



Trakya bölgesinde hastalardan izole edilen *Brucella* kökenlerinin *in vitro* antibiyotik duyarlılığı

© Melek Tikveşli¹, © Pelin Yüksel Mayda², © Figen Kuloğlu³

¹Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

²Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi, Dış Hekimliği Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Kocaeli, Türkiye

³Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

Öz

Trakya bölgesinde hastalardan izole edilen *Brucella* kökenlerinin *in vitro* antibiyotik duyarlılığı

Amaç: Bu çalışmada, *Brucella* kökenlerinde tür tayini yapılması ve *in vitro* olarak doksisisiklin, rifampisin, streptomisin, seftriakson, siprofloksasin ve ofloksasinine karşı antimikrobiyal duyarlılık oranlarının belirlenmesini amaçladık.

Yöntem: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında, yatan hastalardan alınan klinik örneklerde (bir adet BOS ve 41 adet kan kültürü örneğinde) 42 *Brucella* suşu izole edildi. Konvansiyonel yöntemler ile 42 *Brucella* suşunun, 41'i *Brucella melitensis*, bir tanesi ise *Brucella abortus* olarak tanımlandı. Agar dilüsyon yöntemi ile farklı iki pH'da (pH: 5, pH: 7) 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri sonunda antibiyotiklerin etkinliği karşılaştırıldı. Minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri, intraselüler patojenlerin antibiyotik duyarlılık testi için hazırlanmış 'Eucast Discussion Document E.Dis 6.1'de önerildiği şekilde değerlendirildi.

Bulgular: pH: 7'de 48 ve 72 saatlik inkübasyonlar sonrası elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, sadece ofloksasinin MİK50 ve MİK90 değerlerinin iki katına yükseldiği görüldü. pH: 5'te 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda rifampisin etkinliği artarken, doksisisiklin etkinliğinin değişmediği gözlenirken, Streptomisin, seftriakson, siprofloksasin ve ofloksasinin ise etkinliklerinin azaldığı gözlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada pH: 7'de 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda MİK90 değerlerine göre antibakteriyel ilaçlar *Brucella* kökenleri üzerine etkili olarak saptandı. Doksisisiklin, pH: 5 ve pH: 7'de, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri sonunda MİK90 değerlerine göre en etkili antibakteriyel ilaç olarak saptandı. *Brucella* cinsinde yer alan bakteriler fakültatif hücre içi mikroorganizmalardır ve hücre içi benzeri pH: 5 olan ortamda streptomisin, seftriakson, siprofloksasin ve ofloksasinin etkinlikleri azalmaktadır. Bruselloz tedavisinde bu durum göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Brucella*, Antibiyotik Duyarlılığı, Kan Kültürü, Beyin Omurilik Sıvısı

Abstract

In vitro antibiotic susceptibility of *Brucella* strains isolated from patients in the Trakya region

Objective: In this study, we aimed to determine the species of *Brucella* strains and to investigate *in vitro* antimicrobials against doxycycline, rifampicin, streptomycin, ceftriaxone, ciprofloxacin and ofloxacin.

Method: 42 *Brucella* species were isolated from clinical specimens (41 from blood culture and one from cerebrospinal fluid) of patients at the Trakya University Hospital. Of the 42 *Brucella* isolates tested, 41 were identified as *Brucella melitensis* and one as *Brucella abortus* with the use of the conventional methods. The efficacy of antibiotics was compared with the agar dilution method at two different pH values (pH: 5 and pH: 7) at the end of 48 and 72 hours of incubation period. Minimum inhibitory concentration (MIC) values were evaluated as suggested in the 'Eucast Discussion Document E.Dis 6.1' prepared for antibiotic susceptibility testing of intracellular pathogens.

Results: At the end of the incubation period of 48 and 72 hours at pH: 7 were compared, it was seen that only ofloxacin's MIC50 and MIC90 values increased twice. While the efficacy of rifampicin increased at pH: 5 after an incubation period of 72 hours, the efficacy of doxycycline did not change and the efficacy of streptomycin,

Conclusion: In our study, doxycycline was found to be the most effective antibacterial drug at pH: 5 and pH: 7, according to MIC90 values after an incubation period of 48 and 72 hours. *Brucellae* are facultative intracellular microorganisms and when we simulated intracellular pH: 5, we determined that the efficacy of streptomycin, ceftriaxone, ciprofloxacin and ofloxacin decreased. This condition should be considered in the treatment of brucellosis.

