

1. GİRİŞ

Kanatlılarda *Salmonella* infeksiyonları, vertikal bulaşma özelliğinde olan ve konakçıya spesifik hareketsiz serotiplerin (*S. enterica* subsp. *enterica* serovar Pullorum ve *Salmonella* Gallinarum) neden olduğu Pullorum Hastalığı ve Kanatlı Tifosu ile hareketli, farklı konakçılarda görülebilen serotiplerin (özellikle *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*) neden olduğu Salmonellozis ve Paratifo infeksiyonlarıdır. Paratifo etkenleri insanlarda kanatlı ürünlerinin tüketilmesi sonucu önemli zoonozlara yol açabilmesi nedeniyle halk sağlığı açısından öneme sahiptir. *Salmonella* genusuna ait bakteriler kanatlı hayvanlarda birçok akut ve kronik hastalıkla ilişkili infeksiyonlara, verim düşüklüğü ve ölümlere bağlı olarak da ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Sareyyüpoğlu, 2010).

Kanatlı *Salmonella* infeksiyonları tüm dünyada oldukça yaygındır ve gıda kaynaklı infeksiyonlar arasında oldukça önemlidir. İnsanlarda *Salmonella* nedenli infeksiyonlardaki artış ve izole edilen etkenlerdeki çoklu antibiyotik dirençlilikleri, *Salmonellaların* insan sağlığı açısından önemini arttırmaktadır. Genel olarak insan sağlığını korumak için yapılan programlar, hayvansal üretim aşamasında *Salmonella* infeksiyonlarının kontrol edilmesine yoğunlaşmış durumdadır (Akan, 2008).

Kanatlı etlerinin tüketiminin artmasıyla tüm dünyada kanatlı kaynaklı zoonoz hastalıklarda bir artış görülmektedir. *Salmonella* serovarı kaynaklı infeksiyonlardaki artış genel olarak kanatlı etleri, yumurta içeren gıda ürünleri ve hayvan kaynaklı diğer gıda ürünlerinin alımıyla ilişkilendirilmektedir. Kanatlılarda *Salmonella* türlerinin yüksek prevalansı nedeniyle Avrupa Birliği (AB)'de tavuk sürüleri için (damızlık, yumurtacı ve broyler) kontrol programları uygulanmaktadır. Salmonellozis kanatlılarda akut veya kronik ve sıklıkla subklinik infeksiyonlar meydana getirir. Bu infeksiyonlar kanatlı etinde ve ürünlerinde kontaminasyonlara yol açarak bir sonraki aşamada insanlarda gıda zehirlenmelerine sebebiyet verebilmektedir. Çiftlik hayvanlarındaki ve bu hayvanlardan elde edilen gıdalardaki zoonotik ve kommensal bakterilerde direncin izlenmesi; direnç gelişimi ve yayılımının anlaşılabilmesi, bu konudaki gerekli risk verilerinin değerlendirilmesi ve hedef önlemlerin alınması için ön koşuldur (EFSA, 2013).

Salmonella infeksiyonlarının tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının tespit edilmesi, sürü sağlığının devamlılığını sağlamak ve insan sağlığını korumak için vazgeçilmezdir (Akan, 2008). Bu nedenle *Salmonella* infeksiyonlarının doğru ve hızlı teşhisi ayrıca önem kazanmaktadır. Teşhis de kullanılan konvansiyonel yöntemler standart

metodları oluştururken, son yıllarda hızla geliştirilen moleküler tanı ve tiplendirme yöntemleri ise teşhis için yeni, umut veren yaklaşımlar sunmaktadır (Sareyyüpoğlu, 2010).

Günümüzde *Salmonella* serovarlarının standart laboratuvar yöntemleriyle teşhisi selektif besiyerlerinde gerçekleştirilen kùltür ve bunu takiben şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve serolojik doğrulanması ve identifikasyonuna dayandığından oldukça zahmetlidir ve yedi güne varan bir süre gerektirmektedir. Bundan dolayı, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve PCR bu metota dayalı diğer teşhis metotları hız, sensitivite, spesifite, tekrarlanabilirlik açısından önemli avantajlar sağlamıştır. Bunların klinik örnekler ve gıda numunelerinde *Salmonella* identifikasyonunda kullanımları artış göstermiştir (Oliveria ve ark, 2002). PCR' nin diğer bir avantajı da reaksiyonun belirli bir substratın kullanılmasına ya da belirli antijenlerin ekspresyonuna bağlı olmasıdır ki bu özelliği ile suşların biyokimyasal özelliklerindeki farklılıklar, fenotipik varyasyonlar ve saptanabilen antijenlerin eksikliğinden kaynaklanabilecek tanılama hatalarına engel olmasıdır (Hoorfar ve ark, 1999).

Hızla gelişen kanatlı sektöründe ışlah çalışmaları sayesinde hastalıklara karşı korunma sağlanmasına rağmen antibiyotikler halen kullanılmaktadır. Enfeksiyöz hastalıkların antibiyotiklerle tedavisinin başladığı yirminci yüzyılın başlarından günümüze kadar olan hızlı gelişmeler, bakterilerdeki hedef etki yapılarına göre sınıflandırılan bir çok antibiyotiğin sağaltıma girmesine neden olmuştur (Kaya, 2013). Antibiyotiklerin uygun kullanılmamasına bağlı gelişen dirençli suşlarda direnç genlerinin aktarımı sadece patojen mikroorganizmalara değil, endojen mikroflorada da olabilmektedir. Böylece karkas kontaminasyonu veya yumurtlama sırasında hayvansal gıdalardan insanlara geçerek insan bağırsak florasında kolonizasyona sebep olabilmektedir. Dirence ilişkin önlemlerin alınması amacıyla ulusal eylem planlarının ve mevzuatın ÷lke koşullarına göre sürekli olarak güncellenmesi, standardize edilmiş izleme sistemlerinin oluşturulması, sonuçların veteriner/ beşeri hekimleri yönlendirecek şekilde paylaşılması, akıllı antibiyotik kullanımı konusunda eğitimlerin arttırılması, antibiyotik direnç gelişimini önleme açısından gerekliliği kaçınılmazdır (Filazi ve ark, 2015).

Araştırmamızda tavuklarda fekal örneklerden, *Salmonella enterica*'nın izolasyonu, serotiplerinin biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle saptanması ve elde edilen izolatların çeşitli antibiyotiklere karşı oluşan duyarlılıklarının incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Salmonella Türlerinin Tarihçesi

Salmonella cinsine ait ilk bakteri ondokuzuncu yüzyılda tanımlanmıştır. *Salmonella typhi* patojen olarak ilk defa 1880 yılında insanların lenf nodülü ve dalağında bulunmuştur. Bununla birlikte ilk izolasyonu ve morfolojik olarak ilk tanımlamayı Gaffky 1884'de yapmıştır (Minor, 1992).

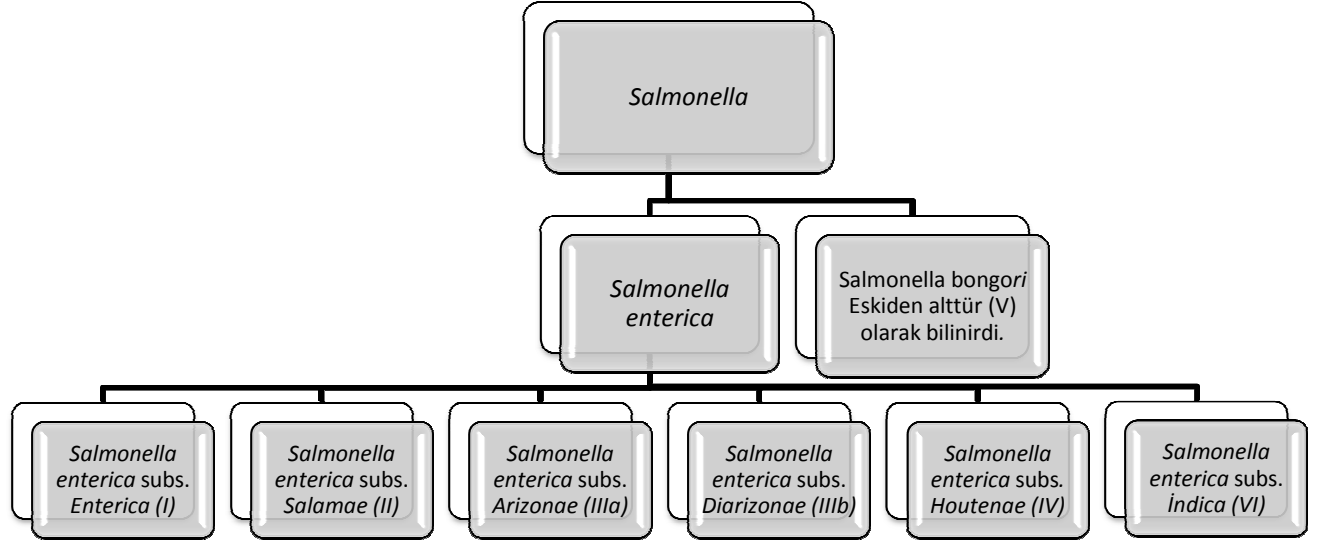
Amerikalı bakteriyolojist D.E. Salmon ve Smith tarafından 1885 yılında ilk defa domuz bağırsağından *Bacterium suispestifer* olarak adlandırılan basil izole edilmiştir. Daha sonra *Salmonella cholerae suis* olarak adı değiştirilmiştir. Gaetner 1888 yılında *Salmonella* Enteritidis'i, 1889 yılında Klein yetişkin kuşlarda İngiltere'de kanatlı tifosunu ve 1892 yılında Loeffler *Salmonella* Typhimurium'u raporlamışlardır. Jones 1913 yılında aglutinasyon testlerini kullanarak *Salmonella Pullorum*'u tanımlamıştır (Minor, 1992).

Salmonella cinsi 1925 yılında klasifiye edilmeye başlamış ve kullanılan yöntem serolojik metodlar olmuştur. *Salmonella* Typhimurium; Loeffler (1892) ve *Salmonella* Paratyphi; Schottimuller (1899) tarafından bulunmuş ve *Salmonella* cinsine eklenmiştir. Daha sonra birçok *Salmonella* serovarı tanımlanmış ve White (1892)'ı takiben klasifiye edilmiştir (Minor, 1992). Popoff ve ark (1996) *Salmonella* genusunun klasifikasyonunu yapmış ve iki türe ayırmışlardır: *Salmonella enterica* ve *Salmonella bongori*. Bu son sınıflandırma Bergey's Manual'de yerini almıştır ve tüm *Salmonella* serovarıları bu iki türün içine girmektedir (Forshell ve ark, 2006).

2.2. Salmonella'ların Etiyolojisi

Salmonella etkenleri *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan *Salmonella* genusuna ait türlerin içerdiği serotiplerdir. Son sınıflandırmaya göre 2 tür bulunmaktadır. Bunlar *S. cholerae suis* ve *S. bongori*'dir (İzgür, 2002). Ancak *S. cholerae suis*, *S. enterica* olarak adlandırılmaktadır. Bu son sınıflandırma Bergey's Manuel'de yerini almış ve tüm *Salmonella* serovarıları bu iki türün içine girmektedir. *S. bongori* en çok 10 serotipe sahiptir ve *S. enterica* fenotipik ve gonotipik olarak 6 alttüre ayrılmaktadır. Bunlar *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) olarak isimlendirilmektedir (Şekil 1) (Gast, 2008).



Şekil 1. Salmonella türlerinin ve alttürlerinin klasifikasyonu

Koneman ve ark (2006)'dan modifiye edilmiştir.

Salmonella serovarlarının özellikle amino asit ve karbonhidrat metabolizmasını içeren biyokimyasal testlerle ayrımları yapılabilmektedir (Forshell ve Wierup, 2006). Türler ve alttürleri takiben *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (I) , 1547 serovar; *Salmonella enterica* subsp. *Salamae* (II), 513 serovar; *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* (IIIa), 100 serovar; *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb), 341 serovar; *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* (IV), 73 serovar; *Salmonella enterica* subsp. *indica* (VI), 13 serovar adedi alt tür içerisindeki serovar miktarını bildirmektedir (Grimont ve Weill, 2007). İnsanlarda *Salmonella* kaynaklı hastalıklarda sadece 200 adet serovar sıklıkla gözlenmektedir. *Salmonella enterica* subsp. *salamae*, *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* ve *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* sıklıkla reptil ve soğukkanlı hayvanların bağırsaklarında bulunmakla birlikte *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* hindi ve koyunlarda problem oluşturabilmektedir (Ewing, 1986). *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* ve *Salmonella bongori* çevrede sıklıkla rastlanır ve tipik olarak insanlarda patojendir. *Salmonella subterranean* üçüncü tür olarak düşünülmüştür, fakat DNA temelli çalışmalarda *Salmonella* genusuna ait olup olmadığı tam olarak belirlenememiştir (Grimont ve Weill, 2007).

Salmonella'nın somatik (O) ve flagellar (H) antijenleri, farklı serovarları tanımlarlar ve günümüzde toplam 2610 serovar Kauffman-White şemasıyla ifade edilmektedir (Grimont ve Weill, 2007).

1966'nın başlarında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sadece alttür *S. enterica* subsp. *enterica* (I)'daki serovarları adlandırmaya başlamıştır ve diğer tüm alttürlerdeki serovar adlarından vazgeçmiştir.

ABD Hastalık Koruma ve Kontrol Merkezleri (Center of Diseases Control - CDC) bu pratiği uygulamış ve *S. enterica* subsp. *enterica* (I)'daki serovar isimlerini, 1966'dan sonra tanımlanmış alttür II, IV, VI ve *S. bongori*'nin adlandırılmamış serovarları için antijenik formüllerini kullanmıştır. İlk olarak bir serotipin cins ismi daha sonra serotip kelimesinin kısaltılmışı "ser" yazılır. Ondan sonra da serotip adı yazılır (*Salmonella* serotip veya ser Typhimurium veya *S. Typhimurium*) (Koneman ve ark, 2006).

İnsan ve hayvanlardan izole edilen Salmonella türlerinin birçoğu *S. enterica* subsp. *enterica* (I) alt grubuna dahil olup bu grup bir serovar veya serotip içermektedir. Genellikle, ilk izole edildikleri şehrin ya da ilk izole edildikleri canlı türünün adını alırlar. Örneğin *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Dublin, ya da *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum denildiğinde Dublin serovarı ilk kez Dublin'de, Typhi serovarı tifoid ateş belirtisiyle seyreden bir hastalıktan ve Gallinarum serovarı ise tavuktan izole edildikleri için bu şekilde isimlendirilmişlerdir. Ancak çoğu kitap ve yayında bunlar kısaca *Salmonella* Dublin, *Salmonella* Typhi ve *Salmonella* Gallinarum diye adlandırılırlar ve tür isimleri de serotipi belirtmek için büyük harfle yazılır (İzgür, 2006) Tablo 1 'de CDC'de kullanılan Salmonella nomenklatürü şematize edilmiştir.

Tablo 1. CDC’de kullanılan Salmonella Nomenklatürü

Taksonomik Durum	Güncel Nomenklatür
Cins (italik)	✓ <i>Salmonella</i>
Tür (italik)	✓ <i>enterica</i> ((I, II, IIIa, IIIb, IV ve VI)
	✓ <i>bongori</i> (önceleri alt tür V olarak bilinirdi)
Serotip (ilk harf büyük, italik değil)	✓ Serotip metinde ilk kez kullanıldığında; serotip ‘serotip’ ya da ‘ser.’ Kısaltmasından sonra yazılır.
	✓ Alt tür I e ait serotipler adları ile; alt tür II, III , IV , VI ve <i>S. bongori</i> ‘ ye ait serotipler antijenik formülleri ile tanımlanır. (Örnek, <i>Salmonella</i> serotip (ser.) Typhimurium, <i>Salmonella</i> II 50:b:z ₆ , <i>Salmonella</i> 3b 60:k:z)
	✓ Alttür II , IV , VI ve <i>S. bongori</i> ‘ ye ait serotiplerden 1966 ‘ dan önce adlandırılanlar varsa adları da yazılır. (Örnek, <i>Salmonella</i> ser. Marina (IV 48:g:z ₅₁))

Brenner ve ark (2000)’ den modifiye edilmiştir.

2.3. Morfoloji ve Kültürel Özellikleri

Salmonella etkenleri *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan *Salmonella* cinsine ait türlerin içerdiği serotiplerdir (Brenner ve ark, 2000). *Enterobacteriaceae* familyasının genel özelliklerini taşıyan Salmonellalar Gram negatif, kısa ve küçük çomaklar tarzında olup, boyutları 0.7-1.5x2.0-5.0 µm'dır (İzgür, 2006; Gast, 2003). Çoğunlukla boyalı preparatlarda tek tek görülen *Salmonella*'lar, sporsuz ve kapsülsüz olup, *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* hariç hareketlidirler. Laboratuvar besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilen

Salmonella etkenleri, 37 °C’de 24-48 saatte, küçük, yuvarlak S tipli koloniler meydana getirirler. Fakültatif anaerob özellikte olan bu etkenler ayrıca H₂S oluşturmaları (*S. Paratyphi* hariç) ve laktozu fermente edememeleri ile diğer bakterilerden ayrılırlar. Salmonella etkenlerinin tümü üreaz enzimine sahip değildirler. Bu nedenle üreyi ayırtamazlar. Genellikle glukoz, mannitol ve maltozu asit ve gaz oluşturarak fermente ederler (*S. Typhi* ve *S. Gallinarum* bu karbondhidratlardan sadece asit oluştururlar). Sitratı kullanırlar, jelatini eritirler, LDC ve MR pozitif, VP ve indol ise negatiftirler (Tablo 2) (Murray ve ark, 1999; İzgür, 2002; Shivaprasad, 2008).

Tablo 2. Salmonella türlerinin kültürel ve biyokimyasal özellikleri

<i>Salmonella</i>	KIA	Gaz	H ₂ S	MR	VP	IND	SIT	PAD	ÜRE	Har	LYS	ARJ	ORN	ONPG
Cins:	Alk/A	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+/-	+	-
<i>Salmonella</i>														
KIA Kligler’s iron agar; H ₂ S, hidrojen sülfür; MR, metil red; VP, voges preskauer; ind, indol; sit, sitrat; PAD, fenilalenindeaminaz; üre, üreaz; har, hareket; lys, lizin; arj, arjinin; orn, ornitin; onpg, ortho-nitrofenil-β-D-galactopyranoside														

Murray ve arkadaşları (1999)’dan modifiye edilmiştir.

2.4. Antijenik Özellikleri

Salmonellalarda önem taşıyan üç grup antijenik yapı mevcuttur. Bunlar somatik “O” antijenleri, flagellar “H” antijenleri ve yüzey antijenlerdir. Salmonellalar O antijenleri ile gruplara, H antijenleriyle de serovarlara ayrılır. Hareketli olsun veya olmasın tüm Salmonellalarda en az bir, çoğu kez birden çok sayıda O antijeni bulunur. Bu antijenler sıcaklık uygulamasına, alkole (% 96’lık alkole 4 saat) ve asite dirençlidirler. Formol etkisi ile aktiviteleri kaybolur veya çok azalır (Bilgehan, 2004). Günümüzde Salmonella serotipleri sahip oldukları antijenik formüle göre adlandırılmaktadır (Le Minor ve ark, 1984)

Somatik “O” antijenleri bütün Salmonella gruplarında bulunur. Polisakkarit bir özelliğe sahiptir ve hücre duvarında protein, lipitlere bağlı olarak bulunur. Isıya dirençlidirler. Endotoksin özelliğinde olan bu yapı organizmada toksik şokların çoğundan sorumludur. Bu antijenik yapı Salmonellaların 60’dan fazla serogruba ayrılmasına yarayan

değişik faktörler içermektedir. Bu faktörler 1,2,3,4,5...gibi sayılarla ifade edilmekte ve ortak antijenik faktörleri içeren Salmonellaların aynı grup içinde toplanarak grup adları alfabetik harflerle (A,B,...Z) isimlendirilmektedir (İzgür, 2002).

Flagella “H” antijenleri hareketli Salmonellalarda bulunan protein yapısında, ısıya duyarlı (60 °C’de ısıtılmakla inaktive olan), formole dirençli antijenik yapılardır. “H” antijeninin yapısında bulunan faktörler, 2 alt grup içinde incelenir. Faz 1 adı verilen antijenik faktörler, spesifik özellikte olup sadece bir veya birkaç Salmonella türünde yada Salmonella serovarında bulunmaktadır. Bu antijenik faktörler a,b,c ...z ye kadar küçük harflerle ve alfabe yeterli olmadığında z1, z2,... olarak adlandırılmışlardır (İzgür, 2002; Bilgehan, 2004).

Salmonellaların “H” antijen grubundan yalnızca tek bir antijen faktörünü içerenler monofazik; hem Faz 1 ve hem Faz 2 antijenlerini birlikte taşıyanlar difazik bakteriler olarak isimlendirilirler (İzgür, 2002; Bilgehan, 2004).

Yüzeysel antijenler, bakterilerin hücre duvarının dışında bulunan antijenik yapılardır. Bunlar arasında *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* ve *S. Paratyphi C*’nin bazı suşlarında bulunan virulens ile ilgili olduğu düşünülen “Vi” antijenleri vardır. Bu antijen glikolipid yapıdadır. Bu antijeni taşıyan suşlar anti-O serumu ile aglutine olmazlar. Çünkü “O” somatik antijenini maskelerler. 60 °C’de ısıtılan bakterilerin “Vi” antijenleri ayrılır ve etkisi kaldırılır (İzgür, 2002; Bilgehan, 2004).

Pilus antijenleri (özellikle “Tip-1 Fimbria” antijenleri) bazı Salmonella türlerinde bulunmaktadır (İzgür, 2006). Salmonellalardaki yüzeysel fimbriya antijenlerinin önemi, bu antijenlere karşı antikor içeren aglütinan serumlarla, bakterilerin aglütine olmaları, bu suretle O, H ve Vi antijenlerinin araştırılmasını engellemeleri yönündedir (Bilgehan, 2004).

Salmonella türlerinin kesin identifikasyonları antijenik formüllerine yapılmaktadır. Fakat aynı antijenik yapı gösteren farklı Salmonellaların olduğu da unutulmamalıdır (Gast, 2008). Salmonella etkeni identifikasyonunda, öncelikle “O” grubu serumların karışımı kabul edilen Salmonella polivalan antiserumu ile yapılan aglütinasyon testinde pozitif sonuç elde edilir , incelenen etkenin Salmonella pozitif olduğu kabul edilip, daha sonra “O” spesifik grup antiserumları (A,B,C,D,...) ile tekrar aglütinasyona tabi tutulur. Hareketli Salmonella etkenlerinde bu testlere ilaveten Faz-1 ve Faz-2 ‘ye ait antiserumlar da kullanılarak izole edilen etken serotip düzeyinde identifiye edilir (İzgür, 2010). Kanatlılarda hastalık yapan Salmonella tiplerinin özellikleri Tablo 3’de şematize edilmiştir.

Tablo 3. Kanatlılarda hastalık yapan Salmonellaların özellikleri

Kanatlılarda hastalık yapan <i>Salmonella</i> etkenlerinin antijenik özellikleri ve grupları				
<i>Salmonella sarovarı</i>	“O” Antijeni	Faz-1	Faz-2	Grup
<i>S. Pullorum</i>	1, 9, 12	-	-	D1
<i>S. Gallinarum</i>	1, 9, 12	-	-	D1
<i>S. Enteritidis</i>	1, 9, 12	9, m	1, 7	D1
<i>S. Typhimurium</i>	1, 4(5), 12	İ	1, 2	B

İzgür (2010)' dan modifiye edilmiştir

2.5. Salmonellaların Toksin, Faj ve Direnç Özellikleri

Salmonellalar endotosin, enterotoksin ve sitotoksin sentezlemektedirler. Sentezledikleri endotoksinler özellikle bağırsak mukozasında harabiyete neden olmakta ve bu tür toksinleri sentezleyen Salmonellalarla infekte bireylerde şiddetli akut toksemi tablosu şekillenmektedir. Sentezledikleri enterotoksinler ise CAMP miktarını arttırarak adenilat siklazı aktive etmekte ve bağırsak epitelinde aşırı sıvı salgılamasına neden olarak hayvanlarda elektrolit kaybı şekillenmektedir. Salmonellaların sitotoksinleri bağırsak mukozasındaki epitelde protein sentezini engellemektedirler (İzgür, 2002; Shivaprasad, 2008).

Salmonellalara ait fajlar arasında cins düzeyinde *Salmonella* etkenlerini % 97 oranında lize edebilen *Salmonella*-O-1 fajı bulunmaktadır. Bu faj özellikle *Salmonella* genusunun identifikasyonunda güvenilir spesifik bir bakteriyofajdır (Arda ve ark 1983). Ayrıca birçok türün identifikasyonunda kullanılan spesifik fajlar mevcuttur. *S. Typhimurium* (DT104) suşu antibiyotiklerin kanatlı yetiştiriciliğinde (profilaktik ve gelişmeyi arttırıcı yemlere katılması) bilinçsiz kullanılmasıyla yaygın halde görülmektedir (Calnek ve ark, 1997; İzgür, 2002).

Salmonellalar ısıya dayanıklı değildirler. 55 °C'de 20 dk da tahrip olurlar. Fakat düşük ısıya oldukça dirençlidirler. Antiseptiklere ve antibiyotiklere oldukça duyarlıdır. *Salmonella* etkenleri oluşturdukları patojenik tablolara göre 2 grupta incelenirler (İzgür, 2002).

Majör Salmonellozis: Bu tabloya *S. Typhi* ve *S. Paratyphi* A ve B neden olmaktadır. Özellikle insanlarda kötü hijyene bağlı olarak şekillenir ve tifoid ateşle seyreden ciddi infeksiyonlardır (İzgür, 2010).

Minör Salmonellozis: Diğer tüm Salmonellalardan ileri gelen infeksiyonlardır. Hem insan hem hayvanlarda görülür. Genellikle toksin-infeksiyöz karakterde hastalık tablolarıdır (İzgür, 2010).

2.6. Salmonella İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

Kanatlılarda Salmonellozis'e neden olan serotiplerin en önemlileri *S. Pullorum*, *S. Gallinarum*, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'dur. İlk üç etken genellikle sadece kanatlılarda etkili olmasına rağmen, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'un zoonotik önemi büyüktür. İnsanlarda meydana gelen Salmonella infeksiyonlarının % 70'e yakını paratifo etkenleri tarafından oluşur (Calnek ve ark, 1997; Gast, 2008).

S. Pullorum ve *S. Gallinarum*'un doğal konakçıları tavuklardır ve yüksek ölçüde konakçıya adapte olmuşlardır. Her iki hastalıkta birincil olarak tavuk ve hindileri etkiler. Hastalığa güvercin, serçe, bıldırcın, sülün, papağan ve ördeklerde duyarlıdır (Çarlı ve Kahya, 2011). Salmonellalarda bulaşma kaynağı çeşitli yollarla olabilir. Fakat en çok enfekte yani taşıyıcı kanatlılar, bulaşmadan sorumludur (Çarlı ve Kahya, 2011). Dolayısıyla bu hayvanlara ait enfekte yumurtalar kuluçka için kullanıldığında hastalığın en temel şekli olan vertikal bulaşma söz konusudur. Yumurta yoluyla bulaşma, ovulasyonu takiben ovumun enfekte olması sonucu gerçekleşir (İzgür, 2010). Bulaşma aynı zamanda bir sürüde kanibalizm, yumurta yeme yoluyla da oluşur. İnfekte tavuk dışkıları da diğer hayvanlar için bir kaynaktır. Kontamine yem, su, altlık ve bununla uğraşan çalışanlar ile bunlara ait ekipmanlar etkenlerin kanatlılara bulaşmasını ve dolayısıyla, horizontal bulaşmayı kolaylaştırır. Çiftlikten çiftliğe, kümesten kümese gezen, dezinfeksiyona dikkat etmeyen bakıcılar ve ziyaretçiler de hastalığın yayılmasını sağlarlar. Vahşi kuşlar, memeliler, rodentler ve sinekler de mekanik bulaşmada önemlidirler (Van ve ark, 2005; Shivaprasad ve Barrow, 2008).

S. enterica hayvanlardan insanlara kontamine et ürünlerinden, hayvansal gıdalardan ya da fekal kontaminasyona maruz kalan gıda ürünleri aracılığıyla bulaşmaktadır. Ayrıca etken, enfekte hayvanla direkt ya da indirekt temas ve kontamine su tüketimi ile de insanlara bulaşabilmektedir. Salmonellalar memeli hayvanların, kuşların, sürüngenlerin, kurbağaların, balık ve kabuklu deniz canlılarının bağırsak mikroflorasında bulunabilen etkenlerdir. Gıda ve su kontaminasyonunda fekal yolla bulaşma ana bulaşma kaynağıdır. Et yönlü hayvanlar enfekte olabildikleri gibi etkeni taşıyıcı konumda da olabilmektedirler

(Lemmerding, 2008).

Konakçı spesifik serotiplerin (*S. Pullorum*, *S. Gallinarum*) tersine, konakçı spesifik olmayan (paratifoid serotipler) serotiplerin epidemiyolojileri komplekstir. Bu nedenle de konak canlıda konakçı spesifik olmayan serotipler hiçbir hastalık belirtisi göstermeksizin çok sayıda mikroorganizmanın sindirim kanalı vasıtasıyla etrafa saçılmasına yol açarlar. Kanatlılar için bulaşma kaynakları kendileri, yem ve çevre olarak sınırlandırılabilir. Ancak infeksiyon kaynağı yine de çok fazladır (Barrow, 2000).

