



**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE KANATLI ÜRETİM ÇİFTLİKLERİNDEN ALINAN
ÇEVRESEL ORTAM ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLMİŞ
SALMONELLA SUŞLARINDA KOLİSTİN DİRENCİNİN SAPTANMASI**

**MEHMET ÜVEY
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Nilgün ÜNAL**

KIRIKKALE-2021

ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Mehmet ÜVEY

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

İÇİNDEKİLER DİZİNİ	III
ÖZET.....	VI
ABSTRACT	VII
TEŞEKKÜR	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
ÇİZELGELER DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Salmonella</i> 'nın Genel Özellikleri ve Kanatlılarda <i>Salmonella</i> 'nın tarihçesi.....	2
1.2. Polimiksinler ve Kolistin.....	4
1.3. Kolistinin Kimyasal Yapısı	5
1.4. Kolistinin Antimikrobiyal Etkisi	7
1.5. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	9
1.6. Kolistinde Direnç Mekanizmaları	10
1.8. Kolistin Direncinin Prevalansı ve Dünyadaki Dağılımı.....	16
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31

2.1. Gereç	31
2.1.1. Örnekler	31
2.1.2. Kullanılan Besi Yerleri, Testler, Ayraçlar, Araç ve Aygıtlar	31
2.2. Yöntem.....	33
2.2.1. İzolatların Fenotipik Kolistin Dirençlerinin Belirlenmesi	33
2.2.2. İzolatların Genotipik Kolistin Dirençlerinin Belirlenmesi	35
3. BULGULAR.....	40
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR	50
EKLER.....	Error! Bookmark not defined.
EK-1. İNTİHAL RAPORU	69
EK-2. ETİK KURUL ONAYI.....	Error! Bookmark not defined.
ÖZGEÇMİŞ.....	Error! Bookmark not defined.

ÖZET

TÜRKİYE KANATLI ÜRETİM ÇİFTLİKLERİNDEN ALINAN ÇEVRESEL ORTAM ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLMİŞ *SALMONELLA* SUŞLARINDA KOLİSTİN DİRENCİNİN SAPTANMASI

Kırıkkale Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Nilgün ÜNAL

Haziran 2021, 73 sayfa

Bu araştırmada, Türkiye'deki kanatlı üretim çiftliklerinden alınan çevresel ortam örneklerinden izole edilmiş ve serolojik olarak identifikasyonları yapılmış *Salmonella* suşlarının kolistin antibiyotiğine direncinin belirlenerek; dirençli suşlarda *mcr* genlerinin varlığının araştırılması hedeflenip *Salmonella* suşlarının kolistin direncinin fenotipik ve genotipik varlığının ilk kez ortaya konulması amaçlandı.

Türkiye kanatlı üretim çiftliklerinden 2014-2018 yılları arasında alınan çevresel ortam örneklerinden izole edilen ve tanımlanan *Salmonella* suşları ($n=300$) kolistine karşı fenotipik direnç ve duyarlılığının belirlenmesi amacıyla EUCAST kriterlerine göre mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak test edildi.

Fenotipik olarak direnç belirlenen *Salmonella* izolatlarında Avrupa Birliği Antibiyotik Direnci Referans Laboratuvarı tarafından yayınlanan multipleks PCR protokolüyle *mcr* genleri araştırıldı.

Salmonella izolatlarının 72 adedi (72/300) EUCAST kriterlerine göre kolistine fenotipik olarak dirençli ve 228 adet ise duyarlı olarak belirlendi. Fenotipik olarak kolistine dirençli olarak belirlenen izolatların hiçbirinin protokolda yer alan *mcr* genlerini taşımadığı tespit edildi.

Sonuç olarak *Salmonella* suşlarında bu araştırmada bakılan *mcr* genlerinin belirlenmemesi, bu genin plazmitlerde taşınması ve diğer bakterilere aktarılabilmesi nedeniyle gıda güvenliği ve halk sağlığı için olumlu olsa da fenotipik direncin varlığını göstermesi açısından önemlidir. Kolistin direnç mekanizmalarının tümüyle anlaşılabilmesi için tüm genom analizlerini de içeren daha kapsamlı çalışmalar yapılması bakterilerde artan antibiyotik direncinin önlenmesinde aydınlatıcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal direnç, EUCAST, kolistin, *mcr*, *Salmonella*

ABSTRACT

DETECTION OF COLISTIN RESISTANCE FROM THE *SALMONELLA* STRAINS ISOLATED FROM THE ENVIRONMENTAL SAMPLES TAKEN FROM THE POULTRY PRODUCTION FARMS IN TURKEY

Kırıkkale University

Graduate School of Health Sciences

Department of Veterinary Microbiology, Doctoral Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Nilgün ÜNAL

June 2021, 73pages

In this study, the *Salmonella* strains (n = 300) isolated and serologically identified from the environmental swab samples from the poultry farms in Turkey, have been tested to investigate if these are resistant to colistin. The study also aimed to reveal the presence of the phenotypic and genotypic resistance to colistin for the first time in Turkey from the *Salmonella* strains isolated from the environmental swab samples from the poultry housing environment.

Of all the *Salmonella* isolates tested (n=300), 72 isolates were considered to be phenotypically resistant and the remaining 228 were susceptible according to the EUCAST criteria with the specified MIC value of the colistin. These 72 resistant *Salmonella* isolates were then examined by the Multiplex PCR protocol published by the European Union Antibiotic Resistance Reference Laboratory.

It was determined that none of the strains carry the *mcr* genes by using the current PCR protocol mentioned above.

Although *mcr* genes were not detected in the tested isolates, it is important to understand the detection of *Salmonella* strains that is even phenotypically resistant may pose a potential risk to food safety and public health.

Conducting further studies by using the whole genome sequencing analysis and any other new techniques might contribute to a better understanding of the colistin resistance and its transmission in the environment, humans and animals.

Key Words: Antimicrobial resistance, colistin, EUCAST, *mcr*, *Salmonella*

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Nilgün ÜNAL'a en derin saygı ve şukranlarımı sunarım.

Doktora alışması yapmama vesile olarak değerli katkılarıyla beni yönlendiren Sayın Prof. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ, Sayın Doç. Dr. Fethiye VEN ve Sayın Uzman Veteriner Hekim Dr. Asiye DAKMAN'a; programa başlangıç aşamamdan bitirme aşamasına kadar yaşadığımız türlü sorunlara her an zm bularak bizlere yol gösteren ve hatırlatmalarda bulunan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Murat YILDIRIM'a; Tez izleme komitemde yer alarak deneyimlerini esirgemeyip daima olumlu yönlendiren Sayın Prof. Dr. Aylin KASIMOĞLU'na; güzel paylaşımlarıyla moralimi yükselten Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sibel KIZIL'a ve tez kapsamında yaptığım tüm deneylerde bana desteğini hiç esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Laboratuvar Teknisyeni Kenan YILMAZ'a, Dr. Ramin ATASOY'a ve tüm laboratuvar personelime özel olarak teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda kullandığım pozitif suşları ve protokolü sağlayan Danimarka Teknik Üniversitesi Ulusal Gıda Enstitüsü Genomik Epidemiyoloji Araştırma Grubunda doktora ğrencisi olan Ana Rita BestosREBELO'ya ve grubun lideri Prof. Dr. Rene S. HENDRIKSEN'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen dostlarıma, özellikle Sayın Dr. Zehra Ceren Ertekin ÖZKAN'a; dönem arkadaşlarıma ve özellikle Sayın Dr. Bilge İşlek SELVİ'ye; ayrıca yoğun eğitim ve çalışma yaşamım boyunca beni sabırla destekleyip bugünlere gelmemi sağlayan rahmetli annem Fatma ÜVEY ve rahmetli babam Fahri ÜVEY ile kıymetli aileme teşekkür ederim.

Mehmet ÜVEY

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	:	DereceSantigrat
ADT	:	Antimikrobiyal Duyarlılık Testi
AMD	:	Antimikrobiyal direnç
APEC	:	Avian Pathogenic <i>E. coli</i>
ATCC	:	Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection)
bp	:	Baz çifti (base-pair)
CFU	:	Koloni Oluşturan Birim (Colony Forming Unit)
CLSI	:	Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical Laboratory Standards Institute)
ÇİD	:	Çoklu İlaç Dirençli (MDR)
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü (WHO)
EFSA	:	Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu
EUCAST	:	Avrupa Antimikrobiyal Direnç Testi Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)
EURL-AR	:	Avrupa Birliği Antimikrobiyal Direnç Referans Laboratuvarı
g	:	Gram
GKGM	:	Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü

GNB	:	Gram Negatif Bakteri
GPB	:	Gram Pozitif Bakteri
GSBL	:	Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamaz (ESBL)
ISO	:	Uluslararası Standartlar Örgütü (International OrganizationforStandardization)
IU	:	Uluslararası Birim (International Unit)
KAMHB	:	Kasyon Ayarlı Mueller Hinton Broth (CAMHB)
kob	:	Koloni oluşturan birim (cfu)
L	:	Litre
L-Dab	:	Lizin -2,4-Diaminobütirik asit
LPS	:	Lipopolisakkaritler
MCR	:	Mobil Kolistin Direnci (Mobile Colistin Resistance)
mg	:	Miligram
MİK	:	Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon (Minimum InhibitoryConcentration-MIC)
ml	:	Mililitre
NDM	:	New Delhi Metalo Beta Laktamaz
OIE	:	Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (The World OrganisationforAnimalHealth-Office International desEpizooties)
PCR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PolymeraseChainReaction)
R	:	Dirençli (Resistant)
rpm	:	Dakikadaki devir sayısı (Revolutionsperminute)
S	:	Duyarlı (Susceptible)
SMD	:	Sıvı Mikro Dilüsyon Tekniği
UV	:	Ultraviyole
WGS	:	Tüm Genom Dizileme (WholeGenomeSequencing)
µg	:	Mikrogram

μ l : Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Polimiksinlerin genel kimyasal yapısı	6
1.2. Kolistinin kimyasal yapısı.....	7
1.2. Kolistinin etki mekanizması ve LPS biyosentezi.....	8
1.4. Polimiksin direnç mekanizmalarının ve görüldüğü türlerin şematik anlatımı	13
1.5. <i>mcr</i> genlerinin insan ve hayvanlarda keşfinin kronolojik seyri	14
1.6. <i>mcr-1</i> genlerinin insanlar, hayvanlar ve çevre arasındaki potansiyel geçiş yolları	15
1.7. <i>mcr</i> genlerinin GSBL ve karbapenemazla birlikte ilişkisinin tarihsel yolculuğu	17
1.8. Farklı ülkelerde <i>mcr</i> genlerinin dağılımı.....	19
1.9. Hayvanlardan ve su kültüründen izole edilmiş bakterilerdeki <i>mcr-1</i> genlerinin haritada dağılımı.....	20
<i>mcr-1</i> ’ den <i>mcr-9</i> ’ a kadar <i>mcr</i> genlerinin haritada dağılımı	25
1.11. <i>mcr</i> genlerinin bakteri, konakçı ve plazmit tiplerine göre dünyadaki dağılımı	30
2.1. Örneklerin kuru ısı bloğunda kaynatılması	36
2.2. EURL-AR Protokolü Amplifikasyon Aşamalarının Termal Döngü Cihazındaki Görünümü	38
2.3. Amplifiye edilmiş DNA ürünlerinin agaroz jel elektroforez ünitesine yüklenmiş hali.....	38

2.4. Agaroz jelde beş <i>mcr</i> geni için bantların görüntülenmesi.....	39
3.1. SMD yöntemiyle MİK testi yapılmış bazı izolatların U tabanlı polistiren plakta görünümü	43
3.2. <i>mcr-1</i> , <i>mcr-2</i> , <i>mcr-3</i> , <i>mcr-4</i> ve <i>mcr-5</i> genlerinin tespiti için yapılan multipleks PCR sonucu, pozitif kontrol suşları ve örnekler	44



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

1.1. Bazı bakterilerde polimiksin direnci.....	11
2.1.Örnek sayısına göre çalışılacak toplam hacmin hesaplanması	37
2.2. Termal döngü cihazındaki amplifikasyon koşulları	37
3.1. Çalışmada kullanılan Salmonella serotipleri.....	40
3.2. Kolistin için SMD yöntemiyle elde edilen MİK50 ve MİK90 değerleri	42
3.3.EUCAST kriterlerine göre Kolistin için MİK sınır değerleri	42
3.4.Test edilen tüm izolatların EUCAST kriterlerine göre SMD'la elde edilmiş MİK değerleri	42
3.5. EUCAST kriterlerine göre MİK değerleri dirençli çıkan izolatlar ve sayıları....	43

1. GİRİŞ

Salmonellozis, 2500'den fazla *Salmonella* serotipinin neden olabildiği, hem sporadik vakalar hem de salgınlarla seyredabilen, insan ve tüm hayvan türlerinde görülebilen bir enfeksiyondur.

Salmonella spp. kaynaklı enfeksiyonlar günümüzde küresel bir problem olup, halk sağlığı açısından tehlike oluşturan *Salmonella* suşlarının serotiplendirilmesi ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi epidemiyolojik açıdan önem taşımaktadır. İnsanlarda hastalık oluşturan tifo dışı *Salmonella* serotiplerinin başlıca kaynağı hayvansal besinlerdir. İnsanlara bulaşma açısından en başta kümes hayvanları, bunların ürünleri ve özellikle yumurta gelmektedir. Özellikle yem, yem katkı maddeleri, hayvan, hayvansal ürün ve gıda ticaretinin artması, işlenmiş gıda tüketiminin yaygınlaşması, gıda tüketiminde alışkanlıkların değişmesi bu duruma neden olmaktadır (Humphrey, 2000). Dünya Sağlık Örgütü dünya genelinde insan ve hayvan kaynaklı izolatlardan elde edilen *Salmonella*'larda ilaç dirençlerinde endişe verici bir artışın olduğunu bildirmektedir (WHO, 2014).

Siprofloksasin gibi florokinolonlar, *Salmonella* enfeksiyonları da dâhil olmak üzere invaziv gastrointestinal enfeksiyonların tedavisinde çok uzun zaman kullanılmış geniş spektrumlu antimikrobiyal ajanlardır (Pidcock 2002; Giraud, Baucheron ve Cloeckert 2006). Ancak son zamanlarda insanlardan ve hayvanlardan izole edilen *Salmonella* suşlarının, nalidiksik asit direncine sahip olduğu ve florokinolonlara duyarlılığın önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Meakins vd., 2008).

Hayvansal kökenli tifo dışı *Salmonella* izolatlarında bulunan direnç genlerine bakıldığında bu genlerin çoğunun hem insanlarda hem de hayvanlarda geniş bir zaman dilimi içinde kullanılan antimikrobiyal ajanlara (örneğin penisilinler, sefalosporinler, tetrasiklinler, fenikoller, aminoglikozitler, sülfonamidler ve

trimetoprim) karşı direnç kazandırdığı; bu genlerin çoğunun mobil genetik elementlerle ilişkili olduğu ve bu genlerin *Salmonella*'ya spesifik değil, geniş bir Gram-negatif enterik bakteri grubunda ve hatta enterik olmayan bakterilerde görüldüğü anlaşılmaktadır. Böylelikle, direnç genlerinin başlangıçta nerede geliştiğinin, bakteriler arasındaki gen aktarım süreçleriyle hayvan ve insankökenli bakteriler arasındaki genetik etkileşimlerin ne zamandan beri gerçekleştiğinin tespit edilmesi mümkün olamamaktadır (Michael ve Schwarz, 2016).

Bununla birlikte, gıda amaçlı yetiştirilen hayvanlarda karbapenemlerin kullanımı hiç onaylanmadığı halde bu hayvanlarda ve çevresel kaynaklı olan *Salmonella* spp. izolatlarında karbapenemaz genlerinin varlığı muhtemelen insan tıbbıyla ilişkilidir(Poirel, Stephan,Perreten ve Nordmann, 2014).

Kolistin, günümüzde *Salmonella* enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan bir antibiyotik değildir, bu nedenle kolistin direncinin gelişimi de klinik olarak anlamlı değildir(Gut,Vasiljevic,Yeager ve Donkor, 2018). Bununla birlikte, geçmişten bu yana çiftlik hayvanlarında kolistinin yoğun kullanımı, gıda üreten hayvanlarda direncin yaygınlaşmasına yol açabilir ve bu yatay olarak diğer konakçılara veya hayvan ve insan kaynaklı patojenlere aktarılabilir(Catry vd., 2015; Hassan,El-Gemayel,Bashour ve Kassem, 2020).Gıda üreten hayvanlar, özellikle kümes hayvanları ve domuz, kolistin direncine sahip *Salmonella enterica* suşlarının birincil rezervuarı gibi görünmektedir(Richez ve Burch, 2016).

1.1.Salmonella'nın Genel Özellikleri ve Kanatlılarda

***Salmonella*'nın tarihçesi**

Salmonella ilk olarak 1885 yılında Theobald Smith adlı bir teknisyen tarafından keşfedilmiş ve araştırma lideri, Veteriner Hekim Daniel Salmon'un adını almıştır.Ekip şu anda S. Choleraesuis olarak bilinen ve domuz bağırsağından izole edilmiş bu bakteriyi *Bacterium suispestifer* olarak adlandırmıştır.

Daha sonratifo basiliyle aşılınmış bir hayvanın serumunun tifo basillerini aglütine ettiğini keşfedilmiştir (Gruber ve Durham, 1896; Pfeiffer ve Kolle, 1896).

Aynı dönemde bir tifo hastasının serumunun tifo basilini aglutine ettiği keşfedilmiştir (Grünbaum, 1896).

Bu yeni test, "serodiagnostik" olarak adlandırılmıştır (Widal, 1896). Aynı yıl, tifonun klinik belirtilerini gösteren ve Widal serodiagnozunegatif olan hastalardan iki izolat elde edilmiştir (Achar ve Bensaude, 1896). Bu yeni izolat 'paratifoid basil' olarak adlandırılmış ve sürekli yeni serovarların eklendiği *Salmonella* spp. için bir başlangıç olmuştur.

O ve H antijenlerinin analizi, bugünkü sınıflandırmalara temel olan çok sayıda serovarin tanımlanmasıyla sonuçlanmıştır (White, 1926; Kauffmann, 1942).

Salmonella spp. Enterobacteriaceae familyasında yer alırlar. Bu cins içerisinde *S. enterica* ve *S. bongori* iki türve 2500'den fazla serotip bulunmaktadır. Bunlardan *S. enterica* şu alt grupları içermektedir (Grimont ve Weill, 2007, Meakins vd., 2008):

S. enterica subsp. *enterica* (I) , *S. enterica* subsp. *salamae* (II), *S. enterica* subsp. *arizonae* (III a), *S. enterica* subsp. *diarizonae* (III b), *S. enterica* subsp. *houtenae* (IV), *S. enterica* subsp. *indica* (VI)

Kanatlılarda yapılan *Salmonella* çalışmaları için yüzyılın başında *S. Pullorum*'un neden olduğu pullorum hastalığı milat olarak kabul edilebilir. Hastalık ilk olarak "genç civcivlerin septisemisi" olarak tanımlanmıştır (Rettger, 1900). Daha sonra hastalığa "genç tavukların ölümcül septisemisi veya beyaz ishal" adını vermiş ve nedenini *Bacterium pullorum* olarak adlandırmıştır (Rettger, 1909).

S. Gallinarum'un neden olduğu kanatlı tifosu, öncelikle tavukları ve hindileri etkileyen septisemik bir hastalık olup ilk açıklanan salgın 1888'de İngiltere'de bir tavuk yetiştiricisi 400 tavuğu kaybettiğinde meydana gelmiştir (Klein, 1889).

Kanatlı tifosu dünya çapında bir dağılıma sahiptir ve dünyanın hemen hemen tüm kümes hayvanı üreten bölgelerinde görülmüştür (Gast ve Porter Jr, 2020).

1900'lerin ilk elli yılında, *Salmonella* sorunu denilince akla gelen insanlarda konakçıya özgü bir hastalık olan ve *S. Typhi*'nin sebep olduğu tifo hastalığıyla (Mandal, 1979) sürülerde yüksek ölüm oranlarına neden olan tavuk ve hindilerde yaygın olarak görülen pullorum hastalığıydı (Rettger, 1909; Hewitt, 1928).

Pullorum ve kanatlı tifosu testlerinin yaygın kullanımı ve alınan sıkı kontrol önlemleri, 1950'lerde ve 1960'larda gelişmiş ülkelerin çoğunda bu hastalıkların çok daha düşük prevalansıya sonuçlanmıştır (Gast ve Porter Jr, 2020).

1940'lardan başlayarak, konakçıya özgü olmayan *Salmonella* serovarlarının insanlardan ve hayvanlardan izolasyonunda hızlı bir artış olmuştur (Guthrie, 1992). Bu durum özellikle daha yakın zamana kadar birçok ülkede insanlardan ve hayvanlardan (bilhassa sığırlardan) izole edilen en yaygın serovar olan *S. Typhimurium* için geçerliydi (Kühn, Rabsch, Gericke ve Reissbrodt, 1993).

Kanatlı hayvanlar ve onlardan elde edilen ürünler, her dönem insanlara bulaşan konakçıya özgü olmayan *Salmonella*'nın ana kaynakları olmuş ve büyük *Salmonella* salgınlarıyla ilişkilendirilmiştir (Laszlo, Csórián ve Paszti, 1985; Humphrey, Mead ve Rowe, 1988; Louis vd., 1988).

S. Typhimurium, özellikle 1950'den 1970'lerin sonuna kadar olan dönemde, birçok ülkede kümes hayvanlarından izole edilen en yaygın serovarlar arasında olmuştur (Faddoul ve Fellows, 1966).

Sonraki 10-15 yıl içindeyse *S. Enteritidis*, dünya çapında birçok ülkede kümes hayvanlarında en yaygın serovar olarak *S. Typhimurium*'un yerini almıştır (Saeed, Gast, Potter ve Wall, 1999; Zielicka-Hardy, Zarowna, Szych, Madajczak ve Sadkowska-Todys, 2012; Harker, Lane, Gormley ve Adak, 2014).

Takip eden yıllarda ise, dünyada *S. Enteritidis* izolasyon oranlarında bir düşme olmuş ve tavuklardan izole edilen *S. Enteritidis*'in sayısı azalmıştır (Foley vd., 2011).

Buna karşın son yıllarda içerisinde kanatlı hayvanlardan izole edilen en yaygın serovarlar *S. Heidelberg*, *S. Infantis*, *S. Hadar*, *S. Virchow* ve *S. Schwarzengrund* olarak tespit edilmiştir (EFSA/ECDC, 2019).

1.2. Polimiksinler ve Kolistin

Polimiksin, ilk kez bir Gram pozitif bakteri (GPB) olan *Paenibacillus polymyxa subsp. colistinus*'dan izole edilmiş polipeptid grubu bir antimikrobiyaldir (Stansly ve Schlosser, 1947). Polimiksin sınıfında A'dan E'ye kadar beş farklı polimiksin bulunmakta olup bunlardan sadece polimiksin B ve polimiksin E klinik

kullanımda yer alır.Hem kolistin hem de polimiksin B, bu bakterilerin ribozomal olmayan proteininin ikincil metabolitidir(Biswas,Brunel,Dubus,Reynaud-Gaubert ve Rolain, 2012).

Kolistinin daha az toksik ve inaktif bir formu olan kolistimetat sodyumun (CMS) 1959'da pazarda yer almasıyla, enjekte edilebilir kolistin tüm dünyada Gram negatif bakterilerin (GNB) neden olduğu birçok hastalığın tedavisi için kullanılabilir hale gelmiştir (Dijkmans vd., 2015). Ancak daha sonra, aminoglikozitlerin ortaya çıkmasıyla, kolistin kullanımı, ilacın nefrotoksitesisi ve nörotoksitesisi nedeniyle 1980'lerde önemli ölçüde azalarak gözden düşmüştür (Velkov,Roberts,Nation,Thompson ve Li, 2013).

Kolistin (diğer bilinen adıyla polimiksin E), dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ve önemi her geçen gün giderek artan ajanlardan biridir.

Günümüzde polimiksinler çoklu antibiyotik direnci geliştiren *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve karbapenemaz üreten enterik bakteriler gibi sorunlu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde zorunlu olarak tercih edilen antibiyotiklerdir (Li vd., 2006).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), ilkinin 2005 yılında yayınladığı raporlarla kolistini gıda üretimi yapılan hayvanlarda kullanımı kritik öneme sahip antimikrobiyallar arasında göstermektedir (WHO, 2019).

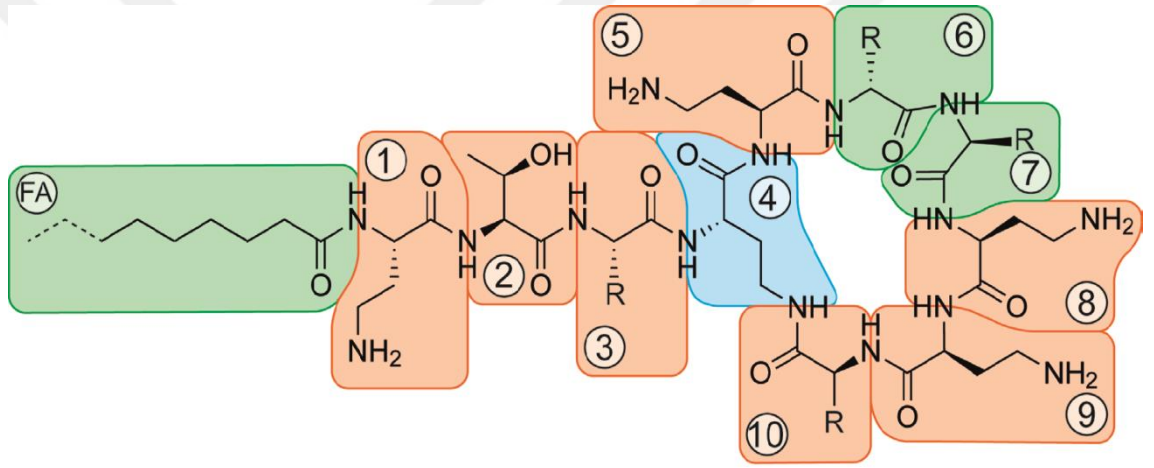
EFSA ve ECDC özellikle son yıllarda "Tek Sağlık" kavramı kapsamında çalışmalarda bulunmuş olup yayınladığı raporlarda antibiyotik direnciyle gıda, veteriner hekimlik ya da çevre gibi farklı sektörlerin ilişkisini ortaya koymaya çalışmış; tüketicilerin ilgisini bu alana yönlendirmeye odaklanmıştır (ECDC, 2016; EFSA/ECDC, 2020).

