

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İZMİR, MANİSA ve UŞAK İLLERİNDEKİ
KANATLILARDAN ELDE EDİLEN *SALMONELLA*
İZOLATLARINDA VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN,
ANTİMİKROBİYAL VE DEZENFEKTAN
DUYARLILIKLARININ VE KLONAL YAKINLIĞIN
ARAŞTIRILMASI**

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Programı

Doktora Tezi

Veteriner Hekim Ercüment ERTUNÇ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Şafak ERMERTCAN

İZMİR

2017

TEZ ONAY SAYFASI

Kurum adı : Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Anabilim Dalı : Farmasötik Mikrobiyoloji A.D.

Program: Yüksek Lisans Derecesi ile Doktora

Tez Konusu: İzmir, Manisa ve Uşak illerindeki kanatlılardan elde edilen *Salmonella* izolatlarında virülans faktörlerinin, antimikrobiyal ve dezenfektan duyarlılıklarının ve klonal yakınlığın araştırılması

Danışman : Prof. Dr. Şafak ERMERTCAN

Tezi Hazırlayan : Ercüment ERTUNÇ

Değerlendirme Kurulu Üyeleri :

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Prof. Dr. Şafak ERMERTCAN

(Danışman)

Üye : Prof. Dr. Mine HOŞGÖR LİMONCU

Üye : Prof. Dr. M. Emin LİMONCU

Üye : Prof. Dr. Süheyla SÜRÜCÜOĞLU

Üye : Doç. Dr. Hüseyin TAŞLI

Doktora tezinin kabul edildiği tarih : 25. 12. 2017

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında bana destek olan, emek harcayan ve tez çalışması esnasında teorik ve pratik olarak bilimsel gelişimime katkıda bulunan tez danışmanım Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Şafak ERMERTCAN'a, desteklerinden dolayı tez izleme komitesi üyesi değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mine HOŞGÖR LİMONCU'ya ve Sayın Prof. Dr. Mehmet Emin LİMONCU'ya çok teşekkür ederim.

Desteklerini esirgemeyen F. Mikrobiyoloji A.D.'den hocalarım Sayın Doç. Dr. Hüseyin TAŞLI'ya, Sayın Doç. Dr. Bayrı ERAÇ'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. F. Ferda YILMAZ'a, ayrıca Arş. Gör. Yamaç TEKİNTAŞ'a, Arş. Gör. Abdurrahman AYGÜL'e, Arş. Gör. İsmail ÖZTÜRK'e ve Arş. Gör. Aybala TEMEL'e teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca desteklerinden dolayı E.Ü. Eczacılık Fakültesi FABAL çalışanlarına ve İYTE BİYOMER çalışanı Uzm. Biyolog Evrim PAŞIK'a ve Biyokimyager Nurhan Necip MYUMYUN'a teşekkür ederim. Her zaman yanımda olan ve beni destekleyen eşime, aileme ve tüm dostlarıma teşekkür ederim.

Ercüment ERTUNÇ

İzmir, 2017

ÖZET

İzmir, Manisa ve Uşak illerindeki kanatlardan elde edilen *Salmonella* izolatlarında virülans faktörlerinin, antimikrobiyal ve dezenfektan duyarlılıklarının ve klonal yakınlığın araştırılması

Bu çalışmada kanatlı *Salmonella* suşlarında, çeşitli antibiyotik ve dezenfektanların etkileri, antibiyotik direnci tespit edilen suşlarda antibiyotik direnç genlerinin tespit edilmesi, çeşitli virülans genlerinin saptanması ve suşlar arasında klonal ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Türkiye Cumhuriyeti Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı bünyesinde yer alan Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne bağlı Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarı'nda 2014 - 2015 yıllarında izole edilen ve serotiplendirme için Etlik Merkez Araştırma Enstitüsü Bakterioloji Laboratuvarı (*Salmonella* Ulusal Referans Laboratuvarı)'na gönderilen 45 kanatlı suşu çalışmaya alındı.

İlk olarak 10 değişik antibiyotik kullanılarak Kirky Bauer disk difüzyon yöntemi ile Clinical and Laboratory Standard Institute kriterlerine göre suşların antibiyotik duyarlılık profilleri belirlendi. Daha sonra yaygın kullanılan dezenfektanların suşlar üzerine etkileri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile incelendi. Disk difüzyon testi sonuçlarına göre β -laktam ve tetrasiklin direnci görülen suşlarda beş direnç geni Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile araştırıldı. Ayrıca, infeksiyon oluşumunda kritik rolü olan altı virülans geni de PZR ile saptandı. Çalışmanın sonunda suşlar arasındaki klonal ilişki Pulsed Field Gel Elektroferez (PFGE) yöntemi yardımıyla değerlendirildi.

β -Laktam (ampisilin, amoksisilin ve amoksisilin+klavulanik asit) ve tetrasiklin (doksisisiklin ve oksitetrasiklin) grubu antibiyotiklere karşı toplam 20 *Salmonella* suşunda direnç tespit edildi. Diğer test edilen antibiyotiklere (sefepime, levofloksasin, siprofloksasin, sefotaksim, kolistin sülfat) karşı direnç gözlenmedi. β -Laktam direnci tespit edilen suşlarda Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) varlığı *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M} ve *bla*_{SHV} ile araştırıldı ancak bu genler bulunamadı. Tetrasiklin direnci gösteren suşlarda *tetA* ve *tetB* direnç genleri araştırıldı ve 7 suшта sadece *tetA* bulundu.

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 45 *Salmonella* spp. suşunun dört ayrı dezenfektana olan duyarlılıkları çalışıldı. 25 *Salmonella* suşunda Virkon-S[®] e direnç tespit edildi.

Virülans genlerinden *invA*, *sopB*, *sopE*, *sifA*, *pefA*, ve *pipD* araştırıldı. Bu genlerden *invA* suşların tümünde bulunurken, *sopB* (%93.3), *sopE* (%37.7), *sifA* (%31.1), *pefA* (%35.5) ve *pipD* (%95.5) oranlarında belirlendi.

Moleküler tiplendirme yöntemi olan PFGE ile 45 suş arasındaki klonal ilişki araştırıldı. Çalışılan suşların dördünde yöntem tekrar edilmesine rağmen patern elde edilemedi. Ortaya çıkan 13 ayrı *Salmonella* serotipi içeren 41 suşa ait dendogramda 39 ayrı pulsotip tespit edildi. Suşlar arası klonal yakınlık % 30 ile % 100 arasında bulundu. Ayrım / sınır değeri, % 53 olarak alındı ve suşlar arasında sekiz ayrı küme oluşumu gözlemlendi. Kümelerin sahip olduğu suş sayılarının genetik benzerliklerine dayanarak üç ile 12 arasında değiştiği belirlendi.

Çalışmamız iki yıllık bir dönemde İzmir, Manisa ve Uşak illerindeki kanatlılardan izole ve tanımlanmış 45 *Salmonella* suşunda, β -Laktam ve tetrasiklin grubu antibiyotiklere karşı direnç olduğunu ve dezenfektan direncinin görüldüğünü ortaya koymaktadır. Antibiyotik dirençli suşlarda GSBL tespit edilmemesine rağmen bazı suşlarda tetrasiklin direnç geni olan *tetA* saptanmıştır. Farklı virülans genleri değişik serotiplerde belirlenmiş ve çalışılan suşlar arasında yüksek oranlarda klonal yakınlık görülmüştür. *Salmonella* antibiyotik direnç ve virülans genleri ile ilgili ülkemizde daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler : Kanatlı, *Salmonella* spp., dezenfektan, direnç, virülans

ABSTRACT

Investigation of antimicrobial and disinfectant susceptibility, virulence factors and clonal relatedness of winged animals *Salmonella* isolates from İzmir, Manisa and Uşak.

The aim of this study was to investigate the effects of different antibiotics and disinfectants, antibiotic resistance genes in resistant strains, different virulence genes and clonal relationships in *Salmonella* isolates of winged animals.

The 45 strains of winged animals isolated in 2014-2015 from Poultry Diseases Diagnostic Laboratory of Bornova Veterinary Control Institute related to Turkish Republic Food, Agriculture and Livestock and serotyped in Etlik Central Research Institute Bacteriology Laboratory (Salmonella National Reference Laboratory) were taken into study.

At first, Kirby Bauer disc diffusion method with 10 different types of antibiotics was applied in order to determine the antibiotic susceptibility profiles of the strains in accordance with Clinical and Laboratory Standard Institute's criteria. Then, the effects of frequently used disinfectants were examined on strains using broth microdilution method. According to the results of disc diffusion method, five antibiotic resistance genes were investigated using Polymerase Chain Reaction (PCR) in the strains which were resistant to β -lactams and tetracyclines. Furthermore, six virulence genes which have crucial role in occurrence of infection were detected by using PCR. At the end of the study, clonal relationships between the strains were evaluated with the help of Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) method.

The 20 *Salmonella* strains were found resistant to β -lactam (ampicillin, amoxicillin and amoxicillin+clavulanic acid) group and tetracycline (doxycycline and oxytetracycline) group antibiotics. No resistance were observed in strains to other tested antibiotics (cefepime, levofloxacin, ciprofloxacin, cefotaxime and colistin sulphate). The presence of Extended Spectrum Spectrum Beta Lactamase (ESBL) were investigated by using *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M} and *bla*_{SHV} in strains which were found resistant to β -lactams but none of the genes were detected. Also *tetA* and *tetB* resistance genes were examined in strains which were resistant to tetracyclines and only *tetA* was found in seven strains.

The susceptibilities of 45 *Salmonella* strains to four different disinfectants were studied by using broth microdilution method. 25 *Salmonella* strains were detected resistant to Virkon-S[®].

The virulence genes, *invA*, *sopB*, *sopE*, *sifA*, *pefA*, and *pipD* were investigated. *InvA* was found in all strains and others were determined at the rates of *sopB* (93.3%), *sopE* (37.7%), *sifA* (31.1%), *pefA* (35.5%) and *pipD* (%95.5).

The clonal relatedness between 45 strains were researched using PFGE which is a molecular typing method. Although the test was repeated, no patterns were gained in four strains. According to the dendrogram which revealed including 41 strains and 13 different serotypes, 39 distinct pulsotypes were detected. The clonal relatedness between strains was in the range of 30% and 100%. The cut-off value was taken as 53% and the formation of eight different clusters were observed. Depending on the genetical relatedness, the number of strains which belonged to clusters was determined as three and 12.

Resistance to β -lactam and tetracycline group antibiotics and a disinfectant was revealed by our study in 45 *Salmonella* strains which were isolated and identified from winged animals located İzmir, Manisa and Uşak in a two year period. Although ESBL wasn't observed in resistant strains, *tetA* was detected in some of them. Different virulence genes were found in various serotypes and high clonal relatedness levels were seen between the studied strains. More investigations are needed about *Salmonella* antibiotic and virulence genes in our country.

Keywords : Winged animals, *Salmonella* spp., disinfectant, resistance, virulence

1.2.1.6.1.8. Sideroforlar	16
1.2.1.6.1.9. Toksinler	16
1.2.1.6.1.10. Fimbria	16
1.2.1.6.1.11. Flagella.....	17
1.2.1.7. <i>Salmonella</i> 'ların neden olduğu infeksiyonlar	17
1.2.1.7.1. İnsanlarda neden olduğu infeksiyonlar	17
1.2.1.7.1.1. Tifo ve paratifo (enterik ateş)	18
1.2.1.7.1.2. Gastroenterit.....	18
1.2.1.7.1.3. Septisemi ve lokal organ infeksiyonları	19
1.2.1.7.1.4. Taşıyıcılık	19
1.2.1.7.2. Hayvanlarda neden olduğu infeksiyonlar	19
1.2.1.7.2.1. Kanatlılarda <i>Salmonella</i> infeksiyonları	20
1.2.1.8. Tedavi	21
1.2.1.8.1. İnsanlarda	21
1.2.1.8.2. Hayvanlarda	22
1.2.1.9. <i>Salmonella</i> infeksiyonlarında antimikrobiyal direnç	22
1.2.1.10. Tanı	25
1.2.1.10.1. Fenotipik ve genotipik tiplendirme yöntemleri	26
1.2.1.10.1.1. Fenotipik yöntemler	27
1.2.1.10.1.2. Genotipik yöntemler	28
1.2.1.11. Korunma ve kontrol	32
2. GEREÇ VE YÖNTEM	34
2.1. Gereç	34
2.1.1. Bakteri kökenleri	34
2.1.2. Besiyerleri	34
2.1.3. Antimikrobiyaller	35
2.1.4. Dezenfektanlar	35
2.1.5. Ayraçlar ve çözeltiler	35
2.1.6. Elektroforez için jel ve görüntüleme boya ları.....	37
2.1.7. PZR'de kullanılan primerler.....	38
2.2. Yöntem	39

2.2.1. <i>Salmonella</i> spp.'lerin izolasyonu ve identifikasyonu.....	39
2.2.1.1. ISO 6579 yöntemi	39
2.2.2. Antibiyotik duyarlılık testleri	43
2.2.2.1. Disk difüzyon yöntemi.....	43
2.2.3. Dezenfektan duyarlılık testleri	44
2.2.3.1. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi.....	44
2.2.4. PZR ile antibiyotik direnç ve virülans genlerinin saptanması.....	45
2.2.4.1. DNA ekstraksiyonu.....	45
2.2.4.2. PZR ile <i>bla</i> _{ctx-m} , <i>bla</i> _{tem} , <i>bla</i> _{shv} , <i>tetA</i> ve <i>tetB</i> antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesi	45
2.2.4.3. Multipleks PZR ile virülans genlerinin tespit edilmesi	47
2.2.5. Suşlar arası klonal yakınlık tespiti için pulsed field gel electrophoresis (PFGE) yönteminin kullanımı	50
3. BULGULAR.....	52
3.1. <i>Salmonella</i> suşları.....	52
3.2. Antimikrobiyal duyarlılık sonuçları	53
3.3. Dezenfektan duyarlılık tespiti için mikrodilüsyon testi sonuçları.....	56
3.4. PZR ile virülans genlerinin belirlenmesi.....	57
3.5. PZR ile β -laktamaz direnç genlerinin tespiti	60
3.6. PZR ile tetrasiklin direnç genlerinin tespiti.....	60
3.7. PFGE ile suşlar arasında klonal yakınlıkların tespiti	61
4. TARTIŞMA	64
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	79
KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	97

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	<i>Salmonella</i> türlerinin ve alttürlerinin klasifikasyonu	4
Tablo 2.	CDC tarafından oluşturulan <i>Salmonella</i> nomenklatürü	5
Tablo 3.	Bazı antimikrobiyal ajanlar ve keşif, üretim, klinik kullanım ve direnç gelişim tarihleri	23
Tablo 4.	PFGE profilleri değerlendirme kriterleri.....	31
Tablo 5.	PZR protokollerinde kullanılan genlere ait primer çiftleri, ampikon büyüklükleri ve kaynaklar.....	38
Tablo 6.	Test edilen antibiyotiklerin duyarlılık sınırları.....	44
Tablo 7.	<i>Salmonella</i> suşlarının serotip, izole edildikleri yerler ve materyal dağılımları	52
Tablo 8.	<i>Salmonella</i> spp. suşlarında antibiyotik duyarlılık yüzdeleri	53
Tablo 9.	Direnç tipleri, direnç gösteren suş sayıları ve oranları.....	53
Tablo 10.	Dirençli suşların izole edildikleri yerlere göre dağılımları ve oranları	54
Tablo 11.	Çoklu antibiyotik direnci gösteren suşlar	56
Tablo 12.	<i>Salmonella</i> spp. suşlarında dezenfektan duyarlılık yüzdeleri	56
Tablo 13.	<i>Salmonella</i> spp. suşlarında Virkon-S'e dirençli serotiplerin dağılımı	57
Tablo 14.	PZR ile saptanan virülans genlerinin serotiplere göre dağılımı	58
Tablo 15.	<i>TetA</i> geni saptanan suşlara ait serotipler, izole edildikleri yerler ve direnç tipleri	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Pulsed Field Gel Electrophoresis sistemlerinin gösterimi.....	31
Şekil 2.	XLT-4 besiyerinde H ₂ S oluşumu	40
Şekil 3.	MC besiyerinde şeffaf koloni oluşumu	40
Şekil 4.	MSRV besiyerinde <i>Salmonella</i> spp. şüpheli numunelerde görülen beyaz renkli swarming (yayılma) hareketi.....	41
Şekil 5.	TSI'de <i>Salmonella</i> spp. izolasyonu	41
Şekil 6.	Vitek II Compact cihazı ve GN kartuşları	42
Şekil 7.	Microgen GN – ID / Teşhis Kiti.....	43
Şekil 8.	DO ve OT direnci gösteren 8 ve 3 numaralı suşlar	54
Şekil 9.	AMP direnci gösteren 5 numaralı suş	55
Şekil 10.	AML direnci gösteren 31 numaralı suş	55
Şekil 11.	<i>Salmonella</i> spp. suşlarında mikrodilüsyon testi uygulamaları	56
Şekil 12.	<i>InvA</i> virülans geninin PZR bant profilleri	58
Şekil 13.	<i>SopB</i> ve <i>sifA</i> virülans genlerinin PZR bant profilleri.....	59
Şekil 14.	<i>SopE</i> , <i>pefA</i> ve <i>pipD</i> virülans genlerinin PZR bant profilleri	59
Şekil 15.	<i>TetA</i> direnç geninin PZR bant profilleri	61
Şekil 16.	İlk 10 suşa ait PFGE jel görüntüsü.....	62
Şekil 17.	PFGE sonucu elde edilen 41 suşa ait dendogram	63

KISALTMALAR

GN	: Gram Negatif
AB	: Avrupa Birliği
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
CDC	: ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri
CSPI	: ABD Toplum İlgisi için Bilim Merkezi
WKL	: White-Kauffman-Le Minor <i>Salmonella</i> spp. Serotiplendirme şeması
M	: Mukoid Koloni
S	: Smooth (Yumuşak) Koloni
NA	: Nutrient Agar
MC	: Mac Conkey Agar
KA	: Kanlı Agar
TSI	: Üç Şekerli Demirli Besiyeri
SPA	: <i>Salmonella</i> Patojenite Adaları
SGA	: <i>Salmonella</i> Genomik Adası
YPA	: Yüksek Patojenite Adası
T3SS	: Tip 3 Sekresyon Sistemi
SCV	: <i>Salmonella</i> İçeren Vakuol
LPS	: Lipopolisakkarit
PEF	: Plazmid Kaynaklı Fimbria
TMP-SMX	: Trimetoprim - Sulfametoksazol
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu β -laktamazlar
HE	: Hektoen Enterik Agar
EMB	: Eozin Metilen Blue Agar
SS	: Salmonella Shigella Agar
XLD	: Xylose Lysine Deoxycholate Agar
LI	: Lysine Iron Agar
ELISA	: Ezyme-Linked Immunosorbent Assay
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PFGE	: Değişken Alanlı Jel Elektroforezi
RE	: Restriksiyon Enzimi
CHEF	: Kenarları Kenetlenmiş Homojen Elektrik Alanı

BPW	: Tamponlanmış Peptonlu Su
RVS	: Rappaport Vasiliadis Sıvı Besiyeri
MKTTn	: Mueller Kauffmann Tetrathionate Novobiocin Sıvı Besiyeri
XLT-4	: Xylose Lysine Tergitol 4 Agar
MHB	: Mueller-Hinton Sıvı Besiyeri
MHA	: Mueller-Hinton Agar
CA	: % 5 Koyun Kanı olan Columbia Agarı
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standardları Enstitüsü
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
UDS	: Ultra Distile Su
CSB	: Hücre Süspansiyon Tamponu
TE	: Tris-EDTA Tamponu
UPMGA	: Aritmetik Ortalama Kullanarak Ağırlıksız Graplama

BÖLÜM I

GİRİŞ ve AMAÇ

1.1. Giriş

Salmonella'lar Gram (-) enterik bakteriler olup, sahip oldukları 2600'ı aşkın serotip aracılığıyla insan ve hayvanlarda dünya geneline yayılan infeksiyonlara ve gıda zehirlenmelerine neden olmaktadır (1-4, 7). *Salmonella*'lar zoonotik özellikte etkenlerdir ve yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren giderek artan sayıda salgınlara yol açmışlardır. Salgınların artmasının temel sebepleri altyapı yetersizliği ile kirli, atık suların içme ve kullanım sularına karışmalarıdır. İnsanların ve vahşi kuşlar, evcil hayvanlar ve kemiriciler gibi birçok hayvan türünün barsaklarında bulunurlar (5, 6, 8, 9, 10). Dere, ırmak, diğer su kaynaklarında ve toprakta da tespit edilebilirler. İnsandan tavuğa, yılandan kaplumbağaya kadar birçok farklı canlı türünü etkileyebilecek patojenite potansiyeline sahiptirler (8-11, 14, 15).

Salmonella 'lar doğada çok yaygın bulunan etkenler olup, insan ve hayvanlara çeşitli yollarla bulaşma eğilimi gösterirler. Bulaşmada en kritik hastalık kaynakları, hasta ve taşıyıcı insan ve hayvanlar, insanlar için kontamine hayvansal kökenli gıdalar (et, yumurta, süt vb.), hayvanlar için kontamine yemler, bitkiler, insan ve hayvan dışkısı ile kontamine olmuş sular ve vahşi hayvanlardır (11, 12, 14). Başta kanatlı hayvanlar olmak üzere sığır, koyun ve keçi gibi hayvanlardan elde edilen ürünler insanlarda görülen salmonelloz vakaları yönünden önemlidir (11, 12, 14, 15). Yetişkinlerde çoğunlukla kontamine gıdaların tüketilmesi sonucu infeksiyon ortaya çıkarken, yenidoğan ve çocuklarda kişiden kişiye çapraz bulaş ile infeksiyon gelişimi daha ön plandadır (1, 6, 7, 11, 12, 14, 15). 2009 yılında yayınlanan Avrupa Birliği (AB) verilerine göre *Salmonella*'lar en sık et ve yumurta üretimi amacıyla yetiştirilen tavuklarda, saptanmıştır (16). Bu kanatlı işletmelerinde uygulanacak *Salmonella* kontrol programları, primer infeksiyon kaynağını en aza indirme noktasında hem insan hem kanatlı sağlığı açısından kritik öneme sahiptir (15, 17).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2016 yılı raporlarında gıda kaynaklı hastalıklara özel bir önem verilmiştir. Örgüt tarafından yapılan çalışmalar sonucunda dünya çapında her yıl dünya nüfusunun onda birinin gıda kaynaklı infeksiyonlara maruz kaldığının altı çizilmiş ve bu maruziyetin yıllık ortalama 33 milyon sağlıklı yaşam yılının heba olmasına ve yüksek miktarda maddi kayba yol açtığı belirtilmiştir (18). Ayrıca, sağlıksız gıdadan kaynaklanan diyare ile seyreden hastalıkların en

yaygın görülen hastalıklar olduğu ve yılda yaklaşık 220 milyonu 5 yaş altı çocuk olmak üzere yaklaşık 550 milyon insanı etkilediği açıklanmıştır. Buradaki esas önemli nokta ise diyare ile seyreden hastalıkların dörtte birinin *Salmonella* türleri tarafından oluşturulmasıdır (18).

Amerika Birleşik Devletleri (ABD) merkezli Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri'nin (Centers for Disease Control and Prevention - CDC) 2000-2008 yıllarını içeren verilerine göre her yıl tahmini 1 milyon *Salmonella* olgusu rapor edilmektedir (19, 20). Bu olguların yaklaşık 19.000 tanesi hastanede tedavi altına alınmakta ancak olguların 380'den fazlasının mortalite ile sonuçlandığı belirtilmektedir. Yine ABD'de bulunan Center for Science in the Public Interest'in (CSPI) 1990-2003 yıllarını kapsayan verilerinde, ABD'de bakteri kaynaklı 554 salgının 111'inde sorumlu patojenin *Salmonella* türleri olduğu bildirilmiş ve yine aynı verilerde salgınların ağırlıklı oranının kanatlı et ürünleri ve yumurta tüketimi kaynaklı olduğu vurgulanmıştır (15, 19, 20).

Son yıllarda Avrupa Birliği'ne üye ülkelerde yapılan çalışmalarda, kanatlı ürünleri tüketimi sonucu gelişen zehirlenmelerde bir artış olduğu ve *Salmonella* Infantis serotipinin özellikle yumurta kaynaklı bulaşım konusunda ön plana çıktığı belirlenmiştir (21, 22). Buna ek olarak hastane infeksiyonlarında *S. Infantis*'in izole edildiğinin ve bu tip infeksiyonların da inatçı bir seyir izlediğinin altı çizilmiştir (22).

