

	<p>2024</p> <p>MELİKE BEKÖZ YARAR</p> <p>MİKROBİYOLOJİ</p> <p>DOKTORA</p>	  <p>T.C. AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MİKROBİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI DR-2024-0004</p> <p>BROYLER TAVUKLARDAN ELDE EDİLEN SALMONELLA INFANTİS İZOLATLARININ İNTEGRON, ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ VE VİRÜLENS GEN PROFİLLERİNİN İNCELENMESİ</p> <p>MELİKE BEKÖZ YARAR DOKTORA TEZİ</p> <p>DANIŞMAN Prof. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ</p> <p>AYDIN 2024</p>
--	---	--

T.C.

AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİKROBİYOLOJİ (VETERİNER)

DOKTORA PROGRAMI

**BROYLER TAVUKLARDAN ELDE EDİLEN
SALMONELLA INFANTİS İZOLATLARININ
İNTEGRON, ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ VE
VİRÜLENS GEN PROFİLLERİNİN İNCELENMESİ**

MELİKE BEKÖZ YARAR

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-21006 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2024

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Melike BEKÖZ YARAR tarafından hazırlanan “Broyler tavuklardan elde edilen *Salmonella* Infantis izolatlarının integron, antimikrobiyal direnç ve virülens gen profillerinin incelenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18/01/2024

Üye (T.D.) :	Prof. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Şükrü KIRKAN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Ayşe KILIÇ	Fırat Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Nural EROL	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Doç. Dr. Özlem BÜYÜKTANIR YAŞ	Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Doktora tez konumun belirlenmesinde ve çalıŐmalarımın yürütülmesinde yardım ve desteğini esirgemeyen, beni daima yüreklendiren tez danıŐmanım ve aynı zamanda Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı BaŐkanı Prof. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ'a çok teşekkür ederim. Ayrıca bana her konuda yardımcı olan Veteriner Fakóltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm değerli öğretim üyelerine ve örneklerin toplanması için bana olanak sağlayan Uzm. Biyolog Nurullah SAYIN'a teŐekkürü bir borç bilirim.

Tez çalıŐmam süresince manevi varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim ve eğitim hayatımı daima destekleyen babam Mehmet BEKÖZ, annem Őükran BEKÖZ, kardeŐlerim Zeynep KASAP ile Kevser BEKÖZ'e, tez çalıŐmam süresince gösterdikleri sabır, özveri ve destekleri için değerli eŐim Yusuf YARAR'a ve biricik oğlum Yekta M. YARAR'a ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLOLAR DİZİNİ	xii
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>Salmonella</i> Türlerinin Tarihçesi.....	4
2.2. <i>Salmonella</i> Türlerinin Sınıflandırılması.....	4
2.3. <i>Salmonella</i> Türlerinin Özellikleri	5
2.3.1. Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri	5
2.3.2. Antijenik Özellikleri.....	7
2.4. <i>Salmonella</i> Türlerinde Epidemiyoloji	8
2.5. <i>Salmonella</i> Türlerinin Patogenezi	9
2.5.1. <i>Salmonella</i> Türlerinin Virülens Faktörleri	10
2.5.1.1. <i>Salmonella</i> Patojenite Adaları.....	10
2.5.1.2. <i>Salmonella</i> Virülens Plazmidleri.....	17
2.5.1.3. Flagella.....	18
2.5.1.4. Fimbria	18
2.5.1.5. Sideroforlar	19

2.5.1.6. Toksinler	19
2.6. Antimikrobiyal Direnç	20
2.6.1. Antibiyotiklere Direnç Gelişim Mekanizmaları.....	21
2.6.1.1. Biyokimyasal Yollar	21
2.6.1.1.1. Enzimatik inaktivasyon.....	21
2.6.1.1.2. Hedef modifikasyonu	22
2.6.1.1.3. Effluks pompası ve dış membran geçirgenliğindeki değişim	22
2.6.1.1.4. Antibiyotik inaktivasyonu.....	22
2.6.1.2. Genetik Yollar	22
2.6.1.2.1. Horizontal gen transferi.....	23
2.7. <i>S. Infantis</i> 'in Salmonellozis'teki Önemi	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Gereç	29
3.1.1. İzolasyon Materyali.....	29
3.1.1.1. Drag Swap Örneklerinin Alınması.....	29
3.1.2. Pozitif Kontrol ve Negatif Kontrol Suşları	30
3.1.3. Besiyerleri	30
3.1.3.1. Tamponlanmış peptonlu su	30
3.1.3.2. Modifiye yarı katı rappaport vassiliadis besiyeri.....	31
3.1.3.3. Mueller Kauffmann tetrathionate novobiocin broth	32
3.1.3.4. Ksiloz lizin deoksikolat agar	34
3.1.3.5. Kolumbia kanlı agar	35
3.1.3.6. MacConkey agar	36
3.1.3.7. Nutrient agar.....	37
3.1.3.8. Nutrient broth.....	38
3.1.3.9. Mueller hinton agar.....	39

3.1.3.10. Brain hearth infusion broth	40
3.1.3.11. Üre indol besiyeri.....	41
3.1.4. Boya ve Ayraçlar.....	42
3.1.4.1. Gram boyama seti	42
3.1.4.2. Kovaks indol ayraçı	42
3.1.4.3. Oksidaz ayraçı.....	43
3.1.4.4. Hidrojen peroksit.....	43
3.1.5. Antiserumlar.....	43
3.1.6. Antibiyotik Diskleri	43
3.1.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	44
3.1.7.1. Solüsyon ve boyalar	44
3.1.7.1.1. Tris, borik asit, EDTA buffer.....	44
3.1.7.2. Yükleme tamponu	44
3.1.7.3. Primerler.....	45
3.1.7.4. Agaroz jel.....	47
3.1.7.5. Kullanılan cihazlar	48
3.1.7.6. Marker	48
3.2. Yöntem.....	49
3.2.1. <i>Salmonella</i> spp. İzolasyonu ve Fenotipik İdentifikasyonu	49
3.2.1.1. Birinci Gün: Ön Zenginleştirme.....	50
3.2.1.2. İkinci Gün: Zenginleştirme	50
3.2.1.3. Üçüncü Gün: Selektif Katı Besiyerine Zenginleştirme Amaçlı İnokülasyon	51
3.2.1.4. Dördüncü Gün: Değerlendirme	52
3.2.1.5. Beşinci Gün: Biyokimyasal Doğrulama	52
3.2.1.6. Altıncı Gün: Serolojik Doğrulama Testleri.....	53
3.2.2. Genotipik İdentifikasyon.....	55

3.2.3. Sekans Analizi.....	58
3.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	59
3.2.5. İstatistiksel Analiz.....	60
4. BULGULAR.....	61
4.1. İzolasyon	61
4.2. İdentifikasyon.....	62
4.3. Sekans Analizi.....	644
4.4. Virülens Genotiplendirme.....	66
4.5. İntegronların Varlığı.....	689
4.6. Antibiyotik Direnci	70
4.7. İstatistiksel Analiz.....	71
5. TARTIŞMA	75
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	83
KAYNAKLAR	85
EKLER.....	100
Ek 1. <i>S. Infantis</i> izolatlarının virülens gen, integron ve antibiyotik direnç durumları..	100
Ek 2. (ADÜ-HADYEK).....	104
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	105
ÖZ GEÇMİŞ	106

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin Difosfat
AMC	: Amoksisilin/Klavulanik Asit
AMP	: Ampisilin
ATCC	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
BGPRA	: Brilliant Green Phenol Red Agar
BHIB	: Brain Heart Infusion Broth
BPW	: Buffered Peptone Water
C	: Kloramfenikol
CIP	: Siprofloksasin
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CN	: Gentamisin
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksi Nükleotide Trifosfat
ECDC	: Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi
EDTA	: Etilenediaminetetraasetik Asit
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
F	: Nitrofurantoin
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
H₂S	: Hidrojen Sülfür
I	: Orta Duyarlı
IMVIC	: İndol, Metil Kırmızısı, Voges Proskauer ve Sitrat testi
LPS	: Lipopolisakkarit

MAP	: Mitojen Aktive eden Protein
MCA	: MacConkey Agar
MDR	: Çoklu Antibiyotik Direnci
MgCl₂	: Magnezyum Klorür
MHA	: Mueller Hinton Agar
MKTTn	: Muller Kauffmann Tetrathionate/Novobiocin
MR	: Metil Red
MSRV	: Modifiye Yarı Katı Rappaport Vassiliadis Medium
NaCl	: Sodyum Klorür
NB	: Nutrient Broth
NCBI	: Ulusal Biyoteknolojik Bilgi Merkezi
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	: Dirençli
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RTX	: Tekrarlı Toksin
S	: Duyarlı
SCV	: <i>Salmonella</i> İçeren Vakuol
SGA	: <i>Salmonella</i> Genomik Ada
SPA	: <i>Salmonella</i> Patojenite Adası
SPSS	: Sosyal Bilimler İstatistik Paketi
SXT	: Trimetoprim Sulfametoksazol
T1SS	: Tip 1 Sekresyon Sistemi
T3SS	: Tip 3 Sekresyon Sistemi
T6SS	: Tip 6 Sekresyon Sistemi
TBE	: Tris Borik Asit Etilendiaminetetraasetik Asit
TE	: Tetrasiklin

Tm	: Primerin Bağlanma Sıcaklığı
TSI	: Triple Sugar Iron
USKP	: Ulusal <i>Salmonella</i> Kontrol Programı
UV	: Ultraviyole
XLD	: Ksiloz Lizin Deoksikolat
YPA	: Yüksek Patogenite Adası

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Salmonella</i> türlerinin ve alt türlerinin klasifikasyonu	5
Şekil 2. <i>Salmonella</i> etkenlerinin bulaşma şekilleri.	9
Şekil 3. <i>Salmonella</i> enfeksiyonlarının patogenezi.	10
Şekil 4. Gıda, hayvan yemi ve çevresel örneklerde <i>Salmonella</i> tespiti için prosedür şeması..	55
Şekil 5. <i>Salmonella</i> izolatlarının serotip dağılımları.	63
Şekil 6. İzolatların taşıdıkları virülens gen dağılımları.	666
Şekil 7. <i>S. Infantis</i> izolatlarının taşıdıkları integron sınıflarının dağılımı.	69
Şekil 8. <i>S. Infantis</i> izolatlarının antibiyotik direnç dağılımları.	70

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Antibiyotiklere direnç gelişim mekanizmaları.....	21
Resim 2. Drag svabın hazırlanışı ve kümes zemininden materyal alınması.	29
Resim 3. BPW besiyerinde negatif (a) ve pozitif (b) kontrol örneklerin görünümü.....	50
Resim 4. MSR/V besiyerine geçiş.	51
Resim 5. Bakterilerin 16S rRNA sekansına dayalı moleküler identifikasyonu.	59
Resim 6. <i>Salmonella</i> izolatlarının Gram boyama, üre indol testi ve MCA'daki görünümleri	61
Resim 7. MSR/V besiyerine ekim sonrası negatif ve pozitif kontrollerin görünümü.....	61
Resim 8. XLD agara ekim sonrası negatif ve pozitif kontrollerin görünümü.....	62
Resim 9. MKTTn Broth'ta negatif/pozitif kontrol ve lam aglütinasyon testi.....	62
Resim 10. <i>Salmonella</i> izolatlarının PZR jel elektroforez görüntüsü.....	64
Resim 11. <i>S. Infantis</i> izolatının 16S rRNA jel elektroforez görüntüsü.....	65
Resim 12. <i>S. Infantis</i> izolatının BLAST analizi sonucu.....	65
Resim 13. <i>S. Infantis</i> virülens genlerinin jel elektroforez görüntüsü.....	66
Resim 14. <i>S. Infantis</i> integron genlerinin jel elektroforez görünümü	69

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Salmonella</i> türlerinin biyokimyasal ve serolojik reaksiyonları	6
Tablo 2. <i>Salmonella enterica</i> subs. <i>enterica</i> alt türünün serolojik tiplendirilmesi	8
Tablo 3. SPA-1’de kodlanan bazı efektör proteinler ve konak hücreye etkileri.....	12
Tablo 4. SPA-2’de kodlanan bazı efektör proteinler ve konak hücreye etkileri.....	13
Tablo 5. <i>Salmonella</i> patojenite adaları.....	16
Tablo 6. <i>Salmonella</i> izolatlarının identifikasyonunda kullanılan primerler.	46
Tablo 7. İntegronların belirlenmesinde kullanılan primerler.....	46
Tablo 8. Virülens genlerin belirlenmesinde kullanılan primerler.	47
Tablo 9. Doğrulama testlerinin yorumu.....	54
Tablo 10. Mastermiks hazırlanma oranları.	56
Tablo 11. PZR sıcaklık ve döngü koşulları.....	57
Tablo 12. Çalışmada kullanılan antibiyotikler.....	60
Tablo 13. <i>Salmonella</i> izolatlarının izole edildikleri yerler ve serotip oranları.	63
Tablo 14. <i>S. Infantis</i> izolatların taşıdıkları virülens genler ve oranları.	67
Tablo 15. <i>S. Infantis</i> izolatlarının virülens gen profilleri.....	68
Tablo 16. <i>S. Infantis</i> izolatlarının antibiyotiklere direnç oranları.....	70
Tablo 17. <i>S. Infantis</i> izolatlarının çoklu antibiyotik direnç fenotipleri.....	71
Tablo 18. İntegron geni taşıyan ve taşımayan izolatların MDR ve NMDR ile ilişkisi.....	71
Tablo 19. Virülens genleri taşıyan ve taşımayan izolatların MDR ve NMDR ile ilişkisi.	72
Tablo 20. İntegron geni taşıyan ve taşımayan izolatların virülens genlerle ilişkisi.....	73
Tablo 21. İntegron geni taşıyan ve taşımayan izolatların antibiyotiklere direnç durumları.	74

ÖZET

BROYLER TAVUKLARDAN ELDE EDİLEN *SALMONELLA* INFANTİS İZOLATLARININ İNTEGRON, ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ VE VİRÜLENS GEN PROFİLLERİNİN İNCELENMESİ

Beköz Yarar M. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2024.

Amaç: Broyles tavuklardan elde edilen *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Infantis izolatlarında integron, antimikrobiyal direnç ve virülens gen profillerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Broyles tavuklardan elde edilen toplam 255 *Salmonella* izolatı kullanıldı. *Salmonella* izolasyonu, TS EN ISO 6579-1:2017 standardına göre yapıldı. İzolatların cins (*invA*) ve tür (serovar Enteritidis için *sefA*, serovar Typhimurium için *spy*, serovar Infantis için *fljB*) düzeyinde doğrulanması, integron (*int1*, *int2*) ve virülens gen (*sopB*, *pipD*, *sopE*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *spvC*, *slyA*, *hilA*, *spvR*) profillerinin belirlenmesi için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanıldı. İzolatların sekiz antimikrobiyal aileye ait sekiz antibiyotiğe karşı direnç profilleri disk difüzyon yöntemi ile incelendi. İzolatların çoklu antibiyotik direnç (MDR) durumları ile integron ve virülens genlerinin varlığı arasındaki ilişki; ayrıca, integron genlerinin varlığı ile virülens genlerinin varlığı ve antimikrobiyal direnç arasındaki ilişki Pearson Ki-Kare (χ^2) testi kullanılarak incelendi.

Bulgular: Tür spesifik PZR sonuçlarına göre izolatların %62,3'ü *S. Infantis* olarak tanımlandı. *S. Infantis* izolatları arasında en yüksek direnç trimetoprim/sülfametoksazol, tetrasiklin (%89,3) ve amoksisilin/klavulanik aside (%62,9) karşı belirlenirken en etkili antibiyotikler ampisilin ve gentamisin olarak belirlendi. *S. Infantis* izolatlarının %61,0'i MDR'ye sahip iken %96,8'i integron geni taşıyordu. İzolatların, bazı virülens genlerini (*sopB*, *pipD*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *slyA*, *hilA*) yüksek (%93,7-%96,8) yüksek, bazı virülens genlerini ise (*sopE*, *spvC*, *spvR*) daha düşük oranlarda (%11,9-%3,1) taşıdıkları tespit edildi. Yapılan istatistiksel analiz sonrasında, integron genlerinin varlığı ile bazı antibiyotiklere (gentamisin ve ampisilin) karşı direnç ve

belirli virülens genlerinin (*sopB*, *pipD*, *spaN*, *spvC*, *slyA*, *hilA*, *spvR*) varlığı arasında anlamlı bir ilişki saptandı.

Sonuç: Broyler tavuklardan elde edilen MDR'ye sahip *S. Infantis* izolatlarında yüksek düzeyde integron ve virülens genlerinin belirlenmesi; bu patojenin ilaç direncini ve hastalık yapma potansiyelini anlamak için önemlidir ve etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olabilir.

Anahtar kelimeler: Çoklu antibiyotik direnci, İntegron, *Salmonella* Infantis, Virülens gen.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF INTEGRON, ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND VIRULENCE GENE PROFILES OF *SALMONELLA* INFANTIS ISOLATED FROM BROILER CHICKENS

Bekoz Yarar M. Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Microbiology Program, Doctoral Thesis, Aydın, 2024.

Objective: The aim of the study was to investigate integron, antimicrobial resistance and virulence gene profiles in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Infantis isolates obtained from broiler chickens.

Materials and Methods: Two hundred fifty five *Salmonella* isolates obtained from broiler chickens were used in the study. *Salmonella* isolation was carried out according to the TS EN ISO 6579-1:2017 standard. Polymerase chain reaction (PCR) was used for the confirmation of the isolates at the genus level (*invA*) and species level (*sefA* for serovar Enteritidis, *spy* for serovar Typhimurium, *fljB* for serovar Infantis), determination of integron (*int1*, *int2*) and virulence gene (*sopB*, *pipD*, *sopE*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *spvC*, *slyA*, *hilA*, *spvR*) profiles. The isolates' resistance profiles against eight antibiotics belonging to eight antimicrobial families were examined using the disk diffusion method. The relationship between multiple antibiotic resistance (MDR) status the presence of integron genes and virulence genes; in addition, the relationship between the presence of integron genes and the presence of virulence genes and antimicrobial resistance was examined using the Pearson Chi-Square (χ^2) test.

Results: According to the species-specific PCR results, 62,3% of the isolates were identified as *S. Infantis*. The highest resistance among *S. Infantis* isolates was observed against trimethoprim sulfamethoxazole, tetracycline (89,3%), and amoxicillin clavulanic acid (62,9%), while the most effective antibiotics were ampicillin and gentamicin. While 61,0% of *S. Infantis* isolates were MDR; 96,8% carried the integron gene. The isolates carried some virulence genes (*sopB*, *pipD*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *slyA*, *hilA*) at high rates (93,7%-96,8%) and some virulence genes (*sopE*, *spvC*, *spvR*) at lower rates (11,9%-3,1%). After the statistical analysis a significant relationship was found between the presence of integron genes and resistance to some

antibiotics (gentamicin and ampicillin) and the presence of certain virulence genes (*sopB*, *pipD*, *spaN*, *spvC*, *slyA*, *hilA*, *spvR*).

Conclusion: The high level of integron genes and virulence genes identified in MDR *S. Infantis* isolates obtained from broilers is important for understanding the drug resistance and disease potential of this pathogen and can aid in the development of effective treatment strategies.

Keywords: Integron, Multidrug antimicrobial resistance, *Salmonella* Infantis, Virulence gene.

1. GİRİŞ

Salmonella enfeksiyonları, kanatlı hayvanlarda görülen ve ekonomik kayıplara neden olan önemli hastalıklardan birisidir. Etkenin gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olması, halk sağlığı açısından önemlidir (İzgür, 2006). Salmonellozis; özellikle kanatlı hayvanlarda verim düşüklüğü, gelişme geriliği ve ölüme neden olan, insanlara da bulaşabilen zoonoz bir enfeksiyondur (Lutful Kabir SM, 2010). *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Infantis (*S. Infantis*) etkenleri, broyler çiftliklerinde hayvanların sindirim sistemine kolonize olarak dışkı ile etrafa saçılır ve çevreyi kontamine ederler. Bu şekilde diğer tavukları da enfekte edebilirler. Kesimhanelerde; kesim sırasında veya kanatlı etlerinin işlenme sürecinde hijyen standartlarının yeterince uygulanmaması sonucu kontamine olan karkaslar, insan sağlığı açısından büyük bir risk faktörüdür. Kontamine gıdaların tüketilmesi, insanlarda enfeksiyonlara neden olarak gıda güvenliği sorunlarına yol açabilir (EFSA, 2013).

Son yıllarda ülkemiz de dahil olmak üzere dünyanın birçok yerinde artan antibiyotik direnci, *Salmonella* enfeksiyonlarının kontrolünü güçleştirmektedir. *S. Infantis* izolatlarının antimikrobiyal direnç geliştirebilme potansiyeli, broyler tavuk yetiştiriciliği açısından önemli bir sorundur. Terapötik ve profilaktik amaçlı kanatlı hayvan işletmelerinde bilinçsizce kullanılan antibiyotikler, dirençli suşların yayılma olasılığını artırır. Bu da enfeksiyonların tedavi edilmesini zorlaştırabilir ve sağlık sorunlarına neden olabilir (Kaya ve diğerleri, 2017; Şahan Yapıcıer ve Öztürk, 2022; Bogomazova ve diğerleri, 2020; Pardo-Este ve diğerleri, 2021; Diab ve diğerleri, 2023). Hem dünyada hem de ülkemizde yapılan çalışmalara göre; *S. Infantis* izolatlarının genellikle sülfonamidlere, tetrasiklinlere, streptomisine, nalidiksik aside ve geniş spektrumlu betalaktamlara karşı yaygın olarak direnç gösterdiği bildirilmiştir (Şahan ve diğerleri, 2016; Hindermann ve diğerleri, 2017; Pate ve diğerleri, 2019; Kürekci ve diğerleri, 2021). *S. Infantis* kaynaklı enfeksiyonlarda uygulanan antibakteriyel tedavinin sonuçları, sadece etkenin antibiyotik duyarlılığına değil aynı zamanda integron taşıma ve virülens faktör üretme yeteneklerine de bağlı olabilir.

Çoklu antibiyotik direncinden (MDR) sorumlu genler; bakteriler arasında transpozonlar, plazmidler veya integronlar aracılığıyla aktarılabilir. Bu genetik yapılar, bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanmalarını sağlar, antibiyotik tedavisinin etkinliğini azaltır ve

ilaç direncinin yayılmasına neden olur (Dzidik ve diğerleri, 2008). İntegronlar, MDR ve patojenik bakterilerin genomlarında yaygın olarak bulunan, antimikrobiyal direncin türler arasında ya da tür içinde transferini sağlayan gen toplama sistemleridir. İntegronlar, birden fazla antibiyotik direnç gen kasetini yapısında bulundurabilirler ve bölgeye özgü rekombinasyon yoluyla bu gen kasetlerini entegre etme ve kesme yetenekleriyle karakterize edilirler (Nield ve diğerleri, 2001; Shilpi ve Atul, 2017). Bu genlerin entegrasyonu ve yayılması, antibiyotik direncinin hızla yayılmasına ve tedavi seçeneklerinin azalmasına neden olabilir. Bu nedenle, antimikrobiyal dirençle mücadelede integronların rolü; dirençli genlerin yayılmasının izlenmesi, önlenmesi ve kontrolü açısından büyük önem taşır. MDR'ye sahip *Salmonella* serotiplerinde en yaygın olarak bulunan ve üzerinde en çok çalışılan integron sınıfı, sınıf 1 integronlar (*int1*)'dır (Kaya ve diğerleri, 2017). Bu sınıftaki integronlar, çoğunlukla insan ve hayvan patojenlerinde bulunarak klinik izolatlarda yaygın olarak görülür. *Int1*, özellikle betalaktam grubu antibiyotiklere, aminoglikozidlere, kinolonlara ve sülfonamid gibi farklı antibiyotik sınıflarına direnç gelişimine katkıda bulunabilir (Deng ve diğerleri, 2015). Sınıf 2 integronlar (*int2*) ise daha az yaygın olan ve daha az bilinen bir sınıftır. Genellikle aminoglikozidlere ve betalaktam grubu antibiyotiklere direnci artıran genleri içerirler (Crowley ve diğerleri, 2008).

Salmonella enfeksiyonlarının patogeneğinde, farklı görevlere sahip olan çeşitli virülens faktörleri bulunmaktadır. Bu faktörler arasında flagellalar, kapsüller, plazmidler, yapışma sistemleri ve tip 3 sekresyon sistemleri (T3SS) bulunur. *S. Infantis*'te bulunan virülensle ilişkili genler, genel olarak üç grupta incelenebilir. İlk grupta; *S. Infantis*'in hücrelere yapışmasını ve bakterinin hücre içine alınmasını sağlayan invazyonla ilişkili genler (*hilA*, *sopB*, *sopE*, *spaN*, *sifA*, *pipD*) yer alır. Bu genler, bakterinin hücre içinde yaşamını sürdürebilmesi ve bağışıklık sistemini aşabilmesi için önemlidir (Günaydın ve Şen, 2012; Sırıken, 2013). İkinci grupta; *Salmonella* virülens plazmidleri yer alır. Bu plazmidler; konak hücreye adaptasyon, virülens faktörleri ve antibiyotik direnci gibi birçok fonksiyon için gerekli genleri (*spvR*, *spvA*, *spvC*, *spvD*) kodlarlar. Virülens plazmidi taşıyan *Salmonella* suşlarının insanlarda ve hayvanlarda sistemik enfeksiyonların başlatılması için gerekli olduğu bildirilmiştir (Rychlik ve diğerleri, 2006). Üçüncü grupta ise; konak hücreye zarar veren ve hücre ölümüne yol açabilen, toksin üretiminden sorumlu genler yer alır. Araştırmalara göre; *Salmonella* enterotoksini ve salmolizin olmak üzere 2 ekzotoksin türü bildirilmiş ve bu toksinlerin sırasıyla *stn* ve *slyA* genleri tarafından kodlandığı belirlenmiştir (Jajere, 2019). Tüm bu virülens genleri, *S. Infantis*'in

enfeksiyon oluşturabilme yeteneğini etkileyen ve hastalık semptomlarının ortaya çıkmasına katkı sağlayan önemli faktörlerdir.

Bu sebeplerden dolayı, *S. Infantis* enfeksiyonları broyler tavuk yetiştiriciliği açısından ciddi bir endişe kaynağıdır. Bu işletmelerde; hijyenik önlemlerin sıkı bir şekilde uygulanması, yetiştirme ortamlarının düzenli olarak temizlenmesi ve kanatlı hayvanların sağlık durumlarının periyodik olarak izlenmesi çok önemlidir. Ayrıca, kesim sırasında ve kanatlı etlerini işleme sürecinde hijyen kurallarına dikkat edilmesi, tavuk etinin doğru şekilde pişirilmesi, *S. Infantis*'in insanlara bulaşma riskini azaltmada önemli rol oynar (İzgür, 2006).

Salmonella Infantis izolatlarında integron, antimikrobiyal direnç ve virülens gen profillerinin araştırılması, bakterinin antibiyotik direncini ve enfeksiyon potansiyelini anlama ve etkili tedavi stratejileri geliştirme açısından oldukça önemlidir. Bu çalışmada broyler tavuklardan elde edilen *Salmonella Infantis* izolatlarında integron, antimikrobiyal direnç ve virülens gen profillerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

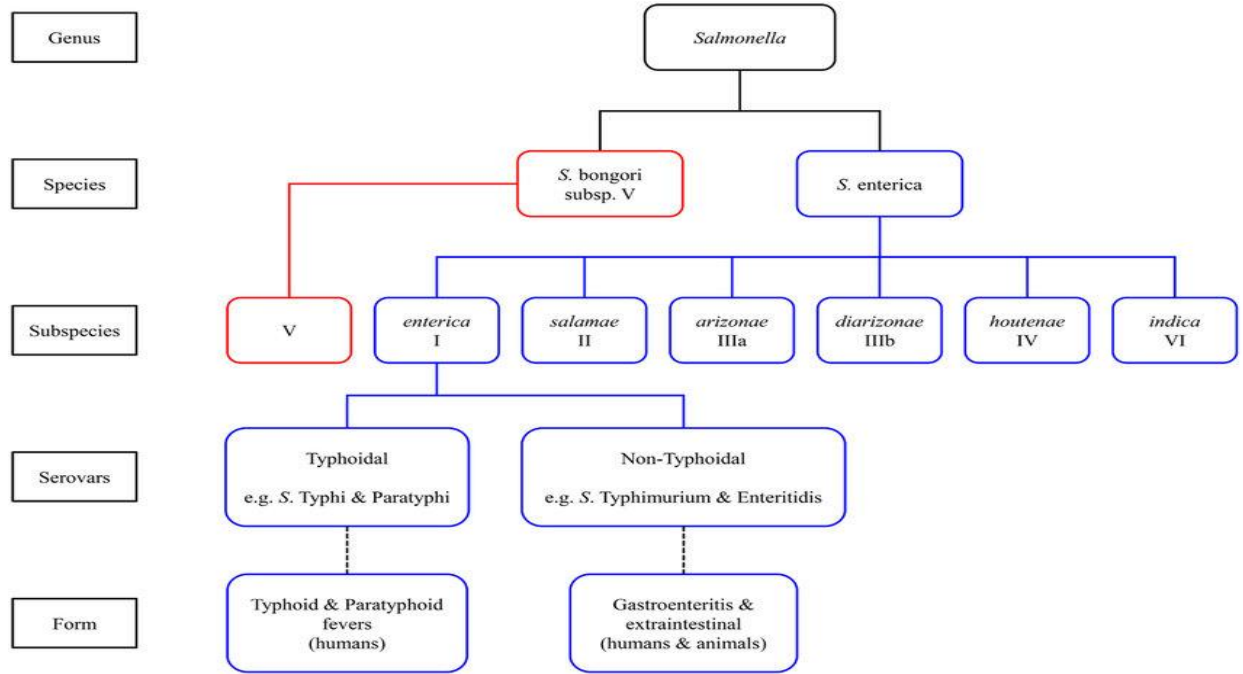
2.1. *Salmonella* Türlerinin Tarihçesi

Salmonella ilk kez, 1880 yılında Karl Joseph Eberth ve Robert Koch'un da aralarında bulunduğu bakteriyologlar tarafından tifoid hastası olan insanların lenf nodüllerinde ve dalaklarında basil şeklinde organizmalar olarak gözlemlenmiştir (Agbaje ve diğerleri, 2011). 1884 yılında Almanya'da George Theodor Gaffky tarafından *Salmonella* serotipi olan Typhi'nin ilk izolasyonu ve ilk morfolojik tanımlaması yapılmıştır. 1886 yılında Amerikalı bakteriyolog Theobald Smith ve Daniel Elmer Salmon çalışmaları sırasında domuz bağırsağından kolera basilini izole ederek bu basile 'yaban domuzu kolera basili' (*Bacterium suipestifer*) adını vermişlerdir. 1888 yılında August Gaertner tarafından *Salmonella* Enteritidis olarak adlandırılan *Bacterium enteritidis*, sığır eti tüketimine bağlı gıda zehirlenmesi geçiren bir hastadan izole edilerek ilk defa laboratuvarında doğrulanmıştır. *Salmonella* cins ismi ilk kez 1900 yılında Lignieres tarafından, Amerikan bakteriyolog Salmon'a ithafen önerilmiştir (Euzeby, 1999; Hardy, 2004).

2.2. *Salmonella* Türlerinin Sınıflandırılması

Salmonella serotiplerinin sınıflandırılması ilk kez, 1926 yılında Phillip Bruce White tarafından antijenlerin identifikasyonu ve isimlendirilmesi ile yapılmıştır. 1930'lu yıllarda ise Fritz Kauffmann tarafından daha da geliştirilerek White-Kauffmann şeması oluşturulmuştur. Her bir *Salmonella* serotipi ve ilgili antijenik formülü listelenerek 1934 yılında ilk defa Uluslararası Mikrobiyologlar Birliği (International Association of Microbiologist) özel alt komitesince genel kullanıma açılmıştır ve o günden bu yana kullanılır hale gelmiştir (Bell ve Kyriakides, 2003). 1987 yılında ise Popoff ve Le Minor'un önerisi ile *Salmonella* cinsi; *Salmonella enterica* ve *Salmonella bongori* olarak iki alt türe ayrılmıştır. *Salmonella* üyelerinin hemen hemen hepsini içeren *enterica* türü 6 alt türe ayrılmıştır. Günümüze kadar toplam 2610 adet *Salmonella* serovarı tiplendirilmiştir. Bunlardan 2587'si *Salmonella enterica* alt grubunda,

23'ü ise *Salmonella bongori* alt grubunda yer almaktadır (Guibourdenche ve diğerleri, 2010). *Salmonella* türlerinin ve alt türlerinin klasifikasyonu Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. *Salmonella* türlerinin ve alt türlerinin klasifikasyonu (Hurley ve diğerleri, 2014).

2.3. *Salmonella* Türlerinin Özellikleri

2.3.1. Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

Salmonella etkenleri *Enterobacteriaceae* ailesinin genel özelliklerini taşırlar. Gram negatif çomak şeklinde, fakültatif anaerobik, sporsuz, kapsülsüz, 2-3 µm uzunluğunda, 0,4-0,6 µm eninde, *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* hariç hareketli mikroorganizmalardır. Laboratuvar besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilirler. En iyi 37°C'de 24-48 saatte üremelerine karşın üreme ısı sınırları 20-42°C olarak bildirilmiştir. Besiyerlerinde küçük, yuvarlak ve S tipli koloniler meydana getirirler. MacConkey agar (MCA), Brilliant Green Phenol Red agar (BGPR) ve Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agarda laktoz negatif olarak ürerler. Nutrient Broth (NB) içerisinde homojen üreme gösterirler. Üç şekerli demirli besiyeri olan Triple Sugar Iron (TSI)

agarda laktoz ve sükröz negatif olarak üreyen *Salmonella* etkenleri glikoz ve H₂S açısından pozitifdir (TSI agarda sadece *S. Paratyphi A* H₂S üretemez). IMVIC testlerinde; İndol negatif, Metil Red pozitif, Voges Proskauer negatif ve Sitrat pozitif olarak ürerler. Diğer Gram negatif bakterilerden, H₂S oluşturmaları ve laktozu fermente edememeleri ile ayrılırlar (Andrews ve diğerleri, 2023). *Salmonella* türlerinin biyokimyasal ve serolojik reaksiyonları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. *Salmonella* türlerinin biyokimyasal ve serolojik reaksiyonları (Andrews ve diğerleri, 2023).

Test veya substrat	Sonuç pozitif ise	Sonuç negatif ise	Test sonucu
Glikoz (TSI)	Dip Sarı Renk	Dip Kırmızı Renk	+
Lizin Dekarboksilaz	Dip Mor Renk	Dip Sarı Renk	+
H ₂ S (TSI)	Siyahlaşma Var	Siyahlaşma Yok	+
Üreaz	Mor-Kırmızı Renk	Renk Değişikliği Yok	-
Lizin Dekarboksilaz Broth	Mor Renk	Sarı Renk	+
Fenol Red Dulcitol Broth	Sarı Renk ve/veya Gaz Oluşumu Var	Renk Değişikliği Yok Gaz Oluşumu Yok	+ (b)
KCN Broth	Üreme Var	Üreme Yok	-
İndol Testi	Yüzeyde Viyole Renk	Yüzeyde Sarı Renk	-
Polivalan Flagellar Test	Aglütinasyon Var	Aglütinasyon Yok	+
Polivalan Somatik Test	Aglütinasyon Var	Aglütinasyon Yok	+
Fenol Red Laktoz Broth	Sarı Renk ve/veya Gaz Oluşumu Var	Renk Değişikliği Yok Gaz Oluşumu Yok	- (c)
Fenol Red Sucrose Broth	Sarı Renk ve/veya Gaz Oluşumu Var	Renk Değişikliği Yok Gaz Oluşumu Yok	-
Voges Proskauer Test (VP)	Pembe/Kırmızı Renk	Renk Değişikliği Yok	-
Metil Red Testi (MR)	Yaygın Kırmızı Renk	Yaygın Sarı Renk	+
Simmon’s Sitrat Testi	Renk Değişikliği Var Üreme Var	Renk Değişikliği Yok Üreme Yok	+ (v)

(+): ≥ %90 pozitif (1-2 gün) (-): ≥ %90negatif (1-2 gün) (v): Değişken (b): Çoğunlukla *S. Arizonae* negatif (c): Çoğunlukla *S. Arizonae* pozitif

2.3.2. Antijenik Özellikleri

Salmonella'lar sahip oldukları antijenlere göre serogruplara ve serotiplere ayrılırlar. O antijenleri ile serogrupları, H antijenleri ile serotipleri belirlenir (İzgür, 2002).