1.3. Kolistinin Kimyasal Yapısı

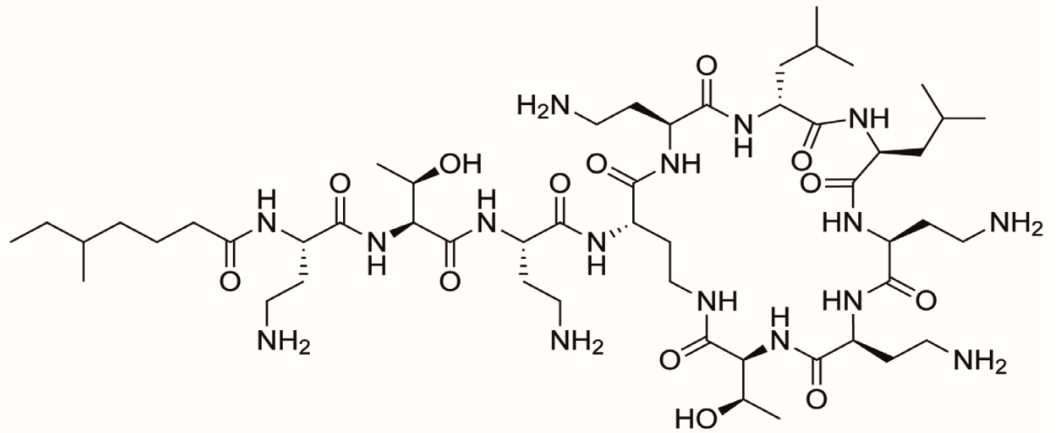
Polimiksinler; amfipatik, non ribozomal olarak sentezlenen, bir amid bağı ile metil-6-oktanoik aside bağlanmış onlu peptid grubu içeren siklik lipopeptitlerdir. Onlu peptid grubunda yedi aminoasit bir halka oluşturur ve bu halkaya diğer üç

aminoasit düz bir zincir şeklinde bağlıdır. Peptid gruplarında yer alan amino asitlerin kompozisyonuna ve yağ asit gruplarına göre farklı polimiksinler tanımlanmıştır. Kolistin; tripeptid yan zincirle birlikte D ve L- aminoasitlerinin oluşturduğu siklikheptapeptid halkasını içermektedir. Yan zincir açıl grubu ile yağ asidine kovalan olarak bağlanmaktadır(Li, Nation ve Kaye, 2019).

On aminoasit içinde 3, 6, 7 ve 10. pozisyondakiler değişiklik gösterebilir. Polimiksinlerde hidrofobik ve hidrofilik özellikler tüm değişkenlere karşın korunduğu için amfipatik yapı çok karakteristik olup bu yapı etki mekanizmalarında büyük önem taşımaktadır (Velkov,Thompson,Nation ve Li, 2010).



1.1. Polimiksinlerin genel kimyasal yapısı: Polimiksinlerin peptid kısmının değişken bölgeleri (amino asitler 3, 6, 7 ve 10'un kalıntıları) "R" ile gösterilir. Tek tek amino asitler ve yağ asidi (FA), molekül içindeki işlevlerine göre renklendirilmiştir. Hidrofobik kısımlar yeşil, hidrofilik kısımlar ise turuncu ile belirtilmiştir. Maviyle renklendirilen 4. pozisyonadaki L-Dab, molekül içi döngüyü oluşturmak için bağlayıcı olarak işlev görür.(Velkov vd., 2010)'dan uyarlanmıştır.



1.2. Kolistinin kimyasal yapısı Kolistin, değişken grupların sırasıyla 3. pozisyonda L- Dab, 6. pozisyonda D- Leu, 7. pozisyonda L-Leu ve 10. pozisyonda L-Thr olduğu polimiksin türüdür.(Li vd., 2019)'dan uyarlanmıştır.

1.4. Kolistinin Antimikrobiyal Etkisi

Kolistin, GNB için seçici olarak bakterisidaldir ve GPB'ler ile aside dirençli bakterileri etkilemez. Kolistin, bu tür bakterilerin membranlarında LPS moleküllerinin varlığı nedeniyle sadece GNB'lere karşı etkilidir (Falagas, Kasiakou ve Saravolatz, 2005; Li vd., 2019).

GNB membranlarında bulunan LPS molekülleri kolistin için hayati öneme sahiptir, çünkü kolistinin etki mekanizması LPS molekülleri ile etkileşime dayanır (Falagas vd., 2005; Li vd., 2019; Sabnis vd., 2019).

Kolistinin etki mekanizması, kolistinin GNB yakınına gelmesiyle başlar [Şekil 1.3. 1. Aşama] (Janssen, 2020).

Kolistin, katyonik peptid yapısındadır ve lipit A kısımlarının anyonik fosfat gruplarına bağlanarak iki değerlikli Ca^{+2} ve Mg^{+2} katyonlarını serbest hale getirir ve elektrostatik etkileşimler yoluyla LPS moleküllerinin lipit A kısmına bağlanır [Şekil 1.3.2. Aşama] (Hancock, 1997).

Lipit A'ya bağlandıktan sonra kolistin, korunmuş amfipatik yapının bir sonucu olarak kendini membrana yerleştirebilir [Şekil 1.3.3. Aşama] (Schindler ve Osborn, 1979; Hancock, 1997).

Her ne kadar kolistinin dış membranın çeperlerine ilk temasında membran bütünlüğü zayıflasa da, bu durum hücre ölümüne yol açmaz (Heesterbeek vd., 2019).

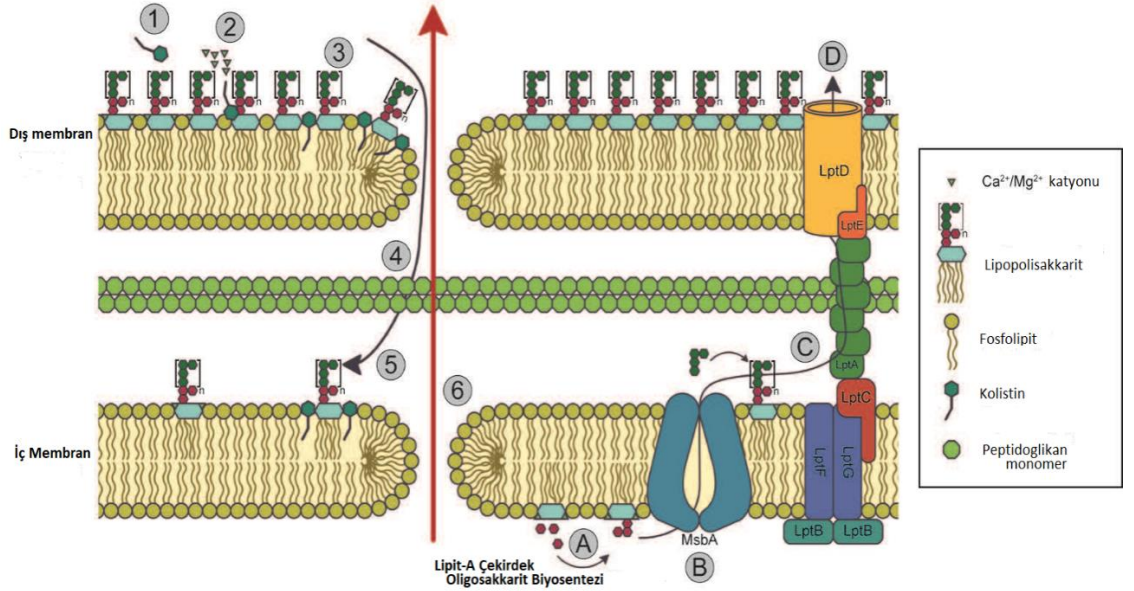
Dış membranın destabilizasyonunun hücre ölümüne yol açmadığı gözlemleri nedeniyle, kolistinin GNB'leri öldürme mekanizması uzun bir süredir tartışılıyordu (Brogden, 2005; Giuliani, Pirri ve Nicoletto, 2007).

Son çalışmalar, kolistinin periplazmik boşluktan geçtiğini [Şekil 1.3.4. Aşama] ve sitoplazmadaki sentezden sonra iç membranın dış çeperinde bulunan LPS moleküllerini hedeflediğini göstermiştir [Şekil 1.3.5. Aşama](Putker, Bos ve Tommassen, 2015).

Kolistinin iç membran üzerindeki dengesizleştirici etkisi, bakterinin ölümüne yol açmaktadır [Şekil 1.3.6. Aşama] (Putker vd., 2015; Sabnis vd., 2019).

Hücre içi sentezlenen lipit-A(A aşaması) glikolipid ve lipopolisakkaritlerin hücre dışı membranına taşınmasında görevli ATP bağımlı membran kanalı MsbA ile taşındıktan (B aşaması) sonra LPS zaten iç membranın dış çeperlerinde mevcuttur. LPS, LptB2FG ABC taşıyıcı kompleksi tarafından ekstraksiyondan sonra dış membrana LptC ve LptA ile taşınacaktır (C aşaması). Dış membranın dış çeperinde yer değiştirme, LptDE kompleksi aracılığıyla gerçekleşir (D aşaması).

Bununla birlikte bazı spesifik GNB'ler, doğası gereği kolistine dirençlidir. Bu türler: *Brucella* spp.,*Burkholderia cepacia* kompleksinden türler, *B. pseudomallei*, *Edwardsiella tarda*, *Hafnia* spp., *Helicobacter pylori*, *Morganella morganii*, *Ochrobactrum intermedium*, *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Serratia* spp., Sphingomonadaceae familyası ve *Vibrio* spp. (Velasco vd., 1998; Vaz-Moreira, Nunes ve Manaia, 2011; Cai, Lee ve Kwa,2015; Göker,Aşık,Yılmaz,Çelik ve Tekiner, 2017; Jayol vd., 2017, Li vd., 2019).



1.2. Kolistinin etki mekanizması ve LPS biyosentezi(Janssen 2020)'dan uyarlanmıştır.

Bu türler, membrandaki anyonik yükleri azaltarak katyonik moleküller ile lipit A'nın fosfat gruplarının yapısal modifikasyonu veya fosfat gruplarının sayısının azaltılması yoluyla intrinsik direnç kazanırlar(Olaitan, Morand ve Rolain, 2014).

1.5. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Antimikrobiyal direnç mekanizmaları genel olarak intrinsik (doğal) ve kazanılmış direnç olarak iki şekilde sınıflandırılabilir (Abushaheen vd., 2020).

İntrinsik (doğal) direnç: Bazı özel bakteri cinsleri ve/veya türleri, belirli antibiyotiklere direnç sağlayan benzersiz yapısal özelliklere sahiptir. Bu bakteri grupları spesifik antibiyotiklerin etki edebileceği bir hedef bölgeye sahip olmadığından antimikrobiyal ajan etkisiz kalır. Ör: *Mycoplasma* spp'de hücre duvarının olmaması, β -laktam antibiyotikler ve glikopeptidlere karşı onları dirençli hale getirir (van Duijkeren, Schink, Roberts, Wang ve Schwarz, 2018).

Kazanılmış direnç: Doğal duyarlılığı olan bakterilerin, diğer dirençli bakteri türlerinden direnç genlerini alarak belirli antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilmesi olarak tanımlanabilir (Schwarz, Loeffler ve Kadlec, 2017).

Dirençin değişik mekanizmaları vardır: İlki enzimlerle antimikrobiyal ajanların inaktivasyonu olup hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilerde görülür. Örneğin beta laktam antimikrobiyalleri parçalayan beta laktamaz enzimi, aminoglikozitleri inaktive eden fosforilaz, asetilaz ve adenilaz enzimleri, direnç gelişiminde oldukça önemli enzimlerdir(Jacoby ve Bush, 2005; Ramirez ve Tolmasky, 2010).

İkincisi hedef bölge değişiklikleri olup genellikle bakteri geninin kromozom üzerindeki mutasyonundan kaynaklanır. DNA giraz sentezinden sorumlu gende meydana gelen nokta mutasyonu sonucunda ilacın hedefinde oluşan değişiklikle kinolonlara direnç gelişir (Redgrave, Sutton, Webber ve Piddock ,2014).

Günümüzde en çok bilinen kromozomal mutasyonlar gyrA alt ünitesinde meydana gelen mutasyonlardır. Bazı bakterilerde hedef bölge değişimlerinden farklı olarak ilaca duyarlı hedefe gereksinimi ortadan kaldıracak yeni bir metabolik yol

geliştirilebilir. Örneğin Trimetoprim/ sulfametoksazol kombinasyonu, bakterinin yaşamsal önemi olan kromozomun replikasyonunda rol oynayan enzimleri inhibe eder. Bakteriler folat sentez etme yerine ortamdan hazır folat alarak alternatif bir metabolik yol kullanır(Schwarz vd., 2017).

Bir diğer mekanizma da aktif pompalama sistemleriyle antimikrobiyallerin dışa atımıdır. Bakterideki aktif pompa sistemi proteinleri, besinlerin ve iyonların hücreye alınmasını, metabolik son ürünlerin ve zararlı maddelerin hücre dışına atılmasını, bakterilerin birbirleri ve çevreleriyle olan ilişkilerini düzenleyen proteinlerdir. Dışa atım pompa proteinleri, yapısal düzeyde sentezlendiklerinde bakterinin doğal direncine katkıda bulunan proteinlerdir. Yüksek düzeyde sentezlenmeleri antimikrobiyal ilaçların, dezenfektanların ve boyaların da içinde bulunduğu çok sayıda bileşiğe karşı tek adımda çoklu ilaç direnci oluşumuna neden olmaktadır (Li, 2016).

1.6. Kolistinde Direnç Mekanizmaları

Enterobacteriaceae' damcr-1 geni tarafından kodlanan plazmid aracılı kolistin direncinin Çin'deki çoklu kaynaklardan (Liu vd., 2016) ve dünya çapındaki hayvan kökenli örneklerden tanımlanmasından (Skov ve Monnet, 2016) bu yana, Avrupa'da gıda tüketimi amaçlı üretilen hayvanlarda insan sağlığı üzerinde bir etkisi olabileceği gerekçesiyle polimiksinlerin kullanımı sorgulanmaya başlanmıştır (EMA/CVMP/CHMP, 2016).

Kolistin de tıpkı diğer antibiyotikler gibi direnç gelişiminden kaçamamaktadır. Her ne kadar kolistin direncinin insidansı şimdilik nispeten düşük olsa da, muhtemelen bu kolistin kullanımının diğer antibiyotiklere göre daha az olması kaynaklıdır (Bialvaei ve Samadi Kafil, 2015).

Salmonella' da ve indikatör *E. coli*' de kolistin direncinin AB ülkelerinde zorunlu izlenmesi 2014 yılında programa alınmıştır. Bazı üye ülkeler kolistin duyarlılığını doğru bir şekilde tespit etmede teknik zorluklarla karşılaşmış olsalar da, elde edilen izleme verileri gelecekte kümes hayvanları için hedeflenen değerlendirmelerde temel alınabilecek nitelikte olmuştur(ECDC, 2014).

Bildirilen kolistin direnci, birçok farklı direnç mekanizması kolistin direncine yol açabildiğinden dolayı doğrudan *mcr-1* geniyle ilişkilendirilememektedir (EMA/CVMP/CHMP, 2016).

Kolistinin invitro duyarlılığını belirlemede disk difüzyon ve dilüsyon yöntemleri kullanılmakla birlikte, referans laboratuvarları tarafından kabul edilen ortak bir Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon (MİK)değeri yoktur. "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)", kolistin duyarlılığını saptamak amacıyla disk difüzyon yönteminin kullanımını önermemektedir. Disk difüzyon yöntemiyle alınan sonuçların dilüsyon yöntemiyle doğrulanması gerekmektedir (EUCAST, 2016).

Kolistin direncinin çeşitli yollarla LPS modifikasyonu ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Bunlar: (i) dış zar porinlerinin spesifik modifikasyonu ve LPS'nin toplam negatif yükündeki azalma (ii) effluks pompa sistemlerinin aşırı ekspresyonu (iii) kapsül polisakaridinin aşırı üretilmesi ve (iv) *B. polymyxa*'nın ürettiği kolistinaz olarak özetlenebilir (Kim vd., 2014).

1.1. Bazı bakterilerde polimiksin direnci(WHO, 2018)

Mikroorganizma	Polimiksinlere direnç durumu
<i>Escherichia coli</i>	Duyarlı
<i>Klebsiella</i> spp.	Duyarlı
<i>Enterobacter</i> spp.	Duyarlı
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Duyarlı
<i>Acinetobacter</i> spp.	Duyarlı
<i>Salmonella</i> spp.	Duyarlı
<i>Shigella</i> spp.	Duyarlı
<i>Pasteurella</i> spp.	Duyarlı
<i>Haemophilus</i> spp.	Duyarlı
<i>Proteus</i> spp.	Doğal dirençli
<i>Providencia</i> spp.	Doğal dirençli
<i>Morganella morganii</i>	Doğal dirençli
<i>Serratia</i> spp.	Doğal dirençli
<i>Brucella</i> spp.	Doğal dirençli
<i>Neisseria</i> spp.	Doğal dirençli
<i>Chromobacterium</i> spp.	Doğal dirençli
<i>Burkholderia</i> spp.	Doğal dirençli
Gram-pozitif bakteriler	Tüm gram pozitif bakteriler dış membranları olmadığından polimiksinlere doğal dirençlidir.

Effluks pompanın da polimiksin direnci üzerindeki etkisi olduğu bilinmemekte olup konu henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Effluks pompasının aşırı çalışmasına yol açan *kpnEF* ve *acrAB* genlerindeki mutasyonların polimiksin

direncine yol açtığı gösterilmiştir (Padilla vd., 2010; Srinivasan,Singh,Priyadarshi,Chauhan ve Rajamohan, 2014).

Bir başka çalışmada kolistin dirençli bir *E. coli* suşunun tam genom dizimi yapılarak; effluks pompasının kolistin direncine önemli bir katkıda bulunduğu ve kolistin direncine muhtemelen L-Ara-4-N yolağının aracılık ettiği ortaya çıkartılmıştır (Saeed vd., 1999).

N. meningitidis ile yapılan bir çalışmada ise MtrCDE effluks sisteminin ekspresyonunun polimiksin direncinin artmasına sebep olduğu gösterilmiştir (Janganan,Bavro,Zhang,Borges-Walmsley ve Walmsley, 2013).

Lipit A biyosentezinde etkili olan genlerin mutasyonlarıyla oluşan bir başka direnç mekanizmasında LPS kaybı dirence yol açmakta olup *lpxA*, *lpxC* ve *lpxD* genlerindeki mutasyonlar oluşmaktadır ve *Acinetobacter baumannii*' de bu modifikasyonlar gösterilmiştir (Moffatt vd., 2010).

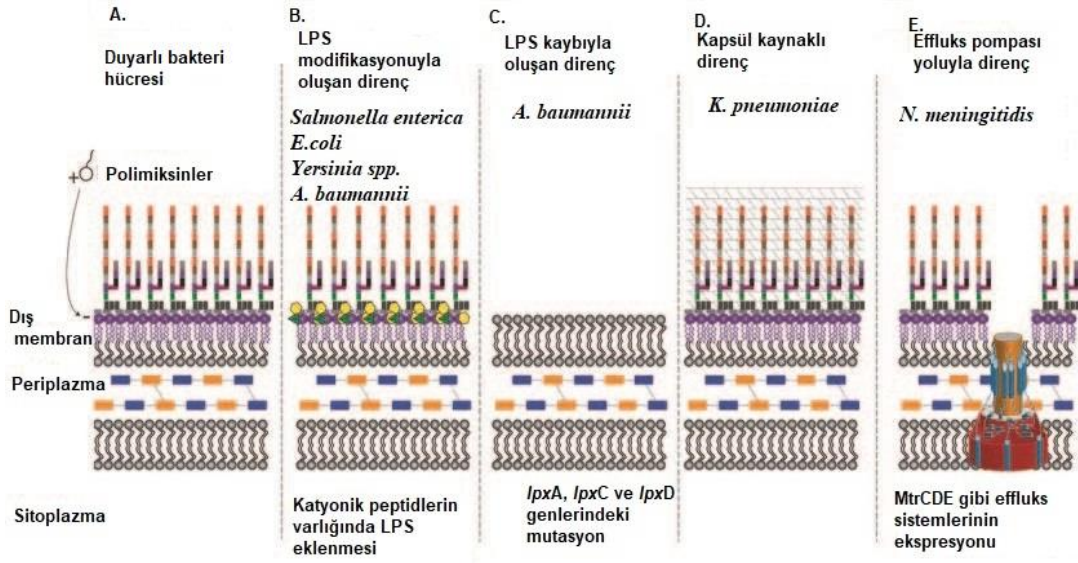
Kapsül kaynaklı olabilecek direnç çalışmaları da mevcut olup *Klebsiella pneumoniae*'daki polisakkarid kapsülün, yapısındaki anyonların dışa salınımıyla polimiksinleri bağladığı ve bu sayede antibiyotiğin hücre dışı membranına ulaşmasını engelleyerek polimiksin direncinde rol oynadığı gösterilmiştir (Campos vd., 2004).

Enterobacteriaceae' da tanımlanan ve plazmid aracılı *mcr-1* geninden aktarılan polimiksin direnci küresel olarak önemli ölçüde endişe yaratmış olup şu anda en çok konuşulan polimiksin direnç mekanizmasıdır (Liu vd., 2016).

Temmuz 2016'da, *E. coli* 'de plazmid aracılı yeni bir kolistin direnci belirleyicisi olan *mcr-2* geni tanımlanmıştır. Muhtemelen LPS ekstremitesini değiştiren bir fosfoetanolamin transferaz olan *mcr-2*, *mcr-1* ile % 80.6 oranında aminoasit benzerliğine sahiptir(Xavier vd., 2016).

Daha sonra *mcr-3* (Yin vd., 2017), *mcr-4* (Carattoli vd., 2017) ve *mcr-5* (Borowiak vd., 2017)genleri tanımlanmıştır. Tezin yazımı aşamasında Birleşik Krallık'ta domuzlardan izole edilmiş *Moraxella* sp.'da *mcr-6* geni (AbuOun vd., 2017), Çin'de kanatlılardan izole edilmiş *K. pneumoniae*'da *mcr-7* geni (Yang,Li,Lei,Zhang ve Wang, 2018), yine Çin'de domuzlardan ve insandan izole

edilen *K. pneumoniae*'da *mcr-8* geni (Wang vd., 2018), Amerika Birleşik Devletleri'nde insandan izole edilmiş *Salmonella enterica*'da *mcr-9* geni (Carroll vd., 2019) ve Çin'de insandan izole edilen *Enterobacter roggenkampii*'de *mcr-10* geni (Wang vd., 2020) tanımlandığı bildirilmiştir.

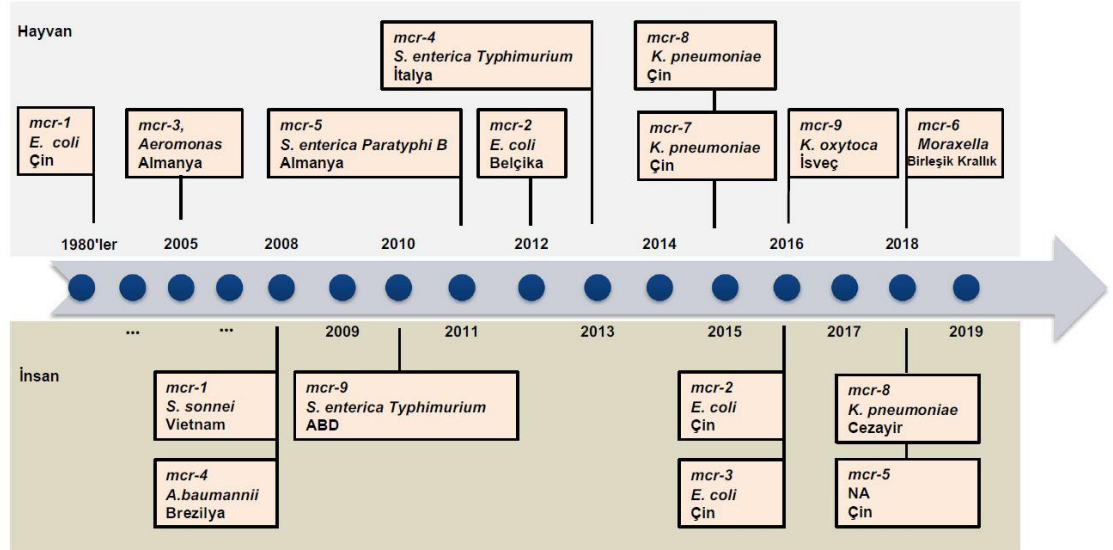


1.4. Polimiksin direnç mekanizmalarının ve görüldüğü türlerin şematik anlatımı (A) Periplazmada iç ve dış zarı ve peptidoglikan tabakasını (sarı ve mavi dikdörtgenler) gösteren duyarlı bakteri hücresi. Gram negatif hücrenin dış çeperini oluşturan LPS, negatif yüklüdür ve pozitif yüklü polimiksin için ilk bağlanma hedefidir. (B) *S. enterica*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Yersinia spp.* ve *A. baumannii*, LPS'nin modifikasyonu yoluyla polimiksinlere dirençli hale gelebilir. Bu değişiklikler L-Ara4N (sarı altıgenler), PEtn (yeşil üçgenler) ve / veya galaktozamin ilavesiyle yağ asidi zincirlerindeki değişiklikleri içerir. Bu LPS modifikasyonları genellikle, düşük Mg^{2+} yüksek Fe^{3+} ve kationik peptitlerin varlığını içeren ancak bunlarla sınırlı olmayan bir dizi koşula yanıt olarak PmrAB ve PhoPQ gibi iki bileşenli sinyal iletim sistemleri tarafından kontrol edilir. (C) *A. baumannii*, lipit A çapası dâhil olmak üzere LPS'nin tamamen kaybedilmesiyle polimiksinlere dirençli hale gelebilir. LPS kaybı, *lpxA*, *lpxC* veya *lpxD* genlerindeki mutasyonlardan kaynaklanır. (D) *K. pneumoniae*'de kapsülün ekspresyonunun artması (gri çizgili alan), polimiksin direncinin artmasına neden olur. (E) *N. meningitidis*'te üçlü eflüks sistemi MtrCDE'nin (turuncu / kırmızı / mavi membran kapsayan kompleks) ekspresyonu, artan polimiksin direnci yapar. (Li vd., 2019) 'dan uyarlanmıştır.