Kanatlılarda *Salmonella* serovarlarının prevalansı ülkeler ve zamanlar arasında farklılık göstermiştir. Bazı serovarlar belli bir zaman içinde ülkeler için önemliyken bazen hiçbir belirti göstermeden kaybolurlar. EFSA tarafından 2006 yılında yapılan sörvey çalışmasında Avrupa'da *S. Enteritidis* ve *S. Infantis* yumurtacı ve broiler çiftliklerinde en sık rastlanan *Salmonella* serovarları olmuştur. *S. Infantis*'in Macaristan'da (% 87), Polonya'da (% 19) ve Çek Cumhuriyeti'nde (% 13) olarak tespit edilmiştir (EFSA, 2007). Almanya'da *S. Infantis* varlığı % 3.9 yumurtacılar ve % 8.9 broilerlerde tespit edilmiştir. Kanatlı spesifik *S. enterica* serovar *Gallinarum* ve *Pullorum*'un Avrupa ve Kuzey Amerika'da eradikasyonu yapılmıştır. Buna rağmen dünyanın belli bölgelerinden özellikle az gelişmiş endüstrilerde, biyogüvenliğin zayıf olduğu işletmelerde bu serovarlar hala kanatlı sağlığını ve refahını etkilemeye devam etmektedir (Poppe, 2003).

İnsanlarda infeksiyon oluşturan türler *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovarında sınıflandırılmaktadır (Mazotta, 2000). *Salmonellalar* düşük sıcaklıkta iyi üreyemezler (Sörqvist, 2003). Ancak dondurma yöntemiyle de *Salmonellaları* öldürmek kolay olmamaktadır (Obafemi 1986). Asidik pH'ya karşı dirençlidirler ve kuru ortamda canlı kalabilirler. Dünyada gıda kaynaklı infeksiyonların başlıca etkenidirler. *Salmonellalar*, gelişmiş, gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde hala gıda kaynaklı infeksiyonlarda izole edilen etkidir ve halk sağlığı açısından önemli olan bakteriyel etkenlerin başında gelmektedir (Bell, 2000).

2.7. *Salmonella* İnfeksiyonlarının Kanatlılarda Klinik Bulguları

Salmonella enterica subsp. *enterica* patogenez ve infeksiyon biyolojisi temelinde iki ayrı grupta incelenmektedir.

2.7.1. Kanatlı Tifosu

Bu grupta bulunan serovarlar, sistemik tifo benzeri infeksiyona sebep olurlar. Bu gruba dahil olan *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* konak spesifik Salmonellalardır ve tavuklarda, hindilerde ve diğer birçok kanatlı türlerinde sırasıyla Pullorum ve Kanatlı Tifosu hastalığını yapan etkenlerdir (Poppe, 2003).

S. Gallinarum ilk 2 aylık dönemde yüksek mortaliteyle seyrederek. Mortalite 1 günden 5 güne kadar civcivlerde görülebildiği gibi 21 ve 28 günlük civcivlerde de kendini göstermektedir. En belirgin semptom sarıdan yeşile dönüşen ishaldir ve hayvanlarda solunum yetmezliği şekillenmektedir (Poppe, 2003). Postmortem bulgulara karaciğer ve dalak büyümüş, bağırsak serozası ve mukozası kanla dolmuştur. Rektumda sarı sıvı bir içerik bulunmaktadır. Karaciğer büyümüş ve yüzeyinde yeşil kahverengi nekrotik bölgeler görülür. Dalağın üzerinde ise beyazımsı nekrotik alanlar mevcuttur. Organlardaki diğer bulgular; kataral bir enterit, büyümüş kalp üzerinde küçük toplu iğne başı büyüklüğünde nekrozlar, perikartta hemoraji ve yağlanma, konjeste olmuş ve genişlemiş akciğerler ve böbrekler ile karakterizedir (Poppe, 2003; Tessari ve ark, 2014).

S. Pullorum, Pullorum hastalığına sebep olur ve özellikle yumurtacı sürülerde yumurta veriminin düşmesine, ferrtilite ve kuluçka verimlerinin etkilenmesine neden olmaktadır. *S. Pullorum* tavukların ovaryumuna yerleşir ve yüksek miktarda yumurta folikülünün olgunlaşmasını engeller ve bu şekilde gelişebilen yumurtalar mikroorganizmayla artık infekte olmuştur. Dolayısıyla bu yumurtalardan gelişen civcivlerde artık infektidir. Yetişkin tavuklarda Pullorum hastalığının belirtilmiş bir semptomu olmamakla birlikte bazen bazen öldürücü septisemiye neden olabilmektedir. (Poppe, 2003)

Pullorum hastalığında bulaşma vertikal yolu takiben yumurtayla, kontamine altlıkla ve kontamine kuluçkahanelerde bulaşma yoluyla şekillenmektedir (Johnson ve ark, 1992). Postmortem bakıda Pullorum hastalığına yakalanmış civcivler anemik, kursak boş, bağırsaklar, dalak ve karaciğer solgun, sekumlar boş veya peynirimsi bir içerikle dolu ve sarı kese emilmemiştir. Karaciğerlerde küçük beyaz odaklar ve peteşiyal kanamalar mevcuttur (Poppe, 2003).

2.7.2. Paratifo İnfeksiyonları

Genellikle *S. Arizona* dışındaki hareketli *Salmonella* serotipleri, paratifo *Salmonella* etkenleri olarak tanımlanmaktadır. (İzgür, 2010) Paratifo infeksiyonları kanatlılarda subklinik seyreder. Bu infeksiyonların ortaya çıkışı sadece serovara bağlı olarak şekillenmez. İnfeksiyon dozu ve konağa bağlı faktörler (yaş ve beslenme) de önemlidir (Poppe, 2003). Nontifoid infeksiyonlar bir günlük civcivlerde şiddetli morbidite ve yüksek mortaliteye sebep olurken, yaşlı hayvanlarda sistemik olarak yayılır (Gast, 1997).

Paratifo infeksiyonlarında infeksiyon kaynağını; kanatlılar, yem ve çevre olarak değerlendirmek gerekmektedir. Civcivler yumurtadan çıktıktan hemen sonra ağız yoluyla etkeni alabilir ve dışkıyla yoğun bir şekilde saçarlar. Kontamine yumurta kabuğundan, tüy ve tozlardan etkenin bu şekilde alınması, civcivlerin kuluçka makinalarında infekte olmasına, dolayısıyla kuluçkahane kontaminasyonuna yol açmaktadır. Bu şekilde gerçekleşen bir infeksiyon, broylerin hayatı boyunca sürmekte ve aynı kümesteki hayvanlar arasında kros kontaminasyonlara sebep olmaktadır. (İzgür, 2002, 2010; Gast, 2008)

Klinik non-tifoid infeksiyonun morbitidesi; anoreksi, karışık tüyler, harekette isteksizlik, dehidrasyon, uyuşukluk, beyaz ishal ve biryerde toplanma klinik belirtileriyle karakterizedir. Kronik dönemde büyüme geriliği bariz şekilde gözlenir. Çoğu non-tifoid serovar klinik belirti göstermez ve bağırsakta kolonize olur (Heyndrickx ve ark, 2002).

Yeni kuluçkalanan kanatlılardaki paratifo infeksiyonlarının şiddetli olgularında, hızlı gelişen septisemi herhangi bir lezyon göstermeksizin yüksek mortalite oluşturur. Hastalığın seyri uzayınca, şiddetli enteritidis, ince bağırsağın mukozasında fokal nekrotik odaklarla birliktedir. Genellikle peynirimsi sekum içeriği gözlenir. Dalak ve karaciğer şişkin ve konjesyonlu, çizgisel hemorajik lezyonlara ve nekrotik odaklara sahiptir. Bazen böbrekler de şişkin ve konjeste haldedir. Birçok olguda fibrinopurulent perihepatitis ve perikarditis saptanmıştır. Yumurta kesesinde absorbe olmamış, koagüle sarı materyal bulunur (Çarlı ve Kahya, 2011).

2.8. Kanatlılarda *Salmonella* Patogenezi

Salmonella infeksiyonlarının insanlarda ve hayvanlarda birincil bulaşma yolu fekal-oral yoldur. *Salmonella* serotiplerinin değişik konakçılarda çoğalabilmeleri; bir dizi

faktöre, konakçıdaki farklılıklara (pH, ısı, tutunma yüzeyleri... vb), konakçı bağışıklığı ve bağışıklığın oluşturduğu tepkiye, kommensal organizma varlığına ve patojenin kendi genetik yapısına bağlıdır (Foley ve ark, 2011). *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Newport*, *S. Heidelberg* gibi insan infeksiyonlarının çoğuyla ilgili olan birçok serotip geniş konakçı sahasına ve birçok konakçada infeksiyon oluşturma kabiliyetine sahiptir (Foley ve ark, 2008). Buna karşın *S. Typhi*, *S. Paratyphi*, *S. Gallinarum*, *S. Choleraesuis*, *S. Abortusovis* ve *S. Dublin* gibi diğer serotipler sınırlı sayıda konakçıya sahiptir (Uzzau ve ark, 2000). Kanatlılar insanlarda infeksiyonlara yol açan Salmonellalar için en önemli rezervuarlardan biridir (Çarlı ve Kahya, 2011).

S. Pullorum ve *S. Gallinarum*'u içeren *Salmonella* etkenleri dalak ve karaciğer gibi visceral organlarda yaşamak ve çoğalmak için farklı yeteneklere sahiptir. Bilinmeyen bir mekanizma ile mononükleer fagositik sistemi konakçı olarak kullanmaktadır (Barrow ve ark, 1994) Dolayısıyla etkenler taşıyıcılık süresince dalak ve karaciğerdeki makrofajlarda bulunmakta ve elimine edilmemektedirler (Berhieri ve ark, 2001). T hücrelerinin spesifik ve nonspesifik antijenlere yanıt verme kapasitesi azaldığından immun sistemin yetersizliği ve dolaylı olarak seksüel hormonların artışına da bağlı olarak bakteriler reproduktif sisteme yayılırlar (Wigley ve ark, 2005).

Kanatlılarda paratifo infeksiyonlarının patogenezi, tifoid infeksiyonlarından farklılık göstermektedir. Kanatlıların yaşına direncine ve etkenin virulent ve vücuda giriş yoluna bağlı infeksiyon şekillenmesine rağmen, ergin kanatlılarda şiddetli sistemik tablolara rastlanmaz. Klinik tablolar sadece civcivlerde görülmektedir. Genellikle de civcivlerde infeksiyona ağız yoluyla alınan *S. Enteritidis* serotipinin bağırsak cidarından invaze olarak retikulo-endotelial sisteme geçmesiyle intra selüler üreme gerçekleşir ve ölüm şekillenir (Van Immerseel ve ark, 2005).

S. Enteritidis ve *S. Typhimurium* infeksiyonlarında bunlara ait virulans faktörleri bu faktörlere ait genler çok önemlidir (İzgür, 2010). Bu etkenlerin mide asiditesinden etkilenmemeleri ve özellikle de kör bağırsaklara (sekumlara) kolonize olmaları çok önem taşımaktadır (Kwon ve Ricke, 1998). Bu mikroorganizmalar yaşamak için ince barsak, kolon, sekum (tavukta) gibi gastrointestinal boşluğun ilerisine doğru ilerleyerek düşük pH ortamından kurtulurlar. Sindirim kanalı boyunca yerleşen epiteliyal ve bağışıklık hücreleri *Salmonella*ya karşı ilk bariyeri oluşturur. *Salmonella* etkenleri sindirim kanalında kolonize olmak için sindirim kanalında bulunan mikroflora ile yarışır ve bu esnada immun sistem hücrelerinden ilk olarak enterosit ve M hücreleri ile temasa geçer. *Salmonella*'nın sindirim

kanalı epiteline yapışması, bakteri hücresi yüzeyinde bulunan flagella ve fibriae sayesinde oluşur. İşaretlenmiş mutagenesis çalışmaları, çoklu *S. Typhimurium* transpozon mutantlarının fare, sığır, tavuk ve domuz barsak kanalına kolonize olabildiğini göstermiştir (Fedorka ve ark, 1995).

Salmonella bakterisi bağırsak epiteline yapıştığında, endotelial yapışmayı ve invazyonu arttıran kompleks multiprotein yapıda olan T3SS (Tip 3 sekresyon sistemi) oluşturur. Bu proteinler adeta “moleküler şırınga” (bakteri sitoplazması ile konakçı hücre zarı arasında kanal vazifesi) gibi görev yaparlar (Schlumberger ve Hardt, 2006). Bir seri bakteri proteinlerini bağırsak lümenine enjekte ederler. T3SS’ler bakteri hücre duvarı üzerinde iğne tarzında çıkıntılar olup ökaryotik hücrelere bakteri proteinin enjeksiyonuna yararlar (Hueck, 1998; Galan, 1999). T3SS mekanizması SPI- ile alakalıdır, *Salmonella*’nın tutunması, invazyonu ve toksisitesiyle alakalı olan virulens genleri içerir (Stevens ve ark, 2009).

T3SS içinde yerleşen efektör proteinlerden SopB salgı yolunun aktivasyonu ile yangıyı oluşturması (nötrofillerin infeksiyon bölgesine hücumu) ve bunun sonucunda insanda (Hopkins, 2004) ve sığırdaki (Miold ve ark, 1999) diare (Wallis ve Galyov, 2000) ile sonuçlanan hücrelerde iyon dengesinin değişmesiyle sindirim kanalına sıvı akışının artmasına sebep olmasıyla önemli bir role sahiptir. Diğer proteinlerden, SopA, SopD, SopE2, ve SipA gibi, *Salmonella*’nın neden olduğu gastroenteritte rol oynamaktadır (Wallis ve Galyov, 2000). SipA, SipC ve SopB proteinleri de konakçı hücre zarının dışı doğru genişlemesine, zarın yıpranmasına neden olur (Lostro ve Lee, 2001). Bu yıpranma süreci *Salmonella* etkeninin konakçı hücre zarı tarafından yutulup, konakçı hücre içinde zar ile bağlantılı olan ‘*Salmonella* içeren kesecik’ denilen (SCV) yapının oluşmasına neden olur (Frost ve ark, 1997; Knodler ve ark, 2010). SCV gelişince luminal sınırdan bazal membrana doğru geçer, böyle fagolizozomal yapıların kendisini yok etmesini önler (Holden, 2002).

SCV’ler *Salmonella*’nın barsak hücreleri ve makrofajlar içinde yaşayabilmeleri ve çoğalabilmeleri için kilit rol oynar (Tierrez ve ark, 2005). Konakçı hücrelerine bir kez yerleştiğinde, *Salmonella* etkeni SCV içinde sistemik infeksiyon ve hücre içi patogenezi oluşturan SPI-2 de kodlanmış (SPI-2 T3SS) ikinci bir T3SS yayar (Hensel, 2000). SPI-2 T3SS SCV içinde efektör proteinlerin salgılanmasından sorumludur ve bu proteinler, sitoskeleton ve motor proteinlerle etkileşerek SCV’den dışarı yayılan *salmonella* indükleyici filamentleri (SIFs) oluşturur (Foley ve ark, 2008). Daha da ötesi SPI-2 T3SS

SCV' nin hareketini düzenleyerek SCV' nin lizozomlarca parçalanmasını önler (Stevens ve ark, 2009). SIF SCV'lerin hücre içindeki diğer veziküllerle erimesini kolaylaştırır ve böylece Salmonella' nın replikasyonunda rol oynadığı bildirilmiştir (Hensel, 2000; Abrahams ve Hensel, 2006; Knodler ve ark, 2010).

2.8.1. Salmonellanın Makrofaj ve Dendritik Hücrelerde Yaşayabilmesi

Salmonella etkenlerinin makrofajların içinde çoğaldıkları görülmüş, fakat dendritik hücreler içinde canlı kalabildikleri, replike olabildikleri görülmemiştir (Tierrez, 2005) Dendritik hücreler büyük oranda lenfoid ve lenfoid olmayan dokularda yayılmış olduğundan Salmonellanın çeşitli organlara yayılmasına neden olduğu bildirilmiştir (Sundquist ve ark, 2004). Araştırmacılar, SPI-2 T3SS'lerin Salmonellanın dendritik hücrelerde antijenik uyarım yapmasını engellediğini ve böylece konakçı hücrede immun tepkinin oluşmasını sınırladığını ortaya koymuşlardır (Waterman ve Holden, 2003). Genel olarak, Salmonellanın insan ya da hayvanda hastalık yapma kabiliyeti bakterideki doğal virulens genlerin konakçı savunmasını nötralize etme ve ondan kaçabilme kabiliyetine bağlıdır. Bu faktörler, patojeniteyi oluşturan yapılar, virulans plazmidler, toksinler, fimbria ve flagella ile ilgilidir (Van Asten, 2005; Foley, 2008; Lahiri ve ark, 2010).

2.8.2. Salmonellanın Patojenite Unsurları

Salmonellanın konakçıda etkin bir şekilde kolonize olması, Salmonella genomuna dağılmış olan virulans faktörlerin kodlandığı SPIs gibi gen kümelerine bağlanmıştır (Foley ve ark, 2008). Çoğu büyük patojenite unsuru değişik serovarlar için tanımlanmıştır, SPI-1' den 5' e kadar olanlar çoğu serovarda mevcutken, diğerleri daha az yayılım göstermiştir (Marcus, 2000; Foley ve ark, 2008; Leung ve ark, 2011). Genel olarak; SPI'ların gen kümeleri ve fonksiyonları Tablo 4' te şematize edilmiştir.

Tablo 4. SPI 'ların gen kümeleri ve fonksiyonları

<p>SPI-1- konakçı hücrelere invazyon ve makrofaj apoptozisini hızlandırmak için kullanılır, SPI-2- sistemik infeksiyon ve makrofaj içinde replike olmak için, SPI-3 - makrofaj içinde yaşayabilmesi ve düşük magnezyumlu ortamda gelişebilmesi, SPI-4- makrofaj içi yaşam ve toksin salınımı için gerekli genlerin bulundurulması ve apoptozis, SPI-5- çoklu T3SS efektör proteinlerin kodlandığı gen kümelerini içermesinden, SPI-6- proteinlerin çevreye ya da çevresel uyarılar neticesinde konakçı hücrelerine taşınmasında kullanılır.</p>

Amavisit ve ark, 2003; Van Asten ve Van Dijk, 2005; Foley ve ark, 2008; Bingle ve ark, 2008; Stevens ve ark, 2009; Leung ve ark, 2011'dan modifiye edilmiştir.

Amavisit ve ark (2003), SPI-1,-3 ve -5 te genetik varyasyonları bildirirken, sıcakkanlı hayvanlardan (sığır, domuz, kanatlı, at) çevreden ve hasta insanlardan izole edilen 13 farklı *Salmonella* serovarlarındaki SPI-2 ve 4 ün daha iyi korunduğu bildirmişlerdir. SPI-1 ve SPI-2 nin tavuklarda, sığırdada, domuzda ve insanda enterite neden olduğu ve bakteri direncini artırdığı yönünde rol aldığı görülmüştür. SPI-3 tarafından kodlanmış fibronectin-binding proteinler host-spesifik salmonella kolonizasyonunu tetikler. Mesela MisL *Salmonella* kolonizasyonunu farelerde, tavuklarda ve domuzlarda artırırken sığırlarda kayda değer bir etki yapmaz (Morgan ve ark, 2004; Carnell ve ark, 2007). ShdA, *S. Typhimurium*'un direncini farelerde artırırken, domuzda arttırmaz (Kingsley ve ark, 2002; Boyen ve ark, 2006). SPI-4 sığır ileal mukozada muhtemelen SPI-1 T3SS ile birlikte tutunma ve yapışmaya aracılık eder, fakat tavukta ve domuzda aynı şekilde olmaz (Morgan ve ark, 2004; Gerlach ve ark, 2008; Stevens ve ark, 2009).

2.9. Salmonellaların Virulans Faktörleri

2.9.1. Plazmidler

Birçok *Salmonella* serovarı serotip-spesifik virulans plazmidlere sahiptir (Rodger ve ark 1999). Bunlar az sayıda kopya olan plazmidlerdir (hücre başına 1-2 kopya) ve serovara bağlı olarak 50-100 kb arası değişir (Van Asten ve Van Dijk, 2005). Her bir plazmid *Salmonella* plazmid virulans noktası (spv) içerir ki bunlar *Salmonella*'nın karaciğer, dalak

gibi retikuloendotelial sistemde çoğalması için önemlidir (Gerlach, 2008). Diğer plazmidler, serotipe bağlı virulans plazmidler, Salmonella bakterisinin direncini artırırklar. *S. Heidelberg*, *S. Kentucky*, *S. Typhimurium* gibi birçok serovarda değişik plazmidlerin virulansi artırdığı görülmüştür. (Johnson, 2010; Han ve ark, 2012).

2.9.2. Toksinler

Salmonellalar endotoksin, enterotoksin ve sitotoksin sentezlemektedirler (İzgür, 2006). Sentezledikleri bu toksinler Salmonellaların patogenezisinde önemli role sahiptir.

Endotoksinler, büyük oranda biyolojik tepkilere neden olurken eksotoksinler ise memeli hürelerini öldürebilen sitotoksinleri ve enterotoksinleri içerir. Ashkenazi ve ark (1988) Salmonella serovarı *S. choleraesuis*, *S. Enteritidis* ve *S. Typhi*' nin ısıya dayanıklı, tripsine hassas değişik molekül ağırlığında sitotoksinleri ürettiğini bildirmiştir (Ashkenazi ve ark, 1988)

Sentezledikleri endotoksinler özellikle bağırsak mukozasında harabiyete neden olmakta ve bu tür toksinleri sentezleyen Salmonellalarla infekte olan bireylerde şiddetli akut toksemi tablosu şekillenmektedir (İzgür, 2006).

Enterotoksin CAMP miktarını artırarak adenilet siklazı aktive etmekte ve dolayısıyla bağırsak epitellerinden aşırı sıvı salınımına neden olduğundan, hayvanlarda elektrolit kaybı şekillenmektedir (İzgür, 2010).

Salmonella'ların sitotoksinleri bağırsak mukozasındaki epitellerde protein sentezini engelleyerek etkili olmaktadır ve Shigella sitotoksinleri ile aynı özellikleri göstermektedir (Shivaprasad ve Barrow, 2008).

2.9.3. Fimbria

Fimbria (pili) Salmonella'nın epitelde kolonize olabilme yeteneğini artıran filamentöz yüzey yapısıdır (Collinson ve ark, 1996). Her bir fimbrial operonlar birçok gen ihtiva ederler ki, bu genler fimbrinlerin (fimbria proteinleri) yapısının belirler (Clouthier ve ark, 1994). Salmonella da birçok fimbrial operon belirlenmiş ve çoğu operonların ebatları 7-9 kb gibi değişkendir.

S. Enteritidis PT4 13 fimbrial operona sahiptir (Betancor ve ark, 2012) .Bazı fimbrial operonlara örnek agf ve sef operonlar *S. Enteritidis*'te fimbria SEF17 kodlar (Thorns ve

ark, 1996; White ve ark, 2003) pil operon (SPI-7 de lokalizedir) *S. Typhi* CT18; *S. Typhimurium*'da *lpf* (long polar fimbriae) ve *pef* (plasmid-encoded fimbriae) bulunur (Friedrich ve ark, 1993; Baumler ve Heffron, 1995). SEF 14 fimbriA'nın, *S. Enteritidis*, *S. Dublin* ve kanatlıda görülen *Salmonella* serovarlarından Berta ve *Gallinarum*'un üreme kanalındaki dokulara tutunmaları için önemli olduğu tespit edilmiştir (Turcotte ve Woodward, 1993; Doran ve ark, 1996). Tip I fimbrianın domuzda *Salmonella* kolonizasyon oranını artırırken (Althouse ve ark, 2003) , *S. Enteritidis* PT4'ün 13 ana fimbrial alt biriminin tavuk sindirim kanalında tutunma ve kolonizasyonunda rol oynadığı bulunmuş (De Buck ve ark, 2005) bu alt birimlerin yerleştiği yerler *S. Paratyphi* ve *S. Gallinarum* da korunduğu tespit edilmiştir (De Buck ve ark, 2005; Clayton ve ark, 2008).

2.9.4. Flagella

Salmonella serovarlarının çoğunda hareketliliği sağlayan flagellalar hücre yüzeyinde ona kadar rastgele dizilmiştir. Belirli serovarlar, konakçı immun tepkiyi azaltmak için flagellar antijenlerde fenotipik heterojenite oluşturarak flagellin fazda varyasyon oluştururlar (Van Asten ve Van Dijk, 2005). *fliC* gen, faz 1 flagellin proteinini kodlar ve bu *Salmonella* serovarlarından *Gallinarum* ve *Enteritidis*'te bulunur (Dauga ve ark, 1998). Flagellaya sahip olmayan, hareketsiz serotiplerle ilgili yapılan en iyi çalışmalar *Salmonella Gallinarum/Pullorum* üzerinedir (Alphons ve Jaap, 2005).

Yine de flagellanın *Salmonella* patogenezisinde memeli hücrelerine tutunma ve invazyonundaki kesin rolü net değildir (Van Asten ve Van Dijk, 2005).

2.9.5. Diğer Virulans Faktörleri

Yüzey polisakkaritleri gibi bazı virulans faktörleri *Salmonella*'nın barsak boşluğundaki direnciyle alakalı olabilir. Lipopolisakkarit (LPS) biyosentezini etkileyen çoklu mutantlar sığır ve tavuktan izole edilen *Salmonella* suşlarında belirlenmiştir (Turner ve ark, 1998; Morgan ve ark, 2004; Carnell ve ark, 2007; Stevens ve ark, 2009). Örneğin, LPS virulansi *rfbK*, *dksA*, *hupA*, *sipC*, ve *ptsC* mutantları ve *clpB* ve *rfaY* Turner ve arkadaşları (1998) tarafından 1 günlük civcivlerde incelenmiş, *ptsC* ve *rfaY* mutantları tavuktaki virulans için zayıflatılmıştır. Signature-tagged mutagenesis LPS'nin *S. Typhimurium* mutantlarının sığır barsaklarında kolonize olamadığı, yüzey polisakkaritlerin

ve hücre zarf proteinlerin *S. Typhimurium*'un sığırdaki kolonize olabilmesine yardımcı olduğunu düşünmektedirler. LPS nin *S. Enteritidis*'in yumurta albumeninde yaşayabilmesini sağladığı görülmüştür (Turner ve ark, 1998).

2.10. Mikrobiyolojik Tanı

Salmonella infeksiyonlarında kesin tanı mikrobiyolojik yöntemler ile yapılır. Kültür tanıda "altın standart"tır. Bakterinin izolasyonu kesin tanı koydurucudur ve izolatın hastalığın kaynağına dair yapılacak epidemiyolojik araştırma için büyük önemi vardır. Kültürün duyarlılığı infeksiyonun evresi, antibiyotik tedavisi, örneğin seçimi, hastanın örnek verme konusunda uyumu, örnekte bulunan bakteri miktarı, laboratuvarın deneyimi, uygun besiyerlerinin kullanımı gibi- pek çok faktörden etkilenebilir (York, 2010).

2.10.1. Salmonella İzolasyon ve İdentifikasyonu

Salmonella izolasyonu için kullanılan kültür temelli metodlar halen çok geniş bir çerçevede kullanılmaktadır. Bu metodlarla Salmonella gıdalarda, hayvan yemlerinde, fekal ve çevresel örneklerde beş ila yedi gün arasında tespit edilmektedir. Bu metodların standart olarak kabul edilmiş ISO horizontal metodu olan ISO 6579:2002 (2007) yılında güncellenmiştir (Nalbantoğlu ve ark, 2014).

2.10.2. Konakçı Spesifik Salmonella İnfeksiyonlarının Konvansiyonel Yöntemlerle Teşhisi

Salmonella infeksiyonları iki farklı şekilde görülmektedir. Bunlardan ilki, kanatlı türleri için konakçı spesifik olan iki hareketsiz serotip *Salmonella enterica subspecies enterica serovar Pullorum* ve *Salmonella enterica subspecies enterica serovar Gallinarum*'un neden oldukları infeksiyonlardır. Genç kanatlıların akut sistemik bir hastalığı olan Pullorum Hastalığı'na *S. Pullorum* neden olurken, Kanatlı Tifosu ise *S. Gallinarum* tarafından oluşturulmakta ve çoğunlukla ergin yaştaki kanatlılarda akut veya kronik septisemik hastalığa neden olmaktadır (Shivaprasad ve Barrow, 2008).

Pullorum Hastalığı'nın akut formu çoğunlukla genç tavuklarda görülür ve etken

hemen hemen tüm organlardan, dokulardan ve dışkıdan kolaylıkla izole edilebilmektedir. İleri yaşlarda ise kanatlılar taşıyıcı özellikte olup, *S. Pullorum* daha sık olarak ovum ve oviduktan izole edilirken, nadiren sindirim kanalını da içeren organ ve dokulardan izole edilir. Salmonellalar tüm dokularda yaygın olup taşıyıcı kanatlılarda etkene daha çok karaciğer, dalak ve üreme kanalında, nadiren de sekumlarda rastlanmaktadır (Shivaprasad ve Barrow, 2008).