O Antijenleri: Hareketli/hareketsiz tüm *Salmonella* gruplarında bulunan bir antijendir. Bu antijen; ısıya (110°C'de 2,5 saat), alkole (%96'lık alkole 4 saat) ve asite karşı oldukça dayanıklı iken formole duyarlıdır. *Salmonella* serotipleri içerdikleri O antijeni sayısı ve tip benzerlikleri göz önünde bulundurularak A, B, C1, C2, D ve E1 şeklinde gruplandırılmaktadır. O antijeni yardımıyla *Salmonella*'lar 60'dan fazla serogruba ayrılmıştır. O antijenleri; O grup antijenleri ve yardımcı O antijenleri olarak 2 gruba ayrılır. O grup antijenleri; *Enterobacteriaceae* ailesinin serotiplendirilmesinde asıl belirleyici olan antijenlerdir. Yardımcı O antijenleri ise bakteriyofaj veya plazmidler tarafından kodlanan, belirli serotiplerde bulunan ve serotiplendirme açısından çok da önemli olmayan antijenlerdir (İzgür, 2002).

H Antijenleri: Hareketli *Salmonella* türlerinde bulunan ve protein yapıda olan kirpik antijenleridir. Bu antijenler ısı, alkol, asit ve proteolitik enzimler ile inaktive olurken formole dirençlidir. H antijenleri; Faz-I ve Faz-II olarak 2 gruba ayrılır. Faz-I antijenleri, diğer enterik bakterilerle benzerlik gösterirken Faz-II antijenlerini kodlayan genler, *Salmonella* genomuna spesifiktir. *Salmonella*'lar H antijenleri yardımıyla serovarlara ayrılırlar (İzgür, 2002).

Vi Antijenleri: Somatik O antijeninin en dışında bulunarak onu çevreleyen, glikolipid yapısında olan ve aglütinasyonu engelleyen, yüzey antijenleridir. Bu antijenler, bakterileri fagositozdan ve bakterisidal ajanlardan korur. Sadece 3 serotipte (*S. Typhi*, *S. Paratyphi*, *S. Dublin*) olduğu bildirilmiştir (İzgür, 2002).

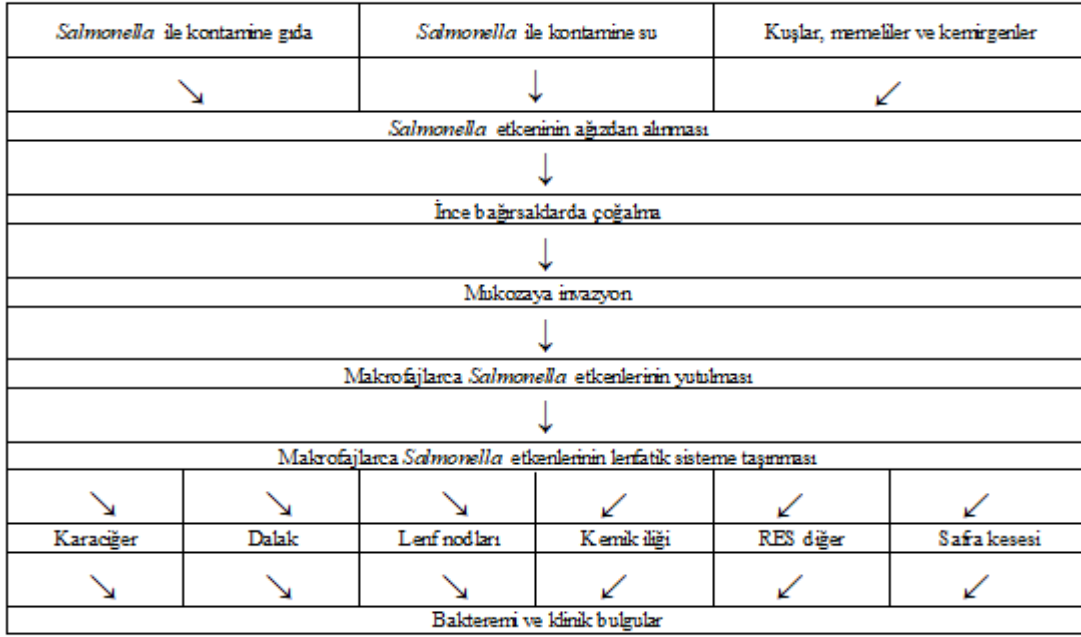
Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar Infantis Kauffman White şemasında; O antijenleri bakımından "6,7,14", Faz-I H antijenleri bakımından "r" ve Faz-II H antijenleri bakımından "1,5" olarak değerlendirilmiştir ve C1 grubunda yer almaktadır (Çarlı ve diğerleri, 2004). *Salmonella enterica* subs. *enterica* alt türünün serolojik tiplendirilmesi Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. *Salmonella enterica* subs. *enterica* alt türünün serolojik tiplendirilmesi (Çarlı ve diğerleri, 2004).

Grup	Tür/Serotip	O antijenleri	H antijenleri	
			Faz I	Faz II
A	<i>S. Paratyphi A</i>	1, 2, 12	A	(1, 5)
B	<i>S. Schottmuelleri</i>	1, 4, (5), 12	B	1, 2
	<i>S. Tphimurium</i>	1, 4, (5), 12	İ	1, 2
C1	<i>S. Hirschfeldii</i>	6, 7, (vi)	C	1, 5
	<i>S. Cholera suis</i>	6, 7	(c)	1, 5
	<i>S. Oranienburg</i>	6, 7	m, t	-
	<i>S. Montevideo</i>	6, 7	g, m, p (s)	(1, 2, 7)
	<i>S. Infantis</i>	6, 7, 14	r	1, 5
C2	<i>S. Newport</i>	6,8	e, h	1, 2
D	<i>S. Typhi</i>	9, 12, vi	D	-
	<i>S. Enteritidis</i>	1, 9, 12	g, m	(1, 7)
	<i>S. Gallinarum</i>	1, 9, 12	-	-
	<i>S. Pullorum</i>	1, 9, 12	-	-
E1	<i>S. Anatum</i>	3, 10	e, h	1, 6

2.4. *Salmonella* Türlerinde Epidemiyoloji

Salmonella türlerinin primer kaynağı insan ve hayvanların bağırsak kanallarıdır. Bağırsak kanalından dışarı atılan *Salmonella* etkenleri çevreyi ve suları kontamine ederek etrafa saçılır. Bu kontamine gıdaların/suların insanlar ve hayvanlar tarafından alınması ile bulaşma şekillenir. İnsanlarda görülen *Salmonella* enfeksiyonlarının temel sebebi; et, süt, yumurta ve bunlardan hazırlanmış yeterince ısıtılma tabii tutulmamış gıdalar ve su ürünlerinin tüketilmesi ile kesim sırasında veya sonrasında kesim hattının kontaminasyonudur (Çarlı ve diğerleri, 2004). *Salmonella* etkenlerinin bulaşma şekilleri Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 3. *Salmonella* enfeksiyonlarının patogenezi.

2.5.1. *Salmonella* Türlerinin Virülens Faktörleri

Salmonella serotipleri; patojenite adaları, profajlar, plazmidler ve/veya kromozomlar üzerinde buldukları çeşitli virülens genleri sayesinde konak hücreye invazyon, adezyon, hücre içinde çoğalma, toksin üretimi, hücre içinde sağ kalım ve sistemik enfeksiyon oluşturma gibi yeteneklere sahip olurlar (Van Asten ve Van Dijk, 2005).

2.5.1.1. *Salmonella* Patojenite Adaları

Salmonella Patojenite Adaları (SPA), bakteri kromozomları üzerinde yer alan 10-200 kb arasında değişen büyüklüklere sahip genomik alanlardır. Sadece patojen olan türlerde bulunan bu genomik bölgeler, yatay gen transferi yoluyla patojen olmayan bakterilere de aktarılarak bu bakterilere virülens özellikler kazandırılabilir. *Salmonella* patojenite adaları, etkene ait virülens faktörleri kodlayan çok sayıda gen kümesini içerir (Sırıken, 2013). SPA'nın guanin+sitozin içeriği (%37,0-%47,0), bakteriyel kromozomun guanin+sitozin içeriğinden (%52,0) daha düşüktür ve tRNA genlerinin içerisine yerleşmiş halde bulunur. Bu yüzden SPA'nın, kökeni

bilinmeyen faj veya plazmitlerden horizontal gen tranferi yoluyla *Salmonella* dışı türlerden kazanılmış olduğu düşünülmektedir (Hensel, 2004; Blondel ve diğerleri, 2009). Şu ana kadar, 21 adet *Salmonella* patojenite adasının var olduğu bildirilmiştir. *Salmonella* bakterilerinin virülensi için gerekli olan genleri çoğu, ilk beş patojenite adası üzerinde bulunur. SPA'nın varlığına ve özelliklerine göre *Salmonella* serotiplerinin konak hücreye adaptasyonu, virülensi ve oluşturduğu enfeksiyonların şiddeti değişiklik gösterir (Gyles ve Boerlin, 2014). Enfeksiyonun intestinal fazı için gerekli olan genler SPA-1 ve SPA-2'de yer alırken hücre içinde sağkalım, fimbriyal ekspresyon, çoklu antibiyotik direnci, magnezyum ve demir alımı ile sistemik enfeksiyon için gerekli olan genler diğer SPA'lar içinde yer alır. Bazı *Salmonella* patojenite adaları tüm *Salmonella* serotiplerinde bulunurken bazıları sadece belirli serotipler için spesifiktir (Günaydın ve Şen, 2012; Sırıken, 2013).

***Salmonella* Patojenite Adası-1 (SPA-1):** *Salmonella* patojenite adaları içerisinde bulunan SPA-1, en iyi karakterize edilen ve *S. enterica* ile *S. bongori*'nin tüm serotiplerinde bulunan patojenite adasıdır. İntestinal salmonelloziste, enflamatuar yanıtın ve epitel hücrelere invazyonun ilk basamağında önemli role sahiptir (Hensel, 2004). Yapılan çalışmalarda SPA-1'in, sistemik enfeksiyonların ve yangılı ishallerin intestinal fazı için önemli olduğu bildirilmiştir (Marcus ve diğerleri, 2000).

Salmonella türlerine patojen özellik kazandıran en önemli faktör T3SS'dir. Bu sistem, adeta bir enjektör gibi davranarak bakteriye ait virülens proteinlerini, konak hücrenin sitoplazmasına aktarır. *S. enterica* serotiplerinde SPA-1 ve SPA-2 tarafından kodlanan iki tip T3SS bulunmaktadır. SPA-1 tarafından kodlanan T3SS, intestinal enfeksiyonun başlatılmasından sorumlu iken SPA-2 tarafından kodlanan sistem, sistemik enfeksiyonun oluşmasından sorumludur (Sırıken, 2013). SPA-1, fagositoz yapmayan hücrelerin invazyonundan sorumlu olan 31 geni ve T3SS için gerekli olan proteinleri kodlayan genleri içerir. Yapılan çalışmalarda, SPA-1 genlerinden yoksun mutant *Salmonella* bakterilerinde, invaziv özelliklerin azaldığı bildirilmiştir (Günaydın ve Şen, 2011). T3SS, *hilA* (hiperinvasiv lokusA) geni tarafından düzenlenir. *HilA*, T3SS'nin ana regülatörüdür. Transkripsiyonu düzenleyerek bakterilerin hücre içinde sağ kalımından sorumludur ve invazyon için gerekli genleri aktive eder (Chu ve diğerleri, 2021). T3SS içerisine yerleşen efektör *sopB* proteini; salgı yolunu aktive ederek hücrelerde iyon dengesinin değişmesine sebep olur. Sindirim kanalında sıvı akışının artması sonucu diyare şekillenir (Dione ve diğerleri, 2011). SPA-1'de yer alan *sipA*, *sipB* ve *sipC* proteinleri; konak hücre iskeletinde değişiklikler yaparak bakterinin hücre

içine invazyonunu sağlar ve bu bölgeler *Salmonella* türlerinde korunmuştur. Ayrıca *sipA*, *sipC*, *sopB* ve *sopE* proteinleri; konak hücre zarının dışı doğru genişlemesine ve hücre zarının yıpranmasına neden olur. *Salmonella* etkeni; yıpratılan bu zar tarafından yutulularak ‘*Salmonella* içeren kesecik’ (SCV) oluşturur ve böylelikle fagolizozomal yapıların kendisini yok etmesini engeller (Kaur ve Jain, 2012). Yapılan çalışmalarda, *sopB* ve *sopE* proteinlerinin SPA-1 dışında da (*sopB* proteini SPA-5 üzerinde, *sopE* ise kriptik profajda) kodlandığı belirlenmiştir. *SopB* ve *sopE* proteinlerinin translokasyonları, SPA-1 aracılığı ile konak hücre içinde gerçekleşmekte ancak ikisinin de patojenitedeki rolü farklılık göstermektedir (Hansen-Wester ve Hensel, 2001).

SPA-1’de kodlanan ve tip III sekresyon sisteminde görev alan *inv/spa* proteinleri makrofaj apoptozundan ve konak hücrelere invazyondan sorumludur. *InvA* ve *spaN* (*invJ*) genleri invazyon aşaması için oldukça önemlidir (Skyberg ve diğerleri, 2006). *InvA*, polipeptidlerin dışarı atılması için gerekli olan kanalların oluşmasını sağlar (Sırıken, 2013). Yapılan çalışmalarda, *Salmonella* spp.’nin tespiti için *invA*’nın uygun bir gen olduğu kanıtlanmıştır (Cortez ve diğerleri, 2006). SPA-1’de kodlanan bazı efektör proteinler ve konak hücreye etkileri Tablo 3’te verilmiştir.

Tablo 3. SPA-1’de kodlanan bazı efektör proteinler ve konak hücreye etkileri (Skyberg ve diğerleri, 2006; Kaur ve Jain, 2012).

Efektör protein	Konak hücreye etkisi
<i>InvA</i>	Konak hücreyi tanıma/invazyon
<i>InvG</i>	Protein sekresyonu
<i>InvJ</i> (<i>SpaN</i>)	Konak hücreyi tanıma/invazyon
<i>PrgH</i>	Konak hücreyi tanıma/invazyon
<i>SipA</i>	Konak hücre iskeletinde değişiklik
<i>SipB</i>	Konak hücre iskeletinde değişiklik
<i>SipC</i>	Aktin filamentlerin stabilizasyonu
<i>SopA</i>	Sıvı sekresyonu
<i>SopB</i>	Konak hücre iskeletinde değişiklik/sıvı sekresyonu
<i>SopE</i>	Konak hücreyi tanıma/invazyon
<i>InvH</i>	Nonfimbriyal adezin
<i>SitC</i>	Demir alımı

***Salmonella* Patojenite Adası-2 (SPA-2):** 40 kb büyüklüğünde 32 geni kodlayan bir patojenite adasıdır. SPA-2’nin temel görevi, sistemik enfeksiyonu gerçekleştirmek ve etkenin

konak hücrelerde çoğalmasını sağlamaktır (Sırıken, 2013). SPA-2, iki alt bölümden oluşur. İlk bölüm; sadece *Salmonella enterica*'da bulunan, sistemik enfeksiyonlardan sorumlu olan, ikinci bir T3SS'ne sahip olarak etkeni konak immun sisteminin etkilerinden koruyan bölümdür. İkinci bölüm ise *Salmonella bongori* ve *Salmonella enterica*'da bulunur. Bu bölümün sistemik enfeksiyonlara katkısı belli değildir ancak anaerobik solunumda görevli olan genlere sahip olduğu bildirilmiştir (Günaydın ve Şen, 2011). *SifA*, *sifB*, *spiC*, *sseF*, *sseG* gibi birçok efektör protein SPA-2'de yer alır. Bu proteinlerin; vakuol taransportunu önleme, apoptozisi geciktirme, makrofajlar içinde sağ kalım ve hücreler arası alışverişi engelleme gibi görevleri vardır. Bu adada kodlanan *sifA* geni, makrofajlar içinde sağ kalımdan ve *Salmonella* uyarıcı filamentlerin (*sif*) oluşumundan sorumludur. Bu filamentler, bakterilere konak hücre içerisinde replike olabilmeleri için uygun ortamı sağlamaktadır (Kaur ve Jain, 2012; Gole ve diğerleri, 2013). SPA-2'de kodlanan bazı efektör proteinler ve konak hücreye etkileri Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. SPA-2'de kodlanan bazı efektör proteinler ve konak hücreye etkileri (Kaur ve Jain, 2012).

Efektör protein	Konak hücreye etkisi
<i>SpiC</i>	Vesiküler taşımanın bozulması
<i>SifA</i>	Vakuol içine girme/filament oluşumu
<i>SifB</i>	Filament oluşumu
<i>SrfT</i>	Apoptozis
<i>SseJ</i>	<i>Salmonella</i> içeren vakuol membran dinamikleri/açıl transferaz

***Salmonella* Patojenite Adası-3 (SPA-3):** 17 kb büyüklüğünde 10 geni kodlayan *Salmonella* türlerine özgü bir insersiyondur. *S. Typhi*, *S. Typhimurium* ve *S. bongori*'de bulunmuştur. Bu adanın yatay gen transferi yoluyla bu serotiplere aktarıldığı bildirilmiştir. SPA-3 tarafından kodlanan temel virülens faktörü; *Salmonella* serotiplerinin hem hücre içinde hem de makrofajlarda canlı kalabilmesini sağlayan yüksek affiniteli magnezyum transport sistemi (MgtS)'dir. Bu sayede etkenler ökaryot hücreler ve makrofajlar içinde hayatta kalabilmektedir (Marcus ve diğerleri, 2000; Hensel, 2004).

***Salmonella* Patojenite Adası-4 (SPA-4):** 27 kb büyüklüğünde 18 geni kodlayan ve tRNA'ya bitişik halde bulunan bir patojenite adasıdır. *Salmonella bongori* ve *S. enterica*'nın

alt türlerinde bulunur. SPA-4; konak epitel hücrelere tutunma, sitotoksin sekresyonu ve hücre apoptozisinden sorumludur (Karacan, 2014).

Salmonella Patojenite Adası-5 (SPA-5): 7,6 kb büyüklüğünde 6 geni kodlayan, *S. bongori* ve *S. enterica*'nın alt türlerinde bulunan bir lokustur. SPA-5, SPA-1 ve SPA-2 tarafından kodlanan T3SS ile translokasyonları gerçekleştirilen efektör proteinleri (*sopB*, *sigD*, *pipB*, *pipD*) kodlamaktadır. *SopB*, inositol fosfataz aktivitesi ile bağırsak epitel hücrelerinde sıvı sekresyonunu artırarak diyareye sebep olur (Marcus ve diğerleri, 2000). *PipD*, SPA-1'deki T3SS ile ilişkili olarak salgılanan ve enteritise neden olan bir efektör proteindir. SPA-5 bölgesinin *S. enterica* serotiplerinde enteropatogenezle ilişkili olduğu ve diğer enteropatojenik bakterilerde bulunmadığı tespit edilmiştir (Zishiri ve diğerleri, 2016).

Salmonella Patojenite Adası-6 (SPA-6): *S. Typhi* ve *S. Typhimurium*'da bulunan 59 kb'lık bir lokustur. SPA-6; fimbriyayı kodlayan *saf* geni ve invazini kodlayan *pagN* geni ile birlikte fonksiyonu bilinmeyen birçok gen kümesini içerir (Morgan, 2007).

Salmonella Patojenite Adası-7 (SPA-7): *S. Typhi*, *S. Dublin* ve *S. Paratyphi C* için spesifik bir lokustur. 134 kb'lık en büyük *Salmonella* adasıdır. Bu ada tarafından kodlanan en önemli virülens faktörü Vi antijenidir. Vi antijeni, tifo sırasında ateşin yükselmesine neden olur. SPA-7'de, SPA-1 tarafından kodlanan ve T3SS'nin efektör proteinini kodlayan *sopE* geni de bulunmaktadır. Bu gen, *sopE* fajını aktive ederek fajın diğer izolatlarla transferini sağlar. Ayrıca *sopE*'nin, membran büzüşmesini uyararak konak hücreye invazyonu sağladığı da bildirilmiştir (Morgan, 2007; Seth Smith, 2008).

Salmonella Patojenite Adası-8 (SPA-8): *S. Typhi*'nin genom sekansında daha sonradan tanımlanan bir adadır ve bu ada 6,8 kb büyüklüğündedir. Bu adanın *S. Typhi* için spesifik olduğu bildirilse de yeni yapılan çalışmalarda *S. Washington*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Cholerasuis* ve *S. Paratyphi A*'da da bulunduğu bildirilmiştir (Saroj ve diğerleri, 2008; Günaydın ve Şen, 2011).

Salmonella Patojenite Adası-9 (SPA-9): SPA-9 yaklaşık 16,3 kb büyüklüğünde bir bölge olup *S. Typhi* kromozomundaki lizojenik bakteriyofaja bitişik olarak bulunur. SPA-9, T1SS ve RTX (repeats-in-toxin) benzeri toksinleri kodlayan genleri içerir (Hensel, 2004; Sırıken, 2013).

Salmonella Patojenite Adası-10 (SPA-10): *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Enteritidis*, *S. Dublin* ve *S. Gallinarum*'da bulunan 32,8 kb büyüklüğünde bir lokustur. SPA-10, virülens

faktörü olarak konak hücre yüzeyine tutunmayı sağlayan *sef* fimbriya proteinlerini kodlar (Günaydın ve Şen, 2011).

***Salmonella* Patojenite Adası-11 (SPA-11):** *S. Choleraesuis*'te 14 kb, *S. Typhimurium*'da 6,7 kb, *S. Typhi*'de 10 kb büyüklüğündedir. Bu ada üzerinde bulunan, *slyA* geni tarafından regüle edilen *pagC* ve *pagD* gibi birçok gen *S. Typhimurium* virülensi için önemlidir. SPA-11'de yer alan *slyA* geni; makrofaj içinde canlı kalma ve oksidatif strese karşı adaptasyonu sağlayarak ekzotoksin üretiminden sorumludur (Günaydın ve Şen, 2012).

***Salmonella* Patojenite Adası-12 (SPA-12):** *S. Choleraesuis* genom sekansı yapıldıktan sonra identifiye edilmiş 6,3 kb büyüklüğünde bir lokustur (Günaydın ve Şen, 2012).

***Salmonella* Patojenite Adası-13 (SPA-13):** Bu ada ilk kez *S. Gallinarum*'da belirlenmiştir. *S. Typhimurium* ve *S. Typhi*'te 25 kb büyüklüğündedir. Bu ada üzerinde bulunan 18 genin sadece 3 tanesi (*gacD*, *gtrA*, *gtrB*) virülenste etkilidir (Shah ve diğerleri, 2005; Günaydın ve Şen, 2012).

***Salmonella* Patojenite Adası-14 (SPA-14):** Bu ada, *S. Typhimurium* ve *S. Choleraesuis*'te bulunurken *S. Typhi* ve *S. Paratyphi A*'da bulunmaz (Shah ve diğerleri, 2005).

***Salmonella* Patojenite Adası-15 (SPA-15):** *S. Typhi*'de 6,5 kb büyüklüğünde bulunur (Sabbagh ve diğerleri, 2010).

***Salmonella* Patojenite Adası-16 (SPA-16):** *S. Typhimurium* ve *S. Typhi*'de 4,5 kb büyüklüğünde bulunur. *S. Typhimurium*'da 5, *S. Typhi*'de 7 gen kodlamaktadır (Sabbagh ve diğerleri, 2010).

***Salmonella* Patojenite Adası-17 (SPA-17):** *S. Typhi*'de 5 kb büyüklüğünde olup *S. Typhimurium*'da bulunmamaktadır (Sabbagh ve diğerleri, 2010).

***Salmonella* Patojenite Adası-18 (SPA-18):** *S. Typhi*'de 2,3 kb büyüklüğünde bulunur (Sabbagh ve diğerleri, 2010).

***Salmonella* Patojenite Adası-19 (SPA-19):** *S. Enteritidis*, *S. Gallinarum*, *S. Weltevreden*, *S. Dublin* ve *S. Agona* serotiplerinde 14,1 kb büyüklüğünde bulunmaktadır (Blondel ve diğerleri, 2009).

***Salmonella* Patojenite Adası-20 (SPA-20):** Bu ada 34 kb büyüklüğünde olup sadece *S. enterica* subsp. *arizonae* serotipinde bulunmaktadır (Blondel ve diğerleri, 2009).

Salmonella Patojenite Adası-21 (SPA-21): Bu ada 55 kb büyüklüğünde olup sadece *S. enterica* subsp. *arizonae* serotipinde bulunmaktadır (Blondel ve diğerleri, 2009).

Salmonella Genomik Ada (SGA): Bu ada *S. enterica*'da 43 kDa büyüklüğünde olup çoklu direnç integronları içeren mobilize bir yapıdır. Bu ada içinde 5 antibiyotiğe (tetrasiklin, ampisilin, kloramfenikol, streptomisin ve sulfonamidler) direnç gösteren genler bulunmaktadır. SGA içeren suşların çoklu antibiyotik direnci gösterdikleri bildirilmiştir (Günaydın ve Şen, 2012).

Yüksek Patojenite Adası (YPA): İlk olarak *Yersinia* türlerinde karakterize edilmiştir. *Enterobacteriaceae* familyasının birçok üyesinde bulunur. Demir alımı için gerekli olan siderofor biyosentezi için 12 adet geni içerir. YPA'ya sahip olan suşlar, demir eksikliği olan ortamlarda demir şelatörü sentezleyebilirler (Oelschlaeger ve diğerleri, 2003; Morgan, 2007).

Salmonella patojenite adaları, büyüklükleri, bulunduğu serotipler ve fonksiyonları Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. *Salmonella* patojenite adaları (Sabbagh ve diğerleri, 2010; Barrow ve diğerleri, 2010; Günaydın ve Şen, 2011).

Patojenite adası	Büyüklük (kb)	Bulunduğu tür/Alt tür/Serotip	Fonksiyon
SPA-1	40	<i>S. enterica</i> ve <i>S. bongori</i>	T3SS, invazyon, demir alımı
SPA-2	40	<i>S. enterica</i>	T3SS, invazyon, sistemik enfeksiyon, epitel hücrelerde ve makrofajlarda sağ kalım
SPA-3	16,6	<i>S. enterica</i> ve <i>S. bongori</i>	Magnezyum alımı ve makrofajlarda sağ kalım
SPA-4	25	<i>S. enterica</i> ve <i>S. bongori</i>	T1SS, makrofajlarda sağ kalım
SPA-5	7,6	<i>S. enterica</i> ve <i>S. bongori</i>	Enteropatojenite, T3SS efektör proteinlerin üretimi
SPA-6	59	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotipleri	Fimbriya
SPA-7	134	Typhi, Paratyphi ve Dublin serotipleri	Vi antijeni
SPA-8	6,8	<i>S. Typhi</i>	Bakteriyosin sentezi
SPA-9	16	<i>S. enterica</i> ve <i>S. bongori</i>	T1SS'ni kodlayan genler, RTX benzeri direnç
SPA-10	32,8	<i>S. Enteritidis</i> ve <i>S. Typhi</i> serotipleri	<i>S. Enteritidis</i> fimbriya (<i>sef</i>) ve bakteriyofaj
SPA-11	14	<i>S. enterica</i>	Makrofajlarda sağ kalım

SPA-12	15,8	<i>S. enterica</i>	T3SS, <i>sppH2</i> efektör proteini, sistemik enfeksiyon
SPA-13	25	<i>S. Typhimurium</i> ve <i>S. Typhi</i>	Sistemik enfeksiyon
SPA-14	9	<i>S. Typhimurium</i>	Makrofajlarda sağ kalım
SPA-15	6,5	<i>S. Typhi</i>	5 hipotetik protein
SPA-16	4,5	<i>S. Typhimurium</i> ve <i>S. Typhi</i>	LPS modifikasyonu
SPA-17	5	<i>S. Enteritidis</i> ve <i>S. Typhi</i>	LPS modifikasyonu
SPA-18	2,3	<i>S. Typhi</i> ve Paratyphi A serotipleri	<i>hlyE</i> sitolizin proteini ve <i>taiE</i> , <i>clyA</i> invazyon proteini
SPA-19	14,1	Dublin, Weltevreden, Agona, Enteritidis ve Gallinarum serotipleri	T6SS
SPA-20	34	<i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>	T6SS
SPA-21	55	<i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>	T6SS
SGA-1	43	Typhimurium (DT-104), Paratyphi ve Agona	Çoklu antibiyotik direnci
YPA	?	<i>S. enterica</i> alttür IIIa, IIIb ve IV	Septisemi, demir alımına yüksek affinite

2.5.1.2. *Salmonella* Virülens Plazmidleri

Bakterilerde bulunan virülens faktörlerinin bir kısmı kromozomlarda kodlanırken bir kısmı plazmid kaynaklıdır. Plazmidler; konak hücrelere adaptasyon, antimikrobiyal ajanlara karşı direnç ve virülens faktörler için gerekli bazı genleri kodlayan ekstrakromozomal DNA molekülleridir. Bu kromozom dışı elemanların büyüklükleri serotipler arasında değişiklik göstermektedir. *S. Typhimurium*'da 95 kb, *S. Enteritidis*'te 80 kb, *S. Dublin*'de 80 kb, *S. Choleraesuis*'ta 50-110 kb büyüklüğündedir. Virülens plazmidlerinin 8 kb'lik *spv* (*Salmonella* virülens plazmid) lokusu tüm plazmidlerde bulunur ve bu plazmidlerde 5 gen (*spvRABCD*) kodlanır (Günaydın ve Şen, 2012; Karacan, 2014).

SpvR regülatör bir gendir ve plazmidle ilişkili diğer genlerin ekspresyonundan sorumludur. *SpvA* geni, *spvBCD* membran proteinlerini kodlayan operonun negatif düzenleyicisidir. *SpvB* ve *spvC*, plazmid aracılı virülens için kodlanan temel faktörlerdir (Rychlik ve diğerleri, 2006; Ibarra ve Steele Mortimer, 2009). *SpvB* geni, makrofaj içinde bakterinin canlı kalmasını sağlayan ADP ribozil transferazı sentezleyerek konak hücre iskeletine zarar verir. *SpvC* geni, fosfotreonin liyaz aktivitesiyle konak hücrenin MAP kinaz aktivitesini bozar (Ibarra ve Steele Mortimer, 2009).

2.5.1.3. Flagella

Flagella, *Salmonella* serotiplerinin çoğunda bulunan, hareketliliği sağlayan, konak hücrelere invazyon ve adhezyon için gerekli olan önemli bir virülens faktörüdür. Flagellaya sahip olmayan hareketsiz serotipler, *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum*'dur. Flagellanın uzun filament yapısı, *fliC* ya da *fljB* flagellin proteinlerinden oluşmaktadır. Faz-I ve Faz-II flagellar H antijenleri sırasıyla *fliC* ve *fljB* genleri sorumluluğunda faz varyasyon mekanizması tarafından eksprese edilir. Faz-I antijenini kodlayan genler, diğer enterik bakterilerle benzerlik gösterirken; Faz-II antijenini kodlayan genler, *Salmonella* genomuna spesifiktir. Bu genler kromozom üzerinde farklı iki lokalizasyonda bulunur. *Salmonella* türleri her iki proteini de kodlar fakat asla aynı anda eksprese edilmezler (Van Asten ve Van Dijk, 2005; Wisner ve diğerleri, 2012; Karacan, 2014). Yapılan bir çalışmada, *fljB* geni hedef sekans olarak seçilmiş ve GenBank'tan alınan sekans verileri kullanılarak *S. Infantis*'e özgü polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testi geliştirilmiştir. Elde edilen verilere göre bu sekansın *S. Infantis*'e yüksek oranda spesifik olduğu ve *S. Infantis*'in moleküler yöntemlerle hızlı ve güvenilir olarak saptanmasında kullanılabileceği bildirilmiştir (Kardos ve diğerleri, 2007).

2.5.1.4. Fimbria

Fimbriyalar, 2-8 nm genişliğinde 0,5-10 nm uzunluğunda bakteri hücrelerinin yüzeyinde bulunan ve fimbrin adı verilen proteinlerin tekrarlayan helikal düzenlenmesiyle oluşan filamentöz uzantılardır. Bakterilerin epitel yüzeye kolonizasyonu, konak hücreye girişi, konjugasyonu ve biyofilm oluşumu için gereklidir. *Salmonella* serotiplerinde birçok fimbriyal operon belirlenmiştir. Bazı fimbriyaların serotipe özgü olduğu, bazılarının ise *Salmonella* serotipleri arasında korunmuş olduğu bildirilmiştir (Wisner ve diğerleri, 2012). Fimbriyalar, en ayrıntılı şekilde *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* serotiplerinde incelenmiştir. *Agf* ve *sef* operonları *S. Enteritidis*'te, *pil* operonu *S. Typhi* CT18'de, *lpf* ve *pef* operonu *S. Typhimurium*'da belirlenmiştir (De Buck ve diğerleri, 2005; Clayton ve diğerleri, 2008).

2.5.1.5. Sideroforlar

Demir, birçok mikroorganizma için önemli bir elementtir. Aerobik koşullarda demir; bakterilerin kullanabileceği ferrus formunda iken anaerobik koşullarda, erimeyen ferrik forma geçer ve bazı proteinlere bağlanır. Demirin ferrik formunu mikroorganizmalar kullanamaz. Demir ya hem yapısındadır ya da ferritin, hemosiderin, laktoferrin gibi demir bağlayan proteinlere bağlanmış halde bulunur. *Salmonella* türlerinin demir kazanım mekanizması, sideroforlardır. Sideroforlar, bakterinin demire ihtiyacı olduğu yerde ortam içine salınırlar. *Salmonella* türleri hem kendi sideroforlarını üretirler hem de diğer bakterilerin ürettiği sideroforlara bağlanmayı sağlayan reseptörleri üretirler (Hantke ve diğerleri, 2003).

2.5.1.6. Toksinler

Salmonella türleri; endotoksin ve ekzotoksin olmak üzere 2 tip toksin üretirler. Endotoksinler, büyük oranda biyolojik tepkilere neden olurken ekzotoksinler (sitotoksin, enterotoksin) memeli hücreleri öldürebilme yeteneğine sahiptir (Günaydın ve Şen, 2012).

Endotoksinler: *Salmonella* serotiplerinin dış membranında yer alan LPS'nin lipid A parçası, endotoksin özelliğindedir. Bu toksin sadece bakteri hücrelerinin parçalanması sonucunda açığa çıkmaktadır. Dokularda açığa çıkan endotoksine cevap veren hücreler; nötrofiller, makrofajlar ve endotel hücrelerdir. Lipid A parçası; nötrofilleri uyararak integrinleri, endotel hücreleri uyararak selektinleri ve makrofajları uyararak sitokinleri aktive eder (Diker, 2005). *Salmonella* türlerinde açığa çıkan endotoksinler; konağın bağırsak mukozasını tahrip ederek yüksek ateş ile birlikte şiddetli akut toksemi tablosunu oluşturur (İzgür, 2006).

