bacillus* | | *Enterococcus* | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | İzolat sayısı | % | İzolat sayısı | % | İzolat sayısı | % |
| Peynir | 60 | 51 | 66.2 | 61 | 73.5 | 17 | 21.5 |
| Çiğ Süt | 13 | 16 | 20.8 | 12 | 14.5 | 23 | 29.1 |
| Tavuk | 18 | 5 | 6.5 | 4 | 4.8 | 10 | 12.6 |
| Et | 41 | 5 | 6.5 | 6 | 7.2 | 29 | 36.7 |
| TOPLAM | 132 | 77 | 100 | 83 | 100 | 79 | 100 |

İzole edilen Gram pozitif bakterilerin antibiyotik dirençleri Kirby-Bauer disk difüzyon ve MİK yöntemleri ile (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4), biyosidal maddelere olan duyarlılıkları ise MİK yöntemi ile tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4. 3. Disk difüzyon testine göre *Staphylococcus*, *Bacillus* ve *Enterococcus* izolatlarının antibiyotik direnç dağılımları

| | AM | CFQ | TE | CN | ENO | E | VA |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Staphylococcus* (n=77) | 13 (%16.9) | 3 (%3.9) | 19 (%24.7) | - | - | 2 (%2.6) | - |
| *Bacillus* (n=83) | 32 (%38.5) | 43 (%51.8) | 3 (%3.6) | 9 (%10.8) | 1 (%1.2) | 12 (%14.5) | - |
| *Enterococcus* (n=79) | 13 (%16.4) | 71 (%89.8) | 17 (%21.5) | 2 (%2.5) | 35 (%44.3) | 64 (%81) | 8 (%10.1) |
| TOPLAM (n=239) | 58 (%24.2) | 117 (%48.9) | 39 (%16.3) | 11 (%4,6) | 36 (%15.06) | 78 (%32.6) | 8 |

AM:Ampisilin, E:Eritromisin, TE:Tetrasiklin, CN:Gentamisin, CFQ:Sefkuinom, ENO:Enrofloksasin, VA:Vankomisin, n:İzolat sayısı)

Disk difüzyon yöntemi ile en yüksek antibiyotik direnci *Staphylococcus*'larda tetrasikline, Bacillus'larda ve *Enterococcus*'larda sefkuinoma karşı tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 4. MİK testine göre antibiyotik dirençli bakteri izolat sayısı ve yüzdeleri

| | AM | CFQ | TE | CN | ENO | E | VA |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Staphylococcus* (n=77) | 4 (%5.2) | 0 | 18 (%23.4) | - | - | - | - |
| *Bacillus* (n=83) | 32 (%38.6) | 21 (%25,3) | 1 (%1,2) | 8 (%9,6) | - | 7 (%8,4) | - |
| *Enterococcus (n=79)* | 1 (%1.3) | 43 (%54.4) | 17 (%21.5) | - | 10 (%12.6) | 47 (%59.5) | 2 (%2.5) |
| TOPLAM (n=239) | 37 (%15.5) | 64 (%26,8) | 36 (%15.06) | 8 (%3.3) | 10 (%4.2) | 54 (%22.6) | 2 (%0.8) |

AM:Ampisilin, E:Eritromisin, TE:Tetrasiklin, CN:Gentamisin, CFQ:Sefkuinom, ENO:Enrofloksasin, VA:Vankomisin, n:izolat sayısı)

Çizelge 4. 5. Çalışılan biyositlerin Gram pozitif bakteri izolatlarındaki en yüksek ve en düşük MİK değerleri

| Biyosit (çalışılan konsantrasyon aralıkları) | MİK Değer Aralığı | | |
|---|---|---|---|
| | *Staphylococcus* | *Bacillus* | *Enterococcus* |
| Sodyum Hipoklorit (50mg/ml-24 µg/ml) | 391µg/ml- 25 mg/ml | 391µg/ml-50 mg/ml | 781µg/ml-50 mg/ml |
| Povidon İyodin (50g/l-24 mg/l) | 6250 mg/l-50g/l | 6250 mg/l-50g/l | 6250 mg/l-50g/l |
| Benzalkonyum Klorit (512-0,25 µg/ml) | 0.5-128 µg/ml | 2-64 µg/ml | 4-512 µg/ml |
| Hekzaklorofen (512-0,25 µg/ml) | 512 µg/ml | 32-512 µg/ml | 0.5-512 µg/ml |
| Klorhekzidin (512-0,25 µg/ml) | 0.5-32 µg/ml | 2-32 µg/ml | 0.5-512 µg/ml |
| Triklosan (512-0,25 µg/ml) | 1-512 µg/ml | 2-512 µg/ml | 1-256 µg/ml |

Bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli Gram pozitif bakteri izolatlarının, BD BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID tanımlama kitiyle tanımlamaları yapılmıştır (Çizelge 4.6, 4.7, 4.8).

Çizelge 4. 6. BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Staphylococcus* izolatlarının tür dağılımı

| **Sıra No** | **İzolat No** | ***Staphylococcus*** |
|---|---|---|
| 1 | P49-2 | *S.saprophyticus* |
| 2 | P24-1 | *S.saprophyticus* |
| 3 | P2-2 | *S.saprophyticus* |
| 4 | S12-1 | - |
| 5 | P23-1 | *S.saprophyticus* |
| 6 | P20-1 | *S.haemolyticus* |
| 7 | S11-1 | *E. faecalis* |
| 8 | P36-3 | *M.luteus* |
| 9 | S3-1 | *S.aureus* |
| 10 | ES-14 | *S. vitulinus* |
| 11 | K11-1 | *S.saprophyticus* |
| 12 | ES-18 | - |
| 13 | ES-20 | *E. faecium* |
| 14 | P49-3 | *S.saprophyticus* |
| 15 | ES-15 | - |
| 16 | T1-1 | *S.warneri* |
| 17 | S4-2 | *S.aureus* |
| 18 | K6-1 | *S.saprophyticus* |
| 19 | ES-11 | - |

-:Adlandırılamayan izolatlar

Çizelge 4. 7. (Devamı) BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Staphylococcus* izolatlarının tür dağılımı

| **Sıra No** | **İzolat No** | ***Staphylococcus*** |
|---|---|---|
| 20 | ES-8 | - |
| 21 | K5-1 | *S.saprophyticus* |
| 22 | ES-9 | - |
| 23 | T18-1 | - |
| 24 | S6-1 | *S.aureus* |
| 25 | S6-1 | *S.aureus* |
| 26 | P2-1 | *S.saprophyticus* |
| 27 | P44-1 | *S.saprophyticus* |
| 28 | S8-1 | *S.saprophyticus* |
| 29 | P46-1 | *S.saprophyticus* |

-:Adlandırılamayan izolatlar

Çalışılan *Staphylococcus* izolatlarının 6 tanesi, *Bacillus* izolatlarının 17 tanesi kit ile adlandırılamamış olup, *Enterococcus* izolatlarının 5 tanesi ise *E*.spp olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.6, 4.7, 4.8) Öntanımlamada *Staphylococcus* olduğu belirlenen 1 izolat *E. faecalis*, 1 izolat *E. faecium,*1'i de *Micrococcus luteus* olarak adlandırılmıştır. Yine öntanımlamada *Bacillus* olarak belirlenen 2 izolat *Corynebacterium* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4. 8. BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Bacillus* izolatlarının tür dağılımı

| **Sıra No** | **İzolat No** | ***Bacillus*** |
|---|---|---|
| 1 | P3 | - |
| 2 | P40 | *B.megaterium* |
| 3 | P46-P | *B. brevis* |
| 4 | P5-P | *B.subtilis* |
| 5 | S8 | *B.circulanse* |
| 6 | S3-P | *B.licheniformis* |
| 7 | P26 | *B.licheniformis* |
| 8 | P3-P1 | - |
| 9 | 1 | *B.subtilis* |
| 10 | 2 | *B.subtilis* |
| 11 | 4 | *B.licheniformis* |
| 12 | 8 | *B.licheniformis* |
| 13 | 9 | *B.licheniformis* |
| 14 | 14 | *B.subtilis* |
| 15 | 16 | *B.subtilis* |
| 16 | 17 | *B.subtilis* |
| 17 | 18 | *B.subtilis* |
| 18 | 19 | *B.licheniformis* |
| 19 | 20 | - |
| 20 | 22 | - |
| 21 | 23 | - |
| 22 | 24 | - |
| 23 | 25 | *B.subtilis* |
| 24 | 27 | *B.licheniformis* |
| 25 | 28 | *B.subtilis* |
| 26 | 29 | *B.licheniformis* |
| 27 | P45 | - |
| 28 | P20-P1 | *B.subtilis* |
| 29 | S6-P3 | - |
| 30 | P20-P | *C.pseudotuberculosis* |
| 31 | P14-P2 | *B.licheniformis* |
| 32 | P29 | *B.pumilus* |
| 33 | P11 | *B.subtilis* |
| 34 | P2-P1 | *B.licheniformis* |

-:Adlandırılamayan izolatlar

Çizelge 4. 9. (Devamı) BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Bacillus* izolatlarının tür dağılımı

| **Sıra No** | **İzolat No** | ***Bacillus*** |
|---|---|---|
| 35 | K3-1 | - |
| 36 | P27 | *B.licheniformis* |
| 37 | P4-P2 | *B.licheniformis* |
| 38 | S3-P1 | *B.licheniformis* |
| 39 | P16 | *B.pumilus* |
| 40 | S7-P | *B.licheniformis* |
| 41 | P23 | *Brevi.brevis* |
| 42 | P49 | *B.licheniformis* |
| 43 | S4-P2 | *B.subtilis* |
| 44 | P8-P | *B.licheniformis* |
| 45 | S7-P2 | *B.licheniformis* |
| 46 | S6-P2 | *B.subtilis* |
| 47 | P30 | *B.circulanse* |
| 48 | S9 | - |
| 49 | P31 | *B.licheniformis* |
| 50 | P14-P1 | *B.subtilis* |
| 51 | S4-P | *B.licheniformis* |
| 52 | P4-P | *B.subtilis* |
| 53 | K1-P | *Corynebacterium sp.* |
| 54 | T2-P | - |
| 55 | P10 | - |
| 56 | P32 | *B.sphaericus* |
| 57 | K5 | *B.sphaericus* |
| 58 | P19 | *B.sphaericus* |
| 59 | K6 | - |
| 60 | T13 | - |
| 61 | T15-P1 | *B.sphaericus* |
| 62 | P20-P2 | *B.licheniformis* |
| 63 | K4-1 | - |
| 64 | T18 | - |
| 65 | P3-P2 | *B.licheniformis* |
| 66 | K10 | - |

-:Adlandırılamayan izolatlar

Çizelge 4. 10. BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Enterococcus* izolatlarının tür dağılımı

| **Sıra No** | **İzolat No** | ***Enterococcus (BBL Crystal)*** |
|---|---|---|
| 1 | 1-E | *E.gallinarum* |
| 2 | 2-E | *E.faecium* |
| 3 | 3-E | *E.hirae* |
| 4 | 4-E | *E.faecium* |
| 5 | 5-E | *E.gallinarum* |
| 6 | 6-E | *E.faecium* |
| 7 | 7-E | *E.faecium* |
| 8 | 8-E | *E.faecium* |
| 9 | 9-E | *E.faecium* |
| 10 | 11-E | *E.faecium* |
| 11 | 12-E | *E.faecium* |
| 12 | 13-E | *E.spp* |
| 13 | 14-E | *E.durans* |
| 14 | 15-E | *E.hirae* |
| 15 | 16-E | *E.gallinarum* |
| 16 | 17-E | *E.hirae* |
| 17 | 18-E | *E.faecium* |
| 18 | 19-E | *E.faecium* |
| 19 | 20-E | *E.faecium* |
| 20 | 21-E | *E.spp* |
| 21 | 22-E | *E.faecium* |
| 22 | 24-E | *E.faecium* |
| 23 | 25-E | *E.hirae* |
| 24 | 26-E | *E.faecium* |
| 25 | 27-E | *E.hirae* |
| 26 | 28-E | *E.faecium* |
| 27 | 29-E | *E.hirae* |
| 28 | 30-E | *E.faecium* |
| 29 | 31-E | *E.faecalis* |
| 30 | 32-E | *E.faecium* |
| 31 | 33-E | *E.faecium* |
| 32 | 34-E | *E.faecium* |
| 33 | 35-E | *E.faecium* |
| 34 | 36-E | *E.faecium* |
| 35 | 37-E | *E.faecalis* |
| 36 | 38-E | *E.faecium* |
| 37 | 39-E | *E.faecium* |
| 38 | 40-E | *E.faecalis* |
| 39 | 41-E | *E.faecium* |
| 40 | 42-E | *E.faecium* |
| 41 | 44-E | *E.faecium* |
| 42 | 45-E | *E.faecium* |
| 43 | 46-E | *E.faecalis* |
| 44 | 47-E | *E.faecalis* |
| 45 | 48-E | *E.faecium* |
| 46 | 49-E | *E.faecium* |
| 47 | 50-E | *E.faecium* |
| 48 | 51-E | *E.durans* |
| 49 | 52-E | *E.faecium* |
| 50 | 53-E | *E.spp* |
| 51 | 55-E | *E.spp* |
| 52 | 56-E | *E.faecium* |

-:Adlandırılamayan izolatlar

Çizelge 4. 11.(Devamı) BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit ile adlandırılan bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli *Enterococcus* izolatlarının tür dağılımı

| **Sıra No** | **İzolat No** | ***Enterococcus (BBL Crystal)*** |
|---|---|---|
| 53 | 57-E | *E.faecium* |
| 54 | 58-E | *E.faecium* |
| 55 | 59-E | *E.faecium* |
| 56 | 60-E | *E.faecium* |
| 57 | 61-E | *E.faecium* |
| 58 | 62-E | *E.faecium* |
| 59 | 63-E | *E.faecium* |
| 60 | 64-E | *E.faecium* |
| 61 | 65-E | *E.faecium* |
| 62 | 66-E | *E.faecium* |
| 63 | 67-E | *E.faecium* |
| 64 | 68-E | *E.faecium* |
| 65 | 69-E | *E.faecium* |
| 66 | 70-E | *E.faecium* |
| 67 | 71-E | *E.faecium* |
| 68 | 72-E | *E.gallinarum* |
| 69 | 73-E | *E.faecalis* |
| 70 | 74-E | *E.avium* |
| 71 | 75-E | *E.avium* |
| 72 | 76-E | *E.avium* |
| 73 | 77-E | *E. faecalis* |
| 74 | 78-E | *E. faecalis* |
| 75 | 79-E | *E.hirae* |
| 76 | 80-E | *E.hirae* |
| 77 | 81-E | *E.faecium* |
| 78 | 82-E | *E.spp* |
| 79 | 83-E | *E.faecalis* |

-:Adlandırılamayan izolatlar

Bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli bulunan Gram pozitif bakteri izolatlarına, efluks pompa inhibitörü rezerpinin antibiyotik direncine etkisini belirlemek amacıyla, mikrodilusyon yöntemi ortama antibiyotiklerle beraber 0,01 mg/ml oranında rezerpin eklenerek tekrar edilmiştir. Deneyi tekrar edilen izolatların rezerpin eklenmeden önce ve sonraki MİK değerleri Çizelge 4.9, 4.10, 4.11'de belirtilmiştir.

Çizelge 4. 12. Antibiyotik dirençli *Staphylococcus* izolatlarının rezerpin ilavesi ile bulunan MİK değerleri

| Sıra No | İzolat Kodu | Bakteri Adı (*Staphylococcus*) | AM (µg/ml) | rAM (µg/ml) | TE (µg/ml) | rTE (µg/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | P49-2 | *S.saprophyticus* | | | | |
| 2 | P24-1 | *S.saprophyticus* | | | 64 | 64 |
| 3 | P2-2 | *S.saprophyticus* | | | | |
| 4 | S12-1 | | 2 | 1 | | |
| 5 | P23-1 | *S.saprophyticus* | | | **256** | **64** |
| 6 | P20-1 | *S.haemolyticus* | | | | |
| 7 | S11-1 | *E. faecalis* | 2 | 2 | | |
| 8 | P36-3 | *M.luteus* | **4** | **1** | | |
| 9 | S3-1 | *S.aureus* | 512 | 512 | | |
| 10 | ES-14 | *S. vitulinus* | | | | |
| 11 | K11-1 | *S.saprophyticus* | | | **512** | **128** |
| 12 | ES-18 | | | | **512** | **128** |
| 13 | ES-20 | *E. faecium* | | | 128 | 128 |
| 14 | P49-3 | *S.saprophyticus* | | | 512 | 256 |
| 15 | ES-15 | | | | 128 | 512 |
| 16 | T1-1 | *S.warneri* | | | 128 | 64 |
| 17 | S4-2 | *S.aureus* | | | 512 | 256 |
| 18 | K6-1 | *S.saprophyticus* | | | **512** | **64** |
| 19 | ES-11 | | | | 128 | 512 |
| 20 | ES-8 | | | | 64 | 64 |
| 21 | K5-1 | *S.saprophyticus* | | | **512** | **128** |
| 22 | ES-9 | | | | 64 | 16 |
| 23 | T18-1 | | | | 32 | 64 |
| 24 | S6-1 | *S.aureus* | | | | |
| 25 | S6-1 | *S.aureus* | | | 64 | 64 |
| 26 | P2-1 | *S.saprophyticus* | | | 128 | 128 |
| 27 | P44-1 | *S.saprophyticus* | | | | |
| 28 | S8-1 | *S.saprophyticus* | | | | |
| 29 | P46-1 | *S.saprophyticus* | | | | |

AM:Ampisilin, TE: Tetrasiklin, r: rezerpin eklenerek tekrarlanan deney sonuçları

Çizelge 4. 13. Antibiyotik dirençli *Bacillus* izolatlarının rezerpin ilavesi ile bulunan MİK değerleri

| Sıra No | İzolat Kodu | Bakteri Adı (*Bacillus*) | AM | rAM | E | rE | TE | rTE | CN | rCN | CFQ | rCFQ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | P39 | | **64** | **1** | **32** | **H** | | | | | **512** | **64** |
| 2 | P40 | *B.megaterium* | 128 | 512 | | | | | | | 32 | 16 |
| 3 | P46-P | *B. brevis* | 16 | 256 | | | | | | | **16** | **4** |
| 4 | P5-P | *B.subtilis* | 512 | 512 | | | | | | | | |
| 5 | S8 | *B.circulanse* | 4 | 16 | **64** | **16** | 512 | 512 | | | 4 | 2 |
| 6 | S3-P | *B.licheniformis* | 512 | 256 | **128** | **4** | | | | | 4 | 2 |
| 7 | P26 | *B.licheniformis* | 128 | 256 | **64** | **4** | | | | | | |
| 8 | P3-P1 | | **64** | **8** | | | | | | | | |
| 9 | 2 | *B.subtilis* | 2 | 8 | | | | | | | | |
| 10 | 4 | *B.licheniformis* | 512 | 512 | | | | | | | **8** | **2** |

AM:Ampisilin, E:Eritromisin,, CN:Gentamisin, TE:Tetrasiklin, CFQ:Sefkuinom H:Hassas, r: rezerpin eklenerek tekrarlanan deney sonuçları

Çizelge 4. 14.(Devamı) Antibiyotik dirençli *Bacillus* izolatlarının rezerpin ilavesi ile bulunan MİK değerleri

| Sıra No | İzolat Kodu | Bakteri Adı (*Bacillus*) | AM | rAM | E | rE | TE | rTE | CN | rCN | CFQ | rCFQ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11 | 8 | *B.licheniformis* | **8** | **2** | | | | | | | 4 | 4 |
| 12 | 9 | *B.licheniformis* | **16** | **2** | | | | | | | | |
| 13 | 14 | *B.subtilis* | 256 | 512 | | | | | | | 128 | 64 |
| 14 | 19 | *B.licheniformis* | 32 | 16 | | | | | | | **4** | **1** |
| 15 | 20 | | **8** | **2** | | | | | | | | |
| 16 | 22 | | 512 | 256 | | | | | | | | |
| 17 | 25 | *B.subtilis* | 32 | 512 | | | | | | | | |
| 18 | 27 | *B.licheniformis* | **16** | **2** | | | | | | | | |
| 19 | 29 | *B.licheniformis* | 32 | 16 | | | | | | | | |
| 20 | P45 | | | | **64** | **2** | | | | | 4 | 4 |
| 21 | P20-P1 | *B.subtilis* | | | **64** | **4** | | | | | | |
| 22 | S6-P3 | | | | **16** | **2** | | | | | | |
| 23 | P14-P2 | *B.licheniformis* | | | | | | | | | | |
| 24 | P29 | *B.pumilus* | | | | | | | | | | |
| 25 | P11 | *B.subtilis* | | | | | | | | | | |
| 26 | P2-P1 | *B.licheniformis* | | | | | | | | | **8** | **2** |
| 27 | K3-1 | | | | | | | | | | | |
| 28 | P27 | *B.licheniformis* | | | | | | | | | | |
| 29 | P4-P2 | *B.licheniformis* | | | | | | | | | | |
| 30 | S3-P1 | *B.licheniformis* | | | | | | | | | | |
| 31 | P16 | *B.pumilus* | | | | | | | | | 32 | 32 |
| 32 | S7-P | *B.licheniformis* | | | | | | | | | 4 | 4 |
| 33 | P23 | *Brevi.brevis* | | | | | | | | | **32** | **8** |
| 34 | P49 | *B.licheniformis* | | | | | | | | | | |
| 35 | S4-P2 | *B.subtilis* | | | | | | | | | 16 | 8 |
| 36 | P8-P | *B.licheniformis* | | | | | | | | | | |
| 37 | S7-P2 | *B.licheniformis* | | | | | | | | | 4 | 2 |
| 38 | S6-P2 | *B.subtilis* | | | | | | | | | 64 | 64 |
| 39 | P30 | *B.circulanse* | | | | | | | | | **512** | **128** |
| 40 | S9 | | | | | | | | | | 32 | 32 |
| 41 | P31 | *B.licheniformis* | | | | | | | | | | |
| 42 | P14-P1 | *B.subtilis* | | | | | | | | | | |
| 43 | S4-P | *B.licheniformis* | | | | | | | | | | |
| 44 | P4-P | *B.subtilis* | | | | | | | | | | |
| 45 | K1-P | *Corynebacterium sp.* | | | | | | | 64 | 32 | | |
| 46 | T2-P | | | | | | | | 32 | 32 | **16** | **4** |
| 47 | P32 | *B.sphaericus* | | | | | | | **512** | **2** | 8 | 8 |
| 48 | K5 | *B.sphaericus* | | | | | | | **512** | **64** | | |
| 49 | P19 | *B.sphaericus* | | | | | | | 512 | 512 | | |
| 50 | K6 | | | | | | | | 32 | 32 | | |
| 51 | T13 | | | | | | | | 32 | 32 | | |
| 52 | T15-P1 | *B.sphaericus* | | | | | | | 512 | 512 | | |

AM:Ampisilin, E:Eritromisin,, CN:Gentamisin, TE:Tetrasiklin, CFQ:Sefkuinom H:Hassas, r: rezerpin eklenerek tekrarlanan deney sonuçları

Çizelge 4. 15. Antibiyotik dirençli *Enterococcus* izolatlarının rezerpin ilavesi ile bulunan MİK değerleri

| Sıra no | İzolat Kodu | İzolat Adı (*Enterococcus*) | AM (µg/ml) | rAM (µg/ml) | E (µg/ml) | rE (µg/ml) | TE (µg/ml) | rTE (µg/ml) | CFQ | rCFQ | ENO | rENO | VA (µg/ml) | rVA (µg/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1-E | *E.gallinarum* | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 2-E | *E.faecium* | | | **>512** | **8** | | | **256** | **8** | | | | |
| 3 | 3-E | *E.hirae* | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 4-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 5-E | *E.gallianarum* | | | **16** | **4** | **>512** | **32** | | | | | | |
| 6 | 6-E | *E.faecium* | | | **>512** | **32** | | | | | | | | |
| 7 | 7-E | *E.faecium* | | | **>512** | **16** | **>512** | **64** | | | | | | |
| 8 | 8-E | *E.faecium* | | | **>512** | **32** | | | | | | | | |
| 9 | 9-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 11-E | *E.faecium* | | | **>512** | **4** | | | **256** | **16** | | | | |
| 11 | 12-E | *E.faecium* | | | **>512** | **16** | | | | | | | | |
| 12 | 13-E | *E.spp* | | | **>512** | **64** | | | | | | | | |
| 13 | 14-E | *E.durans* | | | | | | | | | | | | |
| 14 | 15-E | *E.hirae* | | | | | | | | | | | | |
| 15 | 16-E | *E.gallinarum* | | | | | | | | | | | | |
| 16 | 17-E | *E.hirae* | | | | | | | | | | | | |
| 17 | 18-E | *E.faecium* | | | **>512** | **64** | | | **256** | **4** | | | | |
| 18 | 19-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 19 | 20-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 20 | 21-E | *E.spp* | | | **>512** | **32** | | | | | | | | |
| 21 | 22-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 22 | 24-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 23 | 25-E | *E.hire* | | | | | | | | | | | | |
| 24 | 26-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 25 | 27-E | *E.hirae* | | | | | | | | | | | | |
| 26 | 28-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 27 | 29-E | *E.hirae* | | | | | | | | | | | | |
| 28 | 30-E | *E.faecium* | | | **>512** | **64** | | | | | | | **64** | **1** |
| 29 | 31-E | *Efaecalis* | | | | | | | | | | | | |
| 30 | 32-E | *E.faecium* | | | **32** | **H** | | | | | | | | |
| 31 | 33-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 32 | 34-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 33 | 35-E | *E.faecium* | | | **>512** | **32** | | | | | | | | |
| 34 | 36-E | *E.faecium* | | | **>512** | **64** | | | | | | | | |
| 35 | 37-E | *E.faecalis* | | | | | | | **256** | **4** | | | | |
| 36 | 38-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 37 | 39-E | *E.faecium* | | | **128** | **8** | | | | | | | | |
| 38 | 40-E | *E.faecalis* | | | **64** | **16** | | | | | | | | |
| 39 | 41-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |

(AM:Ampisilin, E:Eritromisin, TE:Tetrasiklin, CFQ: Sefkuinom, ENO: Enrofloksasin, VA:Vankomisin, r: r: rezerpin eklenerek tekrarlanan deney sonuçları, H:Hassas

Çizelge 4. 16. (Devamı) Antibiyotik dirençli *Enterococcus* izolatlarının rezerpin ilavesi ile bulunan MİK değerleri

| Sıra no | İzolat Kodu | İzolat Adı (*Enterococcus*) | AM (µg/ml) | rAM (µg/ml) | E (µg/ml) | rE (µg/ml) | TE (µg/ml) | rTE (µg/ml) | CFQ | rCFQ | ENO | rENO | VA (µg/ml) | rVA (µg/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 40 | 42-E | *E.faecium* | | | **>512** | **0.5** | | | | | | | | |
| 41 | 44-E | *E.faecium* | | | **128** | **32** | | | | | | | | |
| 42 | 45-E | *E.faecium* | | | **>512** | **64** | | | | | | | | |
| 43 | 46-E | *Efaecalis* | | | | | | | | | | | | |
| 44 | 47-E | *E.faecalis* | | | | | | | | | | | | |
| 45 | 48-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 46 | 49-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 47 | 50-E | *E.faecium* | | | **>512** | **8** | | | | | | | | |
| 48 | 51-E | *E.durans* | | | | | | | | | | | | |
| 49 | 52-E | *E.faecium* | | | **256** | **32** | | | | | | | | |
| 50 | 53-E | *E.spp* | | | **>512** | **32** | | | | | | | | |
| 51 | 55-E | *E.spp* | | | | | | | | | | | | |
| 52 | 56-E | *E.faecium* | | | | | | | **128** | **8** | | | | |
| 53 | 57-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 54 | 58-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 55 | 59-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 56 | 60-E | *E.faecium* | **>512** | **32** | | | **>512** | **32** | | | | | | |
| 57 | 61-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 58 | 62-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 59 | 63-E | *E.faecalis* | | | | | | | | | | | | |
| 60 | 64-E | *E.avium* | | | | | | | | | | | | |
| 61 | 65-E | *E.faecium* | | | **128** | **32** | | | | | | | | |
| 62 | 66-E | *E.faecalis* | | | | | | | | | | | | |
| 63 | 67-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | **4** | **0.5** |
| 64 | 68-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 65 | 69-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 66 | 70-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 67 | 71-E | *E.faecium* | | | **64** | **H** | | | | | | | | |
| 68 | 72-E | *E.gallinarum* | | | **32** | **H** | | | | | | | | |
| 69 | 73-E | *E.faecalis* | | | | | **16** | **4** | | | | | | |
| 70 | 74-E | *E.avium* | | | **64** | **16** | | | | | | | | |
| 71 | 75-E | *E.avium* | | | | | | | | | | | | |
| 72 | 76-E | *Eavium* | | | | | | | | | | | | |
| 73 | 77-E | *E. faecalis* | | | | | | | | | | | | |
| 74 | 78-E | *E. faecalis* | | | | | | | | | | | | |
| 75 | 79-E | *E.hirae* | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 80-E | *E.hirae* | | | | | | | | | | | | |
| 77 | 81-E | *E.faecium* | | | | | | | | | | | | |
| 78 | 82-E | *E.spp* | | | | | | | | | | | | |
| 79 | 83-E | *E.feacalis* | | | | | | | | | | | | |

(AM:Ampisilin, E:Eritromisin, TE:Tetrasiklin, CFQ: Sefkuinom, ENO: Enrofloksasin, VA:Vankomisin, r: r: rezerpin eklenerek tekrarlanan deney sonuçları, H:Hassas

Araştırmamızda efluks pompa inhibitörü olan rezerpinin MİK değerini 4 kat veya daha fazla düşürmesinin, efluks pompa inhibitörü olarak etkin olduğunu gösterdiği kabul edilmiştir (Gibbons ve Udo,2000).

Çizelge 4. 17. Rezerpin eklenerek tekrarlanan deney sonucunda antibiyotik MİK değeri 4 kat ve daha fazla azalan izolat sayıları

| Antibiyotikler | *Staphylococcus* (n=29) (%) | *Bacillus* (n=52) (%) | *Enterococcus* (n:79) (%) | TOPLAM (n=160) (%) |
|---|---|---|---|---|
| AM | 4 | 19 | 1 | 24 |
| rAM | 1 (%25) | 6 (%31,6) | 1 (%100) | 8 (%33,3) |
| E | - | 7 | 47 | 54 |
| rE | - | 7 (%100) | 26 (%55,3) | 23 (%42,6) |
| TE | 18 | 1 | 17 | 36 |
| rTE | 5 (%27,8) | 0 | 3 (%17,6) | 8 (%22,2) |
| CN | - | 8 | - | 8 |
| rCN | - | 2 (%25) | - | 2 (%25) |
| CFQ | - | 21 | 43 | 64 |
| rCFQ | - | 8 (%38,1) | 5 (%11,6) | 13 (%20,3) |
| ENO | - | - | - | - |
| rENO | - | - | - | - |
| VA | - | - | 2 | 2 |
| rVA | - | - | 2 (%100) | 2 (%100) |

(AM:Ampisilin, E:Eritromisin, TE:Tetrasiklin, CN:Gentamisin, CFQ:Sefkuinom, ENO:Enrofloksasin VA:Vankomisin, r:Rezerpinli)

Bir veya birden fazla antibiyotiğe dirençli bulunan Gram pozitif bakteri izolatlarına, efluks pompa inhibitörü rezerpinin biyosit MİK değerlerine etkisini belirlemek amacıyla, mikrodilusyon yöntemi ortama biyositlerle beraber 0,01 mg/ml oranında rezerpin eklenerek tekrar edilmiştir. Deneyi tekrar edilen izolatların rezerpin eklenmeden önce ve sonraki MİK değerleri Çizelge 4.13, 4.14, 4.15'te belirtilmiştir.