Otopsi yapıldıktan sonra kanatlıların karaciğer ve dalaklarından direkt kanlı agara, Brilliant Green Novobiocin Agar'a ve XLD Agar'a ekim yapılır. Besiyerleri 37 ± 1 °C'de aerobik koşullarda 24-48 saat inkube edilir (İzgür, 2002). Salmonellalar kanlı agarda 1-2 mm çapında yuvarlak, parlak, pürüzsüz ve kubbe şeklinde, XLD Agar'da besiyeri ile aynı renkte, yarı saydam, bazen siyah merkezli koloniler şeklinde, BGN Agar'da pembe koloniler halinde üreme gösterirler ve çoğu besiyerinde seminal sıvınıninkini andıran karakteristik kokuya sahip büyük koloniler oluşturmaktadır (Shivaprasad ve Barrow, 2008).

Serolojik doğrulama için her petriden 5 tipik ya da şüpheli koloni Salmonella Omnivalent antiserum ile lam aglütinasyon tekniği kullanılarak inceleme yapılır. 5 kolonide aglütinasyon oluşmamış ise test negatif olarak değerlendirilir ve ileri kontrol muayenelerine devam edilmez. 5 kolonide aglütinasyon oluşmuş ise test pozitif olarak değerlendirilir ve ileri kontrol muayenelerine devam edilir (OIE, 2012).

Salmonella şüpheli kolonilerden nutrient agarda saf kültür için 37 ± 1 °C'de aerobik koşullarda 20-24 saat inkube edilir. Salmonella olduğu tespit edilen suşlar Salmonella O antiserum D1 grup, faktör 1, 9, 12 içeren antiserum ile serolojik teste tabi tutulur. Serolojik test pozitif sonuç verirse hareket muayenesi için yarı katı agara ekilir ve suşların hareketsiz olduğu tespit edildiğinde *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum*'un biyokimyasal özellikleri değerlendirilerek ayrımı yapılır (OIE, 2012).

Biyokimyasal testler için sadece nutrient agarda saf olarak üreyen koloniler tercih edilmelidir. Bu amaçla, triple sugar iron (TSI) agar, lizin demir agar (veya l-lizin dekarboksilasyon besiyeri), Christensen'e göre üreli agar, indol reaksiyonu için tripton/triptofanlı besiyeri, asit ve gaz üretiminin test edilmesi için ters çevrilmiş Durham tüpü içeren glukoz besiyeri, dulcitol, maltoz, ornitin dekarboksilaz besiyerleri kullanılmalı ve yarı-katı agarda ve/veya bir gecelik sıvı kültürlerde hareket muayenesi yapılmalıdır. *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum*'un biyokimyasal incelemesi sonucunda her iki serovarin da laktoz ve sakkaroz fermentasyonlarının ve üre hidrolizlerinin negatif olduğu, glukozu ve

maltozu fermente edebildikleri, lizin dekarboksilasyonu testinin pozitif olduğu ve değişken düzeyde hidrojen sülfid oluşturdukları görülmektedir. Bununla birlikte, durham tüplü besiyerinde ve TSI'da gerçekleştirilen glukoz fermentasyon testinde *S. Pullorum* gaz oluştururken, *S. Gallinarum*'un oluşturmadığı, *S. Pullorum* dulsitolu fermente edemezken, *S. Gallinarum*'un edebildiği, bu iki serovarı birbirinden ayırımında kullanılan en önemli test olan ornitin dekarboksilasyon testi *S. Pullorum* suşları pozitif iken *S. Gallinarum* suşlarının negatif sonuç vermektedir (İzgür, 2002; OIE, 2008).

S. Pullorum ve *S. Gallinarum* izolasyon yöntemleri örneklenen materyalin orjinine göre değişiklik göstermektedir. Bu etkenlerin kloakal swablar ve dışkıdan izolasyon sıklığı az olmakla birlikte nekropside örneklenen dokulardan izolasyon oranları daha başarılı olmaktadır (OIE, 2008).

2.10.3. Paratifo İnfeksiyonlarının Konvansiyonel Yöntemlerle Teşhisi

Paratifoid *Salmonella* etkenlerinin teşhisi için, klinik belirti gösteren ve bireysel izleme yapılacak kanatlılardan iç organ materyali ve/veya kloakal svaplar aseptik koşullarda alınmalıdır. Klinik vakalarda, belirtilerin ortaya çıkmasını takiben materyal alınmalı ve bu hayvanlarda antibiyotik kullanılmamalıdır. Kümeslerde enterik kolonizasyonu belirlemek amacıyla, kümeslerden altlık, toz ve çevresel örnekler drag/çorap svap şeklinde alınmalıdır. Bu örnekleme yöntemi ile kümeslerde ve örnek alınan yüzeylerde *Salmonella* varlığı belirlenebilir (OIE, 2012; Nalbantoğlu ve ark, 2014).

Kanatlılarda paratifo infeksiyonlarının kesin teşhisi, infeksiyona neden olan etkenlerin izolasyonu ve identifikasyonu ile gerçekleştirilir. Bununla birlikte, sürü geçmişi, klinik bulgular, mortalite ve lezyonlara dayanarak hastalıktan şüphelenilebilir (Gast, 2008; Carrique-Mas ve ark, 2008).

Salmonella izolasyon metotlarında kullanılan besiyerleri ve kültür koşulları farklılık göstermekle birlikte prensipte 4 temel aşamadan oluştukları görülmektedir. Bu aşamalar; selektif olmayan bir ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif ve ayırıcı besiyerlerine ekim ve *Salmonella* şüpheli kolonilerin konfirmasyonu ve identifikasyonu amacıyla yapılan biyokimyasal testler ve serolojik doğrulamadır (OIE, 2008).

2.10.3.1. Ön Zenginleştirme

Asemptomatik kanatlılardan toplanan dışkı örneğinde, çevresel örneklerde, hayvan yeminde ve gıda numunelerindeki Salmonellaların miktarı genel olarak düşüktür. Dolayısıyla bu örneklerden izolasyonu kolaylaştırmak için tamponlanmış peptonlu su veya nutrient broth ve trypticase soy broth gibi besiyerlerinin kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu besiyerleri Salmonella'ların çoğalmasına olanak sağlamakta ve dondurulma, ısıtılma, kurutma, biyokimyasallara maruz kalma gibi zarar görmüş Salmonella'ların yeniden aktive edilmesine yardımcı olmaktadır. ISO 6579 standardında TPS'de 37°C'de 16-20 saatlik inkubasyona dayalı önzenginleştirme işlemi gerçekleştirilir (Carrique, 2008).

2.10.3.2. Selektif Zenginleştirme

Zenginleştirme besiyerleri diğer bakterilerin üremesini sınırlarken Salmonellaların selektif olarak üremesine izin veren bileşenler içeren sıvı ya da yarı-katı besiyerleridir. Selektif zenginleştirme amacıyla kullanılan besiyerleri; Muller Kauffman broth içerisinde de yer alan sodium tetrathionate, Selenite F, Selenite cystein, Brilliant green broth ve Rappoport Vassiliadis gibi sıvı besiyerleri dışında Rappoport-Vassiliadis besiyeri, MSRV veya diagnostik yarı-katı Salmonella besiyeri (DIASALM) gibi yarı-katı zenginleştirme besiyerleri daha yüksek izolasyon sensitivitelere olanak sağlamaktadır (Voogt ve ark, 2001).

Antimikrobilyallere dirençli suşların izolasyonunda besiyerlerine belirli antibiyotikler kullanılabilir (Carrique, 2008). Selektif zenginleştirme olarak ISO 6579 metodu, Rappoport Vassiliadis Soy Peptone Broth'ta ve Tetrathionate Broth'ta 42°C'de 18-24 saatlik inkubasyonu önermektedir (Nalbantoğlu ve ark, 2014).

2.10.3.3. Selektif (ayırıcı) Besiyerine Ekim

Bu besiyerleri belirli düzeylerde ayırt edici üremeye izin veren selektif ayırıcı katı besiyerleridir. Bunlar, Salmonella dışındaki bakterilerin üremesine engel olurken, laktoz fermentasyonu negatifliği ve H₂S üretimi gibi temel ayırt edici biyokimyasal özelliklerin sergilenmesine dayalı besiyerleridir. Sonuçlar 37°C'de 24 ve 48 saatlik inkubasyon sonrasında değerlendirilir (ISO 6579/2002).

Selektif besiyerlerine örnek olarak brilliant green agar, xylose lysine desoxycholate (XLD) agar, XLT4 agar, deoxycholate/citrate agar, Rambach agar, bismuth sulphite agar gibi literatür ya da besiyeri kataloglarında bulunan birçok besiyeri gösterilebilir. Son yıllarda geniş çeşitlilikte kromojenik agarlar üretilmiştir. Bunlar şüpheli kolonilerin ayırımına olanak sağlamakla birlikte, örnek matriksleri, kültür sistemleri ve kullanılan serovar çeşitliliği açısından valide edilmelidir, çünkü sensitivite bazı koşullarda düşük olabilmektedir. ISO 6579 metodunda önerilen agarlar XLD agar ve brilliant green phenol red agar (BGPR) 'dır. Ekim yapıldıktan sonra agarlar 37°C'de 18-24 saatlik inkubasyona kaldırılır. Salmonella etkenleri XLD agarda siyah merkezli kırmızı koloniler halinde, BGPR'da ise pembe koloniler halinde üreme gösterirler (Carrique, 2008; ISO 6579 /2002).

2.10.3.4. Şüpheli Kolonilerin İdentifikasyonu

Selektif besiyerlerinde üreyen Salmonella şüpheli koloniler selektif ve non-selektif agarlara subkültüre edilerek Proteus gibi olası bakterilerin varlığı yönünden kontrol edilmelidir. Eğer yaygın ve saf bir üreme mevcutsa, şüpheli koloniler Salmonella tiplendirilmesinde kullanılan polivalan serumlarla lam aglütinasyonu ile test edilebilir (Lindberg, 1995).

Besiyerinde saf olarak üreyen kolonilere, biyokimyasal özelliklerine göre identifikasyonu yapılır. Salmonella identifikasyonunda kullanılan biyokimyasal özellikler Tablo 5'de şematize edilmiştir.

Tablo 5. *Salmonella* identifikasyonunda kullanılan biyokimyasal özellikler

BİYOKİMYASAL TESTLER	SONUÇ
Triple Sugar Iron Testi	H ₂ S Pozitif
Üre Hidroliz Testi	-
İndol Testi	-
Lizin Dekarboksilaz Testi	+
Voges Proskauer	-
B-Galaktosidaz Testi	-

Nalbantoğlu ve ark, (2014)'ten modifiye edilmiştir.

Ayrıca API (Analytical Profile Index) sistemleri gibi ticari sistemlerle ve TSI (triple sugar iron agar) gibi çoklu teste olanak sağlayan birleşik besiyerleri de bu etkenlerin saptanmasında kullanılabilir (ISO 6579 /2002).

O faktörleri ve H antijenlerinin ve bazı özel durumlarda Vi antijeninin belirlenmesi spesifik antiserumların kullanıldığı direkt lam aglütinasyon veya tüp aglütinasyon testleriyle gerçekleştirilir. Bifazik etkenler söz konusu olduğunda her iki fazın da belirlenmesi gerekmektedir. Görüntüleme, birçok faktöre karşı geliştirilen antiserumlarla gerçekleştirilebilmekte, monovalan serumların tiplendirmede kullanılmasıyla daha etkili olabilmektedir (İzgür, 2002; ISO 6579/2002; Carrique-Mas, 2008).

2.10.4. Serolojik Testler

Kanatlı hayvanların ayrı ayrı test sonuçlarının infeksiyonun aşamasına göre değişiklik göstereceğinden dolayı, serolojik testler en iyi sürü görüntüleme testleri olarak uygulanmaktadır. Bu nedendir ki, bir sürüde infeksiyonun belirlenmesi için sürüyü temsil edecek yeterli sayıda örneğin alınması o sürüdeki infeksiyonun belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Sareyyüpoğlu, 2010)

ELISA (Enzyme-Linked immunosorbent assay), antijen veya antikor tespitine dayalı bir tekniktir. Seroloji ELISA testleri bir çok ülkede in-house metod olarak kullanılmaktadır ve ulusal Salmonella kontrol programına dahil edilmektedir (Proux ve ark, 2000). Lipopolisakkarid antijenin kullanıldığı indirekt ELISA *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* da dahil olmak üzere Salmonellalar için en duyarlı ve en spesifik serolojik sürü tarama testidir. Son yıllarda, kanatlılarda *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* infeksiyonlarının teşhisi için de ELISA testleri de geliştirilmiştir (Barrow, 1992).

Günümüzde Salmonella detoksasyonu için de kullanılan birçok ELISA pleyt temelli sistem vardır. Bunlara Salmonella ELISA (BIO ART SA) TRANSIA® PLATE Salmonella Gold (BioControl) ve RIDASCREEN® Salmonella ELISA (R-Biopharm AG) örnek verilebilir. Bunun yanında ELISA sistemlerine otomatize olarak laboratuvar testlerini çalışan EIAFoss (Foss Electronics) ve VitekImmuno Diagnostic Assay System (VIDAS) (BioMerieux) örnek verilebilir (Proux ve ark, 2000).

2.10.5. Kanatlı Salmonella İnfeksiyonlarının Moleküler Teşhisi

Günümüzde Salmonella serovarlarının standart laboratuvar yöntemleriyle teşhisi selektif besiyerlerinde gerçekleştirilen kültür ve bunu takiben şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve serolojik testlerle doğrulanması ve identifikasyon tekniğine dayandığından oldukça zahmetli olup 7 güne varan bir süre gerektirmektedir. Bundan dolayı, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve PCR'ye dayalı diğer teşhis metotları hız, sensitivite, spesifite, tekrarlanabilirlik açısından önemli avantajlar sağlamış, bunların klinik örnekler ve gıda numunelerinde Salmonella identifikasyonunda kullanımları artış göstermiştir (Oliveira ve ark, 2002). PCR'nin bir diğer avantajı da, reaksiyonun belirli bir substratın kullanılmasına ya da belirli antijenlerin ekspresyonuna bağlı olmamasıdır ki, bu özelliği ile suşların biyokimyasal özelliklerindeki farklılıklar, fenotipik varyasyonlar ve saptanabilen antijenlerin eksikliğinden kaynaklanabilecek tanılama hatalarına engel olmasıdır (Hoorfar ve ark, 1999).

Çevresel, klinik ve gıda numunelerinde Salmonella deteksiyonuna yönelik PCR testleri için en önemli engellerden birisi de bu numunelerde PCR'yi inhibe eden bileşenlerdir (Roosen ve ark, 1992). Dolayısıyla, bunların giderilmesine yönelik DNA ekstraksiyon prosedürlerine ihtiyaç duyulmaktadır (Giesendorf ve ark, 1992). Bu prosedürler; bir gecelik ön zenginleştirme aşamasını takiben proteinaz-K kullanımı, guanidine isothiocyanate ile ekstraksiyon, DNA bağlayıcı matrikslerin kullanılması, fenol kloroform ekstraksiyonu, santrifugasyon ve filtrasyon teknikleri, Salmonella türlerine yönelik antikorlarla kaplı manyetik tanecikler vb. yöntem ve tekniklerin farklı modifikasyonlarını içermektedir (Coleman ve ark, 1995).

Kanatlı hayvanlarda Salmonella'nın tespiti için diğer bir hızlı tanı da önemli bir yaklaşım olan prob hibridizasyonudur. Bu teknikte, Salmonellaları cins düzeyinde saptayabilen ve hatta belirli serotiplere spesifik DNA dizilerine yönelik proplar kullanılmaktadır. Örnekten ekstrakte edilen DNA ile probun hibridizasyonu bize pozitif test sonucunu göstermektedir. Radyoaktif madde ile işaretli DNA proplarının kanatlı dışkı örnekleri ve çevresel örneklerde yüksek spesifitelerle Salmonellaların saptanmasında kullanımına ilişkin çalışmalar bulunmaktadır (Hasan ve ark, 1991; Khan, 1995). Ancak bu testler kompleks olduğundan, diğer metotlara göre yüksek maliyet gerektirebilmektedir.

Son yıllarda PCR reaksiyonlarında sıcaklık döngüleri sağlamak için kullanılan cihazların (thermocycler) hassas ölçüm aletleriyle birleştirilmesi, gerçek zamanlı PCR

(real-time PCR) olarak adlandırılan yeni bir yöntemin gelişmesine neden olmuştur. Real-time PCR'da ürünlerin analizi reaksiyon sırasında yapılmaktadır. Real-time PCR ürünlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde, diziye özgün olmayan floresan boyalardan ya da diziye özgün problardan yararlanılmaktadır (Eyigör ve ark, 2005). Gıda orijinli patojenlerin spesifik olarak saptanmasında, Real-time PCR gıda üretim zincirinin her safhasında kontamine olan ürünlerin kontrolü için güvenilir, hızlı bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Real-time PCR'ın hızlı sonuç vermesi gibi avantajlarının yanında, konvansiyonel PCR'la karşılaştırıldığında, kross kontaminasyon oranının düşük ve otomasyona yönelik olması ile rutin laboratuvarlar için uygun bir metot özelliğinde olduğu bildirilmektedir (Seo ve ark, 2004).

Polimeraz zincir reaksiyonu/tepkimesi (PCR) teknolojisinin gelişmesi belirli DNA hedef segmentlerinin spesifik amplifikasyonuna olanak sağlamıştır. Bu gelişme, PCR'yi takiben problemlerle gerçekleştirilen hibridizasyon reaksiyonlarının dışkı örnekleri, çevresel drag-svab örnekleri ve yumurta örneklerinde daha yüksek düzeylerdeki sensiviteyle Salmonella detoksasyonuna olanak sağlamıştır. İyi seçilmiş ve tasarlanmış DNA problemleri PCR tekniği ile birlikte kullanılarak, belirli virulens genlerini taşıyan, biyokimyasal özelliklere sahip olan ya da belli fimbrialar gibi yüzey yapılarını taşıyan Salmonellaların saptanmasında kullanılabilirdiği bildirilmiştir (Rijpens ve ark, 1999). Ayrıca Rijpens ve ark (1999) hücrelerin immunomanyetik separasyon (IMS) ya da santrifugasyon ile konsantre edilmesiyle PCR metotlarının çok az sayıdaki Salmonella türlerini saptayabildiğini bildirmişlerdir.

Çoklu PCR (Multiplex PCR), aynı PCR karışımının içerisinde birden fazla primer setleri kullanılarak farklı DNA dizilerine spesifik farklı büyüklükte ampikonların üretildiği özel bir PCR çeşididir. Multiplex PCR 'da PCR'ye göre aynı anda birden fazla gen araştırıldığından, zamandan, reaktiften, iş gücünden tasarruf sağlanmaktadır. Salmonella serotiplerinin identifikasyonu ve tiplendirilmesinde bu teknik başarıyla kullanılmaktadır (Soumet ve ark, 1999). PCR 'ın sağladığı avantajlar ve dezavantajlar Tablo 6'da şematize edilmiştir.

Salmonellaların moleküler tiplendirilmesi ve buna ilişkin moleküler epidemiyolojisine yönelik çalışmalarda plasmid profil analizi, pulsed field gel electrophoresis (PFGE), ribotiplendirme, polimorfik DNA'nın rastgele amplifikasyonu (RAPDPCR), DNA dizi analizi (DNA sequencing), AFLP (amplified fragment length polymorphism), VNTR (variable number tandem repeat), SNP (single nucleotide

polymorphism) gibi teknikler kullanılmıştır. Belirli serotip ve faj tiplerindeki epidemiyolojik olarak ilişkili Salmonella suşlarının moleküler ayrımı için de kullanılan bu yaklaşımlardan bazıları bir yönden efektif bulunurken diğer yönlerden etkisiz olmaktadır (Mortimer ve ark, 2004; Kisiela ve ark, 2005)

PFGE yönteminin, *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* suşlarının tiplendirilmesinde yüksek ayırt edici özelliğinin olduğu bildirilmektedir (Liebisch ve ark, 1996). PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis-Darbeli alan Elektrofrezisi) yöntemleri DNA örneklerinin katı matrikse (agoroz veya poliakrilamit) yerleştirilmesi ve jel içindeki moleküllerin statik elektrik alanında göç ettirilmesi temeline dayanmaktadır (Birren ve Eric, 1993).

Tablo 6. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun avantaj ve dezavantajları

Avantajlar	Dezavantajlar
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Hızlı ve özgüldür. ✓ Eskimiş, kurumuş, az miktarda DNA içeren örneklerle bile uygulanabilir. ✓ Toksin oluşturan etkenlerin, saptanması güç toksinlerin bakteri alt tiplerinin laboratuvar koşullarında üretilmesi geç virüslerin teşhisine uygundur. ✓ Antibakteriyel direnci olan bakterilerin saptanmasında uygundur. ✓ Babalık testinden popülasyon genetiği ve epidemiyolojik çalışmalara varıncaya geniş kullanım alanı bulunmaktadır. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Ortamdaki istenmeyen DNA'nın primer ile ortak dizilime sahip olma riski vardır. ✓ Deneyimli personel gerektirir. ✓ Cihaz ve malzemeleri pahalıdır.

Schochetman, 1988; Walker, 1989; Erlich, 1991; Persing, 1991; Arda, 1992; Wolcott, 1992; Çevik, 1994; Tunchilli, 1996; Diallo 1998 'den modifiye edilmiştir.

Salmonella tiplendirmesinde kullanılan bir diğer yöntem MLST (Multi-Lokus Sequence Typing – Çoklu Lokus Dizilim Tiplendirmesi) dir. İlk MLST şeması 7 housekeeping (hizmetçi) gen fragmentine özgü olarak 2002 yılında *Salmonella* Typhi ile *S. enterica* alttürünü birbirlerinden ayırmak için oluşturulmuştur. Bu housekeeping genler

(aroC, dnaN, hemD, hisD, purE, sucA ve thrA) kromozom üzerinde yayılmış pozisyonlarda bulunan ve bakterilerin çeşitlilik profillerini en iyi gösteren bölgeler olarak bilindiği bildirilmektedir (Kidgell ve ark, 2002).

MLST; korunan 7 temel gen (housekeeping gene) içindeki belirli kısımlar kullanılarak, bakteri izolatlarının tanımlandığı güvenilir bir yöntemdir. Her bir genin iç kısmında yaklaşık 450-500 baz çifti büyüklüğündeki parçalar, otomatik DNA dizilimleyicisi aracılığıyla iki iplikçik yönünden de doğru bir şekilde dizilimlenerek kullanılır. Bakteri türündeki farklı dizilimler, her bir korunan temel gen için farklı alleller olarak atanır ve her bir izolat için 7 lokustaki alleller, allelik profili ya da dizilim analizini tanımlar. Türlerle ait her bir izolat korunan 7 temel gen lokusundaki allellere karşılık gelen 7 tamsayı serisi sayesinde doğru bir şekilde tanımlanır ve Multi locus sequence typing sitesinden bilgilere ulaşılabilir.

Woese ve ark (1987), bakterilerin ve diğer yaşam formlarının filogenetik ilişkisinin, genetik şifrenin değişmeyen bir bölgesinin kıyaslanması ile saptanabilir olduğunu bildirmişlerdir (Woese ve ark, 1985; 1987). Bakterilerdeki bu genetik alan için uygunluğu incelenmekte olan kısımlar 5S, 16S ve 23S rDNA'yı şifreleyen genlerden meydana gelmektedir. Bakterilerde taksonomik amaçlar için en çok kullanılan DNA parçası 16S rDNA geni olduğu bildirilmiştir (Bottger, 1989; Palys ve ark, 1997; Kolbert ve Persing, 1999; Garrity ve Holt, 2001; Tortoli, 2003; Harmsen ve Karch, 2004).

16S rDNA geni, antimikrobiyel özelliği olan çeşitli kimyasallara duyarlıdır. Bu gende meydana gelen mutasyonlar, organizmanın bu kimyasallara duyarlılığını etkileyebilir ve antimikrobiyel ajanlara fenotipik direnç, 16S rDNA gen dizilimi sayesinde fark edildiği bildirilmiştir (Pfister ve ark, 2003a, 2003b). Bununla birlikte bu karakteristikler, 16S rDNA gen diziliminin klinik mikrobiyolojide kullanıldığı gibi bakteriyel tanımlamada ya da cins ve tür düzeyinde yakın ilişkilerin kararlaştırılmasında kullanıldığı bildirilmiştir ve bu karakteristikler genetik açıdan daha uzak mesafeli ilişkilerin ortaya çıkarılmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Garrity ve Holt, 2001).

2.11. Salmonella Türleri ve Antimikrobiyal Dirençlilik

Antimikrobiyal direnç, mikropların daha önce duyarlı oldukları antimikrobiyallerin etkilerini yitirmeleri ya da azalması neticesinde gelişmeye başlar. Antibiyotikler mucize ilaçlar olarak lanse edilmelerine karşılık direnç gelişimi nedeniyle antimikrobiyallerin

etkinlikleri azalmaktadır (Alanis, 2005). Antimikrobiyal direncin ya içsel olarak ya da DNA değişimi yoluyla şekillenebildiği bildirilmiştir (Croft ve Terzulli, 2007). İçsel direnç gelişimi genetik materyal mutasyonu yoluyla gerçekleşmektedir. İçsel direncin mikroorganizmalara antimikrobiyal ajanların öldürücü etkilerine karşı bazı yeni direnç adaptasyonu olanağı sağladığı bildirilmektedir. Spontan mutasyonlar, baz değişimleri, frame shift mutasyonları, genetik materyalin silinmesi, geniş DNA elementlerinin eklenmesi şeklinde olur ve doğal olarak ortalama frekansı baz çifti başına 10^{-6} olarak belirtilmektedir (Smith, 1992; Tanaillon ve ark, 2001). Kazanılmış dirençte, plazmid, transpozon veya integron formunda olan direnç faktörleri konjugasyon, transformasyon, transdüksiyon gibi yöntemlerle bakteriler arasında taşındığı Saylers tarafından bildirilmiştir (Saylers, 2002)

Selektif baskılama, birçok dirençli klonların proliferasyonu, fenotiplerin oluşumunu tespit etmekteki yetersizlikler direnç gelişimindeki önemli faktörler olarak bildirilmektedir. Bu selektif baskılama, insan hastalıklarında, tarımda ve dezinfeksiyonda antimikrobiyal ajanların yanlış ya da aşırı kullanımını içermektedir (Rybak, 2004).

Antimikrobiyal direnç, antimikrobisidler için istenmeyen en temel yan etki olmasının yanı sıra antimikrobisidallerin kullanımı insanlarda ve hayvanlarda dirençli bakteri klonlarının pozitif seçilimine de sebep olur ve bu bakteriler patojen, kommensal veya çevresel bakteriler olabilir. Bu durum mikrobiyal popülasyonun yapısını değiştirdiğinden insan sağlığını tehdit etmektedir. Antimikrobiyal direncin, gıda yoluyla, su ve çevre kontaminasyonu ve de doğrudan hayvana temas ederek yayılabildiği bildirilmiştir (Şahan ve ark, 2015).

Çoklu dirençli Salmonellalar hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotiklerin kullanımı ile ortaya çıkar ve kontrolsüzce kullanılan antibiyotikler direnç gelişimine sebep olmaktadır. Fakat bazı Salmonella serovarları direnç geliştirme konusunda daha hassastır ve bu duruma örnek olarak insanlarda ve hayvanlarda çoklu dirençli *S. Typhimurium* faj tip DT104 'ün dünyada yaygın olarak görüldüğü bildirilmiştir (Yavari, 2012).

CDC'ye göre, ABD'de yılda 47 milyondan fazla gıda kaynaklı hastalık oluşmaktadır ve bunların en az % 70'i en az bir antimikrobiyal ilaca karşı dirençlidir. Bu hastalıklardan ötürü ABD'de yılda en az 3.000 kişi ölmektedir. CDC'nin web sitesine göre, ilaç-rezistan infeksiyonlar hastanede kalış süresini uzatmakta ve uygulanan tedavi hem daha pahalı hem de hastalar için daha da toksiktir (CDC, 2011). Bu durum, bakterilerin çoklu ilaç direnci (MDR) oranını azaltacağına çoğaltmaktadır.

Zoonotik bakteriyel patojenlerde MDR'lerin oluşması ve yayılması sebebiyle toplumda ve bilimsel çevrelerde antimikrobiallerin terapötik ve sub-terapötik dozlarda hayvanlarda kullanılması konusunda dikkatler yoğunlaşmıştır (McDermott ve ark, 2002). MDR tanımı farklılıklar gösterir ve laboratuvarında en az 3 antimikrobialle karşı oluşan direnç şeklinde bildirilmiştir (CDC, 2010). Günümüzde Ulusal Antimikrobial İzleme Sistemi MDR' yi 2 ya da daha fazla antimikrobial gruba karşı oluşan direnç olarak tanımlamaktadır (NARMS, 2009).

2.11.1. İlaç Rezistans Mekanizması

Bakterinin antimikrobial direnç geliştirebilmesi için spontan ve sonradan kazanılmış iki ana yol kullanılmaktadır. Her iki mekanizma da mikroorganizmanın yaşamını sürdürebilmesi için kullandığı genetik modifikasyon formlardır. Spontan mutasyon, antimikrobiallerin letal etkilerine direnmek üzere organizmada oluşan doğal genetik mutasyonlardır. Sonradan kazanılan direnç, genetik materyalin başka bir bakteriden alınmasıdır (Alanis, 2005; Croft ve ark, 2007).

Bakteriyel direnç mekanizmaları 3 mekanizma olarak tanımlanmaktadır;

1. Spesifik protein üretimi; genellikle bunlar antimikrobial etkisiz hale dönüştüren enzimlerdir. Örnek olarak Salmonella'nın β -laktam grubundaki antimikrobialleri etkisiz hale dönüştüren β -laktamaz enzimlerini üretmesidir (Foley ve Lynee, 2008).