1.7. Hayvancılıkta Kolistin Kullanımı

Kolistin eskiden beri çiftlik hayvancılığı uygulamalarında, esas olarak GNB kaynaklı bağırsak enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılmıştır (Catry vd., 2015).

Aynı zamanda büyüme teşvik edici olarak, metafilaksi ve profilaksi gibi başka amaçlar için de kullanıldığı bilinmektedir (Apostolakos ve Piccirillo, 2018).



1.5. *mcr* genlerinin insan ve hayvanlarda keşfinin kronolojik seyri 2010 yılından bu yana, hem hayvanlarda hem de insanlarda *mcr* pozitif izolatlarda önemli bir artış gözlenmiştir. Hayvan örneklerinde tüm *mcr* genleri (*mcr-1* ila *mcr-9*) bildirilirken, *mcr-6* ve *mcr-7* şimdiye kadar insan örneklerinden rapor edilmemiştir (Luo, Wang ve Xiao, 2020)'dan uyarlanmıştır.

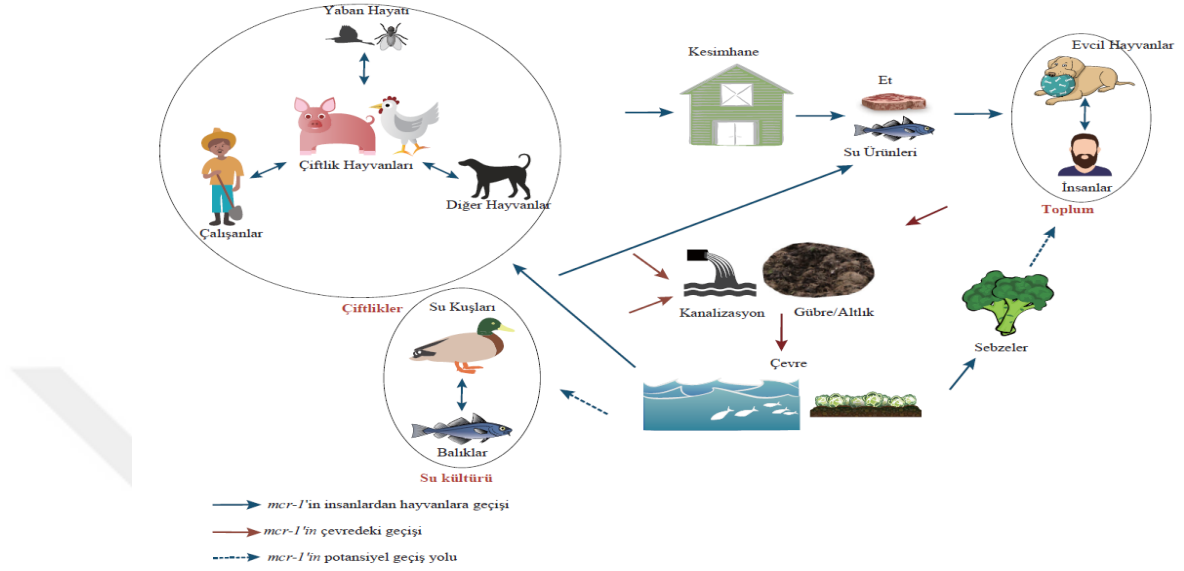
Kolistinin Hindistan, Vietnam, Çin, Japonya ve diğer birçok ülkede bir büyüme hızlandırıcısı olarak kullanıldığını veya tek başına veya kombinasyon halinde topikal, oral, enjeksiyon veya meme içi yoldan uygulandığını bildirilmiştir (Kempf, Jouy ve Chauvin, 2016).

Ortadoğu ülkelerinde kolistin içeren ve ağırlıklı olarak kanatlı hayvan hastalıklarında kullanılan 12 farklı veteriner ilacı tespit edilmiştir (Kassem, Hijazi ve Saab, 2019).

Türkiye'de Veteriner Hekimlikte Tarım ve Orman Bakanlığı'nın ruhsatlamış olduğu yirmi bir adet kolistin preparatı mevcut olup bunlardan yirmisi aktif etken madde olarak kolistin sülfat ve biri de kolistin sodyum metanosülfanat içermektedir (GKGM, 2018).

Uluslararası raporlara bakıldığında, antimikrobiyal direnç oranlarının çok önemli bir bölümünün hayvancılıkta kullanılan antimikrobiyaller kaynaklı olduğu belirtilmektedir. Türkiye'de böyle bir değerlendirme yapmak için ise yeterli ve

sağlıklı, açıkça yayınlanmış bir verinin henüz bulunmadığı görülmektedir(TEPAV, 2017; TÜBA, 2017).



1.6. *mcr-1* genlerinin insanlar, hayvanlar ve çevre arasındaki potansiyel geçiş yolları(Xiaomin vd., 2020)'dan uyarlanmıştır.

DSÖ 2012 yılında kolistini, çoklu ilaca dirençli Gram-negatif mikroorganizmalar üzerindeki etkisi nedeniyle insanlar için kritik öneme sahip bir ilaç olarak sınıflandırmıştır (Paterson ve Harris, 2016). Bu sınıflandırma, çoklu ilaç dirençli GNB'ler için yeni antibiyotikler geliştirilmesine rağmen geçerliliğini korumaktadır(WHO, 2019).

“Tek Sağlık” yaklaşımının giderek yaygınlaşmasıyla Şubat 2019’da Avrupa’da Tıp hekimleri ve Veteriner Hekimler arasında bir istişare çalışması yapılmış, antimikrobisyonların hayvanlarda kullanımları ve olası bir antimikrobiyal direnç gelişimi de düşünülerek EMA’nın Kritik Öneme Sahip Antimikrobisyonlar sınıflandırması gözden geçirilmiştir.

Buna göre sınıflandırma A'dan D'ye kadar dört kategoriden oluşmaktadır: A-Kaçınm, B-Kısıtlı kullanın, C-Dikkatli kullanın ve D-İhtiyatlı kullanın. Polimiksinler B kategorisine girmekte olup bu kategoride insan tıbbında kritik öneme sahip ve hayvanlarda kullanımları halk sağlığına yönelik riski azaltmak için sınırlandırılması gereken antimikrobisyonlar yer almaktadır (EMA/CVMP/CHMP, 2020).

Polimiksinlerin tarımda ve hayvancılıkta kullanımının sınırlandırılması ve yasaklanması için çok sayıda çağrı yapılmış olup, bu durum hayvan kökenli bakterilerde plazmid aracılı kolistin direncinin ortaya çıkmasıyla iyice gündeme oturmuştur (Liu vd., 2016).

Tarım ve hayvancılıkla ilişkili olarak *mcr* geninin yayılmasını azaltmak amacıyla Çin ve Brezilya gibi birçok ülke, kolistin kullanımını yasaklamak ve / veya kısıtlamak için harekete geçmiştir (Holmes,Holmes,Gottlieb,Price ve Sundsfjord, 2018).

Bu kısıtlamaların yararlı ve gerekli olmasına rağmen, *mcr*'nin yayılma dalgasını durduramayacağından korkulmaktadır (Wang vd., 2018).

1.8. Kolistin Direncinin Prevalansı ve Dünyadaki Dağılımı

Tarım ve hayvancılıktaki kolistin direncine ek olarak; yapılan bazı çalışmalar *mcr-I*'in halka açık kent plajları (Zhang vd., 2016), sağlıklı bireylerden alınan dışkı örnekleri (von Wintersdorff vd., 2016) ve bahçe sulamakta kullanılan su örnekleri (Wang vd., 2017) gibi çok çeşitli ortamlarda bulunabildiğini göstermiştir.

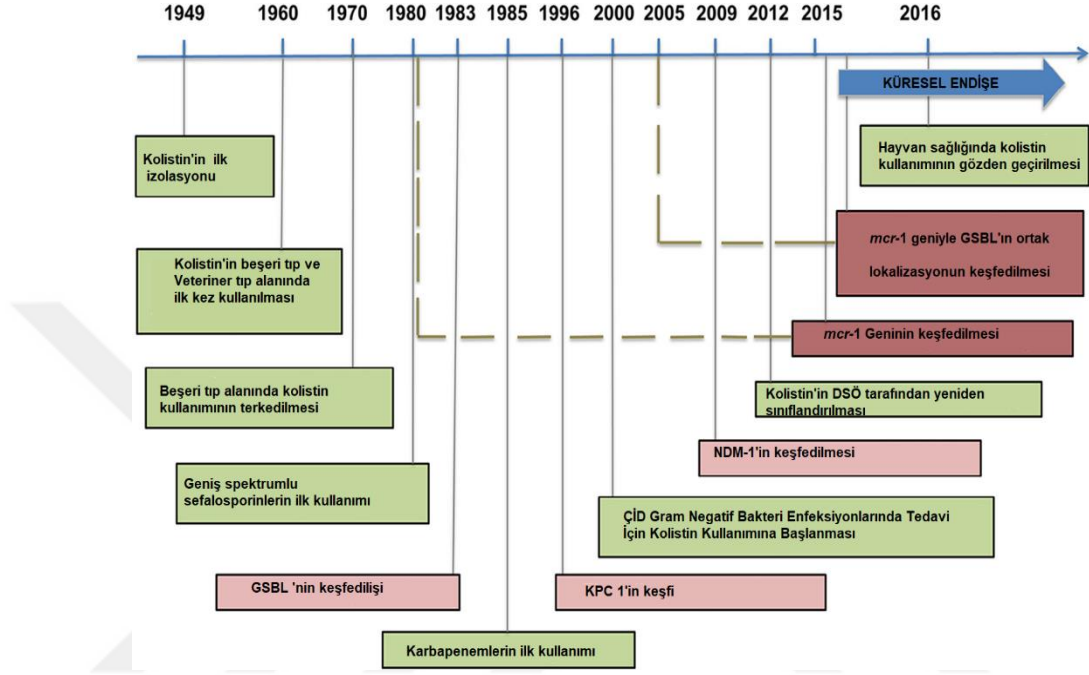
mcr-I'in bu kadar yaygın bulunabilmesi, farklı genetik ortamlarda rahatça bulunarak uyum göstermesine atfedilmiştir. *mcr-I*; IncI2, IncHI2 ve IncX dâhil pek çok plazmid tipinde tanımlanmıştır. Plazmidler, GSBL ve karbapenemazları kodlayanlar gibi diğer önemli antimikrobiyal direnç genlerini de taşıyabilirler (Wang vd., 2018).

mcr-I'in küresel dağılımının kanıtlanmış olmasına rağmen kökeni, nasıl direnç kazanıldığı, ortaya çıkışı ve yayılması hakkında çok az şey bilinmektedir (Wang vd., 2018).

- **Amerika Kıtası:**

Amerika Birleşik Devletleri'nde, kolistin hayvanlarda kullanım için diğer antimikrobiyallere oranla yaygın olarak pazarlanmamıştır (Matamoros vd., 2017). Enterobacteriaceae'de *mcr-I* varlığını değerlendirmek için, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki kesimhanelerde sığır, domuz, hindi ve tavukların sekal örneklerden

geniş bir çalışma yapılmıştır (Meinersmann,Ladely,Plumblee,Cook ve Thacker,2017). Çalışmanın sonucunda, domuzlardan elde edilen iki *E. coli* izolatının IncI2 plazmitlerinde *mcr-1* barındırdığı gösterilmiştir.



1.7. *mcr* genlerinin GSBL ve karbapenemazla birlikte ilişkisinin tarihsel yolculuğu(Rhouma ve Letellier, 2017)'dan uyarlanmıştır.

Doğu Kanada'da yapılan bir çalışmam*mcr-1*'in her on domuz barınağından altısında bulunduğunu göstermiştir. Bu, ziyaret edilen domuz tesislerinin % 60'ına denk gelmektedir (Pilote,Létourneau,Girard ve Duchaine, 2019).

Latin Amerika'da,Venezuela, Arjantin, Ekvator ve Brezilya gibi birçok ülkedem*mcr-1* barındıran ve farklı sekans tiplerine ait *E. coli* izolatları tanımlanmıştır (Merida-Vieyra vd., 2019; Quiroga, Nastro ve Di Conza, 2019).

Ekvator'daki izolatların ise % 3,4'ünün *mcr-1* taşıdığı gösterilmiştir (Vinueza-Burgos,Ortega-Paredes,Narváez,De Zutter ve Zurita, 2019). Ancak bölgede *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* ve diğer belirleyici genler henüz tanımlanmamıştır.

Meksika'da bir insan dışkı örneğinden yapılan çalışmayla *E. coli* izolatından ilk *mcr-1* bildirilmiştir (Merida-Vieyra vd., 2019). Genin, bir IncI2 plazmidi üzerinde

yerleşik olduğu rapor edilmiştir. Yine Meksika'da, domuz dışkı örneklerinin taranmasıyla, *mcr-1* barındıran bir *E. coli* izolatı belirlenmiştir.

Kolombiya'da yapılan bir çalışmada *E. coli* izolatları taranmış çok sayıda izolat polimiksinlere dirençli bulunmuştur. Bu izolatlardan ikisi kromozomlarında *mcr-1* geni barındırırken, diğer *mcr-1* pozitif izolatlarının bu geni plazmitlerde bulundurduğu gösterilmiştir. Böylece *mcr-1*'in kolistine dirençli Enterobacteriaceae arasında aktarılabılır plazmitler yoluyla Kolombiya'da dolaşımında olabileceği ileri sürülmüştür (Saavedra vd., 2017).

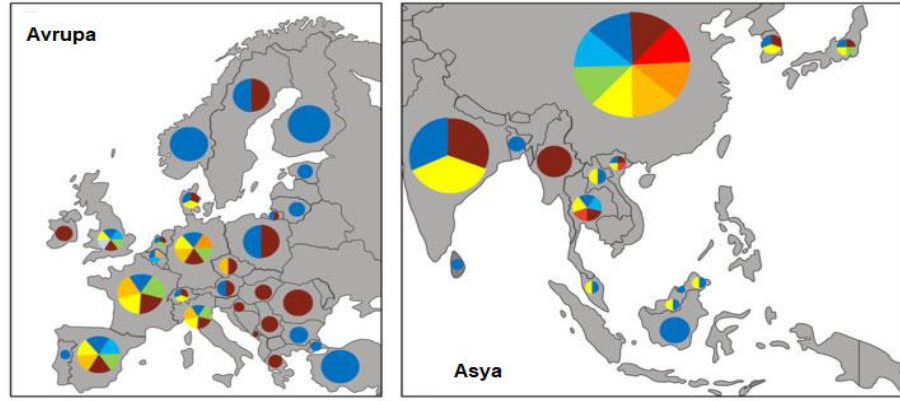
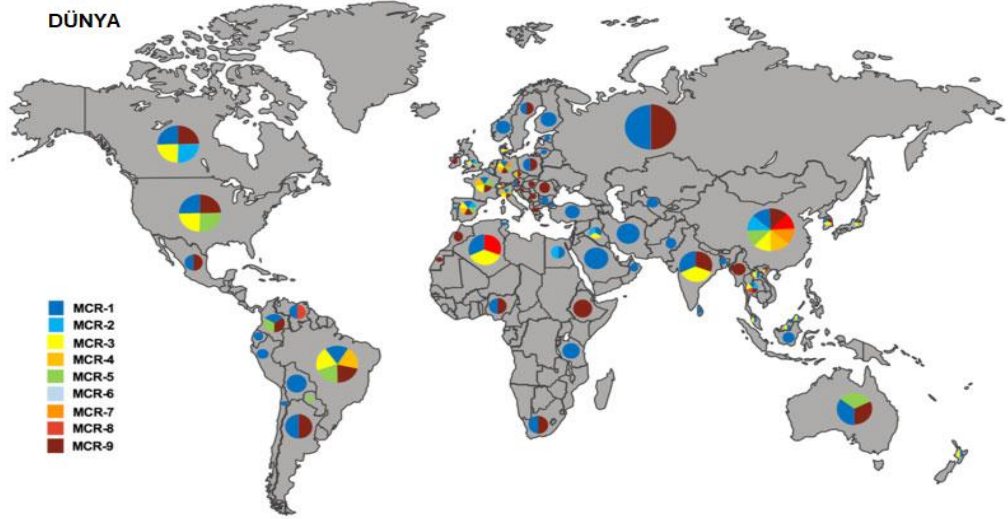
Venezuela'da, ülkedeki ilk *mcr-1* insanda ve domuz dışkısında tespit edilmiş olup çalışılan *E. coli* örneklerinden yapılan analizlerde, bir IncI2 plazmidinde *mcr-1*'e % 100 benzerlik görülmüştür (Delgado-Blas,Ovejero,Abadia-Patiño ve Gonzalez-Zorn, 2016).

Enterobacteriaceae enfeksiyonlarındaki kullanımına ek olarak kolistin, *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonlarını tedavi etmek için giderek daha fazla uygulanmaktadır. Latin Amerika'da, bu türlerde gözlenen kolistin direnci, test edilen tüm izolatların% 1.5'i olarak tahmin edilmiştir.

- **Orta Doğu ve Kuzey Afrika (MENA) Bölgesi:**

Cezayir'de *mcr-1* geni ilk olarak tavuk çiftliklerinde tavuk dışkılarından izole edilmiş bir *E. coli* izolatında bulunmuştur (Arcilla vd., 2016). Cezayir hastanelerinin bildirildiği ilk vaka, *mcr-1* barındıran bir *E. coli* izolatı ile ilişkilendirilmiştir (Yanat vd., 2016). Cezayir'de yapılan bazı çalışmalarda, *mcr-1* geni farklı kümes hayvanı çiftliklerinde % 20,6 oranında (Chabou, Leulmi ve Rolain, 2019) tespit edilmiş, yabani Berberi Makakları üzerinde yapılan bir araştırmadaysa, toplanan dışkı örneklerinden birinin *mcr-1* pozitif olduğu gösterilmiştir (Bachiri vd., 2018).

Yine Cezayir'de deniz suyundan toplanan izolatlarda *mcr-1*'in de tespit edildiğini göstermiştir. Su kaynaklarındaki *mcr-1* de oldukça sorunlu olup su, bu genlerin yerel olarak ve yakın ülkelere iletilmesi ve yayılması için ideal bir araçtır (Drali vd., 2018).

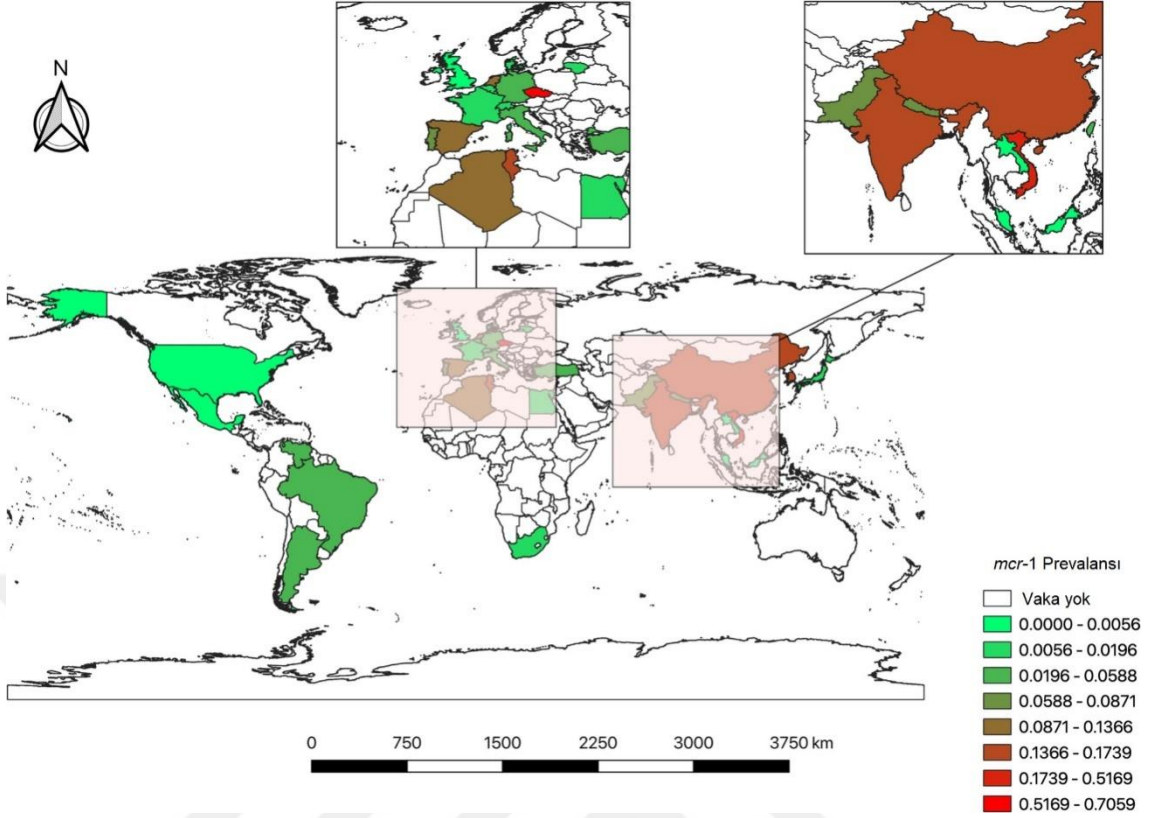


1.8. Farklı ülkelerde *mcr* genlerinin dağılımı(Ling vd. 2020)'dan uyarlanmıştır.

Lübnan'da mülteci kamplarında kullanılan sulama suyu örneklerinde ve çevredeki içme suyu, kuyu suyu ve kanalizasyonda yüksek oranda *mcr-1* pozitif *E. coli* tespit edilmiştir (Hmede,Sulaiman,Jaafar ve Kassem, 2019; Sulaiman ve Kassem, 2019).

Mısır'da ise Kahire'deki bir hastaneden GNB örnekleri toplanarak *mcr-1* varlığı açısından taranmış böylece ilk insan*mcr-1* vakası rapor edilmiş ve daha sonra ineklerden alınan örnekler de test edilerek bunlardan sadece biri *mcr-1* pozitif olarak tanımlanmıştır (Khalifa vd., 2016).

Mısır'da Nil deltası boyunca çeşitli çiftliklerde bulunan etlik piliçlerden dışkı kökenli *E. coli* izolatlarının % 7,9'unun *mcr-1* taşıdığı ve kolistine fenotipik ve genetik olarak dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmayla, Mısır'daki kümes hayvanlarında *mcr-1* ilk kez tespit edilmiştir (Moawad vd., 2018).



1.9. Hayvanlardan ve su kültüründen izole edilmiş bakterilerdeki *mcr-1* genlerinin haritada dağılımı (Shen vd., 2020)'dan uyarlanmıştır.

Tunus'ta kümes hayvanlarında yapılan çalışmalarda *mcr-1* varlığı araştırılmıştır. Tespit edilen tüm *E. coli* izolatlarının GSBL üreten bazı izolatların ayrıca *mcr-1* geni taşıdığı belirlenmiştir (Grami vd., 2016). Daha sonra yapılmış başka bir çalışmada da sefotaksim dirençli *E. coli*'nin % 4'ünün ayrıca *mcr-1* barındırdığı bulgusu saptanmıştır (Maamar vd., 2018).

Fas'ta, broyler tavuklarının dışkı örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarında *mcr-1* tespit edilmiştir (Rahmatallah vd., 2018). Diğer bir çalışmada Hacca giden Faslıların dışkı örneklerinde yapılmış olup toplanan dışkı örneklerinden bazılarında *mcr-1* tespit edilmiştir (Leangapichart vd., 2016).

Sudan'da, *mcr-1*'in varlığını tespit etmek için sadece bir klinik çalışma yapılmış olup Hartum'daki bir hastaneden Enterobacteriaceae izolatları toplanmış ve *mcr-1*'in varlığına bakılmıştır. İzolatların çoğunluğu *E. coli* (% 76) olarak tanımlanarak bunların % 14'ünde *mcr-1* pozitifliği saptanmıştır (Altayb, Siddig, El Amin, Maowia ve Mukhtar 2018).

Körfez ülkeleri kapsamında Suudi Arabistan, Katar, Umman, Birleşik Arap Emirlikleri'nde yapılan *mcr* araştırmaları ve sonuçları ele alınmıştır.

Suudi Arabistan'da sadece bir kan örneğinden alınan bir *E. coli*'de *mcr-1* pozitif olarak tespit edilmiş (Sonnevend vd., 2016) ayrıca *mcr-5*'in MENA bölgesinde ilk kez rapor edildiği bir çalışmaya ulaşılabilmektedir (Redhwan vd., 2019). Henüz hayvanlarda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Katar'da, iki kümes hayvanı çiftliğinde dışkı kökenli *E. coli*'lerin % 15.5'inin *mcr-1* pozitif olduğu gösterilmiş (Eltai vd., 2018) yine Katar'da insan kökenli havuzlanmış *E. coli* izolatlarında da *mcr-1* tespit edilmiştir (Redhwan vd., 2019).