Ekzotoksinler: Sitotoksinler ve enterotoksinler olmak üzere iki gruba ayrılır. Sitotoksinler, ısıya dayanıklı toksinlerdir ve protein sentezini inhibe ederek bağırsak hücrelerinde hasara neden olurlar. Enterotoksinler; ısıya duyarlı ve protein tabiatında olan enzimlerdir. Bağırsak epitellerinde aşırı sıvı salgınımı ile ishale neden olurlar (İzgür, 2006). Araştırmalara göre; *Salmonella* enterotoksini ve salmolizin olmak üzere 2 ekzotoksin türü bildirilmiş ve bu toksinlerin sırasıyla *stn* ve *slyA* genleri tarafından kodlandığı belirlenmiştir. *SlyA*'nın enterik olmayan sistemik enfeksiyonlar için gerekli olan virülens genleri düzenlediği,

makrofaj içinde canlı kalmayı ve oksidatif strese karşı adaptasyonu sağladığı bildirilmiştir (Jajere, 2019). *Stn* geninin akut gastroenteritlerle ilişkili olduğu ve ishale sebep olduğu bildirilmiştir (Zou ve diğerleri, 2012).

2.6. Antimikrobiyal Direnç

Bir mikroorganizmanın antibiyotiğin öldürücü (bakterisid) veya çoğalmasını önleyici (bakteriyostatik) etkisinden korunabilme kapasitesi ‘direnç’ olarak tanımlanır. Normal dozlarda antimikrobiyal ajan verilmesine rağmen mikroorganizmanın ölmemesi ya da üremesinin baskılanmaması durumu ‘antibiyotiklere direnç gelişimi’, bu bakteriler ise ‘dirençli bakteriler’ olarak tanımlanır (Dzidik ve diğerleri, 2008).

Antimikrobiyal ajanlara karşı direnç gelişimi, sıklıkla uygunsuz ve yaygın antibiyotik kullanımına bağlanmasına rağmen 1940’lı yıllarda antibiyotiklerin kullanılmadığı bazı adalarda dışkı ve toprak örneklerinde streptomisine ve tetrasikline dirençli bakterilerin bulunduğu bildirilmiştir. Antibiyotik direncinin sadece yaygın antibiyotik kullanımı sonucu değil, bakterilerin olumsuz çevre şartlarında yaşamını sürdürebilmek için kullandığı savunma mekanizmasının bir parçası olduğu da bildirilmiştir. Ancak antibiyotiklerin yaygın şekilde kullanıma girmesi ile birlikte yıllar içinde çoklu dirençli mikroorganizmalar ortaya çıkmış ve bunların oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde büyük problemler yaşanmaya başlanmıştır. Günümüzde, bir yandan yeni ilaçlar geliştirilirken diğer yandan bu ilaçlara hızla direnç kazanan mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonlar, tedavi seçeneklerinin azalmasına sebep olmaktadır (Yüce, 2001).

Mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı gösterdiği direnç; doğal (intrinsik) ve kazanılmış (genotipik, kalıtsal) direnç olarak 2 grupta incelenir. Bir türde bulunan tüm suşların belirli antibiyotiklerden etkilenmemesi, doğal direnç olarak adlandırılır. Bu direnç, bakterinin yapısal ve biyokimyasal özellikleri sayesinde ortaya çıkar. Doğal direncin temelinde, bakterinin metabolik olarak inaktif fazda bulunması veya ilacın etki mekanizmasına uygun hedef yapıların, bakteride bulunmaması vardır. Kazanılmış direnç, tür olarak bir antibiyotiğe duyarlı olan bakterilerin o antibiyotiğe dirençli hale gelmesiyle oluşur. Kazanılmış antibiyotik direnci ya mikroorganizma kromozomunda oluşan mutasyonlarla ya da transpozon, plazmid veya integron aracılığıyla direnç geninin duyarlı mikroorganizmalara aktarılması ile ortaya

çıkılmaktadır. Antimikrobiyal ajanlara karşı gelişen direnç, genellikle bu yolla gerçekleşir ve yatay gen transferi ile dirençli kökenler ortaya çıkarak yayılmaktadır (Dzidik ve diğerleri, 2008; Kayış, 2019).

2.6.1. Antibiyotiklere Direnç Gelişim Mekanizmaları

Bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları, biyokimyasal ve genetik yollarla olmaktadır. Antibiyotiklere direnç gelişim mekanizmaları Resim 1’de gösterilmiştir.



Resim 1. Antibiyotiklere direnç gelişim mekanizmaları (Dzidik ve diğerleri, 2008).

2.6.1.1. Biyokimyasal Yollar

2.6.1.1.1. Enzimatik inaktivasyon

Bakteriler tarafından antibiyotikleri parçalayan ya da modifiye eden enzimlerin sentezlenmesiyle, antibiyotikler inaktif hale getirilir. Örneğin, betalaktam grubu antibiyotikleri parçalayan betalaktamaz enzimi, kloramfenikölü inaktive eden asetil transferaz enzimi, aminoglikozidleri inaktive eden fosforilaz, asetilaz ve adenilaz enzimleri ve eritromisini inaktive eden esteraz enzimi bu mekanizma ile gelişen dirençten sorumludur (Kayış, 2019).

2.6.1.1.2. Hedef modifikasyonu

Antibiyotikler, bakteride hedef olarak belirledikleri belli moleküllerin işlevini engelleyerek etki gösterirler. Bakteriler bu hedef bölgelerde mutasyonlar geliştirerek antibiyotiğin etkisiz hale gelmesini engelleyebilir. Kinolon direnci, DNA giraz geninde meydana gelen mutasyonlar sonucu gelişmektedir (Dzidik ve diğerleri, 2008). Günümüzde en çok bilinen kromozomal mutasyonlar, *gyrA* alt ünitesinde meydana gelen mutasyonlardır (Kayış, 2019).

2.6.1.1.3. Effluks pompası ve dış membran geçirgenliğindeki değişim

Bakterilerdeki effluks pompa sisteminde yer alan proteinler; besinlerin ve iyonların hücreye alınmasını, metabolik son ürünlerin ve zararlı maddelerin hücre dışına atılmasını, bakterilerin birbirleri ve çevreleriyle olan ilişkilerini düzenleyen proteinlerdir. Bu pompalar, hücre içine giren antibiyotiği hızla dışarı atarak bakterinin direnç kazanmasını sağlar. Effluks pompaları, *P. aeruginosa*'da betalaktam grubu antibiyotiklere dirençten sorumludur. Bakterinin dış membranında bulunan ve antibiyotiklerin hücre içine girmesini sağlayan porin proteinlerinin yapılarının mutasyonlar sonucu değişmesi ya da kaybı sonucu, antibiyotikler bakterinin hücre zarını geçemez ve etkisiz hale gelirler. Betalaktam, aminoglikozid ve karbapenem antibiyotiklere direnç gelişiminin bu mekanizma ile olmaktadır (Kayış, 2019).

2.6.1.1.4. Antibiyotik inaktivasyonu

Antibiyotiklerin çoğu, hidrolitik kimyasal bağlara duyarlıdır. Bakteriler tarafından üretilen bazı enzimler, bu bağların koparılmasına neden olur ve antibiyotikler aktivitelerini kaybederler (Dzidik ve diğerleri, 2008).

2.6.1.2. Genetik Yollar

2.6.1.2.1. Horizontal gen transferi

Antibiyotik direncindeki artış; konjugatif plazmidler ve transpozonlar gibi birçok hareketli genetik elemanların keşfedilmesini sağlamıştır. 1940'lı yıllarda Barbara McClintock, mısır bitkisi genetiği üzerinde yaptığı çalışmalar sırasında genlerin farklı kromozomal bölgeler arasında hareket edebileceğini tespit etmiştir. Sonrasında bu yer değiştirebilen genetik elemanların varlığı, bakterilerde de belirlenmiştir. Transpozon ve konjugatif plazmidlerin karşılaştırılmalı dizi analizleri sonucunda ise integronların varlığı ortaya çıkmıştır (Köseoğlu, 2004).

Plazmidler: Bakteriler, mayalar ve arkelerde yaygın olarak bulunan kromozomlardan bağımsız olarak replike olabilen ekstrakromozomal küçük DNA parçalarıdır. Plazmidler, bakterilere sonradan transfer oldukları için hem plazmidlerin hem de kodladıkları genetik bilgilerin konak bakteriler için hayati bir önemi yoktur. Plazmidler, bazı özel karakterleri (antibiyotiklere direnç, toksin formasyonları, pilus oluşumu, virülens faktörleri vs.) bakteriye kazandırarak avantaj sağlarlar. Özel koşullar altında bakterilerden ayrılabilirler ve bakteriler sonradan kazandıkları bu avantajları kaybederek yaşamlarını sürdürmeye devam ederler (Arda, 2021a). Plazmidler fonksiyonlarına göre; direnç plazmidleri, virülens plazmidleri, bakteriyosin üreten plazmidler, toksik organik bileşikleri parçalayan plazmidler ve konjugatif plazmidler olmak üzere 5 gruba ayrılır (Helinski, 2004). Antibiyotik direncine sebep olan plazmidler, konjugatif özellikte olup çoklu antibiyotik direncinin tür içinde ve/veya türler arasında aktarılmasına sebep olurlar (Halawani ve Shohayeb, 2008).

Salmonella türlerinde 1-250 kb arasında büyüklüğü olan plazmidler belirlenmiştir. *Salmonella* türlerinin bazı suşlarında hiç plazmid bulunmazken bazılarında 10'a yakın farklı plazmid bulunabilir. *Salmonella* türlerinde 20 kb'dan daha küçük olan plazmidlerin fonksiyonu henüz bilinmemektedir. Yüksek moleküler büyüklüğe sahip olan plazmidler, konjugatif özelliktedir ve çoklu antibiyotik direncini kontrol ederler. Bu bakterilerde bulunan direnç genleri genellikle transpozonlar ile ilişkilidir ve plazmidlerden kromozomlara ya da kromozomlardan plazmidlere aktarılabilir (Schwarz ve diğerleri, 2006).

Salmonella türlerinde tespit edilen en yaygın plazmid aracılı direnç, betalaktam grubu antibiyotiklere karşı geliştirilen direnç sistemleridir. Betalaktam grubu antibiyotikler; penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemlerden oluşur. Özellikle penisilinlerin klinik olarak

yaygın kullanılması, *Salmonella* suşlarında yüksek direnç gelişimine neden olmuştur. *Salmonella* türlerinde betalaktama karşı gelişen direnç, betalaktamaz enzimi tarafından sağlanmaktadır ve betalaktamaz üretiminden sorumlu genler genellikle plazmidler üzerinde kodlanmaktadır. *Salmonella* türlerinde, plazmid ve kromozomal DNA aracılı kinolon ve florokinolonlara karşı direnç gelişimi belirlenmiştir. En yaygın direnç, nalidiksik asite karşı belirlense de florokinolonlara karşı direnç de düşük düzeyde belirlenmiştir. *Salmonella* türlerinde ilk belirlenen kinolon direnç mutasyonları, *gyrA* ve *gyrB* genlerinde meydana gelmiştir. Plazmidler üzerinde yaygın olarak kodlanan kinolon direnç geni ise *qnr* genidir. Bu gen, DNA giraz enzimine bağlanarak hücreleri kinolon inhibisyonundan korur ve genellikle bu geni içeren plazmidler konjugatif özellikte olduğu için direnç hızlı şekilde yayılır. *Salmonella* türlerinde aminoglikozidlere karşı direnç; aminoglikozidlerin enzimler aracılığı ile modifikasyona uğratılması sonucu oluşur. *Salmonella* genomik adalarında kodlanan aminoglikozid açıl transferaz enzimleri; gentamisin, kanamisin, tobramisin direncinden sorumluyken fosfotransferaz enzimleri streptomisine karşı direnç gelişiminden sorumludur. Aminoglikozidlere karşı direnç oluşumunda rol oynayan nükleotidil transferazlar, genellikle integronlara bağlı şekilde bulunduğu için plazmid ve kromozomal DNA'nın her ikisi üzerinde de bulunabilirler. *Salmonella* türlerinde fenikol grubu antibiyotiklere karşı direnci kodlayan gen, *floR* genidir. Bu gen *Salmonella* genomik adalarında yer alır. Fenikol direncinden sorumlu herhangi bir plazmid henüz tespit edilememiştir. Tetrasiklinler, klinik olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. *Salmonella* türlerinde tetrasiklin direncinin asıl mekanizması; akış pompaları ile ilacın hücre dışına atılmasıdır. *Salmonella* türlerinde oksitetrasiklin direncinden sorumlu olan 32 farklı gen tespit edilmiştir. Bu genler *Salmonella* genomik adası I üzerinde ve bazı plazmidler üzerinde bulunmuştur. *Salmonella*'nın tedavisinde en uygun tedavi yöntemi; trimetoprim ve sülfonamid kombinasyonları olarak belirlendiği için bu antibiyotiklere karşı geniş bir direnç gelişimi meydana gelmiştir. Sülfonamid direncini sağlayan *sul* genleri içerisinde *Salmonella* türlerinde tespit edilen genler; *sul1*, *sul2* ve *sul3* genleridir. En yaygın gen olarak bulunan *sul1* geni; konjugatif transfer yeteneği olan plazmidlere ve integronlara bağlı olarak belirlenmiştir. Ayrıca *sul2* ve *sul3* genlerinin de konjugatif plazmidler tarafından taşındığı saptanmış, SGA'larda da kopyaları tespit edildiği için bu durumun integronların varlığıyla ilgili olduğu düşünülmüştür (Alcaine ve diğerleri, 2007).

Transpozonlar: Bakteri kromozomunun farklı yerlerine yerleşebilen veya kromozomdan plazmide, plazmidden plazmide, plazmidden DNA veya bakteriyofaja

aktarılabilen; kendi kendine replike olamadığı için kromozom, plazmid veya bakteriyofaj gibi bir replikon üzerinde bulunan DNA dizileridir. Daha önce yerleşik olduğu bölgeyi kopyalayarak bu bölgeyi farklı bölgelere taşıyabilir ya da bulunduğu bölgedeki tüm bilgiyi alarak farklı bölgelere aktarabilirler. Transpozonlar genom üzerinde veya plazmidlerde devamlı olarak yer değiştirdikleri için mutasyonlara da neden olurlar. Transpozonlar, plazmidle konakçı kromozomu arasında da hareket ettikleri için tek veya çoklu direnç genlerini birbirlerine aktarabilirler. Böylece, direnç genlerinin yayılmasına neden olurlar (Yüce, 2001; Arda, 2021b).

Salmonella genomunda hem kromozomal DNA hem de plazmidler üzerinde çok sayıda farklı transpozon kopyası belirlenmiştir. Tn1721 transpozonunda, tetrasiklin direncini sağlayan *tetA* geni bulunur. Tn1721 transpozonu ile betalaktamlara direnci kodlayan Tn3 transpozonunun konjugatif olmayan plazmidler ve kromozom üzerinde birleşik kopyaları saptanmıştır. Tn5393 transpozonunda, streptomisin direncini sağlayan *strA* ve *strB* genleri bulunur. Tn1548 transpozonunda, aminoglikozid direncini sağlayan *armA* geni ve betalaktam grubu antibiyotiklere direnci sağlayan *CTX-M-3* betalaktamaz geni bulunur. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise *Salmonella* klinik izolatlarının tümünde Tn1548 transpozonunda streptomisin/spektinomisin, sulfonamid ve trimetoprim direncini sağlayan genlerin bulunduğu bildirilmiştir. *Salmonella* türlerinde aminoglikozid grubu antibiyotiklere direnç sağlayan genler genellikle *int1* ve *int2* integronlar üzerinde yer almaktadır (Miriagou ve diğerleri, 2006).

İntegronlar: Çoklu antibiyotik dirençli ve patojenik bakterilerin genomlarında yaygın olarak bulunan, antimikrobiyal direncin türler arasında ya da tür içinde transferini sağlayan gen toplama sistemleridir. İntegronlar, birden fazla antibiyotik direnç gen kasetini yapısında bulundurabilirler ve bölgeye özgü rekombinasyon yoluyla bu gen kasetlerini entegre etme ve kesme yetenekleriyle karakterize edilirler (Nield ve diğerleri, 2001; Shilpi ve Atul, 2017). Genomun bir bölgesinden başka bir bölgesine kendilerini transfer edemezler. Bu yüzden transpozonlara ve plazmidlere bağlı şekilde bulunurlar. İntegronlar direnç integronları ve süper integronlar olarak 2 ana gruba ayrılır. Direnç integronları, antibiyotik ve dezenfektanlara karşı direnci kodlayan gen kasetlerini taşıyan kromozomal DNA, plazmid veya transpozon üzerinde bulunurlar. Süper integronlar ise değişik fonksiyonları olan gen kasetlerini taşıyan kromozomal yerleşimli büyük integronlardır (Köseoğlu, 2004). Günümüze kadar içerdikleri integras enzim geni homolojisi esas alınarak 4 direnç integron sınıfı tanımlanmıştır (Shilpi ve Atul, 2017).

Sınıf 1 İntegronlar: Çoklu ilaç direncine sahip *Salmonella* serotiplerinde en yaygın olarak bulunan ve üzerinde en çok çalışılan integron sınıfıdır. Sekanslanmış bakteri

genomlarının yaklaşık %9'unda bulunmuştur (Deng ve diğerleri; 2015; Kaya ve diğerleri, 2017). *Int1*, antimikrobiyal direnç genlerini taşıyabilen kasetlerin entegrasyonunu kolaylaştırır. Üzerinde şimdiye kadar 60'dan fazla antibiyotik direnç gen kaseti belirlenmiştir (Nield ve diğerleri, 2001). Bu sınıftaki integronlar, çoğunlukla insan ve hayvan patojenlerinde bulunarak klinik izolatlarda yaygın olarak görülür. *Int1*, özellikle betalaktam grubu antibiyotiklere, aminoglikozidlere, kinolonlara ve sülfonamid gibi farklı antibiyotik sınıflarına direnç gelişimine katkıda bulunabilir. Streptomisin ve spektinomisin direncinden sorumlu *aad* geni ve trimetoprim direncinden sorumlu *dfrA* geni burada yer alır (Deng ve diğerleri, 2015). *Int1* genellikle Tn21, Tn1696 ve Tn1412 transpozonları ile birleşik halde bulunur (Miriagou ve diğerleri, 2006; Hradecka ve diğerleri; 2008).

Sınıf 2 İntegronlar: Sınıf 2 integronlar, daha az yaygın olan ve daha az bilinen integron sınıfıdır. Bu sınıftaki integronlar, *int1* ile benzerlik gösterse de bazı yapısal farklılıkları vardır. Antibiyotik direncinin yayılmasına önemli katkısı olduğu düşünülen *int2*'nin; *Acinetobacter*, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* ve *Psuedomonas* gibi bazı Gram negatif organizma türlerinde yaygın olarak bulunduğu rapor edilse de *int1* ile karşılaştırıldığında daha düşük oranda bulunduğu bildirilmiştir. Genellikle aminoglikozidlere (gentamisin, streptomisin, neomisin vb.) ve betalaktam grubu antibiyotiklere (penisilin, sefalosporin vb.) direnci artıran genleri içerir. Trimetoprim, streptotrisin ve streptomisin/spektinomisin direncini sağlayan dihidrofolat redüktaz (*dfrA1*), streptotrisin asetiltransferaz (*sat1*) ve aminoglikozid adeniltransferaz (*aadA1*) gen kesetleri burada yer alır (Deng ve diğerleri, 2015).

Sınıf 3 İntegronlar: Bu integron sınıfı ilk olarak 1993 yılında Japonya'da *Serratia marcescens* izolatlarından tanımlanmış ve daha sonra *Klebsiella pneumoniae* FFUL 22K suşundan *blaGES-1* ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bugüne kadar *Salmonella* türlerinde tanımlanan tüm sınıf 3 integronların, karbapenemi de içeren geniş spektrumlu betalaktam grubu antibiyotiklere karşı direnç genlerini taşıdığı bildirilmiştir (Abbasoğlu, 2009; Deng ve diğerleri, 2015).

Sınıf 4 İntegronlar: Bu integronlar ilk olarak *Vibrio* izolatlarında tespit edilmiştir ve dünya çapındaki prevalansları diğer integron sınıflarına göre daha düşüktür. Sınıf 4 integronun, kloramfenikol ve fosfomisine karşı direnç sağlayan gen kasetlerini taşıdığı bildirilmiştir (Shilpi ve Atul, 2017).

2.7. S. Infantis'in Salmonellozis'teki Önemi

S. Infantis kaynaklı ilk salgın, 1971 yılında Finlandiya'da bildirilmiştir ve bu salgının kanatlı etlerinden kaynaklandığı belirlenmiştir. İnsanlarda ilk yaygın salmonellozis vakası 1993 yılında Danimarka'da meydana gelmiş ve bu salgının domuz etlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Wegener ve Baggesen, 1996). Sonrasında S. Infantis suşlarının prevalansı dünya çapında artarak devam etmiş ve tüm dünyada halk sağlığını tehdit eden en önemli zoonotik bakterilerden biri haline gelmiştir. İnsanlarda görülen salmonellozis vakalarında en sık izole edilen serotipler; S. Typhimurium ve S. Enteritidis olarak rapor edilse de son yıllarda özellikle gelişmekte olan ülkelerde yapılan çalışmalarda bu serotiplerin baskınlığının giderek azaldığı, S. Infantis başta olmak üzere nontifooidal serotiplerin sıklığının arttığı bildirilmiştir (EFSA ve ECDC, 2021). S. Infantis; ABD'de hayvansal kökenli gıdalardan izole edilen en yaygın 6. serotip, Avrupa'da S. Enteritidis ve S. Typhimurium'dan sonra en yaygın 3. serotip, Türkiye'de ise insanlardaki salmonellozis vakalarından izole edilen en yaygın 3. serotip olarak rapor edilmiştir (ECDC, 2009; Aviv ve diğerleri, 2016; USKP, 2018).

Salmonella Infantis; ürettiği virülens faktör çeşitliliği ve sürekli yükselen antibiyotik direnç oranlarıyla tedavisi zor ve inatçı enfeksiyonlara sebep olarak hem insan hem de hayvan sağlığını tehdit etmektedir. Ürettikleri virülens faktörleri sayesinde; konak hücreye invazyon, adezyon, hücre içinde çoğalma, toksin üretimi, hücre içinde sağ kalım ve sistemik enfeksiyon oluşturma gibi yeteneklere sahip olarak enfeksiyonun şiddetini artırabilirler (Van Asten ve Van Dijk, 2005; Lapierre ve diğerleri, 2020). S. Infantis'in salmonellozis vakalarında etkinliğinin hızlı bir şekilde artmasının yanı sıra son yıllarda dünyanın birçok yerinde ve ülkemizde insan, hayvan ve kanatlı örneklerinden izole edilen suşlarda MDR'nin ortaya çıkması, enfeksiyonların tedavi edilmesini zorlaştırabilir ve sağlık sorunlarına neden olabilir (Kaya ve diğerleri, 2017; Bogomazova ve diğerleri, 2020; Kürekci ve diğerleri, 2021; Pardo-Este ve diğerleri, 2021; Diab ve diğerleri, 2023). Kanatlı hayvanlarda görülen antibiyotik direnci ile MDR'ye sebep olan genlerin plazmitler, transpozonlar veya integronlar aracılığıyla bakteriler arasında aktarılması; bakterinin antibiyotiklere karşı direnç kazanmasını sağlayarak, antibiyotik tedavisinin etkinliğini azaltabilir, ilaç direncinin yayılmasına yol açabilir ve bu yolla taşınan direnç genleri insanlara da bulaşabilir. Bu nedenle, *Salmonella* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin, halk sağlığı açısından da önemi gün geçtikçe artmaktadır. Ülkemizde *Salmonella* enfeksiyonlarının tedavisinde sık kullanılan antibiyotiklere karşı direncin ortaya

ıkması, giderek artan bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır çünkü hayvanlar kadar insanlar da MDR'ye sahip olan *Salmonella* türleri tarafından meydana getirilen enfeksiyonları kapma potansiyeline sahiptir (Köseoğlu, 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. İzolasyon Materyali

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda 2020-2022 yılları arasında 59 broyler iç organ, 18 eklem sıvısı ve 178 drag svap örneğinden elde edilen toplam 255 *Salmonella* izolatu çalışma kapsamında incelenmiştir. Tüm izolatlar, çalışmanın başlamasına kadar %20 gliserinli Brain Heart Infusion Broth (BHIB) içerisinde -20°C'de muhafaza edildi.

Bu projenin yapılmasında, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ADÜ-HADYEK)'nun 09.07.2020 tarih ve 64583101/2020/021 sayılı kararı ile etik açıdan bir sakınca bulunmadığı bildirilmiştir.

3.1.1.1. Drag Svap Örneklerinin Alınması

Drag svabın gazlı bez peti, kümes zeminine konuldu ve sopasından tutularak kümes içi yavaşça tamamen dolaşıldı. Yirmi dakikalık bu işlem süresince, petin kümes zeminine sürekli temas etmesine özen gösterildi. Alınan örnekler soğuk zincir altında en kısa sürede laboratuvara getirildi. Drag svabın hazırlanması ve kümes zemininden materyal alınması Resim 2'de gösterilmiştir.



Resim 2. Drag svabın hazırlanışı ve kümes zemininden materyal alınması.

3.1.2. Pozitif Kontrol ve Negatif Kontrol Suşları

Salmonella izolatlarının cins ve tür düzeyinde PZR ile belirlenmesinde pozitif kontrol olarak *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. Enteritidis* ATCC 13076, sekanslanmış *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Infantis saha izolatu; negatif kontrol olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 suşları kullanıldı. Antibiyotik duyarlılık testlerinde kalite kontrol suşu olarak da *E. coli* ATCC 25922 suşundan faydalanıldı.

3.1.3. Besiyerleri

Ön zenginleştirme için Buffered Pepton Water (BPW), selektif zenginleştirme için Modifiye Yarı Katı Rappaport Vassiliadis Medium (MSRV) ve Mueller Kauffmann Tetrathionate Novobiocin Broth (MKTTn), selektif katı besiyerine zenginleştirme amaçlı ekim için XLD, izolatların pasajlanması için MacConkey Agar (MCA) ve %7 koyun kanı olan Columbia Agar (CA), serolojik ve biyokimyasal testlerin yapılması için Nutrient Agar ve Nutrient Broth, antibiyogram yapılması için Nutrient Broth ve Mueller-Hinton Agar (MHA) ve izolatların uzun süreli saklanması için %20 gliserinli Brain Heart Infusion Broth kullanıldı (Liofilchem, İtalya).

3.1.3.1. Tamponlanmış peptonlu su

Buffered pepton water, TS EN ISO 6579-1 (2017)'e göre *Salmonella* spp. izolasyonunda ön zenginleştirme aşaması için seçici olmayan bir ortam olarak kullanılmaktadır. Besiyeri içerisinde bulunan pepton, amino asit ve proteinleri sağlar. Sodyum klorit, ortamın ozmotik dengesini korur. Disodyum fosfat ve monopotasyum fosfat tamponlama maddeleridir.

Formülü (g/l):

Pepton	10,0 g
Sodyum klorit	5,0 g

Disodyum fosfat	3,5 g
Monopootasyum fosfat	1,5 g
Distile su	1 l
pH=7,0 ± 0,2	

Hazırlanması:

Bir litre distile su içinde 20 g toz süspansiyon edildi. Mikrodalga fırında tamamen eriyene kadar kaynatıldı. 121°C'de 15 dakika sterilize edilerek 225 ml ve 10 ml olacak şekilde dağıtıldı.

Kullanımı ve Değerlendirmesi:

Ön zenginleştirme için örnekler 1:9 oranında BPW içerisine ekildi. İyiçe homojenize edildikten sonra, 37±1 °C'de 16-20 saat inkübe edildi. Hazırlanan besiyeri berrak, açık kehribar rengindedir. Ekimin yapılması ve inkübasyon süresinin dolmasından sonra besiyerinde görülen bulanıklık, mikrobiyal üremeyi göstermektedir (Liofilchem, 2011).

3.1.3.2. Modifiye yarı katı rappaport vassiliadis besiyeri

Modifiye Yarı Katı Rappaport Vassiliadis Medium besiyeri, ISO 6579-1 (2017)'e göre hayvan dışkısında ve çevresel örneklerde hareketli *Salmonella* türleri için seçici olarak zenginleştirme besiyeri amacıyla kullanılmaktadır. Hayvan ve bitki dokularının sindirim enzimleri ve kazeinin asit hidrolizatı bakterinin üremesi için gerekli olan amino asitleri, nitrojeni, karbonu, vitaminleri ve mineralleri sağlar. Sodyum klorit, ortamın ozmotik dengesini korur. Potasyum dihidrojenfosfat tampondur. Magnezyum klorit, ozmotik basıncı yükseltir. Malaşit yeşili (oksalat) *Salmonella* spp. dışındaki organizmaları inhibe eder. Novobiocin çoğunlukla Gram pozitif bakterilere karşı aktif seçici bir ajan olarak eklenir.

Formülü (g/l):

Hayvan ve bitki dokularının sindirim enzimleri	4,6 g
Kazeinin asit hidrolizatı	4,6 g
Sodyum klorit	7,3 g
Potasyum dihidrojenfosfat	1,5 g

Magnezyum klorit (susuz)	10,9 g
Malaşit yeşili (oksalat)	0,04 g
Agar	2,7 g
Distile su	1 l
pH=5,2 ± 0,1 (25°C)	

Hazırlanması:

Bir litre distile su ile 31,6 g toz besiyeri süspanse edildi. MSR/V besiyerinin otoklavda sterilize edilmesi uygun olmadığı için besiyeri tamamen eriyene kadar sürekli çalkalanarak 1 dk boyunca yavaş yavaş kaynatılarak çözünmesi sağlandı ve sonrasında 45-50°C'ye kadar soğutuldu. Aseptik olarak, her biri 5 ml steril distile su ile sulandırılmış 1 şişe Novobiocin Supplement içeriği karışıma eklenerek iyice karıştırıldı ve petri kaplarına döküldü. 2-8°C'de buzdolabında saklandı. Hazırlanan besiyeri hafif opak, mavi renkte ve yarı katı jel görünümündeydi.

Kullanımı ve Değerlendirmesi:

Ön zenginleştirme kültürü olan BPW'un üst yüzeyinden, 0,1 ml otomatik bir pipetle alınarak üç eşit damla halinde yaklaşık 2 cm²'lik bir eşkenar üçgen oluşturacak biçimde MSR/V besiyerinin orta noktasına birbirinden ayrı ve temassız olarak bırakıldı. 41,5 ± 1°C'de 18-27 saat inkübe edildi. Tüm aşamalar boyunca plaklar hiçbir şekilde aşırı oynatılmadı ve ters çevrilmedi. İnkübasyon sonunda ekim alanında oluşan gri-beyaz bulanık bölgeler, hareketli *Salmonella* spp. ürediğini göstermektedir. Hareketli mikroorganizmalar ilk ekim yapıldığı noktadan başlayan bir halkasal yayılma gösterirler. Besiyerinin ekim alanının etrafında mavi/yeşil kaldığı negatif plaklar, 18-27 saat daha inkübe edilmelidir. Alt kültür; pozitif plaklardan inokülüm migrasyon bölgesinin en uzak kenarından alınarak gerçekleştirildi (Liofilchem, 2022).

3.1.3.3. Mueller Kauffmann tetrathionate novobiocin broth

MKTTn broth, TS EN ISO 6579-1 (2017)'e göre hareketli *Salmonella* spp.'nin su, gıda maddeleri, dışkı örnekleri ve çevresel örneklerden izolasyonunda selektif zenginleştirme aşaması

için seçici bir ortam oluşturmak amacıyla MSR/V besiyeri ile paralel olarak kullanılır. Besiyerinde bulunan kazein ve et ekstratının enzimatik sindirimi; bakterinin ihtiyaç duyduğu nitrojen, karbon, kükürt ve diğer temel büyüme faktörlerini sağlar. Sodyum klorit ortamın ozmotik dengesini korur. Kalsiyum karbonat ortamın tampondur. Safra tuzları, brilliant green ve novobiyosin, komensal mikroorganizmaları inhibe ederek *Salmonella* izolasyonunu kolaylaştırır. İyot-iyodür çözeltisinin sodyum tiyosülfat üzerindeki etkisinden kaynaklanan tetrasyonat üretimi, koliform bakterileri ve bağırsak bakterilerinin çoğunu inhibe eder.

Formülü (g/l):

Kazeinin enzimatik sindirimi	8,6 g
Et ekstraktı	4,3 g
Sodyum klorit	2,6 g
Kalsiyum karbonat	38,7 g
Sodyum tiyosülfat (susuz)	30,5 g
Safra tuzları	4,78 g
Brilliant green	9,6 mg
Novobiosin	0,04 g
Iodine	4,0 g
Potasyum iodine	5,0 g
Distile su.....	1 l
pH=8,2 ± 0,2	

Hazırlanması:

Besiyeri ticari olarak 10 ml tüplerde temin edildi. Kullanılncaya kadar 2-8°C sıcaklıkta buzdolabında saklandı. Hazırlanan besiyeri açık mavi/yeşil renktedir.

Kullanımı ve Değerlendirmesi:

10 mL MKTTn içine 1,0 mL ön zenginleştirme kültürü aktarıldı ve 37±1 °C'de 24±3 saat inkübe edildi. Ekim yapılması ve inkübasyon süresinin dolmasından sonra besiyerinde görülen bulanıklık, mikrobiyal üremeyi göstermektedir. Süre sonunda üreme olan besiyerlerinden öze ile XLD Agar'a geçildi (Liofilchem, 2009).

3.1.3.4. Ksiloz lizin deoksikolat agar

Xylose Lysine Deoxycholate agar gıdalardan, çevresel ve klinik örneklerden izole edilen *Enterobacteriaceae* ailesindeki yer alan özellikle *Salmonella* ve *Shigella* türlerinin izolasyonu için kullanılan seçici bir besiyeridir. Maya özütü vitamin kaynağıdır. Sodyum klorit, ortamın ozmotik dengesini korur. Ksiloz, laktoz ve sükroz fermente olabilen karbonhidratlardır. Lizin dekarboksilaz substrattır. Sodyum tiyosülfat ve ferrik amonyum, alkali koşullar altında hidrojen sülfür üretiminin göstergeleri olarak kullanılır. Fenol kırmızısı pH indikatörüdür. Sodyum deoksikolat Gram pozitif bakterilerin çoğunu inhibe eden seçici bir ajandır.

Formülü (g/l):

Maya Ekstraktı	3,0 g
Sodyum klorit	5,0 g
Ksiloz	3,75 g
Laktoz	7,5 g
Sükroz	7,5 g
L-lizin	5,0 g
Sodyum tiyosülfat	6,8 g
Demir (III) amonyum sitrat	0,8 g
Fenol kırmızısı	0,08 g
Sodyum deoksikolat	1,0 g
Agar	15,0 g
Distile su	1 l

pH=7,4 ± 0,2 (25°C)

Hazırlanması:

Bir litre distile su ile 55,4 g toz besiyeri süspanse edildi. XLD agarın otoklavda sterilize edilmesi uygun olmadığı için besiyeri tamamen eriyene kadar sürekli karıştırılarak mikrodalga

fırında tamamen çözünmesi sağlandı ve sonrasında 45-50°C'ye kadar soğutulup steril petri kaplarına 12,5'er mL döküldü. Hazırlanan besiyeri kehribar rengindeydi.

Kullanımı ve Değerlendirmesi:

MKTTn ve MSRV besiyerlerinden XLD agara ekim yapıldı ve aerobik olarak 37±1°C'de 48 saate kadar inkübe edildi. İnkübasyondan sonra kolonilerin rengi şu şekilde yorumlandı: *Salmonella* spp., *Edwardsiella* spp. siyah merkezli kırmızı; *Shigella* spp., *Providencia* spp., *Pseudomonas* spp., *Salmonella* Paratyphi (H₂S-negatif suşlar) kırmızı; *Salmonella* Thyphosa (ksiloz pozitif suşlar) turuncu; *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp. sarı; *Citrobacter* spp. (laktoz pozitif suşlar) sarı koloniler bazen siyah merkezli; *Proteus* spp. sarı ve siyah merkez ile sarı koloniler oluşturmaktadır (Liofilchem, 2015a).