2. Antimikrobial ajanın bakteri hücresi dışına pompalanması; bu sayede antimikrobial ajan hücre içinde metabolik prosesleri etkileyecek yeterli derişime ulaşmamaktadır. Salmonella izolatlarındaki tetrasiklin ve kloramfenikol direnci buna örnektir (Mascaretti, 2003).

3. Reseptör modifikasyonu; antimikrobialin hedefinin kimyasal ya da mutasyon yoluyla değiştirilmesidir. Böylece antibiyotiğin hedefe bağlanması önlenmiş olur. Bu mekaniz

2.11.2. Salmonella Türlerinde Antimikrobiyal Gruplara Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları

2.11.2.1. Aminoglikozidler

Aminoglikozidler ilk olarak 1943 yılında *Streptomyces griseus* 'tan izole edilmiştir. Bu grupta bulunan ilaçlar gentamisin, neomisin, amikasin ve kanamisin olarak bildirilmektedir (Gonzales, 1998). Bakteriyostatik olarak spectinomisin haricindeki birçok aminoglikozid bakterisidal olarak bildirilmiştir (Mascaretti, 2003). Non-tifoidal Salmonella'da aminoglikozid direncinin birincil mekanizması; ilaç alımının azaltılması, ilaç modifikasyonu ve ilacın ribozomal hedefinin modifikasyonu olarak bildirilmektedir (Alcaine ve ark, 2007).

2.11.2.2. β -Laktamlar

Penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler 3 büyük beta-laktam grubudur. Bu ilaçların antimikrobiyal etkileri, bakteri hücre duvarı komponenti olan peptidoglukan sentezinde rol alan penisilin bağlayıcı proteinler olarak bilinen bir grup proteinle etkileşime girerek ortaya çıkar. Beta laktamlar genellikle bakterisidal etkilidirler, fakat etkinin ilaca, organizmaya ve hedef penisilin bağlayıcı proteine göre değiştiği bildirilmiştir (Alcaine ve ark, 2007). Salmonella türlerinde esansiyel penisilin bağlayıcı proteinin inhibisyonu bakterisidal aktivitenin artışına sebep olur. Yaygın olarak penisilin kullanımı ampisilin, metisilin ve diğer penisilin türevlerine karşı direnç gelişimini arttırdığı bildirilmiştir (Angulo ve ark, 2000).

2.11.2.3. Fenikoller

Kloramfenikoller, *Streptomyces venezuelae* tarafından üretilmiş ve 1947'de keşfedilmiştir. Kloramfenikol, tifo hastalığına karşı kullanılır ve florfenikol bu gruptaki en yeni antimikrobiyal olduğu bildirilmiştir (Mascaretti, 2003). 50S ribozomal biriminin peptidiltransferaz merkezine bağlanıp peptid bağların oluşumunu engelleyerek çalışır (Masaretti, 2003). Salmonella izolatlarındaki direnç 2 mekanizma tarafından oluşur:

1. Antibiyotiğin kloramfenikol O-acetyl-transferaz enzimi tarafından bloke edilmesi,
2. Antibiyotiğin hücre dışına pompalanması yoluyla oluşur (Cannon ve ark, 1990).

2.11.2.4. Kinolonlar ve Florokinolonlar

Kinolonlar ve florokinolonlar sentetik bakterisidal ilaçlardır ve nalidiksik asit medikal olarak kullanılan ilk kinolondur (Mascaretti, 2003). İki tip direnç mekanizması mevcuttur. Birinci mekanizma, topoizomeras IV'ün parC alt birimindeki gyrA ve gyrB'nin kinolon direncini belirleyen bölgedeki hedef mutasyonlarca oluşturulur (Cloeckart, 2001; Baucheron, 2004). İkinci mekanizma, sistem regülatörlerini kontrol eden genlerdeki mutasyonlar boyunca oluşan AcrAB-TolC akış sisteminin ekspresyonundaki değişiklikleri kapsar; bunun sonucunda bu akış sisteminin aşırı ekspresyonu ve kinolonlara karşı olan hassasiyetin azalışı meydana geldiği bildirilmiştir (Baucheron, 2004; Oliver ve ark, 2005).

2.11.2.5. Tetrasiklin

Klortetrasiklinin 1940'larda *Streptomyces aureofaciens*'ten izole edildiği bildirilmiştir (Alcaine ve ark, 2007). Tetrasiklinler, tRNA'nın 30S ribozomal alt biriminin A ucuna bağlanmasını engelleyip protein sentezini inhibe ederek etki gösterir, fakat Salmonella izolatlarındaki tetrasiklin direnç oluşumu genellikle tetrasiklini bakteri hücrelerinden dışarı atan enerji bağımlı olan akış pompası oluşumuyla şekillenmesiyle gerçekleştiği bildirilmektedir (Mascaretti, 2003). Salmonella izolatlarında tetrasiklin ve oksitetrasikline karşı en az 32 farklı direnç geni bulunmuştur. Salmonella izolatlarında en çok bulunanlar; *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*, *tet(G)* ve *tet(H)* olduğu bildirilmiştir (Mascaretti, 2003; Chopra, 2001). Bunlardan en yaygın olanı *tet(A)* Salmonella genomik ıslan 1 (Carattoli ve ark, 2002), integronlarda (Briggs, 1999) transfer edilebilir plazmidler de lokalize olmaktadır (Frech, 1999). Bu genlerin Salmonella izolatları arasında kolayca transfer olabildiği, yayılabildiği, çoklu ilaç direncinde etkili oldukları ve böylece bu genlerin ciddi Salmonella infeksiyonlarını belirlemede önemli birer marker oldukları bildirilmiştir (Carattoli ve ark, 2002; Pezzella ve ark, 2004; Chen ve ark, 2004).

2.11.2.6. Sülfonamidler ve Trimetoprim

Bu iki sınıf antimikrobiyaller bakteriyostatik etkilidir ve yarışmalı olarak tetrahidrofolik asit sentezinde rol alan enzimleri inhibe ettiği bildirilmektedir (Alcaine ve ark, 2007). Salmonella izolatlarında oluşan sülfonamid direnci extra sul geniyle alakalıdır ve bu gendihidrofolat sentetazın inhibe edilmesini sağlar (Mascaretti, 2003; Antunes ve

ark, 2005). Trimetoprim direnci bu ilacı bağlamayan dihidro folat redüktaz ekspresyonu ile ilgili olduğu bildirilmiştir (Mascaretti, 2003).

2.11.3. *Salmonella* Türlerinde Antimikrobiyal Direncin Geçişi

Salmonella popülasyonunda antimikrobiyal direnç yayılımının iki mekanizama ile olduğu bildirilmiştir (Molbak ve ark 1999; Butaye ve ark, 2006):

1. Direnç genlerinin horizontal aktarımı,
2. Antimikrobiyal ilaç-dirençli *Salmonella* izolatlarının klonal yayılımı.

Direnç genleri horizontal olarak ya *Salmonella* suşları arasında ya da diğer bakterilerden birbirlerine aktarılır (Guerra ve ark, 2002). Plazmidler ve sınıf I integronlar *Salmonella* için horizontal aktarımdan sorumludurlar (Dieye ve ark, 2009; Guerra ve ark, 2002). Çeşitli antimikrobiyal ilaç sınıfına karşı oluşan direnç genleri birçok farklı plazmid tipinde bulunabilir ve bu plazmidlerin çoğu diğer *Salmonella* ve bakteri türlerine aktarılabilen çoklu antimikrobiyal direnç genlerini taşırlar (Guerra ve ark, 2001; Villa ve Carattoli, 2005). İntegronlar, mobil gen kasetlerini tanıyan ve tutan konum-spesifik rekombinasyon sisteminin bileşenlerinin belirleyici genlerini içeren elementlerdir (Fluit, 2005) İntegronlar integraz ve bitişik rekombinasyon konum genlerini içerir. İki integron sınıfı mevcuttur, bunlar rezistans ve süper-integron olarak adlandırılır. Direnç integronlarındaki hemen hemen tüm gen kasetleri antibiyotiklere ve dezenfektanlara karşı oluşan dirençleri encode ederler (Fluit, 2005). Sınıf I ve sınıf II integronlar *Salmonella* türlerinde bulunmuştur. Sınıf I integronlar *Salmonella* genomik adalarında bulunurken (Fluit, 2005) sınıf II 'ler TN7 transpozon familyasında yerleşmişlerdir; fakat tam olarak tanımlanamamışlardır (Carattoli, 2003).

2.12. *Salmonella* Koruma ve Kontrol

Salmonella infeksiyonlarının kontrolü, birçok faktöre bağlıdır. Paratifo infeksiyonlarında bulaşma kaynaklarının farklı olması, kontrol noktalarını arttırmaktadır. Bu duruma göre işletme düzeyinde uygulanan kontrol programlarının, işletmenin yapısal özelliklerine göre oluşturulması gerekmektedir (Akan, 2008).

İşletmelerde alınan ciddi biyogüvenlik önlemleri, bakterilerin izlenmesi ve

monitoring programları kanatlı endüstrisi için önemli kritik noktaları oluşturmaktadır. Personele verilen eğitimler, kişisel hijyen alışkanlıkları, doğru el yıkama, gıda hazırlama, taşıma, depolama ve ayırımı gıda sektörü için önerilen önlemlerdir. Alınacak temel önlemler arasında; kullanılan ekipmanların temizliği, su kaynağının uygunluğu, atık politikası ve kanalizasyon sistemi, etkin HACCP uygulamaları, üretim alanında taşıyıcıların ortadan kaldırılması ve taşıma–sunma da uygun önlemlerin alınması önemlidir. Ayrıca kümeslerde *Salmonella*'ya karşı dirençli sürüler elde etmek için bakteriyolojik ve serolojik monitoring programlarının olması, vertikal bulaşma risklerini azaltmak açısından öneme sahiptir (Tessari ve ark, 2014).

Salmonella'nın çevresel alanda azalma sağlanmasında biyogüvenlik ve hijyen önlemleri çok önemlidir. Kimyasal dezenfektanların kullanımı ve sanitasyon işlemleri bu önlemlerde kullanılmaktadır (Gast, 1997). Ayrıca kemirici kontrolleri de diğer önemli bir noktadır. Kemiriciler *Salmonella* infeksiyonunun çevresel kontaminasyonu ve mikroorganizmanın kuşlara ve yumurtalara bulaşmasında oldukça etkilidir (Grimont, 2000).

Salmonella kontrolünün amaçlandığı kanatlı beslenmesinde peletleme ve organik asitlerin kullanılması yaygın bir yöntem olarak bildirilmiştir. 60 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda yapılacak olan peletleme işlemi, *Salmonella*'nın kanatlı besinlerinden elimine edilmesini sağladığı bildirilmektedir. Ayrıca pelet yemlere formik asit ve propiyonik asit eklenmesi özellikle *Salmonella* Typhimurium'un kontamine besinlerden elimine edilmesini sağladığı bildirilmiştir (Tessari ve ark, 2014).

Kompetatif ekslüzyon yetişkinlerin sekum içeriklerinin yeni doğanlara oral olarak inokulasyonunu temel almaktadır. Söz konusu içerik civcivlerin bağırsak mikroflorasının kısa zamanda olgunlaşıp patojen etkenlere karşı bağışıklık kazanmasını sağlamaktadır. Ayrıca bağırsak mukoz membranlarında patojenik mikroorganizmaların yerleşmesini önlemektedir (Nurmi ve Rantala, 1973). *Salmonella* infeksiyonunu gelişmemiş veya zayıflamış bağırsak mikroflorasını kontrol ederek elimine etmeyi sağlamaktadır.

Oral yolla erişkin bağırsak içeriğinin inokülasyonu temel olarak probiyotiklere benzer etkiye sahip olsa da, probiyotikler daha çok varolan mikroflorayı arttırmayı sağlamaktadır (Wagner, 2009).

Salmonella kontrol ve korumanın diğer önemli bir yolu duyarlı hayvanların aşıya tabi tutulmasıdır (Gast, 1997). Kanatlı sürülerinde konakçı adapte olmamış *Salmonella* türlerinin kontrol altına alınması için etkili tedbirlerin alınması bir gerekliliktir. 20 yıldan

fazla bir süredir Ulusal Kanatlı Islah Planı, Avrupa birliği No:2160/2003 yönetmeliği ve İngiliz Yumurta Endüstrisi Konseyi gibi birçok programlar *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* yayılımını kontrol altına alabilmek için başarı ile uygulandığı bildirilmiştir (Gast, 2007; Cogan, 2003). Bu kontrol programları içerisinde aşılama önemli bir bileşendir. Diğer kontrol tedbirleri ile birlikte tavukların aşılama kapsamlı *Salmonella* kontrol programının bir parçası olarak kanatlı sürülerinde *Salmonella* prevalansının azaltılmasında önemli bir stratejidir. Böylece gıda kaynaklı *Salmonella* infeksiyonları azaltılmış ve daha güvenli gıda tedariki mümkün olabileceği bildirilmiştir (Foley ve ark, 2011; Barrow, 2007; Collard ve ark, 2008).

2.12.1. *Salmonella* İnfeksiyonlarına Karşı Aşılama ve Korunmanın İmmun Mekanizması

Tavuklarda, aşılama sekal ve intestinal kolonizasyonu önlemeli, dışkı ile yayılımı azaltmalı, sistemik infeksiyonlara, vertikal bulaşma ve yumurta kontaminasyonuna karşı koruyucu olmalıdır. İnaktif ya da canlı aşı uygulamaları kanatlı hayvanların *Salmonella* infeksiyonlarına karşı duyarlılığını azaltmak amacıyla uygulandığı bildirilmektedir (Gast, 2007).

Salmonella infeksiyonlarına karşı oluşan immün yanıt oldukça karmaşık olup doğal ve kazanılan bağışıklık elemanları immün yanıtta rol oynamaktadır (Nagarajan ve ark, 2009). *Salmonella*lar adhezyon, invazyon ve konakçı dokularında yayılma da rol oynayan virulens faktörlerini kodlayan virulens genlerini taşımaktadır (Aziz ve ark, 2007). Toll-like reseptörleri (TLR) patojen etkenlerde yapısal faktörler olup doğal immün yanıtın gelişimini kontrol ederler (Chausse ve ark, 2011). Bu reseptörler mikrobiyal patojene karşı konakçı direncinin oluşumuna katkı sağlayarak virulens mekanizmalarının oluşmasını kontrol altına alır (Arpaia ve ark, 2011) ve dentritik hücre değişimlerini kontrol altına alarak kazanılmış bağışıklığı düzenlemektedir.

Salmonella Gallinarum yangı oluşumunu indükleyici etkiye sahip değildir ve bu nedenle ciddi sistemik infeksiyonlara neden olduğu düşünülmektedir (Kaiser ve ark, 2000). *Salmonella Gallinarum*'un vücuda girişi sonucunda az miktarda IL-6 üretildiği gibi bazen bu sitokin hiç üretilmemektedir ve *Salmonella Gallinarum*'un patogenezi ile konakçı spesifitesinin, infeksiyonun erken döneminde incebağırsaklarda yangısal yanıtın oluşmaması ile ilgili olduğu sanılmaktadır (Kaiser ve ark, 2000).

Enterik Salmonella serovarları ile enfekte olan tavuklarda antikor titresi, T hücre yanıtı, sitokin ve kemokin miktarı oldukça yüksektir. Gastrointestinal sistemdeki *Salmonella* Enteritidis etkenlerine karşı oluşan lokal immün yanıt, sistemik infeksiyonlarda oluşan immün yanıtla göre daha etkili olduğu bildirilmektedir (Desmidt ve ark, 1998). Salmonella infeksiyonlarında lokal hücresel immün yanıtın T hücrelerinin değişimine, özellikle de CD8⁺ hücrelerinin oluşumuna katkı sağladığı düşünülmektedir (Berndt ve Methner, 2001).

Berndt ve ark (2007) yaptıkları çalışmada tavukların sekumundaki immün yanıt mekanizmasını incelemişler ve makrofajların içinde çok az sayıda enterik bakterilere rastlandığı bildirilmiştir. Paratifoid Salmonella serovarları sekum mukozasına invaze olarak immün yanıtın karakterizasyonunda etkili olmaktadır. Sekumda IL-12, IL-18, tumor nekrozis faktör α ve nitrik oksid sentaz miktarı, Salmonella serovarlarının lamina propriyaya invazyonuyla ilişkilidir. Buna karşın IL-2 sentezi ve CD4⁺ hücrelerinin miktarı bağırsak epitelyum hücrelerinin enfekte olmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir.

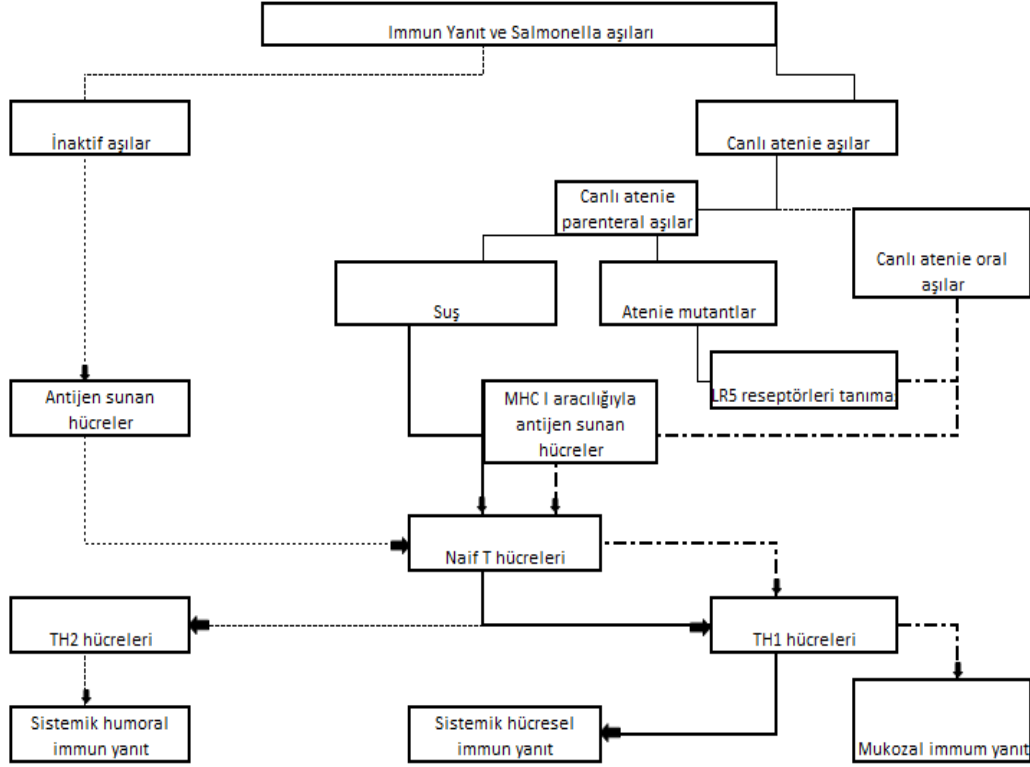
2.12.2. Salmonella İnfeksiyonlarına Karşı Aşılama

Salmonella aşılı canlı attenüe, inaktif ve subunit aşılı olmak üzere 3 kategoriye ayrılmaktadır. İdeal olarak aşı kullanımı güvenli olmalı, çapraz koruma sağlamalı, iyi tanımlanmış olmalı ve hücresel bağışıklığı harekete geçirebilmelidir (Van Immerseel ve ark, 2005; Barrow, 2007).

2.12.2.1 Canlı Attenüe Aşılılar

Canlı attenüe aşı suşları mutasyona uğramış ya da bozulmuş genleri içerir. Bu genler bakterinin metabolizması, virulensi ve konak organizmada yaşama güünü sağlayan esansiyel genlerdir. Bu tür suşların kullanılması, hücresel ve humoral bağışıklığı aktive ederek koruyucu bağışıklığın şekillenmesini ve aşının her yaşta kanatlı hayvanlara ağızdan uygulanabilir olması gibi bir takım avantajları getirmektedir. Bu sınıftaki aşılıların en önemli dezavantajı uzun süre hayvanda ve çevresinde kalması, dolayısıyla insan sağlığını tehdit etmesi olarak bildirilmiştir (Tan ve ark, 1997). Virulens genlerinden baz çıkarılmasıyla attenüe edilen aşılıların yan etkileri dikkatlice incelenmelidir. Çünkü bu tür aşılılar diğer mikroorganizmalardan gen aktarımı ile virulens genlerini tamir edebilir ve

efektif hale getirebilir (Şekil 2) (Kwon ve Cho, 2011).



Şekil 2. İnaktif ve Canlı Salmonella aşılıları kullanıldığında oluşan immün yanıt

Revollo do ve Ferreira (2012)'den modifiye edilmiştir.

Tavuk üreticilerinin kullanabileceği çok çeşitli canlı Salmonella aşılıları arasında birçoğu ruhsat almış ve ticari hale gelmiştir. *Salmonella Gallinarum* 9R suşu Avrupa'da kullanımı olan ve iyi bilinen canlı bir aşıdır (Nobilis SG 9R) ve hem *S. Gallinarum* hem de *S. Enteritidis*'e karşı kullanıldığı bildirilmiştir (Ferberwee ve ark, 2001).

Son yıllarda *S. Enteritidis* phoP/fliC mutant aşı suşu tavuklar için canlı aşı olarak kullanılmaya başlanmıştır. FliC protein, filament olarak bilinen Salmonella flagellum (bakterinin tutunması için önemlidir)'un en büyük bileşenini oluşturur. PhoP ise PhoP/PhoQ bileşeninin bir parçası olarak bakterinin virulens özelliğinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Methner ve ark, 2011). Yapılan çalışmalarda mutant suşların daha güvenli olduğu ve aşıları hayvanlarda "FliC" in varlığı ile aşıları enfekte hayvanların ayrılabilmesi noktasında açık bir avantaj sağladığı bildirilmiştir.

Attenüe Salmonella aşularının kanatlı hayvanlarda oluşturdukları immun yanıt, aşının uygulama yoluyla ilişkilidir. Parantral uygulana aşular daha çok humoral immun yanıtı uyarırken, oral yolla uygulanan attenüe aşular hem sistemik hem de mukozal immun yanıtı uyarabildiği bildirilmiştir (Bouvet ve ark, 2002).

2.12.2.2. İnaktif Aşular

Ölü aşular, ısı, formalin, aseton ve benzeri metodlarla inaktive edilen tüm bakteriyi içerirler. Çoğu ölü Salmonella aşısı kas içi ve deri altı uygulanabilir ve en az iki uygulama olması gerektiği bildirilmiştir. Bu aşi sınıfının en büyük avantajı insan sağlığına risk oluşturabilecek, ortamda yaşayabilecek canlı organizmanın olmamasıdır. (Gast, 2007). Bu aşular güçlü immun yanıt oluşturmaktadır. Bununla birlikte inaktif aşular canlı attenüe aşılardan farklı olarak kısa bir süre içinde konakçı tarafından elimine edilebilir ve sınırlı sayıda antijen sunarlar, canlı aşular ile tüm antijenler konakçıya verilir ve ilave olarak ölü aşular, en uygun yararı vermek için adjuvanta ihtiyaç duyarlar. Bu durum aşının kullanım şeklini sınırlandırdığı bildirilmiştir (Barrow, 2007). Bu aşılara örnek; Selanvac (Merck ,NJ ,USA) ölü *S.Enteritidis* aşi suşunu içerir, Layermune SE (Ceva Biomune, KS, USA) *S. Enteritidis*'in birkaç suşunu içerir (Woodward ve ark, 2002).

2.12.2.3. Subunit Aşular

Subunit aşular tek ya da çoklu antijenlerden (çoğunlukla protein içeren) oluşmaktadır. Bu bileşenler çoğunlukla bakteri hücrelerinin yüzeyinde bulunurlar ve önemli virulens karakterde olduğu bildirilmektedir. Birçok subunit aşi kas içi ya da deri altı yolla kullanılırlar şayet aşi ağızdan kullanım için içerdiği antijenin en az düzeyde etkilendiği ve mukosal bağışıklığı stimüle edecek şekilde formüle edilmediyse, inaktif aşılarda olduğu gibi, bu tip aşular için de yasal düzenleme eksikliği ve canlı organizmalar ile ilişkili biyolojik komplikasyonlar vardır ve ayrıca subunit aşular olduğuça zayıf immünolojik özelliktedir, uygun bir adjuvant ile formüle edilmesi gerektiği bildirilmektedir (Barrow, 2007).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Gereç

3.1.1. İzolasyon Örnekleri

Araştırmamız, Ege Bölgesinin batısında kanatlı yetiştiriciliği yapan Salmonella şüphesi bulunan kümeslerden 01 Eylül- 20 Aralık 2016 tarihleri arasında 253 adet tavuk örneği toplanarak gerçekleştirilmiştir. Hastalık şüphesi görülen tavukların nekropsi işlemi kanatlı teşhis ünitesinde gerçekleştirildikten sonra, tavuklardan tekniğine uygun şekilde alınan organ numuneleri Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Teşhis ve Analiz Laboratuvarına soğuk zincirde getirilmiştir. Kümeslerden alınan tavuk örneklerine yapılan nekropsi sonucunda karaciğer, dalak, kalp ve sekum organlarından Salmonella etkeni izolasyon ve identifikasyonu yapılmıştır. Tavuk örneklerine ait bilgiler Tablo 7’de belirtilmiştir.

Araştırmanın yapılmasında, Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu (ADÜ-HADYEK)’nun 25.08.2016 tarih ve 64583101/2016/141 sayılı kararı ile etik açıdan bir sakınca bulunmadığı bildirilmiştir.

Tablo 7. Kumeslerden alınan örneklerin çiftliklere dağılımı

Araştırmada örnekleme yapılan çiftlikler büyük harfler ile kodlanarak gösterilmiştir.

Numune Alınan Bölgeler	Numune Alınan Broiler Çiftlik Sayısı	Broilerden Alınan Örnek Sayısı	Numune Alınan Yumurtacı Çiftlik Sayısı	Yumurtacılardan Alınan Örnek Sayısı	Toplam Örnek Sayısı	Örnekleme Yapılan Organlar
A	20	113	10	27	140	Karaciğer, dalak, sekum, kalp
B	5	53	-	-	53	Karaciğer, dalak, sekum, kalp
C	7	6	1	1	7	Karaciğer, dalak, sekum, kalp
D	8	8	1	30	38	Karaciğer, dalak, sekum, kalp
E	4	4	-	-	4	Karaciğer, dalak, sekum, kalp
F	3	4	1	1	5	Karaciğer, dalak, sekum, kalp
G	1	6	-	-	6	Karaciğer, dalak, sekum, kalp
TOPLAM	48	194	13	59	253	

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri, Ayıraçlar, Solusyonlar ve Antibiyotik Diskleri

3.1.2.1. Besiyerleri

3.1.2.1.1. İzolasyon Besiyerleri

3.1.2.1.1.1. Kanlı Agar Base (Merck® 1.10886)

Blood agar	40 g.
Distile su	1000 ml

Karışımın pH'sı 7,2 – 7,4'e ayarlanıp, 15 dakika otoklav edildikten sonra, 50 °C'ye kadar soğutulup, içine % 7 oranında steril defibrine koyun kanı ilave edilmiştir.

3.1.2.1.1.2. Tamponlanmış Peptonlu Su (TPS) (AEB910303/4 Biomerieux®)

Kazein ve et pepton (sığır veya domuz)	10 g
Sodyum klorid	5 g
Disodyum hidrojen fosfat	3.5 g
Potasyum dihidrojen fosfat	1.5 g
Saf su	1 L
Ph	7.0

Araştırmamız için kanatlı organ örneklerinde bulunan bakterinin zenginleştirilmesinde Tamponlanmış peptonlu su (TPS) kullanılmıştır. Bimerieux firmasına ait bu hazırbesiyerleri 4x3000 lt paketler halinde gelmiş olup, numuneler steril kaplara tartılarak konulduktan sonra üzerine uygun miktarda TPS ilave edilmiştir.

3.1.2.1.1.3. Rappaport-Vassiliadis Soy Broth (RVS Broth) (1.07700.0500 Merck®)

Peptone from soymeal	4.5 g
Magnesium chloride hexahydrate	28.6 g
Sodium chloride	7.2 g
Di-potassium hydrogen phosphate	0.18 g
Potassium di-hydrogen phosphate	1.26 g
Malachite-green	0.036 g

Toz Rappaport Vassiliadis brothdan 41.8 g tartılıp, 1 litre distile su içerisine karıştırıldı. Su banyosunda homojen hale geldikten sonra 121°C'de 15 dk. otoklavda sterilize edildi. Daha sonra tüplere 10 ml olacak şekilde dağıtıldı. Selektif zenginleştirme besiyeri olarak kullanıldı.

3.1.2.1.1.4. Selenit- F Broth (42099 Biomerieux®)

Kazein ve meat peptone (bovine and porcine)	5 g
Laktoz (bovine)	4 g
Sodyum fosfat	10 g
Sodyum asit selenit	3 g
Distile su	1 l
pH	7.0

Araştırmamızda kullanılan selektif zenginleştirme besiyeri 20x9 ml tüpler halinde kullanıma hazır halde gelmiştir.