Çizelge 4. 18. *Staphylococcus* izolatlarına biyosit+rezerpin uygulaması sonucundaki MİK değerleri

| Sıra No | İzolat Kodu | SC (µg/ml) | rSC (µg/ml) | HC (µg/ml) | rHC (µg/ml) | CH (µg/ml) | rCH (µg/ml) | T (µg/ml) | rT (µg/ml) | PI (mg/l) | rPI (mg/l) | BC (µg/ml) | rBC (µg/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | P49-2 | 12500 | 25000 | H | H | 0.5 | H | H | H | 12500 | 25000 | 0,5 | H |
| 2 | P24-1 | **12500** | **781** | H | H | 0.5 | H | H | H | 3125 | 6250 | H | H |
| 3 | P2-2 | 25000 | 50000 | H | H | 0.5 | H | 8 | 4 | 12500 | 12500 | 4 | 4 |
| 4 | S12-1 | 781 | 1563 | H | H | 0.5 | H | 1 | H | 6250 | 12500 | H | H |
| 5 | P23-1 | 391 | 391 | H | H | 2 | H | 2 | H | 6250 | 6250 | H | H |
| 6 | P20-1 | 391 | 195 | H | H | 0.5 | H | 1 | H | 6250 | 6250 | **4** | **H** |
| 7 | S11-1 | 1563 | 781 | H | H | 0.5 | H | 1 | H | 6250 | 3125 | H | H |
| 8 | P36-3 | 1563 | 25000 | H | H | 1 | H | 1 | H | 12500 | 12500 | 4 | 16 |
| 9 | S3-1 | 781 | 1563 | H | H | 2 | H | 2 | 1 | **50000** | **12500** | 1 | H |
| 10 | ES-14 | 781 | 3125 | H | H | 1 | H | 1 | H | **12500** | **3125** | 1 | H |
| 11 | K11-1 | 391 | 781 | **512** | **H** | 1 | H | **512** | **H** | **6250** | **98** | 0,5 | H |
| 12 | ES-18 | 781 | 50000 | H | H | 1 | H | **512** | **32** | 6250 | 6250 | 2 | 16 |
| 13 | ES-20 | 391 | 1563 | H | H | 1 | H | **512** | **H** | **6250** | **391** | 0,5 | H |
| 14 | P49-3 | 12500 | 12500 | H | H | 0.5 | H | **512** | **4** | 25000 | 50000 | **128** | **8** |
| 15 | ES-15 | 781 | 50000 | H | H | 1 | H | **512** | **16** | 50000 | 50000 | 1 | H |
| 16 | T1-1 | 1563 | 50000 | H | H | 0.5 | H | H | H | **50000** | **12500** | H | H |
| 17 | S4-2 | 12500 | 50000 | H | H | 1 | H | 2 | 16 | 12500 | 12500 | H | H |
| 18 | K6-1 | 781 | 25000 | H | H | D | H | 2 | 1 | 12500 | 6250 | H | H |
| 19 | ES-11 | 25000 | 50000 | H | H | **32** | **H** | **128** | **16** | **50000** | **6250** | 0,5 | H |
| 20 | ES-8 | 781 | 25000 | H | H | 1 | H | H | H | 50000 | 50000 | 1 | H |
| 21 | K5-1 | 391 | 781 | H | H | 0.5 | H | H | H | **6250** | **1563** | H | H |
| 22 | ES-9 | H | H | H | H | 1 | H | 128 | 512 | 50000 | 50000 | 1 | H |
| 23 | T18-1 | 195 | 391 | H | H | H | H | H | H | **3125** | **D** | H | H |
| 24 | S6-1 | **25000** | **1563** | H | H | H | H | H | H | **12500** | **1563** | H | H |
| 25 | S6-1 | 781 | 50000 | H | H | **4** | **H** | H | H | 6250 | 6250 | H | H |
| 26 | P2-1 | 781 | 1563 | H | H | 1 | H | H | H | H | H | H | H |
| 27 | P44-1 | 391 | 50000 | H | H | 0.5 | H | H | H | 12500 | 12500 | H | H |
| 28 | S8-1 | **781** | H | H | H | 0.5 | H | H | H | **6250** | **1563** | 4 | 4 |
| 29 | P46-1 | **12500** | H | H | H | 1 | H | 16 | 8 | 6250 | 6250 | H | H |

SC: Sodyum hipoklorit, HC: Hekzaklorofen, CH: Klorhekzidin, T:Triklosan, PI:Povidon iyodin, BC: Benzalkonyum klorit, H:Hassas.

Çizelge 4. 19. *Bacillus* izolatlarına biyosit+rezerpin uygulaması sonucundaki MİK değerleri

| Sıra No | İzolat Kodu | SC (µg/ml) | rSC (µg/ml) | HC (µg/ml) | rHC (µg/ml) | CH (µg/ml) | rCH (µg/ml) | T (µg/ml) | rT (µg/ml) | PI (mg/l) | rPI (mg/l) | BC (µg/ml) | rBC (µg/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | P39 | 391 | 12500 | H | H | 1 | H | 0,5 | H | 12500 | 12500 | 1 | H |
| 2 | P40 | H | H | H | H | **8** | **H** | **>512** | **H** | **6250** | **H** | H | H |
| 3 | P46-P | H | H | H | H | 4 | 16 | 1 | H | 25000 | 25000 | 4 | 16 |
| 4 | P5-P | 25000 | 50000 | **>512** | **16** | 16 | 16 | **>512** | **1** | 25000 | 12500 | 8 | 16 |
| 5 | S8 | **25000** | **1563** | >512 | 512 | 16 | 16 | **>512** | **64** | 12500 | 50000 | 8 | 16 |
| 6 | S3-P | 3125 | 12500 | H | H | 4 | 4 | 1 | H | 25000 | 25000 | 4 | 4 |
| 7 | P26 | 1563 | 25000 | H | H | 4 | 4 | 2 | 1 | 25000 | 12500 | 2 | 8 |
| 8 | P3-P1 | 1563 | 50000 | H | H | 4 | 4 | 1 | H | 25000 | 25000 | 4 | 2 |
| 9 | 2 | 1563 | 50000 | H | H | 2 | 2 | H | H | 12500 | 25000 | 2 | 2 |
| 10 | 4 | 6250 | 50000 | H | H | 4 | 4 | 2 | 4 | 25000 | 25000 | 4 | 16 |
| 11 | 8 | 3125 | 6250 | H | H | 4 | 4 | H | H | 25000 | 25000 | 2 | 2 |
| 12 | 9 | 1563 | 12500 | H | H | 4 | 4 | 0,5 | H | 25000 | 25000 | 2 | 2 |
| 13 | 14 | 781 | 12500 | H | H | 2 | 2 | **8** | **2** | 12500 | 12500 | 2 | 4 |
| 14 | 19 | 3125 | 12500 | H | H | 2 | 4 | 1 | H | 25000 | 25000 | 0,5 | H |
| 15 | 20 | **1563** | **H** | H | H | 2 | H | 2 | 2 | H | H | 2 | H |
| 16 | 22 | 1563 | 50000 | **>512** | **16** | 32 | 32 | **>512** | **4** | 12500 | 12500 | 16 | 512 |
| 17 | 25 | 1563 | 6250 | H | H | 2 | 2 | **>512** | **4** | 12500 | 50000 | 4 | 2 |
| 18 | 27 | 3125 | 6250 | H | H | 4 | 16 | 1 | H | 25000 | 25000 | 2 | 16 |
| 19 | 29 | 3125 | 6250 | H | H | 4 | 4 | 1 | H | 25000 | 25000 | 2 | 2 |
| 20 | P45 | 1563 | 12500 | H | H | 2 | 2 | 1 | H | 25000 | 25000 | 4 | 2 |
| 21 | P20-P1 | 1563 | 12500 | H | H | 8 | 8 | 1 | H | 25000 | 25000 | 2 | 2 |
| 22 | S6-P3 | 391 | 6250 | **>512** | **H** | **4** | **D** | 1 | H | 25000 | 25000 | 2 | 1 |
| 23 | P14-P2 | 781 | 50000 | H | H | **4** | **D** | 2 | 512 | 12500 | 6250 | 2 | 512 |
| 24 | P29 | 50000 | 50000 | >512 | 512 | **32** | **4** | **>512** | **4** | 25000 | 25000 | 8 | 512 |
| 25 | P11 | 6250 | H | >512 | 512 | 4 | 8 | **>512** | **32** | H | H | 8 | 512 |
| 26 | P2-P1 | 1563 | 12500 | H | H | 4 | 16 | 1 | H | 25000 | 25000 | 1 | H |
| 27 | K3-1 | 1563 | 12500 | H | H | 8 | 4 | 1 | H | 25000 | 25000 | 2 | 8 |
| 28 | P27 | 3125 | 12500 | H | H | 4 | 4 | 2 | 1 | 25000 | 25000 | 4 | 2 |
| 29 | P4-P2 | 3125 | 12500 | H | H | 4 | 4 | 2 | 16 | 25000 | 25000 | 2 | 2 |
| 30 | S3-P1 | 12500 | 12500 | H | H | 4 | 8 | 1 | H | 12500 | 25000 | 1 | H |
| 31 | P16 | 1563 | 6250 | H | H | 4 | 4 | **>512** | **4** | 25000 | 25000 | 4 | 4 |
| 32 | S7-P | 1563 | 3125 | H | H | 2 | 16 | 1 | H | 50000 | 12500 | 1 | H |
| 33 | P23 | 781 | 25000 | H | H | 4 | 8 | 2 | 8 | 25000 | 25000 | 4 | 4 |
| 34 | P49 | 1563 | 25000 | H | H | 4 | 4 | 2 | 1 | 25000 | 25000 | 4 | 2 |
| 35 | S4-P2 | 12500 | 50000 | H | H | 4 | 32 | 128 | 512 | 50000 | 50000 | 8 | 16 |
| 36 | P8-P | **50000** | **6250** | H | H | 16 | 32 | 128 | 512 | 50000 | 50000 | **64** | **16** |
| 37 | S7-P2 | 3125 | 6250 | H | H | 4 | 4 | 1 | H | 12500 | 25000 | 4 | 2 |
| 38 | S6-P2 | **25000** | **6250** | H | H | 4 | 8 | 2 | 1 | 12500 | 12500 | 4 | 8 |
| 39 | P30 | **50000** | **3125** | 64 | 512 | 16 | 16 | **>512** | **8** | 50000 | 50000 | 8 | 16 |
| 40 | S9 | 1563 | 25000 | H | H | 8 | 8 | 2 | 8 | 25000 | 25000 | 4 | 4 |
| 41 | P31 | 391 | 1563 | H | H | 4 | 4 | 2 | H | 12500 | 25000 | 4 | 2 |
| 42 | P14-P1 | **50000** | **3125** | >512 | 512 | **8** | **H** | >512 | 512 | 12500 | 12500 | 16 | 16 |
| 43 | S4-P | 1563 | 12500 | H | H | 1 | H | 1 | H | 50000 | 25000 | 4 | 2 |
| 44 | P4-P | 1563 | 3125 | H | H | 2 | 16 | 1 | H | 1563 | 12500 | 4 | 4 |
| 45 | K1-P | 391 | 3125 | H | H | 2 | 1 | **>512** | **H** | 12500 | 12500 | 1 | H |
| 46 | T2-P | 391 | 3125 | H | H | 32 | 16 | **>512** | **32** | 12500 | 12500 | 1 | H |
| 47 | P32 | 781 | 3125 | 32 | 16 | 16 | 32 | 4 | 2 | 12500 | 12500 | 16 | 32 |
| 48 | K5 | H | H | H | H | 1 | H | H | H | 12500 | 12500 | H | H |
| 49 | P19 | 50000 | 25000 | 32 | 16 | 32 | 16 | 2 | 2 | 12500 | 6250 | 4 | 16 |
| 50 | K6 | H | H | H | H | **2** | **0,5** | **>512** | **H** | **12500** | **3125** | 0,5 | H |
| 51 | T13 | H | H | H | H | **2** | **0,5** | **>512** | **H** | 12500 | 50000 | 0,25 | H |
| 52 | T15-P1 | 25000 | 50000 | 36 | 512 | 8 | 8 | 4 | 8 | **50000** | **12500** | 8 | 16 |

SC: Sodyum hipoklorit, HC: Hekzaklorofen, CH: Klorhekzidin, T:Triklosan, PI:Povidon iyodin, BC: Benzalkonyum klorit, H:Hassas.

Çizelge 4. 20. *Enterococcus* izolatlarına biyosit+rezerpin uygulaması sonucundaki MİK değerleri

| Sıra No | İzolatKodu | SC (mg\ml) | r-SC (mg\ml) | HC (µg/ml) | r-HC (µg/ml) | CH (µg/ml) | r-CH (µg/ml) | T (µg/ml) | r-T (µg/ml) | PI (g/l) | r-PI (g/l) | BC (µg/ml) | r-BC (µg/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H |
| 2 | 2 | 50 mg/ml | 50mg/l | 64 | 512 | 4 | 16 | 32 | 32 | 50g/l | 50g/l | >512 | 512 |
| 3 | 3 | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H |
| 4 | 4 | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H |
| 5 | 5 | 25mg/ml | 50mg/ml | H | H | 1 | H | 8 | 16 | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 512 |
| 6 | 6 | 25mg/ml | 50mg/ml | 16 | 16 | 8 | 4 | 16 | 16 | 50g/l | 50g/l | 4 | 512 |
| 7 | 7 | 25mg/ml | 50mg/ml | | | 4 | 2 | H | H | 50g/l | 50g/l | >512 | 512 |
| 8 | 8 | 25mg/ml | 50mg/ml | 64 | 32 | **32** | **4** | 32 | 32 | 6250mg/l | 50g/l | 4 | 512 |
| 9 | 9 | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H |
| 10 | 11 | 25mg/ml | 50mg/ml | 32 | 128 | 16 | 16 | **64** | **16** | 25g/l | 25g/l | **>512** | **8** |
| 11 | 12 | 25mg/ml | 50mg/ml | 32 | 64 | 4 | 4 | **64** | **8** | 50g/l | 50g/l | >512 | 512 |
| 12 | 13 | 50mg/ml | 50mg/ml | 32 | 512 | 16 | 16 | 64 | 32 | 50g/l | 50g/l | >512 | 512 |
| 13 | 14 | 25mg/ml | 50mg/ml | **128** | **128** | 8 | 16 | 32 | 64 | 50g/l | 50g/l | 4 | 256 |
| 14 | 15 | 50mg/ml | 50mg/ml | **64** | **4** | **>512** | **64** | 16 | 16 | 50g/l | 50g/l | **>512** | **8** |
| 15 | 16 | 50mg/ml | 50mg/ml | 16 | 32 | H | H | 64 | 32 | 50g/l | 50g/l | **>512** | **8** |
| 16 | 17 | 25mg/ml | 50mg/ml | H | H | H | H | H | H | 50g/l | 50g/l | H | H |
| 17 | 18 | 6250µg/ml | 50mg/ml | H | H | H | H | H | H | 6250mg/l | 6250mg/l | H | H |
| 18 | 19 | 25mg/ml | 50mg/ml | H | H | **16** | **4** | 64 | 32 | 50g/l | 50g/l | 8 | 512 |
| 19 | 20 | 25mg/ml | 50mg/ml | 64 | 128 | 8 | 16 | 8 | 8 | 50g/l | 50g/l | 8 | 512 |
| 20 | 21 | 25mg/ml | 50mg/ml | **>512** | **64** | 8 | 8 | 16 | 16 | 50g/l | 50g/l | >512 | 512 |
| 21 | 22 | 25mg/ml | 50mg/ml | **128** | **64** | **64** | **8** | **128** | **16** | 50g/l | 50g/l | 8 | 512 |
| 22 | 24 | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H |
| 23 | 25 | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H |
| 24 | 26 | 25mg/ml | 50mg/ml | H | H | 1 | 32 | 4 | 16 | 50g/l | 50g/l | 4 | 4 |
| 25 | 27 | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H |
| 26 | 28 | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H |
| 27 | 29 | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H |
| 28 | 30 | 12500µg/ml | 25mg/ml | H | H | 16 | 16 | 8 | 8 | 25g/l | 12500mg/l | 4 | 4 |
| 29 | 31 | H | H | H | H | 8 | 16 | 8 | 16 | 25g/l | 12500mg/l | 2 | 8 |
| 30 | 32 | 25mg/ml | 50mg/ml | H | H | 1 | H | 1 | 8 | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 4 |
| 31 | 33 | 12500µg/ml | 50mg/ml | H | H | 8 | 2 | 32 | 16 | 50g/l | 50g/l | 4 | 512 |
| 32 | 34 | 50mg/ml | 50mg/ml | **H** | **H** | H | H | H | H | 50g/l | 50g/l | H | H |
| 33 | 35 | 25mg/ml | 50mg/ml | **64** | **8** | **16** | **2** | 64 | 32 | 50g/l | 50g/l | >512 | 256 |
| 34 | 36 | 50mg/ml | 50mg/ml | 64 | 64 | 32 | 16 | 128 | 512 | 50g/l | 50g/l | >512 | 512 |
| 35 | 37 | 25mg/ml | 50mg/ml | 1 | H | 16 | 16 | 8 | 16 | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 8 |
| 36 | 38 | 3125µg/ml | 25mg/ml | 1 | H | 8 | 8 | 8 | 8 | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 4 |
| 37 | 39 | 6250µg/ml | 25mg/ml | 4 | 16 | 2 | H | 16 | 8 | 25g/l | 25g/l | 2 | 512 |
| 38 | 40 | 781µg/ml | 12563µg/ml | 0.5 | | 0.5 | H | 8 | 16 | 25g/l | 12500mg/l | 4 | 8 |
| 39 | 41 | **25mg/ml** | **781µg/ml** | 64 | 64 | **64** | **2** | **128** | **8** | 50g/l | 12500mg/l | **>512** | **4** |
| 40 | 42 | 12500µg/ml | 25mg/ml | H | H | H | H | H | H | 50g/l | 50g/l | H | H |
| 41 | 44 | 12500µg/ml | 25mg/ml | **64** | **16** | 2 | H | 16 | 16 | 50g/l | 50g/l | 8 | 16 |
| 42 | 45 | 50mg/ml | 50mg/ml | 64 | 64 | 2 | 2 | 64 | 32 | 50g/l | 50g/l | 2 | 32 |
| 43 | 46 | 25mg/ml | 25mg/ml | H | H | H | H | H | H | 25g/l | 12500mg/l | H | H |
| 44 | 47 | 12500µg/ml | 25mg/ml | H | H | 16 | 16 | 8 | 8 | 12500mg/l | 12500mg/l | 8 | H |
| 45 | 48 | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H |
| 46 | 49 | 1563µg/ml | 25mg/ml | 1 | H | 8 | H | 4 | 8 | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 4 |
| 47 | 50 | 12500µg/ml | 50mg/ml | 128 | 512 | 32 | 64 | **64** | **16** | 25g/l | 50g/l | 8 | 16 |
| 48 | 51 | 1563µg/ml | 25mg/ml | 2 | H | H | H | 4 | 8 | 25g/l | 12500mg/l | 2 | 1 |
| 49 | 52 | 25mg/ml | 25mg/ml | H | H | H | H | H | H | 25g/l | 12500mg/l | H | H |
| 50 | 53 | 25mg/ml | 50mg/ml | 1 | H | H | H | 32 | 16 | 25g/l | 25g/l | >512 | 512 |

(SC:Sodyum hipoklorit, HC:Hekzaklorofen, CH:Klorhekzidin, T:Triklosan, PI:Povidin İyodin, BC:Benzalkonyum klorit, r:rezerpinli, H:Hassas)

Çizelge 4. 21.(Devamı) *Enterococcus* izolatlarına biyosit+rezerpin uygulaması sonucundaki MİK değerleri

| Sıra No | İzolatKodu | SC (mg\ml) | r-SC (mg\ml) | HC (µg/ml) | r-HC (µg/ml) | CH (µg/ml) | r-CH (µg/ml) | T (µg/ml) | r-T (µg/ml) | PI (g/l) | r-PI (g/l) | BC (µg/ml) | r-BC (µg/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 51 | 55 | 1563µg/ml | 50mg/ml | 0.5 | 4 | 16 | 16 | 2 | 8 | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 8 |
| 52 | 56 | 12500µg/ml | 3125µg/ml | **64** | **16** | **64** | **16** | **64** | **8** | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 8 |
| 53 | 57 | 1563µg/ml | 50mg/ml | 1 | H | 8 | 16 | **32** | **8** | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 4 |
| 54 | 58 | 12500µg/ml | 25mg/ml | 1 | H | 8 | 16 | 4 | 8 | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 8 |
| 55 | 59 | 12500µg/ml | 1563µg/ml | 1 | H | 16 | 16 | 4 | 8 | 12500mg/l | 12500mg/l | 8 | 8 |
| 56 | 60 | 1563µg/ml | 25mg/ml | 0.5 | H | 4 | 16 | 8 | 8 | 12500mg/l | 12500mg/l | 2 | 4 |
| 57 | 61 | 1563µg/ml | 3125µg/ml | H | H | 16 | 16 | 8 | 2 | 12500mg/l | 12500mg/l | 8 | 4 |
| 58 | 62 | 1563µg/ml | 25mg/ml | 0.5 | H | 16 | 16 | 4 | 8 | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 8 |
| 59 | 63 | 1563µg/ml | 25mg/ml | H | H | H | H | H | H | 12500mg/l | 12500mg/l | H | H |
| 60 | 64 | 1563µg/ml | 3125µg/ml | 0.5 | H | 8 | **16** | **2** | 16 | 12500mg/l | 12500mg/l | 8 | 4 |
| 61 | 65 | 12500µg/ml | 3125µg/ml | **128** | **64** | 8 | 16 | 4 | 16 | 50g/l | 50g/l | 8 | 16 |
| 62 | 66 | 1563µg/ml | 50mg/ml | 0.5 | H | 8 | 16 | 4 | 8 | 25g/l | 12500mg/l | 8 | 8 |
| 63 | 67 | 1563µg/ml | 25mg/ml | D | H | 16 | 16 | 4 | 4 | 12500mg/l | 12500mg/l | 1 | 8 |
| 64 | 68 | 1563µg/ml | 25mg/ml | 1 | H | 16 | 16 | 4 | 4 | 12500mg/l | 6250 mg/l | 4 | 8 |
| 65 | 69 | 25mg/ml | 25mg/ml | 0.5 | H | 4 | 8 | 4 | 8 | 25g/l | 25g/l | 4 | 16 |
| 66 | 70 | 12500µg/ml | 25mg/ml | 1 | H | 8 | 16 | 4 | 8 | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 8 |
| 67 | 71 | 12500µg/ml | 3125µg/ml | 1 | H | 16 | 8 | 4 | 16 | 12500mg/l | 12500mg/l | 4 | 256 |
| 68 | 72 | 12500µg/ml | 50mg/ml | 2 | H | H | H | 4 | 16 | 25g/l | 25g/l | 4 | 16 |
| 69 | 73 | 1563µg/ml | 3125µg/ml | 1 | H | 16 | 16 | 8 | 32 | 12500mg/l | 12500mg/l | 8 | 8 |
| 70 | 74 | **25mg/ml** | **3125µg/ml** | 0.5 | H | 16 | 32 | 8 | 32 | 12500mg/l | 12500mg/l | 8 | 8 |
| 71 | 75 | 1563µg/ml | 3125µg/ml | 1 | H | 8 | 16 | 16 | 8 | 12500mg/l | 12500mg/l | 2 | 4 |
| 72 | 76 | 50mg/ml | 25mg/ml | **16** | **1** | 8 | 16 | 64 | 32 | 50g/l | 50g/l | **32** | **4** |
| 73 | 77 | 12500µg/ml | 50mg/ml | 0.5 | H | 8 | 16 | 4 | 4 | 50g/l | 50g/l | 8 | 8 |
| 74 | 78 | 12500µg/ml | 50mg/ml | H | H | 2 |  | 4 | 16 | 50g/l | 50g/l | 4 | 8 |
| 75 | 79 | 1563µg/ml | 3125µg/ml | 1 | H | 2 | H | 4 | 8 | 25g/l | 25g/l | 4 | 8 |
| 76 | 80 | 1563µg/ml | 3125µg/ml | 0.5 | H | 2 | H | **256** | **8** | 12500mg/l | 12500mgl | 2 | 4 |
| 77 | 81 | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H | H |
| 78 | 82 | **25mg/ml** | **3125µg/ml** | 0.5 | H | H | H | 8 | 16 | 12500mg/l | 12500mg/l | 2 | 4 |
| 79 | 83 | **25mg/ml** | **3125µg/ml** | H | H | H | H | 8 | H | 12500mg/l | 12500mg/l | H | 8 |

(SC:Sodyum hipoklorit, HC:Hekzaklorofen, CH:Klorhekzidin, T:Triklosan, PI:Povidin İyodin, BC:Benzalkonyum klorit, r:rezerpinli, H:Hassas)

Çizelge 4. 22. Rezerpin eklenerek tekrarlanan deney sonucunda biyosit MİK değeri 4 kat ve daha fazla azalan izolat sayıları

| Antibiyotikler | *Staphylococcus* (n=29) | *Bacillus* (n=52) | *Enterococcus* (n:79) | TOPLAM (n=160) |
|---|---|---|---|---|
| rSC | 4 (%13,8) | 6 (%11,5) | 8 (%10.1) | 18 (%11,3) |
| rHC | 1 (%3,4) | 3 (%5,8) | 5(%6.3) | 9 (%5,6) |
| rCH | 2 (%6,9) | 7 (%13,5) | 8 (%10.1) | 17 (%10,6) |
| rT | 6 (%20,7) | 14 (%26,9) | 8 (%10.1) | 28 (%17,5) |
| rPI | 10 (%34,5) | 3 (%5,8) | 1(%1.3) | 14 (%8,8) |
| rBC | 2 (%6,9) | 1 (%1,9) | 6(%7.6) | 9 (%5,6) |

(SC: Sodyum hipoklorit, HC: Hekzaklorofen, CH: Klorhekzidin, T:Triklosan, PI:Povidon iyodin, BC: Benzalkonyum klorit, r:Rezerpinli)

Araştırmamızda bir veya daha fazla antibiyotiğe direnç gösteren, BBL Crystal bakteri tanımlama kiti ile tür tanımlamaları yapılan Gram pozitif bakteri izolatlarının 16S rDNA gen bölgeleri PZR yöntemi ile çoğaltılmıştır. Jelde yürütülüp kontrol edilen DNA örnekleri firmaya gönderilerek DNA dizi analizi sonuçları temin edilmiş, diziler BLAST programı kullanılarak karşılaştırılmış ve yüzde olarak en çok homoloji görülen tür adı doğru kabul edilmiştir (Çizelge 4.17, 4.18, 4.19).

Çizelge 4. 23. *Staphylococcus* izolatlarının BBL Crystal bakteri tanımlama kiti ve 16S rDNA dizi analizi ile tanımlama sonuçları

| **Sıra No** | **İzolat Kodu** | **Bakteri Türü (*BBL Crystal*)** | **Bakteri Türü (16S dizi analizi)** |
|---|---|---|---|
| 1 | P49-2 | *S.saprophyticus* | *S.xylosus* |
| 2 | P24-1 | *S.saprophyticus* | *S.xylosus* |
| 3 | P2-2 | *S.saprophyticus* | *S.xylosus* |
| 4 | S12-1 | *(Adlandırılamadı)* | *Macrococcus caseolyticus* |
| 5 | P23-1 | *S.saprophyticus* | *S.aureus* |
| 6 | P20-1 | *S.haemolyticus* | *S.saprophyticus* |
| 7 | S11-1 | *E. faecalis* | *E. faecalis* |
| 8 | P36-3 | *M.luteus* | *Macrococcus caseolyticus* |
| 9 | S3-1 | *S.aureus* | *S.aureus* |
| 10 | ES-14 | *S. vitulinus* | *S. condimenti* |
| 11 | K11-1 | *S.saprophyticus* | *S.xylosus* |
| 12 | ES-18 | *(Adlandırılamadı)* | *S.succinus* |
| 13 | ES-20 | *E. faecium* | *S.saprophyticus* |
| 14 | P49-3 | *S.saprophyticus* | *S.saprophyticus* |
| 15 | ES-15 | *(Adlandırılamadı)* | *S.succinus* |
| 16 | T1-1 | *S.warneri* | *S. pasteuri* |
| 17 | S4-2 | *S.aureus* | *S.aureus* |
| 18 | K6-1 | *S.saprophyticus* | *S.saprophyticus* |
| 19 | ES-11 | *(Adlandırılamadı)* | *Staphylococcus succinus subsp. casei* |
| 20 | ES-8 | *(Adlandırılamadı)* | *S.succinus* |
| 21 | K5-1 | *S.saprophyticus* | *S.saprophyticus* |
| 22 | ES-9 | *(Adlandırılamadı)* | *S.succinus* |
| 23 | T18-1 | *(Adlandırılamadı)* | *S.aureus* |
| 24 | S6-1 | *S.aureus* | *S.aureus* |
| 25 | S6-1 | *S.aureus* | *S.aureus* |
| 26 | P2-1 | *S.saprophyticus* | *S.saprophyticus* |
| 27 | P44-1 | *S.saprophyticus* | *S.xylosus* |
| 28 | S8-1 | *S.saprophyticus* | *S.saprophyticus* |
| 29 | P46-1 | *S.saprophyticus* | *S.xylosus* |

Çizelge 4.17'deki sonuçlarımıza göre, *Staphylococcus* izolatlarının 16S rDNA dizi analizi sonuçlarına bakıldığında çalışılan 29 izolatın 10'unda BBL Crystal bakteri tanımlama kiti ile aynı sonuç alındığı, 10 izolatta tür olarak farklı sonuç elde edildiği, kit ile adlandırılamayan izolatların 6'sının *Staphylococcus* türleri, birinin ise *Macrococcus caseolyticus*, 1 izolatın ise kit ile aynı sonuç vererek *E. faecalis* olarak adlandırıldığı görülmektedir.

Çizelge 4. 24. *Bacillus* izolatlarının BBL Crystal bakteri tanımlama kiti ve 16S rDNA dizi analizi ile tanımlama sonuçları

| Sıra No | İzolat Kodu | Bakteri Türü (*BBL Crystal*) | Bakteri Türü (16S dizi analizi) |
|---|---|---|---|
| 1 | P39 | *(Adlandırılamadı)* | *B.licheniformis* |
| 2 | P40 | *B.megaterium* | *B.pumilus* |
| 3 | P46-P | *B. brevis* | *B.cereus* |
| 4 | P5-P | *B.subtilis* | *B.licheniformis* |
| 5 | S8 | *B.circulanse* | *B.licheniformis* |
| 6 | S3-P | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 7 | P26 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 8 | P3-P1 | *(Adlandırılamadı)* | *B.licheniformis* |
| 9 | 2 | *B.subtilis* | *B.subtilis* |
| 10 | 4 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 11 | 8 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 12 | 9 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 13 | 14 | *B.subtilis* | *B.licheniformis* |
| 14 | 19 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 15 | 20 | *(Adlandırılamadı)* | *Paenibacillus macerans* |
| 16 | 22 | *(Adlandırılamadı)* | *B.licheniformis* |
| 17 | 25 | *B.subtilis* | *B.subtilis* |
| 18 | 27 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 19 | 29 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 20 | P45 | *(Adlandırılamadı)* | *B. glycinifermentans* |
| 21 | P20-P1 | *B.subtilis* | *B.subtilis* |
| 22 | S6-P3 | *(Adlandırılamadı)* | *B.pumilus* |
| 23 | P14-P2 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 24 | P29 | *B.pumilus* | *B.pumilus* |
| 25 | P11 | *B.subtilis* | *B.subtilis* |
| 26 | P2-P1 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 27 | K3-1 | *(Adlandırılamadı)* | *B.pumilus* |
| 28 | P27 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 29 | P4-P2 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 30 | S3-P1 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 31 | P16 | *B.pumilus* | *B.pumilus* |
| 32 | S7-P | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 33 | P23 | *Brevi.brevis* | *Bacillus safensis* |
| 34 | P49 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 35 | S4-P2 | *B.subtilis* | *B.subtilis* |
| 36 | P8-P | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 37 | S7-P2 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 38 | S6-P2 | *B.subtilis* | *B.pumilus* |
| 39 | P30 | *B.circulanse* | *B.circulanse* |
| 40 | S9 | *(Adlandırılamadı)* | *B.pumilus* |
| 41 | P31 | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 42 | P14-P1 | *B.subtilis* | *B.subtilis* |
| 43 | S4-P | *B.licheniformis* | *B.licheniformis* |
| 44 | P4-P | *B.subtilis* | *B.subtilis* |
| 45 | K1-P | *Corynebacterium sp.* | *B. mojavensis* |
| 46 | T2-P | *(Adlandırılamadı)* | *Bacillus thuringiensis* |
| 47 | P32 | *B.sphaericus* | *B.licheniformis* |
| 48 | K5 | *B.sphaericus* | *B.licheniformis* |
| 49 | P19 | *B.sphaericus* | *B.licheniformis* |
| 50 | K6 | *(Adlandırılamadı)* | *Lysinibacillus sphaericus* |
| 51 | T13 | *(Adlandırılamadı)* | *Lysinibacillus invocatus* |
| 52 | T15-P1 | *B.sphaericus* | *B.safensis* |

Çizelge 4.18'deki sonuçlarımıza göre, *Bacillus* izolatlarının 16S rDNA dizi analizi sonuçlarına bakıldığında çalışılan 52 izolatın 29'unda BBL Crystal bakteri tanımlama kiti ile aynı sonuç alındığı, 10 izolatta tür olarak farklı sonuç elde edildiği, kit ile adlandırılamayan

izolatların 8'inin *Bacillus* türleri, birinin ise *Paenibacillus macerans*, ikisinin *Lysinibacillus* türleri, *Brevibacillus brevis* olarak adlandırılan izolatın *B. safensis*, *Corynebacterium* sp. olarak adlandırılan izolatın *B. mojavensis*, olarak adlandırıldığı görülmektedir.