Petrilerdeki tipik kolonilerden 5 tanesi işaretlendi. Bir tanesine biyokimyasal testler uygulandı. Seçilen bu koloninin *Salmonella* spp. negatif olması durumunda geriye kalan 4 koloniye daha biyokimyasal testler uygulandı (ISO 6579-1, 2017).

3.1.3.5. Kolumbia kanlı agar

Kolumbia kanlı agar klinik örneklerden mikroorganizmaların izolasyonu ve identifikasyonu için yüksek besin değerine sahip genel amaçlı bir besiyeridir.

Formülü (g/l):

Pepton	23,0 g
Nişasta	1,0 g
Sodyum klorit	5 g
Agar	14 g
Distile su	1 l
pH=7,3 ± 0,2 (25°C)	

Hazırlanması:

Bir litre distile su ile 43 g toz besiyeri süspanse edildi. Mikrodalga fırında tamamen eriyene kadar karıştırılarak kaynatıldı. Karışımın pH'sı 7,3±0,2 olacak şekilde ayarlanarak

otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edildi. Besiyeri 45-50°C’ye kadar soğutulduktan sonra %5-7 oranında steril defibrine koyun kanı ilave edilerek petri kaplarına döküldü. Hazırlanan besiyeri parlak kırmızı renkteydi.

Kullanımı ve Değerlendirmesi:

Örnek doğrudan agar yüzeyine sürme yöntemi ile inoküle edildi. İzolasyonu yapılan *Salmonella* spp. şüpheli koloni zenginleştirme işlemi için kanlı agara pasajlandı. Aerobik ortamda 36°C±1 arasında 18-48 saat inkübasyona bırakıldı (Liofilchem, 2003).

3.1.3.6. MacConkey agar

MacConkey Agar, laktozu fermente edebilen ve edemeyen Gram negatif basillerin dışı, idrar, gıda maddeleri, atık su ve diğer sıhhi malzemelerden ayrımını sağlayan seçici bir besiyeridir. Bileşiminde bulunan et ve kazeinden elde edilen pepton ve jelatinin pankreatik sindirimi ortama mikroorganizmaların büyümesi için; amino asitleri, nitrojeni, karbonu, vitaminleri ve mineralleri sağlar. Laktoz fermente olabilen bir karbonhidrattır. Sodyum klorit, ortamın ozmotik dengesini korur. Safra tuzları ve kristal viyole Gram pozitif organizmaları inhibe eden ve Gram negatif bakterilerin büyümesine izin veren seçici bir ajanlardır. Nötr kırmızısı pH indikatörüdür.

Formülü (g/l):

Jelatinin pankreatik sindirimi	17,0 g
Etten pepton	1,5 g
Kazeinden pepton	1,5 g
Laktoz	10,0 g
Sodyum klorit	5,0 g
Safra Tuzları	1,5 g
Agar	15,0 g
Nötral kırmızı	0,03 g
Kristal viyole	0,001 g

Distile su 11

pH= 7,1 ± 0,2 (25°C)

Hazırlanması:

Bir litre distile su ile 51,5 g toz besiyeri mikrodalga fırında tamamen eriyene kadar karıştırılarak kaynatıldı. Otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Hazırlanan besiyeri hafif opak, pembe-kırmızı renkteydi.

Kullanımı ve Değerlendirmesi:

Örnek doğrudan agar yüzeyine sürme yöntemi ile inoküle edildi. Ekim yapılan petripler aerobik olarak 35± 2°C'de 18-24 saat inkübe edildi. *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve *Proteus* spp. gibi laktozu fermente etmeyen organizmalar renksiz veya berrak koloniler oluşturur. *E. coli* ve *Klebsiella* spp. gibi laktozu fermente eden mikroorganizmalar ise pembe-kırmızı koloniler oluşturmaktadır. Bu besiyerinde enterokok, stafilokok ve diğer Gram pozitif bakteriler kısmen veya tamamen inhibe edilmektedir (Liofilchem, 2015b).

3.1.3.7. Nutrient agar

Nutrient Agar (NA) klinik ve klinik olmayan örneklerde güç üreyen bakterilerin kültürasyonu için kullanılan genel amaçlı bir besiyeridir. Besiyeri içerisinde bulunan et ekstraktı ve pepton, bakterilerin büyümesi için gerekli olan azotu, vitaminleri, mineralleri ve amino asitleri sağlar.

Formülü (g/l):

Et Ekstraktı 3,0 g

Pepton 5,0 g

Agar 15,0 g

Distile su 11

pH 6,8 ± 0,2 (25°C)

Hazırlanması:

Bir litre distile su içinde 23,0 g toz süspanse edilerek mikrodalga fırında tamamen eriyene kadar karıştırılarak kaynatıldı. Otoklavda 121°C 15 dakika sterilize edildi. Petri kutularına dağıtıldı. Hazırlanan besiyeri opak ve açık kehribar rengindedir.

Kullanımı ve Değerlendirmesi:

Şüpheli kültürden bir öze dolusu alınarak tek koloni düşecek şekilde ekim yapıldı. Aerobik olarak 35±2°C'de 18-24 inkübe edildi (Liofilchem, 2018).

3.1.3.8. Nutrient broth

Nutrient Broth (NB), klinik örneklerden ve diğer materyallerden çeşitli organizmaların kültivasyonu için kullanılan sıvı bir besiyeridir. Sığır eti ekstraktı ve pepton mikroorganizmaların büyümesi için bakteriye amino asitleri, azotu, karbonu, vitaminleri ve mineralleri sağlar. Maya ekstraktı vitamin kaynağıdır. Sodyum klorit ozmotik dengeyi korur.

Formülü (g/l):

Sığır eti ekstraktı.....	1,0 g
Pepton.....	5,0 g
Maya ekstraktı.....	2,0 g
Sodyum klorit.....	5,0 g
Distile su	1 l
pH= 6,8 ± 0,2 (25°C)	

Hazırlanması:

Bir litre distile su ile 13 g toz besiyeri süspanse edildi. Mikrodalga fırında tamamen çözünene kadar çalkalanarak kaynatıldı. Tüplere 5 ml olacak şekilde dağıtıldı ve otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Hazırlanan besiyeri berrak-hafif opak ve açık kehribar rengindedir.

Kullanımı ve Değerlendirme:

Üreyen kültürden bir öze yardımı ile tek koloni alınarak $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 18-24 saat inkübe edildi. Besiyerinde süre sonunda görülen bulanıklık, mikrobiyal büyümeyi gösterir (Liofilchem, 2017).

3.1.3.9. Mueller hinton agar

Mueller Hinton Agar (MHA), Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI, 2023) tarafından standartlaştırılan, yaygın ve hızlı büyüyen aerobik mikroorganizmaların disk difüzyon tekniği (Kirby-Bauer yöntemi) ile antimikrobiyal duyarlılık testi için önerilen bir besiyeridir. Besiyerinde bulunan kazeinin asit hidrolizatı ve sığır ekstraktının, mikroorganizmaların büyümesini destekleyen amino asitleri, nitrojeni, mineralleri, vitaminleri, karbonu ve diğer besinleri sağlar. Nişasta, ortamda bulunabilen toksik moleküllere karşı koruyucu bir kolloid görevi görür. Otoklavlama sırasında nişastanın hidrolizi, enerji kaynağı olan az miktarda glikoz sağlar.

Formülü (g/l):

Sığır eti ekstraktı	2,0 g
Kazeinin asit hidrolizatı	17,5 g
Nişasta	1,5 g
Agar	17,0 g
Distile su	1 l

pH=7,3 \pm 0,2 (25°C)

Hazırlanması:

Bir litre distile su ile 38 g toz besiyeri süspanse edildi. Mikrodalga fırında tamamen çözünene kadar çalkalanarak kaynatıldı. Otoklavda 121°C 'de 15 dakika sterilize edildi. $45-50^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulularak aseptik koşullarda petri kutularına dağıtıldı. Hazırlanan besiyeri opak sarı ve açık kehribar rengindedir.

Kullanımı ve Değerlendirme:

Doğrudan koloni süspansiyonundan veya büyüme yönteminin kullanılmasıyla oluşturulan test organizmasından standart bir süspansiyon hazırlandı. Ayarlanmış süspansiyona steril bir pamuklu çubuk batırılarak süspansiyon tüm agar yüzeyine inoküle edildi. Antimikrobiyal diskler, kültür inoküle edilmiş olan agar yüzeyine uygun şekilde yerleştirildi. Aerobik olarak $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 16-18 saat inkübe edildi (Liofilchem, 2015c). İnkübasyondan sonra, diskin çapı dahil olmak üzere tam inhibisyon bölgesinin çapı ölçülerek boyutu mevcut prosedürlere göre duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak yorumlandı (CLSI, 2023).

3.1.3.10. Brain hearth infusion broth

Brain heart infusion broth klinik örneklerden, yiyeceklerden ve çevresel örneklerden alınan aerobik ve anaerobik bakteriler dahil olmak üzere güç üreyen mikroorganizmaların kültürasyonu için kullanılan sıvı bir besiyeridir. İçerisine %10 veya %20 gliserin ilavesi yapılarak mikroorganizmaların uzun süre saklanması amacı ile de kullanılmaktadır. Besiyeri içerisinde bulunan hayvan dokularının enzimatik sindirimi ve beyin infüzyonu; mikroorganizmaların büyümesi için amino asitleri, nitrojeni, karbonu, vitaminleri ve mineralleri sağlar. Glikoz karbonhidrat kaynağıdır. Sodyum klorit ortamın ozmotik dengesini korur. Disodyum fosfat tamponlama maddesidir.

Formülü (g/l):

Hayvan dokularının enzimatik sindirimi	10,0 g
Buzağı beyni infüzyonu (susuz)	12,5 g
Kurutulmuş sığır kalbi infüzyonu	5,0 g
Glikoz	2,0 g
Sodyum klorit	5,0 g
Disodyum hidrojen fosfat (susuz)	2,5 g
Distile su	80 ml

pH= $7,4 \pm 0,2$ (25°C)

Hazırlanması:

Besiyeri 37 g tartıldı üzerine 80 ml distile su ve 20 ml gliserin eklendi. Mikrodalga fırında homojenize oluncaya kadar iyice karıştırıldı. Besiyeri, 1,5 ml'lik ependorf tüplere 1 ml olacak şekilde dağıtıldı. Otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi.

Kullanımı ve Değerlendirme:

Üreyen saf kültürden bir öze dolusu alınarak besiyeri içerisinde süspanse edildi. 36±1°C'de 6-8 saat inkübe edildi. Besiyerinde süre sonunda görülen bulanıklık, mikrobiyal büyümeyi gösterir. Üreyen stok kültür -20°C'de tekrar kullanılmaya kadar saklandı (Liofilchem, 2020).

3.1.3.11. Üre indol besiyeri

Bu besiyeri izolatların üre ve indol oluşumlarını incelemek için kullanıldı. Besiyeri bileşimindeki tek karbon kaynağı üredir. Besiyeri içerisindeki üreyi kullanan bakteriler inkübasyon süresi sonunda amonyak oluşturarak ortamın alkaliye dönüşmesine neden olmaktadır. İndol testi mikroorganizmaların triptofanı ayrıştırarak indol meydana getirebilme yeteneğini belirlemek için kullanılır.

Formülü (g/l):

L-triptofan	0,3 g
Potasyum dihidrojen fosfat	0,1 g
Dipotasyum hidrojen fosfat	0,1 g
NaCl	0,5 g
Üre	0,2 g
Etanol (%95'lik)	1 ml
Fenol red (%0,2'lik)	12,5 g
Distile su	1 l
pH= 7,2±0,2 (25°C)	

Hazırlanması:

Karışım iyice karıştırıldıktan sonra filtre edilerek (milipor 0,22 mikron) 1 ml'lik steril tüplere dağıtıldı. Hazırlanan besiyeri açık pembe renktedir.

Kullanımı ve Değerlendirme:

Besiyeri içerisine şüpheli kültür ekimi öze ile yapıldıktan sonra besiyeri 36±1°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Eğer mikroorganizma üreaz sentezleme yeteneğinde ise besiyeri içerisindeki üreyi parçalar ve bu da besiyerinin renginin inkübasyon periyodu sonunda sarıdan kırmızıya dönüşmesi ile belirlenir (üre parçalanarak alkali bir ürün olan amonyak oluşur). İndol oluşumu için inkübasyon periyodu sonunda besiyeri üzerine 0,5 ml kovaks ayracı ilave edilir. İndol pozitif suşlar besiyeri üzerinde kırmızı, negatif suşlar sarı bir halkanın oluşumuna neden olur. *Salmonella* spp. üre ve indol negatif olarak reaksiyon verir (Bekar, 1997).

3.1.4. Boya ve Ayracılar

3.1.4.1. Gram boyama seti

İzolatların Gram boyanma morfolojilerinin belirlenebilmesi amacıyla ticari olarak temin edilen Gram boyama seti (Merck 111885), oda ısısında saklandı. İzolatlarının saf kültürlerinden alınan koloniler, lam üzerinde fizyolojik tuzlu su ile süspanse edildi. Havada kurutularak tespit edildi. Bir dakika kristal viyole ile muamele edildikten sonra boya dökülüp distile su ile yıkandı. Preparat üzerine lugol damlatıldı ve 1 dakika bekletildikten sonra distile su ile yıkanarak, alkol (%95'lik) ile 15 saniye muamele edildi. Preparat tekrar su ile yıkandıktan sonra safranin boyası ile 30 saniye boyandı ve son olarak tekrar yıkandı. Kurutulan preparatlar mikroskopta 100x'lik immersiyon objektifinde incelendi (Quinn ve diğerleri, 2011).

3.1.4.2. Kovaks indol ayracı

İzolatların indol aktivitelerinin belirlenebilmesi amacı ile kullanıma hazır olarak temin edilen kovaks indol ayracı (Merck 109293) 2-8°C'de saklandı.

3.1.4.3. Oksidaz ayracı

Mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve intrasellüler bir enzim olan oksidaz enziminin (sitokrom C oksidaz) varlığını ortaya koymak için oksidaz testi kullanılmaktadır. Oksidaz ayracı (Oxoid, BR 64) ticari olarak temin edildi ve oksidaz test kiti buzdolabında (2-8°C) saklandı. Oksidaz şeridi üzerine, öze ile şüpheli koloniden alınarak sürüldü. 10-60 saniye içinde mavi-lacivert renk oluşması testin pozitif olduğunu, renk değişikliğinin olmaması testin negatif olduğunu göstermektedir. *Salmonella* spp. oksidaz negatiftir (Quinn ve diğerleri, 2011).

3.1.4.4. Hidrojen peroksit

Bakterilerin katalaz enzim aktivitesini belirlemek amacıyla kullanılan hidrojen peroksit (H₂O₂, %3) ticari olarak temin edildi. H₂O₂, süspanse bakteri kolonisi üzerine damlatılarak katalaz enzim varlığının test edilmesi amacıyla kullanıldı.

3.1.5. Antiserumlar

Salmonella Omnivalent antiserumu (Denka Seiken, Japonya) şüpheli izolatların serolojik olarak doğrulanması amacı ile lam aglütinasyon testinde kullanıldı.

3.1.6. Antibiyotik Diskleri

Çalışmada izolatların antimikrobiyal ajanlara karşı dirençlerinin belirlenmesi amacıyla hepsi Oxoid marka ampisilin (AMP, 10 µg), amoksisilin/klavulanik asit (AMC, 20/10 µg), gentamisin (CN, 10 µg), tetrasiklin (TE, 30 µg), siprofloksasin (CIP, 5 µg), trimetoprim/sulfametoksazol (SXT, 1,25/23,75 µg), kloramfenikol (C, 30 µg) ve nitrofurantoin (F, 300 µg) diskleri kullanıldı. Diskler kullanılıncaya kadar 2-8°C'de saklandı.

3.1.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

3.1.7.1. Solüsyon ve boyalar

3.1.7.1.1. Tris, borik asit, EDTA (TBE) buffer

PZR çalışmalarında kullanılmak üzere stok solüsyon olarak 10X TBE hazırlandı.

10X TBE Stok Solüsyonu:

Formülü (mg/ml):

Tris Base [tris (hydroxymethyl)aminomethane]	108 g
Borik Asit	55 g
EDTA	7,5 g
Distile Su	800 ml

Hazırlanması:

Karışım 800 ml distile su içerisinde eritildi. Sonrasında, hacim 1000 ml'ye tamamlandı. Ph 8,0'e ayarlandı ve 121°C'de 15 dk otoklavda sterilize edilerek oda ısısında saklandı.

0,5X TBE Kullanma Solüsyonu:

Formülü (mg/ml):

10X TBE Stok Solüsyonu	50 ml
Distile su	950 ml

Hazırlanması:

Karıştırılarak solüsyon hazırlandı. Hazırlanan bu solüsyon, hem agaroz jel hazırlamada hem de elektroforez işleminde kullanıldı.

3.1.7.2. Yükleme tamponu

Elektroforez işlemi esnasında yükleme tamponu olarak kullanıldı.

Formülü (mg/ml):

Bromofenol mavisi.....	25 mg
Ksilen siyanol FF.....	25 mg
Gliserol.....	3,3 ml
Deiyonize su.....	6,7 ml

Hazırlanması:

6,7 ml deiyonize su içerisine 25 mg bromofenol mavisi ve 25 mg ksilen siyanol FF eklenerek iyice karıştırıldı. Daha sonra karışımın üzerine 3,3 ml gliserol eklendi ve karıştırıldı. Karışım ependorf tüplere bölünerek uzun süreli depolama için -20°C'de saklandı.

Kullanımı:

Karışım toplam 6 µl (1 µl yükleme tamponu 5 µl amplikon) olacak şekilde hazırlanarak agaroz jel üzerindeki kuyucuklara yüklendi (Cytographica, 2007).

3.1.7.3. Primerler

Fenotipik olarak *Salmonella* spp. olduğu tespit edilen izolatların cins ve tür düzeyindeki identifikasyonları spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen multipleks; virülens gen ve integron gen varlığı ise monopleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile incelendi. PZR ile *Salmonella*'ların cins düzeyindeki identifikasyonunda *Salmonella* spp. tespiti için uygun bir gen olduğu kanıtlanmış olan *invA* geni kullanılırken; serovar Enteritidis'in tespitinde *sefA*, serovar Typhimurium'un tespitinde *spy*, serovar Infantis'in tespitinde ise *fljB* genlerinin varlığı incelendi.

S. Infantis için pozitif kontrol suşu, 16S rRNA üniversal primerleri ile gerçekleştirilen PZR sonrasında sekans analizi ile elde edildi. *Salmonella* izolatlarının cins ve tür düzeyinde identifikasyonlarında kullanılan primerler Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. *Salmonella* izolatlarının identifikasyonunda kullanılan primerler.

Primer	Gen	Primer Dizini (5' - 3')	Tm (°C)	Büyükük (bp)	Kaynak
<i>invA</i> -F <i>invA</i> -R	<i>InvA</i> (<i>Salmonella</i> spp.)	TTGTTACGGCTATTTGACCA CTGACTGCTACCTTGCTGATG	55,0 61,0	521	(Cortez ve diğerleri, 2006)
<i>sefA</i> -F <i>sefA</i> -R	<i>sefA</i> (<i>S. Enteritidis</i>)	GCAGCGTTACTATTGCAGC TGTGACAGGGACATTTAGCG	56,0 60,0	330	
<i>spy</i> -F <i>spy</i> -R	<i>Spy</i> (<i>S. Typhimurium</i>)	TTGTTCACTTTTTACCCCTGAA CCCTGACAGCCGTTAGATATT	56,6 59,4	401	(De Freitas ve diğerleri,2010)
558-F 1275-R	<i>FljB</i> (<i>S. Infantis</i>)	AACAACGACAGCTTATGCCG CCACCTGCGCCAACGCT	57,3 60,0	727	(Kardos ve diğerleri, 2007)
16S-20 16S-1390	16S rRNA	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG GACGGGCGGTGTGTACAA	58,0 58,0	1371	(Edwards ve diğerleri,1989) (Zheng ve diğerleri,1996)

Tm: Primerlerin bağlanma sıcaklığı

Çalışmada izole edilen *S. Infantis* izolatlarında integron varlığı, *int* genlerinin integraza özgü fragmanlarının PZR amplifikasyonu ile tespit edildi. Çalışmada integron genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerlerin hedef genleri, sekansları, ampikon uzunlukları, Tm sıcaklıkları ve kaynakları Tablo 7’de verilmiştir. Amplifikasyonu yapılan ürünlerin beklenen boyutlarda bant oluşturmaları halinde izolatlar *int* geni taşıyor olarak kabul edildiler.

Tablo 7. İntegronların belirlenmesinde kullanılan primerler.

Primer	Gen	Primer dizini (5'-3')	Tm (°C)	Büyükük (bp)	Kaynak
<i>int1</i> F <i>int1</i> R	İntegraz	CCTCCCGCACGATGATC TCCACGCATCGTCAGGC	57,2 57,2	280	(Bass ve diğerleri, 1999)
<i>int2</i> F <i>int2</i> R	İntegraz	TTATTGCTGGGATTAGGC ACGGCTACCCTCTGTTATC	51,6 57,3	233	(Goldstein ve diğerleri, 2001)

Tm: Primerlerin bağlanma sıcaklığı

Çalışmada izole edilen *S. Infantis* izolatlarında 10 virülens geni (*sopB*, *pipD*, *sopE*, *sifA*, *spaN*, *stn*, *spvC*, *slyA*, *hilA*, *spvR*) PZR ile incelendi. Çalışmada virülens genlerin

belirlenmesinde kullanılan primerlerin hedef genleri, sekansları, ampikon uzunlukları, Tm sıcaklıkları ve kaynakları Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Virülens genlerin belirlenmesinde kullanılan primerler.

Primer	Gen	Primer dizini (5’-3’)	Tm (°C)	Büyüklük (bp)	Kaynak
<i>sopBF</i> <i>sopBR</i>	<i>Salmonella</i> dış membran protein B	AGCTATAATGCCGAGGCGCTACAT TTTCATGGGCTAACATGGCAAGGC	65,3 65,3	226	(Revolledo ve Ferreira, 2010)
<i>pipDF</i> <i>pipDR</i>	SPA-1 ile ilişkili T3SS efektör geni	CGGCGATTCATGACTTTGAT CGTTATCATTCCGGATCGTAA	56,4 54,3	350	(Zishiri ve diğerleri, 2016)
<i>sopEF</i> <i>sopER</i>	<i>Salmonella</i> dış membran protein E	ACACACTTTCACCGAGGAAGCG GGATGCCTTCTGATGTTGACTGG	64,0 64,7	398	(Prager ve diğerleri, 2003)
<i>sifAF</i> <i>sifAR</i>	<i>Salmonella</i> kaynaklı filament A	TTTGCCGAACGCGCCCCACACG GTTGCCTTTTCTTGCGCTTCCACCCATCT	71,8 72,1	449	(Dudek ve diğerleri, 2019)
<i>spaNF</i> <i>spaNR</i>	Nanfagositik hücre sel invazyon	AAAAGCCGTGGAATCCGTTAGTGAAGT CAGCGCTGGGGATTACCGTTTTG	66,8 66,4	504	(Dudek ve diğerleri, 2019)
<i>stnF</i> <i>stnR</i>	Enterotoksin kodlayan gen	TTGTGTCGCTATCACTGGCAACC ATTCGTAACCCGCTCTCGTCC	57,4 58,4	617	(Murugkar ve diğerleri, 2003)
<i>spvCF</i> <i>spvCR</i>	<i>Salmonella</i> virülens plazmid	CGGAAATACCATCTACAAATA CCCAAACCCATACTTACTCTG	65,3 65,8	669	(Swamy ve diğerleri, 1996)
<i>slyAF</i> <i>slyAR</i>	Transkripsiyonel düzenleyici /ekzotoksin	GCCAAAAGTGAAGCTACAGGTG CGGCAGGTCAGCGTGTCGTGC	62,1 69,2	700	(Revolledo ve Ferreira, 2010)
<i>hilAF</i> <i>hilAR</i>	Hiper invaziv lokusu	CGGAAGCTTATTTGCGCCATGCTGAGGTAG GCATGGATCCCCGCCGGCGAGATTGTG	73,5 75,9	854	(Cardona-Castro ve diğerleri, 2002)
<i>spvRF</i> <i>spvRR</i>	<i>Salmonella</i> virülens plazmid	ATGGATTTTCAATTAATAAAAAATTA TCAGAAGGTGGACTGTTTCAGTTT	49,9 61,8	894	(Wu ve diğerleri, 2010)

Tm: Primerlerin bağlanma sıcaklığı

3.1.7.4. Agarose jel

Formülü (g/ml):

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

Hazırlanması:

Bir buçuk gram agaroz 100 ml 0,5 X TBE buffer içerisinde eritildi. Karışım 3 dk mikrodalga fırında ısıtıldı ve daha sonra 45-50°C'ye soğutuldu. Agaroz jel içerisine 7 µl SafeView™ Classic (ABM, Canada) nükleik asit boyası eklendi. Sıvı haldeki homojen jel karışımı tanka kabarcık olmayacak şekilde döküldü. Jel kalıbına yükleme kuyucukları oluşturmak için taraklar yerleştirilerek, oda ısısında soğumaya bırakıldı. Jel donduktan sonra kalıbından çıkarılarak elektroforez tankına yerleştirildi.

3.1.7.5. Kullanılan cihazlar

Çalışmada vortex (Velp Scientifica, İtalya), mikrosantrifüj (Hettich Micro 200R, Almanya), kuru blok ısıtıcı (Stuart SBH130D, İngiltere), mikrodalga fırın (Arçelik, Türkiye), hassas terazi (Shimadzu 8x4200 H, Japonya), biyogüvenlik kabini (Nüve, Türkiye), pH metre (Hanna, Çin), otoklav (Nüve, Türkiye), etüv (Nüve, Türkiye), nanodrop (Maestro, ABD), 96 örnek kuyucuklu termal döngüleme cihazı (Boeco, USA), elektroforez tankı (VWR, USA), görüntüleme cihazı (Vilber Lourmat Infinity VX2, Almanya) ve sonikatör (İsolab, Türkiye) kullanıldı.

3.1.7.6. Marker

Marker olarak 100 bp'lik (Vivantis ve Fermentas®) DNA Ladder ile EcoRI (Fermentas) ve HindIII (Fermentas) enzimi ile kesilmiş lambda (λ) faj DNA'sı (Fermentas) kullanıldı.

EcoRI ve HindIII enzimi ile kesilmiş Lambda Faj DNA'sının Hazırlanışı:

λ DNA(Fermentas)	30 µl
10X Buffer	30 µl
EcoRI enzimi (Fermentas)	4 µl
HindIII enzimi (Fermentas)	4 µl
Distile su	232 µl

Bir saat 37°C’de bekledi.

Loading dye 60 µl

Kullanımı:

Her elektroforez reaksiyonu için 7 µl kullanıldı (Anderesson, 2016).

3.2. Yöntem

3.2.1. *Salmonella*’nın İzolasyonu ve Fenotipik İdentifikasyonu

Salmonella suşlarının kalitatif izolasyonu ve aranması TS EN ISO 6579-1’e göre yapıldı (2017). Bu metotta *Salmonella spp.*’nin saptanması; seçici olmayan sıvı ortamlarda ön zenginleştirme, seçici ortamlarda zenginleştirme, tanımlama ve doğrulama testleriyle kesin olarak saptanması ilkelerine dayanmaktadır. Bu yöntem ile sadece *Salmonella* kaynaklı hastalıkların sürü veya bireysel olarak cins düzeyinde taramasının yapılması sağlanmaktadır. Bu yöntemde kullanılan seçici zenginleştirme ortamı olan modifiye edilmiş yarı katı Rappaport Vassiliadis (MSRV) agar, hareketli *Salmonella* türlerinin tespiti için tasarlanmıştır ve hareketsiz *Salmonella*’ların tespiti için uygun değildir (ISO 6579-1, 2017). Deney metodu aşağıdaki şekilde 3 aşamalıdır:

3.2.1.1. Birinci Gün: Ön Zenginleştirme

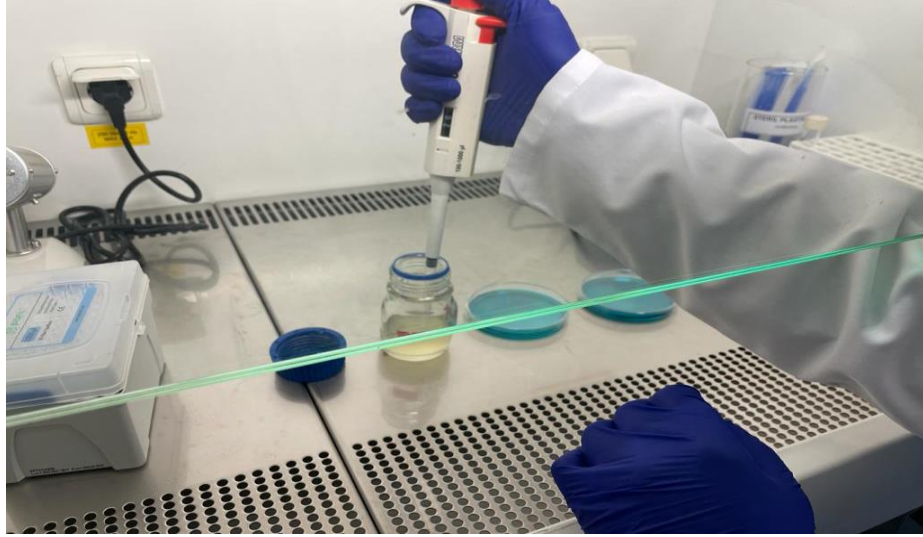
Aseptik koşullarda toplanan örneklerin üzerine (kanatlı iç organ örnekleri ve eklem sıvısı), örneklerin miktarının on katı dilüsyonuna denk gelecek şekilde ön zenginleştirme besiyeri olan BPW eklendi. Drag svap yöntemiyle alınan örnekler 250 ml’lik şişelere konuldu, şişeler boyun kısmının hemen altına gelecek şekilde BPW ile dolduruldu. Örnekler 34-38°C’de 18±2 saat inkübe edilerek ön zenginleştirme işlemi gerçekleştirildi. İnkübasyon süresi sonunda besiyerinde bulanıklığın görülmesi pozitif olarak değerlendirildi (ISO 6579-1, 2017). Ön zenginleştirme işlemi sonrası negatif (a) ve pozitif kontrol (b) örneklerinin görünümü Resim 3’te verilmiştir.



Resim 3. BPW besiyerinde negatif (a) ve pozitif (b) kontrol örneklerin görünümü.

3.2.1.2. İkinci Gün: Zenginleştirme

Ön zenginleştirme işleminden sonra numuneler, selektif zenginleştirme besiyerleri olan MKTTn'e 1 ml, MSRv'ye ise 0,1 ml olacak şekilde geçildi. MSRv besiyerine geçiş için örnekler pipet yardımıyla sıvının örnek kabı ile kesiştiği yüzeyden alındı. Üç damla halinde alınan 0,1 ml BPW içeren örnekler yaklaşık 2 cm'lik bir eşkenar üçgen oluşturacak biçimde MSRv besiyerinin orta noktasına birbirinden ayrı ve temassız olarak bırakıldı. Sonrasında MKTTn içeren tüpler $37^{\circ}\text{C}\pm 1$ 'de 24 ± 3 saat ve MSRv içeren tüpler $41,5^{\circ}\text{C}\pm 1$ 'de 24 ± 3 saat süreyle inkübe edildikten sonra selektif zenginleştirme işlemine geçildi. İnkübasyon sonrası MKTTn besiyeri merkezden kenarlara doğru yayılan beyaz renkli swarming (yayılma) hareketi bakımından, MSRv besiyeri ilk ekim yapıldığı noktadan başlayan kenarlara doğru halkasal beyaz renkli swarming (yayılma) hareketi bakımından kontrol edildi. Gri-beyaz renkli swarming (yayılma) hareketinin görülmesi hareketli *Salmonella* spp. ürediğini göstermektedir (ISO 6579-1, 2017). MSRv besiyerine geçiş Resim 4'te gösterilmiştir.



Resim 4. MSRV besiyerine geçiş.

3.2.1.3. Üçüncü Gün: Selektif Katı Besiyerine Zenginleştirme Amaçlı İnokülasyon

İnkübasyon süresi sonunda MSRV plakları inkübatörden çıkartılarak plaklarda *Salmonella* hareketlenmesinin olup olmadığına bakıldı. İlk 24 saat sonunda hiçbir üreme olmamış veya ilk ekim noktasından hiçbir yayılma göstermemiş plaklar da kontrol sonrasında inkübatöre geri konularak $41,5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 21-27 saat daha inkübe edildi. Büyük bir hareketlenme olmadığı görölse dahi en küçük bir yayılma tespitinde katı besiyerine geçiş uygulandı. Örnekle, ekimin yapıldığı ilk noktadan sonraki saydam olmayan en uzak üreme noktasından seçilerek öze ile alındı. *Enterobacteriaceae* türleri için selektif katı besiyeri olan XLD katı besiyerine ekimler yapıldı ve plaklar $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ 'de 24 ± 3 saat inkübe edildi. Plaklar H_2S oluşumu yönünde makroskopik olarak incelendi ve siyah renkteki koloniler değerlendirildi. Petrilerdeki tipik kolonilerden 5 tanesi işaretlendi. Bir tanesine biyokimyasal testler uygulandı. Seçilen bu koloninin *Salmonella* spp. negatif olması durumunda geriye kalan 4 koloniye daha biyokimyasal testler uygulandı (ISO 6579-1, 2017).

3.2.1.4. Dördüncü Gün: Değerlendirme

Salmonella türleri XLD plağında normal koşullarda genelde ksilozu fermente ederler, lizini dekarboksile ederler ve H₂S üretirler. Karakteristik *Salmonella* kolonileri XLD plağında 1-3 mm çapında, yuvarlak, renksiz ve merkezinde siyah bir zon oluşturmuş şekilde görünürler. Ancak bazı *Salmonella* türlerinin H₂S üretmediği ve XLD plağında pembe koloniler üretebileceği unutulmamalıdır (ISO 6579-1, 2017).

3.2.1.5. Beşinci Gün: Biyokimyasal Konfirmasyon

Salmonella türlerinin biyokimyasal analizleri için Nutrient Agar'a ekimleri yapılan 37°C'de 20-24 saat inkübe edilmiş, tek koloni oluşumu sağlanmış örnekler kullanıldı. Biyokimyasal test için Gram boyama, oksidaz, katalaz, üre, indol, hareket ve H₂S testleri gerçekleştirildi. Gram negatif çomak şekilli, oksidaz (-), laktoz (-), üre (-), indol (-), katalaz (+), H₂S (+), hareket (+) olarak tespit edilen koloniler, *Salmonella* spp. şüpheli olarak değerlendirildi. Şüpheli kolonilerle serolojik doğrulama aşamasına geçildi (ISO 6579-1, 2017).

Oksidaz Testi: Şüpheli etkenin Nutrient Agar'da üreyen 24 saatlik saf kültürlerinden öze ile alınan koloniler, oksidaz kitine yayılarak sürüldü. Kitin, 25-30 saniye içinde pembe/mor renge dönüşmesi pozitif, renk değişikliğinin olmaması negatif olarak değerlendirildi. *Salmonella* spp. için oksidaz reaksiyonu negatiftir (Quinn ve diğerleri, 2011).