Umman'da ise kolistine dirençli klinik kökenli *E. coli* izolatları sadece *mcr-1* ve *mcr-2* için taranmış ve bir örneğin *mcr-1* geni taşıdığı gösterilmiştir (Mohsin vd., 2018).

Birleşik Arap Emirlikleri'nde, hastanede yatan bir hastanın kan örneğinden izole edilen *E. coli*'de IncI2 plazmitlerinde *mcr-1* rapor edilmiştir, Aynı çalışmada, *mcr-1* pozitif olan başka iki *E. coli* izolatı da bildirilmiştir (Sonnevend vd., 2016).

Ürdün'den toplanan havuzlanmış *E. coli* ve *Klebsiella* izolatlarının *mcr-1* yönünden pozitif olduğu gösterilmiştir (Redhwan vd., 2019).

Türkiye'de ise hayvancılık alanında son zamanlarda yapılan bir araştırmada, *E. coli*'de *mcr-1* varlığını değerlendirmek için iki farklı ilden kümes hayvanı etleri çalışılmıştır. Farklı sekans tiplerine ait olan dört *E. coli* suşunda *mcr-1* tespit edilmiştir. Ayrıca, bu suşların başka direnç genlerini de barındırdığı ortaya konmuştur. Bu çalışmayla, Türkiye'de kanatlı etlerinde *mcr-1*'in varlığı ilk kez tespit edilmiştir (Kurekci, Aydın, Nalbantoglu ve Gundogdu, 2018).

Diğer bir araştırmada, ülkemizdesığır ve koyunlardan elde edilmiş *E. coli* izolatlarında *mcr-2* ve *mcr-3* genlerinin bulunduğu gösterilmiştir (Ayaz, Cufaoglu, Yonsul, Goncuoglu ve Erol, 2019).

Daha yakın tarihli bir başka çalışmada, perakende satışı yapılan çiğ tavuk etinden izole edilmiş *E. coli*'de tespit edilmiş *mcr-1* raporlanmıştır. Fenotipik olarak kolistin dirençli izolatlardan birinin IncI2 plazmid aracılığıyla *mcr-1* genini taşıdığı gösterilmiştir. Ayrıca bu suşun *bla_{CTX-M-8}*, *qnrB19*, *mdf(A)*, *tet(A)*, *sul2*, *aph(3'')*-

Ib, *aph(6)-Id* ve *floR* direnç genlerini de barındırdığı gösterilmiştir (Adiguzel vd., 2020).

Beşeri tıp alanında ise kolistin direnci ve özellikle de *mcr* geni taşıyan klinik *Enterobacteriaceae* izolatları hakkında çok sayıda çalışma mevcuttur (Sarı vd., 2017, Özkaya vd., 2020;Sirekbasan ve Suzuk Yıldız, 2020) .

•Avrupa Birliği Ülkeleri:

Avrupa ülkelerinde2016 yılından beri bu genin ve diğer varyantların varlığını taramak içingeriye dönük çok sayıda çalışma ve sürveyans yapılmıştır.

Belçika'da, domuz ve büyükbaş hayvanlardan elde edilen kolistine dirençli *E. coli* örnekleri üzerinde bir sürveyans çalışması; *mcr-1* için toplam örneklerin %12,5 pozitif olduğunu göstermiş olup; bunun %11,5'i sığır ve %13,2'si domuz örnekleri olarak saptanmıştır. Ayrıca, izolatlar *mcr-1* negatif olsa da diğer *mcr* genleri için pozitif bulunmuştur (Xavier vd., 2016).

Başka araştırmada, süttten kesilmeleri sonrası ishalleri domuzlardan toplanan *E. coli* izolatlarının kolistine dirençli olduğu ve %13,3'ünün *mcr-4* barındırdığı tespit edilmiştir (Carattoli vd., 2017).

Polonya'da, bir kadın hastada *E. coli* izolatında *mcr-1* tespit edilmiş olup bu bulgu, Polonya'daki *mcr-1* ile ilgili şimdilik tek rapordur(Izdebski vd., 2016).

İsveç'te, insan dışkı örneklerinden izole edilmiş *E. coli*'de *mcr-1* tespit edilmiştir(Skov ve Monnet, 2016).

Finlandiya, sağlıklı gönüllülerden toplanan klinik insan dışkı örneklerinde *mcr-1*'i taramak için bir çalışma yürütmüş ve bu çalışmada bir GSBL üretmeyen *E. coli* izolatının *mcr-1* için pozitif olduğu gösterilmiştir (Gröndahl-Yli-Hannuksela vd., 2018).

Norveç'te, geriye dönük bir çalışma ile patojenik olmayan bir *E. coli*' den *mcr-1* tespit edilmiştir (Solheim vd., 2016).

Ayrıca, deniz suyu içeren çevresel örneklerden *mcr-1*barındıran *E. coli*tespit edilmiş olup bu genin gemi tuvaletlerinden, göçmen kuşlardan veya yakındaki

çiftliklerden gelen dışkı kontaminasyonundan kaynaklanabileceği öngörülmüş ve direnç genlerinin farklı ortamlara taşınmasında suyun oynadığı rolü gösterdiği için bu tespit önemli kabul edilmiştir (Jørgensen vd., 2017) .

Danimarka'da, insandan ve tavuk eti örneklerinden *E. coli* barındıran *mcr-1* izole edilmiştir. İnsandan izole edilen *mcr-1* pozitif *E. coli*'nin ayrıca beta-laktamaz genleri, *bla*_{CTX-M} ve *ampC* genlerini taşıdığı; et örneklerinden izole edilen *E. coli*'nin ise *bla*_{SHV-12} ve *ampC* geni barındırdığı gösterilmiştir (Hasman vd., 2015). Ayrıca ESBL / *ampC* genleri taşıyan *E. coli* izolatları üzerinde yapılan çalışmalarda bir *E. coli*, *mcr-3* pozitif bulunmuş ve bu Asya kıtası dışında saptanan ilk *mcr-3* bulgusu olarak kaydedilmiştir (Roer vd., 2017).

Danimarka'da, yapılan diğer bir çalışmada, *mcr* genleri *Salmonella*'da da tespit edilmiş olup insanlardan elde edilmiş *Salmonella* Typhimurium izolatlarında *mcr-1* tespit edilmiş (Torpdahl vd., 2017); *Salmonella* izolatlarında *mcr* genlerine bakılan geniş çaplı bir başka çalışmada ise on izolatın *mcr* pozitif olduğu, birinin hem *mcr-1* hem de *mcr-3* taşıırken, diğerlerinin sadece *mcr-3* taşıdığı gösterilmiş ve bazı izolatların aynı zamanda GSBL direnç genleri taşıdığı tespit edilmiştir (Litrup vd., 2017).

İspanya'da insan klinik örneklerinden toplanan *E. coli* izolatlarında *mcr-1* tespit edilmiş (Prim vd. 2016) ve başka bir araştırmada, yetişkin hastalarda beş çoklu ilaca dirençli *mcr-1* pozitif *E. coli* izolatının bulunduğu tespit edilmiştir (Lalaoui vd., 2019).

İspanya'daki atık su arıtma tesislerinden örneklenen sularda da *mcr-1* varlığı gösterilmiştir olup izolatların büyük bir kısmı (% 33.3) *mcr-1* pozitif olarak raporlanmıştır ve izolatların *bla*_{CTX-M-55} ve *bla*_{TEM-1} genlerini de taşıdığı bildirilmiştir. İzolatların ayrıca kinolonlar, aminoglikozidler, betalaktamlar ve üçüncü kuşak sefalosporinler dâhil olmak üzere farklı antibiyotik sınıflarına dirençli oldukları raporlanmıştır (Ovejero, Delgado-Blas, Calero-Caceres, Muniesa ve Gonzalez-Zorn, 2017).

İspanya'da hayvancılık alanında da *mcr-1* ve diğer *mcr* genleri rapor edilmiş olup mezbahalardaki sağlıklı hayvanlardan alınan komensal bakterilerdeki kolistin direnci üzerine yapılan bir araştırmada, domuzlardan izole edilmiş *E.*

colisuşlarınınmcr-1 geni taşıdığı gösterilmiş (El Garch,de Jong,Bertrand,Hocquet ve Sauget, 2018) başka bir çalışmada, farklı hayvan çiftliklerinden izole edilmiş *E. coli* ve *Salmonella* izolatlarında *mcr-1* varlığı rapor edilmiştir(Quesada vd., 2016).

Yine süttten kesilme sonrası ishelli domuzlardan alınmış örneklerde özellikle de *mcr-4* tespit edilmiş (Carattoli vd., 2017), yapılan toplu bir başka çalışmada ise süttten kesilme sonrası domuzlardan izole edilen enteropatojenik *E. coli* izolatları *mcr-1*'den 5'e kadar kolistin direnci açısından taranarak *mcr* pozitif örnekler bulunmuştur. Çalışma sonucunda yüksek oranda *mcr-4* pozitif izolat bulunurken, *mcr-1* pozitif ve *mcr-5* pozitif izolatlar da saptanmıştır. Ayrıca aynı izolatta birden çok *mcr* geni bulunabileceği de bu çalışmada gösterilmiştir (García vd., 2018).

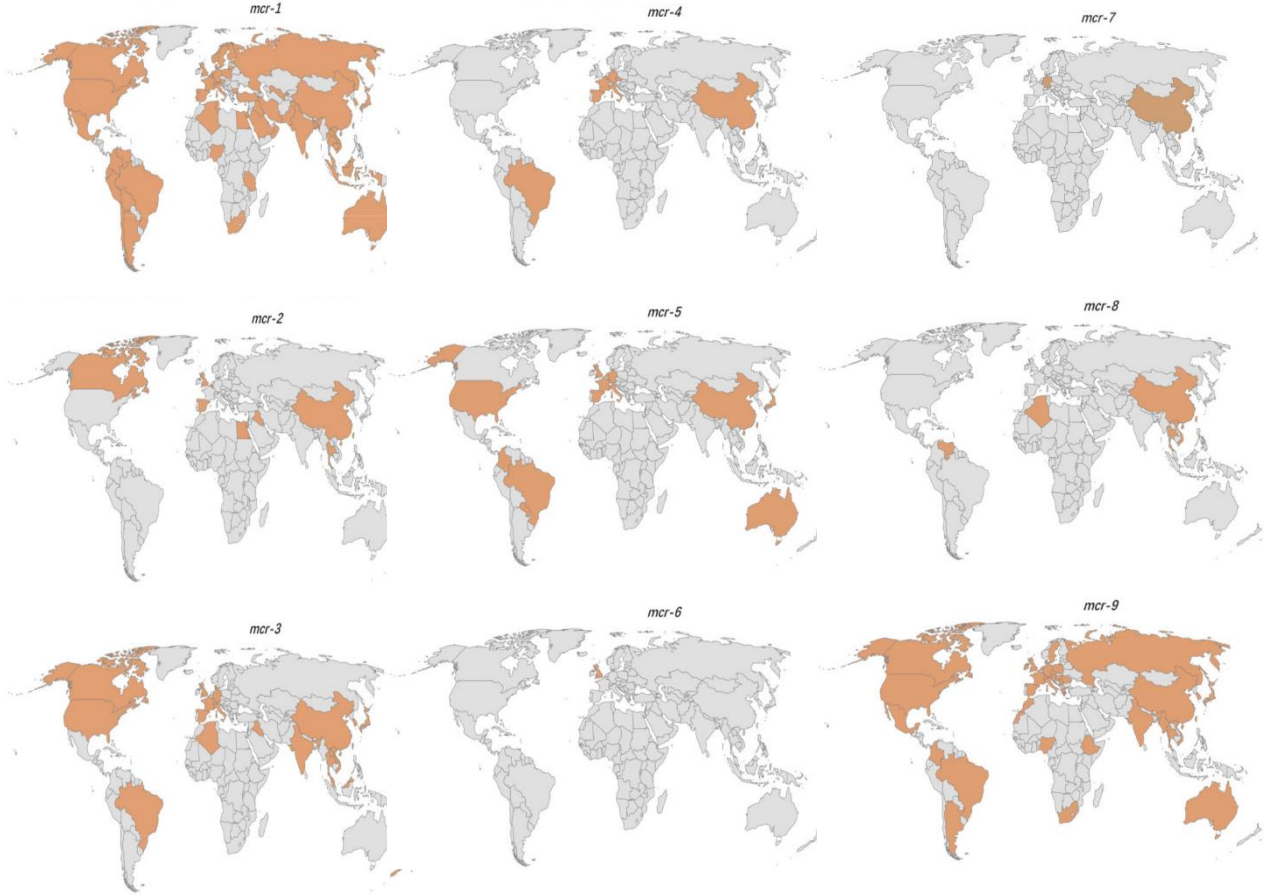
Çalışmalardaki veriler İspanya'nın insanlarda, hayvanlarda ve çevrede nispeten *E. coli*, *K. pneumonia* ve *Salmonella* dâhil olmak üzere farklı bakteri türlerinde en fazla farklı *mcr* geni tespit edilmiş Avrupa ülkelerinden biri olduğunu göstermekte olup bu durum bu antibiyotiğin 2007 ile 2014 yılları arasında kullanımındaki genel artışla ilişkilendirilebilir (Prim vd., 2016).

İtalya'da geçmişte süttten kesim sonrası oluşan ishallerin tedavisinde genellikle kolistin kullanıldığı dikkate alınarak, domuzlardan izole edilen *E. coli*'de kolistin direncinin ve *mcr-1*'in taranması için geriye dönük bir çalışma yürütülmüş ve çalışmada izole edilen *E. coli*'nin çoğunluğunun (% 72.5) *mcr-1* geni taşıdığı gösterilmiştir (Curcio vd., 2017). Yine İtalya'da 2013 yılında domuzlardan elde edilmiş bir izolattın*mcr-4* geni barındıran kolistin dirençli *Salmonella enterica* serovar Typhimurium olduğu tespit edilmiştir (Carattoli vd., 2017).

Klinik olarak da, bir *mcr-1* varyantı olan *mcr-1.2* tanımlanmış olup, bu *mcr-1.2*'yi barındıran karbapenem dirençli *K. pneumonia*'nın ilk tespitidir ve ayrıca suş MDR olarak tanımlanmıştır (Di Pilato vd., 2016).

Almanya'da ise insan, hayvan ve çevre örneklerinden toplanan izolatlar *mcr-1* açısından taranmış domuz ve insandan tespit edilmiş *E. coli* izolatlarının *mcr-1* yönünden pozitif olduğu saptanmış ve insandan izole edilen *E. coli*'nin ayrıca karbapenem direnç geni *bla_{KPC-2}*'yi de barındırdığı gösterilmiştir (Falgenhauer vd., 2016).

Başka bir çalışmada farklı çiftlik, mezbaha ve perakende et ürünlerinden çok sayıda *E. coli* izolatları toplanmış ve *mcr-1* varlığı açısından taranarak beş yüz beş izolat, kolistine fenotipik olarak dirençli bulunmuştur; bunlardan 402'sinin de *mcr-1*'i gen taşıdığı saptanmıştır (Irrgang vd., 2016).



mcr-1 'den *mcr-9* 'a kadar *mcr* genlerinin haritada dağılımı(Ling vd., 2020)'dan uyarlanmıştır.

Hollanda'da, hem insan tıbbında hem de Veteriner Hekimlik alanında nispeten düşük kolistin kullanımı bildirilmiş olup broylerlere uygulanan antibiyotiklerin sadece % 0,4'ünü polimiksinlerin oluşturduğu rapor edilmiştir (Kluytmans–van den Bergh vd., 2016). Kesimhanelerden toplanan *E. coli* ve *Salmonella* izolatlarının taranmasıyla, test edilen 1.547 izolattan sadece beş *E. coli*'de *mcr-1* geninin varlığı gösterilmiştir (El Garch vd., 2018). Başka bir çalışmada, kanatlı etinden izole edilmiş *Salmonella*'nın % 1'inde *mcr-1* genleri tespit edilirken (Veldman vd., 2016); sağlıklı hayvanlardan alınan dışkı örneklerinin % 0,3'ü *mcr-1* pozitif bulunmuştur (El Garch vd., 2018).

İsviçre'de *mcr-1* ve *mcr-2* *E. coli*'de rapor edilmiş ve iki suşun da beta-laktamaz genleri *bla_{TEM-1}* ve *bla_{TEM-52}*'yi barındırdığı bulunmuştur (Nordmann,Lienhard,Kieffer,Clerc ve Poirel, 2016).

mcr-1 ayrıca ithal edilmiş tavuk etinden izole edilen kolistin dirençli *E. coli* izolatlarında bildirilmiştir (Donà vd. 2017). Ayrıca yine, Birs nehrinden alınan örneklerden ve Tayland ile Vietnam'dan ithal edilen sebzelerden izole edilen GSBL üreten *Enterobacteriaceae*'da *mcr* tespit edilmiştir (Zurfuh vd., 2016).

Fransa'da *K. pneumonia*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae* ve *Salmonella* spp. dâhil olmak üzere farklı bakteri türlerinde *mcr* bulunmuştur (Baron,Hadjadj,Rolain ve Olaitan, 2016).

İshalli buzağılardan izole edilen ve GSBL üreten *E. coli*'de nispeten yüksek seviyelerde kolistin direnci ve *mcr-1* tespit edilmiş olup test edilen izolatların % 21'i *mcr* pozitifdir (Haenni vd., 2016).

Ayrıca, Fransa'daki çiftlik hayvanlarından toplanan komensal *E. coli* izolatlarının geriye dönük olarak kolistin direncinin değerlendirilmesi sonucunda; domuzlarda % 0,5, etlik piliçlerde % 1,8 ve hindilerde % 5,9 oranında *mcr-1* tespit edilmiştir (Perrin-Guyomard vd., 2016).

Gıda ürünlerinde ise; sosislerden, perakende tavuk ürünlerinden ve yemeye hazır turtalardan izole edilmiş *Salmonella*'da *mcr-1* tespit edilmiştir (Arcilla vd., 2016).

Portekiz'de de domuzlardan, domuz ürünlerinden ve insan örneklerinden *mcr-1* geni taşıyan *Salmonella* spp. izole edildiği rapor edilmiştir (Campos,Cristino,Peixe ve Antunes, 2016).

Başka bir çalışmada, domuzlardan izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* örneklerinde *mcr-1* geni tespit edilmiştir (Kieffer,Aires-de-Sousa,Nordmann ve Poirel, 2017). Ülke çapında *mcr-1*'i taramak için yapılan bir çalışmada gıda üreten hayvanlardan (sığır, domuz ve kümes hayvanları), et (sığır ve domuz), et ürünleri ve hayvan yemlerinden yapılan *Enterobacteriaceae* izolasyonlarında *E. coli* izolatlarının % 8'inde ve *Salmonella enterica* izolatlarının ise % 0.47'sinde *mcr-1* geni bulunmuştur (Clemente vd., 2019).

Birleşik Krallık'ta (İngiltere), insan ve gıda örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada, *mcr-1* geni taşıyan *Salmonella* ve *E. coli* tespit edilmiş; özellikle yaklaşık 24.000 *Enterobacteriaceae* genomunun geriye dönük analizi yapılarak, 15 *Salmonella* ve *E. coli* izolatında *mcr-1* tanımlanmıştır (Doumith, Godbole, Ashton ve Larkin, 2016).

Ayrıca Avrupa Birliği'nden ithal edilen kanatlı etlerinde *mcr-1* pozitif *S. Paratyphi B var Java* tespit edilmiştir (Doumith vd., 2016) domuz çiftliklerinden izole edilmiş *E. coli* ve *S. Typhimurium var Copenhagen*'de de *mcr-1* geni rapor edilmiştir (Anjum vd., 2016).

Güney Afrika'da hem hayvanlarda (tavuklarda) hem de insanlarda *mcr-1* geni tespit edilmiş olup; hastanede yatan hastalardan izole edilmiş *mcr-1* pozitif *E. coli* izolatının *floR* (hayvan üretiminde kullanılan bir antibiyotik olan florfenikole direnci kodlayan gen) barındırması zoonotik bir geçmişi akla getirmektedir (Poirel, Jayol ve Nordmann, 2017).

Yine broyler tavuk hava keselerinden yapılan bir çalışmada izole edilen APEC suşlarının, *mcr-1* pozitif olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmayla Güney Afrika'da kolistin direncinin 2008'de % 4,5 iken 2015'te % 13,6'ya yükseldiği rapor edilmiştir (Perreten, Strauss, Collaud ve Gerber, 2016).

• Asya Kıtası:

Yatay olarak aktarılabilen kolistin direnci ve mobil kolistin direnç geni *mcr-1* ilk olarak Çin'de bildirilmiştir. *mcr-1*, Güney Çin'deki bir domuzdan izole edilen bir *E. coli* suşunda tanımlanmıştır. Bu keşfin ardından, domuzlarda, çiğ ette ve geriye dönük olarak klinik izolatlarda (*E. coli* ve *K. pneumoniae*) *mcr-1* için kapsamlı bir tarama yapılmıştır. Bu çalışmayla *E. coli*'de *mcr-1* geni, çiğ etlerin % 15'inde, hayvanların (domuz)% 21'inde ve klinik numunelerin % 1.5 'unda tespit edilmiştir (Liu vd., 2016).

Geriye dönük çalışmalar, tavuk örneklerinden izole edilen *E. coli*'de *mcr-1*'in 2009'da % 5,2'ye ve 2014'te % 30'a yükseldiğini göstermiş (Sun, Zhang, Liu ve Feng, 2018) yapılan başka bir çalışma ise % 5.11 oranında tavuklarla ilişkili *mcr* geni taşıyan *E. coli* varlığı raporlanmıştır (Yang vd., 2017).

Çin'deki farklı çiftliklerden toplanan domuz dışkı örneklerinde belirgin ölçüde yüksek bir *mcr-1* pozitif *E. coli* prevalansı gözlemlenmiş olup söz konusu dışkı örneklerinin % 76,2'sinde *mcr-1* geni tespit edilmiştir (Tong vd., 2018).

mcr-1'in ayrıca Pekin'de kedi ve köpeklerden izole edilen *Enterobacteriaceae*'nin % 8.7'sinde tespit edildiği rapor edilmiştir (Lei vd., 2017).

Çin'de başka *mcr* genleri de rapor edilmiştir. Örneğin, bir domuz çiftliğinde yapılan bir çalışmada, domuzdan ve çiftlik ortamından (sinekler ve toprak) izole edilen *mcr-3* pozitif *E. coli*'nin varlığını gösterilmiş ve bu izolatların% 80'inin *mcr-1*'i birlikte taşıdığı bulunmuştur (Wang vd., 2019).

Son zamanlardaki bir çalışmada, Çin'deki çiftlik hayvanlarından izole edilmiş *K. pneumoniae*'nin kolistine karşı yüksek direnç gösterdiği, ancak test edilen tüm *mcr* genlerine negatif çıktığı rapor edilmiştir (çalışmanın yapıldığı sırada *mcr 1* ila 7 genleri).

Yapılan tüm genom dizilemesi, türün yeni bir *mcr* geni (*mcr-8*) taşıdığını göstermiştir. Bu gen, bir domuz örneğinden izole edilmiş olup ayrıca *bla*-NDM taşımaktadır(Wang vd., 2018).

Çin'de klinik olarak *mcr-1* prevalansının hala düşük olduğu görülmüş olsa da (Wang vd., 2017) *mcr*'nin geniş dağılımı ve Çin'deki çeşitli bakteri türleri, konaklar ve ortamlarda ortaya çıkması nedeniyle Çin hükümeti, hayvan yemlerinde kolistin kullanımını yasaklamış ve insanlarda tedavi amaçlı kullanımıyla sınırlamıştır (Walsh ve Wu, 2016).

Vietnam'da, insanlardan ve köy tavuklarından alınan dışkı örneklerinde *mcr-1*'i taramak için bir çalışma yapılmış olup *mcr-1*'in tavuk dışkılarında % 59.4 ve insan dışkı örneklerinde % 20.6 oranında tespit edildiği gösterilmiştir. Ayrıca, tavuklardan izole edilen *E. coli*'nin % 12,8 'inde ve tavuk çiftçilerinden izole edilen *E. coli*'nin % 4'ünde *mcr-1* geni bulunmuştur (Trung vd., 2017).

Yerel gıdaları (et ve deniz ürünleri) analiz eden başka bir çalışmada, kolistine dirençli *E. coli* izolatlarının% 97'si *mcr-1*, % 3'ü ise *mcr-3* pozitif bulunmuştur. Her iki genin de ESBL üreten veya *AmpC* üreten *E. coli*'de ortaya çıktığı ve konjugasyon ile aktarılabilir oldukları doğrulanmıştır (Yamaguchi vd., 2018).

Hindistan'da et, balık ve çiğ sebzeler dâhil olmak üzere Hint yemeklerinde yapılan bir çalışmada *mcr-1* pozitif *E. coli* tespit edilmiş (Ghafur vd., 2019) , klinik bir ortamda yapılan bir çalışmada ise *K. pneumonia*'da *mcr-1* tespit edilerek genin bir plazmid üzerinde değil, kromozomal olduğu rapor edilmiştir (Singh vd., 2018).

Tayland'da ise ülke çapında yapılan bir araştırma, farklı bakteri türlerinde *mcr* genini tanımlamış insan örneklerinden dört *mcr-3* pozitif izolattan üçü *E. coli* (kan ve apse örneklerinden) ve biri *K. pneumonia* (yara örneklerinden) olarak bildirilmiştir. Ayrıca yara örneklerinden izole edilen *E. coli*'de *mcr-1* geni de tespit edilmiştir (Wise,Estabrook,Sahm,Stone ve Kazmierczak, 2018). Tayland'da ayrıca sineklerin de *mcr-1* ve *mcr-3* taşıdıkları gösterilmiştir (Fukuda vd., 2018).