Çizelge 4. 25. *Enterococcus* izolatlarının BBL Crystal bakteri tanımlama kiti ve 16S rDNA dizi analizi ile tanımlama sonuçları

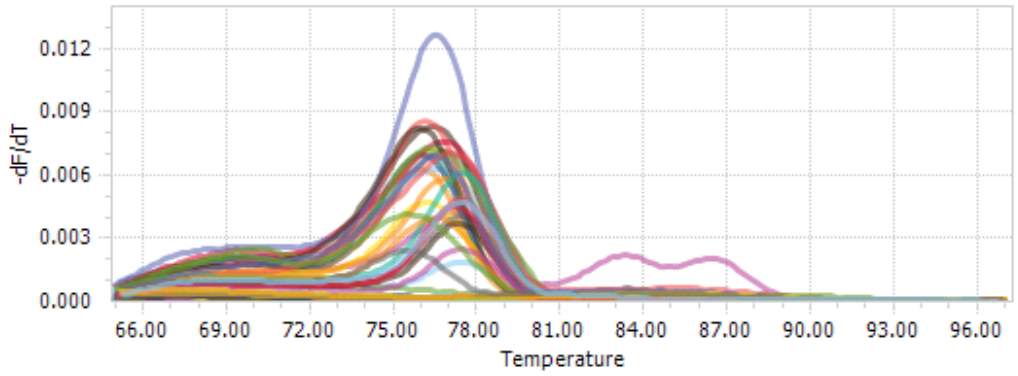
| Sıra No | İzolat Kodu | Bakteri Adı *(BBL Crystal)* | Bakteri Adı (16S dizi analizi) |
|---|---|---|---|
| 1 | 1-E | *E.gallinarum* | *E.gallinarum* |
| 2 | 2-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 3 | 3-E | *E.hirae* | *E.hirae* |
| 4 | 4-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 5 | 5-E | *E.gallinarum* | *E.gallinarum* |
| 6 | 6-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 7 | 7-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 8 | 8-E | ***E.faecium*** | ***E.lactis*** |
| 9 | 9-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 10 | 11-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 11 | 12-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 12 | 13-E | ***E.spp*** | ***E.faecium*** |
| 13 | 14-E | *E.durans* | *E.durans* |
| 14 | 15-E | *E.hirae* | *E.hirae* |
| 15 | 16-E | ***E.gallinarum*** | ***E.lactis*** |
| 16 | 17-E | *E.hirae* | *E.hirae* |
| 17 | 18-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 18 | 19-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 19 | 20-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 20 | 21-E | ***E.spp*** | ***E.lactis*** |
| 21 | 22-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 22 | 24-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 23 | 25-E | ***E.hirae*** | ***E.faecium*** |
| 24 | 26-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 25 | 27-E | *E.hirae* | *E.hirae* |
| 26 | 28-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 27 | 29-E | *E.hirae* | *E.hirae* |
| 28 | 30-E | *E.faecium* | *E.faecium/E.durans* |
| 29 | 31-E | *E.faecalis* | *E.faecalis* |
| 30 | 32-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 31 | 33-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 32 | 34-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 33 | 35-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 34 | 36-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 35 | 37-E | ***E.faecalis*** | ***E.faecium*** |
| 36 | 38-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 37 | 39-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 38 | 40-E | *E.faecalis* | *E.faecalis* |
| 39 | 41-E | ***E.faecium*** | ***E.faecalis*** |
| 40 | 42-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 41 | 44-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 42 | 45-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 43 | 46-E | *E.faecalis* | *E.faecalis* |
| 44 | 47-E | *E.faecalis* | *E.faecalis* |
| 45 | 48-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 46 | 49-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 47 | 50-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 48 | 51-E | *E.durans* | *E.durans* |

Çizelge 4. 26. *Enterococcus* izolatlarının BBL Crystal bakteri tanımlama kiti ve 16S rDNA dizi analizi ile tanımlama sonuçları

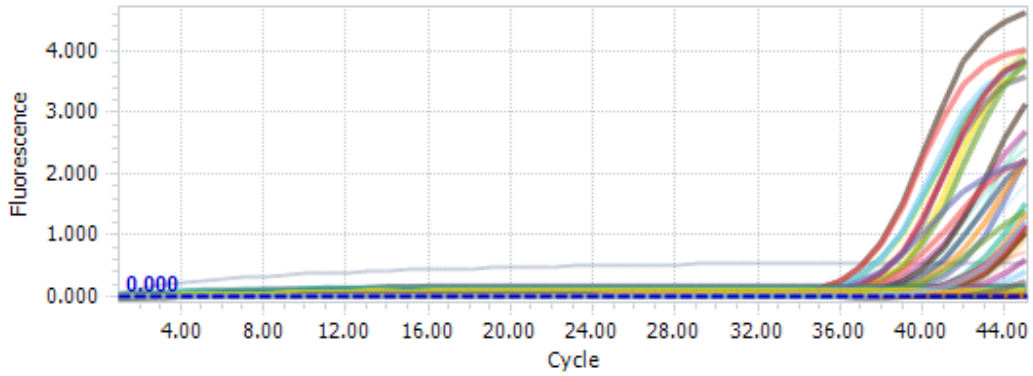
| Sıra No | İzolat Kodu | Bakteri Adı *(BBL Crystal)* | Bakteri Adı (16S dizi analizi) |
|---|---|---|---|
| 49 | 52-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 50 | 53-E | ***E.spp*** | ***E.durans/faecium*** |
| 51 | 55-E | ***E.spp*** | ***E.faecalis*** |
| 52 | 56-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 53 | 57-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 54 | 58-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 55 | 59-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 56 | 60-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 57 | 61-E | ***E.faecium*** | ***E.faecalis*** |
| 58 | 62-E | ***E.faecium*** | ***E.faecalis*** |
| 59 | 63-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 60 | 64-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 61 | 65-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 62 | 66-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 63 | 67-E | ***E.faecium*** | ***E.faecalis*** |
| 64 | 68-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 65 | 69-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 66 | 70-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 67 | 71-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 68 | 72-E | *E.gallinarum* | *E.gallinarum* |
| 69 | 73-E | *E.faecalis* | *E.faecalis* |
| 70 | 74-E | ***E.avium*** | ***E. faecalis*** |
| 71 | 75-E | *E.avium* | *E.avium* |
| 72 | 76-E | *E.avium* | *E.avium* |
| 73 | 77-E | *E. faecalis* | *E.faecalis* |
| 74 | 78-E | *E. faecalis* | *E. faecalis* |
| 75 | 79-E | *E.hirae* | *E.hirae* |
| 76 | 80-E | ***E.hirae*** | ***E.faecium*** |
| 77 | 81-E | *E.faecium* | *E.faecium* |
| 78 | 82-E | ***E.spp*** | ***E.faecalis*** |

Çizelge 4.19'daki sonuçlarımıza göre**,** çalışılan 79 *Enterococcus* izolatının 64'ü *BBL Crystal* bakteri tanımlama kiti ile aynı sonuçları vermişken*, BBL Crystal* bakteri tanımlama kiti ile tanımlanamayan 5 *Enterococcus spp.* suşları *E.faecium(1), E.lactis(1), E.durans(1)* ve *E.faecalis(2)* olarak tanımlanmıştır. 16S rDNA dizi analizine göre, 79 *Enterococcus* suşunun*,* 47'si *E. faecium, 15'i E. faecalis, 6'sı E. hirae, 3'ü E. gallinarum, 3'ü E. lactis, 3'ü E. durans ve 2'si E. avium olarak tanımlanmıştır.*

Real time çalışmasının sonuçlarının değerlendirilmesi, amplifikasyon eğrileri, Tm (erime sıcaklığı) analizi grafikleri ve absolute quantification (cq) değerlerinin her biri dikkate alınarak, primerlerin doğru yere bağlanıp bağlanmadıkları kontrol edilerek yapılmıştır. Yukarıda örnek olarak bla geninin tek bir plağının Tm (erime sıcaklığı) analizi grafiği (Resim 15), amplifikasyon eğrilerinin olduğu grafik (Resim 16), ve absolute quantification (cq) değerlerinin olduğu tablo (Çizelge 4.22) verilmiştir. Çizelge 4.22'de koyu olarak belirtilen örneklerin sonuçları pozitif olarak değerlendirilmiştir.




Resim 15.bla geni Tm analiz tablosu

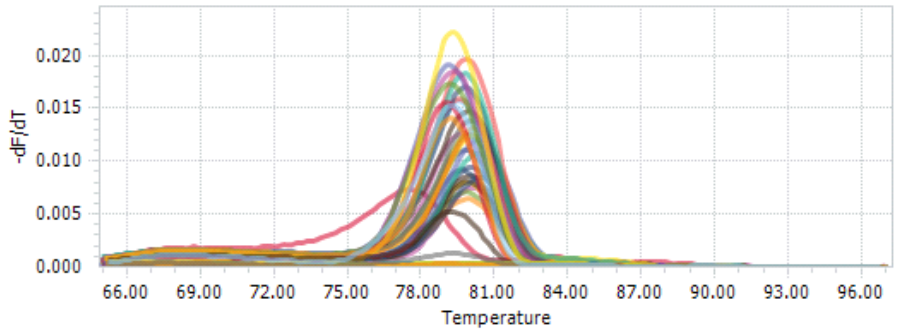



Resim 16.bla geni amplifikasyon eğrileri

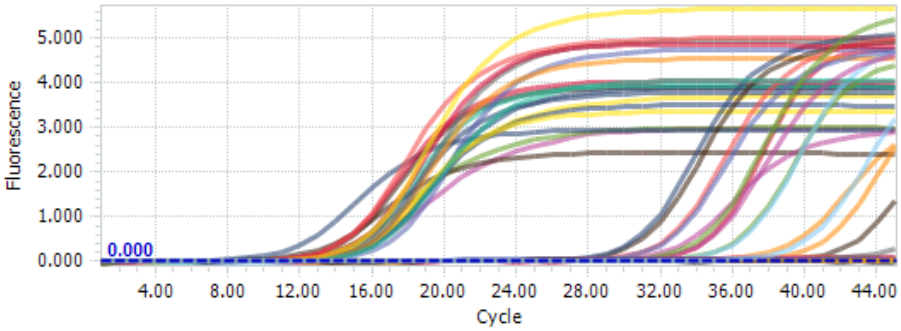
Çizelge 4. 27. bla geni qPCR sonucu, örnek bir plak sonucu

| Örnek Adı | Gen Adı | Cq | Sonuç | Boya |
|---|---|---|---|---|
| 12 | bla | 41.45 | Positive | SYBR Green I |
| 16 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 17 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 18 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 19 | bla | 39.81 | Positive | SYBR Green I |
| 20 | bla | 42.87 | Positive | SYBR Green I |
| **23** | **bla** | **36.72** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| 25 | bla | 41.32 | Positive | SYBR Green I |
| 26 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 27 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 29 | bla | 41.75 | Positive | SYBR Green I |
| 34 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 35 | bla | 41.91 | Positive | SYBR Green I |
| 36 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 38 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| **77** | **bla** | **41.78** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| 78 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 79 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 80 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 81 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 82 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 83 | bla | 41.04 | Positive | SYBR Green I |
| 84 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 85 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 87 | bla | 37.80 | Positive | SYBR Green I |
| 88 | bla | 38.69 | Positive | SYBR Green I |
| 89 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| 90 | bla | 42.29 | Positive | SYBR Green I |
| **92** | **bla** | **39.64** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| **93** | **bla** | **42.09** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| **94** | **bla** | **37.72** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| 95 | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| **96** | **bla** | **40.24** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| **98** | **bla** | **37.12** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| | None | - | Negative | SYBR Green I |
| | None | - | Negative | SYBR Green I |
| **2** | **bla** | **39.11** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| **8** | **bla** | **35.88** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| **9** | **bla** | **35.82** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| **37** | **bla** | **36.45** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| **43** | **bla** | **37.20** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| **46** | **bla** | **41.48** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| **72** | **bla** | **37.66** | **Positive** | **SYBR Green I** |
| Negatif kontrol | bla | - | Negative | SYBR Green I |
| Pozitif kontrol | 16s | 38.31 | Positive | SYBR Green I |

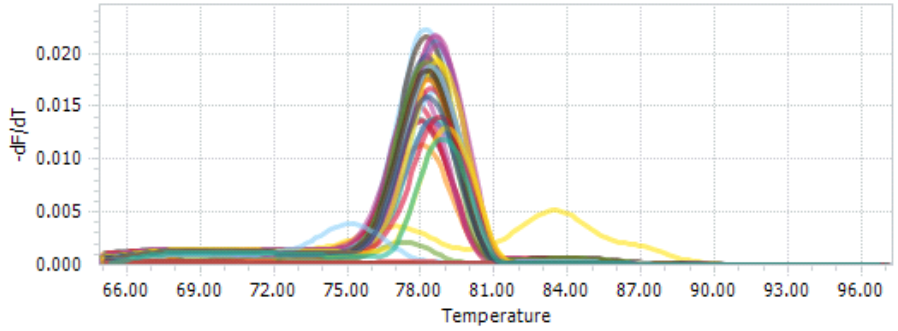
Araştırmamızda çalışılan efrA, efrB, mdeA, mecA, mepA, msrA genlerinin amplifikasyon eğrileri ve Tm analizi grafikleri verilmiştir (Resim 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28)



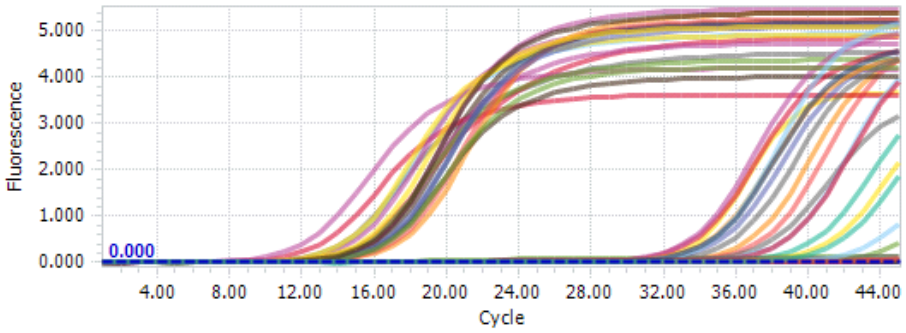

Resim 17.efrA geni Tm analiz tablosu



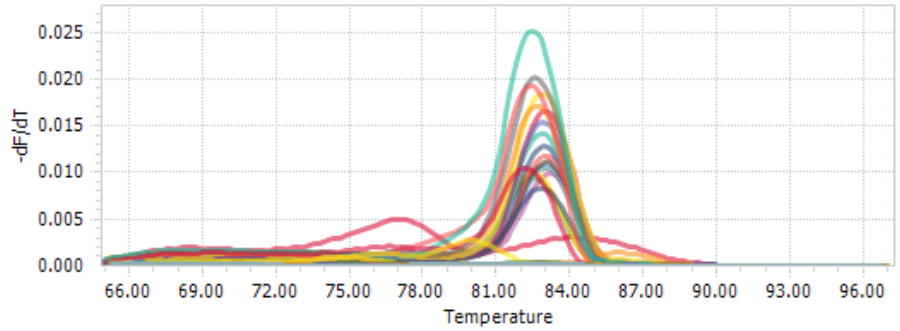

Resim 18.efrA geni amplifikasyon eğrileri



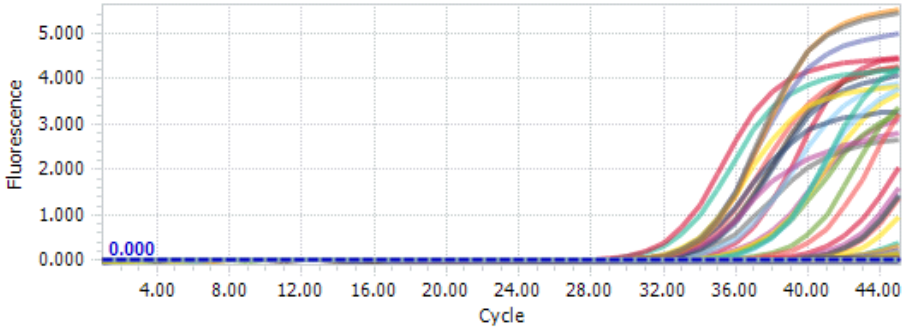

Resim 19.efrB geni Tm analiz tablosu



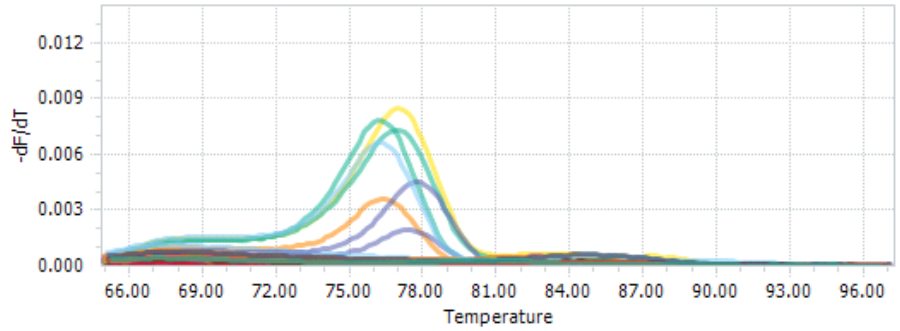

Resim 20.efrB geni amplifikasyon eğrileri



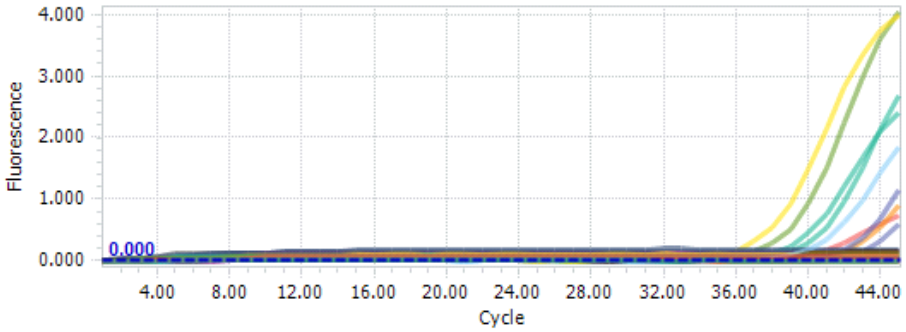

Resim 21.. mdeA geni Tm analiz tablosu



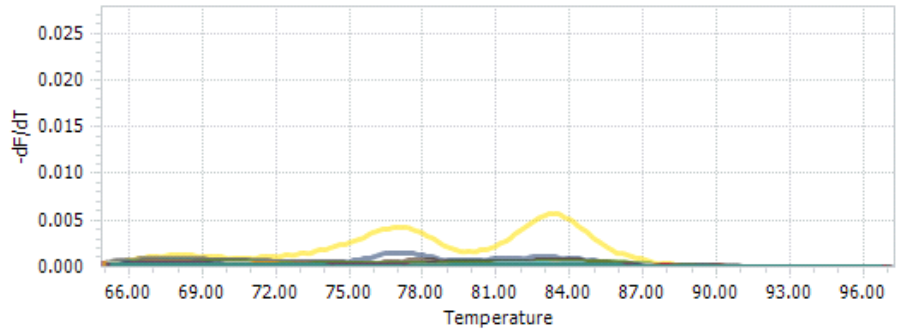

Resim 22.mdeA geni amplifikasyon eğrileri



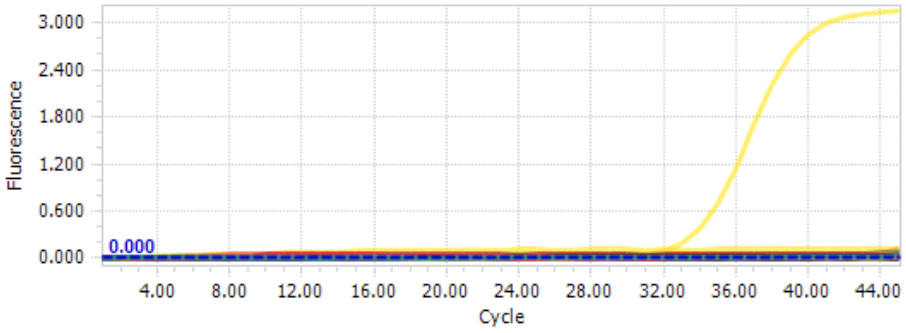

Resim 23.mecA geni Tm analiz tablosu



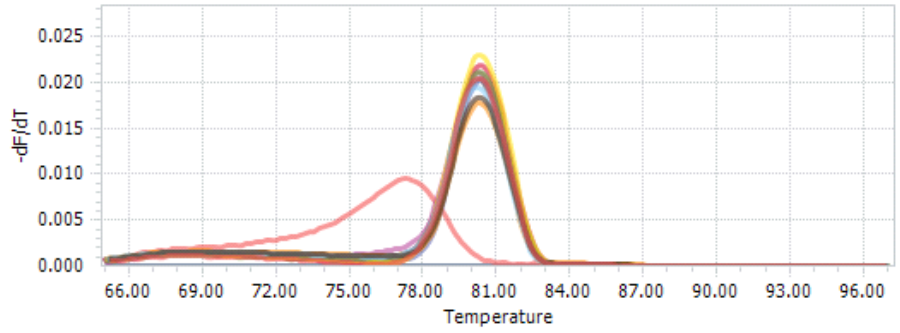

Resim 24.mecA geni amplifikasyon eğrileri



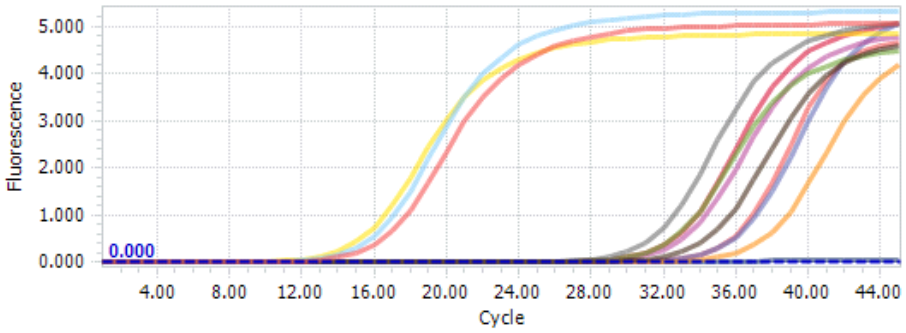

Resim 25.mepA geni Tm analiz tablosu




Resim 26.mepA geni amplifikasyon eğrileri




Resim 27.msrA geni Tm analiz tablosu




Resim 28.msrA geni amplifikasyon eğrileri

Günümüzde antibiyotikler insan ve hayvan sağlığı, gıda sektöründe besinlerin korunması, yemlerle verim arttırıcı, klinik ve ilaç sanayisinde yoğun bir şekilde kullaılmaktadır. Ancak ilaçların uygunsuz ve kontrolsüz kullanılması ve farklı çevre koşulları sonucu antibiyotik kalıntılı birçok hayvansal gıda ürünü tüketiciye kadar ulaşmakta bu da antibiyotik direncinin artmasına sebep olmaktadır. Bu direnç plazmid ve transpozonlar aracılığıyla yayılmaktadır. Araştırmamızda gıda örneklerinden izole edilen Gram pozitif bakteri izolatlarında RT-PZR ile belirlediğimiz antibiyotik direnci ile ilgili gen bölgeleri Çizelge 4.21, 4.22 ve 4.23'te gösterilmiştir.

Çizelge 4. 28. Antibiyotik direnci gösteren Gram pozitif izolatların real time pzr ile belirlenen eritromisin direnç genleri ve yüzdeleri

| Çalışılan bakteri izolatları | Eritromisin direnç genleri | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ermA | | ermB | | msrA | | msrA/B | | ereA | | ereB | | mefA | |
| | + | % | + | % | + | % | + | % | + | % | + | % | + | % |
| *Bacillus (n=6)* | - | - | 1 | 16,7 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Enterococcus (n=37)* | - | - | - | - | 24 | 64,9 | 1 | 2,7 | 3 | 8,1 | - | - | 9 | 24,3 |
| *TOPLAM (n=43)* | - | - | 1 | 2,3 | 24 | 55,8 | 1 | 2,3 | 3 | 7 | - | - | 9 | 20,9 |

Çizelge 4.21'e göre, makrolidlerden eritromisin antibiyotiğine dirençli olarak bulunan 6'sı *Bacillus*, 37'si *Enterococcus* toplam 43 izolatın 24(%55,8)'ünde msrA, 9(%20,9)'unda mefA, 3(%7)'ünde ereA, 1(%2,3)'inde ermB ve yine 1(%2,3)'inde msrA/B geni pozitif bulunmuştur. ermA ve ereB genleri çalışılan hiçbir izolatta pozitif bulunmamıştır.

Çizelge 4. 29. Antibiyotik direnci gösteren Gram pozitif izolatların real time pzr ile belirlenen tetrasiklin, vankomisin ve beta laktam grubu antibiyotiklere direnç genleri ve yüzdeleri

| Çalışılan bakteri izolatları | Tetrasiklin, vankomisin ve beta laktam grubu antibiyotiklere direnç genleri | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | tetK | | tetL | | vanA | | vanB | | bla | | mecA | |
| | + | % | + | % | + | % | + | % | + | % | + | % |
| *Bacillus* | 1 | 100 | - | - | - | - | - | - | 8 | 19 | 3 | 7,1 |
| *Staphylococcus* | 16 | 88,9 | - | - | - | - | - | - | 7 | 53,8 | 1 | 7,7 |
| *Enterococcus* | 2 | 11,8 | 6 | 35,3 | 1 | 50 | 1 | 50 | - | - | - | - |
| *TOPLAM* | 19 | 52,8 | 6 | 16,7 | 1 | 50 | 1 | 50 | 15 | 25,4 | 4 | 6,8 |

TetK, tetL n=(*Bacillus:1, Staphylococcus:18, Enterococcus:17*), vanA, vanB, vanC n=(*Enterococcus:2*), bla, mecA n=(*Bacillus:42, Staphylococcus:13, Enterococcus:4*)

Çalışılan tetrasikline dirençli 36 izolatın 19(%52,8)'u tetK, 6(%16,7)'sı tetL, vankomisin dirençli 2 *Enterococcus* izolatının biri vanA, biri de vanB, beta laktam grubu antibiyotiklere (ampisilin, sefkuinom) dirençli 59 izolatın 15(%25,4)'i bla, 4(%6,8)'ü mecA geni pozitif bulunmuştur, vanC geni bulunan izolat yoktur (Çizelge 4.29).

Çizelge 4. 30. Antibiyotik direnci gösteren *Bacillus* izolatlarının real time pzr ile belirlenen gentamisin direnç genleri ve yüzdeleri

| Çalışılan bakteri izolatları | Gentamisin pompa genleri | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | aac (6_)- Ie-aph(2_)-Ia | | aph(2'_)-Ib | | aph (2'_)-Ic | | aph(2'_)-Id | |
| | + | % | + | % | + | % | + | % |
| *Bacillus (n=8)* | - | - | 1 | 12,5 | 1 | 12,5 | 1 | 12,5 |

Çizelge 4.23'e göre, gentamisin dirençli bulunan 8 *Bacillus* izolatının sadece birinde aph(2'_)-Ib, aph (2'_)-Ic, aph(2'_)-Id genleri pozitif olarak belirlenmiştir.

Bakterilerde çoklu antimikrobiyal direncine neden olan mekanizmalardan efluks pompa sistemi, kazanılmış direncin önemli nedenlerinden biridir. Membran transport proteinlerinden oluşan dışa atım pompa sistemi genlerinin aşırı şekilde ifade edilmesi sonucu ilaçlar hücre dışına itilmektedir. Dışa atım pompa sistemi antibiyotik, dezenfektan, antiseptik gibi birçok bileşiği tanımaktadır. Bu nedenle araştırmamızda antibiyotikdirenci gösteren gram pozitif bakteri izolatlarında eflıks pompa proteinlerini kodlayan genlerin varlığı araştırılmıştır.

Çizelge 4. 31. Antibiyotik direnci gösteren ve biyosit duyarlılığı azalmış izolatların real time pzr ile belirlenen efluks pompa genleri ve yüzdeleri

| Efluks pompa genleri | Gram pozitif bakteri izolatları | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *Staphylococcus* (n=29) | | *Bacillus* (n=52) | | *Enterococcus* (n=51) | | TOPLAM (n=132) | |
| | + | % | + | % | + | % | + | % |
| qacA/B | 1 | 3,4 | 5 | 9,6 | 16 | 31,4 | 22 | 16,7 |
| acrB | 9 | 31 | 10 | 19,2 | 9 | 17,7 | 28 | 21,2 |
| norE | 23 | 79,3 | 28 | 53,8 | 37 | 72,5 | 88 | 66,7 |
| sugE | 13 | 44,8 | 8 | 15,4 | 37 | 72,5 | 58 | 43,9 |
| smr | 25 | 86,2 | 33 | 63,5 | - | - | 58 | 43,9 |
| efrA | 23 | 79,3 | 28 | 53,8 | 35 | 68,6 | 86 | 65,2 |
| efrB | 21 | 72,4 | 32 | 61,5 | 38 | 74,5 | 91 | 68,9 |
| mdeA | 24 | 82,8 | 8 | 15,4 | 18 | 35,3 | 50 | 37,9 |
| mepA | 3 | 10,3 | - | - | - | - | 3 | 2,3 |
| norA | 7 | 24,1 | 5 | 9,6 | - | - | 12 | 9,1 |
| norB | 8 | 27,6 | 1 | 1,9 | 2 | 3,9 | 11 | 8,3 |
| sepA | 15 | 51,7 | 2 | 3,8 | 13 | 25,5 | 30 | 22,7 |

Çizelge 4.24'e göre, çalışılan toplam 132 izolatın 22 (%16,7)'sinde qacA/B, 28 (%21,2)'inde acrB, 88 (%66,7)'inde norE, 58 (%43,9)'inde sugE, 58 (%43,9)'inde smr, 86 (%65,2)'sında efrA, 91 (%68,9)'inde efrB, 50 (%37,9)'sinde mdeA, 3 (%2,3)'ünde mepA, 12 (%9,1)'sinde norA, 11 (%8,3)'inde norB, 30 (%22,7)'unda sepA geni bulunduğu tespit edilmiştir.

### 4.2. Tartışma

Gıdaların kontaminasyonu, enfekte besi hayvanlarından, gıda üretim zincirine, işleme, depolama ve satış aşamalarında doğru sanitasyonun yapılmaması sebebiyle gerçekleşebilmektedir Gıdalardan *Staphylococcus*, *Bacillus* ve *Enterococcus* gibi Gram pozitif bakteriler sıklıkla izole edilmektedir. Bu bakterilerin birçok türünün patojen olmaması, kontaminasyonun çok ciddiye alınmamasına sebep olmaktadır. Fakat gerek gıda enfeksiyon ve intoksikasyonlarına gerekse antimikrobiyal direncin yayılımına yol açmaları sebebiyle çiftlik hayvanlarından, sofralara uzanan gıda zincirinde Gram pozitif bakterilerin kontrolü ciddi önem göstermektedir. (Aydın ve ark., 2011, Onni ve ark., 2010).