Laktoz Testi: Örnek doğrudan MacConkey agar yüzeyine sürme yöntemi ile inoküle edildi. Ekim yapılan petriler aerobik olarak 35±2°C'de 18-24 saat inkübe edildi. *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve *Proteus* spp. gibi laktozu fermente edemeyen mikroorganizmalar renksiz/berrak koloniler oluştururken *E. coli* ve *Klebsiella* spp. gibi laktozu fermente edebilen mikroorganizmalar pembe/kırmızı koloniler oluşturmaktadır. Bu besiyerinde enterokok, stafilokok ve diğer Gram pozitif bakteriler kısmen veya tamamen inhibe edilmektedir. *Salmonella* spp. için laktoz reaksiyonu negatiftir (Liofilchem, 2015b).

Katalaz Testi (H₂O₂): Hidrojen peroksit, katalaz enzimi varlığında oksijen ve suya dönüşür. Oksijenin gaz kabarcıkları halinde görülmesi, H₂O₂'nin ayrıştığını ve katalaz enziminin varlığını göstermektedir. *Salmonella* spp. için katalaz pozitif, streptokoklar için ise

katalaz negatiftir. Test yapılırken incelenecek bakteri kolonisi öze yardımı ile alınarak temiz bir lam üzerinde, bir damla distile su ile süspanse edildi. Üzerine %3'lük H₂O₂ damlatılarak karıştırıldı ve gaz kabarcıklarının oluşması ile test pozitif olarak değerlendirildi (Quinn ve diğerleri, 2011).

Üre İndol Testi: Nutrient agarda üretilen *Salmonella* spp. şüpheli kolonilerden besiyeri içerisine öze ile ekimleri yapıldı. 36±1°C'de 24 saat inkübe edildi. Üreaz sentezleme yeteneğine sahip mikroorganizmalar besiyeri içerisindeki üreyi parçalayarak amonyak oluşturur ve besiyerinin rengi kırmızıya dönüşür. *Salmonella* spp. için üre reaksiyonu negatiftir. İndol testi için besiyeri üzerine 0,5 ml kovaks indol ayracı ilave edildi. İndol pozitif suşlar besiyeri üzerinde kırmızı, negatif suşlar ise besiyeri üzerinde sarı bir halkanın oluşumuna neden olur. *Salmonella* spp. için indol reaksiyonu negatiftir (Bekar, 1997).

3.2.1.6. Altıncı Gün: Serolojik Doğrulama Testleri

Serolojik doğrulama testleri yalnızca biyokimyasal testler ile fenotipik olarak *Salmonella* spp. olduğu düşünülen ve XLD'den seçilerek saflaştırmaları yapılan taze kolonilere uygulandı. İlk olarak oto aglutine kültürlerin elimine edilmesi için alkol yardımıyla iyice temizlenmiş bir lam üzerine 1 damla serum fizyolojik damlatıldı. *Salmonella* spp. olduğu biyokimyasal olarak saptanmış 24 saatlik taze kültürlerden bir koloni alınarak tuzlu suda emülsifiye edildi. Lam iki elin parmakları arasında tutulup 2 dk süreyle aşağı yukarı hareket ettirildi ve oto aglutinasyon olup olmadığına bakıldı. Aynı test antiserumun da kendi kendine çökme yapıp yapmadığını tespit edebilmek amacıyla yapıldı. Oto aglutinasyon yapan suşlar elimine edildi. Oto aglutinasyon olmayan koloniler test edilmeye uygun olarak değerlendirildi. Sonrasında antiserum buzdolabından çıkartıldı ve oda ısısına gelmesi sağlandı. Oto aglutinasyon görülmeyen antiserum, pozitif ve negatif kontrolleri yapılarak test edildi. Pozitif kontrol için iki dakika içerisinde aglutinasyonun görülmesi negatif kontrol için ise hiç aglutinasyonun görülmemesine dikkat edildi. Pozitif ve negatif kontroller ile oto aglutinasyon testleri tamamlandıktan sonra, şüpheli kolonilerin antiserum ile serolojik doğrulanması işlemine başlandı (ISO 6579-1, 2017).

Serolojik doğrulama testlerinin yapılması:

Nutrient Agar'a ekilmiş olan *Salmonella* spp. şüpheli izolatlar için, her petriden beş şüpheli koloni serolojik doğrulama amacıyla *Salmonella* Omnivalent antiserumu ile lam aglütinasyon testine tabi tutuldu. Test için lam iki kısma ayrılarak ayrılan kısımlara birer damla fizyolojik tuzlu su damlatıldı. Üzerine özenin yarısı dolu olacak şekilde şüpheli kolonilerden alınarak FTS ile karıştırıldı. Yaklaşık 1-2 dk kadar rotasyon hareketi yapıldı. Aglütinasyonun görülmesi ile test pozitif olarak değerlendirildi (ISO 6579-1, 2017). Doğrulama testlerinin yorumu Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Doğrulama testlerinin yorumu.

Biyokimyasal reaksiyonlar	Otoaglütinasyon	Serolojik reaksiyonlar	Yorum
Tipik	Negatif	O antijen pozitif	<i>Salmonella</i> spp.
Tipik	Negatif	O antijen negatif	<i>Salmonella</i> spp. olabilir
Tipik	Pozitif	Test yapılmaz	
Tipik olmayan reaksiyonlar	Negatif/Pozitif	O antijen pozitif	<i>Salmonella</i> spp. olabilir
Tipik olmayan reaksiyonlar	Negatif/Pozitif	O antijen negatif	<i>Salmonella</i> spp. değildir

Salmonella spp. izolasyonu için yapılan tüm işlemler Şekil 4'te özetlenmiştir.

Ön Zenginleştirme	Tamponlanmış Peptonlu Su 9 ml + 1 ml örnek	
	⇓	
	34-38°C'de 18±2 saat inkübasyon	
⇓	⇓	⇓
Selektif Zenginleştirme	0,1 ml kültür	1 ml kültür
	MSRV agarda 41.5°C±1'de 24±3 saat inkübasyon	10 ml MKTTn broth içeren tüplerde 37°C±1'de 24±3 saat inkübasyon
⇓	⇓	
Selektif Katı Besiyerine Ekim	XLD katı besiyerine öze ile ekim 37°C±1'de 24±3 saat inkübasyon	
⇓	⇓	
Biyokimyasal ve Serolojik Doğrulama Testleri	Petrilerdeki tipik kolonilerden 5 tanesi işaretlenir. 1 tanesine biyokimyasal testler uygulanır. Testlerin negatif çıkması durumunda işaretli olan diğer 4 koloniye aynı testler uygulanır.	
	⇓	
	Zenginleştirme için Nutrient agar gibi selektif olmayan bir besiyerine geçilir. 34-38°C'de 24±3 saat inkübasyon	
	⇓	⇓
	Biyokimyasal Doğrulama Testi	Serolojik Doğrulama Testi

Şekil 4. Gıda, hayvan yemi ve çevresel örneklerde *Salmonella* tespiti için prosedür şeması.

Fenotipik olarak *Salmonella* spp. olarak belirlenen izolatların, moleküler yöntemler kullanılarak PZR ile cins ve tür düzeyinde identifiye edilmek üzere DNA ekstraksiyonları yapılarak -20°C'de saklandı.

3.2.2. Genotipik İdentifikasyon

Salmonella spp.'nin cins düzeyindeki identifikasyonları için tüm izolatlarda *invA* gen varlığı araştırıldı. İzolatların tür düzeyindeki identifikasyonlarının yapılmasında *S. Enteritidis* için fimbriyal antijen geni olan *sefA*, *S. Typhimurium* için spesifik bir periplazmatik proteini kodlayan gen olan *spy* geni ve *S. Infantis* için flagellar antijen geni olan *fljB* hedef genlerinin

varlığı incelendi. Bakterilerin cins ve tür düzeyinde identifikasyonları moleküler olarak doğrulandıktan sonra *S. Infantis* izolatları için virülens genlerin (*sopB*, *pipD*, *sopE*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *spvC*, *slyA*, *hilA*, *spvR*) ve integronların (*int1*, *int2*) varlığı PZR ile araştırıldı.

DNA Ekstraksiyonu: *Salmonella* spp.'den DNA ekstraksiyonu sonikasyon metodu kullanılarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi (Maniatis ve Sambrook, 1989):

*Bakteri kültürleri kanlı agara pasajlanarak 37°C'de 24 saat inkübe edildi.

*Üreyen kültürlerden bir öze dolusu alınarak 5 ml nutrient brotha pasajlanarak 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi.

*Süre sonunda kültür 5 dk 13500 rpmde santrifüj edilerek üst sıvısı atıldı.

*Kalan tortu kısmı bir ependorf içerisine alınarak 1 ml PBS ile (~10⁸/ml) sulandırıldı.

*Hazırlanan süspansiyon 40 Hz'de 10 dakika boyunca sonikatörde tutuldu. Sonrasında 10 dk 13500 rpm de santrifüj edilerek üst sıvı başka bir ependorfa alındı.

DNA ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen DNA'nın saflık ve miktar kontrollerinin yapılabilmesi için nanodrop kullanıldı. Nanodrop kullanılarak DNA'ların 260 nm ve 280 nm'deki absorbansları ölçüldü. OD260/OD280 oranının 1,6-2,0 arasında olması DNA'nın saf olduğunu, bu aralıktan daha düşük olması RNA kontaminasyonu olduğunu, bu aralıktan daha yüksek olması ise protein kontaminasyonu olduğunu göstermektedir (Turner ve diğerleri, 2004). Elde edilen DNA'ların saflık ve miktar kontrolleri yapıldıktan sonra, DNA %1'lik agaroz jelde yürütülerek bütünlükleri yönünden kontrol edildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR): Tüm PZR'larında DNA amplifikasyonu için mastermikslere hazırlanması aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirildi. DNA amplifikasyonu işleminde tüm PZR'da elde edilen bakteriyel DNA'dan 3 µL olacak şekilde toplam 50 µL reaksiyon miktarı için son konsantrasyon Taq enzimi tampon çözeltisi 1X, magnezyum klorür (MgCl₂) 2 mM, dNTP 0,2 mM, primer (her biri için) 0,4 pmol, Taq DNA polimeraz (Fermentas) 1,5 U olacak şekilde gerçekleştirildi (Tablo 10).

Tablo 10. Mastermikslere hazırlanma oranları.

Bileşen (Konsantrasyon)	Son konsantrasyon	10 örnek için kullanılan hacim (µl)
Buffer (10X)	1 X	50
MgCl ₂ (25 mM)	2 Mm	40

dNTP (10 mM)	0,2 Mm	10
Primer-F (100 pmol)	0,4 pmol	2
Primer-R (100 pmol)	0,4 pmol	2
Taq polimeraz (5 U)	0,3 µl/ 50 µl	3
dH ₂ O	Son miktara tamamlanır	393
TOPLAM		500

PZR için tüpler, termal döngüleme cihazına yerleştirildikten sonra sikluslar başlangıç denatürasyonu (95°C’de 5 dk), 30 döngü denatürasyon (95°C’de 30 sn), primerlerin bağlanması [48°C (*spvR*), 50°C (*int2*), 54°C (*invA*, *sefA*, *spy*, *fljB*, *pipD*), 55°C (16S rRNA, *int1*, *stn*), 59°C (*slyA*), 62°C (*sopB*, *sopE*), 64°C (*spvC*, *spaN*), 69°C (*sifA*), 71°C (*hilA*) 30 sn], uzama 72°C 60 sn ve son zincir uzaması 72°C’de 10 dk ile gerçekleştirildi (Tablo 11).

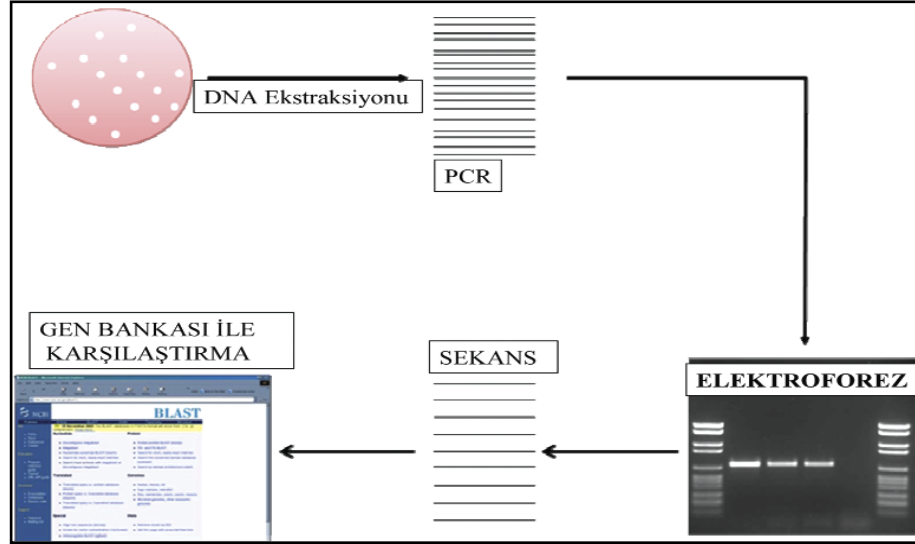
Tablo 11. PZR sıcaklık ve döngü koşulları.

Gen (ler)	PZR Basamağı				
	Ön denatürasyon	Denatürasyon	Bağlanma	Uzama	Son Uzama
<i>spvR</i>	94°C 3 dk	94°C 0,5 dk	48°C 0,5 dk	72°C 1 dk	72°C 10 dk
<i>int2</i>	94°C 3 dk	94°C 0,5 dk	50°C 0,5 dk	72°C 1 dk	72°C 10 dk
<i>invA</i> , <i>sefA</i> , <i>spy</i> , <i>fljB</i> , <i>pipD</i>	94°C 3 dk	94°C 0,5 dk	54°C 0,5 dk	72°C 1 dk	72°C 10 dk
16S rRNA, <i>int1</i> , <i>stn</i>	94°C 3 dk	94°C 0,5 dk	55°C 0,5 dk	72°C 1 dk	72°C 10 dk
<i>slyA</i>	94°C 3 dk	94°C 0,5 dk	59°C 0,5 dk	72°C 1 dk	72°C 10 dk
<i>sopB</i> , <i>sopE</i>	94°C 3 dk	94°C 0,5 dk	62°C 0,5 dk	72°C 1 dk	72°C 10 dk
<i>spvC</i> , <i>spaN</i>	94°C 3 dk	94°C 0,5 dk	64°C 0,5 dk	72°C 1 dk	72°C 10 dk
<i>sifA</i>	94°C 3 dk	94°C 0,5 dk	69°C 0,5 dk	72°C 1 dk	72°C 10 dk
<i>hilA</i>	94°C 3 dk	94°C 0,5 dk	71°C 0,5 dk	72°C 1 dk	72°C 10 dk

Elektroforez ve Görüntüleme: Amplifikasyon sonrasında oluşan ürünlerin değerlendirilmesi için %1,5'lik agaroz jel hazırlandı. Elde edilen amplifikasyon ürünlerinden 5 µl alınarak, 1 µl 6x loading dye boyası ile tüp içerisinde karıştırıldı ve 6 µl olan bu karışım jeldeki kuyucuğa yüklendi. DNA örnekleri 100 voltta 45 dk elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra görüntüleme işlemi gerçekleştirildi. Elektroforez işleminden sonra çıkarılan jel bilgisayara bağlı durumdaki transilluminatör cihazındaki odacığa yerleştirildi. UV ışığı altında fotoğraflandıktan sonra bant uzunlukları her PZR için ayrı ayrı değerlendirildi. Amplifikasyonu yapılmış olan ürün, beklenen boyutta bir bant oluşturduysa incelenen gen yönünden sonuç pozitif olarak kabul edildi. Değerlendirme daha önce bildirilen şekilde (Tablo 6,7,8) yapıldı.

3.2.3. Sekans Analizi

Bu çalışmada *S. Infantis* izolatlarının identifikasyonu için gerçekleştirilen PZR'larında, pozitif kontrol olarak *S. Infantis* tür spesifik primer ile pozitif sonuç veren izolatlardan birkaç tanesinin DNA'sı ile, 16S rRNA universal primerleri kullanılarak PZR yapıldı. Elde edilen ampikonlar %1,5'lik agaroz jelde yürütüldükten sonra 1371 bp büyüklüğünde DNA bandı görülen örnek 50 µl ve primerler (10 pmol) bir örnek için 2 µl olacak şekilde 0,2 ml lik PZR tüplerine konuldu. Tüp etiketlenerek Macrogen (Hollanda) firmasına sekans analizi için gönderildi. Burada pürifiye edilen ampikonlar ABI Primse DNA Sequencer cihazı kullanılarak çift yönlü olarak DNA dizi analizi gerçekleştirildi. 16S rRNA dizileri NCBI (National Center for Biotechnological Information) Nucleotide Blast programı kullanılarak, Gen Bankası (www.ncbi.nlm.nih.gov) ile karşılaştırıldı ve her izolat için gen bankasındaki homolojileri belirlendi. Sonuç olarak %99,5'in üzerindeki benzerlik gösteren izolat, pozitif kontrol olarak kullanıldı. Bakterilerin 16S rRNA sekansına dayalı moleküler identifikasyon aşamaları Resim 5'te gösterilmiştir.



Resim 5. Bakterilerin 16S rRNA sekansına dayalı moleküler identifikasyonu.

3.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi

S. Infantis olarak identifikasyonu yapılan izolatlar antibiyotik duyarlılık testi Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI, 2023)'nün bildirdiği şekilde ve Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi kullanılarak yapıldı. Bu amaçla tüm izolatlar NB'da canlandırıldıktan sonra bakteri kültürlerinin yoğunluğu %0,9'luk NaCl içinde 0,5 McFarland (1×10^8 kob/ml) bulanıklığına eşit olacak şekilde ayarlandı. Bu süspansiyondan svap yardımı ile 0,1 ml alınarak Müeller Hinton Agar (MHA)'a ekim yapıldı. Ekim yüzeyinin kuruması için 15 dakika beklenildi. Sonrasında antibiyotik diskleri, agar yüzeyi ile temas edecek ve aralarındaki mesafe eşit olacak şekilde petrilere yerleştirildi. Besiyerleri $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 16-18 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında her bir izolat için, disk etrafındaki inhibisyon zon çapları ölçülerek CLSI'nın belirttiği değerlendirme kriterlerine göre duyarlı (S), orta derecede duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak yorumlandı (Liofilchem, 2015c). Kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı. Antibiyotik duyarlılık testlerinde kanatlı hayvan hastalıklarının tedavisinde en sık kullanılan 8 antimikrobiyal aileye (penisilinler, β laktamlar, aminoglikozidler, tetrasiklinler, kinolonlar, folat yolu inhibitörleri, fenikoller, nitrofuranlar) ait 8 antibiyotiğe (ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, gentamisin, tetrasiklin, siprofloksasin, trimetoprim/sulfametoksazol, kloramfenikol, nitrofurantoin) karşı izolatların direnç durumları incelendi. Bu çalışmada en az üç veya daha fazla antimikrobiyal aileye karşı direncin

belirlendiği durumlarda bakteriler, MDR olarak kabul edildi (Magiorakos ve diğerleri, 2012). Çalışmada kullanılan antibiyotikler, disk içerikleri, etki mekanizmaları ve değerlendirme kriterleri Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12. Çalışmada kullanılan antibiyotikler.

Antimikrobiyal sınıf	Antibiyotik	Disk içeriği (µg)	Zon çapı (mm)	
			≥S	≤R
Penisilinler	Ampisilin	10	17	13
β Laktamlar	Amoksisilin/Klavulanik asit	20/10	18	13
Aminoglikozidler	Gentamisin	10	18	14
Tetrasiklinler	Tetrasiklin	30	15	11
Kinolonlar	Siprofloksasin	5	26	21
Folat yolu inhibitörleri	Trimetoprim/Sulfametoksazol	1,25/23,75	16	10
Fenikoller	Kloramfenikol	30	18	12
Nitrofuranlar	Nitrofurantoin	300	17	14

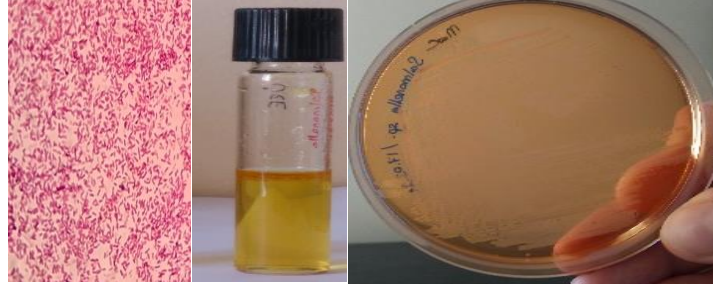
3.2.5. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi amacıyla SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versiyon 23,0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanıldı. Frekans verilerini karşılaştırmak için Pearson ki-kare (χ^2) testi kullanıldı. Sonuçlar %95’lik güven aralığında değerlendirilirken; 0,05’ten küçük p değeri ($p < 0,05$) istatistiksel olarak önemli kabul edildi. İzolatların çoklu antimikrobiyal direnç durumları ile integron ve virülens genlerin varlığı; integron gen varlığı ile antibiyotik direnci ve virülens gen varlığı arasındaki ilişkiyi incelemek için Pearson ki-kare (χ^2) testi kullanıldı.

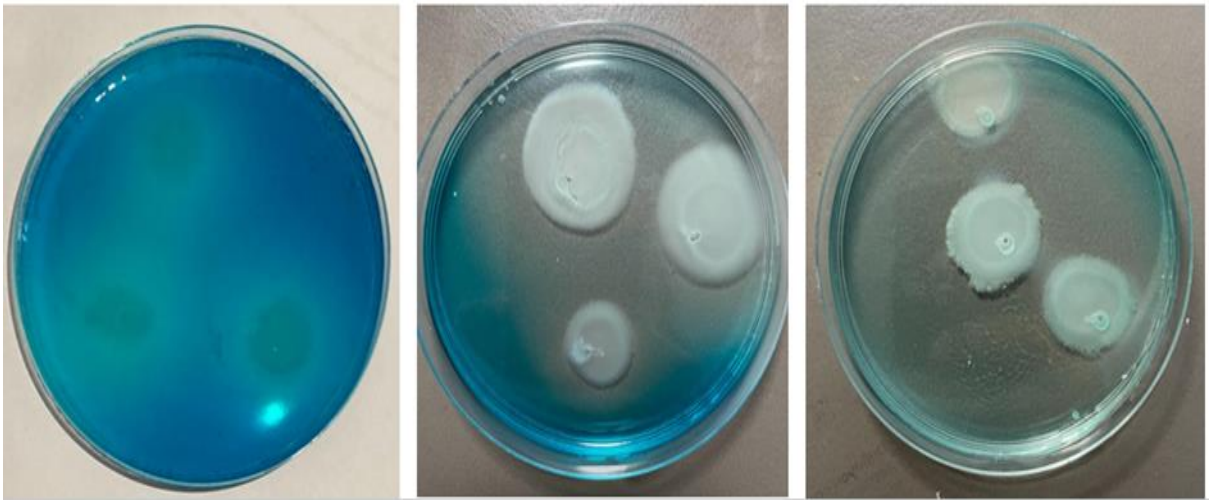
4. BULGULAR

4.1. İzolasyon

Gram negatif çomak morfolojisinde, oksidaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif, üre negatif, MCA'da laktoz negatif, MSR/V agarda hareketli, XLD agarda H₂S pozitif, serolojik doğrulama testleri sonucunda aglütinasyon reaksiyonu pozitif olan 255 izolat, *Salmonella* spp. olarak değerlendirildi (Quinn ve diğerleri, 2011). *Salmonella* izolatlarının test sonuçları Resim 6,7,8,9'da gösterilmiştir.



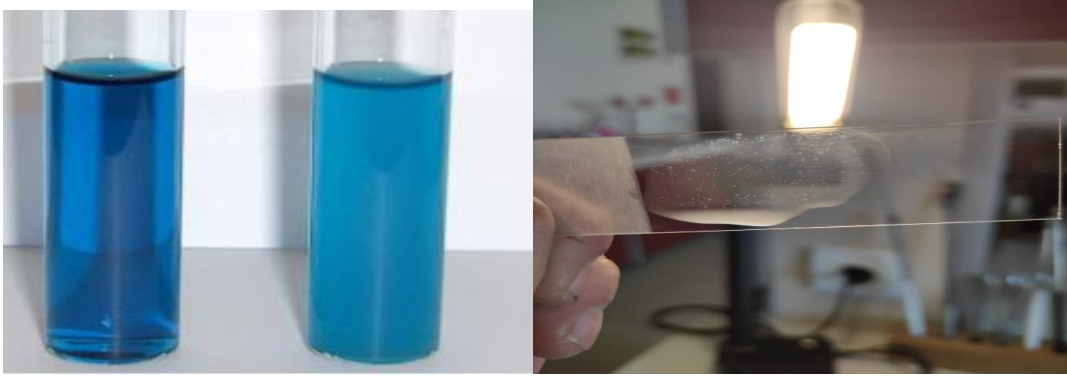
Resim 6. *Salmonella* izolatlarının Gram boyama, üre indol testi ve MCA'daki görünüşleri



Resim 7. MSR/V besiyerine ekim sonrası negatif ve pozitif kontrollerin görünümü.



Resim 8. XLD agara ekim sonrası negatif ve pozitif kontrollerin görünümü.



Resim 9. MKTTn Broth'ta negatif/pozitif kontrol ve lam aglütinasyon testi.

4.2. İdentifikasyon

Tüm izolatların cins düzeyinde identifikasyonlarının doğrulanmasında *invA* geni; tür düzeyindeki identifikasyonlarının yapılmasında *S. Enteritidis* için *sefA*, *S. Typhimurium* için *spy* ve *S. Infantis* için *fljB* hedef genleri için özgün olarak dizayn edilmiş spesifik primer kullanılarak genotipik olarak cins ve tür düzeyinde identifikasyonları multipleks PZR ile gerçekleştirildi.

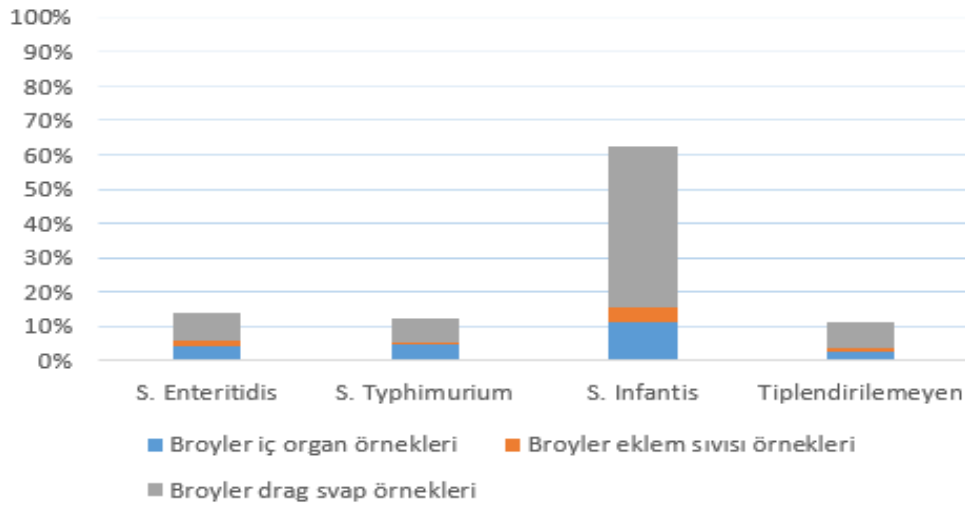
Çalışma esnasında 255 izolatın 226 (%88,6)'sı mevcut primerler ile tür düzeyinde identifiye edilerek tiplendirilirken, 29 (%11,3)'u mevcut primerler ile serotiplendirilemedi. İç organ örneklerinden 59 (11 *S. Enteritidis*, 12 *S. Typhimurium*, 29 *S. Infantis*), eklem sıvısı örneklerinden 18 (4 *S. Enteritidis*, 1 *S. Typhimurium*, 10 *S. Infantis*) ve drag svap örneklerinden

178 (21 *S. Enteritidis*, 18 *S. Typhimurium*, 120 *S. Infantis*) adet *Salmonella* spp. izolasyonu yapıldı.

Çalışmaya dahil edilen *Salmonella* izolatlarının serotipleri ve izole edildikleri yerler ve serotip oranları Tablo 13'te, serotip dağılımları ise Şekil 5'te verilmiştir.

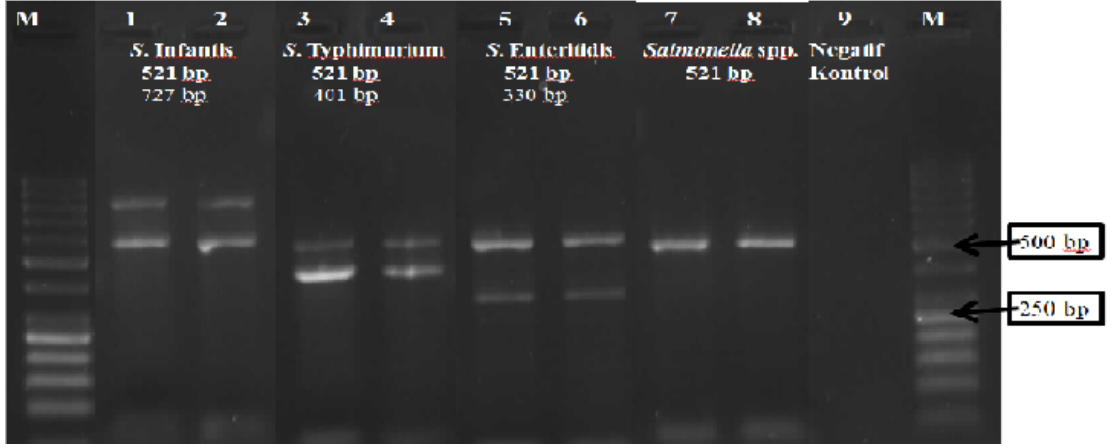
Tablo 13. *Salmonella* izolatlarının izole edildikleri yerler ve serotip oranları.

Serotip	Broyler iç organ (%)	Broyler eklem sıvısı (%)	Drag svap (%)	Toplam (%)
<i>S. Enteritidis</i>	11 (4,3)	4 (1,6)	21 (8,2)	36 (14,1)
<i>S. Typhimurium</i>	12 (4,7)	1 (0,4)	18 (7,1)	31 (12,2)
<i>S. Infantis</i>	29 (11,3)	10 (4,0)	120 (47,0)	159 (62,3)
Tiplendirilemeyen	7 (2,7)	3 (1,2)	19 (7,4)	29 (11,3)
TOPLAM	59 (23,1)	18 (7,1)	178 (69,8)	255 (100,0)



Şekil 5. *Salmonella* izolatlarının serotip dağılımları.

Elde edilen 255 saha izolatının hepsinde 521 bp uzunluğunda ürün elde edilerek izolatların *Salmonella* spp. oldukları doğrulandı. Bununla birlikte multipleks PZR'da 159 izolatta (%62,3) 727 bp, 31 izolatta (%12,2) 401 bp ve 36 izolatta (%14,1) 330 bp uzunluğunda ürün elde edildiği için izolatlar sırası ile; *S. Infantis*, *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* olarak tiplendirildi (Resim 10).



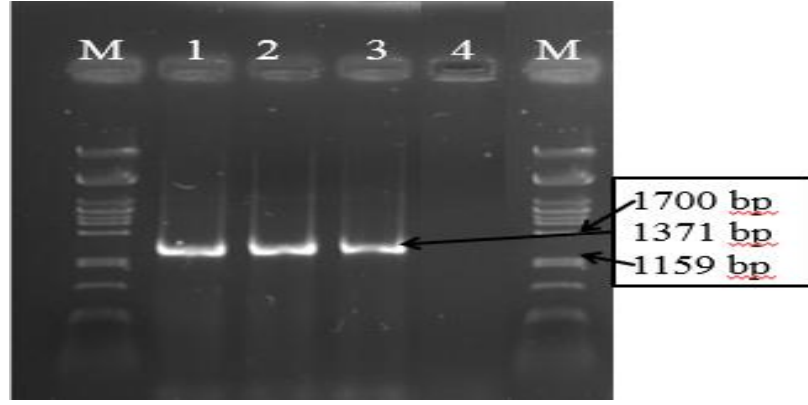
Resim 10. *Salmonella* izolatlarının PZR jel elektroforez görüntüsü.

S. Infantis (*fljB*) PZR (727 bp) 1. *S. Infantis* saha izolatu 2. Pozitif Kontrol (*S. Infantis* sekanslanmış saha izolatu); *S. Typhimurium* (*spy*) PZR (401 bp) 3. *S. Typhimurium* saha izolatu 4. Pozitif Kontrol (*S. Typhimurium* ATCC 14028); *S. Enteritidis* (*sefA*) PZR (330 bp) 5. *S. Enteritidis* saha izolatu 6. Pozitif Kontrol (*S. Enteritidis* ATCC 1306); *Salmonella* spp. PZR (521 bp) 7-8. Tiplendirilemeyen izolatlar, 9. Negatif Kontrol (*E. coli* ATCC 25922), M: Marker (100 bp DNA Ladder).

Daha sonra; broyler iç organ, broyler eklem sıvısı ve drag svap örneklerinden izolasyon ve identifikasyonu yapılan toplam 159 *S. Infantis* izolatının antibiyotik direnç profilleri ile birlikte integron ve virülens gen profilleri incelendi.

4.3. Sekans Analizi

S. Infantis için gerçekleştirilen PZR'larında pozitif kontrol olarak sekans analizi sonrasında elde edilen izolat kullanıldı. Bunun için hedef gen (*fljB*) için gerçekleştirilen PZR ile pozitif olarak tespit edilen saha izolatlarından üç tanesinin DNA'sı kullanılarak 16S rRNA universal primerleri ile PZR gerçekleştirildi. 16S universal primerleri kullanılarak yapılan PZR'da 1371 bp uzunluğunda bant görüldü (Resim 11). DNA amplifikasyonu ile elde edilen ampikonlar sekanslandı. Sekanslama sonuçlarına ve BLAST analizine göre, en yüksek benzerlik yüzdesine (%99,8) sahip DNA, sonraki *S. Infantis* PZR'larında pozitif kontrol olarak kullanıldı.



Resim 11. *S. Infantis* izolatının 16S rRNA jel elektroforez görüntüsü. **1–3:** *S. Infantis* saha izolatları, **4:** Negatif Kontrol (DNA’sız master mix) **M:** *Pst*I enzimi ile kesilmiş lambda faj DNA’sı.

Bu çalışmada 16S rRNA PZR sonrasında elde edilen en yüksek benzerlik oranına sahip ampliconun sekans sıralaması ve BLAST analizi sonucu (Resim 12) aşağıda gösterilmiştir.