Ülkemizde *Salmonella*'ların yol açtığı infeksiyonlar diğer salgın hastalıklar içerisinde önemli bir yerde bulunmakta ve ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (6). Özellikle, son yıllarda dünyanın bir çok bölgesinde ulusal ve uluslararası hayvansal ürün ve gıda ticaretinin artması, gıda üretim ve tüketim alışkanlıklarının değişmesi ve toplumumuz bazında kanatlı ürünlerinin tüketiminin son 10 yıl içerisinde katlanarak artması sonucunda *Salmonella* infeksiyonları Türkiye için daha da önem kazanmıştır (23, 24).

Beyaz Et Sanayicileri ve Damızlık Birliği Derneği 2014 yılı verilerine göre Türkiye piliç eti üretiminde dünyada 8. sırada bulunmaktadır. Aynı verilere göre 1990 yılından 2014 yılına kadar olan süreçte piliç eti üretimi 2.95 kat, hindi eti üretimi ise 2.25 kat artmıştır. 2001 yılında 9.7 kilogram olan kişi başı kanatlı eti tüketimi, 2014 yılında 22.3 kilograama ulaşmıştır. Günümüzde ulusal kanatlı sektörü

yaklaşık 600.000 kişi istihdam etmekte ve yıllık ciro bazında 5.25 milyar Amerikan doları seviyesine ulaşmış bulunmaktadır (25).

Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü 2016 yılı verilerine göre , ülkemize ait yumurta üretim, tüketim, ihracat ve ithalatına dair bir projeksiyon sunulmuştur. Çalışmaya göre 1991 yılında 7.7 milyar adet düzeyindeki yumurta üretimi, 2014 yılında 17.1 milyar adete yükselmiştir. Ayrıca, 2005 yılında 115 adet olarak seyreden kişi başı tüketim 2014 yılında 194 adet olmuştur (26).

2011 yılı sonu itibariyle ülkemizde 129 *Salmonella* serovarı izole edilmiştir. Bu serovارların 53'ü insandan, 38'i insan ve insan dışı kaynaklardan, 38'inin yalnız insan dışı kaynaklardan izole edildiği bildirilmiştir (23, 27).

Kanatlı hayvanların önemli bakteriyel infeksiyonlarından birisi olan Salmonelloz'in teşhisinde kanatlı iç organlarından izole edilmesi büyük önem taşımaktadır. Alınan kontrol ve eradikasyon önlemlerine karşın hastalık halen bir çok ülkede ticari işletme kümeslerinde görülmektedir (3, 5, 8). Kanatlılarda *Salmonella* infeksiyonlarından gerek korunma gerekse tedavide antibiyotikler sık ve yaygın olarak kullanılmaktadır (5, 8, 9, 10). Ancak bu tip uygulamalar geçici çareler üretmekte tam manasıyla bir sağaltım ne yazık ki sağlanamamaktadır (2, 5, 8). Ayrıca, gereksiz ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı sonrası *Salmonella* direnç gelişmekte ve bu kazanılan direnç insan ve hayvan suşlarına aktarılabilmektedir . Antibiyotik direnci gelişiminde diğer önemli bir nokta ise insan infeksiyonlarının tedavilerinde görülen benzer hatalı uygulamalardır. İnsan ve hayvan infeksiyonlarında bu tip yanlış tedaviler sonrası dirençli suşların artması ile birlikte tedavi ve korunmada sorunlarla karşılaşılması kaçınılmazdır (11, 14, 15, 27).

1.2. Genel Bilgiler

1.2.1. *Salmonella*

1.2.1.1. Tarihçe

Salmonella, ilk defa tifoid basili olarak 1880 yılında Alman bakteriyologlar Koch ve Ebert tarafından tanımlanmış ve 1884 yılında Gaffky bu bakterinin kültürünü yapmayı başarmıştır (3, 4, 6). 1885 yılında Amerikalı bakteriyolog veteriner hekim Daniel E. Salmon domuz vebasına yol açan kolera basilini karakterize etmiş ve *Bacterium uipestifer* olarak adlandırmıştır. Adı geçen bakteri

sonradan *Salmonella* Cholerasuis olarak yeniden tanımlanmıştır (5, 7, 8). Paratifoid basil 1896'da Achard ve bensaud tarafından izole edilmiştir. *Salmonella* genusu ise Daniel E. Salmon'a ithafen Lignieres tarafından 1900 yılında adlandırılmıştır. *Salmonella* etkeninin laboratuvar koşullarında izolasyonu 1888 yılında Gaertner tarafından gerçekleştirilmiştir (27, 28).

1.2.1.2. Taksonomi ve Nomenklatur

Salmonella cinsinin sınıflandırılması ve adlandırılması son 100 yüzyıl içerisinde defalarca değişmiş ve henüz netlik kazanmamıştır. *Salmonella*'ların ad ve antijenik formüllerini belirli antijenlere göre gruplandıran Kauffman-White şeması ilk olarak 1929 yılında White tarafından yayınlanmış ve 20 serovar tanımlanmıştır (29). Daha sonraları bu şema Kauffman ile Le Minor tarafından geliştirilmiş ve binlerce yeni serovar eklenmiştir. White-Kauffman-Le Minor (WKL) serotiplendirme şeması 2010 yılında 2610 serovar içermekteydi (29, 30).

Günümüzde fenotipik benzerlikler, biyokimyasal özellikler ve moleküler temelli yöntemlerle yapılan sınıflandırmalar sonucunda *Salmonella* cinsi *Salmonella enterica* ve *Salmonella bongori* olarak iki alt türe ayrılmaktadır (29, 30). *Salmonella enterica* ise altı alt türe ayrılmaktadır. *Salmonella enterica* subsp. *enterica*'daki serovarlar özel adları ile, diğer alt türlere ait serovarlar alt tür sayısına işaret eden Romen rakamları ve antijenik formülasyon ile ifade edilir (30) (Tablo 1).

Tablo 1. *Salmonella* türlerinin ve alttürlerinin klasifikasyonu

			SEROVAR	
			SAYISI	ORANI
<i>Salmonella enterica</i> subsp.	<i>enterica</i>	(I)	1547	% 59.3
<i>Salmonella enterica</i> subsp.	<i>salamae</i>	(II)	513	% 19.7
<i>Salmonella enterica</i> subsp.	<i>arizonae</i>	(IIIa)	100	% 3.8
<i>Salmonella enterica</i> subsp.	<i>diarizonae</i>	(IIb)	341	% 13.1
<i>Salmonella enterica</i> subsp.	<i>houtenae</i>	(IV)	73	% 2.8
<i>Salmonella enterica</i> subsp.	<i>indica</i>	(VI)	13	% 0.5
<i>Salmonella bongori</i>		(V)	23	% 0.9
Toplam			2610	

Bilinen *Salmonella* serotiplerinin çoğu *Salmonella enterica* (I) alt türünde yer alır ve bu alt türe ait etkenlerin % 99'u insanlarda ve sıcak kanlı hayvanlarda *Salmonella* infeksiyonlarına yol açmaktadır. Diğer alt türlere ait serotipler soğuk kanlı hayvanlardan, çevreden ve seyrek olarak da insanlardan izole edilmektedir(30, 31).

CDC, *Salmonella enterica* (I)'da yer alan serotipler için adlandırma yapmaktadır. Bu adlandırmaya göre cins adı italik yazılır ve büyük harf ile başlar. Serotip adı italik yazılmaz ve büyük harf ile başlar. CDC'ye ait nomenklatür Tablo 2'de gösterilmiştir. Ayrıca, *Salmonella*'lar ilk izole edildikleri şehrin veya canlının adı ile tanımlanırlar (*S. enterica* subsp. *enterica* serovar Kentucky veya *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum). Ancak bu tip adlandırmalar pek kullanılmamakta, *Salmonella* etkenleri için çoğu bilimsel yayın ve kitapta kısaltma yoluna gidilmektedir (*Salmonella* Kentucky – *Salmonella* Gallinarum vb.) (29, 30, 31).

Tablo 2. CDC tarafından oluşturulan nomenklatür

TAKSONOMİK DURUM	GÜNCEL NOMENKLATÜR
Cins (İtalik)	<i>Salmonella</i>
Tür (İtalik)	<ul style="list-style-type: none">• <i>enterica</i> (I, II, IIIa, IIIb, IV, VI)• <i>bongori</i> (önceden alttür V olarak adlandırılırdı)
Serotip (İlk harf büyük – İtalik değil)	<ul style="list-style-type: none">• Serotip yazımda ilk defa kullanıldığında; serotip adı 'serotip' veya 'ser' kısaltmasından sonra kullanılır
<ul style="list-style-type: none">• Alttür I'de bulunan serotipler adları ile, alttür II, III, IV, VI ve S. Bongori'ye ait serotipler antijenik formülasyonla gösterilir.	

1.2.1.3. Mikrobiyolojik Özellikler

1.2.1.3.1. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

Enterobacteriaceae ailesinin genel özelliklerini taşıyan *Salmonella*'lar, fakültatif anaerop, hareketli (*Salmonella Gallinarum* ve *Salmonella Pullorum* hariç), 0,7 – 1,5 µm eninde ve 2 – 5 µm boyunda Gram negatif olarak boyanan peritriş flagellaya sahip çubuk şeklinde patojen bakterilerdir (1, 4, 6, 7, 8, 27, 28, 32). Spor ve kapsül (bazı Paratyphi B2 suşları hariç) oluşturmazlar. Gram negatif boyanma özelliğinde olup, metilen mavisi ve karbol fuksin gibi boyalarla da boyanırlar (3, 4, 6, 32).

Salmonella suşlarının çoğu fimbria sentezlemektedir. Suşların genelinde Tip 1 fimbria yapımı görülmekle beraber, Tip 2 ve Tip 3 fimbria sentezine de rastlanmaktadır. Şimdiye kadar *Salmonella* genomunda 35 farklı fimbriyal gen kümesi tespit edilmiştir (1, 4, 6, 27).

1.2.1.3.2. Kültür Özellikleri

Salmonella'lar 2 - 47°C sıcaklık aralığında ve pH 4 - 9 aralıklarında üreyebilirler ancak optimal üreme şartları; ısı 37°C ve pH 7,4'tür. Flagella ve fimbriyalarını olumsuz sıcaklık ve pH koşullarında kaybedebilirler (28, 33, 34, 36). Tuz oranının % 2'den yukarı olduğu ortamlarda *Salmonella*'ların üremesi inhibe olmakla beraber, artan ısı ile tuza karşı dirençlerinin yükseldiği saptanmıştır (33, 35).

Salmonella suşlarında, çoğunlukla diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri gibi düzgün (smooth, S) koloni morfolojisi görülmesine rağmen mukoid (M) koloni gelişimi de saptanabilmektedir (27, 33). M koloni oluşturma olasılığı *Salmonella* Paratyphi B gibi bazı serovarlarda düşük ısı, nem ve yüksek ozmolarite koşullarına bağlı olarak artmaktadır (33, 34).

Özel geliştirme faktörlerine ihtiyaç duymadan kolay ve çabuk ürerler. Rutin çalışmalarda kullanılan bir çok besiyerinde üreme yetenekleri vardır (1, 6, 7, 33-36). Nutrient agar'da (NA) 37°C'de / 24-48 saat inkübasyon sonrası 2-4 mm çapında, yuvarlak, S tipi, hafif şişkin ve parlak koloniler oluştururlar (1, 4, 28, 33). Mac Conkey (MC) agar'da kenarları düzgün, renksiz; kanlı agarda (KA) ise gri ve nemli görümlü koloni saptanması *Salmonella*'lar için tipiktir . Buyyonda homojen bir yapıda olan hafif bir bulanıklık meydana getirirler (33-35).

1.2.1.3.3. Biyokimyasal Özellikleri

Salmonella'lar oksidatif ve fermentatif bakterilerdir ve laktoz negatif, hidrojen sülfür (H₂S), sitrat ve lizin dekarboksilaz pozitif nitelik taşırlar. Glukoz, mannitol ve bazen sorbitolden asit ve gaz oluşturarak (*Salmonella* Gallinarum ve *Salmonella* Typhi türleri gaz oluşturmazlar) fermentasyon yaparlar (4, 5, 7, 33). Sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanırlar, üç şekerli demirli besiyesinde (Triple Sugar Iron Agar – TSI Agar) H₂S meydana getirirler (*Salmonella* Choleraesuis'in bazı suşları ve *Salmonella* Paratyphi A'nın birçok suşu hariç), lizin ve ornitini dekarboksile ederler (15, 33, 35). Üreaz enzimlerine sahip olmadıkları için üre hidrolizi gerçekleştiremezler ve indol oluşturmazlar (32).

1.2.1.3.4. Antijenik Yapı

Salmonella'lar sahip oldukları O, H ve Vi antijenlere göre serogrurlara ve serovarlara ayrılmaktadır (1, 4, 7, 27, 32).

1. O antijeni : Isıya ve alkole dayanıklı, formole dayanıksız hücre duvar polisakkaritidir. O antijenleri; O grup antijenleri ve yardımcı O antijenleri olarak ikiye ayrılmaktadır. O grup antijenleri, rfb gen bölgesi tarafından kodlanan bütün *Salmonella*'larda bulunan ve serotiplendirmede kritik rolü oynayan antijen alt tipidir. O antijeni yardımıyla *Salmonella* 'lar 60'dan fazla serogruba ayrılmışlardır (28, 33).

2. H antijeni : Flagellin adı verilen protein yapısındaki alt birimlerden oluşan ısıya duyarlı ve formole dirençli kirpik antijenidir. Faz -1 ve Faz -2 olarak nitelenen iki değişik antijenik yapıya sahip olduğu için difazik antijen olarak adlandırılır (27). Faz-1 antijeni diğer enterik bakterilerle benzerlik gösterirken, Faz-2 antijenini kodlayan gen *Salmonella* genomuna spesifiktir. *Salmonella*'lar H antijenlerinin yardımıyla serovarlara ayrılır (33, 35).

3. Vi antijeni : Yüzeysel bir antijen olan Vi antijeni polisakkarit yapıda olup O antijeninin dışında bulunur. *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A ve *Salmonella* Dublin suşlarında bulunur (6, 34). Bu antijen, O antijenini maskelediği için bakteri anti-O serumları ile aglütine olmaz. Bundan dolayı Vi antijeni taşıyan suşlar 60°C'da ısıtılır ve Vi antijenin ortamdaki uzaklaşması sağlanır (32, 33).

1.2.1.3.5. Kimyasal ve Fiziksel Ajanlara Duyarlılık

Salmonella lar, %70'lik etanol, %2'lik gluteraldehid, iyot bazlı dezenfektanlara ve formaldehite karşı oldukça duyarlıdır. Nemli ısıda 121°C'de 15 dakikada ve kuru ısıda ise 160-170 °C'de 1 saatte aktivitesini kaybeder. *Salmonella* lar % 8 tuz konsantrasyonuna sahip sularda canlı kalabilir ancak suların dezenfeksiyon amaçlı klorlanması sonucu yok olurlar (28, 32, 37).

1.2.1.3.6. *Salmonella*'ların Bazı Çevresel Koşullarda ve Gıdalarda Canlı Kalma Süreleri

Salmonella'ların gıda kaynaklı infeksiyonlarda ilk sıralarda yer almasının en başta gelen sebeplerinden birisi, etkenin çevresel koşullara karşı gösterdiği yüksek düzeydeki dirençtir. Bakteriler, toprakta 360-480 gün, kanatlı altlığında 150-160 gün, kanatlı gübresinde 30-40 gün, çeşme suyunda 60-70 gün ve atık sularda 500-1000 gün canlılığını muhafaza edebilmektedir (6, 32).

Salmonella etkenleri, ısıya duyarlı (55°C de 20 dakikada ölür) olmasına karşın soğuğa karşı dirençlidirler. *Salmonella*'ların taze ette 14 gün, donmuş ette (-20°C) yaklaşık 1500 gün, kurutulmuş yumurtada yaklaşık 4700 gün ve dondurulmuş tavuk gövdelerinde ise 400 günden fazla süreyle aktivitelerini korudukları saptanmıştır (28, 32, 36).

1.2.1.4. Epidemiyoloji

Epidemiyolojik olarak sınıflandırıldığında *Salmonella*'lar üç sınıfa ayrılır. Birinci sınıfta sadece insanlarda patojen olan *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi C* ve *S. Sendai* bulunur. İkinci sınıfta bulunan konakçı spesifik etkenler *S. Pullorum* / *Gallinarum* (tavuk, hindi, bıldırcın, güvercin, serçe, papağan vb.), *S. Abortusequi* (atlar), *S. Abortusovis* (koyunlar), *S. Dublin* (sığır) ve *S. Cholerasuis* (Domuz)'ten oluşur. Üçüncü sınıf ise aralarında *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis*'in de içinde bulunduğu konakçı bağımsız ve gıda zehirlenmelerinde ön plana çıkan etkenleri kapsar (1, 7, 33). İnsanlara bulaşta başlıca yol fekal-oral yoldur ancak son yıllardaki araştırmalar nadir de olsa insandan insana bulaşın oral-anal yol ile de olabileceğini ortaya çıkarmıştır (4, 6). Salmonellozlu hastalar ve taşıyıcılar dışkı, idrar ve diğer salgılarıyla ortama bol miktarda etken bırakırlar (33, 34). Hastalığın temel bulaşma

mekanizması hasta ya da taşıyıcıların dışıklarının bulaştığı gıda ve sularla gerçekleşmektedir (1, 7, 34). Alt yapının yetersiz ve sağlıklı olmadığı yerlerde, kanalizasyon sularının içme ve kullanma sularına karışması neticesinde salgınlar gözlenir (1, 7, 32, 33). Kontamine suların içilmesi, kullanılması, bu tip sulara maruz kalan meyve, sebze ve kabuklu deniz ürünlerinin yenilmesi, kirli suların sütlere katılması ile de bulaşma görülür (4, 7, 11). Amerikan Federal İlaç ve Yiyecek Dairesi (Federal Drug and Food Administration-FDA) tarafından yapılan son araştırmalar sonucunda ithal edilen baharat çeşitlerinde % 4,3 - 31 arasında değişen oranlarda *Salmonella* tespit edilmiştir (12, 15, 19, 34).

İnfekte olmuş bireylerin kişisel eşyalarına dokunmak, ortak kullanmak ve ellerine temas sonucu hastalık ortaya çıkabilir. Sinekler ve böcekler etkenleri mekanik olarak yiyecek ve içeceklerle bulaştırabilir (3,5). Hastane kaynaklı salmonelloz olguları oldukça nadirdir ancak laboratuvar çalışanları için etkenler önemli bir risk oluşturmaktadır (6, 34).

Salmonella serotiplerinin büyük bir çoğunluğu hayvanlar arasında infeksiyonlara neden olur. Etkenler en sık çiftlik hayvanlarını etkilerler ve ciddi klinik tablolara yol açarlar (2, 3, 5, 28, 45, 46) . Kümes hayvanlarının sürüler halinde beslenmesi, kontamine yemler ve sular, mezbaha artıkları, hastalık taşıyan yabani hayvanlar, kuşlar, kemiriciler, sinekler ve böcekler hayvanlarda infeksiyon oluşma siklusunun ana basamakları ve nedenleridir. (11, 12, 14, 43, 44, 47). *Salmonella*'ların kanatlı etlerine ve yumurtalarına bulaşmasında dışkı ile kontaminasyon önemli bir yer tutar (32, 38, 39, 40, 42, 45). İnsanlara bulaşmada kanatlı ürünleri dünya çapında primer kaynak olarak kabul edilmesine rağmen sığır, koyun ve domuz ürünlerinin de diğer önemli infeksiyon kaynakları olabilecekleri gözönünde bulundurulmalıdır (41, 44). Bunlara ek olarak evlerde beslenen kedi, köpek, kuş, kemirgen ve sürüngenlerin insanlara etkenleri bulaştırmada alternatif rezervuarlar olabileceği tespit edilmiştir (1, 6, 11, 15, 28, 48, 49).

1.2.1.5. Patogenez

Salmonella türleri fakültatif hücre içi aktivite gösteren bakterilerdir ve diğer enterik patojenlerin aksine tüm türleri virulan olarak kabul edilir (1, 6, 7, 33, 34). Suşlar; gastroenteritten, tifo, bakteriyemi, fokal infeksiyonlar ve yaşam boyu taşıyıcılık durumuna kadar farklılaşabilen geniş bir hastalık spektrumuna yol

açabilmektedir (33, 34, 37, 49). İnsanlar ve hayvanlar için en önemli bulaş yolu fekal-oral yoldur. *Salmonella* infeksiyonu insanlarda ve diğer canlılarda 30 ile 10⁹ bakterinin vücuda alınması ile başlar. İnfeksiyonun tipi ve derecesi, suşun virülansına, başlangıç dozuna, konağın duyarlılığına ve infeksiyon kaynağına göre değişebilmektedir (6, 7, 49, 50). Suşun virülansı, etkenlere ait olan virülans faktörleri tarafından belirlenir. Son araştırmalar *Salmonella* cinsi içerisinde 40'ın üzerinde virülans faktörünün olduğunu göstermiştir (50, 51, 53, 54). İnsanlarda konakçı duyarlılığını belirleyen en önemli etmenler yaş ve bağışıklık durumudur. İnfeksiyon şiddetinin, bağışıklığı baskılanmış olgularda, yenidoğanlarda, bebeklerde ve yaşlılarda artma eğiliminde olduğu gözlenmiştir (1, 6, 33, 34). Hayvanlarda ise yaşın hastalık üzerine etkisi oldukça fazladır. Özellikle kanatlı hayvanların yaşamının erken dönemlerinde (1-3 gün) *Salmonella* infeksiyonları çok kötü bir prognoza sahiptir (8-10, 53, 54).

Salmonella'lar çok çeşitli infeksiyonlara neden olmakla birlikte en sık rastlanan tablo gastroenterittir (52, 53, 54). Her serotip gastroenterit oluşturma potansiyeline sahiptir ve virülans faktörleri serotipler arasında farklılık gösterir (52, 53). Virülans faktörleri hem bakteriyel kromozomda hem de plazmidde bulunur. *Salmonella* kromozomunda bulunan 3000'den fazla genin 150-200 adedinin etkenin virülansında rol aldığı düşünülmektedir (52, 53, 54, 55, 57).

Salmonellozun canlılarda sebep olduğu sistemik ya da sistemik olmayan infeksiyon tablolarının moleküler düzeyde araştırılmasında model organizma olarak gıda zehirlenmelerinin en önemli etkeni olan *Salmonella* Typhimurium kullanılırken, en yaygın kullanılan konak ise fare model sistemleri olmuştur (5, 9, 10, 50, 51).

Salmonella cinsinin patojenitesi temel olarak etkenlerin özellikle makrofajlar gibi fagositik hücreler içinde çoğalma ve yaşamını devam ettirebilme kapasitesine bağlıdır (49, 51). Hücre içi çoğalma, gastroenterit ve sistemik infeksiyonların başlıca tetikleyicisi olup, özellikle hayvanlarda hastalığın ilerleyen safhalarında daha yaygın olarak göze çarpmaktadır (49-51, 58, 60).

Kontamine gıda veya suların alınmasından sonra bakteriler ilk olarak ince barsağın ileoçekal valve yakın bölümü olan ileuma spesifik bakteriyel adhezinler aracılığıyla tutunur ve mukozal hücreler üzerinde kolonize olurlar (3, 49, 50). Bu aşamayı Peyter plakları bölgesindeki M hücrelerinin ve enterositlerin bakteriyel

invazyonu takip eder. İnvazyon ile intestinal içeriğin akışkanlığı ve elektrolit dengesi değişir. Bu değişimler sonrası diyare ortaya çıkar (49-51, 60).

İnvazyon sonrası etken ileumun apikalinden bazolateral bölümüne ilerler. Daha sonra ekzositoz ile lamina proprianın hücreler arası boşluğuna girer ve burada farklı fagositik hücreler (makrofaj, dendritik hücreler ve polimorf nüveli lökositler) tarafından hücre içine alınarak, mezenterik lenf nodülleri arasında bulunan eferent lenf damarları ile yayılır (50, 51, 53). Yangı ve fagositozu takiben B ve T lenfositlerin bölgeye migrasyonu gerçekleşir. İnfekte olan fagositler lenf ve kan dolaşımı ile bakterinin karaciğer ve dalağa kadar gitmesine ve bazı durumlarda safra kesesi, mezenterik lenf nodüllerinde ve kemik iliğinde de yaşamasına ve çoğalmasına olanak verir (36, 49, 53, 60).