2010-2011 yılları arasında Amerika'nın 8 farklı eyaletinden toplanan perakende satışı yapılan 3520 et örneğinden 1032 (%29,8) *S.aureus* izole edilmiştir (Ge ve ark., 2017). Çalışmamızda ise 41 et örneğinden %6,5 oranında *Staphylococcus* izolasyonu yapılmıştır (Çizelge 4.2).

Resende ve ark. Brezilya'da yaptıkları çalışmada, 7 farklı markadan aldıkları 35 yerel Minas peyniri örneğinden 208 gram pozitif bakteri izolatı elde etmiştir. Bunların 140'ı *Enterococcus*, 30'u *Staphylococcus,* 38'i ise *Macrococcus caseolyticus*'tur (Resende ve ark., 2018). Bizim çalışmamızda çeşitli market ve mandıralardan toplanan 60 peynir örneğinden 61 *Bacillus* , 51 *Staphylococcus* ve 17 *Enterococcus* izole edilmiştir (Çizelge 4.2).

Sanlıbaba ve arkadaşları 122 tavuk örneğinden 97 *Enterococcus*, Yılmaz ve ark. (2016) ise tavuk örneklerinden 105 (103 *E.faecalis*, 1 *E. hirae*, 1 *E. faecium*), kırmızı et örneklerinden 100 (100 *E.faecalis*) olmak üzere 205 *Enterococcus* izolasyonu yapmıştır (Yılmaz ve ark., 2015). Araştırmamızda 18 çiğ tavuk örneğinden 10 *Enterococcus*, 41 et örneğinden 29 *Enterococcus* izolasyonu yapılmıştır (Çizelge 4.2).

Hammad ve arkadaşlarının 2015 yılında yapmış olduğu çalışmada*,* 100 süt ve süt örneklerinden 120 *Enterococcus* izolasyonu yapılmıştır (Hammand ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda 73 (60 peynir ve 13 çiğ süt) süt ve süt ürünlerinden 19 *Enterococcus* izole edilmiştir (Çizelge 4.2).

16S rDNA sekans analizi, mikroorganizmaların tanımlanması için basit ve yaygın bir yöntemdir ve bu genin bazı bölgelerinin iyi korunmasına rağmen, diğer bölgeler, tüm canlı organizmaları hedef alan problardan gruba ve türe özgü problara kadar çeşitli özelliklerde nükleik asit problarının tasarımına temel oluşturan büyük çeşitlilik göstermektedir. Bu anlamda, *Bacillus* suşlarının tanımlanması için, 16S rDNA geninin değişken bölgesine hedeflenen farklı primerlerin, geleneksel pzr, gerçek zamanlı pzr, mikrodiziler ve benzerleri için kullanılabileceği rapor edilmiştir. Bununla birlikte, bazı durumlarda, 16S rDNA nükleotit sekanslarındaki benzerlikler nedeniyle, *B. cereus*'un *Bacillus*'tan ve *B. subtilis*'in *Bacillus amiloliquefaciens*'ten ayırt edilmesinde büyük zorluklar vardır (Fernández-No ve ark., 2015).

*Bacillus* cinsi fenotipik olarak heterojen, fizyolojik, metabolik ve filogenetik olarak çeşitli türlerden oluşur. Bu gram pozitif, spor oluşturan bakterilerin morfolojik karakterlerine, sporülasyonlarına, çeşitli bileşiklerin kullanımı ve bozulmasına, rDNA homolojisine, DNA baz kompozisyonuna vb. dayalı olarak tanımlanması ve sınıflandırılması için pek çok çalışma yapılmıştır (Rai ve ark., 2015).

Genom içinde dağılan tekrarlayan elementlerden faydalanan bakteri tiplendirme yöntemleri (ERIC,BOX,ARDRA-PZR), genetik çeşitliliği değerlendirmek için daha kullanışlıdır. Ayrıca, bakteri gruplarının metabolik çeşitliliğinin belirlenmesi, çeşitliliği ortaya çıkarmak için tek lokus spesifik marker sistemi kullanmak yerine daha faydalı bir yöntem olabilir. Örneğin Rai ve ark.nın yaptığı çalışmada, *Bacillus* izolatlarının karbonhidrat fermantasyon özelliklerine göre sınıflanması, ARDRA-PZR sınıflandırmaları ile %100 benzerlik göstermiştir (Fernández-No, Böhme ve ark., 2015, Rai ve ark., 2015, Mohkam, Nezafat ve ark., 2016).

Bu bilgilere dayanarak BBL Crystal bakteri tamlama kiti ile 16S dizi analizinde aldığımız sonuçların farklı olmasının çok değişik bir durum olmadığını söyleyebilmektedir. *Bacillus* izolatlarının tam bir tür tanımlaması için birçok 16S dizi analizi, recA ve rpoB genleri dizi analizleri (Mohkam, Nezafat ve ark., 2016), tekrarlayan element analizleri (Fernández-No, Böhme ve ark., 2015), karbonhidrat fermentasyon özellikleri (Rai ve ark., 2015) vb. yöntemlerin bir veya birkaçının bir arada yapılması gerektiği sonucu çıkarılabilmektedir.

Çalışmamızda,79 *Enterococcus* izolatının 64'ü *BBL Crystal* bakteri tanımlama kiti ile aynı sonuçları vermişken, *BBL Crystal* bakteri tanımlama kiti ile tanımlanamayan 5 *Enterococcus spp.* suşları *E.faecium(1), E.lactis(1), E.durans(1)* ve *E.faecalis(2)* olarak tanımlanmıştır. 16S rDNA dizi analizine göre, 79 *Enterococcus* suşunun, 47'si *E. faecium, 15'i E. faecalis, 6'sı E. hirae, 3'ü E. gallinarum, 3'ü E. lactis, 3'ü E. durans ve 2'si E. avium* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.19). BBL Crystal tanımla kiti ve 16S rDNA dizi analizi ile elde edilen tanımlama sonuçları karşılaştırılırken, 15 izolatın BBL Crystal tanımla kiti ile tanımlaması, 16S rDNA sekanslaması ile uyumlu olarak bulunmamıştır.

2013-2014 yılları arasında Pekin'de çeşitli inek çiftliklerinden toplanan çiğ süt ve çevresel örneklerden, 92 *Bacillus cereus* benzeri izolat elde edilmiştir. Bunların 88'i *B.cereus,* 4'ü *B.thrungiensis* olarak 16s dizi analizi yöntemiyle belirlenmiştir (Cui ve ark., 2016). Araştırmamızda toplam 132 gıda örneğinden 83 *Bacillus* izole edilmiştir. 16 srDNA dizi analizi ile tanımlamada 28 *B.licheniformis, 7 B.subtilis, 7 B.pumilus, 2 B.safens,1 B.glycinifementans, 1 B.circulanse, 1 B. mojavensis, 1 B.thuringiensis ve 1 B.cereus* izole edilmiştir (Çizelge 4.2-4.18).

Güney Kore'de Mayıs-Temmuz 2014 tarihleri arasında çeşitli marketlerden toplanan 39 organik sebze örneğinden 30 farklı B. thrungiensis izolasyonu yapılmıştır (Kim ve ark., 2017). Bizim çalışmamızda da 132 gıda örneğinden 1 adet B. thrungiensis izolasyonu yapılmıştır (Çizelge 4.18).

Araştırmamızda 16 sRNA dizi analizi ile yapılan adlandırmada, izole edilen 79 *Enteroccus*'ta en yaygın tür *E. faecium* (n=47) ve *E. faecalis (n=15)* olarak saptanmıştır. Kasımoğlu ve ark. yaptığı çalışmaya paralel olarak *E. faecium*, Türkiye'de tavuklardan en sık izole edilen tür olduğunu bildişmiştir (Kasımoğlu Doğru ve ark., 2010). Öte yandan, bazı yazarlar *E. faecalis*'i baskın tür olarak bildirmişlerdir (McGowan ve ark., 2006; Frazzon ve ark., 2010; Aslam ve ark., 2012; Jahan ve ark., 2013; Klibi ve ark., 2013; Pasevento ve ark., 2014) (Çizelge 4.19).

Madanipour ve ark., et örneklerinden izole edilen 181 *Enterococcus* suşunu 16 sRNA analizi ile tanımlayarak 100 *E.faecium* ve 81 *E.faecalis* olarak adlandırılmıştır (Madanipour ve ark., 2017). Çeşitli gıda örneklerinden izole ettiğimiz 79 *Enterococcus* suşunun, *16S rDNA dizi analizine göre,* 47'si *E. faecium, 15'i E. faecalis, 6'sı E. hirae, 3'ü E. gallinarum, 3'ü E. lactis, 3'ü E. durans ve 2'si E. avium* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.19).

Antimikrobiyal maddelerin (antibiyotik, antiseptik ve dezenfektan) besi hayvanlarında kullanılması, et, süt ve ürünlerinin tüketilmesi yoluyla, dirençli bakterilerin insan gastrointestinal sistemine girmesine ve direnç genlerini bağırsaktaki patojenik ve patojenik olmayan bakterilere aktarmasına sebep olmaktadır (Aydın ve ark., 2011).

Ogbolu ve ark.'nın Nijerya'da 16'sı *S.aureus* 9'u KNS olmak üzere 25 *Staphylococcus* ve 25 *Enterococcus* izolatıyla disk difüzyonla yaptığı çalışmada, *Staphylococcus*'ların 11'inde tetrasiklin, 11'inde eritromisin 17'sinde gentamisin direnci belirlenmiştir. *Enterococcus*'ların ise 18'i tetrasikline dirençli bulumuş eritromisine dirençli izolat bunmamıştır. Gentamisin antibiyotiği disk difüzyon testi için 'uygulanamaz' olarak belirtilmiştir (Ogbolu ve ark. 2018). Bizim çalışmamızda, izole edilen 77 *Staphylococcus*'un 19'u tetrasiklin, 2'si eritromisin antibiyotiklerine dirençli olarak saptanırken gentamisin antibiyotiğine bütün *Staphylococcus* suşları duyarlı olarak bulunmuştur. Ayrıca izole edilen 79 *Enterococcus*'un *17*'si tetrasikline ve 64'ü eritromisine dirençli olarak saptanmıştır (Çizelge 4.3).

2010-2012 yılları arasında Kore Cumhuriyeti'nde yapılan bir çalışmada, 162 fermente soya fasulyesi ürününün 110'undan *B.cereus* izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen tüm bakterilerin penisilin ve ampisiline dirençli, gentamisin, eritromisin, tetrasiklin, kloramfenikol ve siprofloksasine duyarlı oldukları tespit edilmiştir (Kim ve ark., 2015). İzole ettiğimiz 83

*Bacillus* suşunda %38.5 ampisiline, %10.8 gentamisine, %14.5 eritromisine, %3.6 tetrasiklin antibiyotiklerine direnç saptanarak, ilgili çalışma ile paralellik sağlanmamıştır (Çizelge 4.3).

Çıtak ve Duman 2007 yılının Şubat-Temmuz ayları arasında 105 çiğ tavuk örneğinden 195 *Staphylococcus* izole etmişlerdir. Bunların 92'si *S.aureus*, 103'ü KNS olarak belirlenmiştir. *S.aureus* izolatlarının %36,9'u eritromisine, %26,2'si penisiline, %40,2'si tetrasikline, %31.5'u siprofloksasine, %2,2'si kloramfenikole, KNS izolatlarının %41,7'u eritromisine, %5'i penisiline, %29,1'i tetrasikline, %21.3'u siprofloksasine, %9,7'si kloramfenikole dirençli olarak belirlenmiştir (Citak ve Duman, 2011). Bizim çalışmamızda izole edilen *Staphylococcus*'lar %24.7'ü tetrasikline, %16.9'u ampisiline ve %2.6'sı eritromisine dirençli olarak saptanarak, bu araştırmaya göre direnç oranları daha azdır (Çizelge 4.3).

Glikopeptidler immun sistemi zayıf ya da bastırılmış bireylerde birkaç enfeksiyona karşı en son çare olarak kullanılan antibiyotiklerdir. *Enterococcus*'ların glikopeptit direnci oluşumu ve yayılımının, bir glikopeptit olan avoparsin antibiyotiğinin besi hayvanlarında büyüme ve gelişmeyi uyarıcı bir ajan olarak kullanılmasından kaynaklandığı öne sürülmektedir. Çiftlik hayvanları için özellikle tavuk yemlerinde glikopeptitlerin antimikrobiyal büyüme hızlandırıcı olarak kullanılmasıyla Avrupa'da gıda kaynaklarından, çiftlik hayvanlarından ve çevreden VRE izole edilmesi arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Devriese ve ark., 1996). Farklı ülkelerde vankomisin dirençli *Enterococcus* (VRE) görülme sıklığı, hayvancılıkta antibiyotik kullanımıyla ilgili farklı politikalardan kaynaklanıyor olabildiğini bildirilmişlerdir. İlk VRE insidansı 1988 yılında Avrupa ülkelerinde bildirilmiş ve daha sonra diğer ülkelerde sıkça saptanmıştır (Aslam ve ark., 2012; Iosifidis ve ark., 2013). Avoparsin, hayvansal üretimde bir büyüme promotörü olarak kullanılan vankomisinin benzer bir glikopeptitidir. VRE yaygınlığı, 1997'de Avrupa ülkelerinde (Barbosa ve ark., 2010) ve Türkiye'de 1999'da Türkiye'deki avoparsin kullanımının yasaklanmasının bir sonucu olarak önemli ölçüde azalmıştır (Kürekçi ve ark., 2016). Bizim çalışmamızda da VRE %2.5 oranında saptanmış olup bu oran düşük gibi görünsede halk sağlığı açısından ciddi tehlike arz ettiği düşünülmektedir (Çizelge 4.4).

Sanlıbaba ve ark.'nın (2018), 122 tavuk örneklerinden izole ettiği 97 *Enterococcus* izolatının disk difüzyon yöntemi ile yapmış olduğu çalışmada, kanamisin (%98.96), rifampisin (%80.41), ampisilin (%60.82), eritromisin (%38.1), siproflaksasin, tetrasiklin (%9.27), penisilin (%8.24), kloramfenikol (%3.09), gentamisin (%2), streptomisin (%1) antibiyotiklerine direnç saptanırken, vankomisin antibiyotiğine ilgili izolatların hepsi duyarlı olarak bulunmuştur (Sanlıbaba ve ark., 2018). Araştırmamızda, çeşitli gıda örneklerinden izole edilen 79 *Enterococcus* suşunda, %89.8 sefkuoinom, %81 eritromisin, %44.3 enroflaksasin, %21.5 tetrasiklin, %16.4 ampisilin, %10.1 vankomisin, %2.5 gentamisin antibiyotiklerine direçli olarak saptanmıştır (Çizelge 4.3).

İnek sütü ile Kang ve ark.'nın (2013), yaptıkları çalışmada, 245 *Enterococcus* izolatının %44.1 ampisiline, %79.2'si eritromisine, %76.3'ü tetrasiklin, %36.3'ü kloramfenikol direnci tespit ederken, vankomisin ve siproflaksasin antibiyotiklerine bütün suşlar duyarlı olarak saptanmıştır (Kang ve ark., 2013). Bizim çalışmamızda *Enterococcus* izolatlarından eritromisin (%81), tetrasiklin (%21.5), ampisilin (%16.4) ve vankomisin (%10.1) antibiyotiklerine direnç saptanmıştır (Çizelge 4.3).

Çeşitli kaynaklardan 1696 *E. faecalis* ve 452 *E. faecium* izolasyonu yapan Wang ve ark. (2013), yapmış olduğu çalışmada, çeşitli antibiyotiklere karşı 2002-2010 yılları arasında antibiyotik direncini araştırmıştır. Sonuç olarak *E. faecalis* türlerinde yıllara göre antibiyotik direncinde artış yok iken, *E. faecalis* türlerinde yıllara göre antibiyotik direncinde artış gözlenmekte, ayrıca vankomisin antibiyotiği direnç yıllara göre artmaktadır (Wang ve ark., 2013). İzole ettiğimiz 79 *Enterococcus* suşunda %10.1 oranında vankomisine dirençli suş saptanmıştır(Çizelge 4.3).

Çiğ ve işlenmiş etlerdeki bakteri kontaminasyonunu ve bu bakterilerin çeşitli 19 antibiyotiğe karşı antibiyotik dirençliliği araştıran Gousa ve ark. (2010), izole edilen 428 izolatın, 57'si *Enterococcus* spp. olarak tanımlamıştır. Toplam *Enterococcus* izolatının, %42.1'inin antibiyotik dirençliliği yüksek olarak tespit edilmiş ve %21.1'inin vankomisine karşı dirençli olarak tespit edilmiştir (Gousa ve ark., 2010). Bizim çalışmamızda ise *Enterococcus* izolatlarından sefkuinom (%89.8), eritromisin (%81), enroflaksasin (%44.3), tetrasiklin (%21.5), ampisilin (%16.4) ve vankomisin (%10.1) ve gentamisin (%2.5) antibiyotiklerine direnç saptanmıştır. Gousa ve ark. çalışmaları ile vankomisin direnç varlığı uyumlu sonuç göstermiştir. Gıda örneklerinden vankomisin antibiyotiğine dirençli *Enterococcus* izole edilmesinin hasta sağlığı açısından tehdit oluşturduğu bilinmektedir (Çizelge 4.3).

Çıtak ve ark. (2005), yapmış olduğu çalışmada beyaz peynir ve çiğ sütten izole edilen 158 *E. faecalis* suşunun %67'si vankomisin, %58.2'si teikoplanin, %91.1'i eritromisin, %94.9'u okzasilin, %93.7'si streptomisin antibiyotiklerine dirençli olarak saptanırken, izole edilen 76 *E. faecium* suşunun %85.5'i vankomisin, %46'sı teikoplanin, %92.1'i eritromisin, %94.7'u okzasilin, %92.1'i streptomisin antibiyotiklerine dirençli olarak saptamıştır (Çıtak ve ark., 2005).

Çıtak ve ark. (2005), yapmış oldukları çalışmada çiğ sütten izole edilen 177 *Enterococcus* izolatının antibiyotik dirençlilikleri araştırılmıştır. Bu suşların %42'si ampisilin, %68'i seftriakson, %59'u kloramfenikol, %48'i siproflaksasin, %86'sı eritromisin, %68'i gentamisin, %67'si imipenem, %95'i okzasilin, %73'ü rifampin, %97'si streptomisin, %44'ü teikoplanin, %45'i tetrasiklin, %37'si vankomisin antibiyotiklerine dirençli olarak saptamıştır (Çıtak ve ark., 2005).

Çıtak ve ark. (2004), yapmış oldukları çalışmada izole edilen *Enterococcus* suşlarının antibiyotik dirençlilikleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile saptanmıştır. Bu suşların %86.1'i vankomisin, 66.3'ü teikoplanin, %93'ü eritromisin, %89.1'i streptomisin, %43.5'i gentamisin, %88.1'i okzasilin, %30.6'sı ampisilin, %32.6'sı imipenem, %55.4'ü tetrasiklin, %79.2'si kloroamfenikol, %56.4'ü rifampin antibiyotiklerine dirençli olarak saptamıştır (Çıtak ve ark., 2004).

Bizim çalışmamızda ise çeşitli gıda örneklerinden izole edilen 79 *Enterococcus* izolatlarından sefkuinom (%89.8), eritromisin (%81), enroflaksasin (%44.3), tetrasiklin (%21.5), ampisilin (%16.4), vankomisin (%10.1) ve gentamisin (%2.5) antibiyotiklerine direnç saptanmıştır. Çıtak ve ark.'larının çalışmaları ile vankomisin direnç varlığının olması ile uyumlu sonuç göstermiştir (Çizelge 4.3).

Ge ve ark. yaptıkları çalışmada izole ettikleri 1032 *S.aureus* izolatının %0,6'sında gentamisin, %12,6'sında eritromisin %54,1'inde tetrasiklin, %69,8 penisilin direnci belirlemişlerdir (Ge ve ark., 2017). Bizim çalışmamızdaki *Staphylococcus* izolatlarında ise gentamisin ve eritromisin direnci belirlenmemiş, tetrasiklin direnci %23,4, ampisilin direnci ise %5,2 olarak belirlenmiştir. Penisilin ve ampisilin aynı grup antibiyotik olduğundan karşılaştırma yapmak uygundur. Çalışmamızda Ge ve ark. göre daha az izolat olduğu için ve yüzdeler yakın değerler gösterdiği için, bu çalışma bizim çalışmamızla eritromisin, gentamisin ve tetrasiklin açısından benzerlik, ampisilin direnci açısından farklılık göstermektedir (Çizelge 4.4).

Nijerya'da, Ogbolu ve ark.'nın klinik örneklerden izole edilen 25 *Staphylococcus* ve 25 *Enterococcus'ların* MİK yöntemi ile eritromisin antibiyotiğine direnç araştırılmış, *Staphylococcus*'ların 8'inde, *Enterococcus*'ların 7'sinde 8 µg/ml ve üstü MİK değeri belirlenmiştir (Ogbolu ve ark., 2018). Bizim çalışmamızda yapılan MİK yöntemi ile *Staphylococcus*'larda eritromisin direnci belirlenmezken, *Enterococcus*'larda 47 (%59,5) izolatta eritromisin direnci saptanmıştır (Çizelge 4.4).

2012 yılında Sudan'da ekmek mayalamada kullanılan starter kültürlerden izole edilen 85 *Bacillus* izolatı ile yapılan çalışmada, 38 *B. licheniformis* izolatının %50'si eritromisine, %63'ü kloramfenikole, 18 *B.sonorensis* izolatının %94'ü kloramfenikole dirençli bulunmuştur. Gentamisin ve tetrasikline dirençli izolat bulunmamıştır, eritromisin dirençli izolatlarda ermA, ermB, msrA ve msrB genleri negatif bulunmuştur(Adimpong ve ark., 2012). İzole ettiğimiz *Bacillus*'larda eritromisin (%8.4), gentamisin (%9.6) ve tetrasiklin (%1.2) direnci düşük oranda bulunmuştur. Eritromisin dirençli *Bacillus* izolatlarımızda ermA, msrA, msrA/B genleri negatif bulunmuşken 1 izolatta ermB geni pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.21-4.22-4.23).

Belçika'da 2012 yılında yayınlanan, 7 farklı inek çiftliğinden toplanan inek sütleri ve çevresel örneklerden izole edilen 366 KNS izolatıyla yapılan çalışmada tür tanımlamaları yapılmış, antibiyotik dirençleri ve çeşitli direnç genleri araştırılmıştır. Toplamda 22 farklı tür KNS izolatı elde edilmiştir. Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizm (AFLP) parmak izi analizlerine göre 82 izolatın olduğu bir altgrup oluşturulmuş ve bunların fenotipik ve genotipik duyarlılıkları test edilmiştir. Test edilen tüm izolatlar sefalotin ve gentamisine duyarlı, sadece 1 izolat enrofloksasine orta dirençli olarak belirlenmiştir (Piessens ve ark., 2012). Bu açıdan bu araştırma, bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Araştırmada 19 izolatta (%23,2) eritromisin direnci belirlenmiştir, bizim çalışmamızda *Staphylococcus* izolatlarında eritromisin direnci belirlenmemiştir (Çizelge 4.21).

2013-2014 yılları arasında Pekin'de çeşitli inek çiftliklerinden toplanan çiğ süt ve çevresel örneklerden, 92 *Bacillus cereus* benzeri (88 *B.cereus*,4 *B.thrungiensis*) izolat elde edilmiştir. İzolatların %98'i ampisiline, %17,4'ü tetrasikline dirençli, %25'i tetrasikline, %75'i eritromisine orta dirençli, %100'ü gentamisin ve siprofloksasine duyarlı olarak belirlenmiştir (Cui ve ark., 2016). Araştırmamızda da ampisilin (%38.6) direncinin yüksek oranda, tetrasikin (%1.2), gentamisin (%9.6) ve eritromisin (%8.4) direncinin az oranda bulunması bu araştırma ile paralellik göstermektedir (Çizelge 4.4).

Afrika'da gram pozitif koklar ile yapılan çalışmada, eritromisin dirençliliği %38 oranında saptanmıştır. (Nyasulu ve ark., 2012). Eritromisin makrolid grubunda önemli bir antibiyotik grubudur. Özellikle nazokomiyal patojenlerde tedavi edici olarak kullanılır. Eritromisin direncinin oluşma sebeplerinden bir tanesi de insan ve veteriner hekimliğinde sıkça kullanılması olarak yorumlanmıştır. (Ogbolu ve ark., 2018) Bizim çalışmamızda (%22.6) oranında eritromisin direnci yüksek oranda saptanarak Nyasulu ve ark çalışması ile paralel sonuç göstermiş olup, eritromisin antibiyotiğinin insan ve veteriner hekimlikte bilinçsizce kullanılmasından dolayı direnç oranının yüksek olduğu düşünülmektedir (Çizelge 4.4).

Klibi ve ark. yapmış olduğu çalışmada; *Enterococcus* izolatları arasında hayvancılıkta yaygın olarak kullanılan eritromisin ve tetrasiklin direncinin düşük olduğu görülmüştür (sırasıyla% 38.14 ve% 9.27) (Klibi ve ark., 2013). İzole ettiğimiz *Enterococcus*'larda Klibi'nin çalışmasından farklı olarak eritromisin (%59.5) ve tetrasiklin (%21.5) direnci yüksek saptanarak uyumlu sonuç elde edilmemiştir (Çizelge 4.4).

Klinik örneklerden Lins ve ark.'nın izole ettiği 20 *E.faecalis* suşunda vankomisin antibiyotiği duyarlı olarak saptamıştır (MIC≥4). 14 izolatta tetrasiklin antibiyotiğine dirençli (MIC≥64) olarak saptanmıştır(Lins ve ark., 2013). Bizim çalışmamızda vankomisin antibiyotiğine direnç (%2.5) bulunarak Lins'in sonuçları ile paralellik göstermezken, tetrasiklin antibiyotiğine direnç (%21.5) saptanarak bizim sonuçlarımızla paralellik göstermiştir(Çizelge 4.4).

Dünya sağlık örgütüne göre (WHO) *Enterococcus* ve *E.coli* nin içme suyundaki varlığı fekal kirlenmenin indikatörü olduğunu bildirmiştir. Nam ve ark. (2013), su örneklerinden izole edilen *Enterococcus spp. t*ürlerinde PCR ile saptaması yapılarak suda fekal kirlenmenin varlığı araştırılmış ve siproflaksasin, eritromisin, streptomisin, teikoplanin antibiyotiklerine

direnç saptanırken vankomisin antibiyotiğine duyarlı olarak bulunmuştur (Nam ve ark., 2013).

Peynir örnekleri ile Pienz ve ark.(2015)'nın yaptığı çalışmada izole edilen *Enterococcus*'larda antibiyotik direnç genleri ve virülens faktörleri araştırılmıştır. Eritromisin, tetrasiklin, vankomisin, gentamisin antibiyotiklerine hepsi duyarlı ve direnç genleri saptanmamıştır (Pienz ve ark., 2015). Araştırmamızda, (%59.5) eritromisin, (%54.4) sefkuinom, (%21.5) tetrasiklin, (%12.6) enrofloksasin, (%2.5) vankomisin, (%1.3) ampisilin antibiyotiklerine direnç saptanarak, *msrA, msrA/B,ereA,mefA, tetK, tetL,vanA,vanB, bal ve mecA* antibiyotik direnç genleri bulunmuştur (Çizelge 4.4-4.21-4.22).

Shrihari ve ark.(2011), klinik örneklerden izole edilen 54 *Enterococcus* suşun %46.29 siproflaksasin, %31.48 ampisilin, %29.62 penisiline dirençli bulunurken, bütün suşlar vankomisin antibiyotiğine (MIC≥4) duyarlı olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda eritromisin (%59.5) yüksek oranda bulunurken tetrasiklin (%21.5) oranında direnç saptanmıştır. Ayrıca 2 suşta (%2.5) vankomisin direnci saptanmıştır (Çizelge 4.4).

Giraffa ve ark. (2002), İsveç'te perakende satışa sunulan tavuklardan izole edilen *Enterococcus* türlerinde tetrasiklin, eritromisin ve vankomisin gibi antibiyotiklere karşı direnç tespit edildiğini ve basitrasin, kloramfenikol, eritromisin, gentamisin, penisilin, rifampisin, tetrasiklin ve streptomisin antibiyotiklerine karşı dirençli *Enterococcus* türlerinin dilimlenmiş et, sucuk, biftek, domuz eti ve çiğ etlerden izole edildiğini bildirmiştir (Giraffa ve ark., 2002).

2011-2013 yılları arasında klinik örneklerden 96 *Enterococcus* izolasyonu yapan Bhatt ve ark. (2015), ilgili izolatların 14'ü (%14.6) vankomisin antibiyotiğine dirençli (VRE) olarak saptanmıştır (MIC≥32). Ayrıca 14 VRE izolatlarının tamamında *vanA* geni saptanmıştır (Bhatt ve ark. 2015). İzole ettiğimiz 79 *Enterococcus* izolatının 2'sinde MIC yöntemi ile vankomisin antibiyotiğine direnç saptanırken (Çizelge 4.4), Çizelge 4.22'de belirtildiği gibi *vanA* (1 izolat) ve *vanB* (1 izolat) genleri saptanarak bizim çalışmamızla uyumlu sonuç elde edilmiştir.

Kara ve ark. (2015), klinik örneklerden izole edilen %1.55 oranında vankomisin dirençli *Enterococcus (VRE)* tespit etmiş ve bu oranın hastane enfeksiyonu için yüksek oranda olduğunu bildirmiştir. (Kara ve ark., 2015). Erdem ve ark. (2004), hastanede yatan hastalardan izole edilen 17 *Enterococcus faecalis* ve 10 *Enterococcus faecium* suşunun aminoglikozidlere karşı yüksek derecede dirençli olduğunu tespit etmişlerdir (Erdem ve ark., 2004). Kara ve Erdem'in çalışmaları ile uyumlu olarak, bizim çalışmamızda vankomisin direnci %2.5 oranında saptanmıştır (Çizelge 4.4).

Biyositler (antiseptik ve dezenfektanlar), sağlık, gıda gibi sektörlerde ortamlardaki mikroorganizma yükünü ciddi oranda azaltarak kabul edilebilir sağlık standartları oluşturabilmek için kullanılmaktadırlar. Bu maddeler düşük konsantrasyonlarda bile birçok bakteri, mantar ve virüs türüne etki etmektedir. Fakat biyositlerin etkinliği birçok faktörden etkilenmektedir, bunlar, doğru konsantrasyon, ortamdaki organik madde ve oksijen oranı, biyodegredasyon gibi faktörlerdir. Bu faktörler doğru ayarlanmadığında biyositlerin etkinliği azalabilmekte veya tamamen kaybolabilmektedir. Bakterilerin biyositlerle uygun olmayan koşullarda sürekli karşılaşmaları, antimikrobiyal ajanlara direnç, çapraz direnç veya ortak direnç geliştirmelerine sebep olmaktadır (Gadea ve ark., 2017).

Hughes ve Ferguson'un 198 klinik S.aureus izolatı ve agar dilüsyon metodu ile yaptığı çalışmada, klorhekzidin maddesinin MİK değer aralıkları 0,5-8 mg/L, triklosan MİK değer aralıkları ise <0,06-16 mg/L olarak belirlenmiştir (Hughes ve Ferguson, 2017). Bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında (Çizelge 4.5-4.12) *Staphylococcus* izolatlarının klorhekzidinde biraz daha yüksek MİK değeri gösterdiği, triklosanda ise bizim elde ettiğimiz MİK değerlerinin çok daha yüksek (5 izolatta 512 µg/ml, 2 izolatta 128 µg/ml gibi) olduğunu görmekteyiz. Bu sonuç, gıda ve hayvancılık sektörlerinde biyosidal maddelerin bilinçsiz ve

kontrolsüz olarak kullanılıyor olabileceğine işaret etmektedir (Çizelge 4.5).