3.1.2.1.1.5. Mueller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin Broth (MKTn)

Et ekstraktı	4.3 g
Pepton	8.6 g
Sodyum klorür (NaCl)	2.6 g
Kalsiyum karbonat (CaCO ₃)	38.7 g
Sodyum tiosulfat pentahidrat (Na ₂ S ₂ O ₃ 5H ₂ O)	47.8 g
Safra tuzu	4.78 g
Brillant green	9.6 mg
Distile su	1000 ml

Tüm içerik distile suda çözdürüldü ve 5 dk. kaynatıldı. pH 25°C'de 8.2 ± 0.2'e ayarlandı.

İyot ve Potasyum İyodine solusyonu

İyot	20.0 g
Potasyum iyodin (KI)	25.0 g
Distile su	100 ml

Novobiocin solusyonu

Novobiocin sodyum tuzu	0.04 g
Distile su	5 ml

Novobiocin sodyum tuzu distile suda cozdurulur ve filtrasyon ile sterilize edildi.

MKTTn'in Hazırlanışı

Base	1000 ml
İyot-Potasyum iodine solüsyonu	100 ml
Novobiocin solüsyonu	5 ml

Novobiocin solusyonu ve base karıştırıldıktan sonra iyot solusyonu eklenir. Tüm içerik karıştırıldıktan sonra vida kapaklı tüplere 10 ml olacak şekilde paylaştırıldı. Selektif zenginleştirme besiyeri olarak kullanıldı.

3.1.2.1.1.6. Xylose Laktoz Tergitol 4 Agar (XLT 4) (AEB523420 Biomerieux®)

Pepton	1.6 g
Maya Ekstraktı	3 g
Ksiloz	3.75 g
L-lizin	5 g
Laktoz	7.5 g
Sükroz	7.5 g
Sodyum klorid	5 g
Sodyum tiyosülfat	6.8 g
Demir amonyum sitrat	0.8 g
Fenol kırmızısı	0.08 g
Tergitol 4	4.6 ml
Agar	18 g
Saf su	11 ml
pH	7.4

Araştırmamızda kullanılan bu besiyeri 2x10 kullanıma hazır petrihalinde alınmış olup seçici besiyeri olarak kullanılmıştır.

3.1.2.1.2. İdentifikasyon besiyerleri

3.1.2.1.2.1. Lassen'in 3'lü tüp besiyerleri

Tüp I

Peptone	20 g
Lactose	10 g
Glucose	1g
Sodium thiosulphate	0.2 g
Ferric ammonium sulphate	0.3 g
NaCl	6 g
Agar	17 g
Phenol red (0.2'lik)	12.5 ml
Distile su	1000 ml

Karışımın pH'sı 7.6'ya ayarlandı ve 121 °C'de 15 dk otoklav edilmek suretiyle steril edildi.

Tüp II

Peptone	5 g
Neopeptone	5 g
Mannitol	2 g
Agar	2.5 g
Potassiumnitrate	1.7 g
Phenol red (% 0.2'lik)	20 ml
Distile su	1000 ml

Karışımın pH'sı 7.6'ya ayarlandı ve 121 °C'de 15 dk otoklav edilmek suretiyle steril edildi.

Tüp III

L- Tryptophan	0.3 g
PotassiumDihydrogenphosphate	0.1 g
PotassiumHydrognephosphate	0.1 g

Üre	2 g
Ethanol (% 95'lik)	1 g
Phenol red (% 0.2'lik)	20 ml
NaCl	0.5 g
Distile su	1000 ml

Besiyerinin sterilizasyonu milipore (0.2 μ) filtreden süzülerek yapıldı (Koneman ve ark, 1997).

3.1.2.1.2.2. Triple Sugar/ Iron Agar (TSI agar)

Et ekstraktı	3.0 g
Maya ekstraktı	3.0 g
Pepton	20.0 g
Sodyum klorur (NaCl)	5.0 g
Laktoz	10.0 g
Sukroz	10.0 g
Glukoz	1.0 g
Demir (III) sitrat	0.3 g
Sodyum tiyosulfat	0.3 g
Fenol kırmızısı	0.024 g
Agar	9-18 g
Distile su	1000 ml

Agar vida kapaklı turlere 10 ml olacak şekilde paylaşılırıp 121oC'de 15 dk. otoklavda sterilize edildi. Tüpün dibindeki agar 2.5-5 cm olacak şekilde yatık vaziyette donduruldu.

3.1.2.1.3. Antibiyogram Besiyeri

3.1.2.1.3.1. Mueller-Hinton Agar (Merck® 1.05437)

Meat infusion	2,0 g/L
Casein Hydrolysate	17,5 g/L
Starch	1,5 g/L
Agar-agar	13,0 g/L

Dehidre besiyeri, 34,0 g/L konsantrasyonda damıtık su içinde ısıtılarak eritildi, otoklavda 121 °C’de 15 dakika sterilize edilip, steril petri kutularına 12,5’er ml döküldü.

3.1.2.1.4. Antibiyotik Diskleri

Antibiyotik duyarlılık testlerinde Penisilin G (P- 10 U), Seftriakson (CRO- 30 µg), Kanamisin (K- 30 µg), Sefotaksim (CTX- 30 µg), Ampisilin (AMP- 10 µg), Gentamisin (CN- 10 µg) ve Tetrasiklin (TE- 30 µg) (Oxoid®) antimikrobiyal ajanlarını ihtiva eden diskler kullanılmıştır.

3.1.2.2. Ayıraçlar

3.1.2.2.1. İndol ayıracı

P-Dimethylaminobenzaldehyde	10 g
Isoamylalcohol	150 ml
HCl (konsantre)	50 ml

3.1.2.3. Solusyonlar

3.1.2.3.1. TBE (Tris, Borik Asit, EDTA, pH:8.0) Buffer

10X TBE Stok Solusyonu

Tris Base	121,1 g
Borik Asit	61,83 g
EDTA	5,84 g

Distile su ile hacim 1000 ml’ye tamamlanarak 121 °C’de 15 dk otoklav edilip, pH 8.0 ayarlanarak buzdolabında saklandı.

0,5X TBE Kullanma Solusyonu

10X TBE.....	50 ml
Distile su.....	950 ml

Karıştırılarak solusyon hazırlandı.

3.1.2.3.2. Gel Loading Buffer (6X)

Bromfenol Mavisi	25 mg
Sükroz	4 g
H ₂ O	10 ml

Karıştırılarak solusyon hazırlandı.

3.1.2.3.3. Tris (1M)

Tris Base	121 g
-----------	-------

Tris Base 800 ml distile suda eritilip, yaklaşık olarak 60 ml HCl asit ilave edilerek pH: 7.6'ya ayarlanarak karışım 1000 ml'ye tamamlandı. 121 °C'de 15 dk otoklav edildi.

3.1.2.3.4. TE Buffer (10mM tris+ 1mM EDTA)

Tris (1M).....	.10 ml
EDTA(0,5 M).....	2 ml

Karıştırıldıktan sonra karışım 1000 ml distile su ile tamamlandı.

3.1.2.4. Boyalar

Gram boyama (Merck-111885) yapılmıştır

3.1.2.5. API 20E test kitinde kullanılan reaktifler

API 20E test kitinde kullanılan reaktifler Tablo 8'de gösterilmektedir.

Tablo 8. API 20E test kitinde kullanılan reaktifler

Test	Ayıraç damlatılacak stripler	Ayıraç	Bekleme süresi	Değerlendirme	
				Negatif	Pozitif
TDA	TDA	1 damla TDA ayıracağı	Hemen	Sarı	Koyu kahve
IND	IND	1 damla IND ayıracağı	2 dakika	Sarı	Kırmızı halka
VP	VP	1'er damla VP1 ve VP2	10 dakika	Renksiz	Pembe/kırmızı

3.1.3. PCR

3.1.3.1. Kullanılan Cihazlar

PCR işlemi 96 örnek kapasiteli ABI GeneAmp PCR System 9700 termal döngüleme cihazında gerçekleştirilmiştir.

3.1.3.2. MgCl₂, Taq DNA Polimeraz, 10XTaq Buffer, dNTP Set

25mM MgCl₂, Taq DNA polimeraz (5U), 10X TaqBuffer (100 mM (Tris-HCl, pH8.3, 500mM KCl), 100mM deoksinükleotidtrifosfat (dNTP) set (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermentas®) kullanılmıştır.

3.1.3.3. AccuStart™ II PCR SuperMix (Quanta Biosciences®)

2X konsantrasyonda MgCl₂, AccuStart™ Taq DNA polimeraz, reaksiyon buffer, deoksinükleotidtrifosfat (dNTP) set (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) AccuStart™ Taq antikoları ve stabilizerlerini içermektedir.

3.1.3.4. Primerler

Biyokimyasal identifikasyon sonucu Salmonella genusuna ait olduğu doğrulanan suşlar, PCR işlemine tabi tutulacaktır. PCR işleminde kullanılacak primerler Tablo 9'da belirtilmiştir.

Tablo 9. PCR işleminde kullanılacak primerler

Hedef gen	Primer Sekansları (5'-3')	Fragment uzunluğu	Referans
16S rRNA	F: 5'-TGT TGT GGT TAA TAA CCG CA-3' R: 5'-CAC AAA TCC ATC TCT GGA-3'	574 bp	Mir ve ark 2015
S. Enteritidis	F: 5'-TGT GTT TTA TCT GAT GCA AGA GG-3' R: 5'-TGA ACT ACG TTC GTT CTT CTG G-3'	304 bp	Mir ve ark 2015
S. Typhimurium	F: 5'-TTG TTC ACT TTT TAC CCC TGA A-3' R: 5'-CCC TGA CAG CCG TTA GAT ATT-3'	401 bp	Mir ve ark 2015
S. Gallinarum	F: 5'-GTA TGG TTA TTA GAC GTT GTT-3' R: 5'-TAT TCA CGA ATT GAATA CTC-3'	187 bp	Mir ve ark 2015
S. Pullorum	F: 5'-GACGTCGCTGCCGTCGTACC-3' R: 5'-TACAGCGAACATGCGGGCGG-3'	243 bp	Batista ve ark 2013

3.1.4. Elektroforez

Elektroforez işlemi Thermo marka, elektroforez tankında, görüntüleme işlemi Vilber Lourmat marka görüntüleme cihazında gerçekleştirildi.

3.1.4.1. Agarose Jel Hazırlanışı

Agarose (Sigma®)	1,5 veya 2 g
TBE (0,5X)	100 ml

Buffer, şişe içerisindeki agarozun üzerine ilave edilip, karıştırıldı ve mikrodalga fırında yaklaşık 3-5 dk kaynatılan karışım, 40-50 °C'ye kadar soğutuldu. Halen sıvı halde olan karışım, jel kalıbının içerisine yavaşça, kabarcık bırakmayacak şekilde döküldü ve içerisine yükleme kuyucuklarını oluşturacak olan taraklar yerleştirilerek, 15-20 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Soğutulan jel, kalıptan çıkarılarak, elektroforez tankına dikkatlice yerleştirildi.

3.1.4.2. Marker

Marker olarak 100 bp'lik DNA ladder (Fermentas®) kullanıldı.

3.1.4.3. Ethidium Bromid

Elektroforez işleminden sonra görüntüleme için jelin boyanmasında Sigma marka % 1'lik Ethidium Bromid 500 ml 0,5X TBE ile hazırlanan % 2'lik agaroz jelin içerisine 5µl miktarında eklenerek kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Fenotipik İdentifikasyon

3.2.1.1. Kanatlı İç Organlarından *Salmonella Gallinarum/Salmonella Pullorum* İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Laboratuvara getirilen infeksiyondan şüpheli kanatlı hayvanlara, ilk olarak otopsi yapılmıştır. Sonrasında karaciğer ve dalaktan direkt Kanlı Agar ve XLT 4 Agara steril öze

ile ekim yapılmıştır. Besiyerleri 37±1 °C'de aerobik koşullarda 24-48 saat inkübe edilmiştir. 24-48 saat inkübasyon sonunda üreme şekillenen besiyerlerinden Salmonella şüpheli olanlar, Nutrient Agar'a, tek koloni düşmesi sağlanacak şekilde ekildi ve 37°C'de 20-24 saat inkübe edildi. Nutrient Agar'da üreyen Salmonella şüpheli kolonilerin biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi için TSI Agar'a ekimleri yapıldı ve 24-48 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. TSI Agar besiyerleri biyokimyasal özellikler açısından değerlendirildikten sonra şüpheli izolatlardan Salmonella türlerinin identifikasyonu için API 20E test kitine ekimler yapıldı.

3.2.1.2. Kanatlı Paratifo İnfeksiyonlarının İzolasyon ve İdentifikasyonu

Nekropsi yapılan kanatlı hayvanlardan tekniğine uygun şekilde aseptik koşullarda; karaciğer, kalp, dalak ve sekum organlarından 25 gr numune alınmıştır. Sonrasında uygun koşullarda 225 ml tamponlanmış peptonlu su numune üzerine ilave edilip 37°C'lik etüvde 18-24 saat inkübe edilerek ön zenginleştirme sağlanmıştır. Ön zenginleştirme sonunda ikinci gün kültürden icinde 10 ml Rappaport–Vassiliadis Soy Buyyonu (RVS) bulunan tupe 0.1 ml ve icinde 10 ml. Tetrathionate Buyyon (Muller-Kauffman) bulunan tupe 0.1 ml. aktarılarak 42°C'de 18-24 saat zenginleştirme için inkübe edilmiştir. Ayrıca içinde 10 ml bulunan Selenit–F buyyona 0,1 ml örnekten ilave edilip, 37 °C'lik etüvde 18-24 inkübasyona bırakılarak, selektif zenginleştirme tamamlanmıştır. Üçüncü gün sonunda bir öze dolusu kültür alınarak XLT 4 Agara ekimi yapılmıştır. 24-48 saat 37 °C'de inkübasyondan (ISO 6579/2002) sonra Salmonella şüpheli koloniler Nutrient Agar'a ekilerek saf kültürü elde edildi ve biyokimyasal özelliklerine göre identifikasyon yapmak için hazır hale getirildi (OIE, 2010).

Saf kültürler gram boyama yapıldı. Gram negatif kolonilerden Lassen'in üçlü tüp besiyerlerine ekimleri yapıldı. Lassen üçlü tüp besiyerleri 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüpler biyokimyasal özelliklerine göre değerlendirildi ve Salmonella kolonilerinin identifikasyonları için API 20E test kitine ekimler yapıldı (Holt ve ark, 1994; Koneman ve ark, 2006).

3.2.1.3. API 20E ile İdentifikasyon

API 20E biyokimyasal testi için izolatlar plastik stripteki 20 kuyucuklu test tüpüne inoküle edilmiştir. Üç tüp (CIT, VP ve GEL) tamamen doldurulurken, beş test tüpü (ADH,

LDC, ODC, H₂S, URE) aneorobik reaksiyonların gerçekleşmesi için mineral yağ ile kapatılmıştır. 37°C’de 24 saat inkübasyondan sonra stripte yer alan test tüplerine Tablo 10’da belirtilen reaksiyon ve renk değişimlerine göre değerlendirilmiştir. Elde edilen bilgiler apiweb (<https://apiweb.biomerieux.com/>) veritabanına işlenmiş ve program verisi sonucunda şüpheli kolonilerin identifikasyonuna gidilmiştir.

Tablo 10. API 20E test kiti için değerlendirme kriterleri

Test	Substrat	Reaksiyon	Değerlendirme	
			Negatif	Pozitif
ONPG	Ortho-nitro-fenil - P-	Beta-galaktosidaz	Renksiz	Sarı
ADH	Arjinin	Arjinin dehidrolaz	Sarı	Kırmızı/Oranj
LDC	Lizin	Lizin dekarboksilaz	Sarı	Oranj
ODC	Ornitin	Ornitin dekarboksilaz	Sarı	Kırmızı/Oranj
CİT	Sodyum sitrat	Sitrat kullanımı	Soluk yeşil/sarı	Mavi yeşil/mavi
H₂S	Sodyum tiosülfat	H ₂ S üretimi	Renksiz/gri	Siyah dip
ÜRE	Üre	Üreaz	Sarı	Kırmızı/Oranj
TDA	Triptofan	Triptofan deaminaz	Sarı	Koyu kahverengi
IND	Triptofan	İndol üretimi	Sarı halka	Kahverengi halka
VP	Sodyum pirüvat	Aseton üretimi	Renksiz	Pembe/Kırmızı
GEL	Kohn’s jelatin	Jelatinaz	Parçalanmamış siyah pigment	Parçalanmış siyah pigment
GLU	Glukoz	Fermentasyon/ oksidasyon	Mavi/mavi yeşil	Sarı
MAN	Mannitol	Fermentasyon/ oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
INO	İnositol	Fermentasyon/ oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
SOR	Sorbitol	Fermentasyon/ oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
RHA	Ramnoz	Fermentasyon/ oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
SAC	Sükroz	Fermentasyon /oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
MEL	Melibioz	Fermentasyon/ oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
AMY	Amigdalin	Fermentasyon/ oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
ARA	Arabinoz	Fermentasyon/ oksidasyon	Mavi-mavi yeşil	Sarı
OKSİDAZ	Filtre kağıdı üzerinde	Sitokrom-oksidaz	Renksiz	Menekşe rengi
NO₃-NO₂	Glukoz	NO ₂ üretimi	Sarı	Kırmızı

3.2.2. Genotipik İdentifikasyon

3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu

Araştırmamızda izole edilen Salmonella suşlarından PCR’da kullanılmak üzere DNA ekstraksiyonu Fermentas® DNA ekstraksiyon kiti ile gerçekleştirildi.

Fermentas® DNA Isolation Kit Prosedürü:

*Bir öze dolusu Salmonella kültürü 400 µl lizis solusyonu ile süspanse edildi. 65°C’de 5 dk inkübe edildi.

*600 µl kloroform ilave edildikten sonra 10.000 rpm. de 2 dk santrifüj yapıldı. Süpernatant atıldı.

*800 µl presipitasyon solusyonu pelet üzerine ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 1-2 dakika karıştırıldı.

*10.000 rpm’de 2 dakika santrifüj edildikten sonra DNA içeren pelet 1.2 M NaCl solusyonunda çözdürüldü.

*300 µl etanol eklendikten sonra 10 dakika -20°C’de bekletildi. 10.000 rpm’de 3 dakika santrifüj edildikten sonra %70’lik etanol ile yıkandı. Daha sonra 100 µl steril distile suda çözüldü. Her bir PCR reaksiyonu için 5 µl template DNA kullanıldı

3.2.2.2. PCR

3.2.2.2.1. 16S rRNA Spesifik PCR

Araştırmamızda izole edilen Salmonella izolatlarının, *Salmonella enterica* (*S. enterica*) 16S rRNA geni taşıyan cins spesifik PCR işlemleri Lin ve Tsen (1996) tarafından bildirilen protokole göre yapıldı.

Master Mikslerin Hazırlanışı: 16S rRNA primerine spesifik ürünlerin aranması için yapılan PCR reaksiyonlarında bir örnek için PCR amplifikasyonu 50 µl toplam hacimde, son konsantrasyon 1x Taq enzimi tampon çözeltisi, 50 mM KCl, 1,5 mM magnezyum klorür (MgCl₂), 200 µmol herbir dNTP, 1 µmol primer (her biri için), 0,5 U Taq DNA polymerase (Genet Bio Exprime Taq DNA polymerase®) ve 1 µl 100 ng template DNA olacak şekilde gerçekleştirildi. Kullanılan malzemeler ve hacimleri Tablo 11 belirtilmiştir.

Tablo 11. 16S rRNA geni için mastermiks hazırlanma oranları (Lin ve Tsen, 1996)

Malzeme (Ticari)	Kullanılan Hacim
Tag Buffer (100 mM KCl)	5 µl
MgCl ₂ (25 mM)	3 µl
dNTP (10 mM)	1 µl
16S rRNA Primer F (0.1 µM)	5 µl
16s rRNA Primer R (0.1 µM)	5 µl
Taq Polimeraz (5U)	0.2 µl
ddH ₂ O	Son Volüme Tamamlanır
Template DNA (100 ng)	1 µl
TOPLAM	50 µl

Mastermiksler hazırlandıktan sonra 0,2 mL'lik tüpler, örnek adedi kadar numaralandırılıp, içlerine 49'ar µl hazırlanılan mastermiksden ilave edildi. Daha sonra, ekstraksiyonu yapılan DNA'lardan 1'er µl alınıp, ilgili tüplerin içlerine eklendi ve ağızları sıkıca kapatıldı. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazlarına yüklenip, programlandı. 16S rRNA analizlerinde kullanılan PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 12. 16S rRNA geni için PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı (Lin ve Tsen, 1996)

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
Başlangıç Denatürasyon	1	94°C	2 dk
Denatürasyon	35	94°C	20 sn
Bağlanma		54°C	20 sn
Uzama		72°C	30 sn
Son Uzama	1	72°C	2 dk
Bekletme	1	4°C	∞ dk

3.2.2.2.2. *Salmonella* Enteritidis/ *Salmonella* Typhimurium multipleks PCR

S. Enteritidis ve *S. Typhimurium* serotiplerine spesifik PCR işlemleri Alvarez ve arkadaşları (2004) tarafından bildirilen protokole göre yapıldı.

Master Mikslerin Hazırlanışı: *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* serotiplerine spesifik ürünlerin aranması için yapılan PCR reaksiyonlarında bir örnek için PCR amplifikasyonu 25 µl toplam hacimde, son konsantrasyon 1x Taq enzimi tampon çözeltisi, 50 mM KCl, 1,5 mM magnezyum klorür (MgCl₂), 200 µmol herbir dNTP, 100 nM primer (*S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* spesifik primerlerin her biri için), 1 U Taq DNA polymerase (Genet Bio Exprime Taq DNA polymerase®) ve 60 pmol template DNA olacak şekilde gerçekleştirildi. Kullanılan malzemeler ve hacimleri Tablo 13’de belirtilmiştir.

Tablo 13. *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* serotiplerine spesifik multipleks PCR için mastermiks hazırlanma oranları (Alvarez ve ark, 2004)

Malzeme (Ticari)	Kullanılan Hacim
Tag Buffer (100 mM KCl)	3 µl
MgCl₂ (25 mM)	1,5 µl
dNTP (10 mM)	1 µl
<i>S. Enteritidis</i> Primer F (0.1 µM)	1 µl
<i>S. Enteritidis</i> Primer R (0.1 µM)	1 µl
<i>S. Typhimurium</i> Primer F (0.1 µM)	1 µl
<i>S. Typhimurium</i> Primer R (0.1 µM)	1 µl
Taq Polimeraz (5U)	0.2 µl
ddH₂O	Son Volüme Tamamlanır
Template DNA (60 pmol)	1 µl
TOPLAM	25 µl

Mastermikslere hazırlandıktan sonra 0,2 mL’lik tüpler, örnek adedi kadar numaralandırılıp, içlerine 24’er µl hazırlanan mastermiksten ilave edildi. Daha sonra, ekstraksiyonu yapılan DNA’lardan 1’er µl alınıp, ilgili tüplerin içlerine eklendi ve ağızları sıkıca kapatıldı. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazlarına yüklenip, programlandı. *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* serotiplerine spesifik multipleks PCR için kullanılan PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı Tablo 14’de gösterilmiştir.

Tablo 14. *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* serotiplerine spesifik multipleks PCR işlemlerine ait ısı döngü ve süre diyagramı (Alvarez ve ark, 2004)

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
Başlangıç Denatürasyon	1	95°C	2 dk
Denatürasyon	30	95°C	1 dk
Bağlanma		57°C	1 dk
Uzama		72°C	2 dk
Son Uzama	1	72°C	5 dk
Bekletme	1	4°C	∞ dk

3.2.2.2.3. *Salmonella Gallinarum* Varlığının Araştırılması

S. Gallinarum varlığının araştırılması, Shah ve arkadaşları (2005) tarafından geliştirilen allele özgü PCR protokolü kullanılarak yapıldı.

Master Mikslerin Hazırlanışı: *S. Gallinarum* varlığının araştırılması için yapılan PCR reaksiyonlarında bir örnek için PCR amplifikasyonu 25 µl toplam hacimde, son konsantrasyon 1x Taq enzimi tampon çözeltisi, 50 mM KCl, 1,4 mM magnezyum klorür (MgCl₂), 200 nM herbir dNTP, 25 pmol primer (her biri için), 2,5 U Taq DNA polymerase (Genet Bio Exprime Taq DNA polymerase®) ve 2 µl 100 ng template DNA olacak şekilde gerçekleştirildi. Kullanılan malzemeler ve hacimleri Tablo 15’de belirtilmiştir.

Tablo 15. *S. Gallinarum* varlığının araştırılması için yapılan PCR mastermiks hazırlanma oranları (Shah ve ark, 2005)

Malzeme (Ticari)	Kullanılan Hacim
Tag Buffer (100 mM KCl)	3 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1,4 µl
dNTP (10 mM)	1 µl
<i>S. Gallinarum</i> Primer F (25 pmol)	1 µl
<i>S. Gallinarum</i> Primer R (25 pmol)	1 µl
Taq Polimeraz (5U)	0.5 µl
ddH ₂ O	Son Volüme Tamamlanır
Template DNA (100 ng)	2 µl
TOPLAM	50 µl

Mastermikslar hazırlandıktan sonra 0,2 mL'lik tüpler, örnek adedi kadar numaralandırılıp, içlerine 23'er µl hazırlanılan mastermiksdan ilave edildi. Daha sonra, ekstraksiyonu yapılan DNA'lardan 2'şer µl alınıp, ilgili tüplerin içine eklendi ve ağızları sıkıca kapatıldı. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazlarına yüklenip, programlandı. *S. Gallinarum* varlığının araştırılması için yapılan PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı Tablo 16'da gösterilmiştir.

Tablo 16. *S. Gallinarum* varlığının araştırılması için yapılan PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı (Shah ve ark, 2005)

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
Başlangıç Denatürasyon	1	94°C	5 dk
Denatürasyon	30	94°C	1 dk
Bağlanma		60°C	1 dk
Uzama		72°C	1 dk
Son Uzama	1	72°C	5 dk
Bekletme	1	4°C	∞ dk

3.2.2.2.4. *Salmonella Pullorum* Varlığının Araştırılması

S. Pullorum varlığının araştırılması, Batista ve arkadaşları (2013) tarafından geliştirilen PCR protokolü kullanılarak yapıldı.

Master Mikslerin Hazırlanışı: *S. Pullorum* varlığının araştırılması için yapılan PCR reaksiyonlarında bir örnek için PCR amplifikasyonu 25 µl toplam hacimde, son konsantrasyon 1x Taq enzimi tampon çözeltisi, 50 mM KCl, 1,5 mM magnezyum klorür (MgCl₂), 160 µM herbir dNTP, 0,6 µM primer (her biri için), 0,75 U Taq DNA polymerase (Genet Bio Exprime Taq DNA polymerase®) ve 1 µl 10 ng/µl template DNA olacak şekilde gerçekleştirildi. Kullanılan malzemeler ve hacimleri Tablo 17'de belirtilmiştir.

Tablo 17. *S. Pullorum* varlığının araştırılması için yapılan PCR mastermiks hazırlanma oranları (Batista ve ark, 2013)

Malzeme (Ticari)	Kullanılan Hacim
Tag Buffer (100 mM KCl)	3 µl
MgCl₂ (25 mM)	1,5 µl
dNTP (10 mM)	1 µl
<i>S. Pullorum</i> Primer F (0,6 µM)	1 µl
<i>S. Pullorum</i> Primer R (0,6 µM)	1 µl
Taq Polimeraz (5U)	0.2 µl
ddH₂O	Son Volüme Tamamlanır
Template DNA (100 ng)	1 µl
TOPLAM	25 µl

Mastermiksler hazırlandıktan sonra 0,2 mL'lik tüpler, örnek adedi kadar numaralandırılıp, içlerine 24'er µl hazırlanan mastermiksden ilave edildi. Daha sonra, ekstraksiyonu yapılan DNA'lardan 1'er µl alınıp, ilgili tüplerin içlerine eklendi ve ağızları sıkıca kapatıldı. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazlarına yüklenip, programlandı. *S. Pullorum* varlığının araştırılması için yapılan PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı Tablo 18'de gösterilmiştir.

Tablo 18. *S. Pullorum* varlığının araştırılması için yapılan PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı (Batista ve ark, 2013)

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
Başlangıç	1	94°C	3 dk
Denatürasyon			
Denatürasyon	25	94°C	1 dk
Bağlanma		63°C	30 sn
Uzama		72°C	1 dk
Son Uzama	1	72°C	5 dk
Bekletme	1	4°C	∞ dk

3.2.2.3. Amplikonların Elektroforez Tankına Yüklenmesi

0,2 mL tüplerde oluşturulan PCR ürünlerinden 10'ar µl pipet yardımıyla alınıp, 3 µl 6x loading dye ile karıştırıldı. Oluşturulan karışımın tamamı alınarak, jeldeki uygun pozisyondaki kuyucuğa yüklendi.

3.2.2.4. Jelde Yürütme

Hazırlanmış olan %1 ethidium bromid ilaveli % 2'lik agaroz jele, istenilen örnekler ve markerların yüklemesi yapıldıktan sonra, elektroforez tankının kapağı kapatılıp, elektrotlar uygun pozisyonda bağlandıktan sonra 80V 500A akımda 40 dakika yürütüldü.

3.2.2.5. Görüntüleme ve Değerlendirme

Elektroforez işleminin ardından elde edilen jel, dikkatli bir şekilde elektroforez tankından çıkarıldı. Süre sonunda yürütülen jel, bilgisayara bağlı durumdaki transilluminatör cihazındaki odacığa yerleştirildi. UV ışığı ile fotoğraflandıktan sonra, bant uzunlukları her PCR için ayrı değerlendirildi.