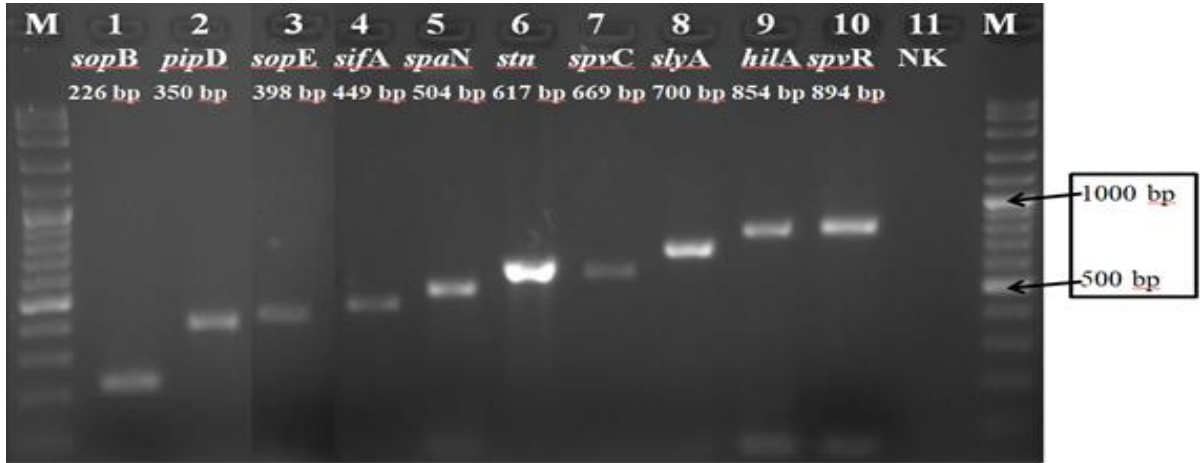
GGGTGGTAACGACTGGTACG0GCTTCTGTAACCGGTGGTGCGGTTAAATTTGACG
 CAGATAATAACAAGTACTTTGTTACTATTGGTGGCTTTACTGGTGCTGATGCCGCC
 AAAAATGGCGATTATGAAGTTAACGTTGCTACTGACGGTACAGTAACCCTTGCGG
 CTGGCGCAACTAAAACCACAATGCCTGCTGGTGTGACAATAAACAGAAGTAC
 AGGAGTTAACAACACTACACCGGTAGTTGCTTCAGCAGATGCTAAGAATGCCTTAAT
 CGCTGGCGGCGTTGACACTGCCGATGCTAATGCCGCGACATTGGTCAAATGTCT
 TATACCGATAAAAATGGTAAGACAATTGAAGGCGGTTATGCGCTTAAAGCTGGC
 GATAAGT

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Salmonella enterica subsp. enterica serovar infantis strain CVM N17S1509 chromosome, complete genome	Salmonella ente...	713	713	100%	0.0	99.74%	4727152	CP052817.1
<input checked="" type="checkbox"/> Salmonella enterica subsp. enterica serovar infantis strain CVM N16S024 chromosome, complete genome	Salmonella ente...	713	713	100%	0.0	99.74%	4727142	CP052839.1
<input checked="" type="checkbox"/> Salmonella enterica subsp. enterica serovar infantis strain CVM N16S097 chromosome, complete genome	Salmonella ente...	713	713	100%	0.0	99.74%	4727141	CP052837.1
<input checked="" type="checkbox"/> Salmonella enterica subsp. enterica serovar infantis strain CVM N16S103 chromosome, complete genome	Salmonella ente...	713	713	100%	0.0	99.74%	4727146	CP052835.1
<input checked="" type="checkbox"/> Salmonella enterica subsp. enterica serovar infantis strain CVM N17S041 chromosome, complete genome	Salmonella ente...	713	713	100%	0.0	99.74%	4727150	CP052833.1
<input checked="" type="checkbox"/> Salmonella enterica subsp. enterica serovar infantis strain CVM N17S1040 chromosome, complete genome	Salmonella ente...	713	713	100%	0.0	99.74%	4727118	CP052831.1
<input checked="" type="checkbox"/> Salmonella enterica subsp. enterica serovar infantis strain CVM N17S1105 chromosome, complete genome	Salmonella ente...	713	713	100%	0.0	99.74%	4728347	CP052829.1
<input checked="" type="checkbox"/> Salmonella enterica subsp. enterica serovar infantis strain CVM N17S1126 chromosome, complete genome	Salmonella ente...	713	713	100%	0.0	99.74%	4728349	CP052827.1
<input checked="" type="checkbox"/> Salmonella enterica subsp. enterica serovar infantis strain CVM N17S1245 chromosome, complete genome	Salmonella ente...	713	713	100%	0.0	99.74%	4727130	CP052825.1

Resim 12. *S. Infantis* izolatının BLAST analizi sonucu.

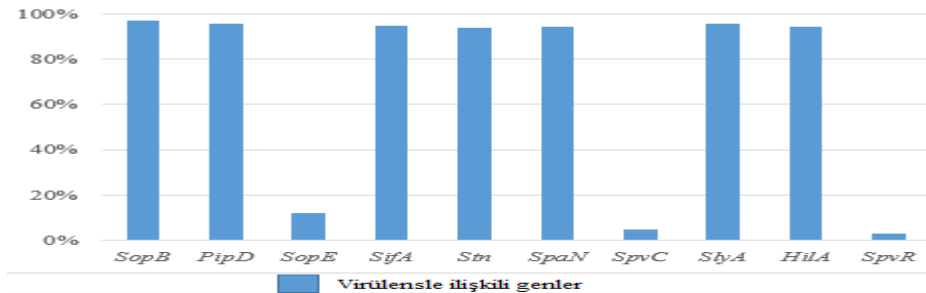
4.4. Virülens Genotiplendirme

Bu çalışmada broyler iç organ, broyler eklem sıvısı ve çiftlik drag svap örneklerinden izole ve identifiye edilmiş olan 159 *S. Infantis* izolatının 10 virülens geni (*sopB*, *pipD*, *sopE*, *sifA*, *spaN*, *stn*, *spvC*, *slyA*, *hilA*, *spvR*) PZR ile incelendi (Resim 13).



Resim 13. *S. Infantis* virülens genlerinin jel elektroforez görüntüsü. **1.** *sopB* (226 bp) **2.** *pipD* (350 bp) **3.** *sopE* (398 bp) **4.** *sifA* (449 bp) **5.** *spaN* (504 bp) **6.** *stn* (617 bp) **7.** *spvC* (669 bp) **8.** *slyA* (700 bp) **9.** *hilA* (854 bp) **10.** *spvR* (894 bp) **11.** Negatif Kontrol (DNA'sız master mix) **M:** 100 bp DNA ladder.

İzolatların sırasıyla, 154 (%96,8)'ü *sopB*; 152 (%95,6)'si *pipD* ve *slyA*; 151 (%94,9)'i *sifA*; 150 (%94,3)'si *spaN* ve *hilA*; 149 (%93,7)'u *stn*; 19 (%11,9)'u *sopE*; 8 (%5,0)'i *spvC*; 5 (%3,1)'i *spvR* genlerini taşıyordu (Şekil 6, Tablo 14).



Şekil 6. İzolatların taşıdıkları virülens gen dağılımları.

Tablo 14. S. Infantis izolatların taşıdıkları virülens genler ve oranları.

Gen fonksiyonu	Virülens gen		Pozitif izolat (%)
T3SS ve invazyon oluşumu	<i>sopE</i>	<i>Salmonella</i> dış membran protein E, invazyon	19 (11,9)
	<i>sopB</i>	<i>Salmonella</i> dış membran protein B, sıvı sekresyonu	154 (96,8)
	<i>spaN (invJ)</i>	Nanfagositik hücrelere invazyon	150 (94,3)
	<i>pipD</i>	SPA-1 ile ilişkili T3SS efektör proteini, enteritis	152 (95,6)
	<i>hilA</i>	Hiper invaziv lokus, T3SS ana regülatörü, transkripsiyonel düzenleyici	150 (94,3)
	<i>sifA</i>	<i>Salmonella</i> kaynaklı filament A, vakuol içine girme ve filament oluşumu	151 (94,9)
Virülens plazmidi	<i>spvR</i>	<i>Salmonella</i> virülens plazmidi, plazmidle ilişkili genlerin ekspresyonu	5 (3,1)
	<i>spvC</i>	<i>Salmonella</i> virülens plazmidi, sistemik enfeksiyon oluşumu	8 (5,0)
Ekzotoksin üretimi	<i>stn</i>	Enterotoksin kodlama	149 (93,7)
	<i>slyA</i>	Transkripsiyonel düzenleyici, ekzotoksin üretimi	152 (95,6)

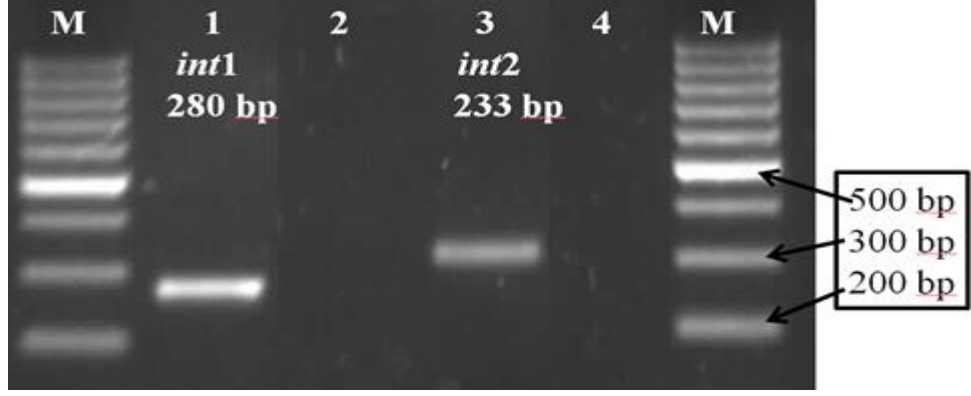
Çalışmada, elde edilen 159 S. Infantis izolatının 20 virülens genotipi mevcuttu (Tablo 15). Yüz elli dokuz izolatın 2'si 9 (*sopB*, *pipD*, *sopE*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *spvC*, *slyA*, *hilA*), 1'i 9 (*sopB*, *pipD*, *sopE*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *slyA*, *hilA*, *spvR*), 14'ü 8 (*sopB*, *pipD*, *sopE*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *slyA*, *hilA*), 2'si 8 (*sopB*, *pipD*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *slyA*, *hilA*, *spvR*), 94'ü 7 (*sopB*, *pipD*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *slyA*, *hilA*), 1'i 7 (*sopB*, *pipD*, *sopE*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *spvC*), 1'i 7 (*sopB*, *pipD*, *stn*, *spaN*, *spvC*, *slyA*, *hilA*), 7'si 6 (*sopB*, *pipD*, *sifA*, *spaN*, *slyA*, *hilA*), 7'si 6 (*sopB*, *pipD*, *sifA*, *stn*, *slyA*, *hilA*), 6'sı 6 (*sopB*, *pipD*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *slyA*), 5'i 6 (*sopB*, *pipD*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *hilA*), 5'i 6 (*sopB*, *pipD*, *stn*, *spaN*, *slyA*, *hilA*), 4'ü 6 (*sopB*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *slyA*, *hilA*), 3'ü 6 (*pipD*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *slyA*, *hilA*), 1'i 6 (*sopB*, *sifA*, *spaN*, *spvC*, *slyA*, *hilA*), 1'i 5 (*sopB*, *pipD*, *spaN*, *slyA*, *hilA*), 1'i 4 (*sifA*, *stn*, *slyA*, *spvR*), 1'i 3 (*stn*, *slyA*, *spvR*) virülens geni taşıyordu.

Tablo 15. *S. Infantis* izolatlarının virülens gen profilleri.

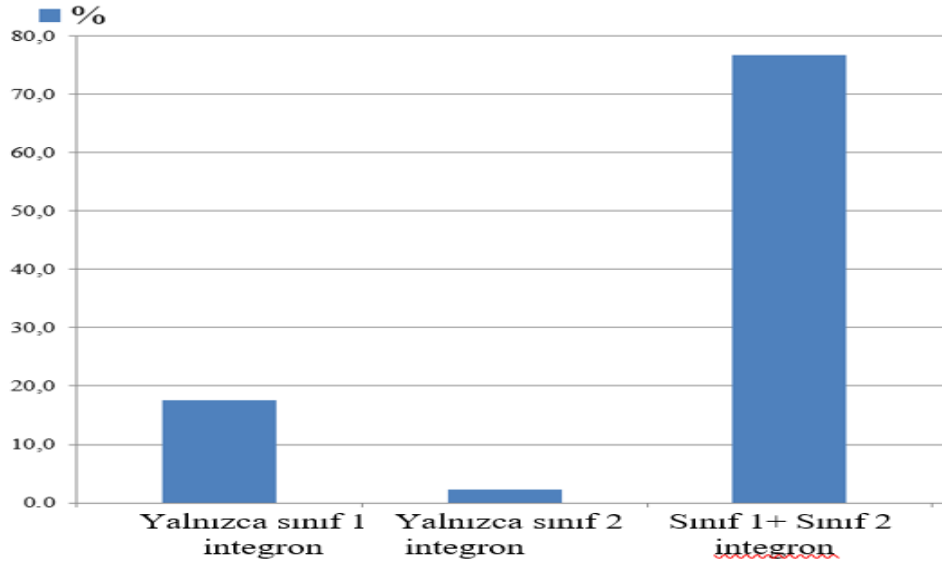
No	Virülens genotipi	Gen sayısı	İzolat sayısı (n: 159)	Toplam (%)	
1	<i>stn, slyA, spvR</i>	3	1	1 (0,6)	
2	<i>sifA, stn, slyA, spvR</i>	4	1	1 (0,6)	
3	<i>sopB, pipD, spaN, slyA, hilA</i>	5	1	1 (0,6)	
4	<i>sopB, sifA, spaN, spvC, slyA, hilA</i>	6	1	38 (23,9)	
5	<i>pipD, sifA, stn, spaN, slyA, hilA</i>	6	3		
6	<i>sopB, sifA, stn, spaN, slyA, hilA</i>	6	4		
7	<i>sopB, pipD, stn, spaN, slyA, hilA</i>	6	5		
8	<i>sopB, pipD, sifA, stn, spaN, hilA</i>	6	5		
9	<i>sopB, pipD, sifA, stn, spaN, slyA</i>	6	6		
10	<i>sopB, pipD, sifA, stn, slyA, hilA</i>	6	7		
11	<i>sopB, pipD, sifA, spaN, slyA, hilA</i>	6	7		
12	<i>sopB, pipD, sifA, stn, spaN, slyA, hilA</i>	7	94		97 (61,0)
13	<i>sopB, pipD, sopE, sifA, stn, spaN, spvC</i>	7	1		
14	<i>sopB, pipD, sopE, sifA, spaN, spvC, hilA</i>	7	1		
15	<i>sopB, pipD, stn, spaN, spvC, slyA, hilA</i>	7	1		
16	<i>sopB, pipD, sifA, stn, spaN, slyA, hilA, sopE</i>	8	14	18 (11,3)	
17	<i>sopB, pipD, sifA, stn, spaN, slyA, hilA, spvC</i>	8	2		
18	<i>sopB, pipD, sifA, stn, spaN, slyA, hilA, spvR</i>	8	2		
19	<i>sopB, pipD, sifA, stn, spaN, slyA, hilA, sopE, spvC</i>	9	2	3 (1,9)	
20	<i>sopB, pipD, sifA, stn, spaN, slyA, hilA, sopE, spvR</i>	9	1		

4.5. İntegronların Varlığı

İzolatların %96,8 (154/159)'si integron taşıyor iken [%17,6 (28/159)'sı yalnızca *int1*, %2,3 (4/159)'ü yalnızca *int2*, %76,7 (122/159)'si hem *int1* hem de *int2*]; %3,1 (5/159)'i integron taşıymıyordu. Bununla birlikte tüm izolatların toplamda %94,3 (150/159)'ü *int1*, %79,2 (126/159)'si *int2* taşıyordu (Resim 14, Şekil 7).



Resim 14. *S. Infantis* integron genlerinin jel elektroforez görünümü. **1.** *int1* geni pozitif *S. Infantis* izolatu **2.** Negatif Kontrol (DNA'sız master mix) **3.** *int2* geni pozitif *S. Infantis* izolatu **4.** Negatif Kontrol (DNA'sız master mix) **M:** 100 bp moleküler marker.



Şekil 7. *S. Infantis* izolatlarının taşıdıkları integron sınıflarının dağılımı.

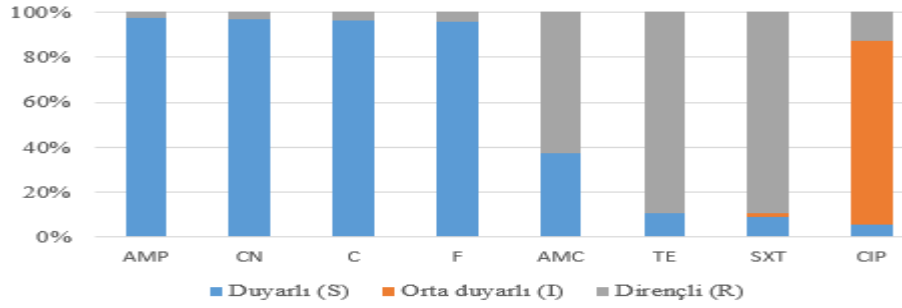
4.6. Antibiyotik Direnci

İzolatların 142 (%89,3)'si trimetoprim/sulfametoksazol ve tetrasikline; 100 (%62,9)'ü amoksisilin/klavulanik asite; 20 (%12,6)'si siprofloksasine; 7 (%4,4)'si nitrofurantoine; 6 (%3,8)'sı kloramfenikole; 5 (%3,1)'i gentamisine; 4 (%2,5)'ü ampisiline dirençli idi. İzolatlar üzerinde en etkili antibiyotikler, ampisilin (%97,5) ve gentamisin (%96,8) oldu (Tablo 16, Şekil 8).

Tablo 16. S. Infantis izolatlarının antibiyotiklere direnç oranları.

Antibiyotik Grubu	Antimikrobiyal Ajan	S (%)	I (%)	R (%)
Penisilinler	Ampisilin	155 (97,5)	0	4 (2,5)
Aminoglikozidler	Gentamisin	154 (96,8)	0	5 (3,1)
Fenikoller	Kloramfenikol	153 (96,2)	0	6 (3,8)
Nitrofuraneler	Nitrofurantoin	152 (95,6)	0	7 (4,4)
Beta Laktamlar	Amoksisilin/ Klavulanik Asit	59 (37,1)	0	100 (62,9)
Tetrasiklinler	Tetrasiklin	17 (10,7)	0	142 (89,3)
Folat Yolu İnhibitörleri	Trimetoprim/Sulfametoksazol	14 (9,0)	3 (1,9)	142 (89,3)
Kinolonlar	Siprofloksasin	9 (5,6)	130 (81,8)	20 (12,6)

Toplam izolat sayısı: n=159



Şekil 8. S. Infantis izolatlarının antibiyotik direnç dağılımları.

İzolatların %0,6 (1/159)'sı hiçbir antibiyotiğe dirençli değilken %3,1 (5/159)'i bir, %35,2 (56/159)'si iki antibiyotiğe dirençli idi. İzolatların %49,7 (79/159)'si üç, %11,3 (18/159)'ü dört antimikrobiyal aileye karşı dirençli durumdaydı. İzolatların %61,0 (97/159)'i MDR'ye sahipti ve toplamda 10 antibiyotik direnç fenotipi mevcuttu (Tablo 17).

Tablo 17. S. Infantis izolatlarının çoklu antibiyotik direnç fenotipleri.

No	Dirençli antibiyotik sayısı	İzolat sayısı (%)	Toplam izolat sayısı (%)
1	AMC, TE, SXT (3)	73 (45,9)	79 (49,7)
2	TE, CIP, SXT (3)	5 (3,1)	
3	AMP, AMC, SXT (3)	1 (0,6)	
4	AMC, TE, SXT, F (4)	1 (0,6)	18 (11,3)
5	AMC, TE, SXT, C (4)	2 (1,3)	
6	AMC, TE, SXT, AMP (4)	1 (0,6)	
7	AMC, TE, SXT, CIP (4)	11 (7,0)	
8	AMC, TE, SXT, CN (4)	1 (0,6)	
9	CN, TE, CIP, SXT (4)	1 (0,6)	
10	TE, CIP, SXT, C (4)	1 (0,6)	
TOPLAM		97 (61,0)	97 (61,0)

4.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada MDR'ye sahip izolatların (94/97) %96,9'u, çoklu antibiyotik direncine sahip olmayan (NMDR) izolatların ise (60/62) %96,8'inin integron taşıdığı belirlendi. İntegron ve virülens genlerinin varlığı ile MDR arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmedi (Tablo 18, 19).

Tablo 18. İntegron geni taşıyan ve taşımayan izolatların MDR ve NMDR ile ilişkisi.

İntegron gen	MDR (%)	NMDR (%)	Toplam (%) (n=159)	P değeri	χ^2
<i>Int1</i> (+)	93 (58,5)	57 (35,8)	150 (94,3)	0,313	1,093
<i>Int1</i> (-)	4 (2,5)	5 (3,2)	9 (5,7)		
<i>Int2</i> (+)	81 (50,9)	45 (28,3)	126 (79,2)	0,111	2,745
<i>Int2</i> (-)	16 (10,0)	17 (10,8)	33 (20,8)		
<i>Int</i> (+)	94 (59,1)	60 (37,7)	154 (96,8)	1	0,002
<i>Int</i> (-)	3 (1,9)	2 (1,3)	5 (3,2)		

Tablo 19. Virülens genleri taşıyan ve taşımayan izolatların MDR ve NMDR ile ilişkisi.

Virülens gen	MDR (%)	NMDR (%)	Toplam (%) (n=159)	P değeri	χ^2
<i>sopB</i> (+)	95 (59,7)	59 (37,1)	154 (96,8)	0,379	0,952
<i>sopB</i> (-)	2 (1,3)	3 (1,9)	5 (3,1)		
<i>pipD</i> (+)	93 (58,5)	59 (37,1)	152 (95,6)	1	0,046
<i>pipD</i> (-)	4 (2,5)	3 (1,9)	7 (4,4)		
<i>sopE</i> (+)	11 (7,0)	8 (5,0)	19 (11,9)	0,805	0,088
<i>sopE</i> (-)	86 (54,0)	54 (34,0)	140 (88,0)		
<i>sifA</i> (+)	92 (57,8)	59 (37,1)	151 (94,9)	1	0,008
<i>sifA</i> (-)	5 (3,1)	3 (1,9)	8 (5,0)		
<i>stn</i> (+)	92 (57,9)	57 (35,8)	149 (93,7)	0,514	0,54
<i>stn</i> (-)	5 (3,1)	5 (3,1)	10 (6,3)		
<i>spaN</i> (+)	92 (57,8)	58 (36,5)	150 (94,3)	0,737	0,118
<i>spaN</i> (-)	5 (3,1)	4 (2,5)	9 (5,6)		
<i>spvC</i> (+)	6 (3,8)	2 (1,3)	8 (5,0)	0,484	0,689
<i>spvC</i> (-)	91 (57,2)	60 (37,7)	151 (94,9)		
<i>slyA</i> (+)	93 (58,5)	59 (37,1)	152 (95,6)	1	0,046
<i>slyA</i> (-)	4 (2,5)	3 (1,9)	7 (4,4)		
<i>hilA</i> (+)	92 (57,8)	58 (36,5)	150 (94,3)	0,737	0,118
<i>hilA</i> (-)	5 (3,1)	4 (2,5)	9 (5,6)		
<i>spvR</i> (+)	2 (1,3)	3 (1,9)	5 (3,1)	0,379	0,952
<i>spvR</i> (-)	95 (59,7)	59 (37,1)	154 (96,8)		

İntegron genlerinin varlığı ile *sopB*, *pipD*, *spaN*, *spvC*, *slyA*, *hilA* ve *spvR* virülens genlerini bulundurma arasında önemli bir ilişki gözlenirken; *sopE*, *sifA* ve *stn* genlerini bulundurma arasında anlamlı bir ilişki gözlenmedi (Tablo 20) .

Tablo 20. İntegron geni taşıyan ve taşımayan izolatların virülens genlerle ilişkisi.

No	Virülens gen	İntegron geni taşıyan izolatlar (%)	İntegron geni taşımayan izolatlar (%)	İzolat sayısı (%) (n=159)	P değeri	χ^2
1	<i>sopB</i> (+)	151 (94,9)	3 (1,9)	154 (96,8)	0,008	22,878*
	<i>sopB</i> (-)	3 (1,9)	2 (1,3)	5 (3,1)		
2	<i>pipD</i> (+)	149 (93,7)	3 (1,9)	152 (95,6)	0,016	15,445*
	<i>pipD</i> (-)	5 (3,1)	2 (1,3)	7 (4,4)		
3	<i>sopE</i> (+)	17 (10,7)	2 (1,3)	19 (11,9)	0,109	3,836
	<i>sopE</i> (-)	137 (86,1)	3 (1,9)	140 (88,0)		
4	<i>sifA</i> (+)	147 (92,4)	4 (2,5)	151 (94,9)	0,23	2,405
	<i>sifA</i> (-)	7 (4,4)	1 (0,6)	8 (5,0)		
5	<i>stn</i> (+)	145 (91,2)	4 (2,5)	149 (93,7)	0,28	1,636
	<i>stn</i> (-)	9 (5,6)	1 (0,6)	10 (6,3)		
6	<i>spaN</i> (+)	148 (93,0)	2 (1,3)	150 (94,3)	0,001	28,366*
	<i>spaN</i> (-)	6 (3,8)	3 (1,9)	9 (5,6)		
7	<i>spvC</i> (+)	6 (3,8)	2 (1,3)	8 (5,0)	0,021	13,128*
	<i>spvC</i> (-)	148 (93,0)	3 (1,9)	151 (94,9)		
8	<i>slyA</i> (+)	149 (93,7)	3 (1,9)	152 (95,6)	0,016	15,445*
	<i>slyA</i> (-)	5 (3,1)	2 (1,3)	7 (4,4)		
9	<i>hilA</i> (+)	148 (93,0)	2 (1,3)	150 (94,3)	0,001	28,366*
	<i>hilA</i> (-)	6 (3,8)	3 (1,9)	9 (5,6)		
10	<i>spvR</i> (+)	3 (1,9)	2 (1,3)	5 (3,1)	0,008	22,878*
	<i>spvR</i> (-)	151 (94,9)	3 (1,9)	154 (96,8)		

*İstatistiksel olarak anlamlı

İntegron genlerinin varlığı ile ampisilin ve gentamisin direnci arasında önemli bir ilişki gözlenirken; amoksisilin/klavulanik asit, tetrasiklin, siprofloksasin, trimetoprim/sulfametoksazol, kloramfenikol ve nitrofurantoin direnç arasında anlamlı bir ilişki gözlenmedi (Tablo 21).

Tablo 21. İntegron geni taşıyan ve taşımayan izolatların antibiyotiklere direnç durumları.

No	Direnç profili	İntegron geni taşıyan izolat (%)	İntegron geni taşımayan izolat (%)	Toplam (%) (n=159)	P değeri	χ^2
1	AMP direnç (+)	2 (1,3)	2 (1,3)	4 (2,5)	0,005	29,391*
	AMP direnç (-)	152 (95,6)	3 (1,9)	155 (97,5)		
2	AMC direnç (+)	99 (62,3)	1 (0,6)	100 (62,9)	0,064	4,044
	AMC direnç (-)	55 (34,6)	4 (2,5)	59 (37,1)		
3	CN direnç (+)	3 (1,9)	2 (1,3)	5 (3,1)	0,008	22,878*
	CN direnç (-)	151 (94,9)	3 (1,9)	154 (96,8)		
4	TE direnç (+)	139 (87,4)	3 (1,9)	142 (89,3)	0,089	4,615
	TE direnç (-)	15 (9,4)	2 (1,3)	17 (10,7)		
5	CIP direnç (+)	18 (11,3)	2 (1,3)	20 (12,6)	0,119	3,508
	CIP direnç (-)	136 (85,6)	3 (1,9)	139 (87,4)		
6	SXT direnç (+)	139 (87,4)	3 (1,9)	142 (89,3)	0,089	4,615
	SXT direnç (-)	15 (9,4)	2 (1,3)	17 (10,7)		
7	C direnç (+)	5 (3,1)	1 (0,6)	6 (3,8)	0,177	3,72
	C direnç (-)	149 (93,7)	4 (2,5)	153 (96,2)		
8	F direnç (+)	6 (3,8)	1 (0,6)	7 (4,4)	0,204	2,695
	F direnç (-)	148 (93,0)	4 (2,5)	152 (95,6)		

Çalışma verilerinin toplu sunumu Ek-1’de verilmiştir.

5. TARTIŞMA

Kümes hayvanlarında görülen *Salmonella* enfeksiyonları, tavuk etinin insan tüketimi için önemli bir protein kaynağı olduğu dünya genelinde hem kanatlı endüstrisi hem de halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (EFSA ve ECDC, 2021). *Salmonella* Infantis; ürettiği virülens faktör çeşitliliği ve sürekli yükselen antibiyotik direnç oranlarıyla tedavisi zor ve inatçı enfeksiyonlara sebep olmaktadır. *S. Infantis* izolatlarının neden olduğu enfeksiyonlardaki tedavi başarısızlıkları; bakterinin sahip olduğu antibiyotik direnci, integron ve virülens faktörleri ile ilgili olabilir (Lapierre ve diğerleri, 2020).

Ülkemizde broyler tavuklardan izole edilen *S. Infantis*'in izolasyon oranı %17,7-%82,6 arasında değişmektedir (Abbasoğlu ve Akçelik, 2011; Şahan ve diğerleri, 2016; Acar ve diğerleri, 2017; USKP, 2018; Şahan Yapıcıer ve Öztürk, 2022). Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda ise bu oran %45,9-%95,2 arasında değişmektedir (EFSA ve ECDC, 2021; Igbino ve diğerleri, 2022). Bu çalışmada *S. Infantis* (%62,3), *S. Enteritidis* (%14,1) ve *S. Typhimurium* (%12,2) en yaygın serotipler olarak belirlenmiştir. *S. Infantis*'in tavuklarda asemptomatik taşıyıcı ve çevresel bir kontaminant olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, drag swap örneklerinde *S. Infantis* oranı, diğer serotiplere göre daha yüksek oranda (%47,0) tespit edilmiştir (*S. Enteritidis* için %8,2 ve *S. Typhimurium* için %7,0). Ayrıca, diğer serotiplere göre iç organ örneklerinde (%11,4) ve eklem sıvıları örneklerinde (%3,9) de en sık tespit edilen serotiptir. Bu durum, *S. Infantis*'in genellikle broyler tavuklarda yaygın olarak bulunmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca çalışmada *S. Infantis*'in yüksek oranda belirlenmesi, daha önceki yapılan çalışmalara benzer şekilde bulunmuş olup ülkemizde uygulanan *Salmonella* eradikasyon programlarının yeterince başarılı olmadığını ve bu enfeksiyonların hala ülkemiz için bir sorun olduğunu göstermektedir. *S. Infantis*'in farklı izolasyon oranlarının belirlenmesi; araştırmanın yapıldığı bölgeye, örnekleme metotlarının farklılığına, izolasyonun mevsimine ve izolasyon yöntemlerinin farklı olmasına bağlı olabilir. Ayrıca serovarların prevalansının zamanla değişebileceği ve yerini başka bir serovarin alabileceği unutulmamalıdır.

S. Infantis'in salmonellosis vakalarında etkinliğinin hızlı bir şekilde artmasının yanı sıra son yıllarda dünyanın birçok yerinde insan, hayvan ve kanatlı örneklerinden izole edilen suşlarda MDR'nin ortaya çıkması; *S. Infantis*'in uluslararası alanda da bir halk sağlığı sorunu

olabileceğini göstermektedir (Kaya ve diğerleri, 2017; Bogomazova ve diğerleri, 2020; Kürekci ve diğerleri, 2021; Pardo-Este ve diğerleri, 2021; Diab ve diğerleri, 2023). Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda, broyler tavuklardan izole edilen *S. Infantis* izolatlarının MDR oranları %44,1-%100 arasında değişmektedir (Abbasoğlu ve Akçelik, 2011; Şahan ve diğerleri, 2016; Kaya ve diğerleri, 2017; Acar ve diğerleri, 2017). Bu izolatların genellikle nalidiksik aside, tetrasikline, streptomisine, trimetoprim/sülfametoksazole ve sülfonamidlere yüksek oranlarda direnç gösterdikleri bildirilmiştir (Abbasoğlu ve Akçelik, 2011; Şahan ve diğerleri, 2016; Kaya ve diğerleri, 2017; Kürekci ve diğerleri, 2021). Bu çalışmada ise izolatlar; trimetoprim/sulfametoksazol ve tetrasikline %89,3, amoksisilin/klavulanik asite ise %62,9 oranında yüksek düzeyde dirençli olarak belirlenirken %61,0 oranında MDR'nin belirlenmesi oldukça endişe vericidir. Ülkemizde yapılan çalışmalarla, bu çalışmanın sonuçları benzerlik göstermektedir. İtalya (Franco ve diğerleri, 2015), İsviçre (Hindermann ve diğerleri, 2017), Slovenya (Pate ve diğerleri, 2019), İngiltere (Newton ve diğerleri, 2020) ve Rusya (Bogomazova ve diğerleri, 2020) gibi başta Avrupa ülkeleri olmak üzere Mısır (Ammar ve diğerleri, 2019), İran (Ranjbar ve diğerleri, 2018), İsrail (Gal-Mor ve diğerleri, 2010), Şili (Pardo-Este ve diğerleri, 2021) gibi pekçok ülkede de *S. Infantis* izolatlarının MDR'ye sahip oldukları bildirilmiştir. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda izolatların genellikle; nalidiksik asit, tetrasiklin, trimetoprim/sulfametoksazol ve sülfonamid grubu ilaçlar olmak üzere ampicilin, nitrofurantoin, kanamisin, streptomisin gibi antibiyotiklere de çoklu direnç gösterdikleri bildirilmiştir. Hem dünyada hem de ülkemizde *S. Infantis* izolatlarının benzer antibiyotiklere çoklu dirençli olması; salmonellozis'in tedavisinde bu antibiyotiklerin daha yaygın olarak kullanılmasından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca kanatlı hayvanlarda terapötik ve profilaktik amaçla kullanılan antibiyotiklerdeki farklılıklar nedeniyle izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç fenotipleri ülkeler ve bölgeler arasında farklılık gösterebilir. Antibiyotik dirençli bakterilerin, sahip oldukları direnç genleri besin zinciri yoluyla insanlara da bulaşabileceği için ilaç direncinin ortaya çıkması; *S. Infantis*'in tüm dünyayı ilgilendiren bir halk sağlığı sorunu olabileceğini göstermektedir.

S. Infantis kaynaklı enfeksiyonlarda uygulanan antibakteriyel tedavinin sonuçları, sadece etkenin antibiyotik duyarlılığına değil aynı zamanda integron taşıma ve virülens faktör üretme yeteneklerine de bağlı olabilir. *Salmonella* enfeksiyonları, birçok virülens geni içeren karmaşık bir patogeneze sahiptir. Bu virülens genlerinin çoğu kromozomlar veya virülensle ilişkili plazmitler üzerinde yer almaktadır (Dione ve diğerleri, 2011; Chaudhary ve diğerleri, 2015).

Bu çalışmada *Salmonella* türlerinin patogenezinde görev alan virülens genlerinden; invazyonla ilişkili genler (*hilA*, *sopB*, *sopE*, *spaN*, *sifA*, *pipD*), virülens plazmid genleri (*spvC*, *spvR*) ve toksin kodlayan genler (*stn*, *slyA*) araştırıldı.