İspanya'da küçük orta işletmelerde üretilen çeşitli peynirlerden izole edilen, içinde *Bacillus*, *Enterococcus* ve Laktik asit bakterileri bulunan 80 gram pozitif bakteri ile yapılan çalışmada, benzalkonium klorid MİK değerleri 2,5-50 mg/L, triklosan MİK değerleri 2,5-7,5 mg/L, hekzaklorofen MİK değerleri 5-10 mg/L arasında belirlenmiştir (Márquez ve ark., 2017). Benzalkonium klorid MİK değerleri bizim çalışmamızla benzerlik göstermiş olmasına rağmen, triklosan ve hekzaklorofen MİK değerleri bizim çalışmamızda çok daha yüksek belirlenmiştir. Marquez ve ark. makalelerinde bu değerlerin azalmış biyosit duyarlılığına işaret ettiğini belirtmişlerdir. Bu sebeple bizim çalışmamızdaki izolatlarda da ciddi şekilde azalmış biyosit duyarlılığı olduğu söylenebilmektedir (Çizelge 4.5).

Aykan ve ark.nın 2013 yılında hastane enfeksiyonu etkeni, metisilin dirençli 69 *S. aureus* izolatıyla yaptıkları çalışmada, izolatların benzalkonium klorür ve klorhekzidin MİK değerlerini 2-4-8 µg/ml aralığında belirledikleri görülmüştür (Aykan ve ark., 2013). Bizim sonuçlarımızda *Staphylococcus* izolatlarında benzalkonyum klorürde 1 izolatta 128 µg/ml olmasına rağmen diğer izolatların MİK değer aralıkları 0,5-4 µg/ml, klorhekzidin de de yine 1 izolatta 32 µg/ml olmasına rağmen diğer izolatların MİK değer aralıkları 0,5-4 µg/ml bulunmuştur. Bu sebeple sonuçlarımızın paralel olduğu söylenebilmektedir (Çizelge 4.5).

2014 yılında Lübnan'da bölgesel bir hastanenin çeşitli bölgelerinden izole edilen 86 gram pozitif bakterinin biyosidal direnci çalışılmıştır. Biyositlerin piyasada kullanılan konsantrasyonları baz alınarak seri dilüsyon yapılıp 24-48 saatte üremeleri MİK yöntemi ile incelenmiştir. 31 *S.aureus* izolatının %12,9'u kuaterner amonyum bileşiği içeren dezenfektana, %20,1'i sodyum hipokloride dirençli olarak bildirilmiş, povidon iyodine direnç bulunmamıştır.31 KNS izolatının %6,5'i kuaterner amonyum bileşiği içeren dezenfektana, %6,5'u sodyum hipokloride dirençli olarak bildirilmiş, povidon iyodine direnç bulunmamıştır. 16 *Bacillus* izolatının %31,3'ü kuaterner amonyum bileşiği içeren dezenfektana, %31,3'ü povidon iyodine, %25'i sodyum hipokloride dirençli olarak bildirilmiştir (Jomha ve ark., 2014).

Braga ve ark. (2013), domuz yetiştirilen topraktan izole edilen 150 *Enterococcus*'ta, en yüksek sıklıkla *E.faecalis, E.faecium, E.hirae, E.casseliflavus, E.gallinarum, E.raffinosus, Enterococcus spp*. suşları izole edilmiştir. İlgili izolatlardan 41'inde vankomisin antibiyotiğine direnç saptanarak. *vanA* ve *vanB* genleri tespit edilmiştir. Ayrıca %6'sında yüksek CHX ve BC biyosit duyarlılığı tespit edilmiştir. Vankomisin ile birlikte BCve CHX 'e dirençli suşların tespit edilmesi halk sağlığı açısından büyük tehlike oluşturacağı vurgulanmıştır (Braga ve ark., 2013). Bizim çalışmamızda %2.5 oranında vankomisin direnci tespit edilmiş olup (Çizelge 4.4), *vanA* ve *vanB* genleri saptanmıştır (Çizelge 4.22). Ayrıca ilgili çalışma ile uyumlu olarak BC (4-512 µg/ml) ve CHX (0.5-512 µg/ml) duyarlılığı yüksek oranda saptanmıştır (Çizelge 4.5).

Organik gıdalardan izole edilen 378 gram pozitif ve negatif bakteride, Fuentes ve arkadaşları (2012) antibiyotik ve biyosit direnci araştırmıştır. Çalışma sonucunda bakterilerde, sefuroksim, amoksisilin ve eritromisin antibiyotiklerine yüksek direnç bulunmuştur. Test ettikleri biyositlere (triklosan,benzalkolyum klorid,hekzadesilpiridinum klorid, hekzaklorhekzidin, setrimid) yüksek MİK değeri gösteren 36 izolatın en az bir antibiyotiğe dirençli olduğu ve birkaç biyosite birden yüksek MİK gösteren izolatların da antibiyotiklere daha dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda, organik gıdaların antibiyotik dirençli bakteriler için bulaş kaynağı olabileceğini ve biyosit direncinin antibiyotik dirençli bakterilerin artmasını kolaylaştırabildiğini ileri sürmüşlerdir (Fuentes ve ark., 2012).

Bhardwaj ve ark.(2018), vankomisine dirençli *Enterococcus* (VRE) suşlarında klorhekzidin biyositine 21 gün periyotlar ile duyarlılığının azaldığını saptamıştır. MIC değeri 2.9 µg/ml'den 19.6 µg/ml'a yükselmiştir. Ayrıca efluks pompa geni olan *efrE* saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda izole edilen *Enterococcus* suşlarında klorhekzidine duyarlılık MIC 0.5-512 µg/ml aralığında yüksek oranda saptanarak ilgili çalışma ile paralellik saptanmıştır (Çizelge 4.5). Ayrıca çalışmamızda efluks pompa genleri varlığı, toplam 79 *Enterococcus* izolatının 16 (%31.4)'sinde qacA/B, 9 (%17.7)'inde acrB, 37 (%72.5)'inde norE, 37 (%72.5)'inde sugE, 35 (%68.6)'sında efrA, 38 (%74.5)'inde efrB, 18 (%35.3)'sinde mdeA, 2 (%3.9)'inde norB, 13 (%25.5)'unda sepA geni bulunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.24).

Araştırmamızda izole edilen ampisilin ve tetrasiklin dirençli *Staphylococcus* izolatlarında, sodyum hipoklorit (781-25000 µg/ml), povidon iyodin (6250-50000 mg/l) ve triklosan (128-512 µg/ml) biyositlerine yüksek MİK değerleri belirlenmiştir. Hekzaklorofen (1 izolat 512 µg/ml, diğerleri hassas), klorhekzidin (0,5-1 µg/ml) ve benzalkonyum klorit (0,5-1 µg/ml) biyositlerine genelde düşük MİK değerleri göstermişlerdir fakat yüksek MİK gösteren az sayıdaki izolatın tetrasiklin dirençli olduğu görülmektedir (Çizelge 4.5).

Ampisilin, eritromisin, tetrasiklin, gentamisin ve sefkuinom antibiyotiklerine dirençli *Bacillus* izolatlarında, *Staphylococcus* izolatlarının sonuçlarına benzer olarak sodyum hipoklorit (1563-25000 µg/ml), povidon iyodin (6250-50000 mg/l) ve triklosan (14 izolatta 512 µg/ml) biyositlerine genel olarak yüksek MİK değerleri belirlenmiştir. Tetrasiklin dirençli bulunan 1 *Bacillus* izolatının test edilen tüm biyositlere yüksek MİK değeri gösterdiği belirlenmiştir. *Bacillus* izolatlarının hekzaklorofene genellikle duyarlı oldukları fakat MİK değeri belirlenen 11 izolatın 8'inin test edilen en yüksek konsantrasyona (512 µg/ml) dirençli olduğu gözlenmiştir. Klorhekzidin (1-32 µg/ml) ve benzalkonyum klorit (1-8 µg/ml) dezenfektanlarının MİK değerlerinin test edilen konsantrasyonlar için orta dirençli diyebileceğimiz sınırlarda olduğu görülmektedir (Çizelge 4.5).

Çalışmamızda eritromisin (%59.5), sefkuinom (%54.4), tetrasiklin (%21.5) dirençli *Enterococcus* izolatlarında sodyum hipoklorit (781µg/ml-50 mg/ml ) ve povidin iyodin (6250 mg/l-50g/l) biyositlerine yüksek MİK değeri görülmüştür. Ayrıca izole edilen 2 vankomisin dirençli *Enterococcus*'un bir izolatında sodyum hipoklorit (12500mg/ml) ve diğer izolatında povidin iyodin (12500µg/ml) MIK değeri yüksek olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5).

Rezerpin, özellikle Gram pozitif bakterilerde bulunan birçok efluks pompa proteinin çalışmasını yarışmalı inhibisyon yoluyla engelleyen bir alkoloiddir. *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Listeria* gibi birçok bakteride etkinliği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Li ve ark., 2016). Günümüzde antimikrobiyal direnci azaltmada aktif olarak kullanılmamasına rağmen araştırmalar için umut vadeden bir etken madddedir. Araştırmalarda, çoklu antibiyotik direnci gösteren bakterilerde ortama rezerpin eklenmesi ile MİK değerinin 4 kat ve daha fazla oranda düşmesi, rezerpin etkinliğinin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Gibbons ve Udo, 2000).

Araştırmamızda *Staphylococcus* ve *Bacillus* izolatlarından, ampisiline dirençli 23 izolattan 7'sinde, eritromisine dirençli 7 izolatın hepsinde, tetrasikline dirençli 19 izolatın 5'inde, gentamisine dirençli 8 izolatın 2'sinde, sefkuinoma dirençli 21 izolattan 8'inde, rezerpin eklendikten sonra MİK değeri 4 kat ve daha fazla azalmıştır (Çizelge 4.12). Bu sonuç bu izolatlarda rezerpin duyarlı efluks pompası proteinlerinin bulunduğunu düşündürmektedir.

Gibbons ve Udo'nun 2000 yılında yaptıkları çalışmada, yüksek tetrasiklin direnci gösteren ve tetK geni pozitif olduğu belirlenen 2 farklı klinik MRSA izolatının (MİK: 128 µg/ml) MİK değerlerinin ortama 10 µg/ml rezerpin eklendikten sonra gözle görülür bir miktarda (MİK:32 µg/ml) azaldığı belirtilmiştir (Gibbons ve Udo, 2000). Bizim çalışmamızda da tetrasiklin dirençli *Staphylococcus* izolatlarında tetK geni pozitifliği tespit edilmiş (%88,9) (Çizelge 4.22), rezerpinin de tetrasiklin MİK değerini %27,8 oranında 4 kat ve üzeri olacak şekilde azalttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Efluks pompalarının bakteri biyofilmlerinde önemli olduğu ve biyofilm yapılarında antimikrobiyal direncinden sorumlu mekanizmalardan

biri olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda *Staphylococcus* ve *Bacillus* izolatlarının, toplamda 10'unda sodyum hipoklorit, 4'ünde hekzaklorofen, 9'unda klorkekzidin, 20'sinde triklosan, 13'ünde povidon iyodin, 3'ünde benzalkonyum klorit için MİK değerlerinde 4 kat ve daha fazla azalma görülmüştür (Çizelge 4.16). Bu sonuçlar bu izolatlarda rezerpin duyarlı efluks pompası proteinlerinin bulunduğunu düşündürmektedir. Çizelge 4.16'daki yüzdeler incelendiğinde rezerpinin % 24,7 ile en çok triklosanda duyarlılığı arttırdığı, %16, %12,3 ve %11,1 ile povidon iyodin, sodyum hipoklorit ve klorhekzidinin sırasıyla onu takip ettiği görülmektedir.

Fuentes ve ark. 2014 yılında organik gıdalardan izole edilen 11 *Bacillus*, 25 *Enterococcus* ve 10 *Staphylococcus* izolatıyla yapılan çalışmada, çeşitli biyosidal maddelerin MİK değerleri, bizim çalışmamızda olduğu gibi, ortama 25 µg/ml rezerpin eklendiğinde, benzalkonyum klorid için 4 izolatta, hekzaklorofen için 14 izolatta, klorhekzidin için 19 izolatta, triklosan için 2 izolatta 4 kat ve daha fazla azalmıştır (Fuentes ve ark., 2014). Bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir (Çizelge 4.16).

Çalışmamızda *Enterococcus* izolatlarında, eritromisine dirençli 47 izolatın 26'sında, sefkuinoma dirençli 43 izolatın 5'inde, tetrasikline dirençli 17 izolatın 3'ünde, vankomisine dirençli 2 izolatın 2'sinde, ampisiline dirençli 1 izolatın 1'inde, rezerpin eklendikten sonra MİK değeri 4 kat ve daha fazla azalmıştır (Çizelge 4.12). Bu sonuç bu izolatlarda rezerpin duyarlı efluks pompası proteinlerinin bulunduğunu düşündürmektedir.

Araştırmamızda 79 *Enterococcus* izolatının, 8'i sodyum hipoklorite, 8'i klorkekzidine, 8'i triklosana, 5'i hekzaklorofene, 6'sı benzalkonyum klorit ve 1'i povidon iyodin için MİK değerlerinde 4 kat ve daha fazla azalma görülmüştür (Çizelge 4.16). Bu sonuçlar bu izolatlarda rezerpin duyarlı efluks pompası proteinlerinin bulunduğunu düşündürmektedir.

Seasotiya ve ark. (2014) yapmış olduğu çalışmada, Efluks pompa sisteminin antimikrobiyal dirençlilikte önemli bir mekanizma olduğu ve antimikrobiyallere karşı çoklu direnç sağladığını bildirmiştir. Siproflaksasin ve oksasilin antibiyotiklerine dirençli suşlarda inhibitör olarak piperin ve plumbeg kullanmış olup izole ettiği 17 *Enterococcus* suşunda ilgili inhibitörlere herhangi bir etki saptayamazken, 6 *Bacillus* suşunun 5'inde, 5 *Staphylococcus* suşunun 3'ünde ilgili inhibitörlerin etkisini saptamıştır (Seasotiya ve ark., 2014). Bizim çalışmamamızda inhibitör olarak rezerpin kullanılmış olup, *Staphylococcus, Bacillus ve Enterococcus* izolatlarından, ampisiline dirençli 24 izolattan 8'inde, eritromisine dirençli 54 izolatın 33'ünde, tetrasikline dirençli 36 izolatın 8'inde, gentamisine dirençli 8 izolatın 2'sinde, sefkuinoma dirençli 64 izolattan 13'inde, vankomisine dirençli 2 izolatın 2'sinde**,** rezerpin eklendikten sonra MİK değeri 4 kat ve daha fazla azalmıştır (Çizelge 4.12). Çalışmamızda *Staphylococcus, Bacillus* ve *Enterococcus* izolatlarının, toplamda 18'unda sodyum hipoklorit, 9'ünde hekzaklorofen, 17'unda klorkekzidin, 28'sinde triklosan, 14'ünde povidon iyodin, 3'ünde benzalkonyum klorit için MİK değerlerinde 4 kat ve daha fazla azalma görülmüştür (Çizelge 4.16).

Eritromisin direnci birçok mekanizma ile gelişebilmektedir. Bunlardan en sık görüleni 23S rDNA metilazı kodlayan *erm (ermA, ermB, ermC*) genlerinin mutasyonudur. Bir diğer mekanizma ise makrolid efluks pompa genleri *(msrA, msrB, mefA*) bulundurmadır (Ogbolu ve ark., 2018). Çalışmamızın sonuçlarına göre eritromisin dirençli *Bacillus* izolatlarının 1 (%16,7)'inde *ermB* geni pozitif bulunurken, eritromisin dirençli *Enterococcus* izolatlarında ise msrA (24,%64,9), msrA/B (1,%2,7), ereA (3,%8,1),ve mefA (9,%24,3) genleri pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.21). tetK ve tetL genleri plazmidlerde kodlanan, $Na^+$ ($K^+$)/ $H^+$ pompası ile enerji sağlayan tetrasiklinlere direnci sağlayan proteinleri kodlamaktadır. Bu genleri taşıyan *Staphylococcus*'ların aynı zamanda $Na^+$ stresi, alkali stresi vb. dış streslere dayanıklı olduğu bildirilmiştir. *bla*, beta laktamaz enzimini, *mecA*, ise alternatif bir penisilin bağlama proteinini (PBP) kodlayan genlerdir. Bunlar en çok çalışılmış beta laktam antibiyotiklere

direnç sağlayan genlerdir (Andersen ve ark., 2015). *aac (6_)-le-aph(2_)-la, aph(2'_)-lb, aph (2'_)-lc ve aph(2'_)-ld* aminoglikozit grubu antibiyotiklere direnci sağlayan enzimleri kodlayan genlerdir. *Enterococccus*'larda iyi çalışılan bu genler diğer Gram pozitif bakterilerde de bulunmuştur (Vakulenko ve ark., 2003). Ayrıca *Enterococcus*'larda vankomisin antibiyotiğine direnç sağlayan *van* genleri genellikle plazmidler veya transpozonlarda yerleştiği ve böylece horizontal gen transferi ile yayılmalarının kolaylaştırılacağı ileri sürülmüştür. En yaygın direnç genleri *vanA* ve *vanB* olduğu ve insan ve diğer habitatlara aktarılabilir olduğu bildirilmiştir (Filaz ve ark., 2015).

Bakterilerde kazanılmış antimikrobiyal direnci, birkaç mekanizma ile gerçekleşmektedir fakat bu mekanizmalrın en önemlisi ilaçların dışarı pompalanmasını sağlayan efluks pompa proteinleridir. Efluks pompa proteinleri, 7 farklı süper aileye ayrılmış, yüzlerce farklı basit veya kompleks yapıdaki proteinlerden oluşmaktadır. Bakterilerde bu proteinlerden bir veya birkaçının bulunması ya da bu proteinlerin aşırı ifade edilmesi dirence sebep olmaktadır. Araştırmamızda, bu proteinleri kodlayan genlerin Gram pozitif bakterilerde en çok bilinenleri seçilerek çalışılmıştır.

Aykan ve ark.nın 2013 yılında hastane enfeksiyonu etkeni, metisilin dirençli 69 *S. aureus* izolatıyla yaptıkları çalışmada, izolatların benzalkonyum klorür ve klorhekzidin dezenfektanlarına duyarlılıklarının azalmış ve 8 (%11,6) izolatın *qacA/B* geni pozitif olduğu bulunmuştur (Aykan ve ark., 2013). Bizim *Staphylococcus* izolatlarımızın sonuçları ile karşılaştırıldığında *qacA/B* pozitif 1 izolatımız olduğu ve yüzde olarak (%3.4) daha az olduğu söylenebilmektedir (Çizelge 4.24).

2006-2010 yılları arasında Nakipoğlu ve ark.'nın topladıkları 50 MRSA,50 MSSA olmak üzere 100 klinik izolatla yaptıkları çalışmada, MRSA suşlarının 18'inde (%36) *smr* geni, MSSA suşlarının 2'sinde(%4) *qacA/B g*eni saptamışlardır. MRSA suşlarında *qacA/B,* MSSA suşlarında *smr* geni bulunamamıştır (Nakipoğlu ve ark., 2012). Bizim *Staphylococcus* izolatlarımızda da *qacA/B* geni (%3.4) az bulunmuşken, *smr* geni %86,2 oranında bulunmuştur (Çizelge 4.24).

Fernandes-Fuentes ve ark.nın 2014 yılında organik gıdalardan izole ettikleri 46 gram pozitif bakteri (11 *Bacillus*, 25 *Enterococcus* ve 10 *Staphylococcus*) ile yaptıkları çalışmada, ABC pompa grubundan *efrA ve efrB* genleri yüksek oranda pozitif bulunmuştur. QAC grubundan qacA/B ve smr sadece 2 *Bacillus* izolatında pozitif bulunmuştur. *sugE* geni 5, *mepA* 7, *sepA* 3, *norE* 2, *mdeA* 1 izolatta, *acrB* geni tüm izolatlarda pozitif bulunmuştur (Fuentes ve ark. 2014). Bizim çalışmamızda *da efrA* ve *efrB* genleri sırasıyla (%65.2) ve (%68.9) oranında yüksek saptanmıştır. Ayrıca *qacA/B Satphylococcu*s (%3.4) *Bacillus* (%9.6) ve *Enterococcus* (%31.4) suşlarında düşükte olsa saptanmıştır. Toplam 132 izolatta (83 *Bacillus*, 79 *Enterococcus* ve 77 *Staphylococcus) sugE* geni 58, *mepA* 3, *sepA* 30, *norE* 88, *mdeA* 50 izolatta, *acrB* geni 28 pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.24).

Kang ve ark.'nın (2013), inek sütü ile yaptıkları çalışmada 254 *Enterococcus* suşunun %82.1'i MFS ailesinden *eme (A)* genine, %72.7'si ABC ailesinden *efrA* genine, %77.1'i ABC ailesinden *efrB* genine, %71.8'i ABC ailesinden *Isa* geni tespit edilirken *Enterococcus* türlerinde efluks pompa varlığının olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda *efrA* geni %72.7 ve *efrB* geni %77.1 oranında saptanarak ilgili çalışma ile uyumlu sonuç saptanmıştır (Çizelge 4.24).

Lerma ve ark., (2014), hayvansal ve bitkisel çeşitli fermente gıdalardan izole edilen *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarının biyosid ve antibiyotik dirençlilikte efluks pompa genleri taranmıştır. ABC ailesinden efrAB genleri *E. faecalis* suşlarında %100 tespit edilirken, *E. faecalis* suşlarında %12 oranında tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ABC gen ailesinden efrA geni %65.4 oranında ve efrB geni %68.9 oranında saptanmıştır (Çizelge 4.24).

Hastane enfeksiyonu etkeni olan MRSA suşlarında PZR yöntemi ile %11.6 (8/69) oranında *qac*A/B geni pozitifliği saptanmış; klorhekzidin ve benzalkonyum klorur solüsyonunun %1'lik konsantrasyonları gerek *qac*A/B geni taşıyan gerekse yüksek MİK (≥ 2 µg/ml) değerlerine sahip MRSA suşlarının hepsi için bakterisidal etkili bulunmuş; buna göre direnç genlerinin varlığının ve artmış MİK değerlerinin direnç fenotipine yansımadığı sonucuna varılmıştır (Aykan ve ark., 2013).

Et üretim zincirinden Rizzotti ve ark. (2016)'nın izole ettiği 9 *E.faecalis* ve 12 *E.faecium* suşlarının biyosit ve antibiyotik dirençliliği çalışılmıştır. Biyositlere duyarlılığı azalmış ve antibiyotik dirençliliği yüksek oranda tespit edilmiştir. Efluks pompa sistemi genleri çalışılmış olup *E.faecium'*da *qacA/B* geni saptanmıştır. Son zamanda antibiyotik ve biyosit dirençliliği arasındaki ilişki kaygı oluşturmasına rağmen ilgili çalışmada aradaki ilişki ılımlı bulunmuştur (Çizelge 4.24).

Ignak ve ark.(2017) gram pozitif koklarda (69 *Staphylococcus* ve 69 *Enterococcus*) *qacA/B, smr, qacG, qacH, qacJ* genleri çalışıldı. *Staphylococcus* izolatlarında antimikrobiyal direnç genleri %71 oranında saptanırken *Enterococus* izolatlarının hiçbirinde ilgili efluks genleri saptanamamıştır. *Staphylococcus*'larda yüksek oranda *smr* geni (%86.2) saptanırken, *qacA/B (%3.4)* oranında saptanmıştır (Çizelge 4.24).

Nijerya'da 25 klinik *Enterococcus* izolatıyla yapılan çalışmada, eritromisin dirençli olarak belirlenen 7 izolatın hiç birinde *ermA, ermB, mefA* ve *msrA* genleri konvansiyonel pzr ile bulunamamıştır. 6 izolatta ise *msrB* geni bulunmuştur (Ogbolu ve ark., 2018). Bu çalışma ermA ve ermB geni bulunamaması açısından bizim çalışmamızla benzerlik göstermesine rağmen, bizim izolatlarımızda msrA (%55.8), msrA/B (%2.3) ve mefA (%20.9) genleri bulunması sebebiyle çalışma uyumlu değildir (Çizelge 4.21).

Ogbolu ve ark. (2018), 25 *Staphylococcus* ve 25 *Enterococcus* izolatları ile yapmış olduğu çalışmada, eritromisin direnç genleri olan *mefA* ve *ermA* tespit edilmezken, *ermB, ermC, msrA, msrB* genleri saptanmıştır. *S. aureus* suşlarında *ermC* geni yüksek oranda tespit edilirken (%62.5), daha az sıklıkla *msrB* (%50), *msr*A (%18.8) genleri saptanmıştır. *Enterococcus* suşlarında *ermC* geni yüksek sıklıkla (%92) saptanmış olup, *msrB* (%24) geni daha az sıklıkla saptanmıştır. e*rmA, ermB, msrA* ve *mefA* geni saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda *Enterococcus*'larda yüksek sıklıkta *msrA* geni (24) daha sonra *mefA* (9)*, ereA* geni (3) ve *msrAB* (1) genleri saptanmış olup *ermA, ereA* genleri bulunmamıştır. *Staphylococcus'*larda ise ilgili genlerin hiçbiri saptanamamıştır(Çizelge 4.21). Ayrıca *Enterococcus* izolatlarında efluks pompa genleri olan qacA/B (%31.4), acrB (%17.7), norE (%72.5), sugE (%72.5), efrA (%68.6), efrB (%74.5), mdeA(%35.3), norB (%3.9), sepA(%25.5) oranında saptanmıştır. *Staphylococcus* izolatlarında efluks pompa genleri olan qacA/B (%3.4), acrB (%31), norE (%79.3), sugE (%44.8), efrA (%79.3), efrB (%72.4), mdeA(%82.8), norB (%27.6), sepA(%51.7), smr(%86.2), mepA (%10.3), norA (%24.1) oranında saptanmıştır(Çizelge 4.24). Bu genlerin gıdalarda bulunan bakterilerdeki prevalansı ve antimikrobiyal direnci ile ilişkisinin belirlenmesi, antimikrobiyal direncinin yayılımının engellenmesi için büyük önem taşımaktadır.

Duran ve ark., yapmış olduğu çalışmada 298 Gram pozitif kokların 165'i eritromisin antibiyotiğine dirençli olarak saptanmıştır. Ayrıca e*rmA, ermB, ermC* ve *msrA* genleri tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda *Enterococcus* suşlarında *msrA (%64.9)* geni saptanmış olup (Çizelge 4.21) Duran ve ark. çalışmasında bulunan diğer genlerin varlığı bulunamamıştır (Duran ve ark., 2012).

2012 yılında yayınlanan, Belçika'da 7 farklı inek çiftliğinden toplanan inek sütleri ve çevresel örneklerden izole edilen 366 KNS izolatıyla yapılan çalışmada tür tanımlamaları yapılmış, antibiyotik dirençleri ve çeşitli direnç genleri araştırılmıştır. Toplamda 22 farklı tür

KNS izolatı elde edilmiştir. Bu izolatlarda *mecA* (metisilin direnci) geni %11,7 (43/366) oranında pozitif bulunmuştur (Piessens ve ark., 2012). Bizim çalışmamızda ise 13 beta laktam dirençli *Staphylococcus* izolatının 1'inde (%7,7) *mecA* geni pozitif olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.22).

Klinik örneklerden Moura ve ark.(2013)'nın izole ettiği 71 *Enterococcus* izolatının 22'sinde eritromisin direnç genleri (*ermB, ermC*) ve tetrasiklin direnç genleri (*tetM, tetL*) saptanmıştır. Klinik örneklerden direnç genlerine sahip bakterilerin varlığı küresel bir problem haline geldiğini bildirmiştir. Bizim araştırmamızda *ermA ve ermB* genleri saptanmamış olup *tetL* geni %35.3 oranında bulunmuştur (Çizelge 4.21).

43 hastadan Lins ve ark. (2013)'ı 20 *Enterococcus* izolasyonu yaparak tetrasiklin antibiyotiğine direnç geni olan *tetM* (%60) ve *tetL* (%20) genlerini saptarken vankomisin ve eritromisin direnç geni bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda izole edilen 79 *Enterococcus* suşunda tetrasiklin direnç geni olan *tetL* (%35.3), vankomisin direnç geni *vanA* (%50), *vanB (%50*) ve eritromisin direnç genleri *msrA (%*64.9), *msrA/B(%2.7), ereA (%*8.1) oranında saptanmıştır (Çizelge 4.21).

Ünal ve ark. svap örneklerinden izole edilen 400 vankomisine dirençli *Enterococcus* (VRE) suşlarının yalnızca 1 tanesinde *vanA* geni saptandı. VRE'nin hastane enfeksiyonlarından izolasyon sıklığının artması ve hayvanlardan olduğu kadar hayvansal gıdalardan da izole edilmeleri bu bakteriye verilen önemin bütün dünyada artmasına neden olduğunu bildirmiştir (Ünal ve ark. 2010).

Yılmaz ve ark. (2016), 105 (103 *E.faecalis*, 1 *E. hirae*, 1 *E. faecium*), kırmızı et örneklerinden 100 (100 *E.faecalis*) olmak üzere 205 *Enterococcus* izolasyonu yapmıştır. 205 izolatın 5'inde vankomisin direnci (VRE) saptanarak *vanA, ermB, tetM, tetL* direnç genleri tespit edilmiştir. Türkiye de yapılan çalışmada gıda örneklerinde vankomisin direncine sahip *Enterococcus* türlerinin tespit edilmesi halk sağlığı açısından büyük tehlike olduğunu vurgulamaktadır. Çeşitli gıda örneklerinden izole ettiğimiz 79 *Enterococcus* suşlarında %2.5 oranında vankomisin direnci saptanarak*, msrA (%64.9), msrA/B (%2.7), ereA (%8.1), mefA (%24.3), tetK (%11.8), tetL (%35.3), vanA (%50) ve vanB* (%50) genleri bulunmuştur (Çizelge 4.21).

Fuentes ve ark.nın 2014 yılında organik gıdalardan izole ettikleri 46 gram pozitif bakteri (11 *Bacillus*, 25 *Enterococcus* ve 10 *Staphylococcus*) yaptıkları çalışmada, gentamisin direnç genlerinden aac (6_)- le-aph(2_)-la 5, aph(2'_)-lb 1, aph(2'_)-ld 4 izolatta pozitif bulunmuşken, aph(2'_)-lb pozitif izolat bulunmamıştır (Fuentes ve ark., 2014). Bizim çalışmamızda sadece *Bacillus* izolatlarında gentamisin direnci bulunmuş olup sadece 1 izolatta aph(2'_)-lb (%12.5), aph (2'_)-lc (%12.5) ve aph(2'_)-ld (%12.5) genleri pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.23).

2018 yılında Brezilya'da yumuşak peynirlerden izole edilen gram pozitif bakterilerle yapılan çalışmada, toplam 208 bakteriden 164(%78)'ünde mecA, 1(%0,4)'inde ermA, 4(%1,9)'ünde ermB, 98(%46,6)'inde msrB, 128(%60,9)'inde msrA, 13(%6,1)'ünde qacA/B, 150(%71,4)'sinde smr geni pozitif bulunmuştur (Resende ve ark., 2018). Yüzde olarak karşılaştırıldığında bu çalışma ile bizim çalışmamız uyumluluk göstermektedir (Çizelge 4.21).

Tetrasiklin direnci genellikle *tetM, tetQ, tetK ve tetL* genlerinin varlığına bağlıdır. Ayrıca, tetrasiklin direnci klinik izolatlarda büyük ölçüde tanımlanmıştır (Garrido ve ark., 2014). Frazzon ve ark. (2010), Klibi ve ark. (2013), Pesavento ve ark. (2014), Guerrero Ramos ve ark. (2016) ve Raafat ve ark. (2016) tetrasikline direnç oranını sırasıyla % 60,% 41,% 35,3,% 67,3 ve% 53 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızdaki *Enterococcus* suşlarında *tetK* geni %11.4 ve *tetL* geni %35.3 olarak saptanmış olup ilgili çalışmalardan tetrasiklin

direnci daha düşük oranda saptanmıştır (Çizelge 4.22).

Nam ve ark. (2013), su örneklerinden izole ettiği 132 *Enterococcus*'un vankomisin direnç genleri olan *vanA, vanB, vanC-1* ve *vanC2*-3'ye bakarak 17 izolatta vankomisin direnç genlerini tespit etmiştir (Nam ve ark, 2013). Madanipour ve ark. (2017), etlerde 181 *Enterococcus* suşu izole edildi ve 68 izolatta vankomisin dirençliliği saptandı. 38 izolatta *vanA*, 21 izolatta *vanB* ve 18 izolatta *vanA* ve *vanB* genleri tespit edilirken *vanC* geni saptanamamıştır. Bizim çalışmamızda vankomisin dirençliliği saptanmış olup, 1 izolatta *vanA* geni, 1 izolatta *vanB* geni saptarak *vanC* geni saptanmayarak (Çizelge 4.24) ilgili çalışma ile uyumlu sonuç elde edilmiştir (Çizelge 4.22).