PCR analizi değerlendirmesinde, *Salmonella enterica* 16S rRNA geni için 574 bp, *Salmonella Enteritidis* 304 bp, *Salmonella Typhimurium* için 401 bp, *Salmonella Gallinarum* 187 bp ve *Salmonella Pullorum* için 243 bp uzunluğunda bant oluşumları gözlemlendi.

3.2.3. Antibiyogram

İdentifiye edilen *Salmonella* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla Müeller-Hinton Agar kullanılarak Disk Diffüzyon yöntemi uygulanmıştır. Hazırlanan Müeller-Hinton besiyeri 10 cm çapındaki petrilere 4 mm kalınlığında olacak şekilde döküldükten sonra katılaşmaya bırakılmıştır. *Salmonella* suşlarının 0.5 Mc Farland değerindeki buyyon kültürlerinden plak besiyerinin yüzeyine 0,1 ml ya da svap ile her tarafa yaydırılarak ekimleri yapılmıştır. Ekim yüzeyinin kuruması için birkaç dakika beklenildikten sonra diskler disk dispenser (Oxoid®) yardımı ile yerleştirilmiştir.

Araştırmamızda antibiyotik duyarlılık testlerinde Penisilin G (P- 10 U), Seftriakson (CRO- 30 µg), Kanamisin (K- 30 µg), Sefotaksim (CTX- 30 µg), Ampisilin (AMP- 10 µg),

Gentamisin (CN- 10 µg) ve Tetrasiklin (TE- 30 µg) (Oxoid®) antimikrobiyal ajanlarını ihtiva eden diskler kullanılmıştır.

Besiyerleri 15 dk oda ısısında bekletildikten sonra, 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiş, disk çevresindeki inhibisyon zon sınırları ölçülerek Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012) standartlarına göre yorumlanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Fenotipik Bulgular

Salmonella infeksiyonundan şüpheli olan tavukların nekropsilerinden alınan karaciğer, dalak, sekum ve kalp iç organlarından *Salmonella* Gallinarum-*Salmonella* Pullorum İzolasyonu için XLT 4 ve Kanlı agar besiyerlerine, *Salmonella* Typhimurium-*Salmonella* Enteritidis İzolasyonu için ise ISO 6579 göre ekimler yapıldı. İnkubasyonlar sonucunda üreme görülen kolonilere Gram boyama yapılarak Gram negatif olanlar identifikasyon testleri için pasajlandı. Pasajlara biyokimyasal testler klasik yöntemler ile yapıldıktan sonra Salmonella şüpheli izolatların API 20E ile identifikasyonları yapıldı.

Araştırmamızda 253 adet tavuk örneğinin karaciğer, dalak, sekum ve kalp organlarından yapılan identifikasyonlar sonucunda 43 (% 17,0)'ünde *Salmonella* sp. izole edilmiştir. Bu izolatların API 20E profillerine bakıldığında tümünün *Salmonella* sp. olarak identifiye edildiği görülmektedir. Salmonella izolatlarının API 20E sonuçları Tablo 19'da ve API 20E profilleri Resim 1 ve 2'de gösterilmektedir.

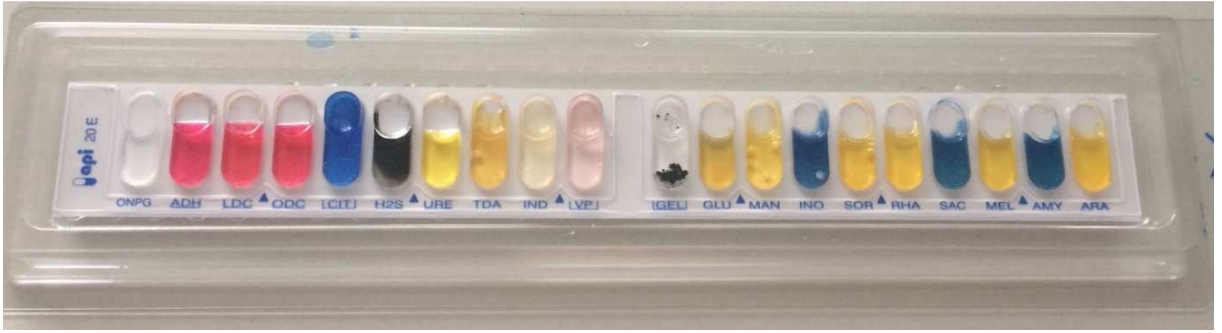
Tablo 19. Salmonella izolatlarının API 20E sonuçları

Sıra No	Bölgelere Göre Yerleşim	Salmonella İzolasyonu Yapılan Organlar	API 20E profili	API 20E identifikasyonu
1	A	Sekum	6744752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
2	D	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
3	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
4	D	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
5	D	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
6	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
7	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
8	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6
9	A	Sekum	6706752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
10	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6
11	A	Sekum	6704573	<i>Salmonella</i> sp. %81,5
12	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8

13	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6
14	D	Sekum	6706752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
15	F	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
16	D	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
17	F	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
18	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
19	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
20	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
21	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
22	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
23	E	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
24	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
25	B	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
26	F	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
27	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
28	E	Sekum, Karaciğer, Dalak, Kalp	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
29	E	Sekum, Karaciğer, Dalak, Kalp	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
30	E	Sekum, Karaciğer, Dalak, Kalp	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
31	A	Sekum	4704152	<i>Salmonella</i> sp. %99,9
32	F	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
33	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
34	C	Sekum	6706752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
35	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
36	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
37	D	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
38	A	Sekum	6744752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
39	D	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
40	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6
41	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
42	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8
43	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8



Resim 1. API 20E 6704552 profili.



Resim 2. API 20E 6704752 profili

4.2. Genotipik Bulgular

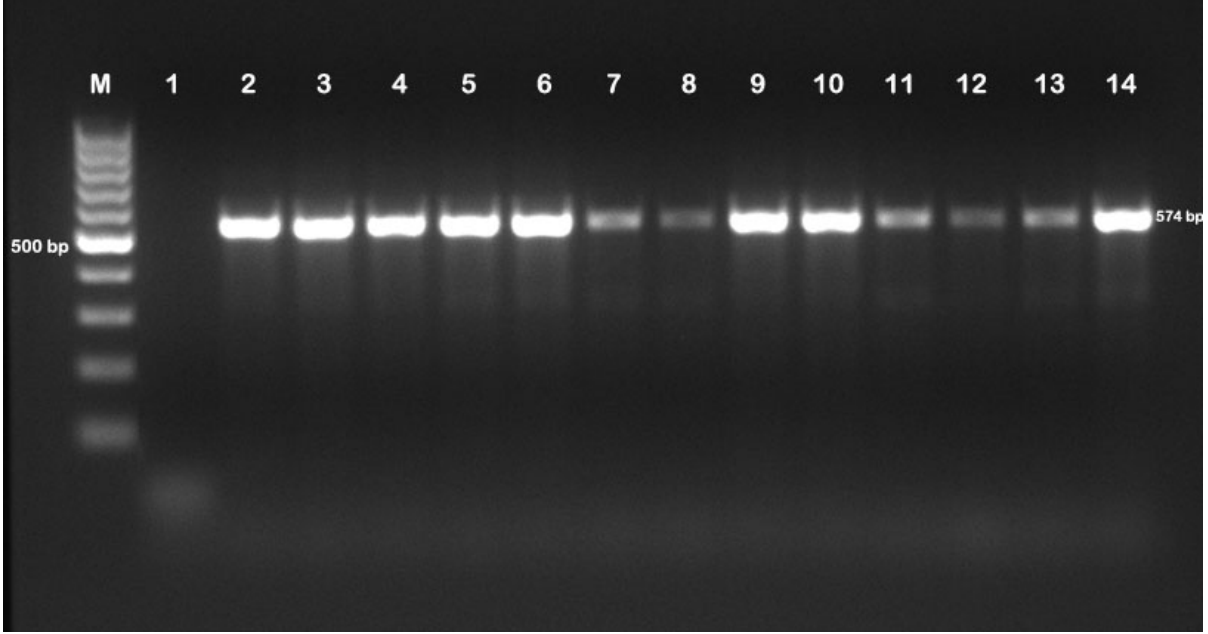
Araştırmamızda identifikasyonları yapılan 43(% 17,0) *Salmonella* sp. izolatının *Salmonella enterica* (*S. enterica*) 16S rRNA geni taşıyan cins spesifik PCR işlemleri Lin ve Tsen (1996) tarafından bildirilen protokole göre yapıldı. PCR işlemi sonucunda tüm izolatların (n=43) *S. enterica* olarak identifikasyonları yapıldı (Tablo 20). *S. enterica* pozitif örneklerle ait jel görüntüsü Resim3'te gösterilmektedir.

Tablo 20. *Salmonella enterica* (*S. enterica*) 16S rRNA cins spesifik PCR sonuçları

Sıra No	Bölgelere Göre Yerleşim	Salmonella İzolasyonu Yapılan Organlar	API 20E profili	API 20E identifikasyonu	16S rRNA PCR sonuçları
1	A	Sekum	6744752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
2	D	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
3	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
4	D	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
5	D	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif

6	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
7	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
8	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6	Pozitif
9	A	Sekum	6706752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
10	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6	Pozitif
11	A	Sekum	6704573	<i>Salmonella</i> sp. %81,5	Pozitif
12	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
13	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6	Pozitif
14	D	Sekum	6706752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
15	F	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
16	D	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
17	F	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
18	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
19	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
20	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
21	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
22	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
23	E	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
24	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
25	B	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
26	F	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
27	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
28	E	Sekum, Karaciğer, Dalak, Kalp	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
29	E	Sekum, Karaciğer, Dalak, Kalp	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
30	E	Sekum, Karaciğer, Dalak, Kalp	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
31	A	Sekum	4704152	<i>Salmonella</i> sp. %99,9	Pozitif
32	F	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
33	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
34	C	Sekum	6706752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
35	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
36	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
37	D	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
38	A	Sekum	6744752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
39	D	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif

40	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6	Pozitif
41	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
42	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif
43	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif



Resim 3. *Salmonella enterica* 16S rRNA geni taşıyan cins spesifik PCR görüntüsü

M:100 bp DNA ladder, 1: Negatif Kontrol, 2-14: *Salmonella enterica* pozitif örnekler.

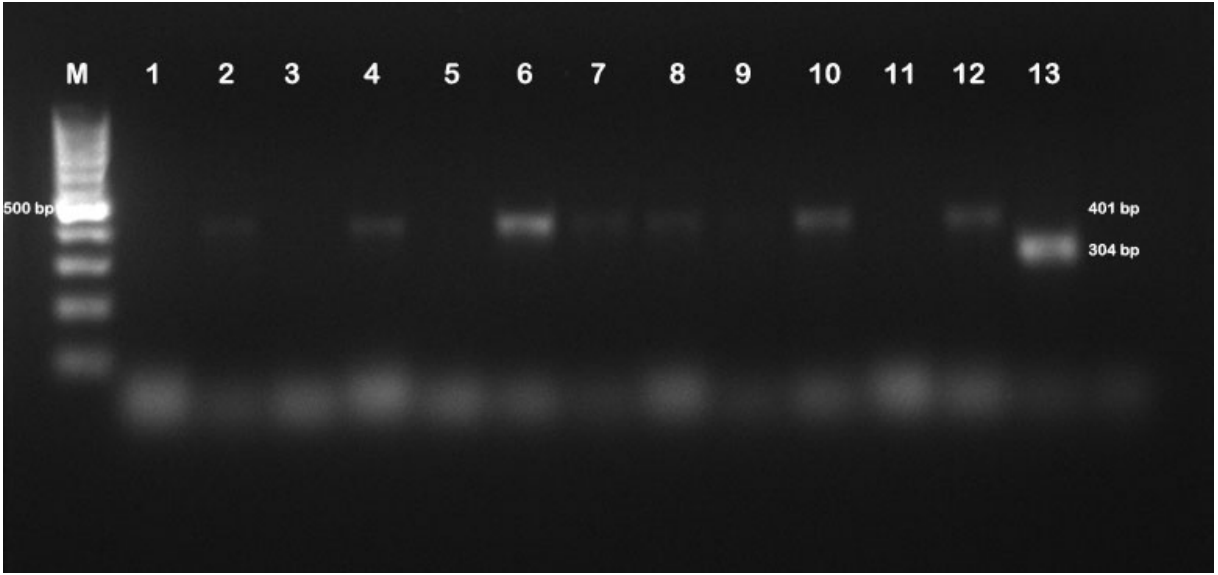
S. enterica olarak identifikasyonları izolatların *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* serotiplerine spesifik multipleks PCR işlemleri Alvarez ve arkadaşları (2004) tarafından bildirilen protokole göre yapıldı. *S. enterica* izolatlarına yönelik yapılan tür spesifik PCR sonucunda, 4 (% 9,3) izolatın *S. Enteritidis* ve 39 (% 90,7) izolatın *S. Typhimurium* olarak tiplendirildiği görülmüştür (Tablo 21). *S. Enteritidis* izolatlarının 2 (% 50)'si broiler ve diğer 2 (% 50)'si ise yumurtacı çiftliklere aittir. *S. Typhimurium* izolatlarının 31 (% 79,5)'si broiler ve diğer 8 (% 20,5)'i ise yumurtacı çiftliklere ait bulunmaktadır. *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* pozitif örneklere ait jel görüntüsü Resim 4'te gösterilmektedir.

Tablo 21. *Salmonella enterica* tür spesifik multipleks PCR sonuçları

Sıra No	Bölgelere Göre Yerleşim	Salmonella İzolasyonu Yapılan Organlar	API 20E profili	API 20E identifikasyonu	16S rRNA PCR sonuçları	S. Typhimurium PCR sonuçları	S. Enteritidis PCR sonuçları
1	A	Sekum	6744752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
2	D	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
3	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
4	D	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
5	D	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
6	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
7	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
8	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6	Pozitif	Pozitif	
9	A	Sekum	6706752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
10	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6	Pozitif	Pozitif	
11	A	Sekum	6704573	<i>Salmonella</i> sp. %81,5	Pozitif	Pozitif	
12	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
13	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6	Pozitif	Pozitif	
14	D	Sekum	6706752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	

15	F	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
16	D	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
17	F	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
18	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
19	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
20	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
21	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
22	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
23	E	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
24	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
25	B	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
26	F	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
27	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif		Pozitif
28	E	Sekum, Karaciğer, Dalak, Kalp	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
29	E	Sekum, Karaciğer, Dalak, Kalp	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
30	E	Sekum, Karaciğer, Dalak, Kalp	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
31	A	Sekum	4704152	<i>Salmonella</i> sp. %99,9	Pozitif		Pozitif

32	F	Sekum, Karaciğer	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
33	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
34	C	Sekum	6706752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
35	C	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
36	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
37	D	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
38	A	Sekum	6744752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
39	D	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
40	A	Sekum	6704552	<i>Salmonella</i> sp. %89,6	Pozitif	Pozitif	
41	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif	Pozitif	
42	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif		Pozitif
43	A	Sekum	6704752	<i>Salmonella</i> sp. %99,8	Pozitif		Pozitif



Resim 4: *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* pozitif örneklere ait PCR görüntüsü

M:100 bp DNA ladder, 1: Negatif Kontrol, 2, 4, 6, 7, 8, 10, 12: *S. Typhimurium* pozitif örnekler, 13: *S. Enteritidis* pozitif örnekler, 3, 5, 9, 11: *Salmonella* negatif örnekler.

Araştırmamızda izole edilen 43 (% 17,0) *Salmonella* sp. izolatının tamamının yapılan genotipik identifikasyonları sonucunda *S. enterica* oldukları ve bu izolatların 4 (% 9,3)'ünün *S. Enteritidis* ve 39 (% 90,7)'unun *S. Typhimurium* olarak tiplendirildiği bulunmuştur.

Araştırmamızda izole edilen 43 (% 17,0) *Salmonella* sp. izolatı *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum* türlerine spesifik PCR metotları ile de incelenmişlerdir. Ayrı ayrı yapılan PCR işlemleri sonucunda izolatların *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum* yönünden negatif olduğu da doğrulanmıştır.

4.3. Antibiyogram Bulguları

Araştırmamızda identifiye edilen 4 (% 9,3) *S. Enteritidis* ve 39 (% 90,7) *S. Typhimurium* izolatlarının antibiyogramları Disk Diffüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Elde edilen antibiyogram sonuçları Tablo 22'de gösterilmektedir.

S. Enteritidis (n=4) izolatlarının, Gentamisin, Seftriaksona % 100 oranında, Kanamisin, Tetrasikline % 50 oranında duyarlı; Sefotaksime % 75 oranında orta derece duyarlı ve Ampisilin ile Penisiline ise % 100 oranında dirençli oldukları saptanmıştır.

S. Typhimurium (n=39) izolatlarının, Seftriaksona % 92, Gentamisine % 82, Kanamisin ve Sefotaksime % 61, Tetrasikline % 51 oranlarında duyarlı; Ampisilin % 97 ve Penisiline ise % 100 oranında dirençli oldukları belirlenmiştir.

Tablo 22. Salmonella izolatlarının antibiyogram sonuçları

SIRA NO	İZOLATLAR	ANTİBİYOTİKLER						
		Gentamisin (CN)	Seftirakson (CRO)	Kanamisin (K)	Tetrasiklin (TE)	Sefotaksim (CTX)	Ampisilin (AMP)	Penisilin G (P)
1	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
2	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	R	R	S	R	R
3	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	R	S	R	R
4	<i>S. Typhimurium</i>	R	S	R	R	I	R	R
5	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	R	S	R	R
6	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	R	R	I	R	R
7	<i>S. Typhimurium</i>	S	I	I	S	R	R	R
8	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
9	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	S	R
10	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	R	I	R	R
11	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
12	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
13	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
14	<i>S. Typhimurium</i>	I	S	I	R	I	R	R
15	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	R	I	R	R
16	<i>S. Typhimurium</i>	R	S	I	R	S	R	R
17	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	R	S	R	R
18	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
19	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	R	I	R	R
20	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
21	<i>S. Typhimurium</i>	R	R	I	R	R	R	R

22	<i>S. Typhimurium</i>	R	S	I	R	I	R	R
23	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
24	<i>S. Typhimurium</i>	R	S	I	R	I	R	R
25	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	R	R	S	R	R
26	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
27	<i>S. Enteritidis</i>	S	S	S	S	I	R	R
28	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
29	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	R	S	R	R
30	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	I	S	R	R	R
31	<i>S. Enteritidis</i>	S	S	S	S	S	R	R
32	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
33	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	I	S	I	R	R
34	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
35	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
36	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
37	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	R	R	S	R	R
38	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	I	R	R
39	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	R	R
40	<i>S. Typhimurium</i>	S	I	R	R	R	R	R
41	<i>S. Typhimurium</i>	R	S	R	R	I	R	R
42	<i>S. Enteritidis</i>	S	S	I	R	I	R	R
43	<i>S. Enteritidis</i>	S	S	R	R	I	R	R

TARTIŞMA

Salmonella türleri tüm dünyada yaygın olarak görülen, özellikle kanatlı hayvanlarda verim düşüklüklerine ve ölümlere sebebiyet veren, hayvanlarda ekonomik kayıplara neden olan, çok önemli zoonotik bir patojendir (Arda ve ark, 1994; Akan, 2002; Makaya ve ark, 2012). İnfeksiyon başta *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* olmak üzere birçok Salmonella serovarı tarafından meydana gelmektedir. Dünya genelinde alınan önlemler ve kontrol uygulamalarına rağmen gıda kaynaklı Salmonella infeksiyonları halk sağlığını ciddi şekilde tehdit etmeye devam etmektedir (Şahan, 2016).

Son yıllarda dünya genelinde zoonotik gastrointestinal hastalıkların prevalansındaki artış dikkat çekmektedir (Makaya ve ark, 2012). Avrupa Birliği ülkelerinde 2009 yılında insanlarda toplamda bildirilen Salmonella infeksiyonlarının insidensi 108.614 vaka olarak rapor edilmiştir. Avrupa Birliği, her 100000 kişinin 23,7'sinde Salmonella vakası görüldüğünü bildirmektedir. Bu vakaların Portekizde 2,1-100,1/100000 kişi arasında değişen sayıda görüldüğü ve 2009 yılında bildirilen Salmonella vakalarının % 56'sının Çek Cumhuriyeti, Almanya, İngiltere ve Polonya'da var olduğu tespit edilmiştir (EFSA, 2011). Kanatlı etlerinin tüketiminin artmasıyla tüm dünyada kanatlı kaynaklı zoonoz hastalıklarda bir artış görülmektedir. Dolayısıyla, Salmonella'lar ile kontamine olmuş kanatlı etleri ile bu gruptan hazırlanmış çeşitli ürünler (sucuk, salam, sosis vs.) az pişmiş ya da pişmemiş yumurtalar veya içerisinde yumurta kullanılan ürünler halk sağlığı açısından oldukça tehlike oluşturmaktadır (Barrow, 1991; Bilgehan, 1992). Scallan ve ark (2011), Amerika'da meydana gelen 9,4 milyon gıda kaynaklı infeksiyonun 5,5 milyonunun (% 59) viral etkenler; 3,6 milyonunun (% 39) bakteriyel etkenler ve 0,2 milyonunun (% 2) paraziter etkenler tarafında oluşturulduğunu bildirmişlerdir. Söz konusu infeksiyonların yaklaşık olarak 1 milyonunun (% 11) nontifoid Salmonella türleri tarafından oluşturulduğu, 42000 tanesinin laboratuvar sonuçları ile desteklendiği, 19000 olguda hastaların hospitalize edildiği ve 400 ölümün gerçekleştiği rapor edilmiştir (Scallan ve ark, 2011).

Kanatlılarda Salmonella serovarlarının prevalansı ülkeler ve yıllar arasında farklılıklar göstermektedir. Bazı serovarlar belli bir zaman içinde ülkeler için önemliken bazen hiçbir belirti göstermeden yok olmaktadır. Tarihte, *S. enterica* serovar Typhimurium kanatlılardan izole edilmiş en yüksek prevalansa sahip serovardır.

İngiltere’de 1968 ve 1973 yılları arasında, *S. Typhimurium* *Salmonella* izolatlarının % 40’ını ve *S. Enteritidis* (% 6), *S. Pullorum* (% 4), *S. Gallinarum* (% 3)’ünü oluşturmaktadır (Sojka ve ark, 1977). Hollanda ‘da 1990 yılında yapılan bir çalışmada rastgele seçilen yumurtacı ve broiler hayvanlarda *S. Typhimurium* (% 25), *S. Enteritidis* (% 20,6) ve *S. Hadar* (% 17,6) olarak izole edildiği bildirilmiştir (Van de Giessen ve ark, 1991). Amerika Birleşik Devletleri’nde 1990 yılında 406 yumurtacı çiftliklerinden, 23.431 adet fekal örnek toplanmış ve *S. Enteritidis* izolasyonu (% 24) olarak tespit edilmiştir (Pope ve ark, 1991).

Yurdumuzun çeşitli bölgelerinde *Salmonella* ve serotiplerinin izolasyon çalışmaları da yapılmıştır. Kalender ve Muz (1996) Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsüne hastalık şüphesiyle getirilen 527 tavuğun 57 (% 10,81)’sinden *Salmonella* suşu izole ettiklerini ve bunların % 39’unun *S. Enteritidis*, %14’ünün *S. Gallinarum*, % 4’ünün *S. Thiophimurium* olarak serotiplendirdiklerini bildirmişlerdir. Gökçen ve Erganiş (1996), 300 tavuk örneğinden 4 farklı serotipe (*S. Typhimurium*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *S. Newington*) ait 13 *Salmonella* suşu izole ettiklerini bildirmişlerdir. Aksakal (2003), Van yöresinde tavuk, hindi, bıldırcın ve deve kuşlarının dışkılarında (1200 adet) *Salmonella* türlerinin varlığı ve yaygınlığını araştırmış, % 4,08 oranında *Salmonella* serotipi izole ve tanımlamış; bunlardan 10 (% 35,71)’unun *S. Enteritidis* olduğunu bildirmiştir. Kılıç ve Aydın (2006), Kayseri yöresindeki 578 kanatlı örneğini *Salmonellosis* yönünden incelemiş ve izole edilen 61 adet *Salmonella* suşunun 33 (%71,7)’ünü *Salmonella* *Enteritidis* olarak serotiplendirmişlerdir. Türkyılmaz ve ark (2007) Aydın ilinde yapmış oldukları çalışmada, 460 kloakal svap örneğinden 29 (% 6,3)’unu *Salmonella* sp.; 19’unu (% 4,1) *Salmonella* *Enteritidis* olarak tespit etmişler ve izole ettikleri *Salmonella* sp. içerisindeki *Salmonella* *Enteritidis* oranını % 65,5 olarak bildirmişlerdir. Oral ve ark (2008), 422 broyler ve broyler damızlığına ait iç organ materyallerinden (bağırsak, karaciğer, kalp, ovaryum) yaptıkları çalışmada, 47 (% 11,1)’sinden *Salmonella* sp. izole ettiklerini; bunlardan 7 (% 14,9)’sini *Salmonella* *Enteritidis* olarak serotiplendirdiklerini bildirmişlerdir. Ata ve Aydın (2008), tavukların dışkı ve yumurtalarında *Salmonella* etkenlerinin izolasyonu için Ankara bölgesinde yaptıkları çalışmada, 1000 kloakal swap alınan 50 kümeden 6 (%12)’sinden ve 100 örneğin 6 (%6)’sinden *Salmonella* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Kahya ve ark (2014)’nin yapmış oldukları bir başka çalışmada, farklı yetiştirme dönemlerindeki yumurtacı tavuklarda *Salmonella* tespit etmişler ve farklı metodlarla serotiplendirmişler; incelenen 58 kümesin 17 (%29,31)’i ve 174 adet drag svap örneğinin 22 (%12,62)’si *Salmonella* yönünden pozitif olarak bulunmuş olup; elde edilen 22

Salmonella izolatının 20 (%90,90)'sinin *Salmonella enterica* subsp *enterica*, 9'unun *S. Enteritidis* (%40,9), 7'sinin (%31,8) *S. Infantis* olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Dümen ve ark (2015)'nin *Salmonella* sp. varlığını belirlenmek için yaptıkları serotiplendirme çalışmasında, 100 adet çiğ tavuk karkasında 15 (%15) *Salmonella* sp. izole etmişler ve bunlardan 4 (%26,6) adedi *S. Enteritidis*, 3 (%20) adedi ise *S. Typhimurium* olarak serotiplendirdiklerini bildirmişlerdir.

Araştırmamızda Ege bölgesindeki kümeslerden örneklenen tavuk (kalp, karaciğer, kalp, sekum) organlarından yapılan ekimler sonucunda 253 adet tavuk örneğinin 43'ünde (% 17,0) *Salmonella* sp. izolasyonu yapıldı. Elde ettiğimiz izolasyon bulgularının daha önce yapılan araştırma sonuçları ile karşılaştırıldığında farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Bulgular arası farklılıkların nedeni, araştırma yapılan bölgelerin farklı olması, kümeslerde uygulanan hijyen ve biyogüvenlik tedbirleri, yetiştirme koşulları, yönetim şartları, örnekleme sayısı, örnek tipi (drag svap, çevre örneği, kloakal svap, çeşitli organ örnekleri), mevsim, laboratuvarda uygulanan çeşitli izolasyon ve identifikasyon teknikleri gibi değişkenlerin biri veya birkaçının toplu olarak etkileşiminden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Kanatlılarda *Salmonella* infeksiyonlarının teşhisi geleneksel olarak, selektif besiyerleri kullanılarak yapılan kültür ve şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve serolojik testlerle karakterizasyonu şeklinde uygulanmaktadır (Kounmuang ve ark, 1994). Fakat bu metodlarla (kültür-identifikasyon) yapılan standart laboratuvar işlemleri 4-8 gün gibi uzun bir sürede tamamlanmaktadır, oldukça uzundur. Ayrıca taşıyıcı hayvanlarda ve bazı durumlarda (klinik örneklerde *Salmonella*'yı inhibe eden mikroorganizmaların varlığı, antibiyotik kullanımı vb.) klinik örneklerde etken sayıca az bulunduğundan *Salmonella* izolasyonu yapılamamaktadır (Akın ve ark, 1999). Bu nedenlerle çok daha hızlı ve duyarlı yöntemlere ihtiyaç duyulmuş, ve bu amaçla daha seçici kültür metodları, DNA hibridizasyon testleri ve immunglobulinlerin kullanıldığı testler geliştirilmiştir. (Wang ve ark, 1999). PCR ile klinik ve çevreye ait örneklerde var olan *Salmonella*'yı belirleyebilecek hedef DNA segmentlerinin oldukça yüksek bir duyarlılıkta ve spesifikte amplifikasyonu yapılabilmektedir (Wang ve ark, 1999; Kataria ve ark, 1998). Alverez ve ark (2004) yaptıkları çalışmada, İspanya'da *Salmonella*'nın eş zamanlı olarak en önemli beş serotipin ve faj tipinin tespit edilebilmesi için multiplex PCR geliştirdiklerini bildirmişlerdir. Mir ve ark (2015), Hindistan'da yaptıkları çalışmada çeşitli kanatlı türlerinde *Salmonella* izolatlarının çıkışları ve serotip çeşitliliklerini 16 S r RNA cins

spesifik PCR tekniği ile incelemişler ve *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium ve *Salmonella* Gallinarum gibi sık rastlanan serovarların tespitinde kullandıklarını bildirmişlerdir. Çarlı ve ark (2001), selektif zenginleştirme sonrası hem deneysel olarak hem de klinik örneklerden PCR testiyle *Salmonella* türlerini hızlı ve güvenilir bir şekilde tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Dünya genelinde *Salmonella*'nın izolasyon ve serotiplendirmesine ilişkin çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalar içerisinde, Hindistan'da çeşitli kanatlı türlerinde (tavuk, ördek, hindi vs) *Salmonella* infeksiyonlarının değişen prevalans oranları ve farklı sayıda *Salmonella* serovarları bildirilmiştir (Ramya ve ark, 2012). Mir ve ark (2015)'nin Hindistan'da çeşitli kanatlı türlerinde *Salmonella* izolatlarının çıkışları ve serotip çeşitliliklerini incelemek için yaptıkları çalışmada; 202 sekal, 305 fekal olmak üzere toplamda 507 tavuk, devekuşu, ördek örneklerinden 32 adet (% 6.3) *Salmonella enterica* izolasyonu gerçekleştirilmiş; 9 tanesi *S. Enteritidis*, 5'i *S. Typhimurium*, 4'ü *S. Virchow*, 3'ü *S. Gallinarum* olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Dooleran ve ark (2012), broyler kümeslerinde yaptıkları çalışmada; 64 kümes incelemişler ve bu kümeslerden % 50'sinin *Salmonella* pozitif olduğunu tespit etmişler ve kümeslerdeki prevalans oranının % 6-11 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışma Güney Irak'ta Saeed ve ark (2013) 'de tarafından yapılmış; 100 tavuk eti örneğinden 22 (% 22) *Salmonella* izolatu tespit edilmiş ve bunlardan 7'sinin (% 7) *S. Typhimurium* olarak (16s rRNA) PCR tekniği ile saptandığını bildirmişlerdir. Avustralya'da yapılan bir başka çalışmada Lassnig ve ark (2013), her biri en az 5000 broiler içeren 363 sürüyü test etmişler ve bunlardan 28'i (% 7,7) *Salmonella* sp olarak tespit edilmiş olup, yaptıkları serotiplendirme sonucunda, *S. Enteritidis* (% 1,7), *S. Typhimurium* (% 0,6), *S. Montevideo* (% 4,1), *S. Infantis* (% 0,6) oranladıklarını bildirmişlerdir. Tavuk dışkı, iç organ ve karkaslarında *Salmonella* türlerinin hem PCR, hem standart kültür metoduyla idedntifikasyonunun araştırıldığı bir çalışmada Oliveria ve ark (2002), 64 drag svap örneğini *Salmonella* sp. yönünden incelemişler ve 16 adet drag svap örneğinden (% 25) *Salmonella* sp. izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Avrupa Birliği ülkelerinde insan kaynaklı *Salmonella* infeksiyonlarında tespit edilen serotiplerin; % 58 oranında *S. Enteritidis*, % 21,9 oranında *S. Typhimurium* ve % 1.1 oranında *S. Infantis* olduğu bildirilmiştir (EFSA, 2010).