Salmonellozda doku hasarları, nötrofiller aracılığıyla proteaz, miyeloperoksidaz ve NADPH oksidaz enzimlerinin salgılanması sonucunda oluşmaktadır. Çok seyrek görülmekle birlikte, etkenler makrofaj yanıtı oluşumundan önce kan dolaşımına geçebilmekte ve böyle bir durumda septik şok ve ölümlerle karşılaşabilmektedir (28, 32, 58-60).

1.2.1.6 Virülans

Salmonella türlerinde invazyondan, hücre içi yaşamdan, barsak dışı yayılımdan ve klinik tablodan virülans faktörleri sorumludur (52-56) .

1.2.1.6.1. Virülans Faktörleri

1.2.1.6.1.1. *Salmonella* Patojenite Adaları

Salmonella Patojenite Adaları (SPA) , bakteri kromozomları üzerinde yerleşik 10-200kb arasında değişen büyüklüklere sahip genomik alanlar olup, etkene ait virülans faktörlerini kodlayan çok sayıda gen kümesi ihtiva eder (52-54, 56). Bu gen kümelerinin horizontal gen transferi ile *Salmonella* dışı cinslerden kazanılmış olduğu düşünülmektedir. Gram (-) ve Gram (+) bakterilerde bulunabilirler (60, 61). SPA'lar kromozom veya plazmitler üzerinde yerleşirler. İnsersiyon sekansları, transpozonlar ve faj genleri gibi hareketli genetik yapılardır (54, 56, 60). SPA'ların genellikle guanin + sitozin içeriği (% 37 - 47 arasında) geriye kalan bakteriyel

kromozomun guanin + sitozin içeriğinden (% 52) düşüktür ve tRNA genlerinin içerisine yerleşmiş durumdadır (61, 62). Bu yüzden SPA'ların kökeni bilinmeyen faj veya plazmitlerden horizontal gen tranferi ile edinilmiş olması muhtemeldir (61). Böylece diğer etkenlerden gelen kompleks virülans özelliklerini kolaylıkla kazanarak; daha geniş bir konak spektrumuna sahip olur ve farklı dokularda kolonize olabilirler. Bu adalar yardımıyla bakteriler makrofajlar, dendritik ve epitelyal hücreleri infekte ederler (61, 62).

SPA'lar yapılarında ve görevlerinde bir çok farklılık gösterebilir de temelde bir çok özellikleri ortaktır. Adalar, çoğunlukla genetik anlamda dengesizdir ve bu durum integraller, transpozazlar ve bakteriofaj genleri gibi DNA hareketliliğine neden olan genomik birimlerle ilişkilidir (61). SPA'ların varlığı yada yokluğu *Salmonella* serotipleri arasında değişkenlik gösterir. Bazı SPA'lar cins içinde korunurken, bazı adalar serotip spesifikliğı gösterir. Bugüne kadar 16 adet SPA [SPA 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, *Salmonella* Genomik Ada (SGA) ve Yüksek Patogenite Adası (YPA)] varlığı tanımlanmıştır (61-63) .

1.2.1.6.1.2. *Salmonella* Patogenite Adası-1 (SPA -1)

En iyi karakterize edilmiş patogenite adasıdır (marcus) *Salmonella* Bongori ve enterica'nın tüm alt türlerinde mevcuttur. SPA-1 yaklaşık 43 kb büyüklüğündedir, herhangi bir tRNA geni ile ilişkili değildir ve diğer patojen etkenlerden horizontal gen tranferi yoluyla kazanılabilmektedir (61,62).

Tip III Sekresyon sistemi (T3SS), SPA-1 tarafından kodlanan, temelde konakçıda intestinal infeksiyonunun başlatılmasından ve invazyondan sorumlu 20'den fazla efektör protein içeren kompleks bir sistemdir (61). T3SS, sekresyon sistemi olarak adlandırılmasına rağmen adeta moleküler bir şırınga gibi hareket ederek bakteriye ait virülans faktörlerini direkt konakçı hücrelerine transfer eder (55, 61). Bu sistem ATP'den bağımsızdır ve Gram (-) bakterilere özgüdür. *Salmonella*'larda bulunmasının yanısıra *Escherichia coli*, *Shigella* spp. ve *Yersinia* spp. gibi bakterilerde de bulunur (62).

T3SS kompleksinin temel yapısı *Salmonella*'nın hücre membranı ve duvarı boyunca uzanır ve iğne benzeri bir yapı meydana getirerek bakterinin konak hücre ile etkileşimini sağlar. Temel ve iğne yapı içerisinde yer alan ve PrgH ile PrgK

proteinlerinden oluşturulan iç halka kısmı, bakteriyel sitoplazma ve konak hücre membranı arasında bir oluk meydana getirir (28, 62). T3SS yapısının sitoplazma tarafında ATPaz kompleksi içeren ve InvA, InvC, SpaP, SpaQ, SpaR ve SpaR protein alt ünitelerinden oluşan bir dışa-atım makinesi bulunur ve bu makine iç halka kısmı ile bağlantılıdır (62). Bu makinenin fonksiyonu iç halka kısmı yoluyla efektör proteinleri konak hücre membranında bulunan translokaz yapısına nakletmektir. Ayrıca bakteri hücresinin dış membranında yer alan ve InvG – InvH proteinlerinden oluşan dış halka kısmı, iç halka kısmı ile bağlantılıdır. Dış halka kısmı regülatör protein InvJ yardımı ile stabilize edilir (61). Tamamlanan temel yapı, sırasıyla PrgJ ve PrgI protein alt ünitelerinden oluşan iğne ve içsel olukların bir araya gelmesini sağlar. T3SS'in ana regülatör proteini, salınımı bir çok çevresel etmen tarafından regüle edilen ve hücre sağ kalımı için önemli olan HilA'dır (56, 62, 63). Bakteriyel sitoplazmada şaperon molekülleri efektör proteinlere bağlanır ve onlara dışa-atım makinesine kadar eşlik ederler. Daha sonra ATPaz şaperon moleküllerden efektör proteinleri ayırır ve proteinlerin konak hücre içine transferini sağlayacak olan oluk içerisine yerleşmesini sağlar (55, 56, 63). İnositol fosfataz yapısında olan ve salmonellozun karakteristik bulgusu olan diyareye yol açan SopB proteini, konak hücre iskelet yapısını değiştirerek bakterinin hücreye girmesini kolaylaştırır. Sop B'ye ilave olarak SipA, SipC ve SopE efektör proteinleri hücre iskeletinde bulunan aktinlerle etkileşerek membranda yeni düzenlemeler yaparlar. Düzenleme sonrası membranda gelişen kıvrılmalar ve katlanmalar sonucunda oluşan veziküler yapı bakteriyel etkenleri sarar ve konak hücre içine alınmasına öncülük eder (54, 61, 62). Oluşan bu veziküler yapı *Salmonella* içeren vakuol (*Salmonella* containing Vacuol-SCV) olarak tanımlanır (63). Bunlara ek olarak SPA-1 tarafından kodlanan ve T3SS'de bulunan InvA ve InvE genleri de konak hücrenin işgalinden sorumludurlar. (52, 53, 61). T3SS'nin dış membranında yer alan InvG, protein salınımı ve etkenin hücre içine alımında önemli bir yere sahiptir. Bakterilerin konak hücrelerine tutunmasında non-fimbriyal adezinler görev alır ve bu yapıları da InvH kodlar (56, 61, 63).

1.2.1.6.1.3. *Salmonella* Patojenite Adası-2 (SPA -2)

Salmonella konakçı hücreleri içerisinde, SCV'lerde yaşar ve replike olur. Bakteri hücre içine alındıktan sonra SPA-2 görevi başlar (61). SPA-2, 40 kb büyüklüğünde olup kodlama sistemi 32 gen içerir. (62-64). Temel görevi sistemik enfeksiyonu gerçekleştirmek ve konakçı hücrelerinde çoğalabilmesini sağlamaktır (61). Bu ada en az iki alt bölüm içerir, bunlardan ilki sadece *Salmonella* Enterica'da mevcuttur, 25kb büyüklüğündedir ve sistemik patogeneze sorumludur. Ayrıca, bu bölüm tarafından kodlanan ikinci bir Tip III sekresyon sistemi, *Salmonella* efektör proteinlerin konakçı hücrelerine yerleşmesini aktive eder ve etkeni konak immun sisteminin etkilerinden korur (64,65). İkinci alt bölüm ise 15 kb büyüklüğündedir, *Salmonella* Bongori ve Enterica'da bulunur. Bu alt bölümün sistemik virülansa katkısı belirgin değildir ve anaerobik solunum için elzem olan tetrathionate redüksiyonunda görev alan genlere sahiptir (64, 66). Sif A, Sif B, SpiC, PipB, SseF, SseG gibi değişik fizyolojik görevlere sahip bir çok efektör protein ada yapısında bulunur (67). Bu efektörlerin, vakuol transportunu engellemek, apoptosis benzeri hücre ölümünü geciktirme, makrofajlar tarafından gerçekleştirilen NADPH'a dayalı saldırılardan kaçınma, hücreler arası alışverişi engelleme ve SCV membran dinamiklerini regule etme gibi görevleri vardır (66, 67).

1.2.1.6.1.4. *Salmonella* Patojenite Adası-3 (SPA - 3)

SPA-3, 17 kb büyüklüğünde *Salmonella*'ya özgü bir insersiyondur (53, 54, 61). Mozaik bir yapıya sahiptir ve *Salmonella* Bongori, *Salmonella* Typhi ve *Salmonella* Typhimurium türlerinde bulunur (55, 56, 61). SPA-3 temel virülans faktörü mgtc geni tarafından kodlanan yüksek afiniteli magnezyum transport sistemi (MgtS)'dir. Bu sistem sayesinde bakteriler beslenme sınırlamaları olan intrafagozomal habitata adapte olabilmekte ve bu şekilde ökaryot hücreler ve makrofajlar içerisinde hayatta kalabilmektedir (56, 61, 63).

1.2.1.6.1.5. *Salmonella* Patojenite Adası-4 (SPA -4)

SPA-4, yaklaşık 27 kb büyüklüğündedir ve tRNA'ya benzerlik gösteren ssb genine bitişik olarak yer almaktadır. SPA-4 mozaik bir yapıya sahiptir ve *Salmonella* Bongori ve *S. Enterica*'nın alttürlerinde bulunur (56). Bu ada epitelyal hücrelere

adezyona aracılık eder ve *Salmonella* barsak infeksiyonu genlerini (*SiiA*, *SiiB*, *SiiC*, *SiiD*, *SiiE* ve *SiiF*) kodlar (63). Bu genler tarafından kodlanan proteinlerin toksin sekresyonuna aracılık fonksiyonu bulunan Tip I sekresyon sistemini oluşturdıkları tespit edilmiştir (62). Ayrıca, sentezlenen proteinlerin bakterilerin makrofajlar içinde hayatta kalmasını sağladıkları görülmüştür. SPA-4'ün primer işlevleri ise sitotoksin sekresyonu ve hücreyi apoptoz sürecine sokmasıdır (61,62).

1.2.1.6.1.6. *Salmonella* Patojenite Adası-5 (SPA-5)

SPA-5 yaklaşık 7,6 kb'lık küçük bir lokustur. SPA-5 mozaik bir yapıdadır ve *Salmonella* Bongori ve Enterica'nın alttürlerinde bulunur (56, 62). Bu ada, SPA-1 ve SPA-2'nin aracılık ettikleri Tip III sekresyon sisteminin etken proteinleri olan SopB ve SigD'yi kodlar. SPA-5'in enteropatojeniteden sorumlu olduğu belirlenmiştir (61,63).

1.2.1.6.1.7. Virülans Plazmidleri

Bu plazmidler önemli virülans genlerine taşıyıcılık yaparlar. Bu plazmidlerin virülansa en büyük etkisi, bakterilerin dalak ve karaciğerde üreme oranlarını yükselterek, sistemik infeksiyonları meydana getirmeleridir (57). Virülans plazmidleri bir çok farklı *Salmonella* serotipinde bulunur ancak temel ayırım sahip oldukları farklı büyüklüklerdir (53). Örnek olarak *Salmonella* Typhimurium 95 kb, *Salmonella* Enteritidis 80 kb, *Salmonella* Dublin 80 kb, *Salmonella* Cholerasuis 50-110 kb büyüklüğünde plazmidlere sahiptir (54,57). Virülans plazmidlerinin 8 kb'lık *spv* (*Salmonella* plazmid virülansı) lokusu tüm plazmidlerde bulunur ve beş gen ihtiva eder. Bu genler; *spv R*, *spv A*, *spv B*, *spv C* ve *spv D*'dir. *Spv R* regülatör genidir ve diğer genlerin ekspresyonundan sorumludur (53, 56, 57). *Spv A* geni, *spv A-D*'nin içinde organize oldukları operonun negatif düzenleyecisidir. *Spv B* geni ise ADP ribozil transferazı sentezler ve konakçı hücreye ait hücrelerin iskeletini deforme eder. Son yapılan araştırmalar, septisemi gibi geç gelişen infeksiyonlarda *spv* genlerinin kritik bir role sahip olduğunu göstermiştir (57).

1.2.1.6.1.8. Sideroforlar

Bakteriyel etkenler üremek ve hayatta kalmak için mikromolar düzeyde demire ihtiyaç gösterirler. *Salmonella*'lar demir gereksinimlerini, enterobaktin ve salmochelin adında iki ayrı tip siderofor (Demir bağlayıcı düşük molekül ağırlıkta bileşikler) üreterek giderirler (68). Sideroforlar yalnızca demir bağlama kapasitesinin çok düşük olduğu hallerde eksprese edilirler. Makrofajlar tarafından salgılanan interlökin-1, demir bağlama kapasitesi olan protein üretimini attırır (69). *Salmonella*'ların demir moleküllerini bağlama istekleri arttıkça, konakçı hücrelerine daha yoğun invaze olurlar ve buna bağlı olarak etkenin virülansı yükselir (68, 69).

1.2.1.6.1.9. Toksinler

Salmonella türleri endotoksin ve ekzotoksin olmak üzere iki farklı tipte toksin üretirler (33, 34).

Endotoksinler, *salmonella*'ların dış membranında bulunan lipopolisakkarit (LPS) yapısından köken alan toksinlerdir (34, 56). LPS yapısına toksik özellik kazandıran Lipid A bölümü, nötrofilleri uyararak integrinleri, endotel hücrelerini uyararak selektinleri, makrofajları uyararak sitokin oluşumunu aktive ederler (33). Bu aktivasyon mekanizmaları immün yanıtın temel taşlarını oluştururlar (56).

Ekzotoksinler, sitotoksinler ve enterotoksinler olmak üzere iki gruba ayrılırlar (34). Sitotoksinler ısıya dayanıklı toksinler olup, protein üretiminin inhibisyonunda görev alırlar ve barsak hücrelerinde dejenerasyona neden olurlar (56,74). Enterotoksinler ise ısıya duyarlı protein yapısında olan enzimlerdir. Barsak epitelyal hücrelerinde salgısal tepkiyi artırır ve barsak içerisinde sıvı toplanmasına yol açarlar (74).

1.2.1.6.1.10. Fimbria

Fimbria (Pilus) 2-8 nm genişliğinde 0.5-10 nm uzunluğunda bakteri hücresinin yüzeyinde bulunan ve temelde fimbrin adı verilen proteinlerin tekrarlayan helikal düzenlenmesiyle oluşan filamentöz uzantılardır (70, 71). Yüzeyde tüm yönlere ışınsal uzanım gösterirler ve sayıları yüzlerle ifade edilir. Bu organeller

bakterinin mukozlara tutunmasını sağlar ve bu aşama bakterinin konak hücreye yerleşmesindeki temel basamaktır (71).

Tip 1 Fimbria: Mannoz duyarlı fimbria olarak tanımlanır. *Salmonella*'ların biyofilm oluşturmada rol oynadıkları belirlenmiştir (70).

Plazmid Kaynaklı Fimbria (Pef): Plazmid tarafından kodlanan bu fimbria enterositlerin mikrovillilerine etkenlerin bağlanmalarına aracılık eder. Yapılan fare modeli araştırmalarda yavru farelerde ince barsaklarda sıvı birikmesinden sorumlu olduğu tespit edilmiştir (70).

Thin Aggregatif Fimbria (Curli): Etkenlerin villilere ve birbirlerine bağlanmalarına yardımcı olur. Bazı çalışmalar sonucunda *Salmonella* Enteritidis serotiplerinin biyofilm oluşturma yeteneğini arttırdıkları görülmüştür (70, 71).

Diğer fimbrialar : Lpf 14, SEF 14 ve Tip IV

1.2.1.6.1.11. Flagella

Etkenlerin hareketinden sorumlu olan çoklu protein yapısında olan filamentöz organellerdir. Bazal yapı, kanca ve filament olarak tanımlanan 3 alt bölümden oluşurlar (72). *Salmonella*'ların patogenezinde, hücrelere invazyonunda ve adhezyonlarında rol oynadıkları belirlenmiştir (72,73).

1.2.1.7. *Salmonella*'ların Neden Olduğu İnfeksiyonlar

1.2.1.7.1. İnsanlarda Neden Olduğu İnfeksiyonlar:

Salmonella'lar vücuda alındıktan sonra 4 tip klinik tablo ortaya çıkar (1, 6, 7, 34) :

1. Tifo veya paratifo (Enterik Ateş)
2. Gastroenterit
3. Septisemi veya lokal organ infeksiyonları
4. Taşıyıcılık

1.2.1.7.1.1. Tifo ve Paratifo (Enterik Ateş)

Salmonella Typhi'nin oluşturduğu infeksiyon tifo, *Salmonella Paratyphi A*, B ve C'nin neden olduğu infeksiyon paratifo olarak adlandırılır (6, 76). Benzer klinik tablolar oluşturmalarına rağmen, paratifo tifodan daha hafif seyirlidir. Tifo komplikasyonlarla seyreden ağır ve uzun süren bir hastalıktır (1, 33, 34, 75, 76).

Ağız yoluyla alınan kontamine olmuş gıdalar ve sular ile infeksiyon başlar. Etkenler ince barsağa ulaşır ve buradan kan ve lenf dolaşımına ,geçerek birçok organa dağılırlar (6). Bakteriler, barsak lenf dokusunda çoğalarak dışkı ile çıkartılırlar. Tifonun inkübasyon süresi 10-14 gündür, ancak alınan bakteri miktarı ve konağın durumu inkübasyon süresini etkiler (1, 34, 76).

Kuluçka süresi sonrası birinci haftada grip benzeri semptomlar görülür. İnfeksiyonun ikinci haftası ile birlikte ateş yükselerek bir noktada sabitlenir, dalak ve karaciğer büyür (1). Lökopeni tipik bulgudur ve sedimentasyon hızı yükselir. Bazı olgularda karın ve göğüste rose lekeleri görülür. Genel durum kötüleşir, bilinç bulanıklaşır. Ağır durumlarda ruhsal bozukluklar, delirium ve ajitasyon görülür (34, 75). Yüz soluk, dudaklar kuru, çatlak ve dil paslı bir görünümündedir. Dışkıda kan saptanabilir. Rölatif bradikardi tespit edilir. Bu haftada herhangi bir komplikasyon gelişmezse üçüncü ve dördüncü haftalarda klinik seyir hafifler ve iyileşme dönemine girilir (1, 7).

Tifoda paratifodan daha sık komplikasyonlar görülür. En sıklıkla karşılaşılan komplikasyonlar relaps, barsak perforasyonu, barsak kanaması ve infeksiyon taşıyıcılığıdır (1, 7, 34, 75). Etkili antibiyotikler keşfedilmeden önce % 10-15 oranında seyreden ölüm oranı, günümüzde %1'in altına düşmüştür (1).

1.2.1.7.1.2. Gastroenterit

En sık karşılaşılan *Salmonella* infeksiyonu tablosudur. Gastroenterit tablosuna en sık *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium neden olur. Bulaşta et, süt ve yumurta gibi hayvansal ürünler başlıca kaynaktır. İnkübasyon süresi 2 – 48 saattir (1, 6, 34, 35). Ani başlar ve ilk görülen semptom kusmadır. Kusmayı tipik belirti olan ishal takip eder. İshalin yanısıra ateş görülür. Hastalığın prognozu iyidir ve kendi kendini sınırlayan bir infeksiyon halinde ilerler (35, 75). Bağışıklık yetmezliğine neden olan bir rahatsızlık olmadığı takdirde hastalar için

sıvı- elektrolit tedavisi yeterli olmaktadır. Kesin tanı dışkıda *Salmonella* türlerinin izole ve identifiye edilmesiyle konur (1, 6, 7, 35).

1.2.1.7.1.3. Septisemi ve Lokal Organ İnfeksiyonları

Ağız yoluyla alınan etkenlerin, hızla kana karışması, çeşitli organlara yayılması ve yerleşmesi ile gelişen infeksiyon tipidir. Gastroenterit sonrası bireylerin yaklaşık % 5'inde görülen ve öldürücü seyir izleyebilen bir tablodur (22). En sık izole edilen serotipler *Salmonella* Paratyphi C, *Salmonella* Cholerasuis ve *Salmonella* Typhimuriumdur. Etkenlerin serotipi, virülansı ve bireylerin immun durumu infeksiyonun gelişiminde rol oynar (1, 7, 33, 75). Uzun süreli ateş görülür (1, 6). Bakterilerin invazyonuna maruz kalan organa veya sisteme göre belirtiler ortaya çıkar. Pyelit, pyelonefrit, artrit, menenjit, peritonit, perikardit, endokardit ve karaciğer abseleri şekillenebilir (7, 75, 78). Yetişkinlerde ekstraintestinal yerleşime bağlı gelişen infeksiyonlar çocuklara kıyasla daha ciddi ve yaygın seyredir. Yetişkinlerde septisemiye bağlı olarak gelişen en korkulan komplikasyon abdominal aortayı tutan infeksiyöz endarterittir. Septisemi ve lokal organ infeksiyonlarında önerilen tedavi süresi 4 ile 6 haftadır (78, 79). Ancak, orak hücre anemisi olan hastalarda osteomyelit ve eklem infeksiyonlarının tedavisi oldukça güçtür (22).

1.2.1.7.1.4. Taşıyıcılık

İshal belirtisi olmadan dışkıda *Salmonella* izole edilmesi taşıyıcılık olarak tanımlanır. Taşıyıcılık, geçici veya nekahat taşıyıcılığı ile kronik veya kalıcı taşıyıcılık olarak sınıflandırılır (1, 6, 27, 79). Bir yıldan kısa süreli taşıyıcılık geçici taşıyıcılık olarak nitelendirilirken, kronik taşıyıcılıkta bireyler bir yıldan daha uzun süreyle dışkı ve idrar ile bakterileri atarlar. Tifo vakalarının % 3 ünde kronik taşıyıcılık tespit edilir. Taşıyıcılık 40-60 yaş arasında ve kadınlarda daha sık rastlanan bir durumdur (27, 75).

1.2.1.7.2. Hayvanlarda Neden Olduğu İnfeksiyonlar:

Hayvanlarda *Salmonella* infeksiyonları serotipe ve hayvan türlerine göre değişkenlik gösterir. İnkübasyon süreleri *Salmonella* türlerine ve alınan bakteri miktarına göre farklılaşır (3, 5, 77). En yaygın tablo sindirim sistemi infeksiyonları ile septisemidir. Konakçı spesifik etkenler tarafından meydana gelen infeksiyonların

yanısıra konakçı spesifik olmayan özellikle *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium kaynaklı hastalıklara da rastlanmaktadır (5, 8,10).

İnfeksiyonun enterik formu akut seyrederek ve primer olarak ateş, iştahsızlık ve ishal ile kendini belli eder. Bu form genç hayvanlarda ölüme, gebe hayvanlarda ise aborta kadar gidebilen tablolara yol açabilir (5, 10, 77). Akut enterik form sonrası hastalık kronikleşebilir. İnfeksiyonun septisemik formu bütün yaş gruplarında görülmesine karşın, özellikle yeni doğan ve genç hayvanlarda ölümcül bir tabloya neden olabilir. İshal, pnömoni, artrit, osteomyelit, perikardit ve peritonit saptanabilir (3, 6, 8, 9, 10).