Tip III sekresyon sistemi (T3SS)'nin transkripsiyonel ana regülatörü olan *hilA* geninin *S. Infantis* izolatlarında araştırıldığına dair yapılan çalışmalar oldukça azdır. Yapılan bazı çalışmalarda izole edilen tüm *Salmonella* serotiplerinde *hilA* geni pozitif olarak belirlenerek *hilA* geninin *Salmonella* türlerine özgü olduğu ve diğer gram negatif bakterilerde bulunmadığı bildirilmiştir (Pathmanathan ve diğerleri, 2003; Chu ve diğerleri, 2021). Yapılan diğer çalışmalarda ise; *Salmonella* izolatlarında *hilA* oranı %90,0-%94,9 arasında değişmektedir. (Moghadam ve diğerleri; 2022; Diab ve diğerleri, 2023; Lozano-Villegas ve diğerleri, 2023). Yapılan literatür taramalarında ülkemizde kanatlı hayvanlardan izole edilen *Salmonella* türlerinde *hilA* geninin araştırıldığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmamış olsa da süt ve süt ürünlerinden izole edilmiş *Salmonella* suşlarında %100,0 oranında *hilA* pozitif olarak belirlenmiştir (Kanat ve Gülel Terzi, 2022). Bu çalışmada ise yapılan çalışmalara benzer olarak *hilA* geni %94,3 oranında pozitif olarak belirlendi. Ülkemizde bu konuyla ilgili kanatlı hayvan örnekleri üzerinde daha fazla çalışmaların yapılması ve *Salmonella*'nın patogenezi üzerine etkilerinin araştırılması gerekmektedir. İnvazyondan sorumlu olan *sopB*, *sopE*, *sifA*, *pipD* ve *spaN* genleri; *Salmonella* türlerinin virülensi için oldukça önemlidir. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda farklı serotipleri içeren *Salmonella* izolatlarında *sopB* oranı %93,3 ve %93,5 olarak belirlenmiş (Karacan Sever, 2017; Ertunç, 2017), diğer ülkelerde ise bu oranın %94,1-%100 arasında değiştiği bildirilmiştir (Dione ve diğerleri, 2011; Gole ve diğerleri, 2013; Krawiec ve diğerleri, 2015; Lozano-Villegas ve diğerleri, 2023). Bu çalışmada ise *sopB* oranı yapılan diğer çalışmalara benzer olarak %96,8 oranında belirlendi. Konak hücre iskeletinde değişiklik yaparak bakterinin konak hücre içerisine alınmasından ve sıvı sekresyonundan sorumlu olan *sopB*; bu çalışmada yüksek oranda belirlendiği için, bu izolatların oluşturduğu enfeksiyonlar diyareye sebep olabilir. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda, farklı serotipleri içeren *Salmonella* izolatlarında *sopE* oranı %37,7 ve %94,3 olarak belirlenmiş (Karacan Sever, 2017; Ertunç, 2017), diğer ülkelerde ise bu oranın %33,0-%94,1 arasında değiştiği bildirilmiştir (Dione ve diğerleri, 2011; El-Sharkawy ve diğerleri, 2017; Lozano-Villegas ve diğerleri, 2023). Yapılan bir çalışmada *sopE*'nin; enfeksiyonun sistemik fazında rol alarak *sopE* geni taşıyan suşların zoonotik potansiyele sahip olabileceği ve halk sağlığı açısından önemli olduğu bildirilmiştir (El-Sharkawy ve diğerleri, 2017). Bu çalışmada ise *sopE* geninin izolasyon oranı,

yapılan diğer çalışmalardan daha düşük oranda (%11,9) belirlenmiştir. Farklı *S. Infantis* izolatları arasındaki genetik farklılıklar, virülens genlerinin varlığı veya yokluğundaki farklılıklara yol açabilir. *SopE* geniyle ilgili yapılan çalışmaların ülkemizde sınırlı sayıda olması, tespit edilme oranının değişkenlik göstermesi ve bu geni taşıyan izolatların zoonotik potansiyele sahip olması nedeniyle bu konu hakkında daha fazla çalışmaların yapılarak *sopE* geninin ülkemizde bulunan suşlardaki sıklığı araştırılabilir. Ayrıca çalışmamızda düşük de olsa *S. Infantis* izolatlarında *sopE* geninin tespit edilmesi, bu geni taşıyan izolatların zoonotik potansiyele sahip olabileceği ve halk sağlığı için tehdit oluşturabileceği şeklinde yorumlanabilir. *SifA* geni, *Salmonella* türlerinin konak hücrelere girişi ve replikasyonu için gereken moleküler mekanizmaları düzenlemektedir. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda farklı serotipleri içeren *Salmonella* izolatlarında *sifA* oranı %31,1 ve %90,5 olarak belirlenmiş (Karacan Sever, 2017; Ertunç, 2017), diğer ülkelerde ise bu oranın %70,1-%100 arasında değiştiği bildirilmiştir (Gole ve diğerleri, 2013; Krawiec ve diğerleri, 2015; Lamas ve diğerleri, 2016; Lozano-Villegas ve diğerleri, 2023). *SpaN* geni, bakterinin fagositoz yapmayan hücrelere girişini kolaylaştırır ve makrofajlarda apoptozis yoluyla hücre içi invazyona olanak sağlar. *Salmonella* türlerinde *spaN* geni ile ilgili yapılan çalışmalar fazla bulunmamakla birlikte, broyler tavuklardan izole edilen farklı serotipleri içeren *Salmonella* izolatlarında izolasyon oranı %53,7 ve %79,6 olarak bildirilmiştir (Lamas ve diğerleri, 2016; Lozano-Villegas ve diğerleri, 2023). Lamas ve diğerleri (2016), *S. arizonae* ve *S. diarizonae* izolatlarında *sifA* ve *spaN*'nin negatif olduğunu belirtilerek *S. enterica* subspecies *enterica* dışındaki *Salmonella* serotiplerinin daha düşük virülense sahip olabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise *sifA* ve *spaN* oranı sırasıyla %94,9 ve %94,3 olarak yüksek oranda belirlenmesi, bu izolatların daha bulaşıcı ve daha yüksek virülense sahip olabileceğini, insanlarda daha ciddi ve yaygın enfeksiyonlara neden olma riskini artırdığını düşündürmektedir. *PipD* geni, bakterinin enteritise yol açma etkisini artırır ve konak hücrelerde hayatta kalmalarını sağlayarak yayılma süreçlerini kolaylaştırır (Dione ve diğerleri, 2011). Ülkemizde *pipD* geni ile ilgili yapılan çalışmalar fazla bulunmamakla birlikte, yapılan bir çalışmada kanatlı orijinli 45 *Salmonella* izolatının %95,5'inde *pipD* pozitif olarak belirlenmiştir (Ertunç, 2017). Bazı ülkelerde yapılan çalışmalarda ise *Salmonella* izolatlarında *pipD* oranı %92,4 ve %100 olarak belirlenmiştir (Dione ve diğerleri, 2011; Penha Filho ve diğerleri, 2023). Bu çalışmada ise *pipD* oranı yapılan diğer çalışmalara benzer olarak %95,6 oranında belirlenmiştir ve bu izolatların oluşturduğu enfeksiyonların başlıca bulgusu, enterit olabilir.

Araştırmalara göre; *Salmonella* enterotoksini ve salmolizin ekzotoksinlerinin sırasıyla *stn* ve *slyA* genleri tarafından kodlandığı bildirilmiştir. Araştırmacılar tarafından *stn* geninin ishale sebep olarak akut gastroenteritlerle ilişkili olduğu, *Salmonella* suşlarına özgü sekans içerdiği ve bu genin saha numunelerinde *Salmonella* suşlarının saptanması için uygun bir hedef haline geldiği bildirilmiştir (Fekry ve diğerleri, 2018). Çeşitli ülkelerde *stn* geni, farklı kaynaklardan izole edilen birçok *Salmonella* serotipinde araştırılmış ve genellikle %100,0 olmak üzere %58,8-%100,0 oranında pozitif olarak tespit edilmiştir (Zou ve diğerleri, 2012; Chaudhary ve diğerleri, 2015; Ammar ve diğerleri, 2016; Diab ve diğerleri, 2023). Zou ve diğerleri (2012), bu geni taşıyan suşların insanlarda ciddi enfeksiyonlara neden olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan literatür taramalarında ülkemizde kanatlı hayvanlardan izole edilen *Salmonella* türlerinde *stn* geninin araştırıldığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmamış olsa da süt ve süt ürünlerinden izole edilmiş *Salmonella* suşlarında %55,5 oranında *stn* pozitif olarak belirlenmiştir (Kanat ve Gülel Terzi, 2022). Ülkemizde bu konu hakkında daha fazla çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada ise *stn* geninin yüksek prevalansı (%93,7), bu izolatların ciddi gastrointestinal enfeksiyonlara ve şiddetli hastalık belirtilerine neden olma potansiyeline sahip olabileceği konusunda endişeleri artırmaktadır. *SlyA* geninin, ekstraintestinal sistemik enfeksiyonlardan sorumlu ekzotoksinlerin üretiminde rol oynadığı bildirilmiştir (Jajere, 2019). Yapılan bir çalışmada, broyler altlıklarından izole edilen farklı serotipleri içeren 67 *Salmonella* izolatında %85,1 (*S. Infantis* için %100,0) oranında *slyA* geni pozitif olarak belirlenmiştir (Lamas ve diğerleri, 2016). Başka bir çalışmada ise, çoğu broyler tavuklardan oluşan çeşitli hayvansal kaynaklardan izole edilen 43 *Salmonella* izolatında *slyA* geninin %100,0 olarak tespit edildiği bildirilmiştir (Monte ve diğerleri, 2019). Ülkemizde kanatlı hayvanlardan izole edilen *Salmonella* türlerinde *slyA* geninin araştırıldığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmadı. Bu çalışmada ise izolatların %95,6'sında *slyA* pozitif olarak belirlenerek yapılan diğer çalışmalara benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu konu hakkında daha fazla çalışmaların yapılması ile, *slyA* geninin ülkemizde bulunan suşlardaki sıklığı araştırılabilir. Ayrıca çalışmamızdaki *S. Infantis* izolatlarında *slyA* geninin yüksek prevalansı, bu izolatların daha agresif ve virulent olma potansiyeline sahip olabileceğini, insanlarda daha ciddi enfeksiyonlara neden olabileceğini düşündürmektedir.

Salmonella türlerinin sahip olduğu virülens plazmidleri, önemli virülens genlerine taşıyıcılık yaparlar. Virülens plazmidi taşıyan *Salmonella* suşlarının insanlarda ve hayvanlarda sistemik enfeksiyonlara sebep olduğu, taşımayan suşların ise lokal veya asemptomatik

enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Figueiredo ve diğerleri, 2015; Diab ve diğerleri, 2023). Ayrıca virülens plazmitlerinin; kan izolatlarında (%76,0) dışkı izolatlarına (%42,0) göre daha yaygın olarak belirlendiği bildirilerek, *spv*'nin septisemi gibi geç enfeksiyonlarda rol oynadığı belirlenmiştir (Fierer ve diğerleri, 1992). İspanya'da yapılan bir çalışmada, broyler altlıklarından izole edilen farklı serotipleri içeren 67 *Salmonella* izolatında *spvC* geni %44,7 oranında pozitif olarak belirlenmiş fakat 6 adet *S. Infantis* izolatının hiçbirinde *spvC* geni belirlenmemiştir (Lamas ve diğerleri, 2016). Diab ve diğerleri (2023) tarafından yapılan bir çalışmada ise farklı serotipleri içeren 36 *Salmonella* izolatında *spvC* geni %30,5 oranında (*S. Infantis* için %25) pozitif olarak belirlenmiştir. Colombia'da yapılan başka bir çalışmada ise insan ve hayvan kaynaklı farklı serotiplerden oluşan *Salmonella* izolatlarında *spvR* ve *spvC* oranları sırasıyla %61,2 ve %19,3 olarak belirlenmiştir (Petano-Duque ve diğerleri, 2023). Ülkemizde kanatlı orijinli *S. Infantis* izolatlarında *spvC* ve *spvR* genlerinin birlikte araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanılmadı. Yapılan bir çalışmada farklı yetiştirme tipine sahip kanatlı kümeslerindeki altlık, toz, çevresel kaynaklardan, kesimhane karkas örneklerinden, kemirici istasyonlarından izole edilen *S. Infantis* izolatlarının %8,9'unda *spvC* pozitif olarak belirlenmiştir (Karacan Sever, 2017). Bu çalışmada ise *S. Infantis* izolatlarında *spvC* ve *spvR* genlerinin sırasıyla %5,0 ve %3,1 olarak düşük oranlarda belirlenmesi; bu izolatların, plazmidle ilişkili gen ekspresyon potansiyelinin daha düşük olabileceğini ve bu durumun daha hafif klinik sonuçlarla ilişkili enfeksiyonlara sebep olma potansiyeline sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulguları doğrulamak ve gen ekspresyonu ile klinik sonuçlar arasında kesin bir ilişki kurmak için daha fazla çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Plazmitlerde, kromozomlarda veya transpozonlarda bulunabilen integronlar; direnç genlerinin türler arasında ya da tür içinde transferini sağlar. Sınıf 1 ve sınıf 2 integronlar; MDR'nin ortaya çıkmasında ve yayılmasında anahtar rol oynamaktadır. İntegronlar, birden fazla antibiyotik direnç gen kasetini yapısında bulundurabilmeleri nedeniyle antimikrobiyal direnç çalışmalarının odak noktası haline gelmiştir (Deng ve diğerleri, 2015). İran'da tavuk örneklerinden izole edilen *S. Infantis* izolatlarının %36,0'sının *int1*, %42,0'sinin *int2*, %22,0'sinin ise hem *int1* hem de *int2* taşıdığı bildirilmiştir. MDR'ye sahip izolatlarda integronlar yüksek oranda belirlenmiştir (Asgharpour ve diğerleri, 2018). İran'da yapılan başka bir çalışmada, broyler çiftliklerinden izole edilen 27 *S. Infantis* izolatının %100,0'ünde *int1*, %63,0'ünde *int2* pozitif olarak belirlenmiştir. Tüm *S. Infantis* izolatlarında sülfonamid direnci belirlenerek bu direncin *int1* tarafından bakteriyeye kazandırıldığı bildirilmiştir (Rahmani ve

diğerleri, 2013). İtalya’da yapılan bir çalışmada ise, farklı kaynaklardan izole edilen 70 *S. Infantis* izolatının %45,7’sinde *int1* pozitif olarak belirlenerek bu integronun trimetoprim, kloramfenikol, streptomisin ve sülfonamid direncini sağlayan gen kasetlerini taşıdığı bildirilmiştir (Dionisi ve diğerleri, 2011). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, broyler altlık materyallerinden izole edilen 38 adet *S. Infantis* izolatının %71,0’inin *int1*, %44,7’sinin *int2*, %39,5’inin ise hem *int1* hem de *int2* taşıdığı bildirilmiştir. Bu integronları taşıyan izolatların, tetrasikline yüksek oranda dirençli oldukları belirlenmiştir (Şahan Yapıcıer ve Öztürk, 2022). Yapılan başka bir çalışmada ise; broyler tavuk dışkılarından izole edilen *S. Infantis* izolatlarında *int1* %100,0 olarak tespit edilerek bu suşların potansiyel direnç alıcı haline gelmesi bakımından önemli olduğu bildirilmiştir (Kaya ve diğerleri, 2017). Bu çalışmada ise; *S. Infantis* izolatlarının %94,3’ünün *int1*, %79,2’sinin *int2*, %76,7’sinin hem *int1* hem de *int2* taşıyor olması yapılan diğer çalışmalara benzer şekilde bulunmuş olup yüksek oranlarda belirlenmesi direnç gelişimi açısından oldukça endişe vericidir. Ayrıca *int2* prevalansının *int1*’den düşük olması; Şahan Yapıcıer ve Öztürk (2022) tarafından yapılan çalışmayla da benzerlik göstermektedir. Ülkemizdeki *S. Infantis* izolatlarında belirlenen integron genlerinin yüksek varlığı, bakterilerde antibiyotik direncinin daha fazla yayılmasına yol açabilir ve böylece bu tür enfeksiyonların tedavisini daha zor hale getirebilir. Bu durum, antibiyotik tedavisinin etkinliğini azaltabilir, enfeksiyonların kontrolünü ve tedavisini karmaşık bir hale getirerek ciddi bir halk sağlığı sorunu oluşturabilir.

Bu çalışmada MDR’ye sahip izolatların %96,9’u (94/97), NMDR izolatların ise %96,8’inin (60/62) integron taşıdığı belirlendi. İntegron varlığı ile MDR arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmedi. NMDR izolatların da yüksek oranda integron taşıyor olması; direnç kaseti taşımayan boş integronların olabileceğinin göstergesi olabilir ve bu bakteriler gelecekte kendilerini hızla çoklu dirençli suşlara dönüştürme potansiyeline sahip olabilir. Benzer sonuçlar daha önce yapılmış çalışmalarda da elde edilmiştir (Lapierre ve diğerleri, 2008; Eftekhari ve diğerleri, 2013). İntegronlar, bakteriler arasında gen transferi yoluyla yayılmaktadır. Dolayısıyla, başlangıçta çoklu antibiyotik direncine sahip olmayan *S. Infantis* izolatlarının çevrelerindeki dirençli bakterilerle teması sonucu, direnç genlerini alarak daha sonradan çoklu antibiyotik direnci kazandıkları düşünülebilir. İntegronların varlığı, direnç genlerini içeren bakterilerin doğal seçim ve çevresel baskılara karşı popülasyon içinde avantajlı hale gelmesine ve yayılmasına neden olabilir. Bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda, benzer integron taşıma potansiyeline sahip MDR ve NMDR *S. Infantis*

izolatlarının detaylı genetik analizlerinin yapılması, popülasyon yapılarının daha iyi anlaşılması açısından gerekebilir.

Çalışmamızda ayrıca, virülens gen varlığı ile MDR arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmedi. Yapılan bazı çalışmalarda; *Salmonella* türlerinde artan antibiyotik direncinin, patojenin virülens potansiyelini arttırdığı bildirilmiştir (Higgins ve diğerleri, 2020). Bu çalışmada çoklu dirence sahip olmayan izolatların da virülens genlere yüksek oranda sahip olması, bu izolatların patojenitesinin yüksek olabileceğini gösterebileceğinden, tavuk endüstrisi ile halk sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda, *S. Infantis* izolatlarında integron gen varlığı ile bazı virülens genlerinin (*sopB*, *pipD*, *spaN*, *spvC*, *slyA*, *hilA*, *spvR*) taşınma potansiyeli arasında, daha önce yapılmış çalışmalara paralel bir şekilde (Higgins ve diğerleri, 2020), istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Bu durumda integron genlerinin varlığı, bazı virülens genlerinin taşınma potansiyelini artırarak, virülens faktörlerinin yayılmasına katkıda bulunmuş olabilir. Ya da integronların varlığı, farklı genleri aynı transfer mekanizmalarıyla taşıyarak, bu virülens genlerinin taşınma potansiyelini artırmış olabilir. Bu durumda, bu virülens genlerine sahip *S. Infantis* izolatları, rekabetçi bir üstünlük kazanabilir ve daha yaygın hale gelebilir. İntegronların varlığı, virülens genlerinin transferini kolaylaştırarak bu avantajı artırabilir. İntegronlar, virülens genlerinin yer aldığı genetik çevrelerde bulunabilir. Bu nedenle, belirli virülens genlerinin integronlarla daha sık ilişkilendirilmesi muhtemel olabilir ve bu ilişki, integron varlığı ile bu virülens genlerinin potansiyel transferi arasında bir ilişkiyi gösterebilir. İntegronların ve virülens genlerinin taşınma potansiyeli arasındaki ilişkiyi anlamak, antibiyotik direnci ve enfeksiyonların kontrolü için önemli bir adım olabilir.

Bu çalışmada integron genlerinin varlığı ile gentamisin ve ampisilin direnci arasında önemli bir ilişki mevcuttu. Yapılan çalışmalarda *Salmonella* türlerinde aminoglikozid ve betalaktam grubu antibiyotiklere direnç sağlayan gen kasetlerinin genellikle *int1* ve *int2* üzerinde yer aldığı bildirilmiştir (Abbasoğlu, 2009). Bu nedenle; gentamisine ve ampisiline direnç sağlayan gen kasetleri, bu integronlarda taşınıyor olabilir ve bu antibiyotiklere karşı gelişen direnç, integronlar tarafından bakterilere kazandırılmış olabilir. *S. Infantis* izolatlarında integron gen varlığı ile gentamisin ve ampisilin gibi antibiyotiklere direnç arasında gözlenen anlamlı ilişki, direnç genlerinin mobilite ve yayılımı üzerindeki etkileri açısından önemlidir. Antibiyotiklere dirençli bakterilerin yayılmasını önlemek için integronların rolü ve etkisi daha fazla çalışılmalı ve kontrol önlemleri düşünülmelidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, broyler tavuklardan elde edilen *S. Infantis* izolatları üzerinde gerçekleştirilen kapsamlı bir analiz sonucunda, mikroorganizmanın antimikrobiyal direnç, virülens gen profili ve integron yapılarının detaylı bir şekilde ortaya konulması amaçlanmıştır.

Çalışmada, broyler tavuk kaynaklı örneklerden yüksek oranda *S. Infantis* izolatu elde edilmiştir. Bu bulgu, işletmelerde *Salmonella* enfeksiyonlarının tamamen ortadan kaldırılması için *Salmonella* eradikasyon programlarına daha fazla önem verilmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

Elde edilen sonuçlar, *S. Infantis*'in giderek artan antibiyotik direnç oranlarıyla karşılaşılan zorlu enfeksiyon durumlarını daha karmaşık hale getiren çeşitli virülens faktörlerini içerdiğini göstermektedir. *S. Infantis* izolatlarının çoğunda *sopB*, *pipD*, *sifA*, *stn*, *spaN*, *slyA* ve *hilA* gibi virülens genleri yüksek oranda bulunmuştur. Diğer virülens genleri (*sopE*, *spvC*, *spvR*) ise daha düşük oranlarda tespit edilmiştir. Bu durum, mikroorganizmanın hastalık oluşturma potansiyeli açısından değerlendirilebilecek önemli bir göstergedir.

S. Infantis izolatları, yüksek oranda antimikrobiyal direnç göstermiş ve özellikle izolatlarda trimetoprim-sülfametoksazol, tetrasiklin ve amoksisilin-klavulanik asit gibi önemli antibiyotiklere karşı direnç profili varlığı saptanmıştır. Bu direnç profili, *S. Infantis* suşlarının güncel antimikrobiyal tedavilere karşı sınırlı etkinliğe sahip olabileceği endişesini ortaya koymaktadır.

Çalışmada incelenen *S. Infantis* izolatlarının %61,0'i çoklu ilaç direnci sergilemiştir. *S. Infantis* izolatlarının genel özellikleri incelendiğinde, çoklu ilaç direnci olgularının belirgin bir yüzdesini oluşturdukları ve bu dirençlerin büyük bir kısmının (%58,5) integron yapılarına bağlı olduğu gözlemlenmiştir.

Az sayıda *S. Infantis* izolatının, gentamisin ve ampisilin gibi önemli antibiyotiklere karşı direnç göstermiş olması genel olarak olumlu bir bulgu olabilir. Ancak, bu direnç durumları dikkate alınmalı ve izlenmelidir, çünkü antimikrobiyal direnç profili zaman içinde değişebilir.

Az sayıda direnç gösteren izolatlar, antimikrobiyal tedavi seçeneklerinin hala etkili olabileceğini gösterir, ancak bu durumun sürdürülebilirliği ve yayılma potansiyeli izlenmelidir.

Antibiyotik direncinin artış gösterdiği günümüzde, *S. Infantis*'in bu dirence olan eğilimini ortaya çıkarmak, gelecekteki antibiyotik stratejilerinin belirlenmesi açısından kritik

önem taşımaktadır. Özellikle, antimikrobiyal dirençle mücadele ve enfeksiyon kontrolüne yönelik gelecekteki veteriner stratejilerinin belirlenmesine katkı sağlayabilir.

Bu çalışma, *S. Infantis* izolatlarının genetik özellikleri ve direnç profilleri üzerine yapılan analizlerle, *Salmonella* enfeksiyonlarının kontrolüne dair önemli bir temel oluşturmaktadır. Bu bilgiler, tavuk çiftliklerinde ve gıda güvenliği süreçlerinde daha etkili önlemler alınmasına ve halk sağlığının korunmasına katkı sağlayabilir.

Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen bulgular hem akademisyenler, hem veteriner hekimler hem de sağlık çalışanları için önemli bilgiler sunmakta ve gelecekteki çalışmalar ve stratejiler için temel oluşturabilecek değerli bilgiler içermektedir. Bu çalışmanın elde edilen bulgular ışığında aşağıdaki noktalara dikkat edilmesi önerilmektedir:

Antibiyotik Kullanımının Düzenlenmesi: Veteriner hekimlik uygulamalarında ve tavuk yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımının sıkı bir şekilde düzenlenmesi, özellikle MDR *S. Infantis* izolatlarının yayılmasını sınırlayabilir.

İntegron Yapılarının İzlenmesi ve Kontrolü: İntegron yapılarının izlenmesi ve yayılmasını engellemeye yönelik stratejilerin geliştirilmesi, antimikrobiyal direnç profilinin kontrol altına alınmasına yardımcı olabilir.

Veteriner Sağlık Hizmetlerinin Güçlendirilmesi: Hayvan sağlığı ve zoonotik hastalıkların kontrolü açısından kritiktir.

Biyokontrol Stratejilerinin Uygulanması: *S. Infantis* kontaminasyonunun azaltılmasında, faj karakterizasyonunun ve tiplendirilmesinin yapılarak etkili bakteriyofajların seçilerek biyokontrol ajanı olarak kullanılması denenebilir.

Aşı Geliştirme Çalışmaları: Yüksek virülens gen profiline sahip *S. Infantis* izolatlarına karşı etkili aşılarda geliştirme çalışmaları önemlidir.

Çevresel Kontaminasyonun İzlenmesi: Antibiyotik kullanımının çevresel etkilerini kontrol altına almak ve çevresel kontaminasyonu izlemek, genel sağlık stratejilerinin bir parçası olmalıdır.

Bu önerilere uyulması, *S. Infantis* kaynaklı enfeksiyonların kontrol altına alınması ve antimikrobiyal dirençle mücadelede etkili bir strateji oluşturulması açısından önemli bir adım olacaktır. Ayrıca, ileriki çalışmalarda diğer virülens genlerinin ve veteriner sahada sıklıkla kullanılan diğer antibiyotiklerin de çalışmalara dahil edilerek daha geniş kapsamlı araştırmalar yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbasoğlu, D. (2009). *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar *Infantis* suşlarında çoklu ilaç dirençliliğinin genetik doğası. *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Abbasoğlu, D. ve Akçelik, M. (2011). Phenotypic and genetic characterization of multidrug resistant *Salmonella* *Infantis* strains isolated from broiler chicken meats in Turkey. *Biologia*, 66(3), 406-410. doi:10.2478/s11756-011-0051-0
- Abdelgwad, E.S., Abdel-Fattah, M., Mohamed, M.H., Abdel-Atty, N.S. (2022). Genetic virulence of biofilm forming *Salmonella* recovered from chicken sausages and nuggets. *Malaysian Journal of Microbiology*, 18(4), 437-445. doi: <http://dx.doi.org/10.21161/mjm.221486>
- Acar, S., Bulut, E., Durul, B., Uner, I., Kur, M., Avsaroglu, M.D., ... Soyer, Y. (2017). Phenotyping and genetic characterization of *Salmonella enterica* isolates from Turkey revealing arise of different features specific to geography. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 98-107. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.031
- Agbaje, M., Begum, R.H., Oyekunle, M.A., Ojo, O.E., Adenubi, O.T. (2011). Evolution of *Salmonella* nomenclature: a critical note. *Folia Microbiologica*, 56(6), 497-503. doi:10.1007/s12223-011-0075-4
- Alcaine, S.D., Warnick, L.D., Wiedmann, M. (2007). Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella*. *Journal of Food Protection*, 70(3), 780-790. doi: 10.4315/0362-028x-70.3.780
- Ammar, A.M., Mohamed, A.A., El-Hamid, M.I.A., El-Azzouny, M.M. (2016). Virulence genotypes of clinical *Salmonella* serovars from broilers in Egypt. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 10(4), 337-346. doi:10.1186/s12917-019-1867-z
- Ammar, A.M., Abdeen, E.E., Abo-Shama, U.H., Fekry, E., Elmahallawy, E.K. (2019). Molecular characterization of virulence and antibiotic resistance genes among *Salmonella* serovars isolated from broilers in Egypt. *Letters in Applied Microbiology*, 68(2), 188-195. doi:10.1038/srep38929

- Anderesson, M.D. (2016). *6X DNA Loading Dye*.
<https://geneaid.com/data/files/1605769408853540636.pdf> adresinden erişildi.
- Andrews, W.H., Wang, H., Jacobson, A., Ge, B., Zhang, G., Hammack, T. (2023). Bacteriological Analytical Manual. W.H. Andrews, A. Jacobson (Eds.), *Chapter 5: Salmonella* (pp. 5-31) USA: US Food & Drug Administration.
- Arda, M. (2021a). *Plasmid ve epizomlar*. *Mikrobiyoloji org*.
www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFAAF6AA849816B2EF2D88412156A07E5B adresinden erişildi.
- Arda, M. (2021b). *Yer değiştirebilen genetik elementler*. *Mikrobiyoloji org*.
<http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFAAF6AA849816B2EF19ACA6182CE79FED> adresinden erişildi.
- Asgharpour, F., Marashi, S.M.A., Moulana, Z. (2018). Molecular detection of class 1, 2 and 3 integrons and some antimicrobial resistance genes in *Salmonella* Infantis isolates. *Iranian Journal of Microbiology*, 10(2), 104-110.
- Aviv, G., Rahav, G., Gal-Mor, O. (2016). Horizontal transfer of the *Salmonella enterica* serovar *Infantis* resistance and virulence plasmid pESI to the gut microbiota of warm blooded hosts. *mBio*, 7(5):e01395-16. doi:10.1128/mBio.01395-16
- Barrow, P.A., Jones, M.A., Thomson, N. (2010). *Salmonella*. C.L. Gyles, J.F. Presscott, G. Songer, C.O. Thoen (Eds.), *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. (pp. 231-265). USA: Iowa.
- Bass, L., Liebert, C.A., Lee, M.D., Summers, A.O., White, D.G., Thayer, S.G., Maurer, J.J. (1999). Incidence and characterization of integrons, genetic elements mediating multiple drug resistance in avian *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(12), 2925-2929. doi:10.1128/AAC.43.12.2925
- Bekar, M. (1997). *Enterobacteriaceae* Familyası Mikroorganizmaların Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri (Yayın no. 97-1). Ankara: Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü.
- Bell, C. ve Kyriakides, A. (2003). *Salmonella*. C. Bell, A. Kyriakides (Eds.), *A practical approach to the organism and its control in foods*. (pp. 1-25). United Kingdom: Blackwell Science.

- Blondel, C.J., Jiménez, J.C., Contreras, I., Santiviago, C.A. (2009). Comparative genomic analysis uncovers 3 novel loci encoding type six secretion systems differentially distributed in *Salmonella* serotypes. *BMC Genomics*, 10(1), 354. doi:10.1186/1471-2164-10-354
- Bogomazova, A.N., Gordeeva, V.D., Krylova, E.V., Soltynskaya, I.V., Davydova, E.E., Ivanova, O.E., ... Komarov, A.A. (2020). Mega plasmid found worldwide confers multiple antimicrobial resistance in *Salmonella* Infantis of broiler origin in Russia. *International Journal of Food Microbiology*, 319(6), 108497. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108497
- Cardona-Castro, N., Restrepo-Pineda, E., Correa-Ochoa, M. (2002). Detection of *hilA* gene sequences in serovars of *Salmonella enterica* subspecies *Enterica*. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(8), 1153-1156. doi:10.1590/S0074-02762002000800016
- Chaudhary, J.H., Nayak, J.B., Brahmhatt, M.N., Makwana, P.P. (2015). Virulence genes detection of *Salmonella* serovars isolated from pork and slaughterhouse environment in Ahmedabad, Gujarat. *Veterinary World*, 8(1), 121-124. doi:10.14202/vetworld.2015.121-124
- Chu, J., Shin, J., Kang, S., Shin, S., Chung, Y.J. (2021). Rapid and sensitive detection of *Salmonella* species targeting the *hilA* gene using a loop mediated isothermal amplification assay. *Genomics & Informatics*, 19(3):e30. doi:10.5808/gi.21048
- Clayton, D.J., Bowen, A.J., Hulme, S.D., Buckley, A.M., Deacon, V.L., Thomson, N.R., ... Stevens, M.P. (2008). 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*, 8(1), 228. doi:10.1186/1471-2180-8-228.
- Cortez, A.L.L., Carvalho, A.C.F.B., Ikuno, A.A., Burger, K.P., Vidal-Martins, A.M.C. (2006). Identification of *Salmonella* spp. isolates from chicken abattoirs by multiplex-PCR. *Research in Veterinary Science*, 81(3), 340-344. doi:10.1016/j.rvsc.2006.03.006
- Crowley D, Cryan B, Lucey B. (2008). First detection of a class 2 integron among clinical isolates of *Serratia marcescens*. *British Journal of Biomedical Sciences*, 65(2), 86-99.
- Cytographica. (2007). 6X DNA loading dye-10 ml. <https://www.cytographica.com/lab/solutions/loadingdye.htm> adresinden erişildi.
- Çarlı, K.T., Eyigör, A., Goncagül, G., Günaydın, E. (2004). *Salmonella* standart ve ileri tanı yöntemleri, İstanbul, Avimedica Yayınları.

- De Buck, J., Van Immerseel, F., Haesebrouck, F., Ducatelle, R. (2005). Protection of laying hens against *Salmonella* Enteritidis by immunization with type 1 fimbriae. *Veterinary Microbiology*, 105(2), 93-101. doi:10.1016/j.vetmic.2004.10.008
- De Freitas, C.G., Santana, A.P., da Silva, P.H.C., Gonçalves, V.S.P., Barros, M.A.F., Torres, F.A.G., ... Perecmanis, S. (2010). PCR multiplex for detection of *Salmonella* Enteritidis, Typhi and Typhimurium and occurrence in poultry meat. *International Journal of Food Microbiology*, 139(1-2), 15-22. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.007
- Deng, Y., Bao, X., Ji, L., Chen, L., Liu, J., Miao, J., ... Yu, G. (2015). Resistance integrons: class 1, 2 and 3 integrons. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 45(14), 1-11. doi:10.1186/s12941-015-0100-6
- Diab, M.S., Thabet, A.S., Elsalam, M.A., Ewida, R.M., Sotohy, A.S. (2023). Detection of virulence and β -lactamase resistance genes of non-typhoidal *Salmonella* isolates from human and animal origin in Egypt "one health concern". *Gut Pathogens*, 15(16), 1-9.
- Diker, K.S. (2005). *İmmunoloji*. K.S. Diker (Ed.), (2. bs., ss. 125-137). Ankara: Medisan Yayın Evi.
- Dione, M.M., Ikumapayi, U., Saha, D., Mohammed, N.I., Adegbola, R.A., Geerts, S., ... Antonio, M. (2011). Antimicrobial resistance and virulence genes of nontyphoidal *Salmonella* isolates in The Gambia and Senegal. *Journal of Infection in Developing Countries*, 5(11), 765-775. doi:10.3855/jidc.1512
- Dionisi, A.M., Lucarelli, C., Benedetti, I., Owczarek, S., Luzzi, I. (2011). Molecular characterisation of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype *Infantis* from humans, animals and the environment in Italy. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(5), 384-389.
- Dudek, B., Ksiazczyk, M., Krzyzewska, E., Rogala, K., Kuczkowski, M., Wozniak-Bie, A., ... Bugla-Ploskonska, G. (2019). Comparison of the phylogenetic analysis of PFGE profiles and the characteristic of virulence genes in clinical and reptile associated *Salmonella* strains. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 312. doi:10.1186/s12917-019-2019-1
- Dzidik, S., Suskovic, J., Kos, B. (2008). Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. *Food Technology and Biotechnology*, 46(1), 11-21.
- Edwards, U., Rogall, T., Blöcker, H., Emde, M., Böttger, E.C. (1989). Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Research*, 17(19), 7843-7853.