Keywords: *Brucella*, Antibiotic Susceptibility, Blood Culture, Cerebrospinal Fluid

Nasıl Atır Yapmalı: Tikveşli M, Mayda Yüksel P, Kuloğlu F. Trakya bölgesinde hastalardan izole edilen *Brucella* kökenlerinin *in vitro* antibiyotik duyarlılığı. MKÜ Tıp Dergisi. 2022;13(47):385-390. <https://doi.org/10.17944/mkutfd.1077364>

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Melek Tikveşli

Email: melektikvesli75@yahoo.com

ORCID ID: 0000-0001-5069-9479

Geliş/Received: 22 Şubat 2022

Kabul/Accepted: 26 Mayıs 2022

GİRİŞ

Bruselloz, tüm dünyada görülen, bazı gelişmekte olan ülkelerde endemik olan zoonotik bir hastalıktır. *Brucella* cinsi bakteriler, çoğunlukla enfekte hayvanlarla direkt temas ya da enfekte hayvanın kontamine süt ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle insana bulaşmaktadır (1,2). Enfeksiyonun insanlara bulaşmasında özellikle düşük yapmış hayvanlarla temas veya kesim sırasında hayvan salgılarının deriden bulaşması veya konjonktivaya sekresyonların sıçraması ya da ellerle bulaştırılması da önemlidir. Ayrıca pastörize edilmemiş süt ürünlerinin tüketilmesiyle de sık olarak bulaşmaktadır (3).

Hücre içi gram negatif bir bakteri olan *Brucella* spp.'nin etkeni olduğu brusellozun gerçek insidansı, istenen düzeyde bildirim yapılmaması, bazı olguların belirti göstermeden seyretmesi nedeniyle tam olarak belirlenememektedir. Bruselloz Akdeniz ülkelerinde sık olarak bildirilmektedir (4). Ülkemizde de endemik olarak görülmektedir (5). Türkiye Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Zoonotik ve Vektörel Hastalıklar Dairesi Başkanlığı verilerine göre 2010 yılında 7703 olgu bildirilmişken, 2020 yılında bu sayı artarak 8782 olguya ulaşmıştır (6). Edirne İl Sağlık Müdürlüğü Halk Sağlığı Hizmetleri Başkanlığı verilerine göre Edirne'de yıllık vaka sayısı 2015 yılında 101 olarak bildirilmişken, 2020 yılında bu sayı azalarak 27 ye gerilemiştir (7). İnsanlarda enfeksiyon meydana getiren *Brucella* türleri *Brucella abortus* (*B. abortus*), *Brucella melitensis* (*B. melitensis*), *Brucella canis* (*B. canis*) ve *Brucella suis* (*B. suis*)'tir. *B. melitensis* insan brusellozunun en önemli etkenidir (4). Birçok çalışmada bruselloz oranları, hayvancılıkla uğraşanlarda daha yüksek bildirilmiştir (8). *Brucella* kültürlerinden laboratuvar çalışanlarına bulaşma riski de yüksektir (3). *Brucella* cinsi bakteriler konakçı makrofajlarını enfekte eden hücre içi patojenlerdir ve pH'ın 5.0 kadar düşük olabildiği makrofajların fagolizozom organalleri gibi asidik ortamda hayatta kalabilme yeteneği gösterir (9,10). Brusellozun tedavi edilebilmesi için hücre içine penetre olabilen antibiyotikler gerekmektedir (10,11). Diğer yandan, hücre içine yüksek yoğunlukla girebilen antibiyotiklerin çoğu, asidik ortamda etkilerini kaybeder. Sonuçta bu durum bruselloz tedavisini olumsuz yönde etkileyebilir (12). Bu çalışmadaki amaç klinik örneklerden izole edilen 42 *Brucella* kökenine karşı siprofloksasin, ofloksasin, doksisisiklin, seftriakson, streptomisin ve rifampisin'in etkinliğini pH: 5 ve pH: 7'de agar dilüsyon yöntemi ile araştırmaktır.

YÖNTEM

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda hastalardan alınan 48 kan kültürü örneği, konvansiyonel metodlarla izole edilerek *Brucella* olarak adlandırıldı. Suşlar skim milk besiyerinde -70 °C'de muhafaza edildi. Derin dondurucudan çıkarılan suşlar