Hammand ve ark. (2015), süt ürünlerinden izole edilne *Enterococus* suşları ile yapmış olduğu çalışmada, *tetM* (%5), *tetL* (%3.3), *tetK* (%0.83), *ermB* (%0.83), *aph(3)* (%0.83) direnç genleri saptanmıştır. Vankomisin direnç geni saptanmazken, fenotipik olarak vankomisin dirençliliği saptanmıştır. (Hammand ve ark., 2015). İzole ettiğimiz *Enterococcus* suşlarında *tetK* geni (%35.3) ve vankomisin direnç genleri *vanA* (%50) ve *vanB* (%50) saptanmış olup, diğer genler saptanamamıştır (Çizelge 4.22).

İran'da 2018 yılında yapılan çalışmada, klinik örneklerden 2014-2015 yılları arasında izole edilen 80 *Enterococcus* izolatlarında ABC ailesinden *efrAB* efluks pompa geni araştırması yapılmıştır. Bütün izolatlarda *efrA* (%100) ve *efrB* (%100) genleri saptanmıştır (Shiadeh ve ark., 2018). Araştırmamızda izole edilen 79 *Enterococcus* izolatlarında *efrA* (%68.6) ve *efrB* (%74.5) oranında saptanmıştır (Çizelge 4.24).

Chotinantakul ve ark. 2018 yılında Tayland'ta yaptığı çalışmada, 120 fermente domuz etinden 119 *Enterococcus* izole edilmiştir. Bu izolatların *E.faecalis* (%68.9), *E. hirae* (%16), *E.faecium* (%13.4) ve *E.gallinarum* (%1.7) olarak adlandırılmıştır. Yüksek oranda siproflaksasin(%97.5), eritromisin(%78.2), tetrasiklin(%67.2) direnci saptanmıştır. Bütün izolatlar vankomisine duyarlı olarak bulunmuştur. Ayrıca genotipik olarak aacA–aphD, addE, erm*(B),* mefA/E, cat, tet*(L) ve* tet*(M)* antibiyotik direnç genleri saptamıştır. Bizim çalışmamızda yüksek sıklıkta E.faecium (n:47 %59.4) ve *E.faecalis* (n:15 %19) izole edilirken (Çizelge 4.19)., *tetK, tetL,vanA,vanB,msrA,msrA/B,ereA,mefA* genleri saptanmıştır (Çizelge 4.24).

## 5. SONUÇ

Gıda olarak en sık tüketilen et, süt ve süt ürünlerinde, bakteriyel bulaş olması, bu gıdaların mikrobiyal çoğalma için çok uygun bir ortam olması sebebiyle, gıdaların raf ömrünün azalması, bozulması ve çapraz kontaminasyonlara yol açmaktadır. Araştırmamızda et, süt ve süt ürünlerinin en önemli kontaminantlarından Gram pozitif bakteriler olan *Staphylococcus*, *Bacillus* ve *Enterococcus* izolasyonu ve izole edilen bu bakterilerin antibiyotik ve biyosit direnç genleri bulundurmalarının kapsamlı bir analizi yapılmıştır. Ayrıca antibiyotik ve biyosit direncinin ortak mekanizmalarından olan efluks pompa proteinlerinin inhibitörü olan rezerpinin, bu dirence etkisi araştırılmıştır.

Gram pozitif bakteriler, *S.aureus, B. cereus, E.faecalis* gibi patojen türler dışında, hijyen ve sanitasyon standartlarında zararsız gıda kontaminantları oldukları düşünülerek ihmal edilmişlerdir. Fakat bu bakterilerin antibiyotik ve biyosit direnç genlerini bulundurmaları bu genleri taşıyan bakterilerin, gıdalar, üreticiler ve tüketicilere gıda zinciri aracılığıyla aktarılmasına sebep olacağından, toplum sağlığı açısından büyük risk oluşturacaktır.

Çalışmamızda izole edilen 239 Gram pozitif bakteri izolatının, 132 (%55,2)'sinin başta sefkuinom (%26,8), eritromisin (%22,6), ampisilin (%15,5), tetrasiklin (%15,06) olmak üzere test edilen antibiyotiklere dirençli olduğu tespit edilmiştir. Antibiyotik dirençli izolatların en çok sodyum hipoklorit ve povidon iyodine yüksek MİK değerleri gösterdiği, daha sonra sırasıyla triklosan, hekzaklorofen, benzalkonyum klorit ve klorhekzidine yüksek MİK değeri gösteren izolatlar bulunmuştur. Sonuçlarımız değerlendirildiğinde, çalışılan antiseptik ve dezenfektanlara yüksek MİK değerleri gösteren izolatlarımızın bulunması, hayvan çiftliklerinde, gıda işleme ve satış yerlerinde, tedavi, hijyen ve sanitasyonun sağlanması için bu maddelerin kullanılmasının ciddi bir şekilde kontrol edilmesi ve düzenlemelerin arttırılması gerektiğini vurgulamaktadır. Bunun yanında, artmış MİK değerlerinin antiseptik ve dezenfektanların klinik uygulamalarında anlamı olmayabileceği düşünülmektedir, bunun sebebi bu maddelerin uygulama dozlarının MİK değerlerinden çok fazla miktarda olması ve antiseptik ve dezenfektanların mikrobiyal hücrelerde birçok hedefinin bulunmasıdır.

Hayvan beslenmesi ve kesimini yapan işletmelerde kullanılan alet ve gereçlerde hijyen ve sanitasyonun düzgün yapılmaması ve özellikle karkasların bağırsak içeriğinin de kontaminasyona sebep olması ile hayvansal gıdaların direnç genlerinin yayılması için önemli bir rezervuar haline gelmesine sebep olmaktadır. Antibiyotik dirençli Gram pozitif bakteri izolatlarında en çok, eritromisin direnç geni msrA (%55,8), tetrasiklin direnç geni tetK (%52,8), beta laktam grubu antibiyotiklere direnç geni bla (%25,4) ve efluks pompa genlerinden efrA (%65,2), efrB (%68,9), norE (%66,7), sugE ve smr (%43,9), mdeA (%37,9) tespit edilmiştir. Araştırmamızda, 1 *Enterococcus* izolatında vanA geni bulunması, vanA geninin transpozonla (Tn1546) taşınması sebebiyle epidemiyolojik açıdan en önemli gen olduğundan, bu genin diğer patojenlere aktarılması ile insan sağlığını ciddi oranda tehdit etmekte olduğuna işaret etmektedir. Aynı zamanda bakterilerde bu genlerin bulunmasının, direncin kesinlikle bu genler sebebiyle olduğunu göstermeyeceği, genlerin ifade edilip edilmediği ve ifade miktarının da önemli olduğu belirtilmektedir. Bu sebeple çalışmamızda pozitif bulunan genlerin ifadesinin de ileri araştırmalarda test edilmesi gerektiği söylenmelidir.

Efluks pompalarının antimikrobiyal dirençte çok ciddi rol oynaması araştırmacıları insan ve hayvan tedavisinde kullanılacak klinik onaylı efluks pompası inhibitörü ilaçlar bulmaya yöneltmiştir. Bu sebeple ilk önce insanlarda kullanılmakta olan onaylı ilaçların inhibitör özelliklerinin araştırılması yapılmıştır. Rezerpin, antihipertansiyon ve antidepresan olarak kullanılan ve Gram pozitif bakterilerde efluks pompası inhibitörü olarak etkileri bizim çalışmamız da dahil birçok çalışmada gösterilmiş bir maddedir. Diğer bir taraftan da etkilerinin çok kuvvetli olmadığı, bakteriyel efluks pompa proteinlerini inhibe edecek plazma konsantrasyonlarına ulaşamadığı ve memeli efluks pompa proteinlerine zarar verebileceği gibi durumlar göz önünde bulundurularak, bu konuda çok daha fazla araştırma yapılması

gerektiği vurgulanmaktadır.

Ülkemizde, antibiyotik direncinde efluks pompa sistemlerinin ve dirençle mücadelede önerilen efluks pompa inhibitörlerinin kullanılması konusu ile ilgili klinik alanda yapılan sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Yaptığımız bu çalışma sonuçlarının klinik ve veterinerlik alanında ileride yapılacak çalışmalara öncülük edeceğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR


Abouelnaga M, Lamas A, Quintela-Baluja M, Osman M, Miranda JM, Cepeda A, Franco CM (2016). Evaluation of the extent of spreading of virulence factors and antibiotic resistance in Enterococci isolated from fermented and unfermented foods. *Ann Microbiol.,* 66:577-585.

Abulreesh, H. H. (2011). Multidrug-resistant staphylococci in the environment. International Conference on Biotechnology and Environment Management. 21:179-184.

Adimpong, D. B., K. I. Sørensen, L. Thorsen, B. Stuer-Lauridsen, W. S. Abdelgadir, D. S. Nielsen, P. M. Derkx and L. Jespersen (2012). Antimicrobial susceptibility of *Bacillus* strains isolated from primary starters for African traditional bread production and characterization of the bacitracin operon and bacitracin biosynthesis. Appl. Environ. Microbiol. 78(22): 7903-7914.

Ahmad, I., N. Nawaz, F. K. Dermani, A. K. Kohlan, M. Saidijam and S. G. Patching (2018). Bacterial Multidrug Efflux Proteins: A Major Mechanism of Antimicrobial Resistance. Curr Drug Targets. 29697028*.*

Alli OAT, Ogbolu DO, shifhu AO, Okorie AN, akinola JO, Daniel JB.(2015). Association of virulence gene with mecA gene in *Staphylococcus* aureus isolates from tertiary hospitals in Nigergia. *Indıan J Pathol Microbiol*. 58(4):464-71.

Alqwai, O., G. Poelarends, W. N. Konings, E. Georges. (2003). Photoaffinity labeling under non-energized conditions of a specific drug-binding site of the ABC multidrug transporter LmrA from Lactococcus lactis. Biochemical and biophysical research communications 311(3): 696-701.

Andersen, J., He, G. X., Kakarla, P., KC, R., Kumar, S., Lakra, W., Varela, M. (2015). Multidrug efflux pumps from Enterobacteriaceae, Vibrio cholerae and *Staphylococcus* aureus bacterial food pathogens. I*nternational journal of environmental research and public health. 12*(2), 1487-1547.

Anes, J., McCusker, M. P., Fanning, S., & Martins, M. (2015). The ins and outs of RND efflux pumps in Escherichia coli. *Frontiers in microbiology. 6:*587.

Aslam M, Diarra MS, Checkley S, Bohaychuck V, Masson L. (2012). Characterization of antimicrobial resistance and virulence genes in *Enterococcus* spp. isolated from retail meats in Alberta, Canada*. Int J Food Microbiol* 156:222-230.

Aygül, A. (2015). Antibiyotik Direncinde Dışa Atım Sistemlerinin ve Dirençle Mücadele Dışa Atım Pompa İnhibitörlerinin Önemi. Mik. Bul. 49(2):278-8291.

Aykan SB., K. Cağlar, ED. Engin, AB. Sipahi, N. Sultan, M. Ç. Yalınay. (2013). Investigation of the presence of disinfectant resistance genes qacA/B in nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus* isolates and evaluation of their in vitro disinfectant susceptibilities*.Mikrobiyoloji bulteni* 47(1): 1-10.

Aydin, A., Muratoglu, K., Sudagidan, M., Bostan, K., Okuklu, B., Harsa, S. (2011). Prevalence and antibiotic resistance of foodborne *Staphylococcus* aureus isolates in Turkey. *Foodborne pathogens and disease*, *8*(1), 63-69.

Bambeke, F., Pagès, J.M., Lee, V.J., (2006). Inhibitors of bacterial efflux pumps as adjuvants in antibiotic treatments and diagnostic tools for detection of resistance by efflux" Recent Pat Antiinfect Drug Discov, 1(2): 157-75.

Barbosa, J., Ferreira, V., Teixeira, P. (2009). Antibiotic suspectibility of enterococci isolated from traditional fermented meat products., *Food Microbiology*, 26:527-532.

Becker, A. P., R. Schneider, C. A. Dias, A. J. Macedo (2018). sepA gene is positively regulated in fluoroquinolones exposed MRSA-biofilm, *International Journal of Medical Science and Health Research*, 2:5, 30-36.

Bhatta MP., Sahni BAK., Praharaj S. Grover C., Kumar C. (2015). Detection of glycopeptide resistance genes in enterococci by multiplex PCR. *Medikal journal Armed Force india*. 43-47.

Bhardwaj, S., Bhambre, K., Dhawale, J., Divase P.S., (2013*). Enterococcus faecium* and *E.faecalis* the nasocomial pathogens with special reference to multidrug resistance amd phenotypic characterization, *International Journal of Pharmaceutical Science and Practice*, 2:1, 1-10 .

Belgacem ZB, Abriouel H, Omar NB, Lucas R, Martinez-Canamero M, Galvez A, Manai M. (2010). Antimicrobial activity, safety aspects, and some technological properties of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* from artisanal Tunisian. *Food Control* 21:462-470.

Braga, T.M., Pomba, C., Lopes, M.F.S., (2013). *High-level vancomycin resistant Enterococcus faecium related to humans and pigs found in dust from pig breeding facilities*. *Veterinary Microbiology* 161: 344–349.

Bulajíc S, Tambur Z, Opačić D, Miljković-Selimocić B, Doder R, Cenić-Milošević D. (2015). Characterization of antibiotic resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus* spp. Isolated from cheeses. *Arch Biol Sci* 67:139-146.

Borgen, K., Simonsen, G.S., Sundsfjord, A., Wasteson, Y., Olsvik, Ø., Kruse, H., (2000) *Continuing high prevalence of vanA-type vancomycin-resistant Enterococci on Norwegian poultry farms three years after avoparcin was banned.* J. Appl. Microbiol., 89, 478-485.

Camargo CH, Bruder-Nascimento A, Lee SHI, Junior AF, Kaneno R, Rall VLM. (2014). Prevalence and phenotypic characterization of *Enterococcus* ssp. Isolated from food in Brazil*. J Microbiol* 45:111-115.

Can, Y., Çelik, H. (2008). Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı ve kalıntı riski, *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 79(4): 35-40.

Capita, R. and C. Alonso-Calleja (2013). Antibiotic-resistant bacteria: a challenge for the food industry. Critical reviews in food science and nutrition 53(1): 11-48.

Carasi P, Jacquot C, Romanin DE, Elie AM, De Antoni GL, Urdaci MC, Serradell MLA (2014). Safety and potential beneficial properties of *Enterococcus* strains isolated from kefir. Int Dairy J 39:193-200.

Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A., Nalepa, B., Sierpińska, M., & Łaniewska-Trokenheim, Ł. (2015). Coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolated from ready-to-eat food of animal origin–phenotypic and genotypic antibiotic resistance. *Food microbiology*, *46*, 222-226.

Chon, J. W., Kim, J. H., Lee, S. J., Hyeon, J. Y., & Seo, K. H. (2012). Toxin profile, antibiotic resistance, and phenotypic and molecular characterization of *Bacillus* cereus in Sunsik. *Food microbiology*, *32*(1), 217-222.

Chotinantakul K. Chansiw N. Okada S. (2018). Antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp.

isolated from Thai fermented pork in Chiang Rai Province, Thailand. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 12:143-148.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2011). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-first informational supplement. M100-S21. Wayne, PA, USA.

Cui, Y., X. Liu, R. Dietrich, E. Märtlbauer, J. Cao, S. Ding and K. Zhu (2016). Characterization of *Bacillus* cereus isolates from local dairy farms in China. *FEMS microbiology letters* 363(12): fnw096.

Cocconcelli, P.S., Cattivelli, D., Gazzola, S., (2003). Gene Transfer of Vancomycin and Tetracycline Resistances Among *Enterococcs faecalis* During Cheese and Sausage Fermentations, *International Journal of Food Microbiology*, 88:315-323.

Condell, O., C. Iversen, S. Cooney, K. A. Power, C. Walsh, C. Burgess and S. Fanning. (2012). Efficacy of biocides used in the modern food industry to control Salmonella enterica, and links between biocide tolerance and resistance to clinically relevant antimicrobial compounds. Appl. Environ. Microbiol. 78(9): 3087-3097.

Costa, S. S., Viveiros, M., Amaral, L., & Couto, I. (2013). Multidrug efflux pumps in *Staphylococcus* aureus: an update.*The open microbiology journal.7:*59.Chouchani C, El Salabi A, Marrakchi R, Ferchichi L, Walsh TR, (2012). First report of mefA and msrA/msrB multidrug efflux pumps associated with blaTEM-1 β-lactamase in *Enterococcus* faecalis. *Int J Infect Dis* HYPERLINK "https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22137270". 16(2):104-9.

Coton, E., Desmonts, M. H., Leroy, S., Coton, M., Jamet, E., Christieans, S., ... & Talon, R. (2010). Biodiversity of coagulase-negative staphylococci in French cheeses, dry fermented sausages, processing environments and clinical samples. *International journal of food microbiology*, *137*(2-3), 221-229.

Çağlar, K. (2005). Dezenfektanlara Direnç Gelişim Mekanizmaları Dezenfeksiyon İşlemini Ne Kadar Tehdit Etmektedir. 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi Kitabı. 702-714.

Çetinkaya F, Muş TE, Soyutemiz GE, Çıbık R. (2013). Prevalence and antibiotic resistance of vancomycin-resistant enterococci in animal originated foods. *Turk J Vet Anim Sci* 37:588-593.

Çıtak, S., Mendi, A., Orhan, S., (2005). Incidence, antibiotic resistance and some technological properties of *Enterococcus* species isolated from raw milk and white cheese samples, *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 56(4):73-96.

Çitak, S., Duman, T. (2011). *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* from raw chicken samples in Turkey: Prevalence and antimicrobial resistance. J Food Agri Environ 9(1): 156-158.

Çıtak, S., Yücel, N., Mendi, A., (2005). Antibiotic resistance of *Enterococcal* isolates in raw milk, *Journal of Food Processing and Preservation*, 29(3-4):183-195

Çıtak, S., Yücel, N., Orhan, S., (2004). Antibiotic resistance and incidence of *Enterococcus* species in Turkish white cheese, *International Journal of Dairy Technology*, 57(1):27-31.

Çiftçi, A., AKSOY, A. (2015). Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları. Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics 1(2): 1-10.

De Vos, P., G.M. Garrity (2009). Bergey's manual of systematic bacteriology. Springer.

Demirtürk, N., T. Demirdal (2004). Antibiyotiklerde direnç sorunu. Kocatepe Tıp Dergisi 5(2).

Devriese LA, Hommez J, Leavens H, POT B, Vandamme P, Haesebrouck F (1999). Identification of aesculin-hydrolyzing streptococci, lactococci, aerococci and enterococci from subclinical intramammary infections in dairy cows. *Vet Microbiol*, 70, 87-94. 6

Doyle, M.E., (2006). *Veterinary drug residues in processed meats - potential health risk. A review of the scientific literature.* http://www. wisc.edu/fri/briefs/FRIBrief_VetDrgRes.pdf, 04.01.2006.

Duran N, Ozer B, Duan GG, Onlen Y, Demir C, (2012). Antibiotic resistance genes and susceptibility patterns in staphylocci*. Indian J Med Res* 135:389-96.

Erdem, İ., Şentürk, G., Yücesoy-Dede, B., Yükselkoçdoğan, F., Yüksel, S., Karagül, E., (2004). In Vitro Effect Of Levofloxacin And Vancomycin Combination Against Aminoglycosid-Resistant Enterococci", *International Journal of Antimicrobial Agents*, 20: 92-94.

Eryılmaz, M., Akın, A. (2008). Dezenfeksiyon ve antisepsi. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 37(4): 311-331.

Fernández-No, I., K. Böhme, S. Caamaño-Antelo, J. Barros-Velázquez and P. Calo-Mata (2015). Identification of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the 16S rDNA gene of foodborne *Bacillus* spp. Food microbiology. 46: 239-245.

Filazi, A., Dikmen, BY, Kuzukıran, (2015). Kanatlılarda Antibiyotik Direnci.Türkiye Klinikleri.1(2):42-51.

Frazzon APG, Gama AB, Hermes V, Bierhals CG, Pereira RI, Guedes AG, D'azevedo P, Frazzon J. (2010). Prevalence of antimicrobial resistance and molecular characterization of tetracycline resistance mediated by *tet*(M) and *tet*(L) genes in *Enterococcus* spp. isolated from food in southern Brazil. *World J Microbiol Biotechnol* 26:365-370.

Fuentes, M.A., H. Abriouel, E. O. Morente, R. P. Pulido and A. Gálvez (2014).Genetic determinants of antimicrobial resistance in Gram positive bacteria from organic foods. *International journal of food microbiology,* 172: 49-56.

Fuentes, M.A., Morente, E.O., Abriouel, H., Pulido, R., Galvez, A., (2012). *Isolation and identification of bacteria from organic foods: Sensitivity to biocides and antibiotics* . *Food Control*. 26 : 73-78.

Foulquié Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *Int J Food Microbiol* 106:1-24.

Fraise, A. (2002). Susceptibility of antibiotic-resistant cocci to biocides. Journal of applied microbiology 92: 158S-162S.

Gadea, R., Fuentes, M. Á. F., Pulido, R. P., Gálvez, A., Ortega, E. (2017). Effects of exposure to quaternary-ammonium-based biocides on antimicrobial susceptibility and tolerance to physical stresses in bacteria from organic foods. *Food microbiology*, *63*, 58-71.

Gaglio R, Couto N, Marques C, Lopes MFS, Moschetti G, Pompa C, Settani L. (2016). Evaluation of antimicrobial resistance and virulence of enterococci from equipment surfaces, raw materials, and traditional cheeses. *Int J Food Microbiol* 236:107-114.

Garcia-Ovando H., Gorla, N., Weyers, A., Ugnia, L., Magnoli, A., (2004). *Simultenous quantification of ciprofloxa- cin, enrofloxacin and balofloxacin in broiler chicken muscle.* Arch. Med. Vet., 36, 93-98.

Garrido AM, Galvez A, Pulido RP.(2014). Antimicrobial resistance in enterococci. *J Infect Dis Ther* 2:150.

Ge, B., S. Mukherjee, C.-H. Hsu, J. A. Davis, T. T. T. Tran, Q. Yang, J. W. Abbott, S. L. Ayers, S. R. Young, E. T. Crarey (2017). MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus* aureus in US retail meats, 2010–2011. Food microbiology 62: 289-297.

Gousa, P., Economou, V., Sakkas, H., Leveidiotou, S., Papadopoulou, C., (2010). Antimicrobial Resistance of Major Foodborne Pathogens from Major Meat Products. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(1):1-5 .

Gibbons, S., Oluwatuyi, M., Kaatz, G.W., (2003) "*A novel inhibitor of multidrug efflux pumps in Staphylococcus aureus*" J Antimicrob Chemother 51:13-7.

Gibbons, S., Udo, E. E. (2000). The effect of reserpine, a modulator of multidrug efflux pumps, on the in vitro activity of tetracycline against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus* aureus (MRSA) possessing the tet (K) determinant. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *14*(2), 139-140.

Giraffa, G., (2002). Enterococci From Food, *FEMS Microbiology Reviews*, 26:163-171.

Güçlü, B. (2019). Tuzlanmış küçükbaş hayvan derilerinden elde edilen ılımlı halofil bakterilerin esteraz ve lipaz aktivitelerinin tespit edilmesi. Yüksek LisansTezi. Marmara Üniversitesi.

Hammad A, Hamdy A., Shimamoto T., (2015). Prevalence, antibiotic resistance and virulence of *Enterococcus* spp. in Egyptian fresh raw milk chees*., Food Control* 50 815-820.

Hasdemir, U. (2007). Çoklu ilaç direncinde bakteri hücre duvarı organizasyonu ve aktif pompa sistemlerinin rolü. *Mikrobiyol Bült*, *41*, 309-327.

Holah, J., J. Taylor, D. Dawson, K. Hall (2002). Biocide use in the food industry and the disinfectant resistance of persistent strains of Listeria monocytogenes and Escherichia coli. Journal of applied microbiology 92: 111-120.

Hughes, C. and J. Ferguson (2017). "Phenotypic chlorhexidine and triclosan susceptibility in clinical *Staphylococcus* aureus isolates in Australia." Pathology 49(6): 633-637.

Ignak, S. , Nakipoglu Y., Gurler, B**.** (2017). Frequency of antiseptic resistance genes in clinical staphycocci and enterococci isolates in Turkey. *Antimicrobial Resistance & Infection Control.* 6:88.

Iosifidis E, Evdoridou I, Agakidou E, Chochliourou E, Protonotariou E, Karakoula K, Statthis I, Sofianou D, Drossou-Agakıdoou V, Pournaras S, Roilides E. (2013). Vancomycin-resistant *Enterococcus* outbreak in a neonatal intensive care unit: Epidemiology, molecular analysis and risk factors. Am J Infect Control 41:857-861.

Jahan M, Holley RA. (2016). Transfer of antibiotic resistance from *Enterococcus faecium* of fermented meat origin to *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua. Lett App Microbiol* 62:304-310.

Jamet, E., Akary, E.., Possion, M.A., Chamba, J.F., Bertrand, X., Serror, P., (2012). *Prevalence and characterization of antibiotic resistant Enterococcus faecalis in French cheeses.* Food Microbiology 31:191-198.

Jia, W., Li, G., Wang, W., (2014). Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Enterococcus* Species: A Hospital-Based Study in China. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 11(3), 3424-3442.

Jomha, M. Y., H. Yusef and H. Holail (2014). Antimicrobial and biocide resistance of bacteria in a Lebanese tertiary care hospital. Journal of global antimicrobial resistance 2(4): 299-305.

Kang S., Lee S., Choi S. (2013). Distribution of multidrug pump gengs in Enterococci spp. Isolated from bovine milk samples and their antibiotic resistance patterns" korean journal of microbiology 49(2);126-130.

Kara A., Devrim İ., Bayram N., Katipoğlu N., Kıran N., Oruç Y., Demiray N., Apab H., Gülfidan G., (2015). Risk of vancomycin-resistant enterococci bloodstream infection among patients colonized with vancomycin-resistant enterococci*", Braz J Infect Dis*. 19 ;1413.

Karataş, A.,(2005). Beyaz peynir ve fermente sucuklardan *Enterococcus faecium*'un izolasyonu ve tanımlanması, yüksek lisans tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.

Kasımoglu-Dogru A, Gencay YE, Ayaz ND. (2010). Prevalence and antibiotic resistance profiles of *Enterococcus* species in chicken at slaughter level; Absence of *vanA* and *vanB* genes in *E. faecalis* and *E. faecium*. *Res Vet Sci* 89:153-158.

Kaya, S., Çetin, E.S., Arıkan, S., Tetik, T., Kesbiç, H., Yaşar, S. (2007). Tavuklardan izole edilen *E. coli, klebsiella* ve Enterokoklarda antibiyotik duyarlılıkları durumu. *S.D.Ü. Tıp Fak*ültesi *Dergisi*, 14(2):24-27.

Keskin, D. and F. Kök (2007). Mikroorganizmaların Gıda İşletmelerinde Kullanılan Dezenfektanlara Karşı Direnci. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi 16(4): 308-317.

Kim, C. W., S. H. Cho, S. H. Kang, Y. B. Park, M. H. Yoon, J. B. Lee, W. S. No, J. B. Kim (2015). Prevalence, genetic diversity, and antibiotic resistance of *Bacillus* cereus isolated from Korean fermented soybean products. Journal of food science 80(1): 123-128.

Kim, J.-B., O.-K. Choi, S.-M. Kwon, S.-H. Cho, B.-J. Park, N. Y. Jin, Y. M. Yu and D.-H. Oh (2017). Prevalence and toxin characteristics of *Bacillus* thuringiensis isolated from organic vegetables. Journal of microbiology and biotechnology 27(8): 1449-1456.

Klibi N, Said LB, Jouini A, Slama KB, Lopez M, Sallem RB, Boudabous A, Torres C. (2013). Species distribution, antibiotic resistance and virulence traits in enterococci from meat Tunisia. *Meat Sci* 93:675-680.

Konuray, G., Gözde, K.O.Ç. ve Erginkaya, Z. (2017). *Bacillus* spp.'nin et ürünlerinde probiyotik olarak kullanımları. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, *32*(2), 47-60.

Kurşun, O., Güner, A., Özmen, G., (2011). Prevalence *of Bacillus cereus* in Rabbit Meat Consumed in Burdur-Turkey, Its Enterotoxin Producing Ability and Antibiotic Susceptibility. Kafkas Univ Vet Fak., 17:31-33.

Kürekçi, C, Onen P, Yipel M, Asalantaş O, Gündoğdu A. (2016). Characterization of phenotypic and genotypic antibiotic resistance profile of enterococci from cheeses in Turkey.

*Korean J Food Sci An* 36:352-358.

Kwak, Y. G., Truong-Bolduc, Q. C., Bin Kim, H., Song, K. H., Kim, E. S., & Hooper, D. C. (2013). Association of norB overexpression and fluoroquinolone resistance in clinical isolates of Staphylococcus aureus from Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *68*(12), 2766-2772.

Lange, D.L., Brokking, D.H., (2005). *Nutribiotics could replace antibiotics in feed*. World Poultry, 10 (21):26-28.

Langsrud, S., Singh, S.M., Heir, E., L. Holck, A., (2003). *Bacterial disinfectant resistance—a challenge for the food industry* . *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51: 283-290.

Leclerco R.(2002). Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamids nature of the resistance elements adn their clinical impllications. *Clin Infect Dis* 34:482-92.

Lerma, L.L., benomar, N., Galvez, A., Abrioul, H., (2013). Prevalence of bacteria resistannt to antibiotics and biocides on meat processing plant surfaces throuhout meat chain production, *international journal of food microbiology*, 161:97-106.

Lerma, L. L., Benomar, N., Valenzuela, A. S., Muñoz, M. D. C. C., Gálvez, A., & Abriouel, H. (2014). Role of EfrAB efflux pump in biocide tolerance and antibiotic resistance of *Enterococcus* faecalis and *Enterococcus* faecium isolated from traditional fermented foods and the effect of EDTA as EfrAB inhibitor. *Food microbiology. 44*, 249-257.

Li, X. Z., & Nikaido, H. (2009). Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, *69*(12), 1555-1623.

Li, X. Z., Elkins, C. A., & Zgurskaya, H. I. (Eds.). (2016). *Efflux-mediated antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, regulation and clinical implications*. Springer.

Lins RX, Andrade AO., Junior RH., Wilson MJ, Lewis M., Williams DW, Fidel RAS. (2013). Antimicrobial resistance and virulence traits of *Enterococcus* faecalis from primary endodontic *infections. Journal of dentistry*, 779-786.

Logan, N. A. (2012). *Bacillus* and relatives in foodborne illness. *Journal of applied microbiology*, *112*(3), 417-429.

LPSN, (15 Şubat 2017) List of prokaryotic names with stading in nomenclautre: Genus *Enterococcus*. Available from: http://www. bacterio.net/*enterococcus*.html.

Madanipour E., Mehrabi MR, Mirzaee M. (2017). The Antibiotic Susceptibility Pattern and Prevalence of *vanA*, *vanB,* and *vanC* Genes among *Enterococcus faecalis* Strains Isolated from Consumed Meat. *ınfect epidemiol microbiol* 3(4): 117-121.

Maillard, J.Y., (2007). Bacterial resistance to biocides in the healthcare environment: should it be of genuine concern?. Journal of Hospital Infection 65(S2) 60–72.

Marquez, MLF, Burgos, G.,Aguayo, CL, Pulido, RP., Galvez, A., Lucas, R. (2017). Chracaterization of biyoside- tolerant bacteria isolated from cheese and dairy small-medium enterprises. *Food Microbiology,* 62, 77-51.

Mcgowan LL, Jackson CR, Barret JB, Hiott LM, Fedorka-Cray PJ. (2006). Prevalence and antimicrobial resistance of enterococci isolated from retail fruits, vegetables, and meats*. J Food Prot* 69:2976-2982.