Laos'ta, domuzlarda ve asemptomatik insanlarda *mcr-1* pozitif *E. coli* tespit edilmiştir. Bu izolatlardan birinin bir domuzdan bir çiftçiye aktarıldığı bildirilmiş olup bu da zoonozu *mcr* için bir bulaşma yolu olarak vurgulamaktadır (Olaitan vd., 2015).

Malezya'da, çevreden, insanlardan ve hayvanlardan toplanan bakteri izolatları üzerinde yürütülen bir araştırmayla, farklı örneklerden altı *mcr-1* pozitif *E. coli* bildirilmiştir (Yu vd., 2016).

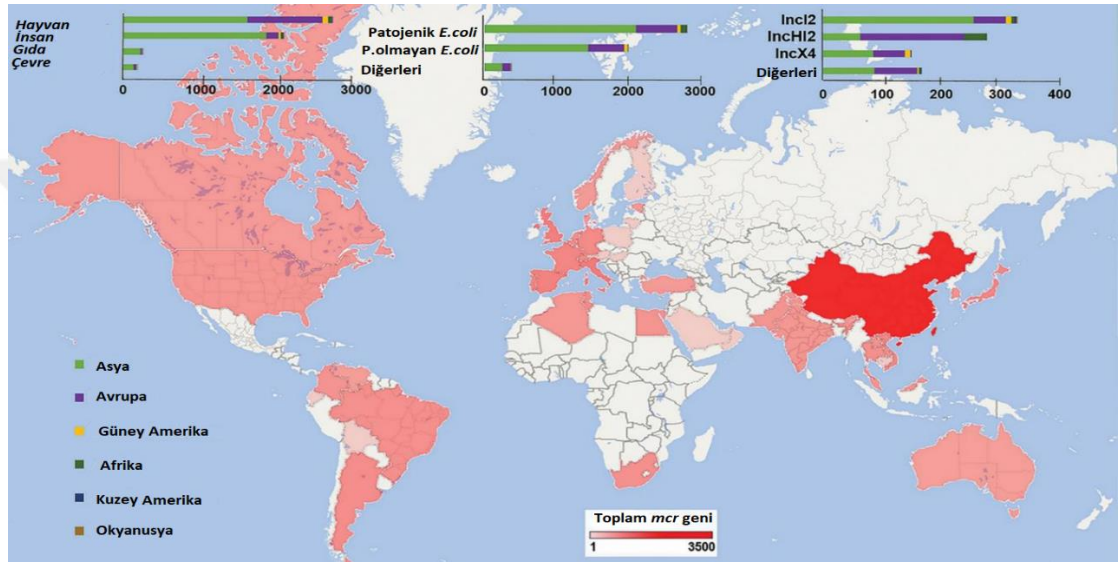
Japonya'da gıda amaçlı tüketilen hayvanlardan alınan örneklerden izole edilmiş *E. coli*, *mcr-1* ve *mcr-2*'nin varlığı açısından taranmış; *mcr-1*'in sığır, domuz ve piliç tavuklarından izole edilmiş örnekler tarafından taşındığı, *mcr-2*'nin ise tespit edilmediği rapor edilmiştir (Kawanishi vd., 2017).

Güney Kore'de, sağlıklı domuzlardan izole edilmiş çoklu ilaca dirençli *E. coli*'de *mcr-1* ve *mcr-3* tespit edilmiş (Belaynehe vd., 2018) yine, hasta bir domuzun yanı sıra tavuk dışkı örneklerinde ve tavuk karkaslarında *mcr-1* pozitif *E. coli* tespit edilmiş (Lim vd., 2016) olup ayrıca *mcr-1* pozitif *E. coli* izolatlarının tavuklardan insanlara olası transferi hakkında bir araştırma gerçekleştirilmiştir (Yoon vd., 2018).

Güney Kore'de kolistin direncinin ortaya çıkma nedeninin, gıda-hayvan üretiminde artan yıllık antibiyotik tüketimiyle ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (Lim vd., 2016).

Tayvan'da, idrar yolu enfeksiyonu olan bir hastada *mcr-1* ve *bla_{NDM-9}* tespit edilmiş ve bu genlerin, test edilen diğer tüm antibiyotiklere de dirençli olan bir *E. coli* suşunda taşındığı saptanmıştır (Lin,Kuroda,Suzuki ve Mu, 2019).

Avustralya'da kolistinin insan tıbbı ve Veteriner Hekimlikte kullanımını sınırlı olup, kolistin dâhil polimiksinler, reçete edilen ilk 20 antimikrobiyal ilaç arasında yer almamaktadır. Bununla birlikte, *mcr-1*, New South Wales'teki hastalardan izole edilen kolistine dirençli *E. coli* izolatlarında rapor edilmiştir (Ellem vd., 2017).



1.11. *mcr* genlerinin bakteri, konakçı ve plazmit tiplerine göre dünyadaki dağılımı Çeşitli konaklar, bakteriler ve plazmid tipleri ile ilişkili olarak *mcr* genlerinin mevcut küresel dağılımında önemli coğrafi ayrılmalar görülmektedir. Şekli oluşturmaya temel alan 202 yayında toplam 5191 *mcr* gen taşıyan suş bildirilmiştir. Bunlardan 4917'si *mcr-1* tipindeyken, kalan 274'ü diğer varyantlardır. Şekilde beyaz renkli ülkeler, *mcr* genleri üzerine henüz çalışma bildirmemiş ülkelerdir. Tüm bakteriler arasında patojenik *E. coli* (% 53) ve tüm konakçılar arasında hayvanlar (% 53), dünya çapında bildirilen en sık *mcr* taşıyıcılarıdır. (Elbediwi vd., 2019)'dan uyarlanmıştır.

Bu tez çalışmasında, Türkiye'deki kanatlı üretim çiftliklerinden 2014-2018 yılları arasında alınan çevresel ortam örneklerinden izole ve tanımlanmış *Salmonella* suşlarının ($n=300$) kolistin antibiyotiğine direncinin mikrodilüsyon yöntemiyle fenotipik olarak ve multipleks PCR tekniği kullanılarak genotipik olarak varlığının ilk kez ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Örnekler

Doktora tez çalışması kapsamında, 2014-2018 yılları arasında Aviagen Anadolu Kanatlı Teşhis ve Analiz Laboratuvarına *Salmonella* izolasyonu amaçlı olarak yollanmış ve Türkiye'deki kanatlı üretim çiftliklerinden sürme svap ve/veya çorap svabıyla alınan çeşitli çevresel ortam örneklerinden izole edilerek T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bakteriyojik Teşhis Laboratuvarında serolojik olarak tanımlanmış *Salmonella* suşları ($n=300$) kullanılmıştır.

2.1.2. Kullanılan Besi Yerleri, Testler, Araçlar, Araç ve Aygıtlar

Çalışma sırasında kullanılan besiyerleri, araçlar, testler, araçlar ve aygıtlar herhangi bir sıra gözetmeksizin listelenmiştir.

***mcr* Genlerini Taşıyan Plazmitleri İçeren Suşlar**

- *mcr-1* pozitif *E. coli* (2012-60-1176-27) (microbialclass 2)
- Domuz ishallerinden izole edilmiş ve kolistine dirençli IncX4 plazmidini taşıyan *mcr-2* içeren *E. coli*
- *mcr-3* pozitif *E. coli* (2013- SQ352) (microbialclass 2)
- *mcr-4* pozitif *E. coli* [DH5alfa (pCR2-*mcr-4*)]
- *mcr-5* geni taşıyan *Salmonella Paratyphi B* referans suşu, 13-SA01718

Toz Halde Kolistin Sülfat Antibiyotigi

≤15,000 IU/mg potense sahip kolistin sülfat (SigmaAldrich, ABD, Lot No: SLBT0851)

Primerler

PrimersForward:

- mcr1_320bp_fw 5'-AGTCCGTTTGTCTTGTGGC-3'
- mcr2_700bp_fw 5'-CAAGTGTGTTGGTTCGCAGTT-3'
- mcr3_900bp_fw 5'-AAATAAAAATTGTTCCGCTTATG-3'
- mcr4_1100bp_fw 5'-TCACTTTCATCACTGCGTTG-3'
- mcr5_fw 5'-ATGCGGTTGTCTGCATTTATC-3'

PrimersReverse:

- mcr1_320bp_rev 5'-AGATCCTTGGTCTCGGCTTG-3'
- mcr2_700bp_rev 5'-TCTAGCCCGACAAGCATAACC-3'
- mcr3_900bp_rev 5'-AATGGAGATCCCCGTTTTT-3'
- mcr4_1100bp_rev 5'-TTGGTCCATGACTACCAATG-3'
- mcr5_rev 5'-TCATTGTGGTTGTCCTTTTCTG-3'

(EllaBioTech, Almanya)

Kullanılan Besi Yerleri, Reaktifler, Araç ve Aygıtlar

- Katyon Ayarlı Mueller Hinton Broth (KAMHB) (90922 Sigma-Aldrich, ABD, Lot No: BCBT9094)
- *Escherichia coli* ATCC 25922 (0335K Kwik-Stick, Microbiologics, ABD, Lot No:335-190-2)
- *Escherichia coli* NCTC 13846(MM34Selectrol[®] Disc, TCS Biosciences, Birleşik Krallık, Lot No:03400404)
- Koyun Kanı İçeren Columbia Agar (BioMérieux, Fransa)
- Plate Count Agar (Merck, Almanya)
- 96 kuyucuklu U tabanlı steril polistiren mikrotitre plakları (LP Italiana, İtalya)
- PCR Termal Döngü Cihazı (T 100 model, Bio-Rad, ABD)
- 1 µL den 1000 µL'ye kadar mikropipetler (Brand, Almanya)
- Elektroforez Ünitesi (Power Pack Basic Model, Bio-Rad, ABD)
- Mikrodalga Fırın
- Mini Santrifüj Cihazı (Bio-Rad, ABD)
- Santrifüj Cihazı (Microstar 17, VWR, ABD)

- Isıtıcı Blok (DigitalDryBath, Bio-Rad, ABD)
- Görüntüleme Cihazı (Gel Doc XR+ System, Bio-Rad, ABD)
- Su banyosu 50°C (GRANT, Birleşik Krallık)
- Vorteks Cihazı (VWR, ABD)
- 1 µL den 1000 µL'ye kadar filtrelili ve Nükleazdan arındırılmış mikropipet uçları (Brand, Almanya)
- Ağzı kilitli, nükleazdan arındırılmış Eppendorf Tüpleri (Interlab, Almanya)
- Agaroz (BP-160 FisherBioreagents, ABD, Lot No:175030)
- TE buffer [Tris: EDTA 10:1 pH 8.0] (BP-24733-1 FisherBioreagents, ABD, Lot No:186867)
- Tris HCL Solüsyonu[pH 8.0] (BP-1758 FisherBioreagents, ABD, Lot No:182982)
- TBE (Tris-Borat EDTA) buffer
- DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) (K1082 ThermoScientific, ABD, Lot No:00715356)
- Etidyum Bromür (BP1302-10, FisherBioreagents, ABD)
- GeneRuler 100 bp DNA Ladder (SM 0241, ThermoFisher, ABD, Lot No:00895912)
- McFarland Yoğunluk Ölçer Cihaz (DEN-1, Biosan, Litvanya)

2.2. Yöntem

2.2.1. İzolatların Fenotipik Kolistin Dirençlerinin Belirlenmesi

Tez çalışmasında kullanılan *Salmonella* izolatlarının kolistin antimikrobiyal duyarlılığı Sıvı Mikro Dilüsyon Tekniği (SMD) yöntemi ile çalışılmıştır. Üremenin engellendiği en düşük antimikrobiyal konsantrasyon MİK değeri olarak alınıp MİK değeri >2 mg/L olanlar kolistine dirençli kabul edilirken; MİK değeri ≤2 mg/L olanlar kolistine duyarlı olarak değerlendirilmiştir (EUCAST 2018).

Çalışmada $\leq 15,000$ IU/mg potense sahip kolistin sülfat kullanılmıştır. Kolistin sülfat antibiyotik tozundan son konsantrasyonu $1024\mu\text{g/ml}$ olacak şekilde aşağıdaki formül kullanılarak stok çözeltisi hazırlanmıştır:

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

10 mg kolistin sülfat hassas terazide tartılarak formüle göre 7,1455 mL distile suda çözülmüştür. Hazırlanan stok çözeltisi 1,5 mL'likli kapaklı Eppendorf tüplere dağıtılarak -20°C ' de saklanmıştır.

SMD yöntemi için sıvı besiyeri olarak KAMHB kullanılmış ve ilk olarak 96 kuyucuklu, U tabanlı, polistiren mikropiplerinin her gözüne $50\mu\text{l}$ KAMHB mikro pipet kullanılarak dağıtılmıştır.

Mikroplağın A sırasındaki ilk gözlere içinde $50\mu\text{l}$ kolistin antibiyotiği içeren sulandırma eklenmiş ve seri sulandırma yapılarak en son gözden çekilenler atılarak $1024\mu\text{g/ml}$ olan antibiyotik konsantrasyonu $512\mu\text{g/ml}$ 'ye düşürülmüştür.

İzolatların saklandığı Gliserinli Triptik Soy Buyyon içeren vida kapaklı tüpler -86°C den alınıp oda ısısına getirildikten sonra %5 Koyun Kanı İçeren Columbia Agar ve Plate Count Agar besiyerine ekilerek canlı kültür yapılmıştır. Tek düşen kolonilerden saflık kontrolü yapıldıktan sonra steril öze ile bir miktar alınarak ağzı kapaklı tüplerdeki KAMHB içine pasaj yapılmış; masaüstü McFarland yoğunluk ölçer cihazı kullanılarak $0,5$ McFarland (1×10^8 kob/ml) bulanıklığında stok bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır.

Sonrasında süspansiyondan $50\mu\text{l}$ alınıp $950\mu\text{l}$ KAMHB ilave edilerek 1:20 oranında sulandırma yapılmış ve böylece 5×10^6 kob/ml konsantrasyona ulaşılmıştır.

Daha sonra 5×10^6 kob/ml konsantrasyondaki bakteri solüsyonundan mikroplağın test yapılacak ilgili gözüne $10\mu\text{l}$ eklenerek son bakteri konsantrasyonu 5×10^5 kob/ml olacak şekilde ayarlanmıştır.

Son olarak çok kanallı mikro pipet aracılığıyla $40\mu\text{l}$ KAMHB alınarak mikroplağın her gözüne inoküle edilmiştir.

Kalite kontrol amacıyla *E. coli* ATCC25922 ve kolistin dirençli *E. coli* NCTC 13846(*mcr-1* pozitif) kullanılmış ve çalışmada kullanılan antibiyotik çözeltisiyle aynı anda test edilmişlerdir.

Yine test edilen her mikropakta bakteri üreme kontrolü için antibiyotiksiz kuyucuklar bırakılmış ve besi yeri sterilite kontrol kuyucukları ile de bakteri inokülasyonu yapılmadan besi yerinin kontrolü yapılmıştır.

İnoküle edilmiş 96 kuyucuklu mikropaklar üstleri mikrofilm ile kaplanıp ağzı kilitli plastik torbalara konulduktan sonra 35°C'lik etüvde aerob koşullarda 16-24 saat inkübasyona bırakılmış ve sonra kuyucuklardaki üreme durumunun çıplak gözle değerlendirmesi yapılmıştır.

2.2.2. İzolatların Genotipik Kolistin Dirençlerinin Belirlenmesi

Fenotipik çalışma sonrasında SMD tekniğiyle kolistine dirençli olduğu ortaya konulan *Salmonella* izolatlarında *mcr* geni varlığının belirlenmesi amacıyla Avrupa Birliği Antimikrobiyal Direnç Referans Laboratuvarı (EURL-AR) tarafından oluşturulmuş Multipleks PCR protokolü kullanılmıştır.

Fenotipik olarak dirençli bulunmuş *Salmonella* izolatlarının saklandığı Gliserinli Triptik Soy Broth besi yeri içeren vida kapaklı tüpler -20°C'den alınıp oda ısısına getirildikten sonra %5 Koyun Kanı İçeren Columbia Agar ve Plate Count Agar besiyerine ekilerek canlandırma yapılmıştır. Saflık kontrolü yapıldıktan sonra steril öze dolusu alınarak içlerinde 100 µL TE Buffer bulunan 1,5 ml'lik nükleazdan arınmış Eppendorf tüplere aktarılmıştır.

Tüplerdeki süspansiyonlar kuru ısı bloğunda 95°C'de 10 dakika kaynatılmış ve sonra bloktan alınan tüpler 6000 G şiddetinde 5 dakika santrifüj yapılmıştır. Üstte kalan ve DNA içeren sıvı devam aşamaları için kullanılmak üzere nükleazdan arınmış tüplere aktarılmıştır.

Daha sonra bu sıvıdan alınan test edilecek şablon 1:10 Tris HCL ile sulandırılmıştır. Reaksiyona girecek karışımı oluşturmak amaçlı buradan ekstrakte edilen DNA örneklerinden 2 µl kullanılmıştır.

PCR reaksiyonuna girecek karışımı hazırlayabilmek için çalışılacak örnek sayısı dikkate alınarak bundan birkaç örnek fazlası için Mastermiks miktarı hesaplanmıştır.

Primerlerin ticari konsantrasyonları nedeniyle üretici firmanın belirttiği sulandırma protokolüne uygun olarak sulandırılmış 100 pmol/µl konsantrasyondaki stok primer solüsyonundan 10 µl ve nükleazdan arındırılmış sudan 90 µl alınıp, toplam hacim 100 µl olacak şekilde tekrar sulandırılmıştır. Böylece reaksiyon için kullanılacak 10 µM'lık stok solüsyonları elde edilmiştir.



2.1. Örneklerin kuru ısı bloğunda kaynatılması

PCR reaksiyonu, her bir sulandırılmış stok F ve R primerden 0,5 µl (toplamda 10 µl) ve 25 µL'lik bir nihai reaksiyon hacminde 12,5 µl Green PCR Master Miks (DNA polimeraz) kullanılarak hazırlanmıştır.

Her bir tüp içinde 10 µl toplam primer hacmi ve 12,5 µl Green PCR Master Miksle 22,5 µl hacme ulaşılmış ve her izolatin daha önce hazırlanmış lizatlarından 2 µl ilave edilerek kalan kısmı nükleazdan arındırılmış suyla tamamlanarak her bir tüpteki sonuç hacim 25 µl'ye tamamlanmıştır. Bu aşama sonrasında her tüp amplifikasyon aşaması için termal döngü cihazına yerleştirilmiştir.

Amplifikasyon şu koşullarda gerçekleşmiştir: 15 dakika boyunca 94 °C 'de ilk denatürasyon, ardından 30 saniye boyunca 94 °C 'lik 25 döngü, 90 saniye boyunca 58 °C'lik 25 döngü ve 60 saniye boyunca 72 °C 'lik 25 döngü, son bir uzatma adımımda 10 dakika boyunca 72 °C.

2.1.Örnek sayısına göre çalışılacak toplam hacmin hesaplanması

Çalışılacak Örnek Sayısı	1	10
Nükleazdan arınmış H ₂ O	5,5	55
2xGreen PCR Master Miks	12,5	125
Primer karışımı (0,5 µl her biri)	5	50
Toplam hacim	23	230

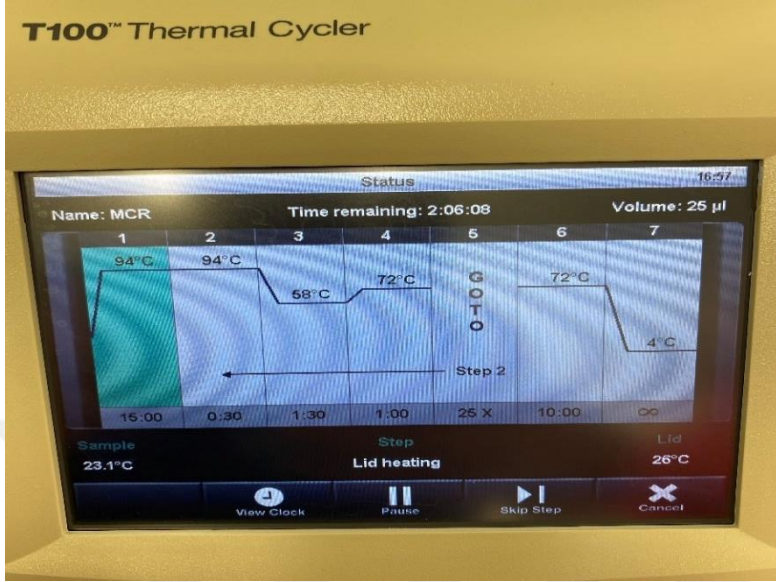
Amplifiye edilmiş DNA ürünlerinin görüntülenebilmesi için agaroz jel elektroforezi tekniğinden yararlanılmıştır. 1,5 g Agaroz ve 100 ml TBE (x1) tamponu kullanılarak %1.5'luk olacak şekilde mikrodalga fırında kaynatılarak hazırlanmıştır.

Agaroz jel karışımı 40-50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra içerisine DNA boyası olarak 2 µl etidyum bromür eklenmiş, tepsiye dökülerek tarak yerleştirilmiş ve hazır hale geldiğinde tarak alınarak jel elektroforez ünitesindeki yerine yerleştirilmiştir. Üzerine jeli kaplayacak kadar TBE eklenmiştir.

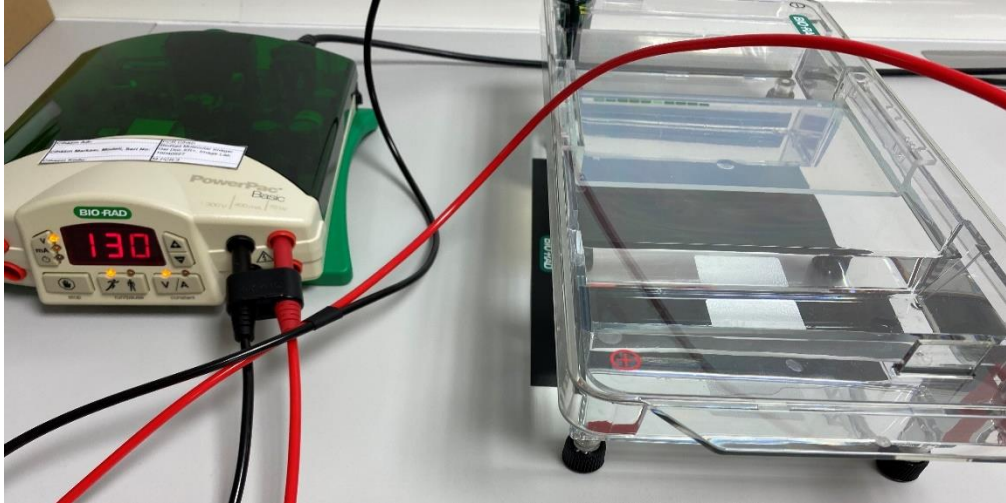
Jelde ilk kuyucuğaa DNA marker, ikinci kuyucuktan itibaren ise çalışılmış PCR ürünleri ve onları takiben de pozitif ve negatif kontroller, son kuyucuğaa ise tekrar bir DNA marker yüklenmiştir.

2.2. Termal döngü cihazındaki amplifikasyon koşulları

1.	15 dk.boyunca	94	°C 'de
2.	<u>25</u> Döngü		
	<u>30</u>	sn. boyunca	<u>94 °C</u> 'de
	<u>90</u>	sn. boyunca	<u>58 °C</u> 'de
	<u>60</u>	sn. boyunca	<u>72 °C</u> 'de
3.	<u>10 dk.boyunca</u>	<u>72</u>	°C 'de
4.	<u>Kullanılana deksüresiz</u>	<u>4</u>	°C 'de



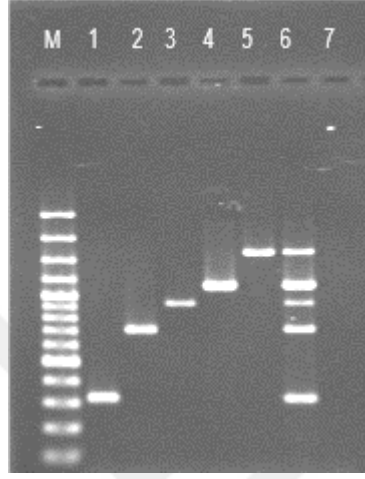
2.2. EURL-AR Protokolü Amplifikasyon Aşamalarının Termal Döngü Cihazındaki Görünümü



2.3. Amplifiye edilmiş DNA ürünlerinin agaroz jel elektroforez ünitesine yüklenmiş hali

Yükleme aşamasında 2 µl yükleme boyası ve 8 µl PCR ürünü karıştırılarak

çalışılmıştır. Jel Elektroforezis Ünitesi 130 Volt'a ayarlanarak ampikonların jelde 45 dakika süresince ilerlemesi sağlanmış ve son olarak, jel görüntüleme sistemine yerleştirilerek üzerindeki spesifik bantlar görüntülenmiştir.



M	100 bpladder
1	<i>E. coli</i> 2012-60-1176-27 (<i>mcr-1</i>)
2	<i>E. coli</i> KP37 (<i>mcr-2</i>)
3	<i>E. coli</i> 2013-SQ352 (<i>mcr-3</i>)
4	<i>E. coli</i> DH5α (<i>mcr-4</i>)
5	<i>Salmonella</i> 13-SA01718 (<i>mcr-5</i>)
6	<i>mcr-1, -2, -3, -4</i> and <i>-5</i> pozitif kontroller
7	Mastermiks

2.4. Agaroz jelde beş *mcr* geni için bantların görüntülenmesi: *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* ve *mcr-5* tespiti için, EURL-AR tarafından hayvan sağlığı ve gıda güvenliği çalışmaları kapsamında yapılan multipleks PCR çalışmasından alınmıştır (Rebelo vd., 2018).

3. BULGULAR

Kolistin direncinin araştırılmasına yönelik olarak mikrodilüsyon testine tabi tutulan *Salmonella* izolatlarının ($n=300$) tamamı 2014-2018 yılları arasında izole edilmiş suşlardır.