çalışılacağı zaman çikolata agara pasajlandı. Ekilen örnekler 37 °C'de, %5 CO₂'li ortamda 48 saat inkübe edildi. Çikolata agarda şeffaf, kabarık, dışbükey, yüzeyi parlak kolonilerin *Brucella* cinsinden olabileceği düşünüldü. Kırk sekiz saat sonunda koloniler incelemeye alındı. Gram boyama ile gram negatif kokobasiller saptandı; bakterilere katalaz ve oksidaz testleri yapıldı. Tipik koloni morfolojisine sahip, kokobasil görünümünde gram olumsuz boyanan, oksidaz ve katalaz olumlu olan bakteriler *Brucella* türleri olarak değerlendirildi (13). Tanımlanan bakterilerin, tür belirleme işlemleri için biyokimyasal testler yapıldı; *Brucella* agarda H₂S oluşumu (14), üre agarda üreme (15) değerlendirildi. Tüm suşlarda H₂S oluşumu, üre agarda üreme gözlemlendi. Kuloğlu ve ark. (16) tarafından Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Merkezi'nde bu suşların tür ve biyovarları incelenmiştir. CO₂ ihtiyacı, H₂S yapımı, tiyoinin, bazik fuksine duyarlılık, Tbilisi fajı ile lizis ve monospesifik A ve M antiserumları ile aglütinasyon sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Sonuç olarak izolatların 47 sinin *B. melitensis* birinin *B. abortus* olduğu saptanmıştır. Kırk iki (%89,4) *B. melitensis* izolatının biyovar 3, beşi (%10.6) ise biyovar 1, tanımlanan tek *B. abortus* suşunun ise atipik bir izolat olduğu belirlenmiştir. Sunulan çalışmada bu suşlardan bir adet BOS ve 41 kan kültürü örneğinden olmak üzere 42 suş (41 *B. melitensis*, bir tane *B. abortus*) alınmıştır.

Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (ESCMID) Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonunu sağlamak adına bir komite oluşturmuştur (EUCAST), bu komite tarafından hücre içi patojenlerinin antibiyotik duyarlılığının test edilmesi için kullanılması uygun yöntemleri kapsayan 'Eucast Discussion Document E. Dis 6.1' adlı bir rehber hazırlanmıştır. Kılavuzda *Brucella* cinsi üyelerinin antibiyotik duyarlılığının çalışılması için iki farklı broth dilüsyon ve agar dilüsyon yöntemleri önerilmiştir (17). Bu kılavuzdaki Garcia-Rodriguez ve arkadaşlarının çalışması *Brucella* cinsi bakterilerin MİK'lerinin saptanması için *Haemophilus influenzae* duyarlılık testlerinde kullanılan agar dilüsyon metodunu önermektedir (11).

Antimikrobiyal Madde Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

Aşağıda bulunan formüle göre antimikrobiyal maddeler hazırlanmıştır (18).

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

Antibiyotik potensi

$$\text{Hacim} = \frac{\text{Ağırlık (mg)} \times \text{Antibiyotik potensi}}{\text{Konsantrasyon}}$$

Konsantrasyon

Yukarıda bulunan formüle göre gereken ölçümler yapılarak ofloksasin, doksisisiklin siprofloksasin ve seftriakson için 80 µg/ml, rifampin ve streptomisin 160 µg/ml olarak antibiyotik stok çözeltileri hazırlandı. Uygun çözücülerde eritilen antibiyotikler, ardından sulandırıcı ile gereken hacme tamamlandı. Her antimikrobiyal madde için stok çözelti hazırlamada kullanılan seyreltme ve eritici sıvıları Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1: Antimikrobiyal maddeler için eritici ve seyreltme sıvıları (17)

Antimikrobiyal	Çözücü madde	Sulandırıcı madde
Siprofloksasin	Steril distile su	Steril distile su
Ofloksasin	½ hacim suya, 0.1 mol/L NaOH eriyene kadar damlatılır	Steril distile su
Doksisisiklin	Steril distile su	Steril distile su
Streptomisin	Steril distile su	Steril distile su
Seftriakson	Steril distile su	Steril distile su
Rifampin	Metanol	Steril distile su

Ekim ve Değerlendirme

Deneyde %1 Polivitex ve %5 defibrine koyun kanı ilaveli Mueller Hinton Agar (MHA)’a ekim yapıldı. Besiyerlerinin pH’ları yaklaşık 7.2 olarak ayarlandı. Bu balonlardan birinin pH’ını 1 N HCL damlatarak 5’e düşürüldü (11). pH ölçen strip (Phenon, Macherey-Nagel, Germany) kullanarak, besiyerinin pH’ı kontrol edildi. Her iki balondaki besiyerindeki sıcaklık 50°C’ye kadar düşürüldüğünde Polivitex ve koyun kanı ilave edildi. Besiyerleri katılaştıktan sonra yine pH’ları ölçüldü.