Menteş GÖ, Balcı İ. (2007). Yoğun bakım, onkoloji, hemotoloji hastalarında gastrointestinal sistemde kolonize olan enterokok türleri ve vankomisine direnç profilleri. *Mikrobiyoloji Bülteni*; 41: 585-589

Meyer, E., Lumke, C., Kist, M.,Schwab F., Frank, U (2008) . Antimicrobial resistance in *E. coli* strains isolates from food, animals and humans Germany. *İnfection*, 36:59-61.

Metin, M., Öztürk, F., (1995). Süt İşletmelerinde Sanitasyon. Ege Üniv. Meslek Yüksek Okulu Yayınları No:17, İzmir. 410 s.

Miles, TD., McLaughlin W., Brown, P.D.(2006), Antimicrobial resistance of E. coli isolates, from broiler chickens and humans. *BMC veteranary research* 2-7.

Mohkam, M., N. Nezafat, A. Berenjian, M. A. Mobasher, Y. Ghasemi (2016). Identification of *Bacillus* probiotics isolated from soil rhizosphere using 16S rDNA, recA, rpoB gene sequencing and RAPD-PCR. Probiotics and antimicrobial proteins 8(1): 8-18.

Morente, E.A., Fuentes, M.A., Burgos, M.J., Abriouel, H., Pulido R.P., Galvez, A., (2013) . *Biocide tolerance in bacteria. International Journal of Food Microbiology* 162: 13–25.

Moura I., Torres, C., Silva N.,Somalo S., Igrejas G., Poeta P. (2017). Genomic Description of Antibiotic Resistance in Escherichia coli and Enterococci Isolates from Healthy Lusitano Horses.,
*Journal of Equine Veterinary Science* 33: 1057-1063.

Nama S. Kimb M., Parkc C., Parkd J., Maenga P. (2013). Detection and genotyping of vancomycin-resistant *Enterococcus spp*. By multiplex polymerase chain reaction in Korean aquatic environmental samples. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 216: 421– 427.

Nakipoğlu, Y., Iğnak, S. Gürler N., Gürler B., (2012). Klinik *Staphylococcus* aureus Suşlarında Antiseptik Direnç Genlerinin (qacA/B ve smr) ve Antibiyotik Maddelere Direnç Prevalansının Araştırılması. Mikrobiyol Bul 46(2): 180-189.

Navidinia, M. and M. Goudarzi (2019). Overview Perspective of Bacterial Strategies of Resistance to Biocides and Antibiotics. Archives of Clinical Infectious Diseases 14(2).

Nes, I.F., Diep, D.B., Holo, H. (2007). Bacteriocin Diversity in *Streptococcus* and *Enterococcus*. *The Journal of Bacteriology,* 189:1189–1198.

Nyasulu P., Murray J, Perovic O. (2012). Antimicrobiyal resistance surveillance anong nasocomiial pathogens in south africa. *J Exp Clin Med*. 4(1):08-13.

Ogbolu, D.O., O.A.T. Alli, A. S. Oluremi and C.O. Onifade (2018). Erythromycin Resistance Determinants in Clinical Gram Positive Cocci Isolated from Nigerian Patients. Journal of Clinical & Diagnostic Research 12(10).

Onni, T., Sanna, G., Larsen, J., & Tola, S. (2011). Antimicrobial susceptibilities and population structure of *Staphylococcus* epidermidis associated with ovine mastitis. *Veterinary microbiology*,*148*(1), 45-50.

Oladipo IC, Sanni AI, Swarnakar S. (2013). Phenotypic and genomic characterization of *Enterococcus* species from some Nigerian fermented foods. *Food Biotechnol* 27:39-53.

Özçelik, B., Çıtak, S., (2009) Evaluation of antibiotic resistance of *Bacillus cereus* isolates

ice-cream samples sold in Ankara. Turk J. Pharm. Sci. 6 (3), 231-238.

Özdemir D., (2002). Dezenfektanlara direnç. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, 4(3): 39-44.

Özdemir, H., & Keyvan, E. (2016). Isolation and characterisation of *Staphylococcus* aureus strains isolated from beef, sheep and chicken meat. *Ankara Univ Vet. Fak. Derg*, *63*, 333-338.

Öztürk R., (2002). Antimikrobik ilaçlara Karşı Direnç Geliştirme Mekanizmaları ve Günümüzde Direnç Durumu. Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi No: 31 *.İ . Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri* 83-100.

Patel, D., C. Kosmidis, S. M. Seo, G. W. Kaatz (2010). Ethidium bromide MIC screening for enhanced efflux pump gene expression or efflux activity in *Staphylococcus* aureus. Antimicrobial agents and chemotherapy 54(12): 5070-5073.

Paul, D., R. Chakraborty, S. M. Mandal (2019). Biocides and health-care agents are more than just antibiotics: Inducing cross to co-resistance in microbes. Ecotoxicology and environmental safety 174: 601-610.

Pesavento, G., Ducci, B., Comodo, N., Nostro, L.A., (2007) . *Antimicrobial resistance profile of Staphylococcus aureus isolated from raw meat: A research for methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Food Control*, 18: 196–200.

Pieniz S., Martin T., Cassenego APV, Andreazza R., Frazzon APG.,Camargo O.,Brandelli A., (2015). Evaluation of resistance genes and virulence factors in a food isolated *Enterococcus* durans with potential probiotic effect, *Food Control* 51 49-54.

Piessens, V., S. De Vliegher, B. Verbist, G. Braem, A. Van Nuffel, L. De Vuyst, M. Heyndrickx, E. Van Coillie (2012). Characterization of coagulase-negative *staphylococcus* species from cows' milk and environment based on bap, icaA, and mecA genes and phenotypic susceptibility to antimicrobials and teat dips. *Journal of dairy science*. 95(12): 7027-7038.

Poole, K. (2002). Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. Journal of Applied Microbiology 92: 55S-64S.

Priest, F. and W. Whitman (2015). Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria 2015.

Raafat SA, Abo-Elmagd EK, Awad RA, Hassan EM. (2016). Prevalence of vancomycin-resistant *Enterococci* in different food samples. *Egypt J Med Microbiol* 25:47-55.

Radhouani, H., Poeta, P., Pinto, L., Miranda, J., Coelho, C., Carvalho, C., Rodrigues, J., Lopez, M., Torres, C., Vitorino, R., Domingues, P., Igrejas,G. Proteomic characterization of vanA-containing *Enterococcus* recovered from Seagulls at the Berlengas Natural Reserve. W Portugal. *Proteome Science*, 8:48 (2010).

Rai, P., A. Sharma, P. Saxena, A. Soni, H. Chakdar, P. Kashyap, A. Srivastava, A. Sharma (2015). Comparison of molecular and phenetic typing methods to assess diversity of selected members of the genus *Bacillus*. Microbiology 84(2): 236-246.

Resch, M., Nagel, V., & Hertel, C. (2008). Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci associated with food and used in starter cultures. *International journal of food*

*microbiology*, *127*(1-2), 99-104.

Resende, J. A., C. O. Fontes, A. B. Ferreira-Machado, T. C. Nascimento, V. L. Silva, C. G. Diniz (2018). Antimicrobial-Resistance Genetic Markers in Potentially Pathogenic Gram Positive Cocci Isolated from Brazilian Soft Cheese. Journal of food science. 83(2): 377-385.

Riboldi, G.P., Frazzon, J., Azevedo, P., Frazzon, A., (2009). Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil, *Brazilian Journal of Microbiology,* 40:125-128.

Rizzotti L., Rossi F., Torriani S. (2016). Biocide and antibiotic resistance of *Enterococcus* faecalis and *Enterococcus* faecium isolated from the swine meat chain*. Food Microbiol.* , 60:160-4.

Robredo, B., Singh, K.V., Baquero¸ F., Murray, B.E., Torres, C. (2000). Vancomycin Resistant *Enterococc*i Isolated From Animals And Food. *International Journal of Food Micobiology.* 54:197-204.

Rosenbach, F.J. (1884). Mikro-organismen bei den Wund-Infections-Krankheiten des Menschen.

Sallem RB, Klibi N, Klibi A, Said BL, Dzıri R, Boudabous A, Torres C, Slama KB. (2016). Antibiotic resistance and virulence of enterococci isolates from healthy humans in Tunisia. *Ann Microbiol* 66:717-725.

Sanlibaba P., Tezel BU., Senturk E. (2018). Antimicrobial Resistance of *Enterococcus* Species Isolated from Chicken in Turkey. *Korean J Food Sci Anim Resour*. 38(2): 391–402.

SCENIHR (2009). Assessment of the antibiotic resistance effects of biocides. European Commission, Health & Consumer Protection.

Schmitz, F.-J., M. Perdikouli, A. Beeck, J. Verhoef, A. C. Fluit (2001). Resistance to trimethoprim–sulfamethoxazole and modifications in genes coding for dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthase in European Streptococcus pneumoniae isolates. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 48(6): 935-936.

Schroeder, C.M., White, D.G., Meng, J. (2004). Retail meat and poultry as araservoir of antimicrobial resistant enterococci", *Food Microbiology*, 21: 249-255.
Seasotiya L., Dalal, S. (2014). Screening of Indian medicinal plants as efflux pump inhibitors of fluoroquinolones. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 3 (1): 235-241.

Shiadeh, SMJ, Hashemi, J., Fallah, F., Lak, P., Azimi, L., Rashidan, M. (2018). First detection of efrAB an ABC multidrug efflux pump in *Enteroccus faecalis* in Tehran, Iran. *Acta mic.et immunologica hungarica*. 66(1):57-68.

Shrihari N., Kumudini T.S, S.G karadesai, S.C Metgud, (2011). Speciation of enterococcal isolates and antibiotic susceptibility test including high level aminoglycoside resistance and minimum inhibitory concentration for vancomycin. *Int J Biol Med Res*. 2(4): 865 – 869.

Simeoni, D., Rizzotti, L., Cocconcelli, P., Gazzola, S., Dellaglio, F., & Torriani, S. (2008). Antibiotic resistance genes and identification of staphylococci collected from the production chain of swine meat commodities. *Food microbiology*, *25*(1), 196-201.

Sulaiman M., I. Alotaibi, Alafate A., Annemette FP., Jakobsen L., Pinholt M.,Gumpert H.,Hammerum AM., Westh H., Ingmer H. (2017). Susceptibility of vancomycin-resistant and

-sensitive *Enterococcus* faecium obtained from Danish hospitals to benz lkonium chloride, chlorhexidine and hydrogen peroxide biocides. *Journal of Medical Microbiology*. 66:1744–1755.

Suller, M.T.E., Russel, A.D., (1999). Antibiotic and biocide resistance in methicillin-resistant Stuphylococcus aureus and vancomycin-resistant *enterococcus. journal of Hospital infection*. 43:28-29.

Sun, J., Deng, Z., Yan, A., (2014). Bacterial multidrug efflux pumps: Mechanisms, physiology and pharmacological exploitations*. Biochem Biophys Res*; 453(2): 254-67.

Sutcliffe, J., T. Grebe, A. Tait-Kamradt and L. Wondrack (1996). Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 40(11): 2562-2566.

Sting R, Richter A, Popp C, Hafez HM. (2013). Occurrence of vancomycin-resistant enterococci in Turkey flocks. *Poultry Sci* 92:346-351.

Swick, M. C., S. K. Morgan-Linnell, K. M. Carlson, L. Zechiedrich (2011). Expression of multidrug efflux pump genes acrAB-tolC, mdfA, and norE in Escherichia coli clinical isolates as a function of fluoroquinolone and multidrug resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 55(2): 921-924.

Şencan, İ., (2003). *Dezenfektanlara direnç sorunu ve Pratik Önem*i. Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Kongresi, 2-4 Ekim 2003, Samsun.

Talebi M, Sadeghi J, Rahimi F, Pourshafie MR. (2015). Isolation and biochemical fingerprinting of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from meat, chicken and cheese. *Jundishapur J Microbiol* 8:15815.

Tegos, G.P., Haynes, M., Strouse, J.J., (2011). Microbial efflux pump inhibition: tactics and strategies*. Curr Pharm Des*, 17(13): 1291-302.

TEL, O. Y., Bayraktar, M., & Keskin, O. (2012). Investigation of antibiotic resistance among *Staphylococcus aureus* strains of human and bovine origin. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *59*(3), 191-196.

Teuber, M., Pereten, V., Wirsching, F. (1996). Antibioikum resistente Bakterien: enine neue dimension in in der lebensmittel microbiologi", *Lebens-technology*, 29:182-199.

Togay SÖ, Keskin AÇ, Açık L, Temiz A. (2010). Virulence genes, antibiotic resistance and plasmid profiles of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from naturally fermented Turkish foods. *J Appl Microbiol* 109:1084-1092.

Turnbull, P. C., Kramer, J. M., & Melling, J. (1991). *Bacillus*. *Manual of clinical microbiology*, *5*, 296-303.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. (29.12.2011)

Ünal N, Dilik, Z., Yıldırım, M. 2010. Türkiye'de Ticari Broyler İşletmelerinden *vanA* Pozitif *Enterococcus faecium* İzolasyonu. Kafkas Univ Vet Fak Derg.16(1):127-129.

Vakulenko, S. B., S. M. Donabedian, A. M. Voskresenskiy, M. J. Zervos, S. A. Lerner, J. W. Chow (2003). Multiplex PCR for detection of aminoglycoside resistance genes in enterococci. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 47(4): 1423-1426.

Wang, J.T,(2013). High rates of multidrug resistance in *Enterococcus* faecalis and E. faecium isolated from impatients and outpatients in Taiwan, *Diagnostic Microbiology and İnfectious Disease,* 75:406-411.

Webber, M.A., Piddock, L.J.V., (2001). The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance*. J Antimicrob Chemother*, 51:9-11.

Worthing, K. A., Marcus, A., Abraham, S., Trott, D. J., & Norris, J. M. (2018). Qac genes and biocide tolerance in clinical veterinary methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus* aureus and *Staphylococcus* pseudintermedius. *Veterinary microbiology*, *216*, 153-158.

Yüce, A. (2001). Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. Klimik Dergisi 14(2): 41-46.

Yurdakul, N.C., Enginkaya, Z., Ünal, E., (2013). Antibiotic Resistance of Enterococci, Coagulase Negative Staphylococci and *Staphylococcus* aureus Isolated from Chicken Meat*. Czech J. Food Sci. 31: 1: 14–19.*

Yılmaz, ES., Aslantaş, Ö., Önen, S.P., Türkyılmaz, S., Kürekci, C. (2016). Prevalence, antimicrobial resistance and virulence traits in enterococci from food of animal origin in Turkey*. Food science and Technology*, 66:20-26.

Yilmaz, M., Soran, H., Beyatli, Y. (2006). Antimicrobial activities of some *Bacillus* spp. strains isolated from the soil. *Microbiological research*, *161*(2), 127-131.

Zarakolu, P., (2003). *Mikroorganizmalarda Direnç Mekanizması Olarak Aktif Pompa Sistemleri.* web : http: / / www.hastaneinfeksiyonlaridergisi.org/managete/fu_folder/2003-03/html/2003-7-3-131-136.htm

**ÖZGEÇMİŞLER**

**PROF.DR. SUMRU ÇITAK**

**1.GENEL (PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ)**

| | | |
|---|---|---|
| **DÜZENLEME TARİHİ** | **:** 10.07.2019 | |
| **T.C. KİMLİK NO** | **:** 19921948070 | |
| **ÜNVANI ADI SOYADI** | **:** Prof.Dr.Sumru ÇITAK | |
| **YAZIŞMA ADRESİ** | **:** Gazi Üniversitesi Fen Fak., Biyoloji Bölümü, Teknikokullar/ANKARA | |
| **DOĞUM TARİHİ ve YERİ** | **:** 05.06.1958 | |
| **TEL :** 0 312 202 1191 | | **GSM:** 0 505 689 4849 |
| **E-POSTA :** scitak@gazi.edu.tr | | **FAKS :**0 312 212 2279 |

**2. EĞİTİM**

| ÖĞRENİM DÖNEMİ | DERECE (*) | ÜNİVERSİTE | ÖĞRENİM ALANI |
|---|---|---|---|
| 1999 | Doktora | Gazi Üniversitesi | Mikrobiyoloji |
| 1985 | Y. Lisans | Gazi Üniversitesi | FBE / Biyoloji |
| 1982 | Lisans | Hacettepe Üniversitesi | Biyoloji |

**3. AKADEMİK ve MESLEKİ DENEYİM**

| GÖREV DÖNEMİ | ÜNVAN | ÜNİVERSİTE | BÖLÜM |
|---|---|---|---|
| 1982-1994 | Ar.Gör. | Gazi Üniversitesi | Fen-Edb. Fak. Biyoloji |
| 1994- 1999 | Arş.Gör. Dr. | Gazi Üniversitesi | Fen-Edb. Fak. Biyoloji |
| 1999- 2006 | Yrd.Doç.Dr | Gazi Üniversitesi | Fen-Edb. Fak. Biyoloji |
| 2006-2011 | Doç.Dr. | Gazi Üniversitesi | Fen-Edb. Fak. Biyoloji |
| 2012- | Prof.Dr. | Gazi Üniversitesi | Fen Fak. Biyoloji |

**4. YAYIN BİLGİLERİ**

| | |
|---|---|
| SCI/SCI Exp. indexine kayıtlı dergilerde yayınlanan | 20 |
| Diğer indexlere kayıtlı / Hakemli dergilerde yayınlanan | 11 |
| Indexlere kayıtlı / Hakemli kitaplarda yayınlanan | 3 |
| Diğer yayınlar | 14 |
| TOPLAM | 48 |

**5. YAYINLARINIZA ALDIĞINIZ TOPLAM ATIF SAYISI (*Web of Science*'a göre) :** 233

**6. PROJE DENEYİMİ**

| YER ALDIĞINIZ PROJE SAYISI | Proje yürütücüsü olarak | Araştırmacı olarak |
|---|---|---|
| Kurumsal (BAP vb.) | 8 | 2 |
| Ulusal | --- | |
| Uluslararası | --- | --- |

**7. DİĞER AKADEMİK FAALİYETLER ( Hakemlik/Danışmanlık/Editörlük Deneyimi)**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Son bir yılda uluslararası indekslere kayıtlı makale/ derleme için yaptığınız danışmanlık sayısı** | 4 | | |
| **Son bir yılda projeler için yaptığınız danışmanlık sayısı** | ----- | | |
| **Danışmanlığını yaptığınız öğrenci sayısı** | | **Tamamlanan** | **Devam Eden** |
| | Y.Lisans | 17 | 4 |
| | Doktora | 2 | 2 |
| | Uzmanlık | --- | --- |

**8. SCI, SCI-EXPANDED DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER**

1- **S. Citak**, F.N. Bayazit and Aksoy, F. ‘’Nasal carriage and methicilline resistance of *Staphylococcus aureus* in patiens and hospital staff in a tertiary referral center setting.” African Journal of Microbiology Research . Vol. 5(13).pp. 1615-1618. 4 July 2011 (SCI).

2- Gundogan N, **Citak S,** Yalcin E.’’ Virulence Properties of Extended Spectrum beta-Lactamase-Producing *Klebsiella* Species in Meat Samples’’. Journal of Food Protection. Volume: 74, Issue: 4, Pages: 559-564. Apr 2011 (SCI).

3-Yucel N, **Citak S,** Bayhun S. ‘’ Antimicrobial Resistance Profile of *Staphylococcus aureus* isolated from Clinical Samples and Foods of Animal Origin’’ Foodborne Pathogens and Disease. Volume: 8 Issue: 3 Pages: 427-431. Mar 2011. (SCI)

4**-Citak S,** Duman T.’’ *Staphylococcus* aureus and coagulase-negative *Staphylococcus* from raw chicken samples in Turkey’’. Journal of Food Agriculture & Environment. Volume : 9 Issue: 1 Page: 156-158. JAN 2011 (SCI)

5-**Citak, S.,** Gundogan, N., Alas ZT. '' Incidence and antimicrobial resistance *of Bacillus cereus* isolated from Turkish white cheese and ice-cream samples'' Milchwissenchaft-Milk Science International’.’ Volume: 65, Issue: 1, Pages: 52-55.(2010) (SCI).

6- **Citak, S.,** Kamanli, N. ‘’ Gram- negative bacteria a public health risk’’. Fleischwirtschaft. Volume :87. Issue :12, Pages: 106-110, 2007 (SCI)

7-**Citak,S.,** Gundogan, N., Mendi, A., Orhan, S. ‘’ Occurence, isolation and antibiotic resistance of *Enterococcus* species isolated from raw milk samples in Turkey’’. Milchwissenchaft , Milk Science International. 150-152. Vol: 61. N0:2 , 2006. (SCI)

8- Gundogan, N., Devren, A**. Citak, S.** ‘’ Incidence, protease activity and antibiotic resistance of *Escherichia coli* and *Serratia marcescens* from meat, chicken and meatball samples’’. Archiv für Lebensmittelhygiene, 57, 113-117. Vol 4.Juli /August. 2006 (SCI)

9- Gundogan, N., **Citak, S.,** Turan, E. ‘’ Slime production, DNase activity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk, pasteurised milk and icecream samples. Food Control, P: 389-392. 17 , 2006. (SCI)

10- **Citak, S.,** Mendi, A.,Orhan, S.’ Incidence, antibiotic resistance and some technological properties of *Enterococcus* species isolated from raw milk and white cheese samples. Archiv für Lebensmittelhygiene 56, 73-96.Vol 4. Juli/ August, 2005. (SCI)

11-Gundogan N, **Citak S**, Yucel N, Devren A. .’’A note on the incidence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples ‘’. Meat Science 69 (4): 807-810 Apr, 2005. (SCI)

12-**Citak, S.,** Ozcelik, B., Cesur, S., Abbasoglu, U. ‘’ Invitro susceptibility of *Candida* species isolated from blood culture to some antifungal agents. ‘’. Japanese Journal of Infectiouse Diseases, P: 44-46. Vol: 58, Number 1, Februrary, 2005.(SCI-EXP)

13-**Citak S**, Yucel N, Mendi, A. '' Antibiotic resistance of enterococcal isolates in raw milk. Journal of Food Processing and Preservation 29 (3-4): 183-195 Jun-Aug, 2005. (SCI)

14-**Citak**, **S.,** Yucel, N., Orhan, S. "Antibiotic Resistance and Incidence of *Enterococcus* Species in Turkish White Cheese". International Journal of Dairy Technology, Vol 57, No 1: 27-31, 2004. (SCI).

15-Yucel, N., **Citak, S.,** Onder, M. "Prevalance and Antibiotic Resistance of *Listeria* Species in Meat Products in Ankara". Food Microbiology Vol:22, S: 241-245,2005. (SCI)

16**-Citak,S.,** Varlık, Ö., Gündoğan, N. "Slime Production and DNase Activity of Staphylococci Isolated from Raw Milk". Journal of Food Safety. Vol 23, No 4, S:281- 288, 2003 (SCI).

17-Yucel, N.,**Citak**, S. "The Occurence, Haemolytic Activity and Antibiotic Susceptibility of Motile Aeromonas Spp.Isolated From Meat and Milk Samples in Turkey". Journal of Food Safety. Vol 23, No 3 , S: 189-200, 2003 (SCI).

18-**Citak, S.,** Yucel, N., Mendi, A. "Incidence of Enterococcal Deoxyribonuclease and Thermonuclease in Raw Milk and White Cheese". The Indian Veterinary Journal. Vol 81. S:803-805, 2004 (SCI).

19-Yucel, N., **Citak, S.,** Gundoğan, N. "The Incidence of *Listeria monocytogenes* in Raw Meats". ". The Indian Veterinary Journal . Vol 81. S:1192-1194,2004 (SCI).

20- Uraz, G., **Citak, S.** "The Isolation of Pseudomonas and Other Gram (-) Psychrotrophic Bacteria in Raw Milk". Journal of Basic Microbiology. Vol. 38, Number 2 , S:129-134 ,1998 (SCI).

**9. DİĞER İNDEXLERDE TARANAN DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER**

1**- Citak S.,** Ocal,Ş.C., Külahcı,M.B. ''Antibiotic Resistance and Slime Production in coagulase-negative *Staphylococcus* Strains From Retail Meat Samples'' Gazi University Journal of Science. Vol 28(3) , 359-364. 2015

2- Cetin D., **Citak S**.'' Degradation of Polyvinyl Alcohol by a Mixed Culture Isolated from Paper Mill Treatment '' Gazi University Journal of Science, Vol 27 No2, 839-845 2014.

3- Cadirci, B.H., **Citak, S**. '' Antagonistic Effects of Some Lactobacilli on Some Gram-Negative Bacteria''. Gazi University Journal of Science. Volume: 23, No:2, Page:119-123. 2010.

4-**Citak, S**., Kamanli, C. N.,'' The prevalance and proteolytic activity of gram negative psychrotrophic of microorganisms in raw minced meat samples at different temparatures'' Gazi University Journal of Educational Faculty. Volume: 30, No:1, Page: 241-251.2010

5-Gundogan, N., **Citak, S**., Yıldız, E. ''Effects of food organic acids on inoculated Listeria monocytogenes in meat stored at refrigeration temperature.'' Gazi University Journal of Educational Faculty. Volume: 30, No:2, Page: 585-602.2010

6-Ozcelik, B., **Citak, S.**''Evaluation of antibiotic resistance of *Bacillus* cereus isolates in ice-cream samples sold in Ankara'' Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences''. Volume:6, No:3, Page:231-233.

7- Cadirci,B. H., **Citak, S**.'' A comparison of two methods used for measuring antagonistic activity of lactic acid bacteria ''. Pakistan Journal of Nutrition. 4(4) : 237-241., 2005.

8-Ozçelik, B., **Citak,S**., Cesur, S., Abbasoglu, U., Icli, F. "In vitro Susceptibility of Candida Species Isolated From Cancer Patients Against Antifungal Agents". Drug Metabolism and Drug Interaction. Vol 20, No:1-2,S:101-107.2004.

9- Gündoğan, N., Tireng,S., **Çıtak,S.,** Yücel, N. **"**Incidence of E.coli, Salmonella spp. And Other Enterobacteriaceae in Minced Meat and Susceptibilty of the E.coli to some Cephalosporin Group Antibiotics.'' Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University. Vol 19,

No1 : 41-46, 2002.

## 10. ULUSAL DERGİLERDE YAPILAN YAYINLAR

1- **Citak, S.,** Gundogan, N., Kala, E**. ‘’**Evaluation of Coliform and *Enterococcus* as Fecal Indicator Bacteria in Frozen Meat and Vegetables in Ankara’’. Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology. Vol:66, No:4, Page: 145-151. 2009.

2- **Çıtak,S.,** Karaçocuk, E**. ‘’** Antibiotic susceptibility of methicillin-resistant S.aureus strains from hospital and community-acquired ‘’. Journal of Faculty of Medicine of Cumhuriyet University Volume:26, Issue:1, Page 13-17, 2004 .

3- **Çıtak, S. ‘’**Identification of coagulase-negative *staphylococcus* and slime production**’’** Journal of Clinical Laboratory Research.Vol:5, Issue:1, Page:9- 12, 2001**.**

4- **Çıtak, S. ‘’**The biochemical tests for the identification of non-fermentative gram negative bacteria in raw milk’’. Journal of the Institute of Science and Technology of Gazi University. Vol: 14 No 1.Page: 79-83,2001.

5- Gündoğan, N., Yücel,N., **Çıtak, S.** “An investigation related to the rate of *Staphylococcus* aureus in milk and some milk products’’. Journal of the Institute of Science and Technology of Gazi University. Vol: 14 No 2.Page: 379-382, 2001.

6- **Çıtak,S.,**Yücel, N. **‘’**The investigation on the bacteriological quality of the pasteurized milk as regards some microorganisms“.Journal of the Institute of Science and Technology of Gazi University. Vol: 14 No 2, Page: 403-408, 2001**.**

7- **Çıtak, S.,** Yücel, N**.,** Gündoğan, N**.** “Research on the microbiological quality of the cartoned and bottled pasteurized milk presenting to the consumption on Ankara”Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.Vol: 57 No: 3, Page:171-176 , 2000.

8- Yücel, N., **Çıtak, S.** “A study on present of some microorganisms in ice-cream samples**’’** Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.Vol: 57 No: 3, Page:165-170 , 2000.

9- Uraz, G**.,Çıtak, S. ‘’**An investigation about the distribution and isolation of Pseudomonas from raw milk samples obtaines from different areas**’’** TÜBİTAK, Turkish Journal of Agriculture and Foresty. Vol:22, No:5 Page: 469-474,1998.

10- Uraz,G**., Çıtak,S.,** Hacıoğlu,G**.** “The effect of hydrogen peroxide against Yersinia enterocolitica in raw milk at different ph and temperatures. Journal of the Institute of Science and Technology of Gazi University. Vol: 11 No 2.Page: 215-223, 1998**.**

11-Uraz,G., **Çıtak,S** “Distribution of coliform group microorganisms in raw milk.” Journal of the Institute of Science and Technology of Gazi University. Vol: 11 No 1.Page: 129-133, 1998

12- Uraz, G., **Çıtak S.** “Distribution of thermoduric and thermophilic bacteria in raw and pasteurized milk” Journal of Food Gıda Sanayi Dergisi, No 47, Page:40-42, 1996

13- Uraz,G., **Çıtak,S.,** Berkman, E**.** “The isolation of coag (-) *Staphylococcus* (S.epidermidis ve S.saprophyticus) from the urine cultures on the repenting enfections of urine tracts.”. Journal of Faculty of Medicine of Gazi University.Vol:3, No:2 Page: 111-120, 1987**.**

14- Uraz,G., **Çıtak, S.,** Berkman, E**.** “The effect of coag (-) *Staphylococcus* (S.epidermidis ve S.saprophyticus) to the urinary tract infection which are isolated from the urine cultures as pathogen agent ”. Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology. Vol: 43, No :2, Page:119-135, 1986.

## 11. PROJELER

### A) TÜBİTAK, DPT ve benzeri ulusal kuruluşlar nezdindeki projeler

**1.** Uraz, G., **Çıtak, S.** “Ankara Yöresi Çiğ Sütlerde Bulunan Pseudomonas’lar ve Diğer Psikrotrofik Bakteriler”, (Doktora Tezi).Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu

(TÜBİTAK), Veterinerlik ve Hayvancılık Araştırma Grubu (VHAG-850).Yardımcı Araştırıcı, 1990, ( Tamamlanmıştır**).**

**B) Üniversite Bilimsel Araştırma Fonu Projeleri**

**1. Çıtak, S.,** Yücel, N., Gündoğan, N. "Patojen Bakterilerin Süt ve Süt Ürünlerinde Canlı Kalma Sürelerinin Tespiti Üzerine Bir Araştırma", Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi (BAP: 05/ 2000-02), Proje Yöneticisi, (Tamamlanmıştır).

**2.** Yücel, N., **Çıtak, S.,** Gündoğan, N. "Ankara'da Tüketime Sunulan Pastörize Sütlerde Hijyen İndeksi Açısından Bazı Mikroorganizmaların Araştırılması", Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi (BAP: 05/2002-05), Yardımcı Araştırıcı, (Tamamlanmıştır).

**3. Çıtak, S.,** Orhan, S. "Çeşitli Gıda Örneklerinden *Enterococcus*'ların İzolasyonu", Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi (BAP: 05/2002-41), Proje Yöneticisi, (Tamamlanmıştır).

**4. Çıtak, S.,** Karaçocuk, E. "Klinik Örneklerden İzole Edilen Metisiline Dirençli *Staphylococcus*'ların İzolasyonu ve Antibiyotik Dirençliliği", Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi (BAP: 05/2002- 60), Proje Yöneticisi, (Tamamlanmıştır).

**5. Çıtak S,** Aksoy, F. Hastane, hastane mutfakları ve toplum kaynaklı *Staphylococcus*'ların Nazal taşıyıcılık oranları ve antibiotik dirençinin belirlenmesi '' Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi (BAP: 05/2005-07). Proje Yöneticisi, (Tamamlanmıştır).

**6. Çıtak S,** Kala, E. ''Dondurulmuş gıdalarda (et ve sebze) fekal koliform ve fekal streptokok'ların izolasyonu ve sayımı. Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi (BAP: 05/2005-52). Proje Yöneticisi, (Tamamlanmıştır).

**7. Çıtak S,** Kamanlı, N, Çeşitli su örneklerinde membran filtrasyon ve konvansiyonel yöntemlerle mikrobiyolojik kalite analizi ve antibiotik dirençliğinin saptanması''. Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi (BAP: 05/2008-40), Proje Yöneticisi, (Tamamlanmıştır).