1.2.1.7.2.1. Kanatlılarda *Salmonella* İnfeksiyonları :

Kanatlılarda salmonella infeksiyonlarına dünya genelinde oldukça sık rastlanmaktadır (3, 5, 8, 10, 15, 77). İnfeksiyonların kanatlılarda şekillenmesinde yem, su, dışkı, kemiriciler, insektler, yabani kuşlar, evde beslenen kedi ve köpekler, diğer evcil kanatlılar, kümes ekipmanları, tüy ve toz gibi etkenler vertikal bulaşta rol oynarken, horizontal bulaşta yumurtanın oviduktta gelişirken infekte olması rol oynamaktadır (3, 8, 10, 32, 36).

Salmonella infeksiyonlarının kanatlılarda (özellikle tavuklarda) oluşturduğu hastalık tabloları kanatlı endüstrisi ve zoonoz karakteri nedeniyle halk sağlığı açısından büyük önem arz etmektedir (1, 6, 8, 9, 10, 39, 77).

Kanatlılarda *Salmonella* etkenleri başlıca iki gruba ayrılır. Grupların birincisinde konakçı spesifik olan ve tifo benzeri semptomlara yol açan *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* bulunurken, diğerinde konakçı spesifikliği göstermeyen *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Hadar*, *S. Virchow* gibi etkenler bulunmaktadır (3, 5, 8, 13, 77).

S. Gallinarum tavuk tifosuna, *S. Pullorum pullorum* hastalığına neden olur. Her iki tablo başta tavuklar olmak üzere hindi, bildırcın, güvercin, serçe, keklik ve süs kuşlarında tespit edilebilir (2, 5). *S. Gallinarum* özellikle ergin tavuklarda kronik ve septisemik bir kliniğe sahipken, *S. Pullorum* genç tavukları etkilemekte, akut ve sistemik seyir göstermektedir. *Pullorum* hastalığı bazı durumlarda %100 mortaliteye neden olmakta, tavuk tifosunun mortalite oranları ise sürü bazında %10-93 arasında olabilmektedir (2, 5, 6, 8, 9, 10). Tavuk tifosu ve pullorum hastalıkları kanatlılarda

en çok karaciğerde, barsaklarda ve dalakta patolojiye neden olur. Karaciğer büyümüş, yumuşak, konjesyone ve bronz rengindedir. Bazı olgularda karaciğer yüzeyinde nekrotik odaklar görülür. Dalak hafif büyümüş, konjesyone, gevrek yapıda ve bazı durumlarda yüzeyinde toplu iğne tarzında hemoraji odakları vardır. Barsaklarda ise kanlı peynirimsi bir içerik, kataral yangı ve peritonit gözlemlenir. Kalpte, böbreklerde, akciğerlerde ve ovaryumlarda da patolojilere rastlanır (2, 3, 5, 9).

Pullorum ve tavuk tifosu kanatlı endüstrisi için büyük ekonomik kayıplara sebep olurlar ancak halk sağlığı açısından pek önem teşkil etmezler. Adı geçen hastalıklar Türkiye Cumhuriyeti Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından ülkemizde ihbarı zorunlu hastalıklar arasında bulunmaktadır (6, 77).

Konakçı spesifik olmayan *Salmonella* 'ların oluşturduğu infeksiyonlar paratifo olarak adlandırılır ve etiolojisinde bir çok farklı tür rol alır. Paratifo infeksiyonlarında asemptomatik seyir ön plana çıkar. Özgül konakçılara sahip olmadıkları için epidemiyolojik olarak karmaşık bir yapı gösterirler ve insan gıda kaynaklarına kontamine dışkı-karkas ve kontamine dışkı-yumurta bulaşımı ile girerler (32, 36, 39). Gıda kaynaklı zehirlenmelerde en sık izole edilen türler *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'dur (6, 32, 36). Gıda üretimine yönelik teşkilatlanan kanatlı endüstrisi tarafından uygulanan yoğun yetiştirme ve kesim prosedürleri *Salmonella* infeksiyonlarının kontrolünü ve tedavisini güçleştirmektedir (2, 3, 5, 18, 36, 77).

1.2.1.8. Tedavi

1.2.1.8.1. İnsanlarda :

Salmonella kaynaklı gastroenteritlerde infeksiyon yayılım göstermediği takdirde antibiyotik kullanım endikasyonu yoktur. Bu gibi durumlarda infeksiyon sınırlıdır ve 5-7 gün içerisinde kendi kendini düzeler . Ancak bu süre zarfında sıvı ve elektrolit replasmanı gerekebilir (1, 6, 7, 33, 75, 78, 79). Basit gastroenterit olgularında antibiyotik kullanımı taşıyıcılık süresini uzatır ve antibiyotiğe dirençli suşların oluşmasına yol açar (34, 79).

Gastroenteritin 5 günden uzun sürmesi, ileri yaş, bağışıklığın baskılanması, diyabet ve kalp hastalığı gibi altta yatan etmenlerin bulunduğu durumlarda

antimikrobiyal tedavi uygulanır (33, 34, 78, 79). Yeni doğanlarda *Salmonella* gastroenteritlerinin tedavisi büyük önem taşır (7, 75, 76).

Tifo, paratifo, sepsisemi ve lokal organ hastalıklarında antibiyotik tedavisi hasta yaşamı açısından kritik bir öneme sahiptir. Uygulanabilecek antibiyotikler sırasıyla ampisilin, trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX)'dür (34, 75, 76). Erişkinlerde diğer seçenekler siprofloksasin ve ofloksasindir. Çocuklarda ise sefaperazon, sefotaksim ve seftriakson kullanılmaktadır (6, 7, 34, 35, 76). Ancak yıllar içinde adı geçen ilaçlara karşı direnç gelişmiş ve tedavide güçlüklerle karşılaşmıştır (78,79). Bu yüzden antibiyotik duyarlılık testleri uygulanmadan tedavi süreci başlatılmamalıdır (6, 7, 34, 35).

Antimikrobiyal tedavi süresi tifo ve paratifo infeksiyonları için 2 haftadır. Lokalize infeksiyonlarda bu süre 4-6 haftaya kadar uzamaktadır (1, 6, 7, 33, 27). Kronik taşıyıcılık gösteren bireylerde 4-6 hafta süreyle ampisilin veya kinolon türevlerinin kullanımı endikedir. Safra sisteminde bir patoloji varsa kolesistektomi uygulanması gerekir (7, 18, 33, 34, 35, 79).

1.2.1.8.2. Hayvanlarda :

Kanatlılarda ve diğer hayvanlarda görülen *Salmonella* infeksiyonlarında antimikrobiyal kullanımı tartışmalı bir konudur (15). Sınırlayıcı bir prognozu olan vakalarda antibiyotik kullanılması direnç gelişimine neden olacağı ve intestinal florayı olumsuz etkileyeceği için önerilmez (3, 5, 8, 10,11). Ancak sistemik formda olan ve sepsisemi ile seyreden durumlarda kanatlılar ve diğer hayvanlar için ampisilin, TMP-SMX, kinolonlar, tetrasiklinler ve florfenikol kullanılabilir (2, 3, 5, 8). İlaçlar taşıyıcılığı önlemezler, ancak mortaliteyi düşürürler. Antimikroyallerin özellikle kanatlılarda kullanımlarına bağlı olarak son yıllarda yoğun direnç gelişimi görülmekte ve bu durum, ürünleri insan gıdası olarak kullanılan hayvansal işletmelerde biyogüvenlik tedbirlerini ön plana çıkarmaktadır (15, 17, 39, 77).

1.2.1.9. *Salmonella* İnfeksiyonlarında Antimikrobiyal Direnç

Direnç; bir bakteriyel etkenin bir antimikrobiyalin bakteriyostatik veya bakterisidal etkilerine karşı koyma kapasitesidir. Antibiyotiklerin bakteriyel infeksiyonların sağaltımında ilk kullanıma girdikleri zamanlardan bu yana bakteriyel

etkenlerde direnç gelişimi ve yayılması giderek artan bir sorun oluşturmaktadır (Tablo 3) (80, 81, 84, 87).

Tablo 3. Bazı Antimikrobiyal Ajanlar ve Keşif, Üretim, Klinik Kullanım ve Direnç Gelişim Tarihleri (80, 81, 83, 89).

Antimikrobiyal Ajan	Keşif ve Üretim Tarihi	Klinik Kullanıma İlk Giriş Tarihi	İlk Direnç Gelişim Tarihi
Streptomisin	1944	1947	1956
Tetrasiklin	1948	1952	1956
Eritromisin	1952	1955	1956
Vankomisin	1956	1972	1987
Nalidiksik asit	1960	1962	1966
Gentamisin	1963	1967	1970
Florokinolonlar	1978	1982	1985

Bu sorunun temel kaynağı yıllar içinde yoğun, uygunsuz ve gereksiz bir biçimde antimikrobiyal maddelerin beşeri ve veteriner hekimlikte kullanılmasıdır (81, 83-85, 87). Bunun dışında hayvanlarda ve insanlarda sağaltımda yer alan antibiyotiklerin genelde aynı sınıftan olması, kimyasal yapı ve etki mekanizmalarının çok benzer olması direnç sorunlarının ortaya çıkmasına sebep olmuştur (84-86). Antibiyotik kullanımı bakteriyel etkenlerde direnç gelişimine yol açmalarının yanısıra hayvansal kaynaklı ürünlerde kalıntı bırakma riski taşımaktadır. Bu tip kalıntılar tüketim sonrası insanlarda zehirlenmelere, alerjilere ve intestinal flora bozukluklarına neden olabilmektedir (80, 83, 85, 86).

Hem insanlarda hem hayvanlarda salmonellozun erken teşhisi ve uygun antibiyotik tedavisi salgınların ve kayıpların önlenmesi açısından çok önemlidir (79). Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda *Salmonella* serotiplerinin antimikrobiyallere karşı direnç geliştirdikleri gözlemlenmiştir (79, 82, 85, 87). Dirençli suşların dağılımı serotiplere, yıllara, antimikrobiyalin etki şekline ve coğrafi konumlara göre farklılaşabilmektedir (83, 85, 88, 91).

Salmonella antibiyotiklere karşı kazandığı dirençte bir çok mekanizma rol oynamaktadır. Bu mekanizmalar, bakteri hücre duvarı geçirgenliğinde azalma, antibiyotiğin hedef molekülünde modifikasyon, aktif dışa-atım pompa sistemleri

(Efluks Pompaları) ve antibiyotiğin molekül yapısını inaktive eden enzimlerin bakteri tarafından salgılanması olarak açıklanmaktadır (83, 85, 87, 88).

Salmonella'larda gözlenen tetrasiklin, kloramfenikol ve florfenikol direnci aktif dışa-atım pompa sistemleri (Efluks Pompaları) ile ilişkilidir. Bu mekanizma enerji bağımlı bir sistemdir, antimikrobiyal ajan bakteriyel hücre dışına pompalanır ve hücre içinde birikemez (88). Bazı pompalar ilaç spesifik özellik göstermelerine rağmen, çoğu çoklu ilaç direncine aracılık ederler. Bu direnç şekli plazmid veya kromozom kontrolü altındadır. Ancak direnç belirleyicileri çoğunlukla transpozabl elemanlar üzerinde bulunurlar (88, 89, 90).

Dışa-atım pompalarına bağlı olarak şekillenen direnç tetrasiklinler için *tet* genleri ile, kloramfenikol ve florfenikol için *flo* ve *cml* genleri ile bağlantılıdır (88, 91, 93).

Salmonella bakterilerinde görülen plazmit veya kromozomal kaynaklı TMP – SMX direnci antibiyotiklerin etki ettiği hedefin yapısının değişmesi ile kazanılır (80, 81, 87). Folik asit sentez basamaklarında görev alan ve antimikrobialların hedefi olan dihidrofolat redüktaz ve dihidropteroik asit sentetaz enzimlerinin yerini antimikrobialların etkileyemediği moleküller alır. Adı geçen dirençte, trimetoprim için *dhfr* ve *dfr* genleri, sulfametoksazol için *sulI* ve *sulII* genleri rol oynar (85, 92, 93).

Kinolonlara karşı gelişen dirençte hedef enzimler olan DNA giraz ve topoizomeraz IV'te mutasyonel değişimler görülür. Bu direnç şekli, DNA girazı kodlayan *gyrA* / *gyrB* genleri, topoizomeraz IV'ü kodlayan *parC* ve *parE* genleri ile ilişkilidir (92, 93, 94).

Salmonella'larda tespit edilen diğer bir direnç mekanizması β -laktamaz enzimlerinin üretimidir. Bu enzimler gram negatif bakterilerin peptidoglikan tabakası ile sitoplazma membranı arasında yer alan periplazmik boşlukta yer almaktadır (80, 85, 96). β -laktamaz sentezi enterik Gram negatif bakteriler arasında en yaygın antimikrobiyal direnç tipidir. Bu enzimler β -laktam sınıfındaki antibiyotiklerin, β -laktam halkasındaki siklik amid bağımlı hidrolize ederek etki gösterirler (85, 87, 96, 98).

TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 türevi β -laktamazlar ilk tespit edilen β -laktamazlardır. β -laktamazlar plazmid kökenli olup, *Enterobacteriaceae* ailesinde sıklıkla bulunurlar ve diğer bakterilere aktarılabilirler (85, 95 96). TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi enzimler başlarda dar bir spektrum içerisinde penisilinleri ve 1.

Kuşak sefalosporinleri inaktive edebilen bir yapıda iken, bu enzimleri kodlayan genlerde zaman içerisinde gelişen mutasyonlar sonucu 3. Kuşak sefalosporinleri de kapsayacak şekilde daha geniş bir direnç oluşturma kapasitesine ulaşmışlardır (85, 87, 96, 98). Bu yeni tip β -laktamazlar, genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL) olarak tanımlanmışlardır (96, 97, 99, 100). Genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar arasında TEM ve SHV türevi olmayan CTX-M , OXA, PER, VEB gibi yeni enzimler ortaya çıkmıştır (85, 87, 99, 101). Salmonella türlerinde en sık bildirilen GSBL tipleri CTX-M-15 ve SHV-12'dir (97, 98, 101, 102). Şimdiye kadar 200'ün üzerinde GSBL tipi bildirilmiştir (87, 95, 96, 98, 103).

1.2.1.10. Tanı

Salmonella infeksiyonlarının tanısında önemli nokta laboratuvar sonuçları ile klinik bulguların birarada değerlendirilmesidir. İnfeksiyonların kesin tanısı, etkenin uygun klinik örneklerden, uygun zamanda izolasyon ve identifikasyonu ile gerçekleşir (104, 105, 107,108).

Tifo ve paratifo infeksiyonlarında kan, kemik iliği, dışkı, safra, duodenal içerik ve idrar örnekleri incelenebilir (107, 108). Kemik iliği aspirasyonu referans standard metod olarak kabul edilmekte ve duyarlılığı % 80 olarak bildirilmektedir. Kemik iliği kültürünün, kan kültürüne nazaran daha duyarlı olması, sahip olduğu daha yüksek bakteri konsantrasyonu ile açıklanmaktadır (108). Duodenal drenaj kültürlerinin pozitif olarak tespit edilmesi, *Salmonelloz* taşıyıcılığı göstergesidir (33, 35, 108).

Septisemi ve lokal infeksiyonlarda kan ve etkenin yerleştiği organa göre (BOS, plevra, eklem sıvısı vb.) örnekler alınır. Gastroenterit durumlarında dışkı örnekleri kullanılır (104, 107, 108, 110).

Kültürde MacConkey Agar (MC), Hektoen Enterik (HE) Agar, Eozin Metilen Blue (EMB) Agar, Salmonella Shigella (SS) Agar, Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar katı besiyerleri ile GN buyyon ve Selenit F sıvı besiyerleri kullanılmaktadır (104-109, 111, 112, 117). Kültür sonrası/İdentifikasyonda bakterinin laktoz kullanımı ve H₂S üretimi başta olmak üzere diğer biyokimyasal özellikleri tanımlanır. Triple Sugar Iron (TSI) Agar, Lysine Iron (LI) Agar, üreaz testi, indol testi, oksidaz testi, lizin dekarboksilaz testi biyokimyasal identifikasyon amaçlı olarak kullanılmaktadır (107, 108, 113, 114). *Salmonella*'lar glikoz pozitif, laktoz negatif, H₂S üretimi pozitif, oksidaz negatif, sakkarozdan gaz oluşumu

negatif, üre negatif, indol negatif, ve lizin dekarboksilaz negatiftir (104, 105, 107, 108, 115, 116).

Salmonella tanısında kültürün yanısıra serolojik testlerin de uygulanması gerekmektedir. Tifo ve paratifo tanısında uzun zamandır Gruber-Widal tüp aglütinasyon testi kullanılmaktadır (1, 35, 79, 108, 110). Bu test serumda *Salmonella* Typhi'nin O(somatik) ve H(Flagellar) antijenlerine karşı oluşan antikorları saptamaya yarayan aglütinasyon testidir. Test sonucunda zaman zaman yalancı negatif ve pozitif sonuçlar elde edilmesine rağmen, ucuz ve uygulamasının kolay olması nedeniyle halen bir çok ülkede kullanılmaktadır (108, 109, 115). Bu teste ek olarak tifo ve paratifo tanısında Ezyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve diğer bir çok ticari hızlı serolojik test kiti kullanım alanı bulmuştur (105, 108, 111).

Salmonella'ların büyük bir çoğunluğu A, B, C, D, E, F ve G somatik antijen grubunda yer alırlar. Etkenlerin biyokimyasal özellikleri identifiye edildikten sonra Kauffman-White-Le Minor şemasına göre serotiplendirme yoluna gidilir (108). *Salmonella* poli O antiserumu ile pozitiflik gösterildikten sonra monovalan yapıdaki serumlarla serotip tayini yapılır (108, 110).

1.2.1.10.1. Fenotipik ve Genotipik Tiplendirme Yöntemleri

Tiplendirme işlemleri bakterileri tür seviyesinin ötesinde ayırmak için kullanılan herhangi bir metodu ifade eder. Tiplendirme metodlarının temelde amaçları suşları birbirleriyle karşılaştırmak ve benzer tiplendirme sonuçları gösteren türleri aynı grup altında toplamaktır (118).

Bakterilerde günümüzde kullanılan tiplendirme yöntemleri, epidemiyolojik araştırmalarla sıkı bir işbirliği içerisine girmiş bulunmaktadır. Klasik fenotipik tiplendirme yöntemlerine zamanla moleküler tiplendirme yöntemleri eklenmiştir (118, 119, 120). Gelişen teknoloji ve buna bağlı olarak yenilenen metodlar özellikle epidemiyolojik çalışmalarda farklı imkanlar ortaya koymuştur. Salgın hastalıkların kaynaklarının belirlenmesi, yayılma yollarının tespit edilmesi, hastalık takip programlarının oluşturulması, dirençli suşların tanımlanması ve yaygınlıklarının belirlenmesi, olguların birbirleriyle olan ilişkilerinin saptanması ve patogenezen sorumlu genlerin ortaya çıkarılması gibi konular moleküler tiplendirme metodlarının başlıca kullanım amaçlarını oluşturur (118, 119, 121, 123). Bir tiplendirme metodunun ideal olarak tanımlanabilmesi için tekrarlanabilirlik, ayırt edicilik, kolay uygulama, hızlı sonuç verme ve ekonomik olma gibi kriterleri karşılaması

gerekmektedir (118, 119, 122, 123). Belirtilen tüm kriterlere uyan bir metod günümüzde yoktur ancak arayışlar devam etmektedir (119).

1.2.1.10.1.1. Fenotipik Yöntemler

1. Serotiplendirme: Bu yöntemde *Salmonella* 'lar sahip oldukları somatik (O) ve flagellar (H) antijenlere karşı gelişen antikorlar kullanılarak uygulanan aglütinasyon yöntemi ve Kaufmann-White-Le Minor şeması temel alınır. Uzun yıllardan beri ve yaygın olarak kullanılmaktadır (119). Yanlış pozitif sonuçlar elde edilebilmesi, hassas olmaması, laboratuvarlar arası karşılaştırmanın güçlüğü, 150'den fazla antiserum ve yetişmiş personel gerektirmesi metodun referans laboratuvarlarla sınırlı kalmasına yol açmıştır (119, 120).

2. Antibiyotiplendirme: Bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarını ve direnç durumlarını ortaya çıkarmak için kullanılan bir yöntemdir (124). Ucuz ve kolay bir yöntem olmasına rağmen salgınların takip edildiği epidemiyolojik çalışmalarda suşlar arasındaki ilişkiyi belirlemede yeterli değildir. Ayrıca, suşların büyük bir çoğunun benzer direnç paternini taşıdığı koşullarda sağlıklı sonuçlar elde edilemez. Diğer tiplendirme yöntemleriyle birlikte kullanılması önerilmektedir (118, 125, 126).

3. Faj Tiplendirmesi: Fajlar türe özgü bakteri virusleridirler. *Salmonella* ' lar fajlara karşı duyarlıdır ve karşılaştıklarında lize olurlar. Klinik yönden önemi olan bazı *Salmonella* alt türleri için kullanılırlar (118). Uygulanması kolay ve ucuz bir yöntemdir. Ancak, faj tip sayısının *Salmonella* için sınırlı olması ve tek bir faj tipinin hakim olduğu durumlarda ayırım gücünün azalması dezavantajlarıdır (118, 119).

4. Biyotiplendirme: Bakterilerin biyokimyasal özelliklerine göre ayırımının yapılmasıdır. Zahmetli bir yöntem olması ve ayırım gücünün düşüklüğü kullanım sahasını sınırlandırmaktadır. *S. Typhimurium* suşlarının klonal yakınlığını gösterme amaçlı bazı çalışmalarda Faj tiplendirme ile birlikte kullanılmasının iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir (118).

1.2.1.10.1.2. Genotipik Yöntemler

Klasik fenotipik yöntemler epidemiyolojik amaçlar için yeterli veri sağlayamamaktadır. Moleküler genotiplendirme yöntemleri bakteri suşlarının parmak izlerinin belirlenmesinde devrimsel nitelikte gelişmelere yol açmışlardır (122). Bu yöntemlere her geçen gün bir yenisi eklenmekte ve farklı amaçlarla yürütülen bilimsel çalışmalarda geniş çaplı yararlar sağlamaktadırlar (123, 127, 130).

Genotiplendirme yöntemleri ile temel olarak belirli bir genetik kriter kullanılmak suretiyle, suşların DNA parmak izleri tanımlanmaktadır. Bu tanımlama işlemiyle ve epidemiyolojik veriler ışığında aynı tür içerisinde yer alan suşların klonal açıdan birbiriyle ilişkileri saptanmakta, suşların aynı veya farklı kaynaktan gelip gelmediği değerlendirilmektedir (123, 127, 128). DNA parmak izi aynı olduğu tespit edilen suşlar, klonal olarak ilişkili ve ortak bir kaynağa sahip oldukları yönünde düşünülmektedir (123, 128). Ayrıca, bu tipte suşların neden oldukları infeksiyonlar arasında epidemiyolojik olarak bağların bulunduğu öngörülmekte, salgınların kapsamı, kaynakları ve taşıyıcıları hakkında veriler edinilebilmektedir (121, 123).

Klonal anlamda aynı mikroorganizmalar arasında nesilden nesile kromozomların olduğu gibi aktarıldığı düşünülmektedir. Bu aktarımlar sırasında saptanan değişimlerin nedeni DNA bazında ortaya çıkan mutasyonlardır (123). Mutasyonlar sonucu ortaya çıkan genetik değişimler yeni nesillere toplu halde yansıtıldığından, belirli bir genetik kriter yardımıyla takip edilebilir ve suşların arasında var olan genetik benzerlikler belirlenebilir (123, 127, 128).

1.2.1.10.1.2.1. Amplifikasyona Dayalı Yöntemler

- Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)
- Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PZR (ERIC - PZR)
- Arbitrary Primed PZR (AP - PZR)
- Restriction Fragment Length Polymorphism PZR (RFLP - PZR)
- Infrequent Restriction Site PZR (IRS - PCR)
- Random Amplified Polymorphic DNA PZR (RAPD - PZR)
- Repetitive Extragenic Palindromic PZR (REP - PZR)
- Variable Number Tandem Analysis (VNTR)
- Multiple Locus VNTR Analysis (MLVA)

PZR Yöntemi :

Polimeraz zincir reaksiyonu (Polimerase Chain Reaction – PCR), moleküler çalışmalarda kullanılan ve bir DNA segmentinin bir veya birkaç kopyasındaki belirli bir diziyi binlerce veya milyonlarca defa çoğaltmaya yarayan, ilk olarak 1980’lerde kullanıma giren, yüksek duyarlılığa ve özgünlüğe sahip bir tekniktir (119, 121, 123, 128, 129). PZR’nin temelinde DNA polimeraz enzimi sayesinde, enzimin karşısında yeni bir komplementer DNA zinciri sentezlenmekte ve spesifik DNA bölgelerinin çoğaltılması sağlanmaktadır (123, 128, 129, 130).