Çalışmada kullanılan örneklerin % 42'sini ($n=128$) 2018 yılında izole edilmiş *Salmonella* suşları oluşturmakta; bunu sırasıyla 2017 yılı örnekleri %29.3 ($n=88$), 2015 yılı örnekleri %13 ($n=39$), 2016 yılı örnekleri %11.3 ($n=34$) ve 2014 yılı örnekleri %3.6 ($n=11$) izlemektedir.

Serotip dağılımları; 115 adet *S. Infantis*, 66 adet *S. Enteritidis*, 18 adet *S. Abony*, 11 adet *S. Typhimurium*, 9 adet *S. Tomegbe*, 9 adet *S. Havana*, 7 adet *S. Kottbus*, 5 adet *S. Paratyphi B*, 5 adet *S. Anatum*, 4 adet *S. Newport*, 4 adet *S. Salford*, 4 adet *S. Liverpool*, 3 adet *S. Hadar*, 3 adet *S. Mikawasima*, 3 adet *S. Kentucky*, 3 adet *S. Mbandaka*, 3 adet *S. Charity*, 3 adet *Salmonella II*, 3 adet *Salmonella Grup D1*, 2 adet *S. Poona*, 2 adet *Salmonella Grup G1* ve 2 adet *Salmonella Grup G2*, 2 adet *Salmonella Grup B*, 2 adet *S. Bispebjerg*, 1 adet *S. Vitkin*, 1 adet *S. Kikoma*, 1 adet *S. Corvallis*, 1 adet *S. Richmond*, 1 adet *S. Leeuwarden*, 1 adet *S. Ferruch*, 1 adet *S. Matopeni*, 1 adet *S. Thompson*, 1 adet *S. Lexington*, 1 adet *Salmonella Grup C1*, 1 adet *Salmonella IIIb* ve 1 adet *Salmonella Grup H* şeklindedir.

3.1. Çalışmada kullanılan *Salmonella* serotipleri

İzolatin Açık Adı	İzolatin Antijenik Formülü	Grubu	Örnek sayısı	%
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotip Abony	(1,4,[5],12,[27] ; b ; e,n,x)	B	18	6,00
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotip Anatum	(3,[10],[15],[15,34] ; e,h ; 1,6)	E	5	1,67
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotip Bispebjerg	(1,4,[5],12 ; a ; e,n,x)	B	2	0,67
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotip Charity	([1],6,14,[25] ; d ; e,n,x)	H	3	1,00

Salmonella enterica subsp. enterica serotip Corvallis	(8,20 ; Z4,Z23 ; [Z6])	C	1	0,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Enteritidis	(1,9,12; g,m ; -)	D	66	22,00
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Ferruch	(8; e,h ;1,5)	C	1	0,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Hadar	(6,8 ; Z10 ;e,n,x)	C	3	1,00
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Havana	(1,13,23 ; f,g,[s] ; -)	G	9	3,00
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Infantis	(6,7,14; r ;1,5)	C	115	38,33

3.1. Çalışmada kullanılan *Salmonella* serotipleri (devamı)

Salmonella enterica subsp. enterica serotip Kentucky	(8,20 ; i ; Z6)	C	3	1,00
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Kikoma	(16 ; y ;e,n,x)	I	1	0,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Kottbus	(6,8 ;e,h ;1,5)	C	7	2,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Leeuwarden	(11 ; b ; 1,5)	F	1	0,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Lexington	(3,10,15,34; Z10;15;[Z49])	E	1	0,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Liverpool	(1,3,19 ; d ; e,n,Z15)	E	4	1,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Matopeni	(30 ; y ; 1,2)	N	1	0,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Mbandaka	(6,7,14;Z10; e,n,Z15)	C	3	1,00
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Mikawasima	(6,7,14 ; y ;e,n,Z15)	C	3	1,00
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Newport	(6,8,20;e,h:1,2)	C	4	1,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Paratyphi B	(1,4,[5],12 ; b ; 1,2)	B	5	1,67
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Poona	(13,22 ; z ;1,6,Z44)	G	2	0,67
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Richmond	(6,7 ; y ; 1,2)	C	1	0,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Salford	(16 ; 1,v ; e,n,x)	I	4	1,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Thompson	(6,7,14 ; k ;1,5)	C	1	0,33
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Tomegbe	(1,42 ; b ; e,n,Z15)	T	9	3,00
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Typhimurium	(1,4,[5],12; i ;1,2)	B	11	3,67
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Vitkin	(28 ;1,v ;e,n,x)	V	1	0,33
Salmonella Grup B	(1,4,12,27 ; d : ?)	B	2	0,67
Salmonella Grup C1	(6,7 ; Z29 : ?)	C	1	0,33
Salmonella Grup D1	(1,9,12;g,m:?)	D	3	1,00
Salmonella Grup G1	(13,22 ; Z29 : ?)	G	2	0,67
Salmonella Grup G2	(1,13,23 ; g? : ?)	G	2	0,67
Salmonella Grup H	(14,25;d:?)	H	1	0,33
S.enterica subsp. Salamae serotip II	(13,22 ; Z29 ;1,5)	G	2	0,67
S.enterica subsp. Salamae serotip II	(42 ; z :1,5)	T	1	0,33
S.enterica subsp. Salamae IIIb	(50 ; k ; Z35)	Z	1	0,33

Test edilen *Salmonella* izolatlarının ($n=300$) 72 adedi (%24) kolistinin belirlenen MİK değeriyle EUCAST kriterlerine göre fenotipik olarak dirençli ve geri kalan 228 adet (%76) ise duyarlı kabul edilmiştir (EUCAST, 2018). Çalışılan MİK aralığı $0,122\mu\text{g} / \text{ml}$ ile $256\mu\text{g} / \text{ml}$ arasında olup kolistin MİK 50 değeri $1\mu\text{g} / \text{ml}$ ve MİK 90 değeri $8\mu\text{g} / \text{ml}$ olarak tespit edilmiştir.

3.2. Kolistin için SMD yöntemiyle elde edilen MİK50 ve MİK90 değerleri

	MİK50 (mg/L)	MİK90 (mg/L)	MİK Aralığı (mg/L)
SMD	1	8	0,122-256

3.3.EUCAST kriterlerine göre Kolistin için MİK sınır değerleri

Antibiyotik	MİK(µg/mL) sınırdeğerleri	
	S ≤	R >
Kolistin	2	2

3.4.Test edilen tüm izolatların EUCAST kriterlerine göre SMD'la elde edilmiş MİK değerleri

(n=300)	KOLİSTİN MİK TESTİ SONUCU (mg/L)											
	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0.122
İzolat adeti	-	-	-	2	12	26	32	73	99	46	9	-

Fenotipik kolistin dirençli olarak tespit edilen *Salmonella* serotiplerinden sayıca en çok olanın *Salmonella enterica* serotip Infantis ($n=27$) olduğu gözlemlenmiştir. Bunu *Salmonella enterica* serotip Enteritidis ($n=19$) ve *Salmonella enterica* serotip Typhimurium ($n=5$) izlemektedir.

Kolistin dirençli olarak tespit edilen diğer izolatlar ise *Salmonella enterica* serotip Abony ($n=2$), *Salmonella enterica* serotip Liverpool ($n=2$), *Salmonella enterica* serotip Kottbus($n=2$), *Salmonella enterica* serotip Hadar ($n=2$), *Salmonella enterica* serotip Newport ($n=2$), *Salmonella enterica* serotip Kentucky($n=1$), *Salmonella enterica* serotip Kikoma ($n=1$), *Salmonella enterica* serotip Havana($n=1$), *Salmonella enterica* serotip Anatum ($n=1$), *Salmonella* Grup G1($n=1$), *Salmonella* II ($n=1$), *Salmonella* Grup B ($n=1$), *Salmonella enterica* serotip Mbandaka($n=1$), *Salmonella enterica* serotip Paratyphi B($n=1$), *Salmonella enterica* serotip Thompson($n=1$) ve *Salmonella enterica* serotip Lexington ($n=1$)dır.



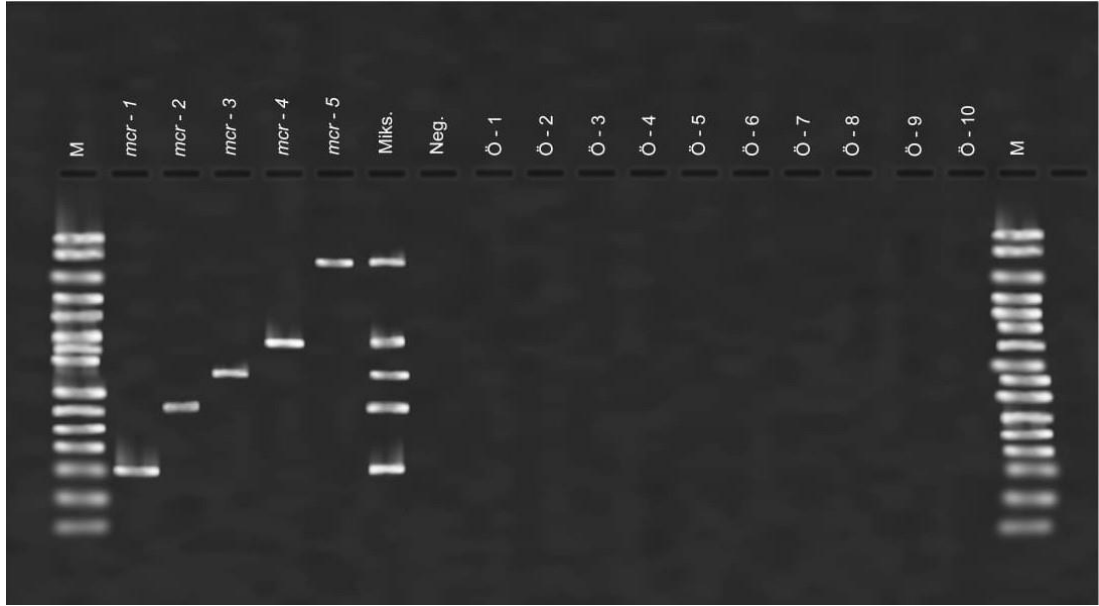
3.1. SMD yöntemiyle MİK testi yapılmış bazı izolatların U tabanlı polistiren plakta görünümü

3.5. EUCAST kriterlerine göre MİK değerleri dirençli çıkan izolatlar ve sayıları

MIC 4 mg/L	
İzolatin açık adı	Adeti
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Typhimurium	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Infantis	16
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Abony	2
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Enteritidis	9
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Hadar	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Kentucky	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Newport	1
Salmonella Grup G1	1
MIC 8 mg/L	
İzolatin açık adı	Adeti
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Typhimurium	3
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Infantis	7
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Anatum	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Enteritidis	9
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Kikoma	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Kottbus	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Liverpool	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Paratyphi B	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Thompson	1
S.enterica subsp. Salamae serotip II	1
MIC 16 mg/L	
İzolatin açık adı	Adeti
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Typhimurium	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Infantis	4
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Hadar	1

Salmonella enterica subsp. enterica serotip Enteritidis	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Kottbus	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Newport	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Havana	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Mbandaka	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Lexington	1
MIC 32 mg/L	
İzolatin açık adı	Adeti
Salmonella Grup B	1
Salmonella enterica subsp. enterica serotip Liverpool	1

Genotipik direncin belirlenmesi amacıyla fenotipik olarak kolistine dirençli olarak tespit edilen yetmiş iki izolattan DNA ekstraksiyonu yapılmış ve kolistin direncinden sorumlu *mcr* genlerinin varlığı PCR yöntemiyle araştırılmıştır. PCR amplifikasyonu sonucunda örneklerin hiçbirinde araştırılan *mcr* genleri tespit edilememiştir.



3.2. *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* ve *mcr-5* genlerinin tespiti için yapılan multiplex PCR sonucu, pozitif kontrol suşları ve örnekler

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gıda amaçlı yetiştirilen hayvanlar, *mcr* barındıran suşların potansiyel rezervuarları olarak vurgulanmış olup kolistin insanlarda karbapeneme dirençli GNB'lere karşı son çare olarak kullanılmasıyla beraber, bu durum halk sağlığı bakımından büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Wang vd., 2018; Carroll vd., 2019; Wangvd., 2020).

Yakın zamana kadar, kolistin direnç testinin hangi yöntemle yapılabileceği konusunda fikir birliği yoktu. Kolistinin agarda zayıf difüzyonu nedeniyle disk difüzyon yöntemi ve gradiyent testlerinin güvenilir olmadığı kanıtlanmış olup bu testler polimiksinlere direncin belirlenmesi için geçerli teknikler değildir (Galanıvd., 2008; Beheravd., 2010; Dafopoulouvd., 2015; Chewvd., 2017; Vasoo, 2017, Giske ve Kahlmeter, 2018)

Hem EUCAST hem de CLSI, kolistinin MİK değerlerinin test edilmesi için ISO 20776 SMD yöntemini önermiştir (CLSI 2016, EUCAST 2016). EUCAST; Vitek 2 (bioMerieux, Fransa), BD Phoenix (Becton Dickinson, ABD), Walk-Away (Beckman Coulter, ABD) gibi otomatik sistemlerin de kolistin fenotipik direncini belirlemek için kullanımını önermemektedir. Bunun nedeni, bu sistemlerin, referans olarak belirlenen yönteme kıyasla 2-4 mg / l aralığında kolistin MİK belirlemede oldukça sınırlı doğruluğa sahip olmasıdır (Nordmann, Jayol ve Poirel, 2016; Lellouche vd., 2019).

Bu yüzden de tez çalışmamızda kolistin fenotipik direncinin tespiti amaçlı SMD yöntemi kullanılmıştır. Ancak SMD ile *Salmonella* izolatlarının MİK değerlerinin tespit edilip kolistin dirençlerinin saptanması pratikte çok fazla işgücü isteyen zahmetli bir yöntemdir ve tekrar edilebilirlik oranı da oldukça düşüktür (Poirel vd., 2017).

Tez çalışmamızda kolistin direnci araştırılan *Salmonella* izolatlarının %24'ü (72/300) mikrodilüsyon yöntemiyle EUCAST kriterlerine göre fenotipik olarak dirençli bulunmuştur.

E. coli 'ye oranla, *Salmonella* izolatlarında kolistin direncinin fenotipik olarak araştırıldığı çok çalışma bulunmamaktadır.

Türkiye'de gıda zehirlenmesi vakalarından izole edilmiş *Salmonella* spp. suşlarında kolistine fenotipik direnç oranı %44,1 olarak bildirilmiştir (Kızıl, 2020).

Bangladeş'te kanatlılarda yapılan bir çalışmada *Salmonella* izolatlarında kolistin için fenotipik direnç oranı %48,5 olarak tespit edilirken (Islam vd., 2020) , Nijerya'da kanatlılardan izole edilmiş *Salmonella* izolatlarından yapılan başka bir çalışmada fenotipik direnç %11,7 oranında bildirilmiştir (Ngbede vd., 2020).

Avrupa Birliği üye ülkelerinde kanatlılardan izole edilmiş *Salmonella* izolatlarından yapılmış sörveyans çalışmalarında kolistin fenotipik direnç prevalansı dünyanın geri kalan bölgelerine oranla çok daha düşük oranda, broyler sürüleri için %1,8 ve yumurtacı sürüler için de %8,1 olarak bildirilmiştir (EFSA/ECDC, 2021, 2021a).

Üye ülkelerdeki *Salmonella* fenotipik kolistin direncinin genel olarak düşük rapor edilmesine karşın, Portekiz'de kanatlı etlerinden izole edilmiş *Salmonella* suşları üzerinde geriye dönük yapılan bir sörveyans çalışmasında bu oran %14,3 olarak bildirilmiştir (Figueiredo vd. 2016).

Uzakdoğu ülkelerinden Tayland'da kanatlılardan izole edilmiş *Salmonella* suşlarında kolistine fenotipik direnç oranı %12,6 olarak bildirilirken (Sakdinun, Sriwongsa ve Wongmuk, 2018) ; Japonya'da yapılan bir çalışmada %1,2 (Esaki vd. 2004) ve Kore'de yapılan bir çalışmada da %1 olarak (Lim vd. 2009) Avrupa Birliği ülkelerine benzer oranlarda rapor edilmiştir.

Tez çalışmamızdaki *Salmonella* suşlarından elde ettiğimiz fenotipik direnç oranları, Brezilya'da *Salmonella enterica* suşlarıyla yapılmış çalışmada tespit edilmiş olan %21 oranındaki fenotipik direnç sonuçlarıyla uyumludur (Morales vd., 2012).

Özetle dünyada *Salmonella* suşlarında fenotipik kolistin direnç oranları, en düşük Avrupa Birliği ülkelerinde %1,82 en yüksek Bangladeş'te % 48,5 aralıklarında bildirilmiştir. Bildirilen kolistin fenotipik direnç oranlarının; ülkelere, uygulanan antimikrobiyal yönetim politikalarına ve çalışılan izolatların kökenine göre değişebildiği söylenebilir.

Plazmid aracılı kolistin direnç geni olan *mcr-1* Çin'de 2015'in sonlarında *E. coli* suşlarında tanımlanana kadar, kolistin direnci yalnızca kromozomal genlerdeki nokta mutasyonlarıyla ilişkilendiriliyordu (Liu vd., 2016).

Bu bulgunun üzerinden yalnızca üç ay geçmişken, bu genin çoğu kıtada ve esas olarak hayvanlardan, çevreden, gıda maddelerinden; enfekte ya da asemptomatik insan taşıyıcılarından izole edilen *E. coli* suşlarındaki varlığı açıklandı (Skov ve Monnet, 2016).

Kolistin, *Salmonella* enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilen bir antibiyotik olmamasına rağmen, tez çalışmamızdaki *Salmonella* suşlarında standart MİK değerlerine göre kolistine fenotipik olarak direnç görüldüğü açıktır. Ancak fenotipik olarak yüksek seviyelerdeki kolistin direncini, test edilen *mcr* genlerinden herhangi birinin varlığıyla ilişkilendirmek mümkün olmamıştır. Bu duruma benzer bir şekilde Çin'de herhangi bir *mcr* geni barındırmayan izolatların % 47,5 oranında fenotipik olarak kolistine dirençli oldukları gösterilmiş ve *mcr* negatif kolistin dirençli *E. coli* izolatlarında kolistin MİK değerlerinin *mcr* pozitif izolatlardan daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Luo vd., 2017).

PCR testinde negatif çıkan bir sonucun, kolistin direncinin tespiti için kullanılmayacağı unutulmamalıdır, çünkü PCR testi kromozomal direnç mekanizmalarının veya teste dâhil edilmeyen yeni *mcr* genlerinin varlığını dışlayamaz. Örneğin, Brezilya ve İtalya'da karbapenemaz üreten, ancak *mcr* genlerinden yoksun *K. pneumoniae* suşları arasında yüksek oranlarda kolistin direnci bildirilmiştir. Bu örneğin gösterdiği gibi, *mcr* genleri için negatif bir PCR sonucu, fenotipik olarak kolistine direnç gösteren suşlar için zayıf tahmin değerine sahip olabilecektir (WHO, 2018).

Kolistini kodlayan mobil genlerin tespit edilemediği fenotipik direnç; bazı genlerde lipid A modifikasyonlarına yol açabilen kromozomal mutasyonlardan kaynaklanıyor olabilir. Kromozomal mutasyonlar yatay olarak aktarılamasa da *mcr* negatif kolistin dirençli izolatların yüksek oranı görmezden gelinemez (Luo vd., 2017).

Yine *mcr* negatif *Salmonella* izolatlardaki kolistin direncinin kromozom üzerinde bulunan *pmrAB*, *phoPQ*, *mgrB* ve diğer LipidA modifikasyonu ile

sonuçlanan genlerdeki mutasyonlarla ve mRNA sentezindeki dalgalanmalarla ilişkili olabileceğini vurgulanmıştır (Jovčić vd., 2020).

Direnç genleri üretiminin plazmid stabilitesi üzerindeki etkisi araştırılmış *mcr-1* ve *mcr-3* geni taşıyan transkonjugant kültürlerde plazmidlerin miktarları ve dayanıklılıklarının zamanla azaldığı görülmüştür. Plazmid dinamiklerinin bakteri topluluklarındaki direnç genlerinin kalıcılığında önemli bir yeri olduğu söz konusu çalışmayla gösterilmiştir. Çalışmamızda fenotipik direnç gösteren suşların genotipik olarak tespit edilememesi sebeplerinden bir tanesi de söz konusu plazmitlerde oluşan bu tarz değişiklikler olabilir (Yang vd., 2020).

mcr geninin kayıp sebeplerinden biri de, seçici baskının yokluğunda geni barındıran plazmidlerin kararsızlığı olabilir. Seçici baskının yokluğunda plazmid stabilitesinin azaldığını ve bakterinin uyum gücünü azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Nang vd., 2018).

Genotip-fenotip ilişkisinin tutarsızlığı, bu çalışmada araştırılmayan *mcr* genleri ve onların varyantlarıyla da açıklanabilir (Gharaibeh ve Shatnawi, 2019).

Salmonella suşları içinde, doğası gereği kolistine direnç gösteren belirli serovarlar olabilir. Bazı çalışmalar, O: 9 somatik antijenlerine sahip *Salmonella*'nın D grubu serovarlarının doğal kolistin direncine sahip olduğunu göstermiştir (EFSA/ECDC, 2020; Ricci,Zhang,Teale ve Piddock, 2020).

Türkiye'deki standart laboratuvarlarda, *Salmonella* enfeksiyonlarında rutin olarak kullanılan bir antibiyotik olmadığı için çok genel olarak kolistine direnç testi yapılmamaktadır. Diğer antibiyotiklere duyarlı bulunmuşlarsa kolistin direncine bakılmaması da plazmid aracılı kolistin direnç genlerine sahip izolatların tespit edilememesine neden olmuş olabilir. Benzer şekilde, *E. coli*'nin ve *Enterobacteriaceae*'nin diğer izolatlarının kolistin dirençleri, yalnızca çoklu ilaca dirençleri varsa test edilmektedir. Bu nedenle, polimiksin direncinin, dolayısıyla da *mcr* geninin ülkemizdeki prevalansı şu anda tam olarak bilinmemektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmadaki 300 izolatın 72 adedi (%24) kolistin belirlenen MİK değeriyle EUCAST kriterlerine göre fenotipik olarak dirençli bulunmuş ancak hiçbirinde *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* veya *mcr-5* geni tespit edilmemiştir.

PCR ve Tüm Genom Dizileme (WGS), *mcr* genini bakteri kültürlerinden ve ayrıca klinik, dışkı, çevresel ve gıda örneklerinden tanımlamak için referans testleri olarak kabul edilir. PCR, belirli primerler ve problemler nedeniyle yalnızca o ana kadar bilinen ve valide edilmiş *mcr* genlerini tespit edebilir. Bu çalışmada kullanılan PCR yöntemiyle sadece *mcr-1*'den *mcr-5* genine kadar olan gen varyantlarını tespit edebilmek mümkün olmuştur.

Hâlihazırda *mcr-10* geni ve varyantları ortaya çıkmışken bu genlerin varlığını ortaya koyabilecek valide edilmiş standart bir PCR metodunu içeren çalışmaların yapılmasıyla da fenotipik ve genotipik bulgular arasında bir uyum yakalanması mümkün olabilir.

Öte yandan; bundan sonra yapılacak çalışmalara öneri olarak, bilinen veya bilinmeyen tüm kolistin direnç mekanizmalarını tanımlayabileceği için WGS çalışmaları konuyu aydınlatmakta çok yardımcı olabilecektir (Rebelo vd., 2018; Sekyere ve Asante, 2018).

KAYNAKLAR

AbuOun M, Stubberfield EJ, Duggett NA, Kirchner M, Dormer L, Nunez-Garcia J, Randall LP, Lemma F, Crook DW, Teale C, Smith RPveAnjum MF (2017) *mcr-1* and *mcr-2* (*mcr-6.1*) variant genes identified in *Moraxella* species isolated from pigs in Great Britain from 2014 to 2015. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72, 2745-9.

Abushaheen MA, Muzahed, Fatani AJ, Alosaimi M, Mansy W, George M, Acharya S, Rathod S, Divakar DD, Jhugroo C, Vellappally S, Khan AA, Shaik JveJhugroo P (2020) Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66, 100971.

Achard CveBensaude R (1896) Infections paratyphoidiques. *Bull. Mem. Soc. Med. Hop. Paris*, 13, 820-33.

Adiguzel MC, Baran A, Wu Z, Cengiz S, Dai L, Oz C, Ozmenli E, Goulart DBveSahin O (2020) Prevalence of Colistin Resistance in *Escherichia coli* in Eastern Turkey and Genomic Characterization of an *mcr-1* Positive Strain from Retail Chicken Meat. *Microbial Drug Resistance*.

Altayb HN, Siddig M, El Amin NM, Maowia AIHveMukhtar M (2018) Molecular Characterization of CTX-M ESBLs among Pathogenic *Enterobacteriaceae* isolated from different regions in Sudan. *Global Advanced Research Journal of Microbiology (GARJM)*, 7, 040-7.

Anjum MF, Duggett NA, AbuOun M, Randall L, Nunez-Garcia J, Ellis RJ, Rogers J, Horton R, Brena C, Williamson S, Martelli F, Davies RveTeale C (2016) Colistin resistance in *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates from a pig farm in Great Britain. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71, 2306-13.

Apostolakos IvePiccirillo A (2018) A review on the current situation and challenges of colistin resistance in poultry production. *Avian Pathology*, 47, 546-58.

Arcilla MS, van Hattem JM, Matamoros S, Melles DC, Penders J, de Jong MDveSchultsz C (2016) Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. *The Lancet Infectious Diseases*, 16, 147-9.

Ayaz ND, Cufaoglu G, Yonsul Y, Goncuoglu MveErol I (2019) Plasmid-Mediated Colistin Resistance in *Escherichia coli* O157: H7 Cattle and Sheep Isolates and Whole-Genome Sequence of a Colistin-Resistant Sorbitol Fermentative *Escherichia coli* O157: H7. *Microbial Drug Resistance*, 25, 1497-506.