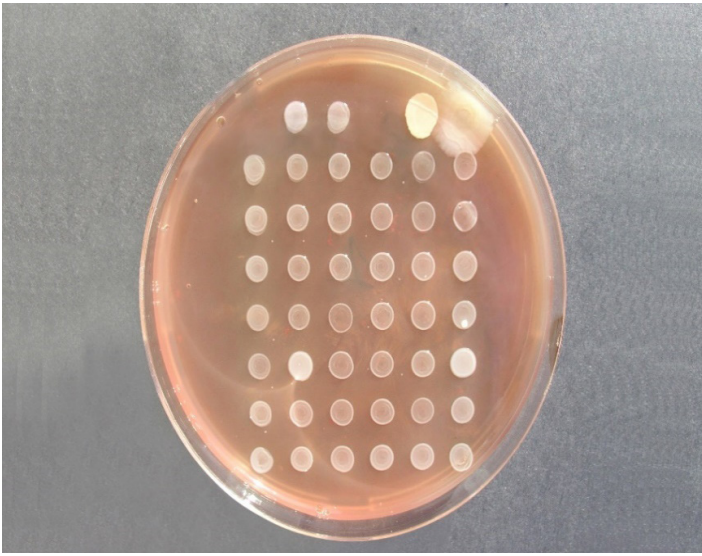
inokulum hazırlama süresinde çikolata agarda yapılan 48 saatlik kültürden 4-5 koloni alınıp Mueller Hinton Broth (MHB)’a ekildi. MHB besiyerindeki tüp bulanıklılığı 10⁸ cfu/ml’ye eşdeğer bulanıklığa sahip Mac Farland 0.5 standardına göre ayarlandı. Kırk sekiz uçlu inokülatör kullanılarak mikroyetenden alınan bakteriler önce kontrol, sonra en düşük konsantrasyonlu MHA plağından başlanarak sıra ile agar yüzeyine inoküle edildi (11). %5 koyun kanı, %1 Polivitex ilaveli MHA 37 °C’de, %5 CO₂’li ortamda 48 ve 72 saat inkübe edildi. MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri agar dilüsyon yöntemi ile saptandı.

BULGULAR

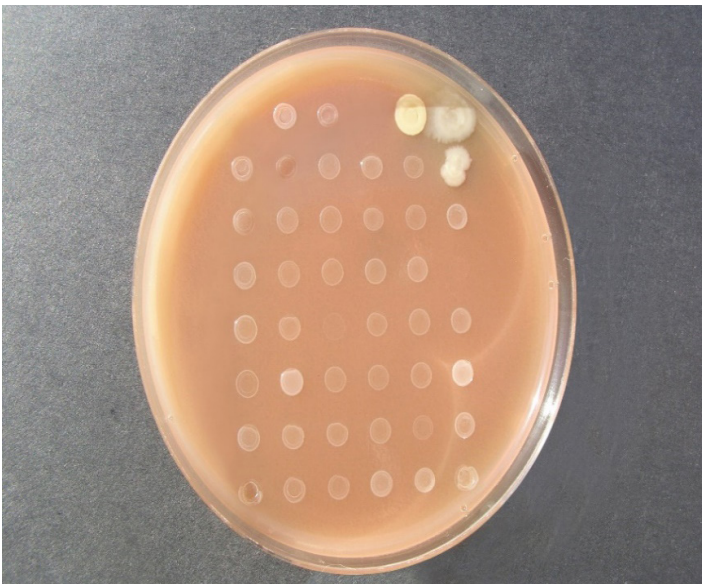
Çalışmaya alınan suşlara karşı doksisisiklin, rifampin, ofloksasin, siprofloksasin, streptomisin, seftriaksonun, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri araştırıldı (Tablo 2). Çalışma sonucunda antibiyotiklerin *Brucella* cinsi bakterilere karşı etkinliğini belirlemenin yanı sıra, farklı pH’ların bakterinin üremesini nasıl etkilediği de gözlemlendi. Çalışmadaki, 42 *Brucella* kökeni üzerinde agar dilüsyon yöntemi ile altı antibiyotik (doksisisiklin, rifampisin, streptomisin, seftriakson, siprofloksasin ve ofloksasin) etkinliği araştırıldı. Bakteri inokulum yoğunluğu 10⁴ cfu/ml olacak şekilde, farklı iki pH’da (pH: 5, pH: 7) 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonunda antibiyotiklerin etkinliği karşılaştırıldı. Doksisisiklin, rifampisin, streptomisin, seftriakson, siprofloksasin ve ofloksasin pH: 7’de *Brucella* kökenleri üzerine etkili bulundu. Rifampisin etkinliği pH: 5’te artarken, doksisisiklinin etkinliği değişmedi, streptomisin, seftriakson, siprofloksasin ve ofloksasinin etkinlikleri azaldığı saptandı. Kırk sekiz ve 72 saatlik inkübasyonlar karşılaştırıldığında sadece ofloksasinin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerinde iki kat artış olduğu saptandı.