PZR reaksiyonunun gerçekleşebilmesi için DNA kalıbı, DNA polimeraz enzimi, primerler ve nükleotidler gerekmektedir (123, 127, 128, 129).

a) DNA kalıbı : Hedef bölgeyi bulunduran DNA örneğidir.

b) DNA polimeraz : En sık ve yaygın olarak *Taq* DNA polimeraz enzimi kullanılır. DNA kalıbını ve primerleri kullanarak yeni DNA zincirleri sentezlerler ve ısıya oldukça dayanıklıdır.

c) Primerler : Hedef DNA’ya özgü, yeni DNA sentezinde ilk basamağı oluşturan, tek zincirli ve kısa (4-10 nükleotid) DNA molekülleridir.

d) Nükleotidler (dNTP’ler): A, T, C, ve G bazlarından oluşur ve yeni DNA sarmalının tamamlanmasında kullanılırlar.

DNA’nın PZR ile çoğaltılması; zaman, ısı ve döngü sayıları düzenlenerek, 3 aşamada gerçekleşir (123, 128, 129).

- 1. Denatürasyon :** Çift iplikli DNA’nın birkaç saniye 94-96°C ısıya maruz bırakılarak tek iplikli DNA haline gelmesidir.
- 2. Bağlanma (Annealing):** 50-60°C’de primerlerin tek iplikli halen gelen kalıp DNA’ya spesifik olarak bağlanmaları aşamasıdır.
- 3. Uzama (Extension):** 70-75 °C’de DNA polimeraz enziminin, primerler ve kalıp DNA’yı kullanarak DNA dizisinin komplementerini sentezlemesidir.

PZR hızlı ve özgül bir yöntemdir. Mikrobiyolojide, adli tıpta, epidemiyolojik araştırmalarda, genetik çalışmalarda ve gıda içeriklerinin uygunluğunu kontrol etme gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (129). Az miktarda DNA içeren beklemiş örneklerde uygulanabilir ve üretilmesi, izolasyonu güç etkenlerin tanısında yararlıdır. Optimizasyonda ve uygulamada deneyimli personel gerektirir (118, 119, 128-130).

1.2.1.10.1.2.2. Sekans Temelli Yöntemler

- Multilocus Sequence Typing (MLST)
- Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

1.2.1.10.1.2.3. DNA'nın Kesim Analizine Dayanan Yöntemler

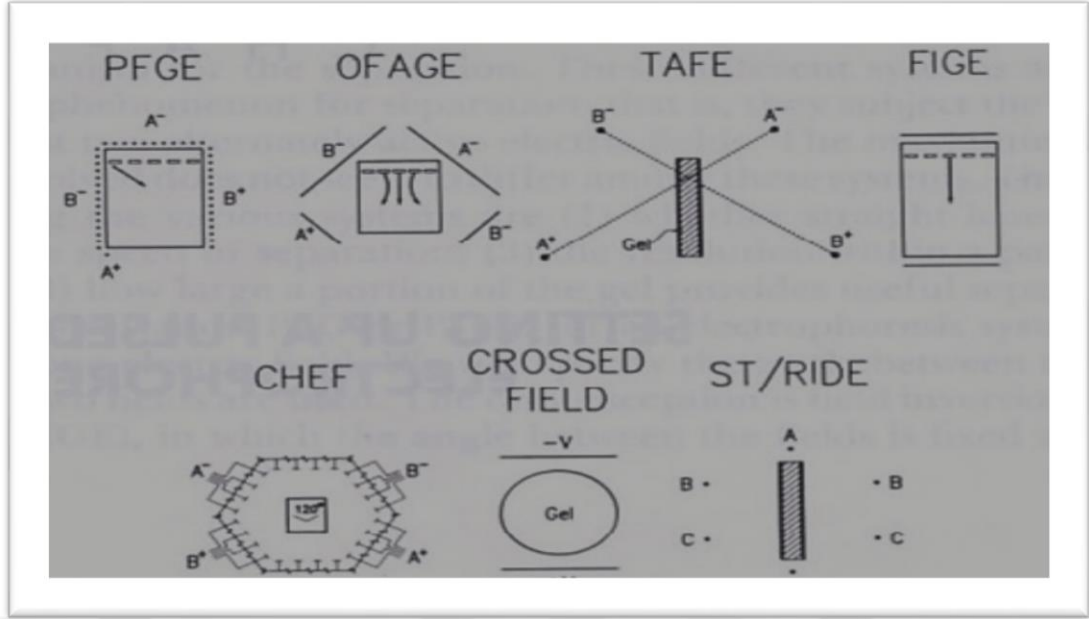
- Plazmid Analizi
- Ribotiplendirme
- IS-RFLP
- Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

PFGE Yöntemi :

Restriksiyon enzimi (RE) ile DNA'nın kesim analizine dayalı bir yöntem olan PFGE, günümüzde moleküler tiplendirme yöntemleri arasında altın standard olarak ön plana çıkmıştır. Yöntemde; bakteri genomu RE ile kesilir ve daha az sayıda ama daha büyük boyutta DNA parçaları elde edilir (123, 131, 132). Bu parçalar, klasik jel elektroforez tekniğinden farklı olarak yönü devamlı olarak değişen bir elektriksel alana maruz bırakılır ve birbirlerinden ayrıştırılır. Bu yöntem kullanılarak boyutları 800 kb'a varan DNA parçaları çözünebilir. Uygulama sonunda ortaya çıkan kesim profilleri sayesinde, bakterinin tüm genomik DNA dizilimini yansıtan bir DNA parmak izi ortaya çıkar ve suşlar arasında genotipik karşılaştırmalar yapılması sağlanır (123, 130, 132, 133).

Büyük DNA parçalarının agarozda ayrıştırılması sırasında agaroz ve tampon konsantrasyonu, sıcaklık, pulse süresi, voltaj ve elektroforez süresi gibi faktörler dikkatlice ayarlanmalıdır (123, 131, 133, 134).

PFGE, ilk defa 1982 yılında kullanıma girmiş ve bu tarihten günümüze kadar olan süreçte büyük DNA moleküllerini restriksiyon enzimleri ile kesilmesi sonucu ortaya çıkan DNA parçalarının değişken elektriksel alanda ayrıştırılması prensibini esas alan bir çok cihaz geliştirilmiştir (123, 128, 130). Bu cihazların ayırma hızı ve elde edilen görüntülerinde farklılıklar bulunmaktadır. Günümüzde en yaygın kullanılan cihaz, Contour Clamped Homogenous Electric Field (CHEF)'tir. Kullanılan sistemler Şekil 1'de gösterilmiştir (130 - 132, 135).



Şekil 1. Pulsed Field Gel Electrophoresis sistemlerinin gösterimi

PFGE yöntemi ile bakteri suşları arasında genetik ilişkilerin ortaya konulmasında kullanılmak üzere 1995 yılında bazı kriterleri içeren bir sistem geliştirilmiştir önerilmiştir. Bu sistem kriterler ile bant profilleri incelenerek, suşların birbirleriyle olan ilişkileri saptanabilmektedir (Tablo 4) (136).

Tablo 4. PFGE Profilleri Değerlendirme Kriterleri.

Kategori	Salgın suşu ile arasındaki genetik fark sayısı	Salgın suşu fark gösteren bant sayısı	Epidemiyolojik yorum
Aynı	0	0	Örnek, salgının parçası
Yakın İlişkili	1	2-3 / 1-3	Örnek, salgınla yakın ilişkili
Olası İlişkili	2	4-6	Örnek, salgınla olası ilişkili
Farklı	≥ 3	≥ 7	Örnek, salgınla ilişkisiz

PFGE, ayırım gücü ve tekrarlanabilirliği yüksek bir yöntemdir. Elde edilen verileri diğer laboratuvarlarla karşılaştırmak için standard bir protokolün izlenmesi büyük önem taşır. Yöntem, yoğun iş gücü gerektirir ve zaman alıcıdır. Ayrıca, uygulamada kontaminasyonu önlemek için dikkatli olunmalıdır (121-123, 130, 136).

1.2.1.10. Korunma ve Kontrol

Tifo ve paratifo vakaları gelişmiş ülkelerde düşük düzeyde stabil bir seyir izlemekte iken, gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde epidemilere yol açabilmektedir. Enterik ateş geri kalmış ülkelerde % 5-30 arasında değişen mortaliteye neden olabilmektedir (137, 138). Dünya Sağlık Örgütü tahminlerine göre yılda 16-17 milyon enterik ateş olgusu görülmekte ve mortalite oranları dünya genelinde % 5-7 arasında değişmektedir (138). Enterik ateş, Afrika'da Asya'da, Orta doğu'da, bazı doğu ve güney Avrupa ülkelerinde, orta ve güney Amerika'da endemiktir. Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da ise çoğunlukla endemik bölgelere seyahat eden bireylerde tespit edilmektedir (14, 15, 137).

Non-tifoidal salmonelloz vakaları son 20-25 yıllık süreç içerisinde tüm dünyada yaygın bir hale gelmiştir. *Salmonella* serotip dağılımı yıllara ve ülkelere göre değişmekle birlikte en sık karşılaşılan suşlar sırasıyla *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'dur (137, 139). Ülkemizde 1990'lı yıllara dek en sık izole edilen suş *S. Typhimurium* iken, 2000'li yıllardan sonra ise *S. Enteritidis* olmuştur (143).

Tifo ve paratifo infeksiyonlarında başlıca kaynak enfekte insan dışkı ve idrarı iken, diğer klinik tablolarda kontamine hayvansal ürünler ve sular başlıca role sahiptir. *Salmonella* infeksiyonlarının kontrolünde, iki önemli strateji bulunmaktadır. Birincisi, bulaşma yolları ve kaynaklarının kontrol altına alınması, diğeri ise konakçılar ile ilgili uygulamalardır (6, 15,141).

Enterik ateş kliniği gösteren bireyler, hastalık için tek kaynak olmaları nedeniyle yakından izlenmeli, erken teşhis ve etkili tedavileri konusunda gereken özen ve dikkat gösterilmelidir. Bu konuda sağlık çalışanlarına periyodik eğitimler verilmelidir (6, 139).

Salmonella içeren sularla bulaşmayı önlemek için uygun ve sağlıklı bir altyapı, düzgün bir atık prosedürü ve sanitasyon tedbirleri şarttır. Konuyla ilgili olarak halk ve ilgili kurumlar bilgilendirilmelidir (140, 141). Ayrıca gıdalarla bulaşımı önleme konusunda; gıdaların tüketim öncesi ısıl işleme tabi tutulması, üretimde görev alan personel ve kullanılan ekipman bağlamında gereken hijyen

tebirlerinin alınması, üretimdeki kritik noktaların belirlenerek ve bu noktalara dikkat ederek üretim prosedürlerinin geliştirilmesi infeksiyonları önleme açısından yarar sağlayacaktır (139, 141, 142).

Kanatlı endüstrisi açısından, işletmeler düzeyinde biyogüvenlik ve hijyen tedbirleri alınmalıdır (142). Kanatlı sürüleri bakteriyolojik ve serolojik metodlarla salmonelloz yönünden düzenli olarak takip edilmelidir. Etken taşıyıcıları olan kirli ve kırık yumurtalar imha edilmeli, çevre ve ekipman dezenfeksiyon işlemleri yapılmalı, doğru bir atık politikası uygulanmalı, çalışan personel kişisel hijyen konusunda eğitilmeli ve kemirici kontrolleri dikkatli bir şekilde yerine getirilmelidir (140,142). Bu önlemlere ek olarak, kanatlı beslenmesinde peletleme ve organik asitlerin kullanılması *Salmonella* eliminasyonunda diğer etkili yöntemlerdir (142-144).

Konakçılar ile ilgili uygulamalarda aşılama ön plana çıkmaktadır. İnsanlar için kullanılan iki tip aşı vardır. Bunlardan ilki, Ty21a olarak tanımlanan ve oral yolla uygulanan mutant *S.Typhi*'den hazırlanan canlı aşıdır. Diğerisi ise Vi polisakkariti içeren parenteral uygulanan inaktif tifo aşısıdır (6, 138). Kanatlılarda ise *S. Gallinarum* suşundan imal edilen canlı aşılar yumurtacı sürülerde uygulanmaktadır. Damızlık sürüler için inaktif *S. Enteritidis* ve *S.Typhimurium* aşıları bulunmaktadır (144,145).

BÖLÜM II

GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Bakteri Kökenleri

T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı bünyesinde yer alan Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne bağlı Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarı'nda 2014 - 2015 yıllarında izole edilen ve serotiplendirme için Etlik Merkez Araştırma Enstitüsü Bakterioloji Laboratuvarı (*Salmonella* Ulusal Referans Laboratuvarı)'na gönderilen 45 kanatlı hayvan suşu kullanıldı. Suşlar çalışmaların başlamasına kadar geçen süreçte saklama tüplerinde (Protect) -80°C'de muhafaza edildi. Kontrol suşu olarak *S. enterica* ATCC 04059 kullanıldı.

2.1.2. Besiyerleri

1. Buffered Pepton Water (BPW) (Liofilchem) – 225 ml
2. Buffered Pepton Water (BPW) (Liofilchem) – 10 ml
3. Rappaport Vasiliadis Soy Broth (RVS) (Liofilchem)
4. Mueller Kauffmann Tetrathionate Novobiocin Broth (MKTTn) (Liofilchem)
5. Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD) (Liofilchem)
6. Xylose Lysine Tergitol 4 Agar (XLT-4) (Liofilchem)
7. MacConkey Agar (MC) (Liofilchem)
8. Mueller-Hinton Broth (MHB) (Liofilchem)
9. Mueller-Hinton Agar (MHA) (Liofilchem)
10. % 5 Koyun Kanı olan Columbia Agarı (CA) (Liofilchem)
11. Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis Medium (MSRV) (Liofilchem)

MSRV dışındaki tüm katı ve sıvı besiyerleri sertifikalı olarak hazır alındı. MSRV ise bir litrelik şişelerde teslim alındıktan sonra, su banyosunda çözdürülerek ve otoklavda steril edildi. Daha sonra sıvı haldeki MSRV petrilere döküldü ve soğumaya bırakıldı. Elde edilen besiyerleri H₂S oluşturan suşların doğrulanması amacıyla kullanıldı.

2.1.3. Antimikrobiyaller

Disk difüzyon testinde kullanılan antibiyotik diskleri:

1. Ampisilin (AMP) 10 µg (Oxoid)
2. Amoksisilin+ Klavulanik Asit (AMC) 30 µg (Oxoid)
3. Amoksisilin (AML) 25 µg (Oxoid)
4. Sefepime (FEP) 30 µg (Oxoid)
5. Sefotaksim (CTX) 30 µg (Oxoid)
6. Siprofloksasin (CIP) 5 µg (Oxoid)
7. Doksisiklin (DO) 30 µg (Oxoid)
8. Oksitetrasiklin (OT) 30 µg (Oxoid)
9. Levofloksasin (LEV) 5 µg (Oxoid)
10. Kolistin Sülfat (CT) 10 µg (Oxoid)

2.1.4. Dezenfektanlar

1. Virkon - S[®] (Antec) (Potasyum peroksomonosülfat, sodyum alkil benzen sülfonat ve sülfamik asit)
2. Benaldecid[®] (Medicavet) (Benzalkonyum klorür, glutaraldehid ve nonil fenol etoksilat)
3. Biodes - S[®] (Apex) (Kuarterner amonyum bileşiği, nonil fenol etoksilat, izopropanol ve non-iyonik surfaktanlar)
4. Terminatör[®] (Topkim) (Glutaraldehit ve kokobenzildimetilamonyumklorit)

2.1.5. Ayıraçlar Ve Çözeltiler

1. TBE 5X

Tris base	53.91 g
Borik asit	27.52 g
EDTA	3.72 g

Karışım, distile su ile 1000ml'ye tamamlandıktan sonra otoklavda sterilizasyonu gerçekleştirildi ardından +4°C'de saklandı. Çalışmalar sırasında 1X TBE eldesi için uygun oranda distile su eklendi.

2. dNTP Karışımı (Fermentas R0181)

(2,5 mM/her biri, toplam 10mM)

dATP (100 mM) 25 µl

dCTP (100 mM) 25 µl

dGTP (100 mM) 25 µl

dTTP (100 mM) 25 µl

Distile su 400 µl

-20°C'de saklandı.

3. Taq DNA Polimeraz (Invitrogen) 5 U/ µl

10X Taq buffer

50 mM MgCl₂

4. Marker (Fermentas)

Gene Ruler 100bp DNA Ladder Plus

Gene Ruler 50bp DNA Ladder

5. CSB (Cell Suspension Buffer – Hücre Süspansiyon Tamponu)

100 mM Tris, 100mM EDTA,

pH 8.0 olacak şekilde hazırlandı.

6. TE

10mM Tris, 1mM EDTA karıştırıldı ve pH 8.0 olacak şekilde hazırlandı.

7. % 1.5 Low Melt Agaroz

8. Lysis Buffer (Lizis Tamponu)

1M Tris, 0.5 M EDTA, % 2 'lik Sarcosyl karıştırıldı ve pH: 8.0 olacak şekilde hazırlandı.

9. Proteinaz K (Fermentas) 20mg /ml

10. İnkübasyon Tamponu

10 µl -10x Tango Buffer ve 90 µl distile su karıştırıldı.

11. XbaI Restriksiyon Enzimi (GMbiolab) 20 U/µl

12. Kesim Tamponu

5 µl XbaI , 10 µl -10x Tango Buffer ve 85 µl distile su karıştırıldı.

13. % 1'lik PFGE Grade Agaroz Jel

2.1.6. ELEKTROFOREZ İÇİN JEL ve GÖRÜNTÜLEME BOYALARI

1. Safe View (ABM G108)

2. Agaroz (Sigma)

2.1.7. PZR'de Kullanılan Primerler

Tablo 5. PZR protokollerinde kullanılan genlere ait primer çiftleri, amplicon büyüklükleri ve kaynaklar.

Primer	Dizi (5' → 3')	Amplicon Büyükükleri (bp)	Kaynak
<i>InvA</i> Reverse	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	285	Dione ve ark. (170), Skyberg ve ark. (172)
<i>InvA</i> Forward	GTGAAATTATCGCCACGTTCCGGGCAAA		
<i>SopB</i> Reverse	TAGTGATGCCCGTTATGCGTCAGTGTATT	220	Dione ve ark. (170), Skyberg ve ark. (172)
<i>SopB</i> Forward	CGGACCGCCCAGCAACAAAACAAGAAGAAG		
<i>PipD</i> Reverse	CGTTATCATTCGGATCGTAA	399	Dione ve ark. (170), Skyberg ve ark. (172)
<i>0PipD</i> Forward	CGGCGATTCATGACTTTGAT		
<i>SopE</i> Reverse	TCCAAAAACAGGAAACCACAC	642	Dione ve ark. (170), Skyberg ve ark. (172)
<i>SopE</i> Forward	TCAGTTGGAATTGCTGTGGA		
<i>SifA</i> Reverse	GTTGCCTTTTCTTGCCTTTCCACCCATCT	449	Dione ve ark. (170), Skyberg ve ark. (172)
<i>SifA</i> Forward	TTTGCCGAACGCGCCCCACACG		
<i>PefA</i> Reverse	CAGCAGAAGCCCAGGAAACAGTG	157	Dione ve ark. (170), Skyberg ve ark. (172)
<i>PefA</i> Forward	GCGCCGCTCAGCCGAACCAG		
<i>CTX-M</i> Reverse	TGGGTRAARTARGTSACCAGA	550	Ahmed ve ark. (169)
<i>CTX-M</i> Forward	ATGTGCAGYACCAGTAARGT		
<i>SHV</i> Reverse	TCTTTCCGATGCCGCCGCCAGTCA	795	Ahmed ve ark. (169)
<i>SHV</i> Forward	CGCCGGGTTATTCTTATTGT		
<i>TEM</i> Reverse	GGTCTGACAGTTACCAATGC	1080	Ahmed ve ark. (169)
<i>TEM</i> Forward	GAAGACGAAAGGGCCTCGTG		
<i>TetA</i> Reverse	CATAGATCGCCGTGAAGAGG	210	Chuanchuen ve ark. (160)
<i>TetA</i> Forward	GCTACATCCTGCTTGCC TTC		
<i>TetB</i> Reverse	GTAATGGGCCAATAACACCG	659	Chuanchuen ve ark. (160)
<i>TetB</i> Forward	TTGGTTAGGGCAAGTTTTG		

2.2. Yöntem

2.2.1. *Salmonella* spp.'lerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

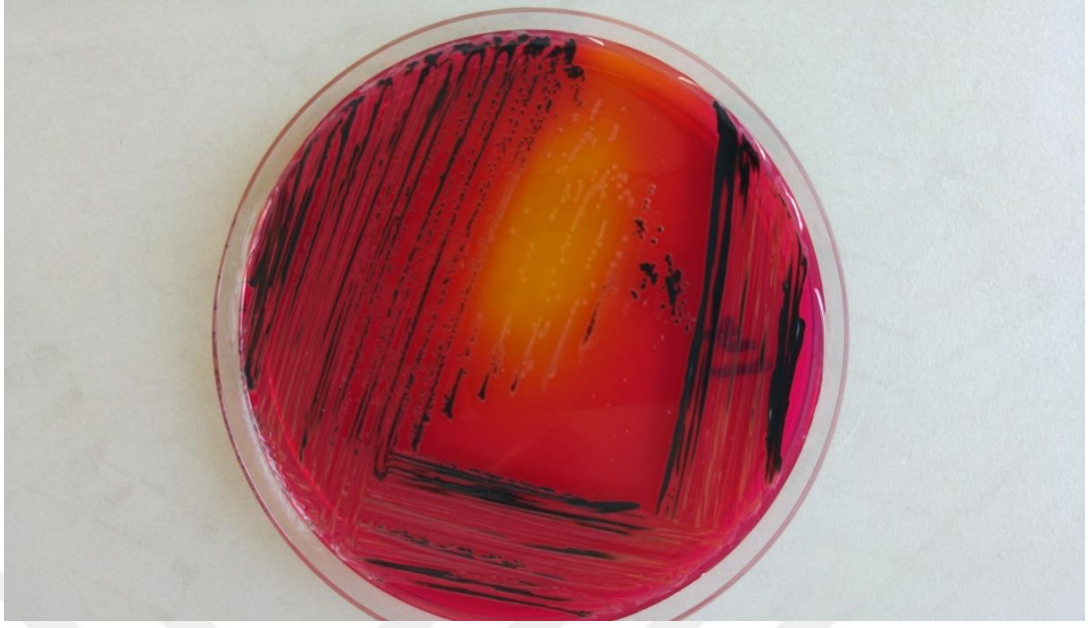
2.2.1.1. ISO 6579 Yöntemi

Gelen örnekler (Kloakal ve drag sürüntü, kanatlı dışkısı ve nekropsi esnasında alınan kanatlı iç organları), örneğin sayı veya hacmine göre 10 veya 225 ml'lik tamponlanmış peptonlu su eklendi ve 37°C'de 18 - 24 saat inkübe edilerek ön zenginleştirme işlemi gerçekleştirildi. Ön zenginleştirmeye tabi tutulan numuneler pisetler yardımıyla selektif sıvı zenginleştirme besiyerleri olan MKTTn ve RVS'ye alındı ve vortekslendi. Ardından MKTTn içeren tüpler 37°C'de ve RVS içeren tüpler 42°C'de 24 saat süreyle inkübe edilerek selektif zenginleştirmeye tabi tutuldu. İnkübasyon sonrasında tüplerden *Enterobacteriaceae* için selektif katı besiyeri olan XLD veya XLT-4'e pasaj yapıldı ve plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Plaklar H₂S oluşumu yönünde makroskobik olarak incelendi ve siyah renkteki koloniler tespit edildi (Şekil 2) (107).

Ayrıca, siyah renkte koloni oluşturduğu görülen numunelere ait, inkübe edilen tamponlanmış peptonlu su örneklerinden MSR/V Agar'ın merkezine 100 µl damlatıldı ve 42°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, agarlar merkezden kenarlara doğru yayılan beyaz renkli swarming (yayılma) hareketi açısından kontrol edildi (Şekil 4) (107).