Bachiri T, Lalaoui R, Bakour S, Allouache M, Belkebla N, Rolain JMveTouati A (2018) First Report of the Plasmid-Mediated Colistin Resistance Gene *mcr-1* in *Escherichia coli* ST405 Isolated from Wildlife in Bejaia, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 24, 890-5.

Baron S, Hadjadj L, Rolain J-MveOlaitan AO (2016) Molecular mechanisms of polymyxin resistance: knowns and unknowns. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 48, 583-91.

Belaynehe K, Shin S, Park K, Jang J, Won H, Yoon IveYoo H (2018) Genetic Analysis of p17S-208 Plasmid Encoding the Colistin Resistance *mcr-3* Gene in *Escherichia coli* Isolated from Swine in South Korea. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, NY)*, 25, 457-61.

Bialvaei AZveSamadi Kafil H (2015) Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Current Medical Research and Opinion*, 31, 707-21.

Biswas S, Brunel J-M, Dubus J-C, Reynaud-Gaubert MveRolain J-M (2012) Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 10, 917-34.

Borowiak M, Fischer J, Hammerl JA, Hendriksen RS, Szabo IveMalorny B (2017) Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72, 3317-24.

Brogden KA (2005) Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nature reviews microbiology*, 3, 238-50.

Cai Y, Lee WveKwa AL (2015) Polymyxin B versus colistin: an update. *Expert review of anti-infective therapy*, 13, 1481-97.

Campos J, Cristino L, Peixe LveAntunes P (2016) MCR-1 in multidrug-resistant and copper-tolerant clinically relevant *Salmonella* 1,4,[5],12:i:- and *S. Rissen* clones in Portugal, 2011 to 2015. *Eurosurveillance*, 21, 30270.

Campos MA, Vargas MA, Regueiro V, Llompart CM, Albertí SveBengoechea JA (2004) Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infection and immunity*, 72, 7107-14.

Carattoli A, Villa L, Feudi C, Curcio L, Orsini S, Luppi A, Pezzotti GveMagistrali CF (2017) Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain

and Belgium, 2015 to 2016. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 22, 30589.

Carroll LM, Gaballa A, Guldemann C, Sullivan G, Henderson L, Wiedmann M (2019) Identification of Novel Mobilized Colistin Resistance Gene *mcr-9* in a Multidrug-Resistant, Colistin-Susceptible *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Isolate. *mBio*, 10.

Catry B, Cavaleri M, Baptiste K, Grave K, Grein K, Holm A, Jukes H, Liebana E, Navas AL, Mackay D, Magiorakos A-P, Romo MAM, Moulin G, Madero CM, Pomba MCMF, Powell M, Pyörälä S, Rantala M, Ružauskas M, Sanders P, Teale C, Threlfall EJ, Törneke K, van Duin E, Edo JT (2015) Use of colistin-containing products within the European Union and European Economic Area (EU/EEA): development of resistance in animals and possible impact on human and animal health. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 46, 297-306.

Chabou S, Leulmi H, Rolain J-M (2019) Emergence of *mcr-1* mediated colistin resistance in *Escherichia coli* isolates from poultry in Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 16, 115-6.

Clemente L, Manageiro V, Correia I, Amaro A, Albuquerque T, Themudo P, Ferreira E, Caniça M (2019) Revealing *mcr-1*-positive ESBL-producing *Escherichia coli* strains among *Enterobacteriaceae* from food-producing animals (bovine, swine and poultry) and meat (bovine and swine), Portugal, 2010–2015. *International Journal of Food Microbiology*, 296, 37-42.

CLSI, (2016). Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-sixth informational supplement, M100-S26. Wayne, PA 19087 USA, Clinical and Laboratory Standards Institute.

Curcio L, Luppi A, Bonilauri P, Gherpelli Y, Pezzotti G, Pesciaroli M, Magistrali CF (2017) Detection of the colistin resistance gene *mcr-1* in pathogenic *Escherichia coli* from pigs affected by post-weaning diarrhoea in Italy. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 10, 80-3.

Dandachi I, Fayad E, El-Bazzal B, Daoud Z, Rolain J-M (2018) Prevalence of extended-Spectrum Beta-lactamase-producing gram-negative bacilli and emergence of *mcr-1* Colistin resistance gene in Lebanese swine farms. *Microbial Drug Resistance*, 25, 233-40.

Dandachi I, Leangapichart T, Daoud Z, Rolain J-M (2018) First detection of *mcr-1* plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* in Lebanese poultry. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 12, 137-8.

Delgado-Blas JF, Ovejero CM, Abadia-Patiño L, Gonzalez-Zorn B (2016) Coexistence of *mcr-1* and *bla_{NDM-1}* in *Escherichia coli* from Venezuela. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60, 6356-8.

Di Pilato V, Arena F, Tascini C, Cannatelli A, Henrici De Angelis L, Fortunato S, Giani T, Menichetti F, Rossolini GM (2016) *mcr-1.2*, a new *mcr* variant carried on a transferable plasmid from a Colistin-Resistant KPC Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* strain of Sequence Type 512. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60, 5612-5.

Dijkmans AC, Wilms EB, Kamerling IMC, Birkhoff W, Ortiz-Zacarias NV, van Nieuwkoop C, Verbrugh HAVeTouw DJ (2015) Colistin: Revival of an Old Polymyxin Antibiotic. *Therapeutic Drug Monitoring*, 37, 419-27.

Donà V, Bernasconi OJ, Pires J, Collaud A, Overesch G, Ramette A, Perreten VveEndimiani A (2017) Heterogeneous genetic location of *mcr-1* in colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from humans and retail Chicken Meat in Switzerland: Emergence of *mcr-1* Carrying IncK2 Plasmids. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61, e01245-17.

Doumith M, Godbole G, Ashton PveLarkin L (2016) Detection of the plasmid-mediated *mcr-1* gene conferring colistin resistance in human and food isolates of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in England and Wales. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 71, 2300-5.

Drali R, Berrazeg M, Zidouni LL, Hamitouche F, Abbas AA, Deriet AveMouffok F (2018) Emergence of *mcr-1* plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from seawater. *Science of The Total Environment*, 642, 90-4.

ECDC, (2014) EU protocol for harmonised monitoring of antimicrobial resistance in human *Salmonella* and *Campylobacter* isolates.

ECDC, (2016). Plasmid-mediated colistin resistance in Enterobacteriaceae.

EFSA/ECDC, (2019) The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 17, e05926.

EFSA/ECDC, (2020) The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017/2018. *EFSA Journal*, 18, e06007.

EFSA/ECDC, (2021) The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2018/2019. *EFSA Journal*, 19, e06490.

EFSA/ECDC, (2021a). European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in Zoonotic and Indicator Bacteria from Humans, Animals and Food in 2018/2019 [Dataset]. EFSA E.

El Garch F, de Jong A, Bertrand X, Hocquet DveSauget M (2018) *mcr-1*-like detection in commensal *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. from food-producing animals at slaughter in Europe. *Veterinary Microbiology*, 213, 42-6.

Elbediwi M, Li Y, Paudyal N, Pan H, Li X, Xie S, Rajkovic A, Feng Y, Fang WveC Rankin S (2019) Global burden of colistin-resistant bacteria: mobilized colistin resistance genes study (1980–2018). *Microorganisms*, 7, 461.

Ellem JA, Ginn AN, Chen SC, Ferguson J, Partridge SRveIredell JR (2017) Locally acquired *mcr-1* in *Escherichia coli*, Australia, 2011 and 2013. *Emerg Infect Dis*, 23, 1160-3.

Eltai NO, Abdfarag EA, Al-Romaihi H, Wehedy E, Mahmoud MH, Alawad OK, Al-Hajri MM, Al Thani AA ve Yassine HM (2018) Antibiotic Resistance Profile of Commensal *Escherichia coli* Isolated from Broiler Chickens in Qatar. *Journal of Food Protection*, 81, 302-7.

EMA/CVMP/CHMP, (2016). Updated advice on the use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health, European Medicines Agency.

EMA/CVMP/CHMP, (2020). Categorisation of antibiotics in the European Union, European Medicine Agency.

Esaki H, Morioka A, Ishihara K, Kojima A, Shiroki S, Tamura Y ve Takahashi T (2004) Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolated from cattle, swine and poultry (2001–2002): report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53, 266-70.

EUCAST, (2016) Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E). The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Erişim adresi, [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf], Erişim tarihi 14-02-2017.

EUCAST, (2018) EUCAST. Antimicrobial Susceptibility Testing: Breakpoints 2018. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Erişim adresi, [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.1_Breakpoint_Tables.pdf], Erişim tarihi 19/12/2018.

Faddoul GP ve Fellows GW (1966) A Five-Year Survey of the Incidence of Salmonellae in Avian Species. *Avian Diseases*, 10, 296-304.

Falagas ME, Kasiakou SK ve Saravolatz LD (2005) Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clinical infectious diseases*, 40, 1333-41.

Falgenhauer L, Waezsada SE, Yao Y, Imirzalioglu C, Käsbohrer A, Roesler U, Michael GB, Schwarz S, Werner G, Kreienbrock L ve Chakraborty T (2016) Colistin resistance gene *mcr-1* in extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Germany. *Lancet Infect Dis*, 16, 282-3.

Figueiredo R, Card RM, Nunez J, Pomba C, Mendonça N, Anjum MF ve Da Silva GJ (2016) Detection of an *mcr-1*-encoding plasmid mediating colistin resistance in *Salmonella enterica* from retail meat in Portugal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71, 2338-40.

Foley SL, Nayak R, Hanning IB, Johnson TJ, Han J ve Ricke SC (2011) Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 4273-9.

Fukuda A, Usui M, Okubo T, Tagaki C, Sukpanyatham NveTamura Y (2018) Co-harboring of cephalosporin (*bla*)/colistin (*mcr*) resistance genes among *Enterobacteriaceae* from flies in Thailand. *FEMS Microbiology Letters*, 365.

García V, García-Meniño I, Mora A, Flament-Simon SC, Díaz-Jiménez D, Blanco JE, Alonso MPveBlanco J (2018) Co-occurrence of *mcr-1*, *mcr-4* and *mcr-5* genes in multidrug-resistant ST10 Enterotoxigenic and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Spain (2006-2017). *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52, 104-8.

Gast RKvePorter Jr RE, (2020) *Salmonella Infections Diseases of Poultry*. Eds: Swayne DE, Boulianne M, Logue CM et al. John Wiley & Sons, Inc., p: 717-53.

Gast RKvePorter Jr RE, (2020) *Salmonella infections Diseases of poultry*. Eds, p: 717-53.

Ghafur A, Shankar C, GnanaSoundari P, Venkatesan M, Mani D, Thirunarayanan MAveVeeraraghavan B (2019) Detection of chromosomal and plasmid-mediated mechanisms of colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from Indian food samples. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 16, 48-52.

Gharaibeh MHveShatnawi SQ (2019) An overview of colistin resistance, mobilized colistin resistance genes dissemination, global responses, and the alternatives to colistin: A review. *Veterinary World*, 12, 1735-46.

Giraud E, Baucheron SveCloeckert A (2006) Resistance to fluoroquinolones in *Salmonella*: emerging mechanisms and resistance prevention strategies. *Microbes and Infection*, 8, 1937-44.

Giuliani A, Pirri GveNicoletto S (2007) Antimicrobial peptides: an overview of a promising class of therapeutics. *Open Life Sciences*, 2, 1-33.

GKGM (2018) Ruhsatlı Veteriner Tıbbi Ürünleri-Kolistin İçeren Ürünler. Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü Erişim adresi, [<https://vtu.tarim.gov.tr/EMDetay.aspx?ID=197>], Erişim tarihi 19-12-2018.

Göker T, Aşık RZ, Yılmaz MB, Çelik İveTekiner A (2017) *Sphingomonas paucimobilis*: a rare infectious agent found in cerebrospinal fluid. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, 60, 481.

Grami R, Mansour W, Mehri W, Bouallègue O, Boujaâfar N, Madec J-YveHaenni M (2016) Impact of food animal trade on the spread of *mcr-1*-mediated colistin resistance, Tunisia, July 2015. *Eurosurveillance*, 21, 30144.

Grimont PAVEweill F-X (2007) Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. *WHO collaborating centre for reference and research on Salmonella*, 9.

Gröndahl-Yli-Hannuksela K, Lönnqvist E, Kallonen T, Lindholm L, Jalava J, Rantakokko-Jalava KveVuopio J (2018) The first human report of mobile colistin resistance gene, *mcr-1*, in Finland. *APMIS*, 126, 413-7.

Gruber MvveDurham HE (1896) Eine neue Methode zur raschen Erkennung des Cholera vibrio und des Typhusbacillus. *Münchener medicinische Wochenschrift*, 43, 285-6.

Grünbaum A (1896) Preliminary note on the use of the agglutinative action of human serum for the diagnosis of enteric fever. *The Lancet*, 148, 806-7.

Gut AM, Vasiljevic T, Yeager TveDonkor ON (2018) *Salmonella* infection – prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: a review. *Microbiology*, 164, 1327-44.

Guthrie RK, (1992) *Salmonella* CRC Press, p.

Haenni M, Poirel L, Kieffer N, Châtre P, Saras E, Métayer V, Dumoulin R, Nordmann PveMadec JY (2016) Co-occurrence of extended spectrum β lactamase and MCR-1 encoding genes on plasmids. *Lancet Infect Dis*, 16, 281-2.

Hancock RE, (1997) Peptide antibiotics. *The Lancet infectious diseases*, 349, 418-22.

Harker K, Lane C, Gormley FveAdak G (2014) National outbreaks of *Salmonella* infection in the UK, 2000–2011. *Epidemiology & Infection*, 142, 601-7.

Hasman H, Hammerum AM, Hansen F, Hendriksen RS, Olesen B, Agersø Y, Zankari E, Leekitcharoenphon P, Stegger M, Kaas RS, Cavaco LM, Hansen DS, Aarestrup FMveSkov RL (2015) Detection of *mcr-1* encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015. *Eurosurveillance*, 20, 30085.

Hassan J, El-Gemayel L, Bashour IveKassem II, (2020) Chapter 10 - On the edge of a precipice: the global emergence and dissemination of plasmid-borne *mcr* genes that confer resistance to colistin, a last-resort antibiotic Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment. Eds: Hashmi MZ Elsevier, p: 155-82.

Heesterbeek DA, Bardoel BW, Parsons ES, Bennett I, Ruyken M, Doorduyn DJ, Gorham Jr RD, Berends ET, Pyne ALveHoogenboom BW (2019) Bacterial killing by complement requires membrane attack complex formation via surface-bound C5 convertases. *The EMBO journal*, 38, e99852.

Hewitt E, (1928) Bacillary white diarrhea in baby turkeys. *Cornell Vet*, 18, 272-6.

Hmede ZveKassem II (2018) The Colistin Resistance Gene *mcr-1* Is Prevalent in Commensal *Escherichia coli* Isolated from Preharvest Poultry in Lebanon. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62, e01304-18.

Hmede Z, Sulaiman AAA, Jaafar HveKassem II (2019) Emergence of plasmid-borne colistin resistance gene *mcr-1* in multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from irrigation water in Lebanon. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 54, 102-4.

Holmes A, Holmes M, Gottlieb T, Price LBveSundsford A (2018) End non-essential use of antimicrobials in livestock. *BMJ*, 360, k259.

Humphrey T, (2000) Public-health aspects of *Salmonella* infection *Salmonella* in domestic animals. Eds: Wray CWA CABI Publishing, p: 245-63.

Humphrey T, Mead GveRowe B (1988) Poultry meat as a source of human salmonellosis in England and Wales. *Epidemiology & Infection*, 100, 175-84.

Irrgang A, Roschanski N, Tenhagen B-A, Grobbel M, Skladnikiewicz-Ziemer T, Thomas K, Roesler UveKäsbohrer A (2016) Prevalence of *mcr-1* in *E. coli* from Livestock and Food in Germany, 2010–2015. *PLOS ONE*, 11, e0159863.

Islam M, Urmi U, Rana M, Sultana F, Jahan N, Hossain B, Iqbal S, Mosaddek AveNahar S (2020) Poultry chicken gut-bacteria carry high extent of colistin resistant *mcr-1* gene in Bangladesh. *International Journal of Infectious Diseases*, 101, 60.

Izdebski R, Baraniak A, Bojarska K, Urbanowicz P, Fielt J, Pomorska-Wesołowska M, Hryniewicz W, Gniadkowski MveŻabicka D (2016) Mobile MCR-1-associated resistance to colistin in Poland. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71, 2331-3.

Jacoby GveBush K, (2005) β -Lactam Resistance in the 21st Century Frontiers in Antimicrobial Resistance. Eds: American Society of Microbiology, p.

Janganan TK, Bavro VN, Zhang L, Borges-Walmsley MIveWalmsley AR (2013) Tripartite efflux pumps: energy is required for dissociation, but not assembly or opening of the outer membrane channel of the pump. *Molecular Microbiology*, 88, 590-602.

Janssen AB, (2020) Mechanisms and evolution of colistin resistance in clinical Enterobacteriaceae, Utrecht University.

Jayol A, Saly M, Nordmann P, Ménard A, Poirel LveDubois V (2017) *Hafnia*, an enterobacterial genus naturally resistant to colistin revealed by three susceptibility testing methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72, 2507-11.

Jørgensen SB, Søråas A, Arnesen LS, Leegaard T, Sundsfjord AveJenum PA (2017) First environmental sample containing plasmid-mediated colistin-resistant ESBL-producing *Escherichia coli* detected in Norway. *Apmis*, 125, 822-5.

Jovčić B, Novović K, Filipić B, Velhner M, Todorović D, Matović K, Rašić Z, Nikolić S, Kiškarolj FveKojić M (2020) Genomic Characteristics of Colistin-Resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar *Infantis* from Poultry Farms in the Republic of Serbia. *Antibiotics*, 9, 886.

Kassem II, Hijazi MAveSaab R (2019) On a collision course: The availability and use of colistin-containing drugs in human therapeutics and food-animal farming in Lebanon. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 16, 162-4.

Kauffmann VF, (1942) Über Weitere neue *Salmonella*-typen. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*, 19, 523-36.

Kawanishi M, Abo H, Ozawa M, Uchiyama M, Shirakawa T, Suzuki S, Shima A, Yamashita A, Sekizuka T, Kato K, Kuroda M, Koike RveKijima M (2017) Prevalence of Colistin resistance gene *mcr-1* and absence of *mcr-2* in *Escherichia coli* isolated from healthy food-producing animals in Japan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61, e02057-16.

Kempf I, Jouy EveChauvin C (2016) Colistin use and colistin resistance in bacteria from animals. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 48, 598-606.

Khalifa HO, Ahmed AM, Oreiby AF, Eid AM, Shimamoto TveShimamoto T (2016) Characterisation of the plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* in *Escherichia coli* isolated from animals in Egypt. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 47, 413-4.

Kieffer N, Aires-de-Sousa M, Nordmann PvePoirel L (2017) High Rate of MCR-1–Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* among Pigs, Portugal. *Emerging Infectious Disease journal*, 23, 2023.

Kim Y, Bae IK, Lee H, Jeong SH, Yong DveLee K (2014) In vivo emergence of colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates of sequence type 357 during colistin treatment. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 79, 362-6.

Kizil S, (2020) Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESβL), AmpC and carbapenemase activities and colistin resistance of *Salmonella* spp. isolated from food poisoning cases in Turkey. *TURKISH JOURNAL OF VETERINARY AND ANIMAL SCIENCES*, 44, 821-9.

Klein E, (1889) Über eine epidemische Krankheit der Hühner, verursacht durch einer *Bacillus-Bacillus gallinarum*. *Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, 5, 689-93.

Kluytmans–van den Bergh MF, Huizinga P, Bonten MJ, Bos M, De Bruyne K, Friedrich AW, Rossen JW, Savelkoul PHveKluytmans JA (2016) Presence of *mcr-1*-positive *Enterobacteriaceae* in retail chicken meat but not in humans in the Netherlands since 2009. *Eurosurveillance*, 21, 30149.

Kurekci C, Aydin M, Nalbantoglu OUveGundogdu A (2018) First report of *Escherichia coli* carrying the mobile colistin resistance gene *mcr-1* in Turkey. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 15, 169-70.

Kühn H, Rabsch W, Gericke B, Reissbrodt R (1993) Infektionsepidemiologische Analysen von Salmonellosen, Shigellosen und anderen Enterobacteriaceae-Infektionen. *Bundesgesundheitsblatt*, 36, 324-.

Lalaoui R, Djukovic A, Bakour S, Sanz J, Gonzalez-Barbera EM, Salavert M, López-Hontangas JL, Sanz MA, Xavier KB, Kuster B, Debrauwer L, Ubeda C, Rolain J-M (2019) Detection of plasmid-mediated colistin resistance, *mcr-1* gene, in *Escherichia coli* isolated from high-risk patients with acute leukemia in Spain. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 25, 605-9.

Laszlo V, Csórián E, Paszti J (1985) Phage types and epidemiological significance of *Salmonella enteritidis* strains in Hungary between 1976 and 1983. *Acta Microbiologica Hungarica*, 32, 321-40.

Leangapichart T, Gautret P, Brouqui P, Mimish Z, Raoult D, Rolain J-M (2016) Acquisition of *mcr-1* Plasmid-Mediated Colistin Resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during Hajj 2013 and 2014. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60, 6998-9.

Lei L, Wang Y, Schwarz S, Walsh T, Ou Y, Wu Y, Li M, Shen Z (2017) *mcr-1* in Enterobacteriaceae from Companion Animals, Beijing, China, 2012–2016. *Emerging Infectious Disease journal*, 23, 710.

Lellouche J, Schwartz D, Elmalech N, Ben Dalak MA, Temkin E, Paul M, Geffen Y, Yahav D, Eliakim-Raz N, Durante-Mangoni E, Iossa D, Bernardo M, Daikos GL, Skiada A, Pantazatou A, Antoniadou A, Mouton JW, Carmeli Y, Nutman A, Cohen-Percia S, Daitch V, Babich T, Andini R, Cuccurullo S, Cristinziano A, Cavezza G, Bertolino L, Giuffrè G, Giurazza R, Mallardo E, Zampino R (2019) Combining VITEK 2 with colistin agar dilution screening assist timely reporting of colistin susceptibility. *Clinical Microbiology and Infection*, 25, 711-6.

Li J, Nation RL, Kaye KS (2019) Polymyxin Antibiotics: From Laboratory Bench to Bedside, Springer, p.

Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, Paterson DL (2006) Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet infectious diseases*, 6, 589-601.

Li X-Z, (2016) Antimicrobial Resistance in Bacteria: An Overview of Mechanisms and Role of Drug Efflux Pumps. *Efflux-Mediated Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Regulation and Clinical Implications*. Eds: Li X-Z, Elkins CA, Zgurskaya HI. Cham Springer International Publishing, p: 131-63.

Lim S-K, Kang HY, Lee K, Moon D-C, Lee H-S, Jung S-C (2016) First Detection of the *mcr-1* Gene in *Escherichia coli* Isolated from Livestock between 2013 and 2015 in South Korea. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60, 6991-3.

Lim S-K, Lee H-S, Nam H-M, Jung S-C, Koh H-B, Roh I-S (2009) Antimicrobial Resistance and Phage Types of Salmonella Isolates from Healthy and Diarrheic Pigs in Korea. *Foodborne Pathogens and Disease*, 6, 981-7.

Lin Y-C, Kuroda M, Suzuki SveMu J-J (2019) Emergence of an *Escherichia coli* strain co-harboring *mcr-1* and *bla_{NDM-9}* from a urinary tract infection in Taiwan. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 16, 286-90.

Ling Z, Yin W, Shen Z, Wang Y, Shen JveWalsh TR (2020) Epidemiology of mobile colistin resistance genes *mcr-1* to *mcr-9*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75, 3087-95.

Litrup E, Kiil K, Hammerum AM, Roer L, Nielsen EMveTorpdahl M (2017) Plasmid-borne colistin resistance gene *mcr-3* in *Salmonella* isolates from human infections, Denmark, 2009–17. *Eurosurveillance*, 22, 30587.

Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu L-F, Gu D, Ren H, Chen X, Lv L, He D, Zhou H, Liang Z, Liu J-HveShen J (2016) Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16, 161-8.

Louis MES, Morse DL, Potter ME, DeMelfi TM, Guzewish JJ, Tauxe RV, Blake PA, Cartter ML, Petersen L, Gallagher K, Greenspan JR, Gensheimer KF, Dennis D, Schwartz E, Parkin WE, Rosenfeld H, Schultz S, Kondracki SF, Witte EJ, Vogt RL, Puhr N, Shipman LveHargrett-Bean N (1988) The Emergence of Grade A Eggs as a Major Source of *Salmonella enteritidis* Infections: New Implications for the Control of Salmonellosis. *JAMA*, 259, 2103-7.

Luo Q, Wang YveXiao Y (2020) Prevalence and transmission of mobilized colistin resistance (*mcr*) gene in bacteria common to animals and humans. *Biosafety and Health*, 2, 71-8.

Luo Q, Yu W, Zhou K, Guo L, Shen P, Lu H, Huang C, Xu H, Xu S, Xiao YveLi L (2017) Molecular epidemiology and Colistin resistant mechanism of *mcr*-positive and *mcr*-negative clinical isolated *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 8.

Maamar E, Alonso CA, Hamzaoui Z, Dakhli N, Abbassi MS, Ferjani S, Saidani M, Boutiba-Ben Boubaker IveTorres C (2018) Emergence of plasmid-mediated colistin-resistance in CMY-2-producing *Escherichia coli* of lineage ST2197 in a Tunisian poultry farm. *International Journal of Food Microbiology*, 269, 60-3.

Mandal B, (1979) Typhoid and paratyphoid fever. *Clinics in gastroenterology*, 8, 715.