Tablo 2: 42 *Brucella* kökeninin pH:7 ve pH:5’ de saptanan MİK değerleri.

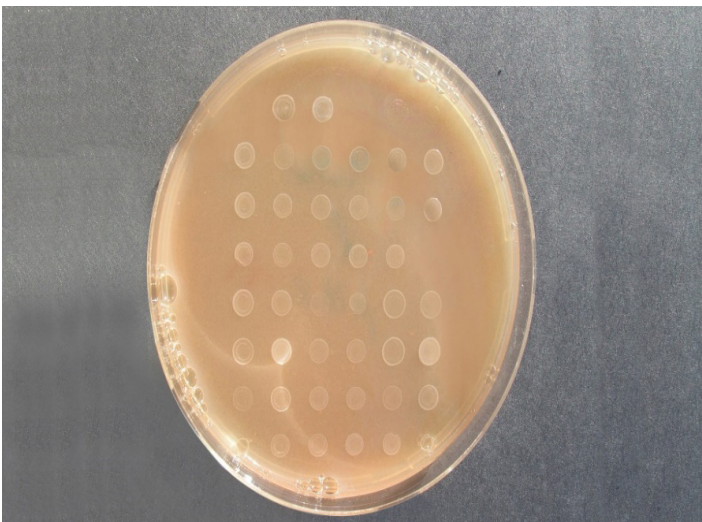
Süre Antimikrobiyaller		pH:7			pH:5		
		Aralık	MİK ₅₀	MİK ₉₀	Aralık	MİK ₅₀	MİK ₉₀
48 Saat	Doksisisiklin	0.06-0.5	0.125	0.125	0.03-0.25	0.06	0.125
	Rifampin	0.5-2	2	2	0.015-0.5	0.5	0.5
	Ofloksasin	0.5-1	0.5	0.5	2-4	4	4
	Siprofloksasin	0.25-0.5	0.5	0.5	4	4	4
	Streptomisin	0.5-2	1	2	4-8	8	8
	Seftriakson	0.25-1	0.5	0.5	0.5-2	1	2
72 saat	Doksisisiklin	0.06-0.25	0.125	0.125	0.03-0.5	0.125	0.125
	Rifampin	0.5-2	2	2	0.015-0.5	0.5	0.5
	Ofloksasin	0.5-1	1	1	2-4	8	8
	Siprofloksasin	0.25-0.5	0.5	0.5	4	4	4
	Streptomisin	0.5-2	1	2	4-8	8	16
	Seftriakson	0.25-1	0.5	0.5	0.5-2	2	2



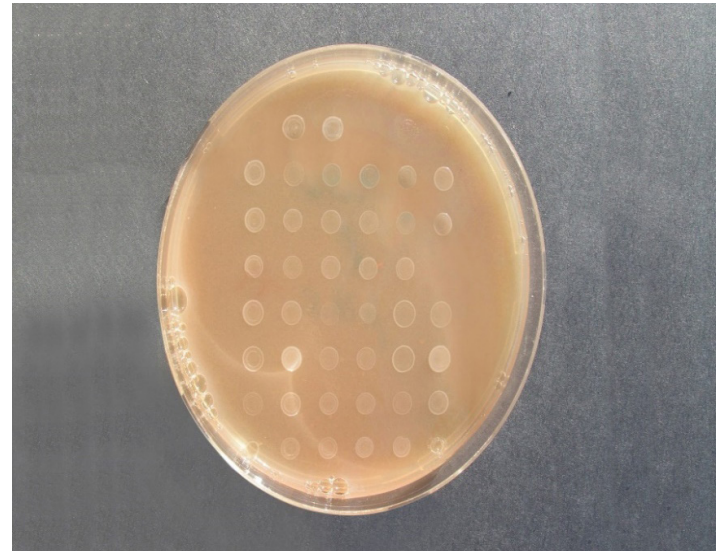
Şekil 1. Antibiyotiksiz kontrol petrisi, pH:7.



Şekil 2. Antibiyotiksiz kontrol petrisi, pH:5.



Şekil 3. 0.5 µg/ml ofloksasin içeren pH:7 olan petride bakteri kolonilerinin görünümü.



Şekil 4. 4 µg/ml ofloksasin içeren pH:5 olan petride bakteri kolonilerinin görünümü.