Araştırmamızda izole edilen 43 (% 17,0) *Salmonella* sp. izolatının tamamının yapılan genotipik identifikasyonları sonucunda *S. enterica* oldukları ve bu izolatların 4 (% 9,3)'ünün *S. Enteritidis* ve 39 (% 90,7)'unun *S. Typhimurium* olarak tiplendirildiği

bulunmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda *S. Typhimurium* oranının bölgesel olarak yüksek olduğu görülmektedir.

Antibiyotikler, kanatlı hayvanlarda *Salmonella*'dan ileri gelen (tifo, pullorum, paratifo) infeksiyonların sağaltımında yaygın olarak kullanılmakta ve bunun sonucunda klinik veya gizli enfekte hayvanların bağırsak ve diğer dokularında bulunan *Salmonella* türlerinde antibiyotiklere karşı direnç gelişmektedir (Poppe ve ark, 1995) Antibiyotikler için; antimikrobiyal direnç istenmeyen bir yan etkidir. Antimikrobiyallerin kullanımı insanlarda ve hayvanlarda dirençli bakteri (patojen, kommensal veya çevresel bakteri) klonlarının seçilimine sebep olarak; mikrobiyal popülasyonun yapısını değiştirip evrimsel gidişata hız kazandırarak insan sağlığını tehdit etmektedir. (Şahan ve ark, 2016)

Terapötik ve profilaktik amaçla kullanılan, bilinçsizce uygulanan antibiyotikler, aynı zamanda broyler üretiminde büyümeyi teşvik edici olarakta kullanılabilir. Antibakteriyel sağaltımında kullanılan kloramfenikol, tetrasiklin, ampicilin, enrofloksasin, neomisin gibi bazı antibakteriyaller, sinir sisteminin yararlı florasını inhibisyona uğratmak suretiyle *Salmonella* etkenlerinin dirençli hale gelmesine neden olmaktadır. Bu bakteriler direnç genlerinin aktarımında rol oynarlar ve doğada yaygınlaştıklarında gıda zincirini etkileyen ciddi infeksiyonlara sebep olurlar. (Bilgili, 1994; Carraminana, 2004; Molbak, 2005) Ayrıca hayvansal kaynaklı antibiyotik direncinin insanlara aktarılmasında; hayvansal ürünlerdeki antibiyotik dirençli mikroorganizmaların yeterince ısıl işlem görmeden tüketilen besinler aracılığı ile insana ulaşması, dirençli mikroorganizma içeren hayvansal gübrelerin veya hayvan dışkısı ile bulaşmış suların bitkisel üretimde kullanılması ve bu ürünlerin insanlar tarafından tüketilmesi yolu ile meydana geldiği bildirilmiştir (Frieden, 2015).

Dünyada ve ülkemizde kanatlı yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotikler ve antibiyotik dirençliliği konusunda farklı araştırmacılar tarafından benzer çalışmalar yapılmıştır. EFSA 2013 yılı raporuna göre broyler tavuklardan elde edilen *Salmonella sp.* Avusturya, Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, Macaristan, İrlanda, İtalya, Slovakya, Portekiz, Hollanda, İspanya ve İngiltere dahil 13 Avrupa ülkesinde ampicilin, sefotaksim, kloaramfenikol, siproklafksasin, gentamisin, nalidiksik asit, sulfonamid ve tetrasikline karşı direnç bulunarak direnç oranı %12,5 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada en yüksek direnç oranı % 42,2 ve % 42 oranları ile, sırasıyla tetrasiklin ve sulfonamide ait olduğu; Avrupa'da *Salmonella sp*'ye karşı direnç sıralamasında tetrasiklin direnci %31 ve en yüksek direnç ise % 38 olarak sulfonamide karşı bulunduğu bildirilmiştir (EFSA, 2013).

Hindistan’ da yapılan bir çalışmada *Salmonella* sp. tespitinden sonra tiplendirilmiş ve antibiyotik direnç olgusu en fazla oksasilin, penisilin, klindamisin’e karşı %100 olduğu görülmüş; bunları takiben ampisilin, (%68,75), tetrasiklin (65,62), nalidiksik asit (%56,25) ve kolistin (%46,87) olduğu; yüksek oranda duyarlılık % 96,87 ile kloramfenikol sonrasında % 84,37 ile meropenem’e karşı olduğu bildirilmiştir (Mir ve ark, 2015) Breazilya’da broiler kesimhanelerinden elde edilen 98 *Salmonella* sp. izolatının 84’ünün 18 farklı antimikrobiyal ilaca karşı direnç geliştirdiği tespit edilmiştir. En yüksek direncin %95 ile nalidiksik asit ve %91 ile tetrasikline karşı geliştiği; Beta-laktam grubundan ampisilin ve sefakloram %45 oranında direnç geliştiği ve bunu %19 ile streptomisin ve %15 ile de gentamisin takip ettiğini bildirmişlerdir (Ziech ve ark, 2016) Kanatlılardan izole edilen çoğu *Salmonella* türlerinde çoklu ilaç dirençliliği rapor edilmiştir. Zhao ve ark (2005) tarafından ABD’de 38 *S. Typhimurium* izolatı arasından yapılan bir çalışmada izolatların 12 tanesinin 10 antimikrobiyale ve 10 tanesinin de 11 ajana direnç gösterdiği; ayrıca tavuklardaki 131 *Salmonella* izolatının 10’unun ve 38 hindi izolatından 2’sinin kendilerine özgü beşli direnç adı verilen ampisilin, kloramfenikol, streptomisin, sulfonamid ve tetrasiklin’e direnç gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Boynukara ve Aydın (1990) izole ve identifiye ettikleri 33 *Salmonella* suşunun gentamisine % 100, neomisine % 78.7, ampisiline % 42.4, tetrasikline %39.3, streptomisine % 30.3 duyarlı olduğunu; penisilin G ve eritromisine ise % 100 dirençli olduklarını tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Aksakal (2003)’ın tavuk, hindi ve bıldırcınlardan; 49 adet *Salmonella* suşunu izole ettikleri çalışmada; norfloksasin, danofloksasin ve streptomisine % 100, florfenikole % 97.96, oksitetrasikline % 95.92, nitrofurantoin ve enrofloksasine % 92.83, ampisilin ve amoksisiline % 89.80, nalidiksik aside % 83.67, gentamisin ve tetrasikline % 67.34, trimethoprim+sulfametaksasole % 51.02, penisilin G’ye % 30.61 oranında duyarlı; neomisin ve eritromisine % 100 dirençli olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Kayseride 15 tavuk işletmesinden toplanan, örneklerden elde edilen *Salmonella* izolatlarının %20’sinin ampisiline, %23’ünün neomisine, %95’inin eritromisine ve %100’ünün penisiline dirençli olduğu ve antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre; enrofloksasin, danofloksasin, gentamisin, trimethoprim-sulfamethoksazol ve amoksisiline duyarlılık saptandığını bildirmişlerdir (Kılınç ve Aydın, 2006). Oral ve ark (2008) ‘de yaptıkları bir başka çalışmada; 47 *Salmonella* izolatının enrofloksasine (%97,9), kolistin sülfata (%89,4), oksitetrasikline (%93,6), gentamisine (%76,6), amoksisiline (%72,4), doksisikline (%63,8), linkomisin ve spektinomisine

(%40,4), neomisine (%38,3), trimethoprim-sulfamethoksazole (%10,6) oranlarında duyarlılık tespit edilmiş olup; ayrıca izole ve identifiye edilen 7 *S. Enteritidis* suşunun enrofloksasin, kolistin sülfat, oksitetrasiklin ve amoksisiline %100, gentamisine %85,7, linkomisin-spektinomisin ve doksisisikline %71,4, neomisine %28,5 oranlarında duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Türkyılmaz ve ark (2008) 'nın Aydın ilinde yaptıkları bir çalışmada etlik civcivlerden izole edilen 19 *S. Enteritidis* suşunun hepsinin penisilin G ve eritromisin'e % 63,2'sinin gentamisine, % 47,4'ünün ampisiline dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Kahya ve ark (2013-2014)'de Afyon, Balıkesir, Bursa, İzmir, Karaman, Konya, Manisa illerinde bulunan 58 farklı işletmeye ait (klinik semptom göstermeyen) yumurtacı tavuk kümeslerinden alınan örneklerden yaptıkları çalışmada; elde ettikleri *Salmonella* izolatlarına yaptıkları antibiyogram sonuçlarına göre, 24 antibiyotiğin 23'üne karşı direnç olduğu, en yüksek direnç oranının ampisilin (% 100), neomisin (% 100), penisilin G (% 100) ve eritromisine (% 95,45) karşı saptandığını bildirmişlerdir.

Araştırmamızda *S. Enteritidis* (n=4) izolatlarının, gentamisin, seftriaksona % 100 oranında, kanamisin, tetrasikline % 50 oranında duyarlı; sefotaksime % 75 oranında orta derece duyarlı ve ampisilin ile penisiline ise % 100 oranında dirençli oldukları saptanmıştır. *S. Typhimurium* (n=39) izolatlarının, seftriaksona % 92, gentamisine % 82, kanamisin ve sefotaksime % 61, tetrasikline % 51 oranlarında duyarlı; ampisilin % 97 ve penisiline ise % 100 oranında dirençli oldukları belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda tüm *Salmonella* izolatlarının (n=43) yaklaşık olarak % 100 oranında ampisiline ile penisiline dirençli ve % 80-100 oranları arasında gentamisin ve seftriaksona duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Kanatlılardan izole edilen *Salmonella* türlerinin antibiyotiklere karşı dikkat çekici özellikte farklı şekil ve sıklıkta direnç gösterdiği görülmektedir. Burada direnci kodlayan konjugatif veya aktarılabılır plazmidlerin etkinliğinin, direncin yayılmasında en önemli faktörlerden birisi olduğu belirtilmektedir. Bunun dışında dirençteki farklılıklar kanatlı türü ve tipine, ülkelere veya bölgelere, yıllara, *Salmonella* serovarına bir çiftlikten ötekine, yumurtacı ya da broyler olması ve de antibiyotiğin etki mekanizmasına göre değişebildiği bildirilmiştir (Filazi ve ark, 2015).

Antibiyotik direncine ilişkin önlemlerin alınmasında Ulusal Eylem Planlarının yanısıra hazırlanan mevzuatın ülke koşullarına göre sürekli olarak güncellenmesi ve gerektiğinde yenilenmesi, sonuçların veteriner hekimleri yönlendirecek şekilde paylaşılması, antibiyotik dirençliliği konusunda eğitimlerin artırılması gerekliliği

bulunmalıdır. 2010 yılında Avrupa Gıda Güvenliği (EFSA), hayvan ve hayvansal gıdalarda zoonoz bakterilere karşı gelişen antibiyotik direnci hakkında 2004-2008 yıllarının verilerini kapsayacak şekilde bir rapor yayınlamıştır. 11 Mart 2015 tarihinde antibiyotik kullanımının izlenmesi, akılcı ilaç kullanımlarına yönelik hekimlerin eğitimi, antibiyotik direncine ilişkin Avrupa İlaç Ajansı (EMA)'nın önerdiği bilimsel kaynakları ve projelere yönelik bilgilerin sunulduğu bildirilmiştir. 27 Mart 2014 tarih ve 28954 sayılı Resmi Gazete'de "Salmonella ve Belirlenmiş Diğer Gıda Kaynaklı Zoonotik Etkenlerin Kontrol Altına Alınması Hakkında Yönetmelik"te antimikrobiyel direncin izlenmesi için toplanacak izolat sayısı, test edilecek antimikrobiyeller ve uygulama metodları ile izleme için gerekli kurallar hakkında detaylı bilgi sunulduğu bildirilmektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamız sonucunda, Ege Bölgesi'nin batısında bulunan *Salmonella* enfeksiyon şüpheli 253 adet kanatlı iç organ (kalp, karaciğer, dalak, sekum) örneklerinden 43 (%17,0)'ünde *Salmonella* sp. fenotipik yöntemlerle izole edilmiştir. Genotipik yöntemlerle identifikasyonu yapılan 43 (%17,0) *Salmonella* sp. izolatının, *Salmonella enterica* 16S rRNA geni taşıyan cins spesifik gen olduğu PCR ile tespit edilmiş olup, tür spesifik serotiplerin tespiti için Multiplex PCR çalışılmıştır. Çalışmalarımızın sonucunda; 4 (% 9,3) izolatın *S. Enteritidis* ve 39 (% 90,7) izolatın *S. Typhimurium* olarak tiplendirilmiştir. Hastalığın tedavisinde hedefe yönelik olarak yapılan antibiyogram çalışmalarında, *S. Enteritidis* (n=4) izolatlarının, Gentamisin, Seftriaksona % 100 oranında, Kanamisin, Tetrasikline % 50 oranında duyarlı; Sefotaksime % 75 oranında orta derece duyarlı ve Ampisilin ile Penisiline ise % 100 oranında dirençli oldukları saptanmıştır. *S. Typhimurium* (n=39) izolatlarının ise, Seftriaksona % 92, Gentamisine % 82, Kanamisin ve Sefotaksime % 61, Tetrasikline % 51 oranlarında duyarlı; Ampisilin % 97 ve Penisiline ise % 100 oranında dirençli oldukları belirlenmiştir.

Salmonella serovarları birçok hayvanda özellikle kanatlılarda kolonize olma ve hastalık yapabilme yeteneğine sahiptir. Vertikal bulaşma özelliği sebebiyle, iyi pişirilmemiş kanatlı eti ve yumurtalarını tüketen insanlarda gıda zehirlenmelerine neden olabilmektedir. *Salmonella*'nın yayılımını önlemek ve kontrol altına almak amacıyla, kanatlı işletmelerinde *Salmonella* Kontrol Programlarının oluşturulması gereklidir. Bu amaçla; kanatlı sürülerinin periyodik olarak bakteriyolojik, serolojik ve moleküler yöntemlerle izlenmesi ve negatifliğinin sağlanması, tip spesifik aşuların kullanılması, biyogüvenlik önlemlerinin eksiksiz yerine getirilmesi gerekmektedir. İzole ve identifiye edilen tiplerin doğru bir şekilde tespit edilip, tipe yönelik antibiyogram duyarlılık testlerinin yapılıp tedavisinin hedefe yönelik uygulanması uygun olacaktır. Ayrıca *Salmonella* serotip dağılımının ve antibiyotik duyarlılıklarının bölgelere farklılık göstermesi nedeniyle geniş kapsamlı epidemiyolojik çalışmaların yapılması faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abrahams GL ve Hensel M.** Manipulating cellular transport and immune responses: dynamic interactions between intracellular *Salmonella enterica* and its host cells. *Cellular Microbiology* 2006, 8, 728-737.
- Akan M.** Kanatlılarda *Salmonella* İnfeksiyonları ve Kontrolünde Temel Prensipler. *Ankara Veteriner Tavukçuluk Derneği Dergisi* 2008, 6, 2.
- Aksakal A.** Bazı Kanatlıların Dışkılarında *Salmonella* Türlerinin Varlığı ve Yaygınlığı ile Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi* 2003, 14(1), 95-101.
- Alanis AJ.** Resistance to antibiotics: Are we in the post-antibiotic era? *Archives of Medical Research* 2005, 36, 697–705.
- Alcaine SD, Warnick LD, Wiedmann M.** Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella*. *Journal of Food Protection* 2007, 70, 780–790.
- Alphons JAM ve Jaap E.** Distribution of "classic" virulence factors among *Salmonella* spp. *FEMS Microbiology and Medical Immunology* 2005, 44, 251-259.
- Althouse C, Patterson S, Fedorka-Cray P, Isaacson RE.** Type 1 fimbriae of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium bind to enterocytes and contribute to colonization of swine *in vivo*. *Infection and Immunity* 2003, 71, 6446-6452.
- Alvarez J, Sota M, Vivanco BA, Perales I, Cisterna R, Rementeria A, Garaizar J.** Development of a Multiplex PCR technique for detection and epidemiological typing of *Salmonella* in human clinical samples. *Journal of Clinical Microbiology* 2004, 31, 1734-1738.
- Amavisit P, Lightfoot D, Browning GF, Markham PF.** Variation between pathogenic serovars within *Salmonella* pathogenicity islands. *Journal of Bacteriology* 2003, 185, 3624-3635.
- Angulo FJ, Johnson KR, Tauxe RV, Cohen ML.** Origins and consequences of antimicrobial resistant nontyphoidal *Salmonella*: Implications for use of fluoroquinolones in food animals. *Microbial Drug Resistance* 2000 6, 77–83.
- Antunes P, Machado J, Sousa JC, Peixe L.** Dissemination of sulfonamide resistance genes (*sul1*, *sul2*, and *sul3*) in Portuguese *Salmonella enterica* strains and relation with integrons. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005, 49, 836–839.

- Arda M, Akay Ö, İzgür M.** *Salmonella* suşlarının O-1 fajına karşı duyarlılıklarının belirlenmesi üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1983, 30(3), 430-439
- Arpaia N, Godec J, Lau L, Sivick KE, McLaughlin LM, Jones MB, Dracheva T, Peterson SN, Monack DN, Barton GM.** TLR signaling is required for *Salmonella typhimurium* virulence. Cell 2011, 144, 675–688.
- Aseel A. S, Hasoon MF, Mohammed MH.** Isolation and Molecular Identification of *Salmonella typhimurium* from Chicken Meat in Iraq. World's Poultry Research 2013, 3(2), 63-67.
- Ashkenazi S, Cleary TG, Murray BE, Wanger A, Pickering LK.** Quantitative analysis and partial characterization of cytotoxin production by *Salmonella* strains. Infection and Immunity 1988, 56, 3089-3094.
- Ata Z, Aydın N.** Ankara bölgesindeki tavukçuluk işletmelerinde *Salmonella* spp. İzolasyonu. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2008, 55, 161-166.
- Aziz M, Midha S, Waheed SM, Bhat-nagar R.** Oral vaccines: New needs, new possibilities. Bioessays 2007, 29, 591–604.
- Barrow PA.** Experimental infection of chickens with *Salmonella enteritidis*. Avian Pathology 1991, 20, 145-153.
- Barrow PA.** ELISAs and the serological analysis of *Salmonella* in poultry: a review. Epidemiology and Infection 1992, 109(3), 361-369.
- Barrow PA, Huggins MB, Lovel MA.** Host specificity of *Salmonella* infection in chicks and mice is expressed in vivo primarily at the level of reticuloendothelial system. Infection and Immunity 1994, 62(10), 4602-10.
- Barrow PA.** *Salmonella* infections: immune and non-immune protection with vaccines. Avian Pathology 2007, 36(1), 1-13.
- Barrow PA.** The paratyphoid Salmonellae. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics) 2000, 19, 351-375.
- Batista AFD, Freitas Neto FCO, Lopes DP, Almeida MA, Barrow AP, Berchieri A.** Polymerase chain reaction assay based on *ratA* gene allows differentiation between *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum biovars Gallinarum and Pullorum. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 2013, 25(2), 259-262.

- Baucheron S, Chaslus-Dancla E, Cloeckaert A.** Role of TolC and parC in-high-level fluorquinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium phage type DT204. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2004, 53, 657–659.
- Bell C.** *Salmonella*. *Foodborne Pathogens: Hazards, Risk Analysis and Control*. CRC, Boca Raton, FL, 2000, 307–334.
- Berchieri A Jr, Murphy CK, Marston K, Barrow PA.** Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: effect of bacterial and host genetic background. *Avian Pathology* 2001, 30(3), 229-39.
- Berndt A ve Methner U.** Gamma/delta T cell response of chickens after oral administration of attenuated and non-attenuated *Salmonella* Typhimurium strains. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001, 78, 143–161.
- Berndt A, Wilhelm A, Jugert C, Pieper J, Sachse K, Methner U.** Chicken cecum immune response to *Salmonella enterica* serovars of different levels of invasiveness. *Infection and Immunity* 2007, 75, 5993–6007.
- Betancor L, Yim L, Matinez A, Fookes M, Sasias S, Schelotto F, Thompson N, Maskell D, Chabalgoity JA.** Genomic comparison of the closely related *Salmonella* serovar Enteritidis and Dublin. *Open Microbiology Journal* 2012, 6, 5-13.
- Bilgehan H.** *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir, 2004, 425-455.
- Birren B ve Eric L.** *Pulsed Field Gel Electrophoresis: A Practical Guide*, Academic Press Inc, California, 1993, 18-21.
- Bottger EC.** Rapid determination of bacterial ribosomal RNA sequences by direct sequencing of enzymatically amplified DNA. *FEMS Microbiology Letters* 1989, 65, 171–176.
- Bouvet JP, Decroix N, Pamosinlapatham P.** Stimulation of local antibody production: Parenteral or mucosal vaccination? *Trends in Immunology* 2002, 23, 209–213.
- Boyen F, Pasmans F, Donne E, Van Immersal F, Morgan E, Adriansen C, Hernelsteens JP, Wallis TS, Ducatelle R, HaeseBrock F.** The fibronectin-binding protein ShdA island a prerequisite for long term fecal shedding of *Salmonella Typhimurium* in pigs. *Veterinary Microbiology* 2006, 115, 284-290.
- Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B.** *Salmonella* Nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology* 2000, 38, 2465-2467.

Butaye P, Michael GB, Schwarz S, Barrett TJ, Brisabois A, White DG. The clonal spread of non-typhi *Salmonella* serotypes. *Microbes and Infection* 2006, 8, 1891–1897.

Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM. *Disease of Poultry*. Iowa State University Press, Iowa, 1997, 81-122.

Cannon M, Harford S, Davies JA. A comparative study on the inhibitory actions of chloramphenicol, thiamphenicol and some fluorinated derivatives. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1990, 26, 3, 307-317.

Carattoli A. Plasmid-mediated antimicrobial resistance in *Salmonella enterica*. *Current Issues in Molecular Biology* 2003, 5, 113–122.

Carattoli A, Filetici E, Villa L, Dionisi AM, Ricci A, Luzzi L. Antibiotic resistance genes and *Salmonella* genomic island 1 in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolated in Italy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003, 46, 2821–2828.

Carnell SC, Bowen A, Morgan E, Maskell DJ, Wallis TS, Stevens MP. Role in virulence and protective efficacy in pigs of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium secreted components identified by signature-tagged mutagenesis. *Microbiology* 2007, 153, 1940-1952.

Carrique-Mas JJ, Davies RH. Sampling and bacteriological detection of *Salmonella* in poultry and poultry premises: a review. *Revue Scientifique Technique Office International des Epizooties* 2008, 27(3), 665-77.

Centers for Disease Control and Prevention. Get smart: Know when antibiotics work. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 2010. www.cdc.gov/Features/GetSmart (12.08.2017).

Centers for Disease Control and Prevention. About antimicrobial resistance, 2011. <http://www.cdc.gov/drugresistance/about.html> (17.09.2017).

Chaussé AM, Grepinet O, Bottreau E, Le Vern Y, Menanteau P, Troterau J, Robert V, Wu Z, Kerboeuf D, Beaumont C, Velge P. Expression of TLR4 and downstream effectors in selected cecal cell subpopulations of chicks resistant or susceptible to *Salmonella* carrier-state. *Infection and Immunity* 2011, 79, 3445–3454.

Chen S, Zhao S, White DG, Schoeder CM, Lu R, Yang H, McDermott PF, Ayers S, Meng J. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from retail meats. *Applied and Environmental Microbiology* 2004, 70, 1–7.

Chopra I ve Roberts M. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2001, 65, 232–260.

Clayton DJ, Bowen AJ, Hulme SD, Buckley AM, Deacon VL, Thomson NR, Barrow PA, Morgan E, Jones MA, Watson M, Stevens MP. Analysis of the role of 13 fimbrial subunits in colonisation of the chicken intestines by *Salmonella enterica* serovar Enteritidis reveals a role for a novel locus. *BMC Microbiology* 2008, 8, 228.

Cloekaert A ve Chaslus-Dancla E. Mechanisms of quinolone resistance in *Salmonella*. *Veterinary Research* 2001, 32, 291–230.

Clouthier SC, Collinson SK, Kay WW. Unique fibria-like structures encoded by sefD of the SEF14 fimbrial gene cluster of *Salmonella enteritidis*. *Molecular Microbiology Journal* 1994, 6, 5-13.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved standard-Ninth Edition (M2-A9). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006.

Cogan TA ve Humphrey TJ. The rise and fall of *Salmonella* Enteritidis in the UK. *Journal of Applied Microbiology* 2003, 94, 114-119.

Coleman DJ, Chick KE, Nye KJ. An evaluation of immunomagnetic separation for the detection of *Salmonellas* in raw chicken carcasses. *Letters in Applied Microbiology* 1995, 21(3), 152-4.

Collard JM, Bertrand S, Dierick K. Drastic decrease of *Salmonella* Enteritidis isolated from humans in Belgium in 2005, shift in phage types and influence on foodborne outbreaks. *Epidemiology and Infection* 2008, 136(6), 771–781.

Collinson SK, Liu SL, Clouthier SC, Banser PA, Doran JL, Sanderson KE, Kay WW. The location of four fibrin-encoding genes agfA fimA SefA and sefD, on the *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium* xbaI-BlnI genomic restriction maps. *Gene* 1996, 169, 75-80.

Croft AC, D’Antoni AV, Terzulli SL. Update on the antibacterial resistance crisis. *Medical Science Monitor* 2007, 13, 103–118.

Çarlı KT ve Kahya S. Kanatlı Hayvanların İnfeksiyöz Hastalıkları. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yayınları, Bursa, 2011, 15.

Çarlı KT, Ünal CB, Caner V, Eyigör A. Detection of chicken feces by a combination of Tetrathionate Broth Enrichment, Capillary PCR, and Capillary Gel electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology* 2001, 39, 1871-1876.

Çevik AM. PCR ve infeksiyöz hastalıklarda kullanımı. Seminer. Ankara Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Bölümü, Ankara, 1994.

Daş YK ve Atmaca E. Antibiyotik Direncinin Önlenmesi İçin Yapılması Gerekenler ve Çözüm Önerileri. Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri Farmakoloji ve Toksikoloji Özel Sayısı 2015, 1(2), 69-75.

Dauga C, Zabrovskaja A, Grimont PA. Restriction fragment length polymorphism analysis of some flagellin genes of *Salmonella enterica*. Journal of Clinical Microbiology 1998, 36, 2835-2843.

De Buck J, Van Immerseel F, Haesebrouck F, Ducatelle R. Protection of laying hens against *Salmonella Enteritidis* by immunization with type 1 fimbriae. Veterinary Microbiology 2005, 105, 93-101.

Desmidt M, Ducatelle R, Mast J, Goddeeris BM, Kaspers B, Haesebrouck F. Role of the humoral immune system in *Salmonella* Enteritidis phage type four infection in chickens. Veterinary Immunology and Immunopathology 1998, 63, 355–367.