Matamoros S, van Hattem JM, Arcilla MS, Willemsse N, Melles DC, Penders J, Vinh TN, Thi Hoa N, Bootsma MCJ, van Genderen PJ, Goorhuis A, Grobusch M, Molhoek N, Oude Lashof AML, Stobberingh EE, Verbrugh HA, de Jong MDveSchultsz C (2017) Global phylogenetic analysis of *Escherichia coli* and plasmids carrying the *mcr-1* gene indicates bacterial diversity but plasmid restriction. *Scientific Reports*, 7, 15364.

Meakins S, Fisher IS, Berghold C, Gerner-Smidt P, Tschäpe H, Cormican M, Luzzi I, Schneider F, Wannett WveCoia J (2008) Antimicrobial drug resistance in human nontyphoidal *Salmonella* isolates in Europe 2000–2004: a report from the Enter-net International Surveillance Network. *Microbial Drug Resistance*, 14, 31-5.

Meinersmann RJ, Ladely SR, Plumlee JR, Cook KL, Thacker E (2017) Prevalence of *mcr-1* in the Cecal Contents of Food Animals in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61, e02244-16.

Merida-Vieyra J, De Colsa-Ranero A, Arzate-Barbosa P, Arias-de la Garza E, Méndez-Tenorio A, Murcia-Garzón J, Ve-Aquino-Andrade A (2019) First clinical isolate of *Escherichia coli* harboring *mcr-1* gene in Mexico. *PLOS ONE*, 14, e0214648.

Michael G, Schwarz S (2016) Antimicrobial resistance in zoonotic nontyphoidal *Salmonella*: an alarming trend? *Clinical Microbiology and Infection*, 22, 968-74.

Moawad AA, Hotzel H, Neubauer H, Ehrlich R, Monecke S, Tomaso H, Hafez HM, Roesler U, El-Adawy H (2018) Antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* from healthy broilers in Egypt: emergence of colistin-resistant and extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Gut Pathogens*, 10, 39.

Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JDF, Vinogradov E, Seemann T, Henry R, Crane B, St. Michael F, Cox AD, Adler B, Nation RL, Li J, Boyce JD (2010) Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54, 4971-7.

Mohsin J, Pál T, Petersen JE, Darwish D, Ghazawi A, Ashraf T, Sonnevend A (2018) Plasmid-mediated Colistin resistance gene *mcr-1* in an *Escherichia coli* ST10 bloodstream isolate in the Sultanate of Oman. *Microbial Drug Resistance*, 24, 278-82.

Morales AS, Fragoso de Araújo J, de Moura Gomes VT, Reis Costa AT, Prazeres Rodrigues Dd, Porfida Ferreira TS, de Lima Filsner PHN, Felizardo MR, Ve-Micke Moreno A (2012) Colistin Resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* Strains Isolated from Swine in Brazil. *The Scientific World Journal*, 2012, 109795.

Nang SC, Morris FC, McDonald MJ, Han M-L, Wang J, Strugnell RA, Velkov T, Li J (2018) Fitness cost of *mcr-1*-mediated polymyxin resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73, 1604-10.

Ngbede EO, Poudel A, Kalalah A, Yang Y, Adekanmbi F, Adikwu AA, Adamu AM, Mamfe LM, Daniel ST, Useh NM, Kwaga JKP, Adah MI, Kelly P, Butaye P, Wang C (2020) Identification of mobile colistin resistance genes (*mcr-1.1*, *mcr-5* and *mcr-8.1*) in *Enterobacteriaceae* and *Alcaligenes faecalis* of human and animal origin, Nigeria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56, 106108.

Nordmann P, Jayol A, Poirel L (2016) Rapid detection of Polymyxin resistance in *Enterobacteriaceae*. *Emerging Infectious Disease journal*, 22, 1038.

Nordmann P, Lienhard R, Kieffer N, Clerc O, Poirel L (2016) Plasmid-mediated Colistin-resistant *Escherichia coli* in bacteremia in Switzerland. *Clinical Infectious Diseases*, 62, 1322-3.

Olaitan AO, Morand SveRolain J-M (2014) Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 5.

Olaitan AO, Thongmalayvong B, Akkhavong K, Somphavong S, Paboriboune P, Khounsy S, Morand SveRolain J-M (2015) Clonal transmission of a colistin-resistant *Escherichia coli* from a domesticated pig to a human in Laos. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70, 3402-4.

Ovejero CM, Delgado-Blas JF, Calero-Caceres W, Muniesa MveGonzalez-Zorn B (2017) Spread of *mcr-1*-carrying *Enterobacteriaceae* in sewage water from Spain. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72, 1050-3.

Özkaya E, Buruk CK, Tosun İ, Toraman B, Kaklıkkaya NveAydın F (2020) Investigation of plasmid mediated *mcr* Colistin resistance gene in clinical Enterobacterales isolates. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 54, 191-202.

Padilla E, Llobet E, Doménech-Sánchez A, Martínez-Martínez L, Bengoechea JAveAlbertí S (2010) *Klebsiella pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54, 177-83.

Paterson DLveHarris PNA (2016) Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. *The Lancet Infectious Diseases*, 16, 132-3.

Perreten V, Strauss C, Collaud AveGerber D (2016) Colistin resistance gene *mcr-1* in Avian-Pathogenic *Escherichia coli* in South Africa. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60, 4414-5.

Perrin-Guyomard A, Bruneau M, Houée P, Deleurme K, Legrandois P, Poirier C, Soumet CveSanders P (2016) Prevalence of *mcr-1* in commensal *Escherichia coli* from French livestock, 2007 to 2014. *Eurosurveillance*, 21, 30135.

Pfeiffer RveKolle W (1896) Zur Differentialdiagnose der Typhusbacillen vermittels Serums der gegen Typhus immunisirten Thiere. *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 22, 185-6.

Piddock LJ, (2002) Fluoroquinolone resistance in *Salmonella* serovars isolated from humans and food animals. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, 3-16.

Pilote J, Létourneau V, Girard MveDuchaine C (2019) Quantification of airborne dust, endotoxins, human pathogens and antibiotic and metal resistance genes in Eastern Canadian swine confinement buildings. *Aerobiologia*, 35, 283-96.

Poirel L, Jayol AveNordmann P (2017) Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clinical Microbiology Reviews*, 30, 557 - 96.

Poirel L, Stephan R, Perreten VveNordmann P (2014) The carbapenemase threat in the animal world: the wrong culprit. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 69, 2007-8.

Prim N, Rivera A, Rodríguez-Navarro J, Español M, Turbau M, Coll PveMirelis B (2016) Detection of *mcr-1* colistin resistance gene in polyclonal *Escherichia coli* isolates in Barcelona, Spain, 2012 to 2015. *Eurosurveillance*, 21, 30183.

Putker F, Bos MPveTommassen J (2015) Transport of lipopolysaccharide to the Gram-negative bacterial cell surface. *FEMS Microbiology Reviews*, 39, 985-1002.

Quesada A, Ugarte-Ruiz M, Iglesias MR, Porrero MC, Martínez R, Florez-Cuadrado D, Campos MJ, García M, Píriz SveSáez JL (2016) Detection of plasmid mediated colistin resistance (MCR-1) in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from poultry and swine in Spain. *Research in veterinary science*, 105, 134-5.

Quiroga C, Nastro MveDi Conza J (2019) Current scenario of plasmid-mediated colistin resistance in Latin America. *Revista Argentina de Microbiología*, 51, 93-100.

Rahmatallah N, El Rhaffouli H, Laraqui A, Sekhsokh Y, Lahlou-Amine I, El Houadfi MveFihri OF (2018) Detection of Colistin Encoding Resistance Genes MCR-1 in Isolates Recovered from Broiler Chickens in Morocco. *Saudi Journal of Pathology and Microbiology (SJPM)*, 3, 520-1.

Ramirez MSveTolmasky ME (2010) Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates*, 13, 151-71.

Rebelo AR, Bortolaia V, Kjeldgaard JS, Pedersen SK, Leekitcharoenphon P, Hansen IM, Guerra B, Malorny B, Borowiak MveHammerl JA (2018) Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* and *mcr-5* for surveillance purposes. *Eurosurveillance*, 23, 17-00672.

Redgrave LS, Sutton SB, Webber MAvePiddock LJV (2014) Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends in Microbiology*, 22, 438-45.

Redhwan A, Choudhury M, Al Harbi B, Kutbi A, Alfaresi M, AlJindan R, Balkhy H, Al Johani S, Ibrahim E, Deshmukh A, Ahmed M, AlJardani A, Al-Abri S, AlSalman J, Dashti A, Abdelrahman S, Shabban M, Aqel A, AlZoubi H, Sidjabat H, Walsh T, Paterson DveZowawi H (2019) A Snapshot about the Mobile Colistin Resistance (*mcr*) in The Middle East and North Africa Region. *Journal of Infection and Public Health*, 12, 149-50.

Rettger LF, (1900) Septicemia among young chickens. *NY Med. J*, 71, 803-5.

Rettger LF, (1909) Further studies on fatal septicemia in young chickens, or "white diarrhea.". *The Journal of medical research*, 21, 115.

Rhouma MveLetellier A (2017) Extended-spectrum β -lactamases, carbapenemases and the *mcr-1* gene: is there a historical link? *International Journal of Antimicrobial Agents*.

Ricci V, Zhang D, Teale CvePiddock LJV (2020) The O-Antigen Epitope Governs Susceptibility to Colistin in *Salmonella enterica*. *mBio*, 11, e02831-19.

Richez PveBurch DG (2016) Colistin in animals: a high risk for resistance selection in Europe? *Veterinary Record*, 178, 101-2.

Roer L, Hansen F, Stegger M, Sönksen UW, Hasman HveHammerum AM (2017) Novel *mcr-3* variant, encoding mobile colistin resistance, in an ST131 *Escherichia coli* isolate from bloodstream infection, Denmark, 2014. *Eurosurveillance*, 22, 30584.

Saavedra SY, Diaz L, Wiesner M, Correa A, Arévalo SA, Reyes J, Hidalgo AM, de la Cadena E, Perenguez M, Montaña LA, Ardila J, Ríos R, Ovalle MV, Díaz P, Porras P, Villegas MV, Arias CA, Beltrán MveDuarte C (2017) Genomic and Molecular Characterization of Clinical Isolates of *Enterobacteriaceae* Harboring *mcr-1* in Colombia, 2002 to 2016. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61, e00841-17.

Sabnis A, Klöckner A, Becce M, Evans LE, Furniss RCD, Mavridou DA, Stevens MMveEdwards AM (2019) Colistin kills bacteria by targeting lipopolysaccharide in the cytoplasmic membrane. *bioRxiv*, 479618.

Saeed AM, Gast RK, Potter MEveWall PG, (1999) *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in humans and animals: epidemiology, pathogenesis, and control, Ames, Iowa State University Press, p.

Sakdinun P, Sriwongsa NveWongmuk S (2018) Detection of colistin resistance and *mcr-1* gene in *Salmonella* isolated from feces of poultry in western Thailand during 2013-2016. *KKU Veterinary Journal*, 28, 1-10.

Sarı AN, Sütük S, Karatuna O, Ögünç D, Karakoc AE, Cizmeci Z, Alışkan HE, Cömert F, Bakıcı MZveAkpolat N (2017) Results of a multicenter study investigating plasmid mediated colistin resistance genes (*mcr-1* and *mcr-2*) in clinical *Enterobacteriaceae* isolates from Turkey. *Mikrobiyoloji bulteni*, 51, 299-303.

Schindler MveOsborn MJ (1979) Interaction of divalent cations and polymyxin B with lipopolysaccharide. *Biochemistry*, 18, 4425-30.

Schwarz S, Loeffler AveKadlec K (2017) Bacterial resistance to antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. *Veterinary Dermatology*, 28, 82-e19.

Sekyere JoveAsante J (2018) Emerging mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria and fungi: advances in the era of genomics. *Future Microbiology*, 13, 241-62.

Shen Y, Zhang R, Schwarz S, Wu C, Shen J, Walsh TRveWang Y (2020) Farm animals and aquaculture: significant reservoirs of mobile colistin resistance genes. *Environmental Microbiology*, 22, 2469-84.

Singh S, Pathak A, Kumar A, Rahman M, Singh A, Gonzalez-Zorn BvePrasad KN (2018) Emergence of Chromosome-Borne Colistin Resistance Gene *mcr-1* in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* from India. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62, e01885-17.

Sirekbasan SveSuzuk Yıldız S (2020) Bibliometric analysis of literature on colistin resistance: 1947-2019. *Journal of Turkish Society of Microbiology*, 50, 225-33.

Skov RLveMonnet DL (2016) Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. *Eurosurveillance*, 21.

Solheim M, Bohlin J, Ulstad CR, Schau Slettemeås J, Naseer U, Dahle URveWester AL (2016) Plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* detected from 2014 in Norway. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 48, 227-8.

Sonnevend Á, Ghazawi A, Alqahtani M, Shibl A, Jamal W, Hashmey RvePal T (2016) Plasmid-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* from the Arabian Peninsula. *International Journal of Infectious Diseases*, 50, 85-90.

Srinivasan VB, Singh BB, Priyadarshi N, Chauhan NKveRajamohan G (2014) Role of Novel Multidrug Efflux Pump Involved in Drug Resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *PLOS ONE*, 9, e96288.

Stansly PveSchlosser M (1947) Studies on polymyxin: isolation and identification of *Bacillus polymyxa* and differentiation of polymyxin from certain known antibiotics. *Journal of bacteriology*, 54, 549.

Sulaiman AAAveKassem II (2019) First report on the detection of the plasmid-borne colistin resistance gene *mcr-1* in multi-drug resistant *E. coli* isolated from domestic and sewer waters in Syrian refugee camps in Lebanon. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 30, 117-20.

Sun J, Zhang H, Liu Y-HveFeng Y (2018) Towards Understanding MCR-like Colistin Resistance. *Trends in Microbiology*, 26, 794-808.

TEPAV, (2017). Türkiye'de Antimikrobiyal Direnç Ekonomik Değerlendirme ve Öneriler.

Tong H, Liu J, Yao X, Jia H, Wei J, Shao D, Liu K, Qiu Y, Ma ZveLi B (2018) High carriage rate of *mcr-1* and antimicrobial resistance profiles of *mcr-1*-positive *Escherichia coli* isolates in swine faecal samples collected from eighteen provinces in China. *Veterinary Microbiology*, 225, 53-7.

Torpdahl M, Hasman H, Litrup E, Skov RL, Nielsen EMveHammerum AM (2017) Detection of *mcr-1*-encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Salmonella* isolates from human infection in Denmark. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49, 261-2.

Trung NV, Matamoros S, Carrique-Mas JJ, Nghia NH, Nhung NT, Chieu TTB, Mai HH, van Rooijen W, Campbell J, Wagenaar JA, Hardon A, Mai NTN, Hieu TQ, Thwaites G, de Jong MD, Schultsz CveHoa NT (2017) Zoonotic Transmission of *mcr-1* Colistin Resistance Gene from Small-Scale Poultry Farms, Vietnam. *Emerging infectious diseases*, 23, 529-32.

TÜBA, (2017). İnsan ve Hayvan Sağlığında Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Antibiyotik Dirençlilik Raporu. Şahin K. 21.

van Duijkeren E, Schink A-K, Roberts MC, Wang YveSchwarz S, (2018) Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals. Eds: American Society of Microbiology, p.

Vaz-Moreira I, Nunes OCveManaia CM (2011) Diversity and antibiotic resistance patterns of Sphingomonadaceae isolates from drinking water. *Applied and environmental microbiology*, 77, 5697-706.

Velasco J, Romero C, López-Goñi I, Leiva J, Díaz RveMoriyón I (1998) Evaluation of the relatedness of *Brucella* spp. and *Ochrobactrum anthropi* and description of *Ochrobactrum intermedium* sp. nov., a new species with a closer relationship to *Brucella* spp. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48, 759-68.

Veldman K, van Essen-Zandbergen A, Rapallini M, Wit B, Heymans R, van Pelt WveMevius D (2016) Location of colistin resistance gene *mcr-1* in *Enterobacteriaceae* from livestock and meat. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71, 2340-2.

Velkov T, Roberts KD, Nation RL, Thompson PEveLi J (2013) Pharmacology of polymyxins: new insights into an 'old' class of antibiotics. *Future microbiology*, 8, 711-24.

Velkov T, Thompson PE, Nation RLveLi J (2010) Structure–Activity Relationships of Polymyxin Antibiotics. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53, 1898-916.

Vinueza-Burgos C, Ortega-Paredes D, Narváez C, De Zutter LveZurita J (2019) Characterization of cefotaxime resistant *Escherichia coli* isolated from broiler farms in Ecuador. *PLOS ONE*, 14, e0207567.

von Wintersdorff CJH, Wolffs PFG, van Niekerk JM, Beuken E, van Alphen LB, Stobberingh EE, Oude Lashof AML, Hoebe CJPA, Savelkoul PHMvePenders J (2016) Detection of the plasmid-mediated colistin-resistance gene *mcr-1* in faecal metagenomes of Dutch travellers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71, 3416-9.

Walsh TRveWu Y (2016) China bans colistin as a feed additive for animals. *The Lancet Infectious Diseases*, 16, 1102-3.

Wang C, Feng Y, Liu L, Wei L, Kang MveZong Z (2020) Identification of novel mobile colistin resistance gene *mcr-10*. *Emerging Microbes & Infections*, 9, 508-16.

Wang R, Lucy van D, Shaw LP, Bradley P, Wang Q, Wang X, Jin L, Zhang Q, Liu Y, Rieux A, Dorai-Schneiders T, Weinert LA, Iqbal Z, Didelot X, Wang HveBalloux F (2018) The global distribution and spread of the mobilized colistin resistance gene *mcr-1*. *Nature Communications*, 9, 1-9.

Wang X, Wang Y, Zhou Y, Li J, Yin W, Wang S, Zhang S, Shen J, Shen ZveWang Y (2018) Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, *mcr-8*, in NDM-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Emerging Microbes & Infections*, 7, 1-9.

Wang Y, Tian G-B, Zhang R, Shen Y, Tyrrell JM, Huang X, Zhou H, Lei L, Li H-Y, Doi Y, Fang Y, Ren H, Zhong L-L, Shen Z, Zeng K-J, Wang S, Liu J-H, Wu C, Walsh TRveShen J (2017) Prevalence, risk factors, outcomes, and molecular epidemiology of *mcr-1*-positive Enterobacteriaceae in patients and healthy adults from China: an epidemiological and clinical study. *The Lancet Infectious Diseases*, 17, 390-9.

Wang Z, Fu Y, Schwarz S, Yin W, Walsh TR, Zhou Y, He J, Jiang H, Wang YveWang S (2019) Genetic environment of colistin resistance genes *mcr-1* and *mcr-3* in *Escherichia coli* from one pig farm in China. *Veterinary Microbiology*, 230, 56-61.

White PB, (1926) Further Studies of the Salmonella Group. *Further Studies of the Salmonella Group*.

WHO, (2014). Antimicrobial resistance: global report on surveillance, World Health Organization.

WHO, (2018). Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS): the detection and reporting of colistin resistance, World Health Organization.

WHO, (2019). WHO list of critically important antimicrobials for human medicine (WHO CIA list), World Health Organization.

Widal F, (1896) On the sero-diagnosis of typhoid fever. *The Lancet*, 148, 1371-2.

Wise MG, Estabrook MA, Sahm DF, Stone GGveKazmierczak KM (2018) Prevalence of *mcr*-type genes among colistin-resistant *Enterobacteriaceae* collected in 2014-2016 as part of the INFORM global surveillance program. *PLOS ONE*, 13, e0195281.

Xavier B, Lammens C, Ruhai R, Kumar-Singh S, Butaye P, Goossens HveMalhotra-Kumar S (2016) Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. *Euro Surveill*.

Xiaomin S, Yiming L, Yuying Y, Zhangqi S, Yongning WveShaolin W (2020) Global impact of *mcr-1*-positive *Enterobacteriaceae* bacteria on "one health". *Critical Reviews in Microbiology*, 46, 565-77.

Yamaguchi T, Kawahara R, Harada K, Teruya S, Nakayama T, Motooka D, Nakamura S, Nguyen PD, Kumeda Y, Van Dang C, Hirata KveYamamoto Y (2018) The presence of colistin resistance gene

mcr-1 and *-3* in ESBL producing *Escherichia coli* isolated from food in Ho Chi Minh City, Vietnam. *FEMS Microbiology Letters*, 365.

Yanat B, Machuca J, Yahia RD, Touati A, Pascual ÁveRodríguez-Martínez J-M (2016) First report of the plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* in a clinical *Escherichia coli* isolate in Algeria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 48, 760-1.

Yang QE, MacLean C, Papkou A, Pritchard M, Powell L, Thomas D, Andrey DO, Li M, Spiller B, Yang WveWalsh TR (2020) Compensatory mutations modulate the competitiveness and dynamics of plasmid-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* clones. *The ISME Journal*, 14, 861-5.

Yang Y-Q, Li Y-X, Lei C-W, Zhang A-YveWang H-N (2018) Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-7.1* in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73, 1791-5.

Yang Y-Q, Li Y-X, Song T, Yang Y-X, Jiang W, Zhang A-Y, Guo X-Y, Liu B-H, Wang Y-X, Lei C-W, Xiang RveWang H-N (2017) Colistin Resistance Gene *mcr-1* and Its Variant in *Escherichia coli* Isolates from Chickens in China. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61, e01204-16.

Yin W, Li H, Shen Y, Liu Z, Wang S, Shen Z, Zhang R, Walsh TR, Shen JveWang Y (2017) Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-3* in *Escherichia coli*. *MBio*, 8, e00543-17.

Yoon E-J, Hong JS, Yang JW, Lee KJ, Lee HveJeong SH (2018) Detection of *mcr-1* Plasmids in *Enterobacteriaceae* Isolates From Human Specimens: Comparison With Those in *Escherichia coli* Isolates From Livestock in Korea. *Ann Lab Med*, 38, 555-62.

Yu CY, Ang GY, Chin PS, Ngeow YF, Yin W-FveChan K-G (2016) Emergence of *mcr-1*-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* in Malaysia. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 47, 504-5.

Zhang XF, Doi Y, Huang X, Li HY, Zhong LL, Zeng KJ, Zhang YF, Patil SveTian GB (2016) Possible Transmission of *mcr-1*-Harboring *Escherichia coli* between Companion Animals and Human. *Emerg Infect Dis*, 22, 1679-81.

Zielicka-Hardy A, Zarowna D, Szych J, Madajczak GveSadkowska-Todys M (2012) Ensuring safety of home-produced eggs to control salmonellosis in Poland: lessons from an outbreak in September 2011. *Eurosurveillance*, 17, 20319.

Zurfuh K, Poirel L, Nordmann P, Nüesch-Inderbinen M, Hächler HveStephan R (2016) Occurrence of the Plasmid-Borne *mcr-1* Colistin Resistance Gene in Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in River Water and Imported Vegetable Samples in Switzerland. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60, 2594-5.

EK-1. İNTİHAL RAPORU

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

İNTİHAL RAPORU

Doktora Tezi olarak Prof. Dr. Nilgün ÜNAL danışmanlığında sunulan “TÜRKİYE KANATLI ÜRETİM ÇİFTLİKLERİNDEN ALINAN ÇEVRESEL ORTAM ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLMİŞ SALMONELLA SUŞLARINDA KOLİSTİN DİRENCİNİN SAPTANMASI” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Orijinallik Raporu	Tezin Benzerlik İndeksi (%)
Toplam Benzerlik İndeksi	% 10
İnternet Kaynakları	% 8
Yayımlar	% 5
Öğrenci Ödevleri	% 4

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. // 20....

Bilimsel İlgi alanları

Makaleler

R. GULESEN, B. LEVENT, M. UVEY, H. BAYRAK, M. AKGEYİK

Serotype Distribution and Antimicrobial Susceptibilities of Salmonella Strains Recovered From Environmental Samples Between 2008-2014, MIKROBIYOLOJİ BULTENİ, 2016, 0374-9096, 50, 3, 371-381. <https://doi.org/10.5578/mb.27605>

ÜVEY MEHMET, ÜNAL NİLGÜN İnfeksiyonların Tanısında En Çok Kullanılan İzotermal Amplifikasyon Yöntemleri. Kocatepe Veteriner Dergisi, 2018(Ulusal), 11, 86-95. (Yayın No: 4383696) <https://doi.org/10.5578/kvj.66308>

Bildiriler

R. GULESEN, B. LEVENT, M. UVEY, H. BAYRAK, M. AKGEYİK

2008-2014 Yılları Arasında Çevresel Örneklerden İzole Edilen Salmonella serotiplerinin Dağılımı Ve Antimikrobiallere Direnç Durumları, Poster Sunumu, 3. ULUSAL KLİNİK MIKROBIYOLOJİ KONGRESİ, 18 Kasım 2015, 231

M. ÜVEY, Türkiye'deki Tavukçuluk İşletmelerinde Laboratuvarın Etkin Kullanımı, Sözlü Sunum, 1. ULUSLARARASI KATILIMLI VETERİNER HEKİMLİĞİ KONGRESİ, 03 Haziran 2010, 126 - 127.

İş Deneyimi

01 Ocak 2003 - Şu Anda (18 yıl) ÜST KADEME YÖNETİCİ, (Aviagen Anadolu AŞ)

01 Ocak 1996 - 01 Ocak 2003 (7 yıl) ORTA KADEME YÖNETİCİ, (Köy-Tür Holding AŞ)

01 Ocak 1994 - 01 Ocak 1996 (2 yıl) TEKNİK PERSONEL, (Ross Breeders Köy-Tür AŞ)

01 Ocak 1991 - 01 Ocak 1994 (3 yıl) TEKNİK PERSONEL, (Köy-Tür Holding AŞ)

İlgi Alanları ve Hobiler

Yabancı Diller ve Kültürler, Flüt, Latin Dansları, Ekstrem Sporlar

Doğa gezileri ve Uluslararası Seyahat, Yoga, Dünya Edebiyatı