Antibiyotiksiz kontrol petrilerinden pH: 7 (Şekil 1) olan petride 72 saat sonunda bakteri üremesi belirgin iken, pH: 5 olan petride (Şekil 2) üremenin pH: 7'ye göre daha zayıf olduğu saptandı. Antibiyotikli petrilerden 0.5 µg/ml ofloksasin içeren pH: 7 olan petride bakteri kolonilerinin görünümü (Şekil 3) belirgin iken, 4 µg/ml ofloksasin içeren ve pH: 5 olan petride bakteri kolonilerinin görüntüsü (Şekil 4), 0.5 µg/ml ofloksasin içeren pH: 7 olan petrideki bakteri kolonilerinin görünümüne göre daha zayıf olduğu saptandı.

TARTIŞMA

Otomatize kan kültürü sistemlerinin, özellikle BACTEC 9000 cihazlarının, bir haftalık kan kültürü protokollerinde %95'in üzerinde pozitiflik saptanabildiği bildirilmiştir (19). Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda BACTEC 9120, 9240 cihazları kullanılmaktadır. Kan kültüründe, *Brucella* kökenleri açısından pozitif olarak değerlendirilen, canlılığını sürdürebilmiş 48 kökenin 47'si *B. melitensis*, biri *B. abortus* olarak tanımlandı. Bu suşların kırk ikisi (%89,4) *B. melitensis* izolatının biyovar 3, beşinin (%10,6) ise biyovar 1, tanımlanan tek *B. abortus* suşunun ise atipik bir izolat olduğu belirlenmiştir. (16)

Garcia-Rodriguez ve ark. (11) tarafından, 1991 yılında 43 *Brusella* kökeni üzerinde altı antibiyotiğin (ofloksasin, temofloksasin, lemofloksasin, flerofloksasin, sparfloksasin, siprofloksasin) etkinliğini agar dilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Üç farklı inokulum (10^3 , 10^4 , 10^6) ve iki farklı pH'da (pH: 5, pH: 7) karşılaştırılmıştır. İnokulum yoğunluğundaki artışların pH: 7 ve pH: 5'te antibiyotiklerin aktivitesi üzerine belirgin bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Sparfloksasin ve temofloksasin'in pH: 7'de *B. melitensis*'e karşı en etkili antibiyotikler olduğu saptanmıştır. Denenen bütün antibiyotiklerin MİK'leri pH: 5'te pH: 7'den 2-4 kat daha yüksek bulunmuştur. Sparfloksasin pH: 5'te en

etkili olarak bulunmuştur. *B. abortus*'a karşı test edilen flerofloksasin daha etkilidir ama pH'daki değişikliklerin çok da belirgin bir etkisi saptanmamıştır. Bu çalışmada kullanılan antibiyotiklerin *Brucella* cinsi bakterilere karşı, özellikle pH: 5'te hücre içi konsantrasyonlarının bakterisidal aktivitelerinin yeterli düzeyde olmadığı belirtilmiştir. Bu yüzden birinci seçenek ilaçlar arasında düşünülmemeleri gerektiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada, bakteri inokulum yoğunluğu 10^4 cfu/ml olacak şekilde, farklı iki pH'da (pH: 5, pH: 7) 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonunda antibiyotiklerin etkinliği karşılaştırıldığında doksisisiklin, rifampisin, streptomisin, seftriakson, siprofloksasin ve ofloksasin pH: 7'de *Brucella* kökenleri üzerine etkili bulundu. Rifampisinin etkinliği pH: 5'te artarken doksisisiklinin etkinliği değişmedi; streptomisin, seftriakson, siprofloksasin ve ofloksasinin etkinlikleri azaldığı saptandı. Kırk sekiz ve 72 saatlik inkübasyonlar karşılaştırıldığında sadece ofloksasinin MIC_{50} ve MIC_{90} değerlerinin iki katına yükseldiği görüldü. *Brucella* kökenleri üzerine etkili antibiyotiklerden siprofloksasin ve ofloksasinin etkinliklerinin Garcia-Rodriguez ve arkadaşlarının çalışması ile benzer şekilde pH: 5'te azaldığı saptandı.