Diallo IO, Mackenzie AM, Spradbrow PB, Robinson WF. Field isolates of fowl pox virus contaminated with reticuloendotheliosis virus. Avian Diseases 1998, 27, 60-66.

Dieye Y, Ameiss K, Mellata M, Curiss R. The *Salmonella* pathogenicity island (SPI) 1 contributes more than SPI2 to the colonization of the chicken by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. BMC Microbiology 2009, 9, 3–16.

Dookeran MM, Baccus-Taylor GSH, Akingbala JO, Tameru B, Lammerding AM. Transmission of *Salmonella* on broiler chickens and carcasses from production to retail in Trinidad and Tobago. Journal of Applied Business Research 2012, 1, 78-84.

Doran JL, Collinson SK, Clothier SC, Cebula TA, Koche WH, Burian J, Banser PA, Todd EC, Kay WW. Diagnostic potential of sefA DNA probes to *Salmonella Enteritidis* and certain other O-serogroupD1 *Salmonella* serovars. Molecular and Cellular Probes 1996, 10, 233-246.

Dümen E, Aydın A, Issa G. Çiğ Tavuk Karkaslarından İzole Edilen *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* spp'nin Prevalans, Serolojik Tiplendirme ve PCR Hassasiyetinin Karşılaştırması. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2015, 21(5), 653-658.

European Food Safety Authority (EFSA). Report of the Task Force on Zoonoses. Data

Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in broiler flocks Part A. EFSA Journal 2007, 98, 1-85.

European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on a quantitative estimation of the public health impact of setting a new target for the reduction of *Salmonella* in laying hens. EFSA Journal 2010, 8, 1546.

European Food Safety Authority (EFSA). The European Union Summary Report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2009. EFSA Journal 2011, 9, 2090-2477.

European Food Safety Authority (EFSA). The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals, and food in 2011. EFSA Journal 2013, 11, 3196.

Erlich AH, Gelfand D, Sninsky JJ. Recent advantages in PCR. Science 1991, 252, 1643-1652.

Ewing WH. Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae. Elsevier, New York, 1986, 47-56.

Eyigör A, Goncagül G, Günaydın E, Çarlı KT. *Salmonella* profile in chickens determined by real-time polymerase chain reaction and bacteriology from years 2000 to 2003 in Turkey. Avian Pathology 2005, 34(2), 101-5.

Feberwee A, Hartman EG, De Wit JJ, De Vries TS. The spread of *Salmonella* Gallinarum 9R vaccine strain under field conditions. Avian Diseases 2001, 45(4), 1024-1029.

Fedoraka-Cray PJ, Kelley LC, Stabel TJ, Gray JT, Laufer JA. Alternate routes of invasion may affect pathogenesis of *Salmonella* Typhimurium in swine. Infection and Immunity 1995, 63, 2658-2664.

Filazi A, Dikmen B, Kuzukıran Ö. Kanatlılarda Antibiyotik Direnci. Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri Farmakoloji ve Toksikoloji Özel Sayısı 2015, 1 (2): 42-51.

Fluit AC. Towards more virulent and antibiotic-resistant *Salmonella*? FEMS Immunology and Medical Microbiology 2005, 43, 1-11.

Foley SL, Lynne AM, Nayak R. *Salmonella* challenges: prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. Journal of Animal Science 2008, 86, 149-162.

Foley SL, Nayak R, Hanning IB, Johnson TJ, Han J, Ricke SC. Population dynamics

of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. *Applied and Environmental Microbiology* 2011, 77(13), 4273-4279.

Foley SL ve Lynne AM. Food animal associated *Salmonella* challenges: Pathogenicity and antimicrobial resistance. *Journal of Animal Science* 2008, 86, 173–187.

Forshell LP ve Wierup M. *Salmonella* contamination: a significant challenge to the global marketing of animal foods products. *Revue Scientifique Technique Office International des Epizooties* 2006, 25, 541-554.

Frech G ve Schwarz S. Plasmid-encoded tetracycline resistance in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovars Choleraesuis and Typhimurium: Identification of complete and truncated Tn1721 elements. *FEMS Microbiology Letters* 1999, 176, 97–103.

Frost AJ, Bland AP, Wallis TS. The early dynamic response of the calf ileal epithelium to *Salmonella* Typhimurium. *Veterinary Pathology* 1997, 34, 369-386.

Garrity GM ve Holt JG. The road map to the manual. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer-Verlag, New York, 2001, 119–166.

Gast RK. Paratyphoid infections. *Disease of poultry*. Iowa State University Press, Iowa, 1997, 97-129.

Gast RK, Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDoughald LR, Swayne DE. Paratyphoid Infections. *Diseases of Poultry*. Iowa State University Press, Iowa, 2003, 32-44.

Gast RK. Serotype-specific and serotype independent strategies for preharvest control of food-borne *Salmonella* in poultry. *Avian Diseases* 2007, 51(4), 817–828.

Gast RK. Paratyphoid infections. *Diseases of Poultry*. Black well Publishing, Iowa, 2008, 636-665.

Gerlach RG, Claudio N, Rohde M, Jackel D, Wagner C, Hensel M. Cooperation of *Salmonella* pathogenicity islands 1 and 4 is required to breach epithelial barriers. *Cellular Microbiology* 2008, 10, 2364-2376.

Giesendorf BA, Quint WG, Henkens MH, Stegeman H, Huf FA, Niesters HG. Rapid and sensitive detection of *Campylobacter* spp. In chicken products by using the polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology* 1992, 58(12), 3804-3808.

Gonzales LS, Spencer JP. Aminoglycosides: A practical review. *American Family Physician* 1998, 58, 1811–1820.

Gökçen S ve Erganiş O. İzmir mezbahalarında kesilen hayvanlardan *Salmonella* izolasyonu ve serotiplendirilmesi. *Bornova Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi* 1996, 21(3), 91-101.

Grimont PAD, Grimont F, Bouvet P. Taxonomy of the Genus *Salmonella*, In: *Salmonella in domestic animals*. CABI Publishing, New York, 2000, 23-29.

Grimont PAD, Weill F. Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. WHO Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*. Institute Pasteur, France, 2007.

Guerra B, Soto S, Helmuth R, Mendoza MC. Characterization of a self-transferable plasmid from *Salmonella enterica* serotype Typhimurium clinical isolates carrying two integron-borne gene cassettes together with virulence and drug resistance genes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002, 46, 2977–2981.

Guerra B, Soto SM, Arguelles JM, Mendoza MC. Multidrug resistance is mediated by large plasmids carrying a class 1 integron in the emergent *Salmonella enterica* serotype. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001, 45, 1305–1308.

Han J, Lynne AM, David DE, Tang H, Xu J, Nayak R, Kaldhone P, Logue CM, Foley SL. DNA sequence analysis of plasmids from multidrug resistant *Salmonella enterica* serotype Heidelberg isolates. *PLoS One* 2012, 7(12), e51160.

Harmsen D, Karch H. 16S rDNA for diagnosing pathogens: a living tree. *American Society for Microbiology* 2004, 70, 19–24.

Hasan JA, Knight IT, Tate CR, Mallison ET, Miller RG, Colwell RR. Evaluation of radio labeled and colorimetric DNA probes in comparison with an antigen screening assay for the detection of *Salmonella* from poultry farms. *Avian Diseases* 1991, 35(2), 397-402.

Hensel M. *Salmonella* pathogenicity island 2. *Molecular Microbiology* 2000, 36, 1015-1023.

Heyndrickx M, Vanderkerchove D, Herman L, Rollier I, Grijspeerdt K, de Zutter L. Routes for *Salmonella* contamination of poultry meat: epidemiological study from the hatchery to slaughterhouse. *Epidemiology and Infection* 2002, 129, 253-265.

Holden DW. Trafficking of the *Salmonella* vacuole in macrophages. *Traffic* 2002, 3, 161-169.

Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore, 1994, 179.

Hoofar J, Baggesen DL, Porting PH. APCR-based strategy for simple and rapid identification of rough presumptive salmonella isolates. *Journal of Microbiological Methods* 1999, 35(1), 77-84.

Hopkins KL, Threlfall EJ. Frequency and polymorphism of sop E in isolates of *Salmonella enterica* belonging to the ten most prevalent serotypes in England and Wales. *Journal of Medical Microbiology* 2004, 53, 539-543.

İzgür M. *Salmonella* infeksiyonları. Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayınevi, Ankara, 2002, 41-53.

İzgür M. *Salmonella* İnfeksiyonları. Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). İlke-Emek Yayınları, Ankara, 2006, 116-121.

İzgür M. Kanatlı *Salmonella* Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri* 2010, 1(2), 61-78.

Johnson TJ, Thorsness JL, Anderson CP, Lynne AM, Foley SL, Han J, Fricke WF, McDermott PF, White DG, Khatri M, Stell AL, Flores C, Singer RS. Horizontal gene transfer of a ColV plasmid has resulted in adominant avian clonal type of *Salmonella enterica* serovar Kentucky. *PLoS One* 2010, 5, e15524.

Johnson DC, David M, Goldsmith S. Epizootiological investigation of an outbreak of pullorum disease in an integrated broiler operation. *Avian Diseases* 1992, 36, 770–775.

Kahya S, Tuğ KB, Temelli S, Çarlı KT, Eyigör A. Yumurtacı Tavuklarda *Salmonella* İzolatlarının Tanısı ve Tiplendirilmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2014, 20(6), 939-944.

Kaiser PL, Rothwell EE Galyov PA, Barrow J, Burnside WP. Differential cytokine expression in avian cells in response to invasion by *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Gallinarum. *Microbiology* 2000, 146, 3217–3226.

Kalender H ve Muz A. Elazığ bölgesindeki tavuklardan izole edilen *Salmonella* türlerinin tiplendirilmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 1999, 23, 2, 297-303.

Kaya S. Kemoterapötikler. *Veteriner Farmakoloji*. Medisan Yayınları, Ankara 2013, 322-665.

Khan MI, Nguyen AV. A *Salmonella* specific DNA probe and its use in southern hybridization for differentiation of *Salmonella* enteritidis. *Avian Diseases* 1995, 39(2), 368-74.

Kılınc Ü, Aydın F. Kayseri yöresindeki tavukçuluk işletmelerinden toplanan tavuklardan izole edilen *Salmonella* türlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2006 15, 35–40.

Kidgell C, Reichard U, Wain J, Linz B, Torpdahl M, Dougan G, Achtman M. *Salmonella* Typhi, the causative agent of typhoid fever, is approximately 50,000 years old. Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases 2002, 2, 39–45.

Kingsley RA, Santos RL, Kestra AM, Adams LG, Baumler AJ. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ShdA is an outer membrane fibrinectin-binding protein that is expressed in the intestine. Molecular Microbiology 2002, 43, 895-905.

Kisiela D, Kuczkow ki M, Kiczak L, Wieliczko A, Ugorski M. Differentiation of *Salmonella* Gallinarum biovar Gallinarum from *Salmonella* Gallinarum biovar Pullorum by PZR-RFLP of the fimH gene. Journal of Veterinary Medicine Series B 2005, 52(5), 214-218.

Knodler LA, Vallance BA, Celli J, Winfree S, Hansen B, Montero M, Steele-Mortimer O. Dissemination of invasive *Salmonella* via bacterial-induced extrusion of mucosal epithelia. Proceedings of the Natinal Academy of Sciences 2010, 107, 17733-17738.

Kolbert CP ve Persing DH. Ribosomal DNA sequencing as a tool for identification of bacterial pathogens. Current Opinion in Microbiology 1999, 2, 299–305.

Koneman E, Washington WJ, Allen S, Janda W, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott Willams & Wilkins, USA, 2006, 211-303.

Koneman EW, Allen SD, Jonda WM, Schreckenber PC, Winn WC. Enterobacteriaceae. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott Company, Philadelphia, 1997, 171-241.

Kwon YM ve Ricke SC. Induction of acide resistance of *Salmonella* Typhimurium by exposure to short chain fatty acids. Applied Environmental Microbiology 1998, 64, 3458-3463.

Kwon HJ, Cho SH. Pathogenicity of SG 9R, a rough vaccine strain against fowl typhoid. *Vaccine* 2011, 29, 1311–1318.

- Lahiri A, Lyere N, Das P, Cahkravorty D.** Visiting the cell biology of *Salmonella* infection. *Microbes and Infection* 2010, 12, 809-818.
- Lammerding AM.** Modeling and risk assessment for *Salmonella* in meat and poultry. *Journal of AOAC International* 2006, 89, 543–552.
- Lasnig H , Much P, Schliessnig H, Osterreicher E, Kostenzer K, Kornschöber C, Köfer J.** Prevalence of *Salmonella* spp. in Austrian broiler flocks in the context of the EU-wide baseline survey 2005-2006. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 2012, 125(3-4), 129-137.
- LeMinor L.** *Salmonella*. *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984, 427–458.
- LeMinor L.** The Genus *Salmonella*. *A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Application*. Springer-Verlag, New York, 1992, 2760-2774.
- Leung KY, Siame BA, Snowball H, Mok YK.** Type VI secretion regulation: crosstalk and intracellular communication. *Current Opinion in Microbiology* 2011, 14, 9-15.
- Liebisch B, Schwarz S.** Molecular typing of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis isolates. *Journal of Medical Microbiology* 1996, 44(1), 52-9.
- Lin JS, ve Tsen HY.** Development and use of polymerase chain reaction for the detection of *Salmonella* Typhimurium in stool and food samples. *Journal of Food Protection* 1999, 62, 1103–1110.
- Lindberg AA ve LeMinor L.** Serology of *Salmonella*. *Methods in Microbiology*. Bergman Academic Press, London, 1995, 1-14.
- Loströh GP ve Lee CA.** 2001 The *Salmonella* pathogenicity Island I type III secretion system. *Microbes and Infection* 2001, 3, 1281-1291.
- Makaya PV, Matope G, Pfukenyi DM.** Distribution of *Salmonella* serovars and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* Enteritidis from poultry in Zimbabwe. *Avian Pathology* 2012, 41, 221-226.
- Marcus SL, Brumell JH, Pfeifer CG, Finlay BB.** *Salmonella* pathogenicity island: big virulence in small packages. *Microbes and Infection* 2000, 2, 145-156.
- Mascaretti OA.** *Bacteria versus Antimicrobial Agents: An Integrated Approach*. ASM Press, Washington DC, 2003, 145-151.

Mazzotta AS. D- and z-values of Salmonella in ground chicken breast meat. *Journal of Food Safety* 2000, 20, 217–223.

McDermott PF, Zhao S, Wagner DD, Simjee S, Walker RD, White DG. The food safety perspective of antibiotic resistance. *Animal Biotechnology* 2002, 13, 71–84.

Methner U, Barrow PA, Berndt A, Rychlik I. *Salmonella* Enteritidis with double deletion in *phoP*/*fliC* – a potential live *Salmonella* vaccine candidate with novel characteristics for use in chickens. *Vaccine* 2011, 29(17), 3248–3253.

Mir IA, Kashyap SK, Sunil M. Isolation, serotype diversity and antibiogram of *Salmonella enterica* isolated from different species of poultry in India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2015, 5(7), 561-567.

Miold S, Rabsch W, Rohde M, Stender S, Tschape H, Russmann H, Igwe E, Hardt WD. Isolation of a temperate bacteriophage encoding the type III effector protein SopE from an epidemic *Salmonella* Typhimurium strain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1999, 96, 9845-9850.

Molbak K, Baggesen DL, Aarestrup FM, Ebbesen JM, Engberg J, Frydendahl K, Gerner-Smidt P, Petersen AM, Wegener HC. An outbreak of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104. *New England Journal of Medicine* 1999, 341, 1420–1425.

Morgan E, Campbell JD, Rowe SC, Bispham J, Stevens MP, Bowen AJ, Barrow PA, Maskell DJ, Wallis TS. Identification of host-specific colonization factors of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Molecular Microbiology* 2004, 54, 994-1010.

Mortimer CK, Peters TM, Gharbia SE, Logan JM, Arnold C. Towards the development of a DNA-sequence based approach to serotyping of *Salmonella enterica*. *BMC Microbiology* 2004, 4, 31.

Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington, 1999, 78-86.

Nagarajan AG, Balasundaram SV, Janice J, Karnam G, Eswarappa SM, Chakravorty D. *sopB* of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is a potential DNA vaccine candidate in conjugation with live attenuated vaccine. *Vaccine* 2009, 27, 2804–2811.

Nalbantoğlu S, Diker S, Vural AS, Baydan E, Karaoğlu T, Sareyyüpoğlu B. Teşhiste Metot Birliği. Gıda Tarım Hayvancılık Bakanlığı, Ankara, 2014.

National Antimicrobial Resistance Monitoring System. Executive Report 2009. <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialResistanceMonitoringSystem/ucm268951.htm> (24.09.2017).

Nurmi E, Rantala M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature* 1973, 241, 210-211.

OIE. Fowl typhoid and pullorum disease. OIE terrestrial Manual 2012. Chapter 2.3.11.

OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-manual/access_online/ (24.09.2017).

Oliveira SD, Santos LR, Schuch DM, Silva AB, Salle CT, Canal CW. Detection and identification of *Salmonellas* from poultry related samples by PCR. *Veterinary Microbiology* 2002, 87(1), 25-35.

Oliver A, Valle M, Chalus-Dancla E, Cloeckert A. Over expression of the multidrug efflux operon *acrEF* by insertional activation of IS1 or IS10 elements in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT204 *acrB* mutants selected with fluoroquinolones. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005, 49, 289–301.

Oral Aİ, Türkyılmaz S. Broyler İç Organlarından *Salmonella enterica subsp. enterica* serovar Enteritidis'in İzolasyonu ve İzole Edilen Susların Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Belirlenmesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008, 5(1), 27-33.

Palys T, Nakamura LK, Cohan FM. Discovery and classification of ecological diversity in the bacterial world: the role of DNA sequence data. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1997, 47, 1145–1156.

Persing HD. Polymerase chain reaction: Trenches to benches. *Journal of Clinical Microbiology* 1991, 29, 1281- 1285.

Pezzella C, Ricci A, DiGiannatale E, Luzzi I, Carattoli A. Tetracycline and streptomycin resistance genes, transposons, and plasmids in *Salmonella enterica* isolates from animals in Italy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004, 48, 903–908.

Pfister P, Risch M, Brodersen DE, Bottger EC. Role of 16S rRNA helix 44 in ribosomal resistance to hygromycin B. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003a, 47, 1496–1502.

- Pfister P, Hobbie S, Vicens Q, Bottger EC, Westhof E.** The molecular basis for A-site mutations conferring aminoglycoside resistance: relationship between ribosomal susceptibility and X-ray crystal structures. *Biochemistry* 2003b, 4, 1078–1088.
- Poppe C.** *Salmonella* Infections in the Domestic Fowl. *Salmonella in Domestic Animals*. CAB International, Wallingford, UK, 2003, 107-132.
- Poppe C, Irwin RJ, Forsberg CM, Clarke RC, Oggel J.** The prevalence of *Salmonella* Enteritidis and other *Salmonella* spp. among Canadian registered commercial layer flocks. *Epidemiology and Infection* 1991a, 106, 259–270.
- Poppe C, Irwin RJ, Messier S, Finley GG, Oggel J.** The prevalence of *Salmonella* Enteritidis and other *Salmonella* spp. among Canadian registered commercial chicken broiler flocks. *Epidemiology and Infection* 1991b, 107, 201–211.
- Proux K, Houdayer C, Humbert, Cariolet R, Rose V, Eveno E, Madec F.** Development of a complete ELISA using *Salmonella* lipopolysaccharides of various serogroups allowing to detect all infected pigs. *Veterinary Research* 2000, 31, 481-90.
- Ramya P, Madhavarao T, Rao LV.** Study on the incidence of *Salmonella* Enteritidis in poultry and meat samples by cultural and PCR methods. *Veterinary World* 2012, 5(9), 541-545.
- Resmi Gazete.** *Salmonella* ve belirlenmiş diğer gıda kaynaklı zoonotik etkenlerin kontrol altına alınması hakkında yönetmelik. Tarih: 27.03.2014, Sayı: 28954.
- Revollo L, Ferreira AJP.** Current perspectives in avian salmonellosis: Vaccines and immune mechanisms of protection. *Journal of Applied Poultry Research* 2012, 21, 418–431.
- Rijpens N, Herman L, Vereecken F, Jannes G, Smedt JD, Zutter LD.** Rapid detection of stressed *Salmonella* spp. in dairy and egg products using immunomagnetic separation and PCR. *International Journal of Food Microbiology* 1999, 46(1), 37-44.
- Roosen L, Norskov P, Holstrom K, Rasmussen OF.** Inhibition of PCR by components of food samples, microbial diagnostic assays and DNA extraction solutions. *International Journal of Food Microbiology* 1992, 17(1), 37-45.
- Rybak MJ.** Resistance to antimicrobial agents: An update. *Pharmacotherapy* 2004, 24, 203-215.

Sorqvist S. Heat resistance in liquids of *Enterococcus* spp., and *Listeria* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp., and *Campylobacter* spp. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2003, 44, 1–19.

Sareyyüpoğlu B. Kanatlı *Salmonella* Enfeksiyonlarının Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemlerle Teşhisi. *Türkiye Klinikleri* 2010, 1(2), 69-79.

Saylers AA. An overview of the genetic basis of antibiotic resistance in bacteria and its implication for agriculture. *Animal Biotechnology* 2002, 13, 1–5.

Scaallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. 2011. Foodborne illness acquired in the United States – Major Pathogens. *Emerging Infectious Diseases* 2011, 17, 7–15.

Schochetman G, Jones KW. Polimerase Chain Reaction. *Journal of Infectious Diseases* 1998, 158, 1154-1157.

Scumberger MC ve Hardt WD. *Salmonella* type 111 secretion effectors; pulling the lost cell's strings. *Current Opinion in Microbiology* 2006, 9, 46-54.

Seo KH, Valentin-Bon IE, Brackett RE, Holt PS. Rapid, specific detection of *Salmonella* Enteritidis in pooled eggs by real-time PCR. *Journal of Food Protection* 2004, 67, 864-869.

Shah HD, Park HJ, Cho RM, Kim CM, Chae SJ. Allele-specific PCR method based on rfbS sequence for distinguishing *Salmonella* Gallinarum from *Salmonella* Pullorum: serotype-specific rfbS sequence polymorphism. *Journal of Microbiological Methods* 2005, 60(2), 169-177.

Shivaprasad HL, Barrow PA. Pullorum disease and fowl typhoid. *Diseases of Poultry*. Blackwell Publishing, Iowa, 2008, 620-636.

Smith KC. Spontaneous mutagenesis: Experimental, genetic and other factors. *Mutation Research* 1992, 277, 139–162.

Sojka WJ, Wray C, Brand TF. Agglutinins to common *Salmonellae* in the sera of apparently healthy sheep. *British Veterinary Journal* 1977, 133, 615–622.

Soumet C, Ermel G, Rose V, Rose N, Drouin P, Salvat G. Identification by a multiplex PCR-based assay of *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis strains from environmental swabs of poultry houses. *Letters in Applied Microbiology* 1999, 29(1), 1-6.

Stevens MP, Humphrey TJ, Maskell DJ. Molecular insights into farm animal and zoonotic *Salmonella* infections. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B* 2009, 364, 2709-2723.

- Sundquist M, Rydstrom A, Wick MJ.** Immunity to *Salmonella* from a dendritic point of view. *Cellular Microbiology* 2004, 6, 1-11.
- Şahan Ö, Aral EM, Aden MMA, Aksoy A, Yılmaz Ö, Jahed R, Akan M.** Türkiye'deki broyler tavuk işletmelerinden izole edilen *Salmonella* serovarlarının antimikrobiyel direnç durumu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016, 63, 1-6.
- Tan S, Gyles CL, Wilkie BN.** Evaluation of an *aroA* mutant *Salmonella* Typhimurium vaccine in chickens using modified semisolid Rappaport Vassiliadis medium to monitor faecal shedding. *Veterinary Microbiology* 1997, 54(3-4), 247-254.
- Tenaillon O, Taddei F, Radman M, Matic I.** Second-order selection in bacterial evolution: Selection acting on mutation and recombination rates in the course of adaptation. *Research in Microbiology* 2001, 152, 11-16.
- Tessari ENC, Kanashiro AMI, Stoppa GFZ, Luciano RL, Castro AGMD, Cardoso LSP.** Important aspect of *Salmonella* in the poultry industry and in public health. www.intechopen.com (06.08.2017).
- Thorns CJ, Turcotte C, Woodward MJ.** Cloning DNA nucleotide sequence and distribution of the gene encoding the SEF 14 fimbrial antigen of *Salmonella* Enteritidis. *Journal of General Microbiology* 1993, 139, 1477-1485.
- Tierrez A, Garcia-del Portillo F.** New concepts in *Salmonella* virulence: the importance reducing the intracellular growth rate in the host. *Cellular Microbiology* 2005, 7, 901-909.
- Tonbak F, Atasever M, Çalicioğlu M.** Kanatlı etlerinde *Salmonella* riski. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 2017, 12(1), 90-98.
- Tortoli E.** Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990s. *Clinical Microbiology Reviews* 2003, 16, 319-354.
- Tunchili LM, Kodama H, Sharma RN, Takatori I, Pandey GS.** Detection of *Salmonella* DNA in chicken embryos and environmental samples by Polymerase Chain Reaction. *Journal of Veterinary Medical Science* 1996, 58, 881-884.
- Turner AK, Lovell MA, Hulme SD, Zhang-Barber L, Barrow PA.** Identification of *Salmonella* Typhimurium genes required for colonization of the chicken alimentary tract and for virulence in newly hatched chicks. *Infection and Immunity* 1998, 66, 2099-2106.

- Türkyılmaz S, Savaşan S, Kırkan Ş, Kaya O.** Tavuklarda *Salmonella* Enteritidis infeksiyonlarının bakteriyolojik ve serolojik yöntemlerle tespiti. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2007, 33, 23–34.
- Uzzau S, Brown DJ, Wallis T, Rubino S, Leori G, Bernard S, Casadesus J, Platt DJ, Olsen JE.** Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*. Epidemiology and Infection 2000, 125, 229-255.
- Van Asten AJ, Van Dijk JE.** Distribution of “classic” virulence factors among *Salmonella* spp. FEMS Immunology and Medical Microbiology 2005, 44, 251-259.
- Van Imerseel F, De Buck J, Boyen F, Pasmans F, Bertrand S, Collard JM.** *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les œufs: un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d’un programme de lutte efficace. Annales de Médecine Vétérinaire 2005, 149, 34-48.
- Villa L, Carattoli A.** Integrins and transposons on the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium virulence plasmid. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2005, 49, 1194– 1197.
- Wagner RD, Johnson SJ, Rubin DK.** Probiotic bacteria are antagonistic to *Salmonella enterica* and *Campylobacter jejuni* and influence host lymphocyte responses in human microbiota-associated immunodeficient and immunocompetent mice. Molecular Nutrition and Food Research 2009, 53, 377–388.
- Wallis TS, Galyov EE.** Molecular basis of *Salmonella*-induced enteritis. Molecular Microbiology 2000, 36, 997-1005.
- Waterman SR, Holdem DW.** Functions effectors of the *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system cell. Microbiology 2003, 5, 501-511.
- White AP, Gibson DL, Collinson SK, Bansen PA, Kay WW.** Extracellular polysaccharides associated with thin aggregative fimbriae of *Salmonella* serovar Enteritidis. Journal of Bacteriology 2003, 185, 5398-5407.
- Wigley P, Hulme SD, Powers C, Beal RK, Berchieri A Jr, Smith A.** Infection of the reproductive tract and eggs by *Salmonella enterica* serovar Pullorum in the chicken is associated with suppression of cellular immunity at sexual maturity. Infection and Immunity 2005, 73(5), 2986-2990.
- Woese CR.** Bacterial evolution. Microbiological Reviews 1987, 51, 221–271.

Woese CR, Stackebrandt E, Macke TJ, Fox GE. A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa. *Systematic Applied Microbiology* 1985, 6, 143–151.

World Organization for Animal Health (OIE). Salmonellosis. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Office International Des Epizooties, Paris, 2008, 1267-1283.

Yavari L. Antibiotic Resistance in *Salmonella enterica* and the Role of Animal Food Control A literature review of Europe and USA. Umea Universitet, Sweden, 2012, 7-21.

York MK, Rodrigues-Wong P. Fecal culture for aerobic pathogens of gastroenteritis. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. ASM Press, Washington DC, 2010, 3811–3812.

Zhao S, Fedorka-Cray PJ, Friedman S, McDermott PF, Walker RD, Quayimu S, Foley SL, Hubert SK, Ayers S, English L, Dartgazt DA, Salamone B, White DG, Ziech RE, Lampugnani C, Perin AP, Sereno MJ, Sfaciotte RAP, Viana C, Soares VM, Pinto JPAN, Bersot L. Multidrug resistance and ESBL-Producing *Salmonella* spp. isolated from broiler processing plants. *Brazilian Journal of Microbiology* 2016, 47, 191-195.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : KUTU, Ayşegül
Uyruk : T.C
Doğum yeri ve tarihi : Batman/ 01.08.1979
Telefon : 0533 817 18 64
E-mail : aysegulkutu@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ	2003

İŞ DENEYİMİ

2003-2006	GÜRES TAV.AŞ	Mikrobiyoloji Teşhis Lab Sor.
2006-	KESKİNOĞLU TAV.AŞ.	Mikrobiyoloji Teşhis Lab Şefi

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

xxx

2. PROJELER

xxx

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

xxx

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

xxx