Siyah renkteki tek kolonilerden MC besiyerine pasaj yapıldı ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda MC'de (Şekil 3). Şeffaf kolonilerden TSI (Şekil 4), Vitek II Compact cihazı ve Microgen GN – ID / teşhis kiti kullanılarak *Salmonella* spp. düzeyinde alt tür izolasyonu gerçekleştirildi (Şekil 6, 7) .

İzole edilen *Salmonella* spp. suşları CA veya MC'de çoğaltıldıktan sonra bakteri saklama tüplerinde -80 °C'de saklandı. Bakteri saklama tüplerinden biri Türkiye çapında *Salmonella* serotip identifikasyonunda Referans Enstitü olarak kabul edilen Etlik Merkez Veteriner Araştırma Enstitüsü Bakteriyoloji Laboratuvarı'na gönderildi. Bu merkezden serotipin belirtildiği akredite rapor tarafımıza ulaştırıldı.



Şekil 2. XLT-4 besiyerinde H₂S oluşumu



Şekil 3. MC besiyerinde şeffaf koloni oluşumu



Şekil 4. MSRV besiyerinde *Salmonella* spp. şüpheli numunelerde görülen beyaz renkli swarming (yayılma) hareketi



Şekil 5. TSI'de *Salmonella* spp. izolasyonu



Şekil 6. Vitek II Compact cihazı ve GN kartuşları



Şekil 7. Microgen GN – ID / Teşhis Kiti

2.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

2.2.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Suşların antimikrobiyal duyarlılıkları, Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda modifiye Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile tespit edildi (CLSI). MC besiyerinde canlandırılan suşlar MHA besiyerlerinde 37°C’de 18-24 saat inkübe edildi ve oluşan kolonilerden serum fizyolojik içerisinde 0.5 MacFarland bulanıklığında süspansiyonlar hazırlandı. Bu süspansiyonlar steril eküvyon yardımı ile MHA besiyerlerine inoküle edildi. İnokülasyon sonrası

antibiyotik diskleri yerleştirildi. 37°C’de 18-24 saat inkübasyondan sonra, disklerin etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek CLSI kriterlerine göre suşların antibiyotik duyarlılıkları belirlendi (146).

Tablo 6. Test edilen antibiyotiklerin duyarlılık sınırları

Antibiyotikler	Dirençli (R)	Orta Duyarlı (I)	Duyarlı (S)
FEP	≤14 mm	15-17 mm	≥18 mm
LEV	≤13 mm	14-16 mm	≥17 mm
CIP	≤15 mm	16-20 mm	≥21 mm
CTX	≤14 mm	15-22 mm	≥23 mm
AMP	≤14 mm	14-16 mm	≥17 mm
AML	≤14 mm	14-16 mm	≥17 mm
AMC	≤13 mm	14-17 mm	≥18 mm
DO	≤14 mm	15-18 mm	≥19 mm
OT	≤14 mm	15-18 mm	≥19 mm
CT	≤10 mm	-	≥11 mm

FEP: Sefepim, LEV: Levofloksasin, CIP: Siprofloksasin, CTX: Sefotaksim, AMP: Ampisilin, AML: Amoksisilin, AMC: Amoksisilin/Klavulanik asit, DO: Doksisiklin, OT: Oksitetrasiklin, CT: Kolistin Sülfat.

2.2.3. Dezenfektan Duyarlılık Testleri

2.2.3.1. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıkları belirlenen 45 suşun, dezenfektanlara ait MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi. Suşların taze kolonilerinden steril serum fizyolojik ile hazırlanan bakteri süspansiyonlarının bulanıklığı dansitometre (Biosan) ile 0.5 MacFarland olacak şekilde ayarlandı. Mikrodilüsyon plağındaki son inokulum konsantrasyonunun $1-2 \times 10^5$ CFU/ml olması için kullanmadan önce bakteri süspansiyonları MHB besiyeri ile 1/100 oranında dilüe edildi. Steril mikroplaklardaki kuyucuklara 50 µl MHB dağıtıldı. İlk sıradaki

kuyucuklara 50 µl dezenfektan çözeltisi eklendi ve yan kuyucuklara aynı hacimde aktarılarak, çift katlı seri dilüsyonlar elde edildi. Son olarak 50 µl bakteri süspansiyonu tüm kuyucuklara ilave edildikten sonra, bu işlem her suş için üç defa tekrar edildikten sonra mikroplak 35°C’de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üreme görülmeyen en düşük dezenfektan konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edildi. Her mikroplakta, besiyeri ve bakteri üreme kontrollerine yer verildi (146).

2.2.4. PZR ile Antibiyotik Direnç ve Virülans Genlerinin Saptanması

2.2.4.1. DNA Ekstraksiyonu

Bakteri kültürlerindeki taze kolonilerden, steril ependorf tüpler kullanılarak 400 µl steril ultra distile su (UDS) ile süspansiyon hazırlandı ve süspansiyon 10 dakika süreyle vortekslendi. Ardından 95°C’lik ısı bloğunda 10 dakika bekletildi. Daha sonra süspansiyon +4°C’de 13.000 rpm’de 5 dakika süre ile santrifüj edildi. Elde edilen supernatant, steril boş mikrosantrifüj tüplerine yerleştirilerek, -20°C’de muhafaza edildi.

2.2.4.2. PZR ile *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *tetA* ve *tetB* Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi

Bu yöntem disk difüzyon testi ile beta laktam ve tetrasiklin direnci saptanan suşlara uygulandı. Her bir suş için hazırlanan ependorf tüplerinin toplam hacmi 50 µl olacak şekilde aşağıda liste halinde sunulan bileşenler eklendi. Reaksiyonlarda primer olarak Tablo 5’te belirtilen primer çiftlerinden kullanıldı.

Steril distile su	35,3 µl
10X Taq buffer	5 µl
50 mM MgCl ₂	1,5 µl (1,5 mM/final)
dNTP (5 mM/herbiri)	2 µl (200 µM/final)
Primer F (50 pmol/µl)	0,6 µl (30 pmol/final)
Primer R (50 pmol/µl)	0,6 µl (30 pmol/final)
Taq polimeraz (5U/µl)	0.25 µl (1,25 U/final)
Ekstraksiyon ürünü	5 µl

PZR Protokolü : Reaksiyon için hazırlanan karışımları içeren tüpler, ısı döngü cihazına (Techne) yerleştirildi ve daha sonra aşağıda belirtilen aşamalar uygulandı.

95°C'de 7 dakika ön denatürasyon
94°C'de 50 saniye denatürasyon
50°C'de 40 saniye birleşme
72°C'de 1 dakika uzama
72°C'de 5 dakika son uzatma

35 Döngü *blactx-M*

95°C'de 5 dakika ön denatürasyon
94°C'de 1 dakika denatürasyon
55°C'de 1 dakika birleşme
72°C'de 1 dakika uzama
72°C'de 10 dakika son uzatma

30 Döngü *bla_{TEM}*

95°C'de 5 dakika ön denatürasyon
94°C'de 30 saniye denatürasyon
68°C'de 30 saniye birleşme
72°C'de 50 saniye uzama
72°C'de 10 dakika son uzatma

30 Döngü *bla_{SHV}*

95°C'de 3 dakika ön denatürasyon
95°C'de 30 saniye denatürasyon
63°C'de 30 saniye birleşme
72°C'de 25 saniye uzama
72°C'de 1 dakika son uzatma

35 Döngü *tetA*

95°C’de 3 dakika ön denatürasyon	}	35 Döngü <i>tetB</i>
95°C’de 30 saniye denatürasyon		
63°C’de 30 saniye birleşme		
72°C’de 25 saniye uzama		
72°C’de 1 dakika son uzatma		

2.2.4.3. Multipleks PZR ile Virülans Genlerinin Tespit Edilmesi

Her bir suş için ependorf tüpüne, buz üzerinde toplam hacim 50 µl olacak şekilde aşağıda liste halinde sunulan bileşenler eklendi, reaksiyonlarda primer olarak Tablo 5’te belirtilen primer çiftlerinden yararlanıldı.

SopB ve sifA virülans genleri için :

Steril distile su	31,15 µl
10X Taq buffer	5 µl
25 mM MgCl ₂	5 µl (2,5 mM/final)
dNTP (5 mM/herbiri)	2 µl (200 µM/final)
Primer F sop B (50 pmol/µl)	0,2 µl (20 pmol/final)
Primer R sop B (50 pmol/µl)	0,2 µl (20 pmol/final)
Primer F sif A (50 pmol/µl)	0,2 µl (20 pmol/final)
Primer R sif A (50 pmol/µl)	0,2 µl (20 pmol/final)
Taq polimeraz (5U/µl)	0.25 µl (1,25 U/final)
Ekstraksiyon ürünü	5 µl

PZR Protokolü : Reaksiyon için hazırlanan karışımları içeren tüpler, ısı döngü cihazına (Techne) yerleştirildi ve daha sonra aşağıda belirtilen program uygulandı.

94°C’de 3 dakika ön denatürasyon	}	30 Döngü
94°C’de 2 dakika denatürasyon		
66,5°C’de 30 saniye birleşme		
72°C’de 1 dakika uzama		
72°C’de 5 dakika son uzatma		

PipD, pefA ve sopE virülans genleri için :

Her bir suş için ependorf tüpüne, buz üzerinde toplam hacim 50 µl olacak şekilde aşağıda liste halinde verilen bileşenler eklendi, reaksiyonlarda primer olarak Tablo 5’te belirtilen primer çiftlerinden yararlanıldı.

Steril distile su	30,75 µl
10X Taq buffer	5 µl
25 mM MgCl ₂	5 µl (2,5 mM/final)
dNTP (5 mM/herbiri)	2 µl (200 µM/final)
Primer F pip D (50 pmol/µl)	0,4 µl (40 pmol/final)
Primer R pip D (50 pmol/µl)	0,4 µl (40 pmol/final)
Primer F sop E (50 pmol/µl)	0,4 µl (40 pmol/final)
Primer R sop E (50 pmol/µl)	0,4 µl (40 pmol/final)
Primer F pef A (50 pmol/µl)	0,2 µl (20 pmol/final)
Primer R pef A (50 pmol/µl)	0,2 µl (20 pmol/final)
Taq polimeraz (5U/µl)	0.25 µl (1,25 U/final)
Ekstraksiyon ürünü	5 µl

PZR Protokolü : Reaksiyon için hazırlanan karışımları içeren tüpler, ısı döngü cihazına (Techne) yerleştirildi ve daha sonra aşağıda belirtilen program uygulandı.

94°C’de 5 dakika ön denatürasyon	}	30 Döngü
94°C’de 1 dakika denatürasyon		
52°C’de 1 dakika birleşme		
72°C’de 2 dakika uzama		
72°C’de 10 dakika son uzatma		

InvA geni için :

Her bir suş için ependorf tüpüne, buz üzerinde toplam hacim 50 µl olacak şekilde aşağıda liste halinde verilen bileşenler eklendi ve reaksiyonlarda primer olarak Tablo 5’te belirtilen primer çiftleri kullanıldı.

Steril distile su	25,5 µl
10X Taq buffer	5 µl
25 mM MgCl ₂	5 µl (2,5 mM/final)
dNTP (2 mM/herbiri)	5 µl (0,2 mM/final)
Primer F InvA (10 µM)	2 µl (40 pmol/final)
Primer R InvA (10 µM)	2 µl (40 pmol/final)
Taq polimeraz (5U/µl)	0.5 µl (2,5 U/final)
Ekstraksiyon ürünü	5 µl

PZR Protokolü : Reaksiyon için hazırlanan karışımları içeren tüpler, ısı döngü cihazına (Techne) yerleştirildi ve daha sonra aşağıda belirtilen program uygulandı.

95°C’de 3 dakika ön denatürasyon	}	30 Döngü
95°C’de 30 saniye denatürasyon		
58°C’de 30 saniye birleşme		
72°C’de 50 saniye uzama		
72°C’de 5 dakika son uzama		

2.2.5. Suşlar Arası Klonal Yakınlık Tespiti için Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) Yönteminin Kullanımı

45 kanatlı *Salmonella* suşunun klonal yakınlıkları bir moleküler tiplendirme yöntemi olan PFGE ile belirlendi. Analiz, *XbaI* (GMbiolab, Taiwan) restriksiyon enzimi kullanılarak CDC PulseNet protokollerine göre yapıldı (147).

1. Saklanan suşlar MHA'da canlandırıldı.
2. İlk olarak CSB hazırlandı.
3. 10 ml lik santrifüj tüplerine 4'er ml olacak şekilde CSB dağıtıldı.
4. Taze kültürlerden eküvyon kullanılarak CSB içeren tüpler içerisinde süspansiyon edildi.
5. Süspansiyonlar dansitometre cihazı ile MacFarland 4.5-5 aralığında (spekrofotometre 610 nm de 1.00) olacak şekilde ayarlandı.
6. Hazırlanan süspansiyonlardan 1 ml'lik bir hacim numaralandırılmış 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı
7. Mikrosantrifüj tüpleri 13000 g'de 2 dakika süreyle + 4° C'de santrifüj edildi ve tüplerin diplerinde pellet oluşumu gözlemlendi.
8. Üzerine 400 µl CSB eklendi ve pipetaj yapıldı.
9. Pipetaj yapılan süspansiyon, buz üzerine yerleştirildi.
10. % 1.5 'lik Low Melt Agaroz, TE ile hazırlandı
11. Hazırlanan Low Melt Agaroz'dan kuru bloktaki tüplere dağıtıldı.
12. Mikrosantrifüj tüplerindeki süspansiyondan 100 µl alındı üzerine 20µl Proteinaz K (20mg/ml) eklendi.
13. Low Melt Agaroz içeren tüplerden 100 µl ve örneklerden 100 µl alınarak karıştırıldı ve karışım kalıplara yüklendi.
14. Kalıplar + 4° C'de en az 15 dakika tutularak katılaştırıldı.
15. Bu katılaştırma süresi sırasında Lysis Tamponu hazırlandı.
16. Hazırlanan Lysis Buffer'dan 4'er ml tüplere transfer edildi.
17. Her tüpe 30'ar µl Proteinaz K (20mg/ml) eklendi.
18. Daha sonra kalıplar katılaştırılmaları için konuldukları dolaptan çıkarıldı ve Lysis Buffer ve Proteinaz K içeren tüplere yerleştirildi.
19. Tüpler çalkalamalı su banyosunda 54°C'de 2 saat bekletildi.

20. Lysis Buffer uzaklaştırıldıktan sonra bloklar yeni tüplere yerleştirilir. 54°C'de yine çalkalamalı su banyosunda 2 defa steril distile suyla ve 4 defa TE ile yıkandı.
21. Restriksiyon enzimi ile kesimin yapılabilmesi için çalışmanın ikinci gününde iki ayrı tampon hazırlandı.
22. İlk olarak her bir örnek için 100 µl olacak şekilde ayarlanan İnkübasyon Buffer (10 µl -10x Tango Buffer ve 90 µl distile su) hazırlandı.
23. TE buffer'da tutulan agaroz kalıpları lam üzerine alındı ve steril bistüri ile ¼ oranında düzgün parçalar kesildi.
24. Kesilen parçalar İnkübasyon tampon (100 µl) içeren mikrosantrifüj tüplerine konuldu ve 37°C'de 10 dakika süreyle beklendi.
25. İkinci olarak her bir örnek için 100 µl olarak hazırlanan Kesim tamponu, bekleme süresinde sonunda inkübasyon tamponunun uzaklaştırılması sonrası tüplere dağıtıldı.
26. Tüpler 37°C'de 2 saat süreyle inkübasyona bırakıldı.
27. Enzim ile kesilen bloklar kaset içine yerleştirilen tarakların uç kısımlarına düzgün şekilde konuldu.
28. Tarağın her iki tarafına ladder yerleştirildi.
29. Kasete % 1'lik PFGE Grade Agaroz Jel (0.5X Tris-Borate-EDTA) döküldü.
30. Ardından tarak çevrilerek jel'in içerisine yerleştirildi.
31. Jelin soğuması ve katılaşması için 30 dakika beklendi ve tarak jelin içerisinden çıkartıldı.
32. Jelde kalan boşluklar % 1'lik PFGE Agaroz Grade Jel ile dolduruldu.
33. Tabla üzerindeki agaroz daha önceden 14 °C'ye ayarlanan ve tankına 2 L 0.5X TBE doldurulan PFGE tankına yerleştirildi.
34. CHEF Mapper (Bio-Rad) sisteminde *Salmonella* için 14°C'de başlangıç vuruş süresi 2.2 saniye, bitiş vuruş süresi 63.8 saniye, vuruş açısı 120° ve voltaj 6 V / cm olacak şekilde 20 saat süren elektroforez işlemi uygulandı.
35. Elektroforez sonrası 600 ml distile su ve 300 µl (10 mg / ml) Etidium Bromide içeren çözelti küvete yerleştiririlen jel üzerine döküldü ve 30 dakika boyunca multi-shaker ile çalkalanarak boyandı.
36. Daha sonra her 30 dakikada bir distile su ile yıkanarak, UV ışığında görüntülendi.
37. Çekilen resimler TIFF dosyası şeklinde kaydedildi ve analizleri yapıldı.

BÖLÜM III

BULGULAR

3.1. *Salmonella* Suşları

Çalışmaya dahil edilen 45 *Salmonella* suşunun serotipleri ve izole edildikleri yerler Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. *Salmonella* suşlarının serotip, izole edildikleri yerler ve materyal dağılımları

SUŞLARIN İZOLE EDİLDİKLERİ YERLER ve MATERYALLER						
Serotip Adı	Damızlıkhane*	Kuluçkahane**	Tavuk Dışkısı	Tavuk İç Organ	Güvercin İç Organ	Serotip Sayısı (%)
<i>S. Enteritidis</i>	2	11	2	1		16 (35.5)
<i>S. Infantis</i>	6					6 (13.3)
<i>S. Kentucky</i>	5					5 (11.1)
<i>S. Molade</i>			3			3 (6.6)
<i>S. Virchow</i>			3			3 (6.6)
<i>S. Corvallis</i>	2					2 (4.4)
<i>S. Mbandaka</i>			1	1		2 (4.4)
<i>S. Anatum</i>			1	1		2 (4.4)
<i>S. Heidelberg</i>		2				2 (4.4)
<i>S. Typhi</i>					1	1 (2.2)
<i>S. Hadar</i>			1			1 (2.2)
<i>S. Teddington</i>			1			1 (2.2)
<i>S. Albany</i>		1				1 (2.2)
TOPLAM	15	14	12	3	1	45 (100)

* : Drag ve kloakal sürüntü, ** : Cıvciv iç organ ve yumurta

3.2. Antimikrobiyal Duyarlılık Sonuçları

Toplam 45 *Salmonella* suşunun Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlenen duyarlılık yüzdeleri Tablo 8’de görülmektedir.

Antibiyotik direnci gösteren suşların direnç tipleri, sayıları ve oranları Tablo 9’da, dirençli suşların izole edildikleri yerlere göre dağılımları Tablo 10’da görülmektedir.

Tablo 8. *Salmonella* spp. suşlarında antibiyotik duyarlılık yüzdeleri

Antibiyotikler	Dirençli		Duyarlı	
	Sayı	(%)	Sayı	(%)
FEP	-	0	45	100
LEV	-	0	45	100
CIP	-	0	45	100
CTX	-	0	45	100
AMP	6	13.3	39	86.7
AML	3	6.6	42	93.4
AMC	2	4.4	43	95.6
DO	18	40	27	60
OT	18	40	27	60
CT	-	0	45	100

FEP: Sefepim, LEV: Levofloksasin, CIP: Siprofloksasin, CTX: Sefotaksim, AMP: Ampisilin, AML: Amoksisilin, AMC: Amoksisilin/Klavulanik asit, DO: Doksisisiklin, OT: Oksitetrasiklin, CT: Kolistin Sülfat.

Tablo 9. Direnç tipleri, direnç gösteren suş sayıları ve oranları.

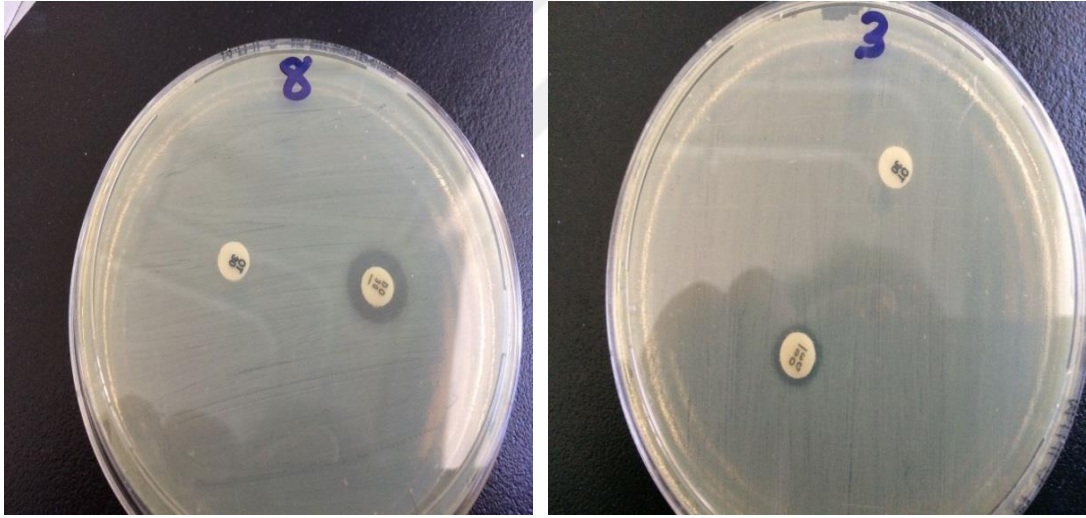
Direnç tipi	Dirençli suş sayısı (%)
AMP	2 (4.4)
AMP + DO + OT	1 (2.2)
AMP + AML + DO + OT	1 (2.2)
AMP + AML + AMC + DO + OT	2 (4.4)
DO + OT	14 (31)
Toplam	20 (44)

AMP: Ampisilin, DO: Doksisisiklin, OT: Oksitetrasiklin, AML: Amoksisilin, AMC: Amoksisilin/Klavulanik asit

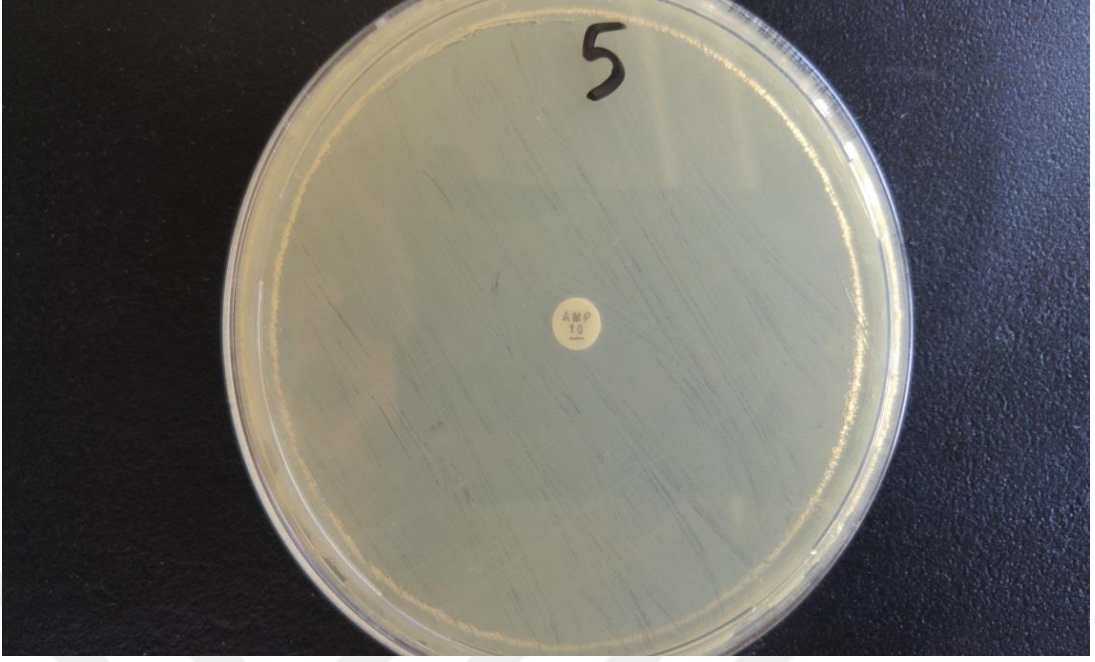
Tablo 10. Dirençli suşların izole edildikleri yerlere göre dağılımları ve oranları.