Keşli ve ark. (4) kan kültüründen izole edilen 106 *Brucella* spp. suşundan 90'ını *B. melitensis*, 16'sını *B. abortus* olarak tanımlamıştır. Minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri, "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" *Haemophilus* türleri gibi yavaş üreyen bakteriler için hazırlanan rehberlere göre değerlendirilmiştir. Bu suşlara karşı E-test yöntemi ile azitromisin, doksisisiklin, gentamisin, levofloksasin, moksifloksasin, rifampisin, siprofloksasin, streptomisin, tetrasiklin, tigesiklin ve trimetoprim/sülfametoksazolün in vitro antibakteriyel etkinlikleri çalışılmıştır. Araştırma sonucunda MIC_{90} değerleri sırasıyla; 1 µg/ml 0.25 µg/ml, 0.19 µg/ml, 0.25 µg/ml, 0.19 µg/ml, 0.75 µg/ml, 0.25 µg/ml, 0.75 µg/ml, 0.38 µg/ml 0.64 µg/ml, 0.19 µg/ml olarak belirlenmiştir. MIC_{90} değerlerine göre gentamisin, moksifloksasin ve trimetoprim/sülfametoksazolu en etkili antibiyotikler olarak bulunmuştur. *Brucella* suşlarının tamamı, rifampisin dışında test edilen antibakteriyel ilaçların tamamına duyarlı bulunmuştur. Bu çalışmada farklı olarak rifampisin pH: 7'de *Brucella* kökenleri üzerine etkili bulunurken, pH: 5'te etkinliği artmıştır. Doksisisiklin, siprofloksasin streptomisin MİK sonuçları benzer olarak saptanmıştır.

Eşel ve ark. (20) 2004 yılında yayınladıkları makalelerinde, klinik örneklerden izole edilen 74 *B. melitensis* suşunun altı farklı antibiyotige duyarlılıkları NCCLS agar dilüsyon ve E-test yöntemi ile araştırılarak sonuçları karşılaştırılmıştır. Her iki yöntemde tüm izolatlar seftriakson, siprofloksasin, doksisisiklin, streptomisin ve trimetoprim-sulfametoksazole duyarlı iken suşların 14'ünün (%19) rifampisine azalmış duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, agar dilüsyonla rifampisine orta düzeyde duyarlı bulunan suşlardan sadece biri E-test ile

orta düzeyde duyarlı bulunmuştur. İzole edilen *B. melitensis* suşları tedavide kullanılan antibiyotiklere in-vitro duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile Eşel ve arkadaşlarının çalışması karşılaştırıldığında, agar dilüsyon yöntemi ile rifampisin dışında seftriakson, siprofloksasin, doksisisiklin, streptomisin sonuçlarının benzer olduğu görülmektedir.

SONUÇ

Antibakteriyel ilaçlar pH: 7'de 48 saatlik inkübasyon sonunda MIC_{90} değerlerine göre *Brucella* kökenleri üzerine etkili bulundu. Çalışmada, pH: 5'te 48 saat ve 72 saatlik inkübasyon sonunda rifampisinin etkinliği artarken, doksisisiklinin etkinliğinin değişmediği; streptomisin, seftriakson, siprofloksasin ve ofloksasinin etkinliklerinin azaldığı saptandı. pH: 5 ve pH: 7'de, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonrası MIC_{90} değerlerine göre doksisisiklin en etkili antibakteriyel ilaç olarak belirlendi. pH: 7'de 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonrası sonuçlar karşılaştırıldığında sadece ofloksasinin MIC_{50} ve MIC_{90} değerlerinin iki katına yükseldiği görüldü. *Brucella* cinsi bakteriler fakültatif intraselüler mikroorganizmalardır ve hücre içi pH: 5 ortamına benzer koşullar oluşturulduğunda streptomisin, seftriakson, siprofloksasin ve ofloksasinin etkinlikleri azalmaktadır. Bu durum bruselloz tedavisinde dikkate alınmalıdır.

BİLDİRİMLER

Değerlendirme

İç ve dış danışmanlarca değerlendirilmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir malî destek kullanımı bildirmemişlerdir.

Tebliğ

Bu çalışma, birinci yazarın 2003 tarihli, "Trakya Bölgesinde Hastalardan İzole Edilen *Brucella* Kökenlerinin İn Vitro Antibiyotik Duyarlılığı" başlıklı Yüksek Lisans Tezinin yeniden düzenlenmesi ile oluşturulmuştur.

Etik Onay

Bu çalışma birinci yazarın 2003 tarihli, Trakya bölgesinde hastalardan izole edilen *Brucella* kökenlerinin in vitro antibiyotik duyarlılığı başlıklı Yüksek Lisans Tezinin yeniden düzenlenmesi ile oluşturulmuş olup çalışmanın hazırlanması sırasında Helsinki Bildirgesi kriterleri göz önünde bulundurulmuştur. Hiçbir hasta verisi kullanılmamıştır.

Yazarlık Katkısı

Fikir: MT, FK, Tasarım: MT, FK, PYM, Gözetim: FK, Finansman: MT, Araç gereç: MT, Veri toplama ve işleme: MT, FK, Analiz ve yorumlama: MT, FK, Literatür tarama: MT, PYM, Yazma: MT, FK, PYM, Eleştirel inceleme: FK.