**8. Çıtak S,** Öcal Ş.Ç. ''Koagulaz- negatif *Staphylococcus*'larda slime yapımı, protein-A oluşumu ve antibiyotik duyarlılığının araştırılması '' Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi (BAP: 05/2008-51), Proje Yöneticisi, (Tamamlanmıştır).

**9. Çıtak S,** Kavukoğlu M.B. "Gıda kaynaklı *Staphylococcus* izolatlarındaki antibiyotik direnci ve beta laktamaz varlığının incelenmesi" Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi (BAP: 05/2008-51), Proje Yöneticisi, (Tamamlanmıştır).

**Prof.Dr. ENDER YARSAN**

**Üniversite:** Ankara
**Fakülte:** Veteriner
**Bölüm:** Klinik Öncesi Bilimler
**Anabilim Dalı:** Farmakoloji ve Toksikoloji Toksikoloji
**İletişim:** Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve ToksikolojiAnabilim. Dalı 06110 Dışkapı-Ankara
**Tel:** 0312–3170315/208
**Faks:** 0312–3176073
**e-posta:** yarsan@veterinary.ankara.edu.tr / eyarsan@gmail.com
**Web:** http://www.enderyarsan.net

**Kişisel Bilgiler**

**Doğum yeri:** Ankara
**Doğum tarihi:** 09.12.1968
**Medeni hali:** Evli (3 çocuk babası)
**Tabiyeti:** T.C.
**Yabancı dil:** İngilizce
**Kan grubu:** B Rh(+)

09.12.1968 yılında Ankara'da doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Ankara'da tamamladıktan sonra 1986 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesine girdi. 1991 yılı Haziran döneminde mezun oldu. Aynı yıl A.Ü.Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. 1992 yılında bu Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak girdi. 20 Haziran 1996 tarihinde "*Etlik piliçlerde iyonofor grubu antibiyotiklerle zehirlenme: Monensin ile vitamin E ve selenyumun birlikte veya ayrı ayrı verilmesinin bazı histopatolojik ve biyokimyasal parametrelere etkiler"* konulu doktora tezini tamamlayarak Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'ndaki doktorasını bitirdi. 1996–1998 arasında 253. Dönem Yedek Subayı olarak askerlik görevini tamamladı. 30 Kasım 2000 tarihinde girdiği sınavı kazanarak Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda Doçent Unvanı aldı. 2001 yılında aynı Anabilim Dalı'nda Doçent kadrosuna atandı. 2002 yılından itibaren Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Yönetim Kurulu üyeliği ve 2004–2005 yılları arasında aynı Derneğin Başkanlığını; 2006-2009 yılları arasında Derneğinin Başkan Yardımcılığı görevini yapmıştır. 2009'dan itibaren de Dernek Başkanlığı görevini yürütmektedir. Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesinde üç dönem (2001–2004), Kıbrıs - Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesinde iki dönem (2012-2013) Farmakoloji Dersi verdi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Komisyonu Üyeliğinde bulundu. Halen Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Proje Kaynakları Oluşturma Komisyonu, Klinik Tanı Laboratuvarı Komisyonu ve Mesleki Bilgilendirme ve Yönlendirme Komisyonu üyesidir. Ankara Bölgesi Veteriner Hekimler Odası, Türk Toksikoloji Derneği ve Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Üyesidir. 2006-2016 yılları arasında 42., 43., 44., 45. ve 46. Dönem Türk Veteriner Hekimleri Birliği Merkez Konseyi Üyesi olarak ve II. Başkanı olarak görev yaptı. Halen (47. Dönem) Türk Veteriner Hekimleri Birliği Merkez Konseyi II. Başkanı'dır. Temmuz 2006 tarihinde A.Ü.Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda Profesör kadrosuna atandı; Eylül 2015 tarihinden itibaren Anabilim Dalı Başkanlığı görevini yürütmektedir. Çalışma alanıyla ilgili yurt içi ve yurt dışı dergilerde yayınlanmış 100'ün üzerinde bilimsel yayın sahibidir, ulusal ve uluslar arası kongrelerde çok sayıda tebliğ sunmuştur, mesleki alanda birçok komisyonda aktif olarak çalışmıştır ve kendi alanında 12 adet kitapta yazar olarak görev almıştır. Evli ve üç çocuk babasıdır.

**Kazanılan Akademik Dereceler**

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi,1991
Doktora : Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi,1996
Doçent : Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi,2000
Profesör : Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi,2006

**Katıldığı Çalışmalar/Akademik Yardımlar**

1. 2001-2004 Eğitim-Öğretim Yıllarında Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesinde Farmakoloji ve Toksikoloji dersleri, Kırıkkale.
2. 2012-2013 Eğitim-Öğretim Yıllarında Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesinde Farmakoloji ve Toksikoloji dersleri, Kıbrıs.

**Akademik-İdari Görevler**

1. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Komisyonu Üyeliği; 2002-2009
2. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Proje Kaynakları Oluşturma Komisyonu Üyeliği; 2010-2016.
3. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Merkez Tanı Laboratuvarı Komisyonu Üyeliği; 2013-
4. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mesleki Bilgilendirme ve Yönlendirme Komisyonu; 2013-2016
5. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hastane Yönetim Kurulu Üyeliği; 2015-
6. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji AbD. Başkanlığı; 19 Eylül 2015 –

**Dernek, Sendika, Oda, Vakıf Üyelikleri**

1. TVHB Vakfı üyeliği
2. TVHB Ankara Bölgesi Veteriner Hekimler Odası üyeliği
3. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği üyeliği
4. Türk Toksikoloji Derneği üyeliği

**Dernek, Mesleki Örgüt Yöneticilikleri-Üyelikleri**

1. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği
a. Dernek Başkanlığı: 2009 -
b. Dernek II. Başkanlığı: 2005-2009
c. Dernek Başkanlığı: 2004-2005
d. Dernek Genel Sekreterliği: 2002
2. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Merkez Konseyi Üyeliği ve II. Başkanlığı (42.Dönem): 2006-2008
3. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi Editörlüğü ve Yayın Kurulu Üyeliği: 2006 –
4. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Merkez Konseyi Üyeliği (43.Dönem): 2008 – 2010
5. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni (Sahibi): 2010-
6. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Merkez Konseyi Üyeliği (44.Dönem): 2010 -2012.
7. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Merkez Konseyi Üyeliği (45.Dönem): 2012 -2014.
8. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Merkez Konseyi II. Başkanı (46.Dönem): 2014 – 2016.
9. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Merkez Konseyi II. Başkanı (47.Dönem): 2016 –

**Komisyon Üyelikleri**

1. Başbakanlık DPT Müsteşarlığı 9uncu 5 yıllık kalkınma planı. İlaç Sanayii Komisyonu Veteriner İlaçları Alt-Komisyonu Üyeliği. 22.09.2005.
2. Ulusal Gıda Kodeksi Komisyonu "Veteriner İlaçları Komisyonu Alt Komisyonu" üyeliği. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı KKGM'nün 25.11.2004 tarih ve 2673 sayılı oluru.
3. Ulusal Gıda Kodeksi Komisyonu "Pestisid Alt Komisyonu" üyeliği. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı KKGM'nün 25.11.2004 tarih ve 2673 sayılı oluru.
4. II. Türk Veteriner Hekimliği Kurultayı; Avrupa Birliği Uyum Komisyonu. 11-12.10.2002
5. AB mevzuatına uyumla ilgili Veterinerlik Grubunun "Birden Fazla Sektörü Kapsayan Tedbirler Komisyonu" ve "Yem Komisyonu". 06.07.2001
6. "Uçucu Maddeler Bilim Danışma Kurulu" Üyeliği. T.C.Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri. 2010 –
7. III. Türk Veteriner Hekimliği Kurultayı; Eğitim, Öğretim ve Araştırma Komisyonu. 23-25.04.2010
8. III. Türk Veteriner Hekimliği Kurultayı; Veteriner Hekimliğinde Yeni Vizyon ve Yeni Konseptler Komisyonu. 23-25.04.2010
9. III. Türk Veteriner Hekimliği Kurultayı; Veteriner Sağlık Ürünleri Komisyonu. 23-25.04.2010
10. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Bilim Kurulu Üyeliği (Raportör), 2010 –
11. "Klinik Toksikoloji Bilim Kurulu" Üyeliği. T.C. Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı. 2011 –
12. "Toksikoloji Bilimsel Danışma Kurulu" Üyeliği. T.C.Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı. 01.06.2011 tarih / 2011/14862 Sayılı Olur. 2011 –
13. "Risk Değerlendirme Komitesi" Üyeliği. T.C.Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü. 02.01.2012 tarih ve 000019 Sayılı Olur. 2011 – 2012.
14. "Kistik Ekinokokkoz Çalışma Grubu Üyeliği". T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Kurumu. 17.7.2012 Tarih ve B.10.1.HSK.0.14.03 Sayılı Yazısı Uyarınca. 2012 -
15. T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ar-Ge Proje Değerlendirme Kurulu Üyeliği. 2013 -
16. Türk Patent Enstitüsü Danışma Kurulu Üyeliği; 2012 –
17. "Veteriner Hekimliği Eğitim Kurumları ve programları Değerlendirme ve Akreditasyon (VAK) Komitesi" ile "Ölçütler Komitesi" Üyeliği. 2014 –
18. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Bilim Kurulu Üyeliği. Veteriner Fakültesi Dekanlığı (Sekreterlik Bürosu)'nın 08.01.2016 tarihli ve 21304664-915.03.03/E.176 sayılı yazısı.

**Ödüller**

- DÜNYA VETERİNER HEKİMLERİ BİRLİĞİ BİRİNCİLİK ÖDÜLÜ – 2012. VETERİNER HEKİMLİKTE ANTİBİYOTİKLER: ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ VE DİRENCİN ÇOK YÖNLÜ ETKİLERİ. (BROŞÜR).
- VESBA - ONUR ÖDÜLÜ, 14-17 Mart 2013 –Bursa.

**Kitaplar (Kitap Bölümleri)**

**Yarsan,E.,** Durgut,R. (2002) Veteriner Hekimliğinde Deri Hastalıkları ve Sağaltım. Medisan Yayın Serisi:51. Ankara. ISBN 975-7774-48-0.

Kaya,S., **Yarsan,E.** (2002). Organik Maddeler. Sf: 251-260. (Editörler:S.Kaya, İ.Pirinçci, A.Bilgili. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi:53. Ankara) ISBN 975-7774-50-2

**Yarsan,E.** (2002). Süte Geçen Maddeler. Sf: 830-833. (Editörler:S.Kaya, İ.Pirinçci, A.Bilgili.

Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi:53. Ankara) ISBN 975-7774-50-2

Kaya,S., **Yarsan,E.** (2002). İmmunotoksikoloji. Sf: 843-861. (Editörler:S.Kaya, İ.Pirinçci, A.Bilgili. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi:53. Ankara) ISBN 975-7774-50-2

Tanyüksel,M., **Yarsan,E.** (2005). Halofantrin. Sf:141-146. (Editör: Ç.Akısü, M.Korkmaz. Tıbbi Parazitolojide Tedavi. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:20. İzmir.) ISBN 975-94646-5-9

Tanyüksel,M., **Yarsan,E.** (2005). Klorokin. Sf:157-166. (Editör: Ç.Akısü, M.Korkmaz. Tıbbi Parazitolojide Tedavi. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:20. İzmir.) ISBN 975-94646-5-9

**Yarsan,E.,** Kaya,S. (2005). Protozoon Hastalıklarında Kullanılan İlaçlar ve Farmakolojik Özellikleri. Sf:321-340. (Editör: A.Burgu, Z.Karaer. Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıklarında Tedavi. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:19. İzmir.) ISBN 975-94646-6-7

Durgut,R., **Yarsan,E.** (2007). Laboratuvar Hayvanları Hastalıkları ve Sağaltımı. Medisan Yayın Serisi:66. Ankara. ISBN 975-7774-63-4.

**Yarsan,E.,** Durgut,R. (2010). Farmakoloji ve Toksikolojide Rat Modelleri. Küçük Deney Hayvanlarından Rat. DOI: 10.4328/JCAM.481. Journal of Clinical and Analytical Medicine

**Yarsan,E.** (2011). Kemoterapötikler. Sf: 83-97. (Ed: S.Kaya. Temel Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji). AOF Yayınları.

Baydan,E., **Yarsan,E.** (2011). Hayvansal Gıdalarda İlaç Kalıntıları, İlaçların Ruhsatlandırılması, Dağıtımı, Satışı ve Kontrolü. Sf: 98-109. (Ed: S.Kaya. Temel Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji). AOF Yayınları.

Veteriner Hekimlikte Antibiyotikler (Pratik Bilgiler Rehberi). **Editör: Prof.Dr.Ender Yarsan**. Güneş Kitabevi, Ankara. 2014. ISBN: 978-975-277- 510-7.

Tayar,M., **Yarsan,E**. (2014). Veteriner Halk Sağlığı. Dora Yayıncılık. Bursa. ISBN: 978-605-4798-63-6.

**Yarsan,E.** (2014). Kemoterapötikler. Sf: 96-117. (Ed: S.Kaya. Temel Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji). AOF Yayın No:3126.

Baydan,E., **Yarsan,E.** (2014). Hayvansal Gıdalarda İlaç Kalıntıları, İlaçların Ruhsatlandırılması, Dağıtımı, Satışı ve Kontrolü. Sf: 118-138. (Ed: S.Kaya. Temel Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji). AOF Yayın No: 3126. ISBN: 978-97506-1762-1.

**Yarsan,E.** (2014). Veteriner İlaç Rehberi. Güneş Kitabevi, Ankara. 2014. ISBN: 978-975-277- 558-9.

**Yarsan,E.** (2015). Kedi ve Köpek Hekimliği. Editör: Prof.Dr.Ender Yarsan. Güneş Kitabevi, Ankara. ISBN: 978-975-277-590-9.

**Yarsan,E.** (2015). Kedi ve Köpeklerde Antibakteriyel İlaçlar. Sf: 43-61. (Ed: Prof.Dr.Ender Yarsan. Kedi ve Köpek Hekimliği). Güneş Kitabevi, Ankara. ISBN: 978-975-277-590-9.

**Yarsan,E.** (2015). Kedi ve Köpeklerde Kullanılan Veteriner İlaçları. Sf: 875-898. (Ed: Prof.Dr.Ender Yarsan. Kedi ve Köpek Hekimliği). Güneş Kitabevi, Ankara. ISBN: 978-975-277-590-9.

Yarsan,E. (2015). Veteriner Hekimlikte Reçete. Sf: 1-7. (Ed: Prof.Dr.Ender Yarsan. Kedi ve Köpek Hekimliği). Güneş Kitabevi, Ankara. ISBN: 978-975-277-590-9.

Yarsan,E. (2015). Kedi ve Köpeklerde Homeopati. Sf: 89-106. (Ed: Prof.Dr.Ender Yarsan. Kedi ve Köpek Hekimliği). Güneş Kitabevi, Ankara. ISBN: 978-975-277-590-9.

**Yarsan,E.** (2016). Evcil Hayvanlarda Zehirli Bitkiler ve Türkiye'deki Dağılımları. Editör: Prof.Dr.Ender Yarsan. Güneş Kitabevi, Ankara. ISBN: 978-975-277-642-5.

Topyıldız,M., **Yarsan,E.** (2016). Sindirim Sistemine Etkili Zehirli Bitkiler. Sf:25-51. (Ed: Prof.Dr.Ender Yarsan. Evcil Hayvanlarda Zehirli Bitkiler ve Türkiye'deki Dağılımları). Güneş Kitabevi, Ankara. ISBN: 978-975-277-642-5.

Alim,E.C., **Yarsan,E.** (2016). Böbrek ve Üriner Sistemine Etkili Zehirli Bitkiler. Sf:137-148. (Ed: Prof.Dr.Ender Yarsan. Evcil Hayvanlarda Zehirli Bitkiler ve Türkiye'deki Dağılımları). Güneş Kitabevi, Ankara. ISBN: 978-975-277-642-5.

Yipel,M., **Yarsan,E.** (2016). Kedi ve Köpekler İçin Zehirli Bitkiler. Sf:201-235. (Ed: Prof.Dr.Ender Yarsan. Evcil Hayvanlarda Zehirli Bitkiler ve Türkiye'deki Dağılımları). Güneş Kitabevi, Ankara. ISBN: 978-975-277-642-5.

**Yarsan,E.** (2016). Süte Geçebilen Zehirli Bitkiler. Sf:237-244. (Ed: Prof.Dr.Ender Yarsan. Evcil Hayvanlarda Zehirli Bitkiler ve Türkiye'deki Dağılımları). Güneş Kitabevi, Ankara. ISBN: 978-975-277-642-5.

**Düzenlediği Bilimsel Faaliyetler**

1. Birinci Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı)

Kongre Düzenleme Kurulu Üyeliği; Kongre Kitabı Editörü. 22-24 Eylül 2005. Ankara Üniv. Vet. Fak. Prof. Dr. Satı Baran Konferans Salonu

2. 27 Nisan 2002 Dünya Veteriner Hekimleri Günü Düzenleme Kurulu

3. 24 Nisan 2004 Dünya Veteriner Hekimleri Günü Düzenleme Kurulu

4. Serbest Veteriner Hekimlik ve Veteriner Sağlık Ürünleri Sempozyumu Düzenleme Kurulu Üyeliği. 17-18 Mart 2007 Konya.

5. İkinci Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi, Düzenleme Kurulu Üyeliği, 6-8 Eylül 2007, Samsun.

6. III.Türk Veteriner Hekimliği Kurultayı, Düzenleme Kurulu Üyeliği ve Kurultay Sekretaryası, 23-25 Nisan 2010, Ankara.

7. III.Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi, Düzenleme Kurulu Başkanı, 29 Eylül – 2 Ekim 2010, Aydın.

8. Veteriner Farmakokinetik Çalıştayı, Düzenleme Kurulu Başkanı, 24 Eylül 2011, Ankara.

9. Bilinçli Antibiyotik Kullanımı ve Antimikrobiyal Direnç Sempozyumu. 18 Ekim 2012 – Ankara. Bilim ve Düzenleme Kurulu Üyeliği. Bilimsel Sekretarya.

10. IV. Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu, (Gıda Kaynaklı Patojenler). 19-20 Ekim 2012 – Ankara. Bilim ve Düzenleme Kurulu Üyeliği. Bilimsel Sekretarya.

11. IV. Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi, Onursal Başkanlar, 11 - 14 Eylül 2013, Elazığ.

12. II. Uluslararası Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi. Bilimsel Danışma Kurulu Üyeliği. 07 - 10 Kasım 2013, Konya.

13. V. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu. Düzenleme Kurulu. 24-25 Ekim 2014, Erzurum.

14. Arı Çalıştayı (Vet-Arı). 17-18 Ekim 2014. Ankara. Düzenleme Kurulu Başkanı.

15. 32. Dünya Veteriner Kongresi. Bilimsel Komitesi Üyeliği. 13-17 Ekim 2015, İstanbul.

16. VetAnka 2015, Kariyer Günleri ve Sektörle Buluşma. 25-28 Mart 2015, Ankara. Genel Koordinatör.

17. Arı Çalıştayı (Vet-Arı2). 23-24 Ekim 2015. Ankara.

18. Arı Çalıştayı (Vet-Arı3). 1 Ekim 2016 Kazan, Ankara.

19. VI. Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu. 4-5 Kasım 2016 – TÜBİTAK Feza Gürsey Toplantı Salonu, Ankara. Düzenleme Kurulu Üyeliği – Bilimsel Sekreterya.

20. V. Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi. 1-4 Eylül 2016 Bursa. Düzenleme Kurulu Üyeliği – Bilimsel Komite Üyeliği.

**ARŞ.GÖR.MERYEM BURCU KÜLAHCI**

**1.GENEL**

| | | |
|---|---|---|
| **DÜZENLEME TARİHİ** | **:** 10.06.2019 | |
| **T.C. KİMLİK NO** | **:** 17852114212 | |
| **ÜNVANI ADI SOYADI** | **:** Araş.Gör. Meryem Burcu Külahcı | |
| **YAZIŞMA ADRESİ** | **:** Gazi Üniversitesi Fen Fak., Biyoloji Bölümü, Teknikokullar/ANKARA | |
| **DOĞUM TARİHİ ve YERİ** | **:** 24.10.1987 | |
| **TEL :** 0 312 202 1212 | | **GSM:** 0 505 287 2912 |
| **E-POSTA :** meryemburcu@gazi.edu.tr | | **FAKS :**0 312 212 2279 |

**2. EĞİTİM**

| ÖĞRENİM DÖNEMİ | DERECE (*) | ÜNİVERSİTE | ÖĞRENİM ALANI |
|---|---|---|---|
| **31.10.2013** | Doktora Yeterlilik | Gazi Üniversitesi | Mikrobiyoloji |
| **2011- Devam ediyor** | Doktora | Gazi Üniversitesi | Mikrobiyoloji |
| **2008-20011** | Y. Lisans | Gazi Üniversitesi | Mikrobiyoloji |
| **2004-2008** | Lisans | Gazi Üniversitesi | Biyoloji |

**3. AKADEMİK ve MESLEKİ DENEYİM**

| GÖREV DÖNEMİ | ÜNVAN | ÜNİVERSİTE | BÖLÜM |
|---|---|---|---|
| 2009-Devam ediyor | Arş.Gör. | Gazi Üniversitesi | Fen Fak. Biyoloji |

**4. PROJE DENEYİMİ**

| YER ALDIĞINIZ PROJE SAYISI | Proje yürütücüsü olarak | Araştırmacı olarak |
|---|---|---|
| **Kurumsal (BAP vb.)** | - | 3 |
| **TAGEM AR-GE Projesi** | - | 1 |

**5.STAJLAR**

| STAJ SÜRESİ | STAJ YERİ |
|---|---|
| **2009-2011 (2 yıl)** | Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi, Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı, gönüllü staj |
| **2006 (30 iş günü)** | Antakya Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji, Biyokimya ve ELISA laboratuarları, zorunlu lisans stajı |

**6. YAYINLAR**

Çıtak S., Öcal Ş.C., **Külahcı M.B.,** 2015, Antibiotic Resistance and Slime Production in Coagulase-Negative *Staphylococcus* Strains from Retail Meat Samples, Gazi University Journal of Science, 28(3):359-364.

**7. KONGRELER**

**7.1. ULUSLARARASI KONGRELER**

1. **Külahcı, M.B.**, Çıtak, S., 2016. Hayvansal Kaynaklı Gıdalardan İzole Edilen *Bacillus*'ların Antibiyotik Ve Biyosit Direnç Profillerinin Araştırılması. 1. Uluslararası Turizm ve Mikrobiyal Gıda güvenliği Kongresi, Antalya, Sözlü Sunum.
2. **Külahcı, M.B.**, Gündoğan, N., 2016. Antibiotic Resistance of *Escherichia coli*,

*Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*, Isolated from Raw Milk and Dairy Products in Ankara, Turkey. 1. Uluslararası Turizm ve Mikrobiyal Gıda güvenliği Kongresi, Antalya, Poster Sunumu.

3. **Külahcı, M.B.**, Gündoğan, N., 2016. Occurrence and Antibiotic Resistance of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. Isolated from foods of animal origin, Turkey. 1. Uluslararası Turizm ve Mikrobiyal Gıda güvenliği Kongresi, Antalya, Poster Sunumu.
4. **Külahcı, M.B.**, Öçal Dirican, Ş.C., Çıtak,S., 2016. Slime Production in Antibiotic Resistant Coagulase-Negative *Staphylococcus* Strains Isolated from Retail Meat Samples, International Conferences on Biological Sciences, Konya, Sözlü Sunum.
5. Çıtak, S., **Külahcı, M.B.**, Özçelik, B., 2016. Antibiotic Resistance of *Bacillus cereus* Isolates in Ice-Cream Samples Sold in Ankara, International Conferences on Biological Sciences, Konya, Poster Sunumu.
6. Çıtak S., Kamanlı Can, N., **Külahcı, M.B.**, 2016. Prevalence, Proteolytic Activity and Antibiotic Resistance of Gram-Negative Psychrotrophic Bacteria in Raw Minced Meat, International Conferences on Biological Sciences, Konya, Poster Sunumu.
7. **Külahcı, M.B.,** Aktuğran, T., Çıtak,S., 2018. Hastane Kaynaklı, Antibiyotik Dirençli *E.coli* İzolatlarının Biyosit Direnç Profillerinin Belirlenmesi. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, Ankara, Sözlü Sunum.
8. Aktuğran, T., **Külahcı, M.B.,** Bayazıt, F.N., Çıtak,S., 2018. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Staphylococcus* ve *Enterococcus* Türlerinin Antibiyotik Direnç Profillerinin Araştırılması. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, Ankara, Poster Sunumu.
9. Şahin, Z., Çıtak, S., **Külahcı, M.B.**, 2017. Prevalence and Antibiotic Resistance of *Enterococcus* species in Food Products in Ankara, Turkey. International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies, Kapadokya, Sözlü Sunum.

### 7.2. ULUSAL KONGRELER

**1.** 2010, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), Denizli, Katılımcı.
**2. Kavukoğlu, M.B.**, Çıtak, S., 2012. Ankara'da Tüketime Sunulan Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Staphylococcus* Türlerinin Beta Laktamaz Üretimi ve Antibiyotik Dirençlerinin Araştırılması. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir, Poster Sunumu.
**3. Kavukoğlu, M.B.**, Çıtak, S., 2012. Ankara'da Tüketime Sunulan Et ve Tavuklardan İzole Edilen *Staphylococcus* Türlerinin Beta Laktamaz Üretimi ve Antibiyotik Dirençlerinin Araştırılması. 11.Türkiye Gıda Kongresi, Hatay, Poster Sunumu.
**4. Külahcı, M.B.**, Çıtak, S., 2014. Ankara'da Satışa Sunulan Beyaz Peynirlerden İzole Edilen *Bacillus* İzolatlarının Biyofilm Üretimi ve Antibiyotik Dirençlerinin Araştırılması. 22.Ulusal Biyoloji Kongresi, Eskişehir, Poster Sunumu.
**5. Külahcı, M.B.**, Çıtak, S., 2014. Ankara'da Marketlerde Satışa Sunulan Beyaz Peynirlerden *Bacillus* Türlerinin İzolasyonu ve Bazı Ekstraselüler Enzimlerinin Varlığının Belirlenmesi. 22.Ulusal Biyoloji Kongresi, Eskişehir, Poster Sunumu.
**6. Külahcı, M.B.**, Çıtak, S., 2016. Hayvansal Gıda Kaynaklı *Staphylococcus*'ların Antibiyotik ve Biyosit Direnç Profillerinin Araştırılması, 23. Ulusal Biyoloji Kongresi, Gaziantep, Sözlü Sunum.

## 8. BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ

**05/2012-54** nolu "Gıda kaynaklı *Staphylococcus* izolatlarındaki antibiyotik direnci ve beta laktamaz varlığının incelenmesi" Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Yardımcı Araştırmacı. 2013.
**05/2015-03** nolu "Gıdalardan izole edilen gram pozitif bakterilerde biyosit ve antibiyotik direnç profilinin araştırılması" Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Yardımcı Araştırmacı. 2016.
**05/2019-09** nolu "Çiğ ve Pişmiş Gıdalardan İzole Edilen Patojen Bakterilerin Bazı Fiziksel ve

Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi" Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Yardımcı Araştırmacı. 2019, devam etmektedir.
**TAGEM-16/AR-GE/28** nolu "Tüketime Sunulan Hayvansal Gıdalardan İzole Edilen Çeşitli Gram Pozitif Bakterilerin Antibiyotik ve Biyosit Dirençlilikleri ve Aktif Pompa Gen Profillerinin Araştırılması" Tarımsaal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü AR-GE Projesi, Yardımcı Araştırmacı. 2019

## 9. BİLİMSEL AKTİVİTELER VE KURSLAR

1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, "TEMEL BİYOİSTATİSTİK KURSU" Ankara, 6-7 Mart 2010.
2. T.C.Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, "V. UYGULAMALI MOLEKÜLER MİKROBİYOLOJİ KURSU, TEORİK ve PRATİK EĞİTİM" Ankara, 13-17 Eylül 2010.
3. European Commission, Youth in Action Programme, Youthpass for Youth Exchanges, "ANTIBIOTICS ARE NOT CANDIES" Ankara, 15-22 Ekim 2012.
4. İncekaralar, "MİKROSKOP VE KONTRAST YÖNTEMLERİ, FLORESAN MİKROSKOPİ YÖNTEMLERİ ve İLERİ GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ SEMİNERİ" Ankara, 2013.
5. İncekaralar, "EPPENDORF PİPET KLİNİK, PİPETLEMEDE PRENSİPLER, PİPETLERDE ERGONOMİ ve DEZENFEKSİYON SEMİNERİ" Ankara, 2013.
6. TÜBİTAK-BİDEB, "ARAŞTIRMACILARA BİYOLOJİ BİLİM DALINDA PROJE EĞİTİMİ" Ankara, 25-27 Nisan 2014.

**ZEHRA ŞAHİN**

**1.GENEL**

| | | |
|---|---|---|
| **DÜZENLEME TARİHİ** | **:** 10.06.2019 | |
| **T.C. KİMLİK NO** | **:** 47062918546 | |
| **ÜNVANI ADI SOYADI** | **:** Zehra ŞAHİN | |
| **YAZIŞMA ADRESİ** | **:** Gazi Üniversitesi Fen Fak., Biyoloji Bölümü, Teknikokullar/ANKARA | |
| **DOĞUM TARİHİ ve YERİ** | **:** 25.01.1985 | |
| **TEL : -** | | **GSM:** 0 5072374369 |
| **E-POSTA :** zehrakarabiyik@gmail.com | | **FAKS :**- |

**2. EĞİTİM**

| ÖĞRENİM DÖNEMİ | DERECE (*) | ÜNİVERSİTE | ÖĞRENİM ALANI |
|---|---|---|---|
| **2013** | Doktora Yeterlilik | Gazi Üniversitesi | Mikrobiyoloji |
| **2011- Devam ediyor** | Doktora | Gazi Üniversitesi | Mikrobiyoloji |
| **2007-2011** | Y. Lisans | Gazi Üniversitesi | Mikrobiyoloji |
| **2003-2007** | Lisans | Gazi Üniversitesi | Biyoloji |

**3. PROJE DENEYİMİ**

| YER ALDIĞINIZ PROJE SAYISI | Proje yürütücüsü olarak | Araştırmacı olarak |
|---|---|---|
| **Kurumsal (BAP vb.)** | - | - |
| **TAGEM AR-GE Projesi** | - | 1 |

**4.STAJLAR**

| STAJ SÜRESİ | STAJ YERİ |
|---|---|
| **2005-2006 (1 yıl)** | Ankara Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı |

**5. KONGRELER**

**5.1. ULUSLARARASI KONGRELER**

**1.** Şahin, Z., Çıtak, S., **Külahcı, M.B.**, 2017. Prevalence and Antibiotic Resistance of *Enterococcus* species in Food Products in Ankara, Turkey. International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies, Kapadokya, Sözlü Sunum.

**5.2. ULUSAL KONGRELER**

**1.** 2010, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), Denizli, Katılımcı.
**2.** 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir, Poster Sunumu.

**6. BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ**

**TAGEM-16/AR-GE/28** nolu "Tüketime Sunulan Hayvansal Gıdalardan İzole Edilen Çeşitli Gram Pozitif Bakterilerin Antibiyotik ve Biyosit Dirençlilikleri ve Aktif Pompa Gen Profillerinin Araştırılması" Tarımsaal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü AR-GE Projesi, Yardımcı Araştırmacı. 2019

**7. BİLİMSEL AKTİVİTELER VE KURSLAR**

1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, “TEMEL BİYOİSTATİSTİK KURSU” Ankara, 6-7 Mart 2010.
2. T.C.Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, “V. UYGULAMALI MOLEKÜLER MİKROBİYOLOJİ KURSU, TEORİK ve PRATİK EĞİTİM” Ankara, 13-17 Eylül 2010.
3. İncekaralar, “MİKROSKOP VE KONTRAST YÖNTEMLERİ, FLORESAN MİKROSKOPİ YÖNTEMLERİ ve İLERİ GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ SEMİNERİ” Ankara, 2013.
4. İncekaralar, “EPPENDORF PİPET KLİNİK, PİPETLEMEDE PRENSİPLER, PİPETLERDE ERGONOMİ ve DEZENFEKSİYON SEMİNERİ” Ankara, 2013.