İzole edildiği yer	Toplam suş sayısı	Dirençli suş sayısı (%)
Damızlıkhane	18	10 (55.5)
Kuluçkahane	15	5 (33.3)
Tavuk Dışkı	8	1 (12.5)
Tavuk İç organ	3	3 (100)
Güvercin İç Organ	1	1 (100)

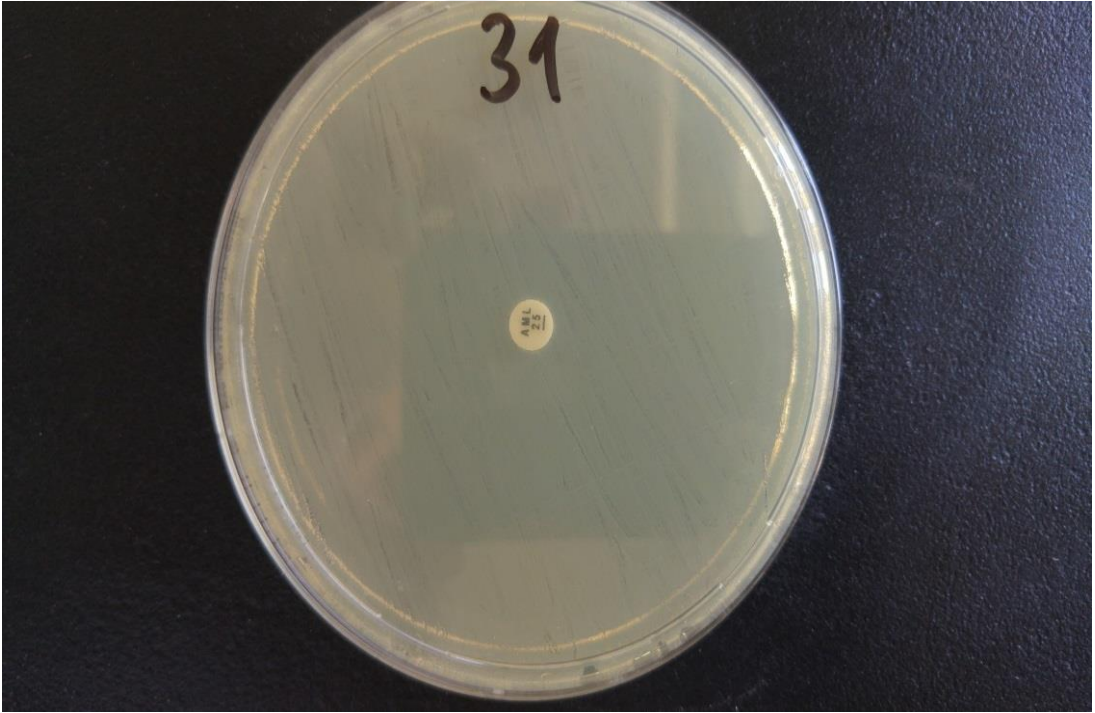
Salmonella spp. suşlarında disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre bazı suşlarda iki ve üstü antibiyotik grubuna gösterilen çoklu direnç belirlendi (Şekil 8, 9, 10, Tablo 11).



Şekil 8. DO ve OT direnci gösteren 8 ve 3 numaralı suşlar



Şekil 9. AMP direnci gösteren 5 numaralı suş



Şekil 10. AML direnci gösteren 31 numaralı suş

Tablo 11. Çoklu antibiyotik direnci gösteren suşlar

Suş Numarası	Serotip	Direnç gösterdiği antibiyotikler
5	S. Heidelberg	AMP, AML, AMC, DO, OT
7	S. Kentucky	AMP, DO, OT
14	S. Mbandaka	AMP, AML, DO, OT
31	S. Heidelberg	AMP, AML, AMC, DO, OT

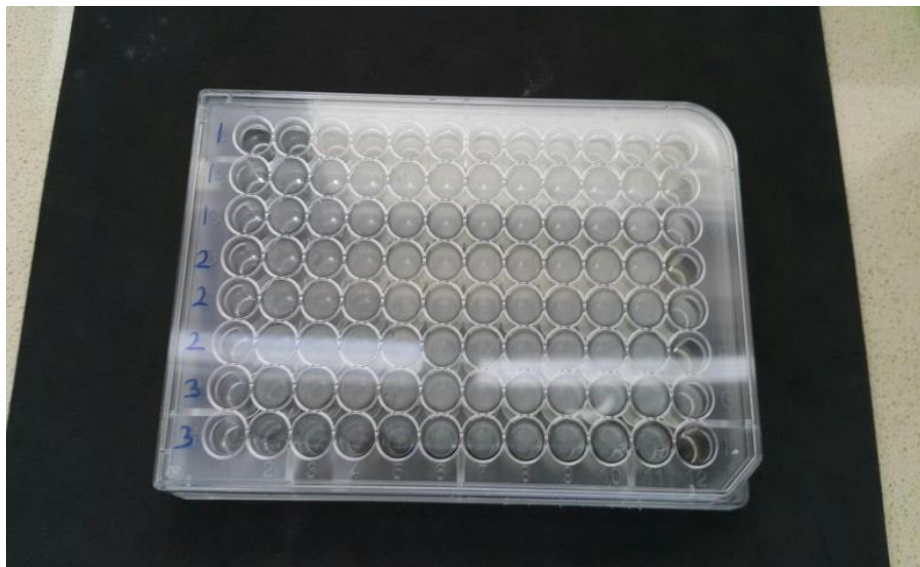
AMP: Ampisilin, AML: Amoksisilin, AMC: Amoksisilin/Klavulanik asit, DO: Doksisiklin, OT: Oksitetrasiklin

3.3. Dezenfektan Duyarlılık Sonuçları

Mikrodilüsyon yöntemi ile 45 *Salmonella* spp. suşunun dört ayrı dezenfektana olan duyarlılıkları belirlendi (Şekil 11, Tablo 12). Ayrıca, suşlarda Virkon-S'e duyarlı ve dirençli serotipler tespit edildi (Tablo 13).

Tablo 12. *Salmonella* spp. suşlarında dezenfektan duyarlılık yüzdeleri

Dezenfektanlar	Dirençli suş sayısı (%)	Duyarlı suş sayısı (%)
Virkon-S[®]	25 (55)	20 (45)
Benaldecid[®]	-	45 (100)
Biodes-S[®]	-	45 (100)
Terminatör[®]	-	45 (100)



Şekil 11. *Salmonella* spp. suşlarında mikrodilüsyon testi uygulaması

Tablo 13. *Salmonella* spp. suşlarında Virkon-S'e dirençli serotiplerin dağılımı.

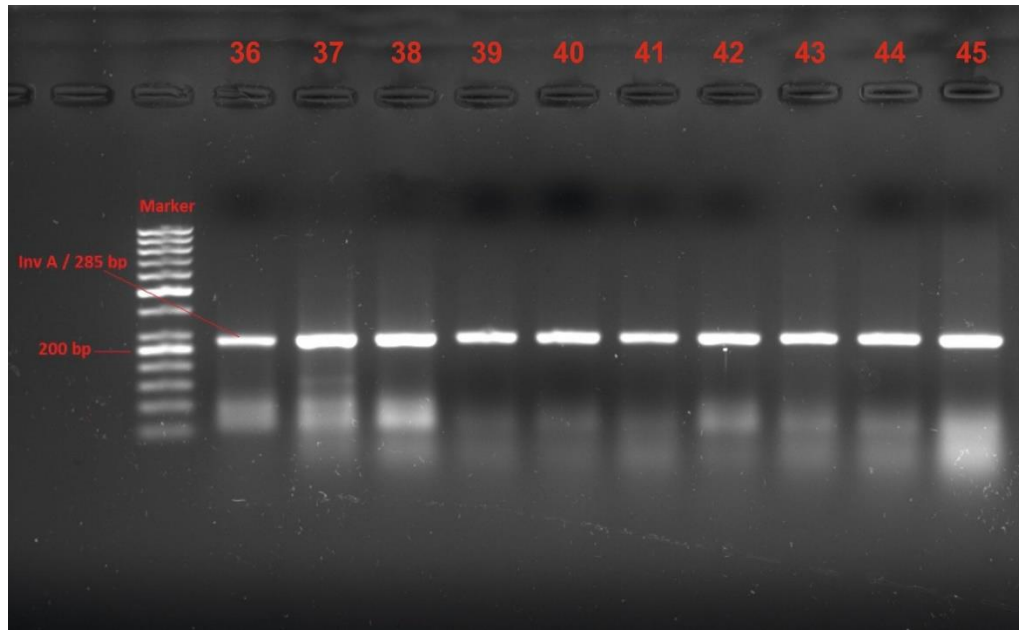
Serotip	Toplam suş sayısı	Dirençli suş sayısı (%)
<i>S. Enteritidis</i>	16	11 (68.75)
<i>S. Infantis</i>	6	2 (33)
<i>S. Kentucky</i>	5	1 (20)
<i>S. Molade</i>	3	1 (33)
<i>S. Virchow</i>	3	2 (67)
<i>S. Corvallis</i>	2	1 (50)
<i>S. Mbandaka</i>	2	1 (50)
<i>S. Anatum</i>	2	1 (50)
<i>S. Heidelberg</i>	2	1 (50)
<i>S. Typhi</i>	1	1 (100)
<i>S. Hadar</i>	1	1 (100)
<i>S. Teddington</i>	1	1 (100)
<i>S. Albany</i>	1	1 (100)

3.4. PZR ile Virülans Genlerinin Belirlenmesi

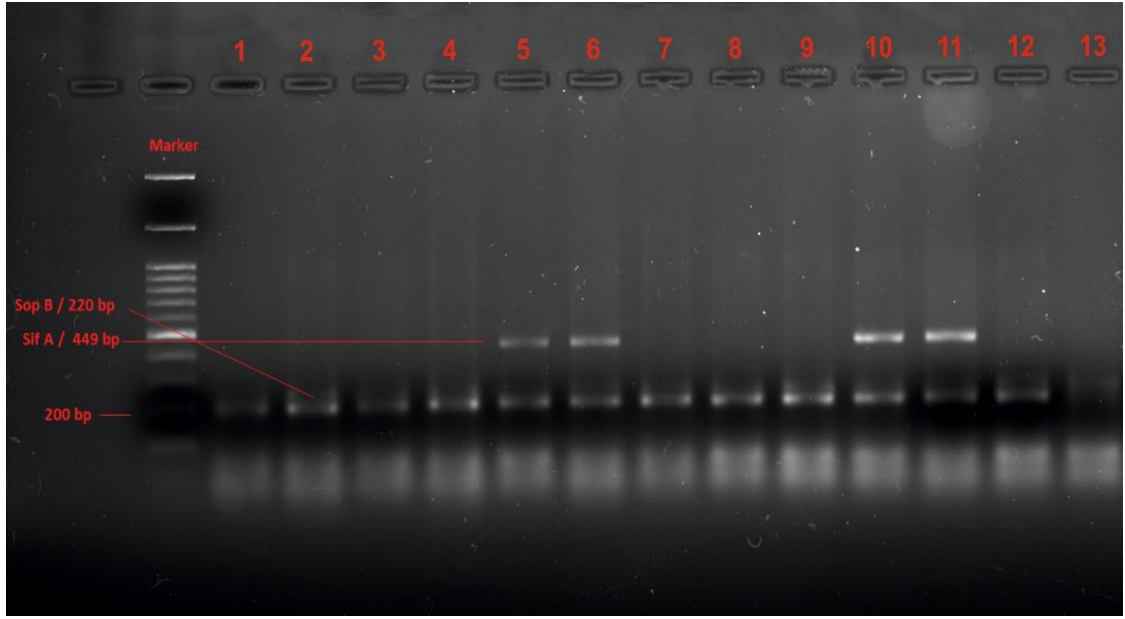
Altı ayrı virülans geni (*invA*, *sopB*, *sifA*, *pefA*, *sopE*, *pipD*) için 3 ayrı protokol halinde yapılan multipleks ve tekli PZR sonucu suşlarda tespit edilen virülans genleri ve serotiplere göre dağılımları Tablo 14'de görülmektedir. PZR bant profillerine ait görüntüler ise Şekil 12, 13 ve 14'de görülmektedir.

Tablo 14. PZR ile saptanan virülans genlerinin serotiplere göre dağılımı

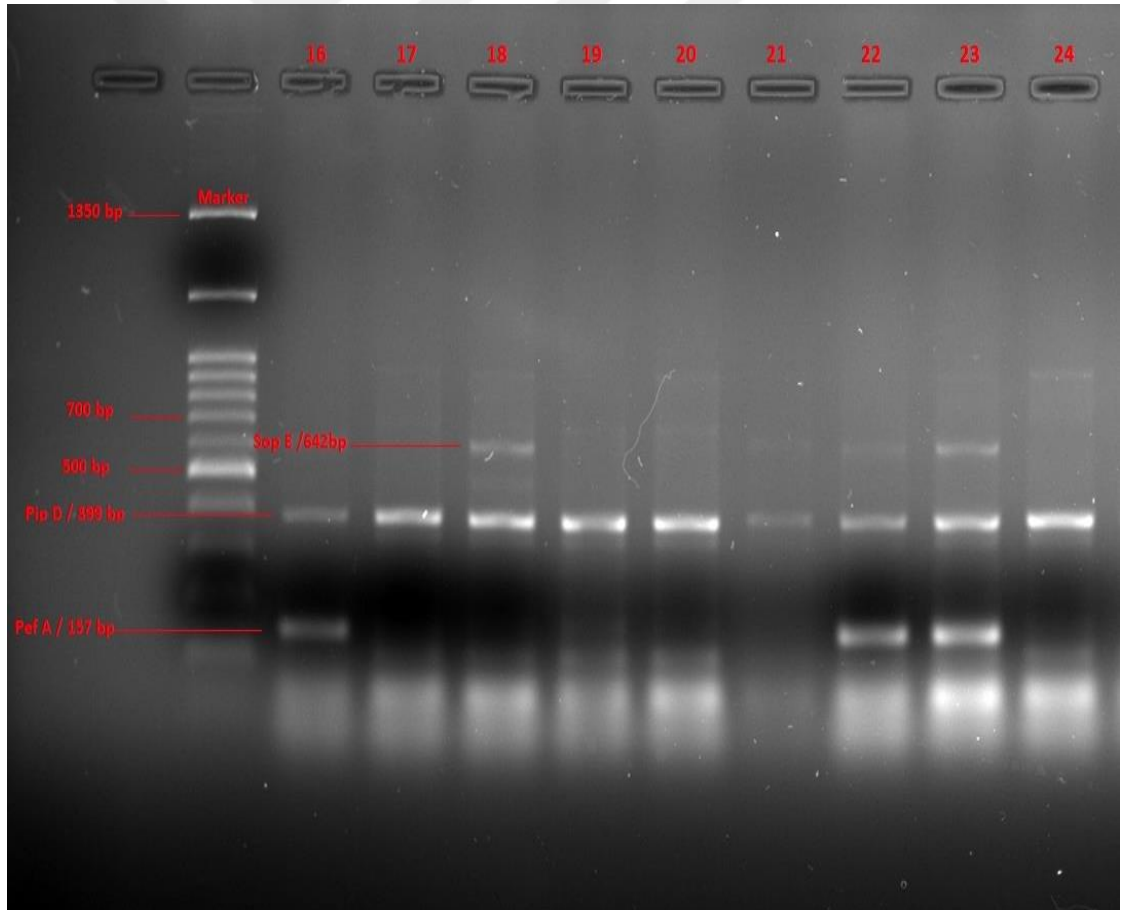
Serotip	Suş Sayısı	<i>invA</i>	<i>sopB</i>	<i>sifA</i>	<i>pefA</i>	<i>sopE</i>	<i>pipD</i>
<i>S. Enteritidis</i>	16	16	15	8	11	13	15
<i>S. Infantis</i>	6	6	6	-	2	-	6
<i>S. Kentucky</i>	5	5	5	-	-	-	5
<i>S. Molade</i>	3	3	3	-	1	-	3
<i>S. Virchow</i>	3	3	3	1	-	2	3
<i>S. Corvallis</i>	2	2	1	1	-	-	2
<i>S. Mbandaka</i>	2	2	1	-	-	-	2
<i>S. Anatum</i>	2	2	2	-	-	-	2
<i>S. Heidelberg</i>	2	2	2	1	1	2	2
<i>S. Typhi</i>	1	1	1	1	1	-	-
<i>S. Hadar</i>	1	1	1	1	-	-	1
<i>S. Teddington</i>	1	1	1	1	-	-	1
<i>S. Albany</i>	1	1	1	-	-	-	1
Toplam (%)	45	45(100)	42(93.3)	14(31.1)	16(35.5)	17(37.7)	43(95.5)



Şekil 12. *InvA* virülans geninin PZR bant profilleri



Şekil 13. *SopB* ve *sifA* virülans genlerinin PZR bant profilleri



Şekil 14. *SopE*, *pefA* ve *pipD* virülans genlerinin PZR bant profilleri

3.5. PZR ile β -Laktamaz Direnç Genlerinin Tespiti

Disk difüzyon testi sonucunda β -Laktamaz direnci tespit edilen altı suşta *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} ve *bla*_{SHV} β -Laktamaz direnç genleri PZR ile araştırılmış ancak suşların hiçbirinde bu genler gösterilememiştir.

3.6. PZR ile Tetrasiklin Direnç Genlerinin Tespiti

Disk difüzyon testinde tetrasiklin direnci saptanan 18 suşta, *TetA* ve *TetB* direnç genleri araştırılmış, yedi suşta sadece *TetA* direnç geni tespit edilmiştir (Şekil 15, Tablo 15)

Tablo 15. *TetA* geni saptanan suşlara ait serotipler, izole edildikleri yerler ve direnç tipleri.

Suş numarası	Serotip	İzole edildiği yer	Direnç tipi
1	<i>S. Infantis</i>	Damızlıkhane	DO + OT
3	<i>S. Enteritidis</i>	Kuluçkahane	DO + OT
8	<i>S. Infantis</i>	Damızlıkhane	DO + OT
14	<i>S. Mbandaka</i>	Tavuk Dışkısı	AMP + AML + DO + OT
19	<i>S. Infantis</i>	Damızlıkhane	DO + OT
25	<i>S. Infantis</i>	Damızlıkhane	DO + OT
28	<i>S. Infantis</i>	Damızlıkhane	DO + OT

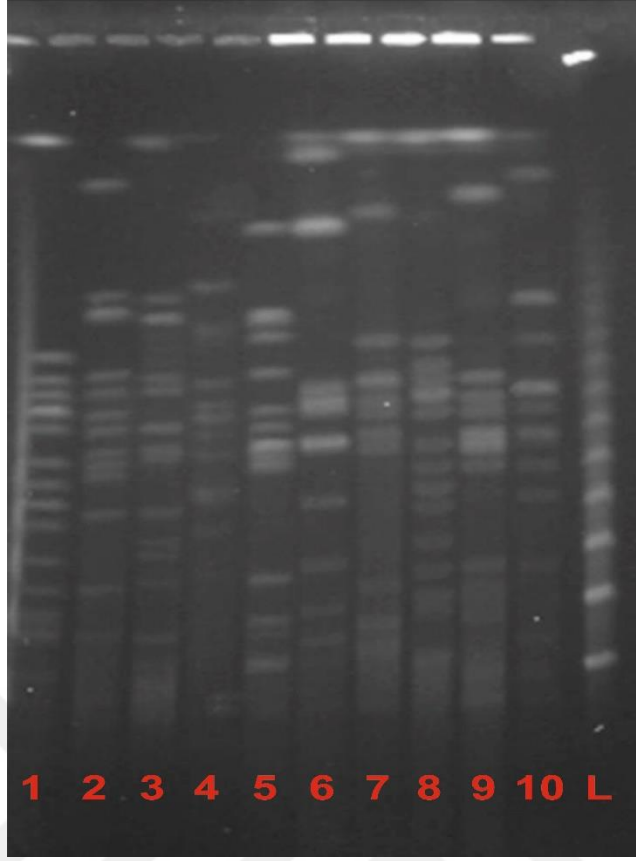
DO: Doksisisiklin, OT: Oksitetrasiklin, AMP: Ampisilin, AML: Amoksisilin



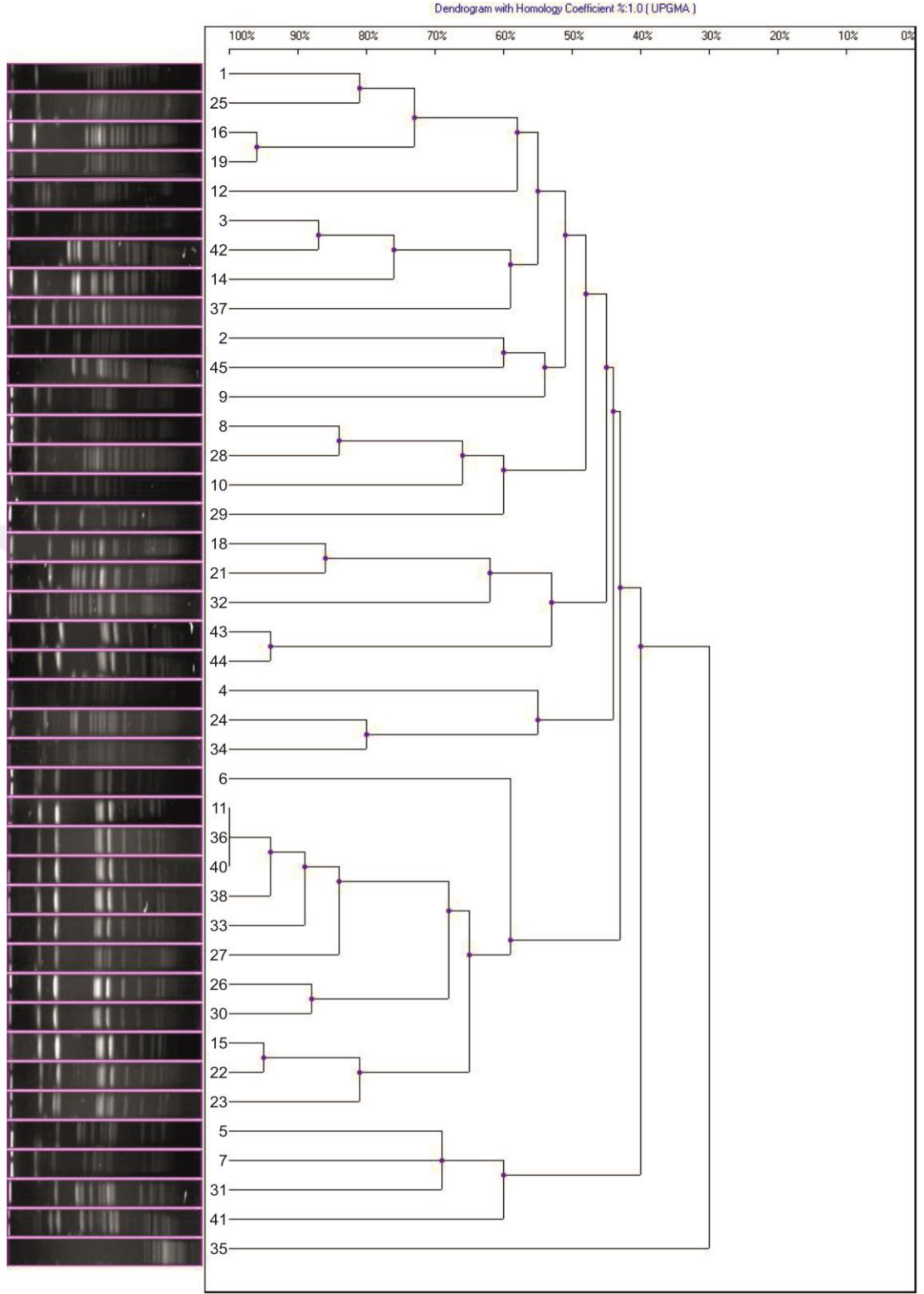
Şekil 15. *TetA* direnç geninin PZR bant profilleri

3.7. PFGE ile Suşlar Arasında Klonal Yakınlıkların Tespiti

Moleküler tiplendirme yöntemleri içerisinde altın standard olarak kabul edilen PFGE ile 45 suş arasındaki klonal ilişki CHEF Mapper (Bio-Rad) sistemi ile araştırıldı. PFGE sonrası jel görüntüleri (Şekil 16) ve %1'lik homoloji katsayısı ile Aritmetik Ortalama Kullanarak Ağırlıksız Gruplama (UPMG) metodu ile klonal ilişkiyi gösteren dendogram elde edildi (Şekil 17).