KAYNAKLAR

1. Yakupsky P. Detection of *B. melitensis* by BACTEC NR 660 blood culture system. *J Clin Microbiol.* 1994;32:1899-1901. <https://doi.org/10.1128/jcm.32.8.1899-1901.1994>
2. Doğanay M, Aygen B. Human brucellosis: an overview. *Int J Infect Dis.* 2003;7:173-182. [https://doi.org/10.1016/S1201-9712\(03\)90049-X](https://doi.org/10.1016/S1201-9712(03)90049-X)
3. Basyony AF, Aboulwafa MM, Hafez MM, Abou-Gazia KAS. Antimicrobial susceptibility profile, adherence and invasion to mammalian cells of *Brucella melitensis* isolates. *Pak J Pharm Sci.* 2018;31(6):2379-2390.
4. Keşli R, Bilgin H, Yılmaz H. Determination of in vitro susceptibilities of *Brucella* spp. strains against 11 different antibacterial agents isolated from blood cultures. *Mikrobiyol Bul.* 2017;51(3):260-268. <https://doi.org/10.5578/mb.57362>
5. Alışkan H, Turunç T, Demiroğlu YZ, Çolakoğlu Ş, Arslan H. Kısa bildiri: *Brucella melitensis*'in in vitro antibiyotik duyarlılığın araştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2008;42:125-129.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı İstatistikler/Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yıllığı. Ankara: Sağlık Bakanlığı; 2021. Available at: <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoonavetkorel-bruselloz/astatistik> (accessed September 2021).
7. Türkiye Cumhuriyeti Edirne İl Sağlık Müdürlüğü Edirne Halk Sağlık Hizmetleri Başkanlığı verileri (yıllık veriler resmi dilekçe ile başvurularak alınmıştır).
8. Çetinkaya F, Nacar M, Koç AN, Gökahmetoğlu S, Aydın T. Prevalence of brucellosis in the rural area of Kayseri, Central Anatolia, Turkey. *Turk J Med Sci.* 2005;35:121-126. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2004.10.009>
9. Akova M, Gür D, Livermore MD, Kocagöz T, Akalın HD. In vitro activities of antibiotics alone and in combination against *Brucella melitensis* at neutral and acidic pHs. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43(5):1298-1300. <https://doi.org/10.1128/AAC.43.5.1298>
10. Kaya O, Akçam FZ, Yaylı G. Investigation of the in vitro activities of various antibiotics against *Brucella melitensis* strains. *Turk J Med Sci.* 2012;42(1):145-148. <https://doi.org/10.3906/sag-1009-1129>
11. Rodrigueiz G, Sanchez G, Trujillano I: Lack of effective bactericidal activity of new quinolones against *Brucella* spp. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;756-759. <https://doi.org/10.1128/AAC.35.4.756>
12. Yamazhan T, Aydemir S, Tünger A, Serter D, Gökengin D. In vitro activities of various antimicrobials against *Brucella melitensis* strains in the Aegean Region in Turkey. *Med Princ Pract.* 2005;14:413-416. <https://doi.org/10.1159/000088122>
13. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 3. Baskı. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2002;475-478.
14. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 3. Baskı. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2002;677.
15. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 3. Baskı. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2002;478.
16. Kuloğlu F, Erdenliş S, Akata F, Tansel Ö, Gürcan Ş, Tuğrul HM. Trakya Üniversitesi Hastanesinde 1997-2002 yılları arasında saptanan *Brucella* izolatlarının tür ve biyovar dağılımı *Mikrobiyol Bul.* 2004;38:187-191.
17. Ridgway GL, Bebear C, Bebear C, Felmingham D, Pechere JC, Raoult D, et al. (Eucast Discussion Document E. Dis 6.1) Antimicrobial susceptibility testing of intracellular and cell-associated pathogens. *Clin Mic Infect.* 2001;7(12):2-3.
18. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Aerop üreyen bakteriler için dilüsyon yöntemi ile antimikrobik duyarlılık testleri. 6. Baskı. M7-A6, (ISBN1-562238-486-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 140, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.
19. Yagupsky P. Detection of *Brucellae* in blood cultures. *J Clin Microbiol.* 1999;3437-3442. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.11.3437-3442.1999>
20. Eşel D, Sümerkan B, Ayangil D, Telli M. *Brucella melitensis* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde agar dilüsyon ve e-test yöntemlerinin karşılaştırılması. *Ankem Derg.* 2004;18(4):196-199