- Eftekhari, N., Bakhshi, B., Pourshafie, M.R., Zarbakhsh, R.M., Hajia, M., Ghazvini, K. (2013). Genetic diversity of *Shigella* spp. and their integron content. *Foodborne Pathogens and Disease*, 10(3), 237-242. doi: 10.1089/fpd.2012.1250
- El-Sharkawy, H., Tahoun, A., El-Gohary, A.A., El Abasy, M., El Khayat, F., Gillespie, T., ... El Adawy H. (2017). Epidemiological, molecular characterization and antibiotic resistance of *Salmonella enterica* serovars isolated from chicken farms in Egypt. *Gut Pathogens*, 9(1), 8. doi:10.1186/s13099-017-0157-1
- Ertunç, E. (2017). *İzmir, Manisa ve Uşak illerindeki kanatlılardan elde edilen Salmonella izolatlarında virülans faktörlerinin, antimikrobiyal ve dezenfektan duyarlılıklarının ve klonal yakınlığının araştırılması*. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- European Centre for Disease Prevention and Control [ECDC]. (2009). *Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe*. European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, Sweden.
- European Food Safety Authority [EFSA]. (2013). The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2011. *EFSA Journal*, 11(1), 3196.
- European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control [EFSA and ECDC]. (2021). The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 19(2), 6406, 286.
- Euzeby, J.P. (1999). Revised *Salmonella* nomenclature : designation of *Salmonella enterica* (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987 sp. nov., nom. rev. as the neotype species of the genus *Salmonella* Lignieres 1900 (Approved Lists 1980), rejection of the name *Salmonella choleraesuis* (Smith 1894) Weldin 1927 (Approved Lists 1980), and conservation of the name *Salmonella typhi* (Schroeter 1886) Warren and Scott 1930 (Approved Lists 1980). Request for an Opinion. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49(2), 927-930.
- Fekry, E., Eman-abdeen, E., Ammar, A.M., Hussien, A. (2018). Molecular detection of *invA*, *ompA* and *stn* genes in *Salmonella* serovars from broilers in Egypt. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 56(1), 69-74. doi:10.5455/ajvs.288089

- Fierer, J., Krause, M., Tauxe, R., Guiney, D. (1992). *Salmonella typhimurium* bacteremia: association with the virulence plasmid. *Journal of Infectious Diseases*, 166(3), 639-642. doi:10.1093/infdis/166.3.639
- Figueiredo, R., Card, R., Nunes, C., AbuOun, M., Bagnall, M.C., Nunez, J., ... Jorge da Silva, G. (2015). Virulence characterization of *Salmonella enterica* by a new microarray: Detection and evaluation of the cytolethal distending toxin gene activity in the unusual host *S. Typhimurium*. *Plos one*, 10(8), 1-14. doi:10.1371/journal.pone.0135010
- Foley, S.L. ve Lynne, A.M. (2008). Food animal associated *Salmonella* challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. *Journal of Animal Science*, 86(14), 173-187. doi:10.2527/jas.2007-0447
- Franco, A., Leekitcharoenphon, P., Feltrin, F., Alba, P., Cordaro, G., Iurescia, M., ... Battisti A. (2015). Emergence of a clonal lineage of multidrug-resistant ESBL-producing *Salmonella* *Infantis* transmitted from broilers and broiler meat to humans in Italy between 2011 and 2014. *PloS One*, 10(12):e0144802. doi.org/10.1371/journal.pone.0144802
- Gal-Mor, O., Valinsky, L., Weinberger, M., Guy, S., Jaffe, J., Schorr, Y.I., ... Nissan, I. (2010). Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar *Infantis*, Israel. *Emerging Infectious Diseases*, 16(11):1754. doi:10.3201/eid1611.100100
- Goldstein, C., Lee, M.D., Sanchez, S., Hudson, C., Phillips, B., Register, B., ... Maurer J.J. (2001). Incidence of class 1 and 2 integrases in clinical and commensal bacteria from livestock, companion animals, and exotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(3), 723-726. doi:10.1128/AAC.45.3.723-726.2001
- Gole, V.C., Chousalkar, K.K., Roberts, J.R. (2013). Survey of *Enterobacteriaceae* contamination of table eggs collected from layer flocks in Australia. *International Journal of Food Microbiology*, 164(2-3), 161-165. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.04.002
- Guibourdenche, M., Roggentin, P., Mikoleit, M., Fields, P.I., Bockemühl, J., Grimont, P.A.D., Weill F.X. (2010). Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White Kauffmann-Le Minor scheme. *Research in Microbiology*, 161(1), 26-29. doi:10.1016/j.resmic.2009.10.002
- Günaydın, E. ve Şen, S. (2011). *Salmonella* patojenite adaları (1-10). *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 22(2), 79-82.

- Günaydın, E. ve Şen, S. (2012). *Salmonella* klasik virulans faktörleri ve patojenite adaları (11, 12, 13, 14, 15, 16, SGA-1, YPA). *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 23(1), 32-38.
- Gyles, C. ve Boerlin, P. (2014). Horizontally transferred genetic elements and their role in pathogenesis of bacterial disease. *Veterinary Pathology*, 51(2), 328-340. doi: 10.1177/0300985813511131
- Halawani, E. ve Shohayeb, M. (2008). Molecular characterization of multiple antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* and *Enteritidis* isolated in Saudi Arabia. *World Journal of Medical Sciences*, 3(1), 43-49.
- Hansen-Wester, I. ve Hensel, M. (2001). *Salmonella* pathogenicity islands encoding type III secretion systems, *Microbes and Infection*, 3(7), 549-559.
- Hantke, K., Nicholson, G., Rabsch, W., Winkelmann, G. (2003). Salmochellins, siderophores of *Salmonella enterica* and uropathogenic *Escherichia coli* strains, are recognized by the outer membrane receptor Iron. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(7), 3677-3682. doi: 10.1073/pnas.0737682100
- Hardy, A. (2004). *Salmonella*: a continuing problem. *Postgraduate Medical Journal*, 80(947), 541-545. doi:10.1136/pgmj.2003.016584
- Helinski, D.R. (2004). Plasmid Biology. B.E. Funnel, G. Philips (Eds.). *An introduction to plasmids: A selective view of their history*. (pp. 1-21). Washington DC: American Society for Microbiology.
- Hensel, M. (2004). Evolution of pathogenicity islands of *Salmonella enterica*. *International Journal Of Biological and Medical Research*, 91(2-3), 95-102. doi:10.1016/j.ijmm.2004.06.025
- Hindermann, D., Gopinath, G., Chase, H., Negrete, F., Althaus, D., Zurfluh, K., ... Nüesch Inderbinen, M. (2017). *Salmonella enterica* serovar *Infantis* from food and human infections, Switzerland, 2010-2015: poultry-related multidrug resistant clones and an emerging ESBL producing clonal lineage. *Frontiers in Microbiology*, 8(1), 1322. doi:10.3389/fmicb.2017.01322
- Higgins, D., Mukherjee, N., Pal, C., Sulaiman, I.M., Jiang, Y. Hanna, S., ... Banerjee, P. (2020). Association of virulence and antibiotic resistance in *Salmonella* statistical and computational insights into a selected set of clinical isolates. *Microorganisms*, 8(10), 1465. doi:10.3390/microorganisms8101465

- Hradecka, H., Karasova, D., Rychlik, I. (2008). Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium conjugative plasmids transferring resistance to antibiotics and their interaction with the virulence plasmid. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62(5), 932-941.
- Hurley, D., McCusker, M., Fanning, S., Martins, M. (2014). *Salmonella*-host interactions-modulation of the host innate immune system. *Frontiers in Immunology*, 7(5), 481. doi: 10.3389/fimmu.2014.00481
- Ibarra, J.A. ve Steele Mortimer, O. (2009). *Salmonella* the ultimate insider. *Salmonella* virulence factors that modulate intracellular survival, *Cellular Microbiology*, 11(11), 1579-1586.
- Igbinosa, E., Beshiru, A., Igbinosa, I.H., Okoh, A.I. (2022). Antimicrobial resistance and genetic characterisation of *Salmonella enterica* from retail poultry meats in Benin City, Nigeria. *Lebensmittel-Wissenschaft Food Science and Technology*, 169(2),114049. doi:10.1016/j.lwt.2022.114049
- ISO 6579-1. (2017). *Besin zincirinin mikrobiyolojisi-Salmonella'nun tespiti, sayımı ve serotiplendirilmesi için yatay yöntem - Bölüm 1: Salmonella spp.* Türk Standardları Enstitüsü, 24 Nisan 2017.
- İzgür, M. (2002). Kanatlı hayvan hastalıkları. M. İzgür, M. Akan (Ed.). *Bakteriyel enfeksiyonlar, Salmonella enfeksiyonları* (ss. 37-126). Ankara: Medisan Yayınevi.
- İzgür, M. (2006). Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). N. Aydın, J. Paracıkoğlu (Ed.). *Enterobakteri enfeksiyonları (Enterobacteriaceae)* (ss. 116-121). Ankara: İlke Emek Yayınları.
- Jajere, S.M. (2019). A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Veterinary World*, 12(4), 504-521. doi:10.14202/vetworld.2019.504-521
- Kanat, S. ve Gülel Terzi, G. (2022, Ekim 27-29). *Salmonella* spp. izolatlarının antibiyotik dirençliliği ve içerdikleri bazı virülens genlerin belirlenmesi [Konferans sunum özeti]. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, Van, Türkiye.
- Karacan, N. (2014). Paratifoid *Salmonella* serotiplerinin kanatlı bağırsaklarına kolonizasyonu. *Veteriner Tavukçuluk Derneği Mektup Ankara*, 12(4), 3-6.
- Karacan Sever, N. (2017). *Kanatlı orijinli Salmonella Infantis suşlarında virülens genlerinin moleküler analizi*. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Kardos, G., Farkas, T., Antal, M., Nogrady, N., Kiss, I. (2007). Novel PCR assay for identification of *Salmonella enterica* serovar *Infantis*, *Letters in Applied Microbiology*, 45(4), 421-425. doi:10.1111/j.1472-765X.2007.02220.x
- Kaur, J. ve Jain, S.K. (2012). Role of antigens and virulence factors of *Salmonella enterica* serovar *Typhi* in its pathogenesis. *Microbiological Research*, 167(4), 199-210. doi:10.1016/j.micres.2011.08.001
- Kaya, İ.B., Şahan Yapıcıer, Ö., Akan, M., Diker, K.S. (2017). Class 1 integrons and the antibiotic resistance profile of *Salmonella* *Infantis* strains from broiler chickens. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(5), 803-807. doi: 10.9775/kvfd.2017.17821
- Kayış, U. (2019). Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları. *Aydın Sağlık Dergisi*, 5(1), 1-12.
- Köseoğlu Ö. (2004). İntegronlar. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 38(3), 305-312.
- Krawiec, M., Kuczkowski, M., Kruszewicz, A., Wieliczko, A. (2015). Prevalence and genetic characteristics of *Salmonella* in free-living birds in Poland. *BMC Veterinary Research*, 11(1), 15. doi:10.1186/s12917-015-0332-x
- Kürekci, C., Sahin, S., Iwan, E., Kwit, R., Bomba, A., Wasyl, D. (2021). Whole genome sequence analysis of *Salmonella* *Infantis* isolated from raw chicken meat samples and insights into pESI-like megaplasmid. *International Journal of Food Microbiology*, 16(337), 108956. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108956
- Lamas, A., Fernandez-No, I.C., Miranda, J.M., V'azquez, B., Cepeda, A., Franco, C.M. (2016). Prevalence, molecular characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* serovars isolated from northwestern Spanish broiler flocks (2011-2015). *Poultry Science*, 95(9), 2097-2105. doi:10.3382/ps/pew150
- Lapierre, L., Cornejo, J., Borie, C., Toro, C., Martin, B.S. (2008). Genetic characterization of antibiotic resistance genes linked to class 1 and class 2 integrons in commensal strains of *Escherichia coli* isolated from poultry and swine. *Microbial Drug Resistance*, 14(4), 265-272. doi:10.1089=mdr.2008.0810
- Lapierre, L., Cornejo, J., Zavala, S., Galarce, N., Sánchez, F., Benavides, M.B., ... Sáenz, L. (2020). Phenotypic and genotypic characterization of virulence factors and susceptibility to antibiotics in *Salmonella* *Infantis* strains isolated from chicken meat: First findings in Chile. *Animals*, 10(6), 1049. doi:10.3390/ani10061049

- Liofilchem. (2011). *Buffered eptone water II*. https://lab-diagnostic.cl/media/pdf/610619_TS.pdf adresinden erişildi.
- Liofilchem. (2022). *MSRV medium base*. http://www.liofilchem.net/login/pd/ts/610018_TS.pdf adresinden erişildi.
- Liofilchem. (2009). *Muller Kauffmann tetrathionate novobiocin broth (MKTTn)*. <https://www.kemitekskimya.com.tr/files/8629b265c6389.pdf> adresinden erişildi.
- Liofilchem. (2015a). *XLD agar*. http://www.liofilchem.net/login/pd/ifu/10056_IFU.pdf adresinden erişildi.
- Liofilchem (2003). *Columbia agar base*. <https://www.kemitekskimya.com.tr/files/8774a6a666040.pdf> adresinden erişildi.
- Liofilchem. (2015b). *MacConkey agar*. http://www.liofilchem.net/login/pd/ifu/10029_IFU.pdf adresinden erişildi.
- Liofilchem. (2018). *Nutrient agar modified*. http://www.liofilchem.net/login/pd/ts/610385_TS.pdf adresinden erişildi.
- Liofilchem. (2017). *Nutrient broth*. http://www.liofilchem.net/login/pd/ifu/24103_IFU.pdf adresinden erişildi.
- Liofilchem. (2015c). *Mueller Hinton II agar*. http://www.liofilchem.net/login/pd/ifu/10031_IFU.pdf adresinden erişildi.
- Liofilchem. (2020). *Brain heart infusion broth*. http://www.liofilchem.net/login/pd/ifu/24104_IFU.pdf adresinden erişildi.
- Lozano-Villegas, K.J., Herrera-Sa'nchez, M.P., Beltra'n-Marti'nez, M.A., Ca'rdenas-Moscoco, S., Rondo'n-Barraga'n, I.S. (2023). Molecular detection of virulence factors in *Salmonella* serovars isolated from poultry and human samples. *Veterinary Medicine International*, article ID 1875253, 9. doi: 10.1155/2023/1875253
- Lutful Kabir, S.M. (2010). Avian colibacillosis and salmonellosis: A closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(1), 89-114.
- Magiorakos, A.P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., ... Monnet, D.L. (2012). Multidrug resistant, extensively drug resistant and pandrug-resistant bacteria: an

- international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268-281. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
- Maniatis, T. ve Sambrook, J. (1989). *Molecular Cloning*. T. Maniatis, E.F. Fritsch, J. Sambrook (Eds.). *A laboratory manual*, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Pres.
- Marcus, S.L., Brumell, J.H., Pfeifer, C.G., Finlay, B.B. (2000). *Salmonella* pathogenicity islands: Big virulence in small packages. *Microbes and Infection*, 2(2), 145-156. doi.org/10.1016/S1286-4579(00)00273-2
- Miriagou, V., Carattoli, A., Fanning, S. (2006). Antimicrobial resistance islands: resistance gene clusters in *Salmonella* chromosome and plasmids. *Microbes and Infection*, 8(7), 1923-1930.
- Moghadam, S., Bidhendi, S.M., Khaki, P. (2022). Molecular identification of *Salmonella* strains isolated from Livestock in Alborz Province and their serotyping. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 16(4), 305-311. doi:10.30699/ijmm.16.4.305
- Monte, D.F., Lincopan, N., Berman, H., Cerdeira, L., Keelara, S., Thakur, S., ... Landgraf, M. (2019). Genomic features of high-priority *Salmonella enterica* serovars circulating in the food production Chain, Brazil, 2000-2016. *Scientific Reports*, 9(1), 11058. doi:10.1038/s41598-019-45838-0
- Morgan, E. (2007). *Salmonella: Molecular biology and pathogenesis*. M. Rhen, D. Maskell, P. Mastroeni, J. Threlfall, (Eds.), *Salmonella* pathogenicity islands. (pp. 67-88), Horizon Bioscience, UK: Norfolk.
- Murugkar, H.V., Rahman, H., Dutta, P.K. (2003). Distribution of virulence genes in *Salmonella* serovars isolated from man and animals. *Indian Journal of Medical Research*, 117(1), 66-70.
- National Committee for Clinical Laboratory Standarts [CLSI]. (2023). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 33 rd Edition, CLSI Supplement M100, Clinical and Laboratory Standards Institute*.
- Newton, K., Gosling, B., Rabie, A., Davies, R. (2020). Field investigations of multidrug-resistant *Salmonella* Infantis epidemic strain incursions into broiler flocks in England and Wales. *Avian Pathology*, 49(6), 631-641. doi.org/10.1080/03079457.2020.1809634
- Nield, B.S., Holmes, A.J., Gillings, M.R., Recchia, G.D., Mabbutt, B.C., Nevalainen, K.M., Stoke, H.M. (2001). Recovery of new integron classes from environmental DNA. *FEMS Microbiology Letters*, 195(1), 59-65. doi:10.1111/j.1574-6968.2001.tb10498.x

- Oelschlaeger, T.A., Zhang, D., Schubert, S., Carniel, E., Rabsch, W., Karch, H., Hacker, J. (2003). The high pathogenicity island is absent in human pathogens of *Salmonella enterica* subspecies I but present in isolates of subspecies III and VI. *Journal of Bacteriology*, 185(3), 1107-1111. doi.org/10.1128/jb.185.3.1107-1111.2003
- Pardo-Este, C., Lorca, D., Castro-Severyn, J., Krüger, G., Alvarez-Thon, L., Zepeda, P., ... Saavedra, C. (2021). Genetic characterization of *Salmonella* Infantis with multiple drug resistance profiles isolated from a poultry-farm in Chile. *Microorganisms*, 9(11), 2370. doi:10.3390/microorganisms9112370
- Pate, M., Mičunovič, J., Golob, M, Vestby, L.K., Ocepek, M. (2019). *Salmonella* Infantis in broiler flocks in Slovenia: the prevalence of multidrug resistant strains with high genetic homogeneity and low biofilm-forming ability. *BioMed Research International*, Article ID 4981463, 1-13. doi.org/10.1155/2019/4981463
- Pathmanathan, S.G., Cardona-Castro, N., Sanchez-Jimenez, M.M., Correa-Ochoa, M.M., Puthuchery, S.D., Thong, K.L. (2003). Simple and rapid detection of *Salmonella* strains by direct PCR amplification of the *hilA* gene. *Journal of Medical Microbiology*, 52(9), 773-776. doi: 10.1099/jmm.0.05188-0
- Penha Filho, R.A.C., Ferreira, J.C., Galetti, R., Kanashiro, A.M.I., Berchieri, A. Jr., da Costa Darini, A.L. (2023). The rise of multidrug resistant *Salmonella* isolates in healthy chickens in Brazil by successful establishment of plasmid IncHI2A carrying several antibiotic resistance genes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54(1), 469-474. doi: 10.1007/s42770-022-00893-0
- Petano-Duque, J.M., Rueda-García, V., Rondón-Barragán, I.S. (2023). Virulence genes identification in *Salmonella enterica* isolates from humans, crocodiles, and poultry farms from two regions in Colombia. *Veterinary World*, 16(10), 2096-2103.
- Prager, R., Rabsch, W., Streckel, W., Voigt, W., Tietze, E., Tschape, H. (2003). Molecular properties of *Salmonella enterica* serotype *Paratyphi* distinguish between its systemic and its enteric pathovars. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(9), 4270-4278. doi.org/10.1128/JCM.41.9.4270-4278.2003
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., FitzPatrick, E.S., Fanning, S., Hartigan, P.J. (2011). *Veterinary microbiology and microbial diseases*, (2nd ed.), Wiley-Blackwell. doi:10.1016/j.vetmic.2012.06.004

- Rahmani, M., Peighambari, S.M., Svendsen, C.A., Cavaco, L.M., Agersø, Y., Hendriksen, R.S. (2013). Molecular clonality and antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovars *Enteritidis* and *Infantis* from broilers in three northern regions of Iran. *BMC Veterinary Research*, 9(1), 66. doi:10.1186/1746-6148-9-66
- Ranjbar, R., Rahmati, H., Shokoohizadeh, L. (2018). Detection of common clones of *Salmonella enterica* serotype *Infantis* from human sources in Tehran hospitals. *Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench*, 11(1), 54.
- Revolledo, L. ve Ferreira, A.J.P. (2010). *Salmonella* antibiotic-mutant strains reduce fecal shedding and organ invasion in broiler chicks. *Poultry Science*, 89(10), 2130-2140. doi:10.3382/ps.2010-00920
- Rychlik, I., Gregorova, D., Hradecka, H. (2006). Distribution and function of plasmids in *Salmonella enterica*. *Veterinary Microbiology*, 112(1), 1-10.
- Sabbagh, S.C., Forest, C.G., Lepage, C., Leclerc, J.M., Daigle, F. (2010). So similar, yet so different: uncovering distinctive features in the genomes of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Typhi. *FEMS Microbiology Letters*, 305(1), 1-13. doi:10.1111/j.1574-6968.2010.01904.x
- Saroj, S.D., Shashidhar, R., Karani, M., Bandekar, J.R. (2008). Distribution of *Salmonella* pathogenicity island SPI-8 and SPI-10 among different serotypes of *Salmonella*. *Journal of Medical Microbiology*, 57(4), 424-427. doi:10.1099/jmm.0.47630-0
- Schwarz, S., Cloeckaert, A., Roberts, M.C. (2006). Mechanisms and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents. M.A. Frank (Eds.). *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin* (pp. 73-98). American Society for Microbiology Washington DC. doi:10.1128/9781555817534.ch6
- Seth Smith, H.M. (2008). SPI-7: *Salmonella*'s vi encoding pathogenicity island. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 2(4), 267-271. doi:10.3855/jidc.220
- Shah, D.H., Lee, M.J., Park, J.H., Lee, J.H., Eo, S.K., Kwon, J.T., Chae, J.S. (2005). Identification of *Salmonella Gallinarum* virulence genes in a chicken infection model using PCR based signature tagged mutagenesis. *Microbiology*, 151(2), 3957-968. doi:10.1099/mic.0.28126-0
- Shilpi, S. ve Atul, B. (2017). Role of bacterial integrons in development of multidrug resistant phenoty. *Virology and Immunology Journal*, 1(6): 000133. doi:10.23880/VIJ-16000133
- Sırıken, B. (2013). *Salmonella* Patojenite Adaları. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 47(1), 181-188.

- Skyberg, J.A., Logue, C.M., Nolan, L.K. (2006). Virulence genotyping of *Salmonella* spp. with multiplex PCR. *Avian Disease*, 50(1), 77-81. doi:10.1637/7417.1
- Sterzenbach, T., Crawford, R.W., Winter, S.E., Bäumlér, A.J. (2013). *Salmonella* in domestic animals. P.A. Barrow, U. Methner (Eds.). *Salmonella virulence mechanisms and their genetic basis* (pp. 1-564). doi:10.1079/9781845939021.0080
- Swamy, S.C., Barnhart, H.M., Lee, M.D., Dreesen, D.W. (1996). Virulence determinants *invA* and *spvC* in *Salmonellae* isolated from poultry products, wastewater, and human sources. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(10), 3768-3771. doi:10.1128/aem.62.10.3768-3771.1996
- Şahan, Ö., Aral, E.M., Aden, M.M.A., Aksoy, A., Yılmaz, Ö., Jahed, R., ... Akan, M. (2016). Türkiye'deki broyler tavuk işletmelerinden izole edilen *Salmonella* serovarlarının antimikrobiyel direnç durumu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 63(1), 1-6.
- Şahan Yapıcıer, Ö. ve Öztürk, D. (2022). Characterization of class 1, 2, 3 integrons, ESBL genes and antibiotic susceptibility of *Salmonella* serotypes from broiler and cattles in Turkey. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 25(2), 345-355. doi:10.24425/pjvs.2022.141820
- Turner, P.C., McLennan, A.G., Bates, A.D., White, M.R.H. (2004). Çeviren Konuk, M., *Moleküler biyoloji: önemli notlar*. Ankara: Nobel Yayınları.
- Ulusal *Salmonella* Kontrol Programı [USKP]. (2018). *Ulusal Salmonella kontrol programı sonuç raporu*. ULUSAL_SALMONELLA_KONTROL_PROGRAMI_.pdf adresinden erişildi.
- Van Asten, A.J. ve Van Dijk, J.E. (2005). Distribution of "classic" virulence factors among *Salmonella* spp. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 44(3), 251-259.
- Wegener, H.C. ve Baggesen, D.L. (1996). Investigation of an outbreak of human salmonellosis caused by *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Infantis by use of pulsed field gel electrophoresis, *International Journal of Food Microbiology*, 32(1-2), 125-131. doi:10.1016/0168-1605(96)01114-2
- Wisner, A., Desin, T., White, A., Potter, A., Köster, W. (2012). The *Salmonella* pathogenicity island-1 and -2 encoded type III secretion systems. *ResearchGate*, 3(14-15), 469-494. doi:10.5772/29203
- Wu, S., Li, Y., Xu, Y., Li, Q., Chu, Y., Huang, R., Qin, Z. (2010). A *Salmonella enterica* serovar *Typhi* plasmid induces rapid and massive apoptosis in infected macrophages. *Cellular and Molecular Immunology*, 7(4), 271-278. doi:10.1038/cmi.2010.17

- Yüce, A. (2001). Antimikrobiyal ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Dergisi*, 14(2), 41-46.
- Zheng, D., Alm, E.W., Stahl, D.A., Raskin, L. (1996). Characterization of universal small-subunit rRNA hybridization probes for quantitative molecular microbial ecology studies. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(12), 4504-4513. doi:10.1128/aem.62.12.4504-4513.1996
- Zishiri, O.T., Mkize, N., Mukaratirwa, S. (2016). Prevalence of virulence and antimicrobial resistance genes in *Salmonella* spp. isolated from commercial chickens and human clinical isolates from South Africa and Brazil. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 83(1), 1-11. doi:10.4102/ojvr.v83i1.1067
- Zou, M., Keelara, S., Thakur, S. (2012). Molecular characterization of *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* isolates from humans by antimicrobial resistance, virulence genes, and pulsed field gel electrophoresis. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(3), 232-238.

EKLER

Ek 1. *S. Infantis* izolatlarının virülens gen, integron ve antibiyotik direnç durumları.

No	Virülens Gen										Integron		Antibiyotik Direnç									
	<i>sopB</i>	<i>PipD</i>	<i>sopE</i>	<i>SifA</i>	<i>stn</i>	<i>spaN</i>	<i>SpvC</i>	<i>SlyA</i>	<i>HilA</i>	<i>SpvR</i>	<i>Int1</i>	<i>Int2</i>	AMP	AMC	CN	TE	CIP	SXT	C	F	MDR	
1	+			+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
2	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
3	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
4		+		+	+	+		+	+		+		R	R	S	R	I	R	S	S	4	
5	+	+		+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2	
6	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
7	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	R	R	S	S	4	
8	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
9	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
10	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	S	S	S	S	2	
11	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	R	S	S	S	2	
12	+	+			+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
13	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2	
14	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
15	+	+		+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2	
16	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	R	S	4	
17	+	+		+	+	+		+	+		+		S	R	S	R	R	R	S	S	4	
18	+	+				+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2	
19	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2	
20	+			+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	S	S	S	R	2	
21	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	R	S	S	S	2	
22	+	+		+	+	+		+	+			+	S	R	S	S	I	R	S	S	2	
23	+	+		+		+		+	+		+	+	S	S	S	S	I	R	R	S	2	
24	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	S	I	R	S	S	2	
25	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	R	R	S	S	4	
26	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
27	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
28	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	I	R	S	2	
29	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
30	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
31	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	S	S	S	R	2	
32	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	S	I	R	S	S	1	
33	+			+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	S	I	R	S	S	1	
34	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	S	R	S	S	3	
35	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2	
36	+	+		+	+	+	+	+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2	
37	+			+		+	+	+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
38	+	+		+	+	+		+	+		+		S	R	S	R	I	R	R	S	4	
39	+	+			+	+		+	+		+		S	R	S	R	I	R	S	S	3	
40	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
41	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	
42	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	S	S	S	2	
43	+	+	+	+	+	+		+	+		+		S	R	S	R	I	R	S	S	3	
44	+	+		+	+			+	+		+		S	R	S	R	I	R	S	S	3	
45	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3	

46	+	+		+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2
47	+	+			+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
48	+	+			+	+		+	+		+	+	S	S	S	S	I	R	S	S	1
49	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
50	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	S	I	R	S	S	2
51	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
52	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
53	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
54	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
55	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	S	I	R	S	S	2
56	+	+		+	+			+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
57	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	I	S	R	2
58	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
59	+	+		+	+			+	+		+		S	R	S	R	I	R	S	S	3
60	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	S	I	R	S	S	2
61	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	S	I	R	S	S	2
62	+	+			+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
63	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
64	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
65	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
66	+	+		+		+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
67	+	+		+	+	+			+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
68	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
69	+	+			+	+	+	+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
70	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
71	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
72	+	+		+		+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
73	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
74	+	+		+	+	+		+	+		+		S	R	S	R	I	R	S	R	4
75	+	+		+	+	+		+	+		+		S	R	R	R	I	R	S	S	4
76	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
77	+	+		+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2
78	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
79	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
80	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
81	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
82	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
83	+	+		+	+	+			+		+	+	S	R	S	R	R	R	S	S	4
84	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
85	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
86	+	+		+	+	+		+			+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
87	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	R	R	S	S	4
88	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	R	R	S	S	3
89	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
90	+	+		+	+	+		+	+	+	+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
91	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
92	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	R	R	S	S	4
93	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
94	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
95	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
96	+	+		+	+	+		+	+	+	+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
97	+	+		+	+			+	+		+	+	S	S	S	R	I	S	S	S	1
98		+		+	+	+		+	+			+	S	S	S	R	I	S	S	S	1
99	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
100	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	S	I	I	S	S	0
101	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3

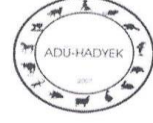
102	+	+		+	+	+		+			+	+	S	R	S	S	I	R	S	S	2
103	+	+		+		+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
104	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
105	+	+	+	+	+	+		+	+			+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
106	+	+		+	+	+			+		+	+	S	S	S	R	R	R	S	S	3
107	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
108	+	+		+	+	+		+	+			+	S	R	S	R	S	R	S	S	3
109	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
110	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
111	+	+		+	+	+	+	+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
112	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	S	R	S	S	2
113	+	+		+	+	+		+			+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
114	+	+	+	+		+	+		+				S	S	S	R	I	S	S	R	2
115	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
116	+	+		+	+	+		+			+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
117	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
118	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
119	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
120	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
121	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
122	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
123	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	S	R	S	S	3
124	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
125	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
126	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
127		+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	R	S	I	S	S	S	2
128	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
129	+	+		+	+			+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
130	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
131	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	I	R	S	S	2
132	+	+		+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2
133	+	+		+	+	+		+			+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
134	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
135	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
136	+	+	+	+	+	+	+						R	R	S	S	I	R	S	S	3
137				+	+			+		+			R	S	R	S	I	S	S	S	2
138	+	+		+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2
139	+	+		+	+	+			+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2
140	+	+		+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2
141	+	+		+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2
142	+	+		+	+	+		+	+		+		R	S	S	S	S	S	R	S	2
143	+	+		+	+			+	+		+		S	S	R	S	I	S	S	R	2
144	+	+		+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2
145	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
146	+	+		+		+		+	+		+		S	S	S	R	S	S	S	R	2
147	+	+		+	+	+			+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2
148	+	+		+	+	+		+			+	+	S	R	S	R	I	R	S	S	3
149	+	+		+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	I	R	S	S	2
150	+	+		+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	R	R	S	S	3
151					+			+		+			S	S	R	R	R	R	S	S	4
152	+	+		+	+			+	+				S	S	S	R	R	R	R	S	4
153	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	S	S	S	R	R	R	S	S	3
154	+	+		+		+		+	+		+	+	S	R	S	R	R	R	S	S	4
155	+	+		+	+	+		+	+		+	+	S	R	S	R	R	R	S	S	4
156	+	+		+	+	+		+	+		+		S	R	S	R	R	R	S	S	4
157	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	S	R	S	R	R	R	S	S	4

158	+	+		+		+		+	+		+		S	R	S	R	R	R	S	S	4
159	+			+	+	+		+	+		+		S	S	S	R	R	R	S	S	3

Ek 2. (ADÜ-HADYEK)



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HADYEK)



Aydın, 09/07/2020

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2020 Yılı II. Oturum
Sayı : 64583101/2020/021
Proje Başlığı : Broylar tavuklardan elde edilen *Salmonella* Infantis izolatlarının integron, antimikrobiyal direnç ve virülens gen profillerinin incelenmesi
Proje Yürütücüsü : Sühayla TÜRKYILMAZ
Proje Ekibi : Melike YARAR

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması
Hayvan Çalışması
İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Hayvan Çalışması

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. Murat SARIERLER
Başkan

Prof. Dr. Özgür TÜRKÖZAN
Üye

(Yıllık İzinli)

Dr. Öğr. Üyesi Umut
DEMETOĞLU
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Solmaz
KARAASLAN
Üye

Hidayet YAMAN
Serbest Vet. Hek. Üye

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder
ÜSTÜNDAĞ
Üye

Öğr. Gör. Dr. Asude Gülce
GÜLER Sor. Vet. Hek.

Vet. Hek. Dr. Serdar AKTAŞ
Sor. Vet. Hek.

Prof. Dr. Turhan DOST
Üye

Doç. Dr. Serkan BAKIRCI
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ
Üye

Şenay TEKİNBAŞ
HAYTAP Üye

Mustafa COBAN OĞLU
Sivil Üye

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Broyler tavuklardan elde edilen *Salmonella* Infantis izolatlarının integron, antimikrobiyal direnç ve virülens gen profillerinin incelenmesi” başlıklı Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilgilerin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Melike YARAR

...../...../.....

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı

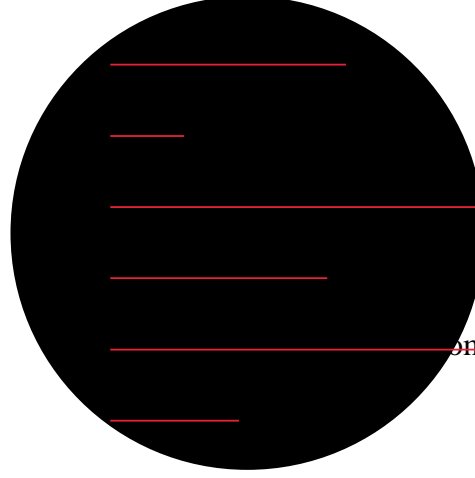
Uyruk

Doğum yeri ve tarihi

Telefon

E-mail

Yabancı Dil



EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Adnan Menderes Üniversitesi	18 .01. 2024
Yüksek Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi	30. 11. 2017
Lisans	Atatürk Üniversitesi	13. 06. 2014

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2014-2015	Leben Tarım Hayvancılık Gıda San. Ve Tic. AŞ.	Veteriner Hekim
2016-2017	Denizli Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği	Veteriner Hekim
2019-2020	Denizli/Acıpayam Halk Eğitimi Merkezi	Usta Öğretici
2020-Halen	Ağaçören İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Veteriner Hekim

AKADEMİK YAYINLAR

A. MAKALELER

A1. Yarar, M., Türkyılmaz S. Investigation of antibiotic resistance and important virulence genes of *Escherichia coli* isolated from clinical mastitic bovine milk. *Isr. J. Vet. Med.* 74(2):74-81, 2019.

A2. Beköz Yarar, M., Türkyılmaz, M. K., S. Türkyılmaz. S. Investigation of integron, antimicrobial resistance and virulence gene profiles of *Salmonella* Infantis isolates obtained from broiler chickens. *Isr. J. Vet. Med.* 78(4):12-27, 2023.

B. PROJELER

B1. Türkyılmaz, S., **Yarar, M.** (2017). Mastitisli sığır sütlerinden izole edilen *Escherichia coli*'lerin önemli virülens genlerinin ve antimikrobiyal duyarlılıklarının incelenmesi. ADÜ- BAP (VTF 17003).

B2. Türkyılmaz, S., **Yarar, M.** (2024). Broyler tavuklardan elde edilen *Salmonella* Infantis izolatlarının integron, antimikrobiyal direnç ve virülens gen profillerinin incelenmesi. ADÜ-BAP (VTF-21006).