Şekil 16. İlk 10 suşa ait PFGE jel görüntüsü (L: Ladder)



Şekil 17. 41 suşa ait klonal yakınlığı gösteren dendrogram
(13,17, 20 ve 39 numaralı suşlarda PFGE paterni elde edilemedi)

BÖLÜM IV

TARTIŞMA

Salmonelloz, insan ve hayvanlarda görülen hastalıkların en önemlilerinden biridir ve dünya çapında tespit edilen gıda kaynaklı bakteriyel infeksiyonların ikinci en sık nedenidir (148). Her yıl dünya genelinde yaklaşık 93.8 milyon *Salmonella* kaynaklı gastroenterit vakası yaşanmakta ve bu vakaların 155.000'i ölüme sonuçlanmaktadır (148, 149). Ayrıca, *Salmonella* kaynaklı infeksiyonlar, 2006 yılında ABD'de 2,5 milyar dolarlık bir ekonomik zarara neden olmuştur (104).

Bulaşmada; hasta ve taşıyıcı insanlar ile hayvanlar, insanlar için *Salmonella* içeren hayvansal gıdalar (et, yumurta, süt vb.), hayvanlar için *Salmonella* içeren yemler ve bitkiler, *Salmonella* bulunan insan ve hayvan dışkıları ile kontamine olmuş sular ve vahşi hayvanlar rol oynar (150,151).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, *Salmonella* türlerinin kanatlı hayvanlarda ve ürünlerinde diğer hayvanlar ve ürünlerine kıyasla daha çok saptandığı belirtilmiştir (150). Ticari kanatlı işletmelerinde *Salmonella* bulaşı yemle, havayla, gübreyle, hijyenik olmayan koşullarla ve böcekler, kemirgenler ve insanlar aracılığıyla olmaktadır (153). Son on yılda kanatlı etlerinin ve yumurta tüketiminin artmasıyla birlikte birçok ülkede insan salmonelloz olgularında artış görülmüştür (148). 2007 yılında Avusturya'da 438 gıda kaynaklı gastroenterit vakası bildirilmiş ve bu vakaların % 70'inin *Salmonella* içeren tavuk eti ve yumurta tüketimi sonucu ortaya çıktığı gösterilmiştir (152).

En sık rastlanan serotipler, insanlarda; Typhimurium ve Enteritidis, kanatlılarda: Typhimurium, Enteritidis ve Infantis, büyükbaş hayvanlarda; Typhimurium ve Dublin'dir (150). *S. Infantis*, özellikle son 15 yılda dünya genelinde yaygınlaşmaya başlamış, kanatlı hayvanlara ve insanlara ek olarak hastanelerden ve sebzelerden de izole edilir hale gelmiştir (154).

Salmonelloz kontrolü, kontaminasyonun hayvansal kaynaklı gıda üretiminin her aşamasında olabileceğinden dolayı genel olarak zor bir süreçtir (153). Buna ek olarak insan ve hayvan sağlığında yaygın, kontrolsüz ve bazı hallerde yanlış antibiyotik kullanımı dirençli *Salmonella* suşlarının 1990'lı yılların başında ortaya çıkması ve yaygınlaşmaları ile sonuçlanmıştır (155). Antimikrobiyal direnç, global

bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmakta, salmonelloz tedavisi ve kontrolünde ciddi bir engel oluşturmaktadır (156).

Bu tez çalışmasında kullanılan 45 suşun 18'i (% 40) rutin damızlıkhane kontrollerinden, 16'sı (%33) rutin kuluçkahane kontrollerinden, sekizi (%17) tavuk dışkısından,  (6) tavuk i organlarından ve biri (%2.2) ise güvercin i organlarından izole edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen *Salmonella* suşlarının serotip ve izole edildikleri yerler gözönüne alındığında; en fazla sayıda suş içeren serotip *S. Enteritidis* (16 izolat) olmuş ve bunların 12'si kulukahanelerden izole edilmiştir. Bunun ardından altı ve beş izolat sayısı ile *S. Infantis* ve *S. Kentucky* serotipleri gelmekte olup, bu suşların tümü damızlıkhanelerden izole edilmiştir.

β -Laktam ve tetrasiklin grubu antibiyotiklere karşı toplam 20 *Salmonella* suşunda direnç tespit edilmiştir. Diğer test edilen antibiyotiklere (sefepime, levofloksasin, siprofloksasin, sefotaksim, kolistin sülfat) karşı direnç görülmemiştir.

Tetrasiklin ve β -Laktam direnci, suşların çoğunda birlikte görülmesine rağmen iki kuluçkahane kaynaklı *S. Enteritidis* suşunda sadece AMP direnci belirlenmiştir. Ayrıca suşların izole edildikleri yerlere göre direnç dağılları Tablo 9'da görülebilmektedir. Halk sağlığı açısından önem arz eden damızlıkhaneden izole edilen suşlarda yüksek oranda direnç (%55.5) tespit edilmiştir. Yine damızlıkhane izole edilen altı *S. Infantis* suşunun hepsi tetrasiklin grubu antibiyotiklere karşı dirençli bulunmuştur.

2003 yılında Aksakal (157), Van yöresinde tavuk, hindi, bıldırcın ve devekuşu dışkılarında izole ve identifiye ettiği 49 *Salmonella* suşunda oksitetrasiklin direnç oranını %40.08, tetrasiklin direnç oranını %32.66, ampisilin ve amoksisilin direnç oranlarını %10.2 olarak bulmuştur. şahan ve arkadaşları (150), et tüketime sunulmak amacıyla yetiştirilen tavukların dışkılarında yaptıkları çalışmada; tetrasiklin direnç oranını %42.2, ampisilin direnç oranını %31.5, siprofloksasin direnç oranını %10.2 ve sefotaksim direnç oranını %3.2 bulmuşlardır. Oral ve arkadaşları (36), 2007 yılında Aydın ve İzmir illerindeki ticari işletmelerde yetiştirilen tavukların i organlarından izole ettikleri 47 *Salmonella* spp. (7'si *S. Enteritidis*) suşunda, amoksisilin direncini %25.5, doksisisiklin direncini %17, kolistin sülfat direncini %4.2 bulmuşlardır.

2002-2014 yılları arasında insanlardan izole edilen 258 *Salmonella* suşunu içeren çalışmada Cilo ve arkadaşları (110), en sık *S. Enteritidis* identifiye etmişlerdir. Bu çalışmada, ampisilin direncinin %10.5 ve sefotaksim direncinin %1 olduğu belirlenmiştir. Küçüker ve arkadaşları (159), 22 *S. Enteritidis* insan suşunda ampisilin direncini %22.7, sefotaksim, tetrasiklin ve siprofloksasin direncini %4.5 olarak saptamışlardır. Cruchaga ve arkadaşları (159), İspanya'da çoğunluğunu *S. Hadar*, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'un oluşturduğu insan, hayvan (kanatlı, inek ve koyun) ve gıda (kanatlı eti, yumurta ve süt) kaynaklı 171 *Salmonella*'da ampisilin direncini insan izolatlarında %45, hayvan izolatlarında %61 ve gıda izolatlarında %43 olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada tetrasiklin direnç oranları ise insanlar izolatlarında %44, hayvan izolatlarında %61 ve gıda izolatlarında %63 olarak seyretmiştir. Tayland'da 2009 yılında 80 kanatlı ve 104 domuz kaynaklı *Salmonella* suşunda yaptıkları araştırmada, tetrasiklin ve ampisilin direnci kanatlılarda sırasıyla %66 ve %56 olarak bulunmuştur (160). Kuang ve arkadaşlarının (156) 2011 yılında Çin'de 105 kanatlı suşunu içeren araştırmada, tetrasiklin direnci %22.86, doksisisiklin direnci %23.81, ampisilin direnci %31.43, amoksisilin direnci %30.48, amoksisilin–klavulanik asit direnci %2.86, siprofloksasin direnci %25.71 ve levofloksasin direnci %19.04 olarak tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasında sadece β -Laktam direnci gösteren suşlar ile β -Laktam ve tetrasiklin grubunun her ikisine birden direnç gösteren suşların toplamı 20 (%45) olarak bulunmuştur.

Sadece β -Laktam (amoksisilin, ampisilin ve amoksisilin–klavulanik asit) direnci, suşlar arasında düşük yüzdelerde (%2.2 - 4.4) bulunmasına rağmen, tetrasiklin grubu (oksitetrasiklin ve tetrasiklin) antibiyotik direnci suşların 14'ünde (% 31) tespit edilmiştir. Bu anlamda elde edilen tetrasiklin duyarlılık sonuçları Aksakal, Şahan ve arkadaşları, Cruchaga ve arkadaşları ve Kuang ve arkadaşlarının çalışmaları ile uyum göstermektedir. Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin ekonomik, geniş spektrumlu olmaları ve oral yolla uygulanabilme gibi avantajları veteriner hekimlikte yaygın ve yoğun kullanımlarına neden olmaktadır. Yaygın ve yoğun kullanıma hatalı tedavi ve profilaksi uygulamaları eklendiğinde direnç gelişimi kaçınılmaz bir sonuçtur.

Ayrıca, çalışmamızda insan salmonelloz tedavisinde kullanılan sefalosporin grubu antibiyotiklerin (sefepim, sefotaksim), kanatlı *Salmonella* suşları üzerine etkisi araştırılmış ve tüm suşlar duyarlı bulunmuştur.

Antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda β -Laktam ve tetrasiklin gruplarına direnç gösteren suşlar, literatür taraması sonucu tespit edilen ve adı geçen antibiyotik gruplarında en sık karşılaşılan antibiyotik direnç genleri yönünden PZR yöntemi ile taranmıştır. Tetrasiklin grubu antibiyotik direncinde diğer mekanizmalara kıyasla daha ön planda olan dışa-atım (efflux) pompalarını kodlayan *tetA* ve *tetB* genleri, tetrasiklin ve β -Laktam direnci gösteren 18 suшта araştırıldı. PZR sonuçlarına göre yedi suшта *tetA* geni tespit edildi ancak *tetB* geni hiçbir suшта saptanmadı. *S. Infantis* suşlarını tamamı sadece tetrasiklin grubu antibiyotiklere direnç göstermiş ve bu altı suşun beşinde tetrasiklin temel direnç mekanizması olarak kabul edilen dışa-atım (efflux) pompa geni olan *tetA* tespit edilmiştir.

Abbasoğlu ve arkadaşları (91), 20 tetrasiklin direnci gösteren kanatlı *S. Infantis* suşunun tümünde *tetA* geni olduğunu göstermişlerdir. Adesiji ve arkadaşları (161), insanlardan, kanatlılardan ve deniz taraklarından izole ettikleri tetrasiklin dirençli 20 *Salmonella* suşunun tamamında *tetA* genini saptarken, *tetB* genini ise %30 oranında bulmuşlardır. Rahmani ve arkadaşları (148), İran'da 2013 yılında 30 tetrasiklin dirençli *S. Infantis* ve *S. Enteritidis* kanatlı suşunda yaptıkları incelemede % 75 oranında *tetA* geni varlığı ortaya konmuş ancak hiçbir suшта *TetB*, *TetC* ve *TetG* bulunamamıştır. İtalya'da 2003 yılında, Pezzella ve arkadaşları (161) 20 değişik serotip içeren 58 tetrasiklin dirençli kanatlı suşunda *tetA* genini % 68 oranında tespit etmişlerdir.

Peirano ve arkadaşları (163) insanlardan ve hayvanlardan izole edilen 119 tetrasiklin dirençli *Salmonella* suşunda % 22.6 oranında *tetA* ve % 49.5 oranında *tetB* saptamışlardır. Randall ve arkadaşları (164) insanlardan ve hayvanlardan izole edilen 108 tetrasiklin dirençli *Salmonella* spp. suşunda *tetA*, *tetB* ve *tetG* genlerini sırasıyla % 6.4 , % 6.4 ve %49 olarak bulmuşlardır. Ghoddusi ve arkadaşları (165), tetrasiklin direncine sahip 44 kanatlı *Salmonella* suşunda *tetA* geni tespit edememişlerdir.

Bu çalışmada *tetA* geni tetrasiklin ve β -Laktam direnci birlikte olan suşlarda %38.8 olarak belirlenirken, sadece tetrasiklin direnci gösteren 14 suшта %50 olarak saptandı. Elde edilen bu veriler, *tetA* varlığının tespiti anlamında Pezzella ve

arkadaşları ile Rahmani ve arkadaşlarının çalışmaları ile paralellik göstermektedir. Peirano ve arkadaşları, Adesiji ve arkadaşları ve Randall ve arkadaşları yaptıkları incelemelerde değişik oranlarda *tetB* saptamışlardır. Ancak yukarıda bahsedilen diğer çalışmalarda *tetB* düşük oranlarda veya hiç tespit edilememiştir. Dışa atım mekanizmasında rol alan ve çalışmalarda en sık karşılaşılan *tetA* ve *tetB* direnç genlerinin bazı klinik örneklerde tespit edilememesi, tetrasiklin direncinde diğer mekanizmaların rol alabileceğini ortaya koymaktadır.

β -Laktam (AML, AMP, AMC) grubu antibiyotiklere direnç görülen 5 (*S. Heidelberg*), 7 (*S. Kentucky*), 14 (*S. Mbandaka*), 31 (*S. Heidelberg*), 33 (*S. Enteritidis*) ve 36 (*S. Enteritidis*) numaralı suşlarda, β -Laktam direncinin en temel mekanizmasını oluşturan β -Laktamaz direnç genleri olan ve Gram (-) bakterilerde sıklıkla tespit edilen *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}* ve *bla_{SHV}*'yi saptanamamıştır.

Djeffal ve arkadaşları (166) insanlardan izole edilen 37 *Salmonella* spp. suşunun beşinde amokisisilin-klavulanik asit direnciyle karşılaşmışlardır. PZR sonuçlarına göre *bla_{CTX-M}* genini suşların tümünde ve *bla_{TEM}* 'i ise %33 oranında tespit etmişlerdir.

Brezilya'da yapılan bir araştırmada, 1999-2003 yılları arasında insan, hayvan ve hayvansal gıda örneklerinden izole edilen ampisilin dirençli 84 *Salmonella* spp. suşundan 80'inde (%95) *bla_{TEM}*, 15'inde (%17.8) *bla_{CTX-M}* pozitif bulunmuştur (163). Eguale ve arkadaşları (167), insan ve hayvanlardan (tavuk, inek, domuz) izole edilen ve β -Laktam direnci gösteren 43 *Salmonella* spp. suşunun 34'ünde (%79) *bla_{TEM}*, ikisinde (%4.6) *bla_{CTX-M}* tespit ederken, *bla_{SHV}*'ye rastlamamışlardır. Chen ve arkadaşları (168), hayvansal gıda örneklerinden izole edilen çoklu dirençli 30 *Salmonella* spp. suşunun 13'ünde (%43) sadece *bla_{TEM}* belirlemişlerdir. Japonya'da 2002-2006 yılları arasında yapılan bir araştırmada, hayvan (tavuk, inek, domuz) ve hayvansal gıda örneklerinden izole edilen çoklu dirençli 48 *Salmonella* spp. suşundan, 14'ünde (%29) *bla_{TEM}* saptamışlar (169). Chuanchuen ve arkadaşları (160) ise, tavuklardan izole edilen 80 *Salmonella* spp. suşundan 19'unda (%23) *bla_{TEM}*'i göstermişlerdir.

Yukarıda belirtilen makalelerde insan, hayvan (tavuk, inek ve domuz) ve hayvansal kaynaklı gıda örneklerinden izole edilen çok farklı serotiplerde *Salmonella* suşları kullanılmıştır. Yapılan çalışmaların hepsinde *bla_{TEM}* direnç genleri saptanmıştır. *bla_{CTX-M}* direnç geni varlığı bazı çalışmalarda saptanmıştır fakat bunun

bla_{TEM}'e kıyasla daha düşük oranlarda olduğu görülmüştür. Ancak yukarıda belirtilen hiçbir çalışmada *bla_{SHV}* geni gösterilememiştir.

Bu çalışmada elde edilen veriler *bla_{SHV}* açısından literatür ile uyum içerisindedir. Diğer direnç genlerinin tespit edilememesi, suşlarda diğer β -Laktam direnç mekanizmalarının rol oynayabileceğini göstermektedir.

Salmonella infeksiyonları birçok virülans genini içeren karmaşık bir patogeneze sahiptir. Günümüze kadar tanımlanan 60'dan fazla virülans geni 16 SPA üzerinde kümeler halinde yer alır (152). Bu virülans genlerinin çoğunluğu kromozomlar veya virülans ilişkili plazmitler üzerinde lokalize olmuşlardır (170,171). SPA ve virülans genlerinin varlığı *Salmonella* serotipleri arasında değişkenlik göstermektedir (171).

Bu çalışmada en sık karşılaşılan *Salmonella* virülans genleri olan *invA*, *sopB*, *sopE*, *sifA*, *pefA*, ve *pipD* araştırılmıştır. Virülans genleri patogenez sürecinde farklı görevlere sahiptirler. *InvA*, *sopB* ve *sopE* genleri konakçı tanınması ve makrofajların invazyonunda rol alırlar. *SifA* geni makrofajlar içerisinde sağ kalımdan sorumludur. *PefA* fimbriae'nın yapısına katılır ve etkenin hareketine olanak sağlarken, *pipD* geninin ise enterit oluşumu ile bağlantılı olduğu ortaya konmuştur (170, 172).

Yukarıda belirtilen virülans genleri 45 kanatlı *Salmonella* spp. suşunda PZR yöntemi ile araştırılmıştır. PZR çalışmaları sonucunda *invA* geni suşların tamamında tespit edilirken, *sopB* ve *sipD* sırasıyla 42 (%93.3) ve 43 (%95.5) suшта belirlenmiştir. *sopE* 17 (%37.7) suшта saptanırken, *sifA* 14 (%31.1), *pefA* ise 16 (%35.5) suшта saptanmıştır.

Karmi ve arkadaşları (152), 16 kanatlı eti kaynaklı *Salmonella* spp. suşunun tamamında *invA* genini göstermişlerdir. Chaudhary ve arkadaşları (171) ise, domuz etinden izole edilen 37 *Salmonella* spp. suşunun hepsinde *invA* geni tespit etmişlerdir. Brezilya'da yapılan bir araştırmada, insan, hayvan ve hayvansal gıda örneklerinden izole edilen 102 *S. Enteritidis* suşunun tamamında *InvA* geni saptanmıştır (173). Brezilya'da 1984-2005 yılları arasında insan, hayvan, hayvansal kaynaklı gıda ve sebze örneklerinden izole edilen 35 *S. Infantis* suşunun hepsinde *invA*, *sopB* ve *sifA* bulunmuştur (154). Campioni ve arkadaşları (149), yine Brezilya'da 1986-2010 yılları arasında insan, hayvan, hayvansal kaynaklı gıda ve sebze örneklerinden izole edilen ve salgınlardan sorumlu tutulan 128 *S. Enteritidis* suşunun tamamına yakınında (%97.6) *invA*, *sopB* ve *sifA* genlerini saptamışlardır.

Krawiec ve arkadaşları (174) 40 değişik yabancı kuş türünden izole ettikleri 64 *Salmonella* suşunda, *invA* ve *sifA* genini suşların tamamında, *sopB* ve *pefA* genlerini ise sırasıyla %94.45 ve %66 olarak belirlemişlerdir. Hindistan'da 2011 yılında 134 hayvansal gıdalardan izole edilen *Salmonella* suşunun hepsinde *invA* saptanırken, *pefA* %51.42 oranında bulunmuştur (175). Skyberg ve arkadaşları (172) 178 kanatlı suşunda, *InvA*'yı suşların tamamında tespit etmişler ve *sopB*, *sifA*, ve *pefA* genlerini sırasıyla %98.75, %90 ve %3.75 olarak saptamışlardır.

Chaudhury ve arkadaşları (171), ise 78 kanatlı saha suşunda, *InvA* ve *SopB*'yi suşların tümünde, *sopE* ve *pefA* genlerinin varlığını sırasıyla %55.27 ve %32.9 olarak belirlemişlerdir. Borges ve arkadaşları (176), 84 *Salmonella* suşunun tümünde *invA* genini tespit ederlerken ve *sopE* genini (%98.7) olarak saptamışlardır. İnsan, hayvan ve hayvansal kaynaklı gıda örneklerinden izole edilen 185 *Salmonella* suşunu içeren çalışmalarında Dione ve arkadaşları (170), *invA*, *sopB*, *sopE*, *pefA* ve *pipD* genlerini sırasıyla %99.5, %94.1, %33, %44 ve %92.4 olarak belirlemişlerdir. Zishiri ve arkadaşlarının (177) 146 insan ve tavuk kökenli suşu kapsayan araştırmada *invA* suşların hepsinde, *pipD* ise (%50) olarak bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında *invA* ve *sopB* genlerinin saptanma oranları yukarıda belirtilen kaynakların tümüyle paralellik göstermektedir. *InvA* virülans geninin değişik coğrafi bölgelerde, farklı kaynaklarda ve serotiplerde çok yüksek oranlarda bulunması, adı geçen genin *Salmonella* cinsi içerisinde korunmuş bir bölge olabileceğini düşündürmektedir (171,178). Günümüzde *Salmonella*'ların tanımlanmasında PZR ile *invA* primerlerinin kullanılması hızlı, duyarlı ve spesifik bir yöntem olarak görülmekte ve uluslararası bir standard olarak kabul edilmektedir (179).

InvA ve *sopB* genlerinin *Salmonella*'larda yüksek oranlarda tespit edilmesi güçlü bir invazyon kapasitesine sahip oldukları şeklinde yorumlanabilir. *PipD* geni ile ilgili pek kaynak bulunmamakla beraber elde edilen veriler Dione ve arkadaşlarının çalışması ile paralellik göstermektedir. Ayrıca, *pipD* geninin yine yüksek düzeylerde saptanması serotipten bağımsız olarak kanatlılarda *Salmonella* infeksiyonlarının başlıca bulgusunun enterit olabileceğine işaret etmektedir. *SifA* geni, Campioni ve arkadaşları, Krawiec ve arkadaşları ve Skyberg ve arkadaşlarının araştırmalarında yüksek oranlarda saptanırken, *sopE* ve *pefA* genlerinin tespit edilme oranları ise değişkenlik göstermektedir.

Araştırılan altı genin tümünü birden taşıyan tek serotipin *S. Enteritidis* olduğu ortaya çıkmıştır. 16 *S. Enteritidis* suşunun sekizinde (%50) bütün virülans genleri saptanmıştır. Kuluçkahane, tavuk iç organ ve dışkılarından köken alan bu suşların birinin tetrasiklinlere, dördünün ise Virkon-S®'e dirençli olduğu belirlenmiştir. Virülans genlerinin tümünü taşıyan, antibiyotik ve dezenfektanlara karşı direnç sergileyen bu tip *S. Enteritidis* suşları halk sağlığı açısından ciddi tehlike oluşturabilecek potansiyele sahiptirler.

Dezenfeksiyon, infeksiyonlara sebep olan mikroorganizmaların çeşitli yöntemlerle (ısı, kimyasal maddeler ve ultraviyole ışınları) yok edilmeleri veya üremelerinin inhibe edilmesi uygulamalarını kapsar. Kullanılan kimyasal bazlı dezenfektanlar veya diğer dezenfeksiyon araçları bakterilerin vejetatif formlarını ortadan kaldırır ancak yüksek direnç gösteren spor formlarına etki etmeyebilir (180).

Dezenfeksiyon uzun yıllardan beri başta sağlık sektörü olmak üzere gıda, kimya ve kozmetik endüstrisinde yaygın ve yoğun olarak gerçekleştirilen bir işlemdir. Dezenfektanlar, içerdikleri farklı kimyasal maddeler nedeniyle mikroorganizmalar üzerinde birçok hedefe etkilidir ve bu açıdan hedef spesifikliği olan antibiyotiklere kıyasla daha geniş bir etki spektrumuna sahiptirler. Ayrıca, aynı madde birden fazla mekanizma ile etki gösterebilmektedir (180,181).

Bu tez çalışmasında kanatlı kuluçkahane, damızlıkhane ve laboratuvarlarda sıklıkla kullanılan Virkon-S®, Benaldecid®, Bides-S® ve Terminatör® adlı dezenfektanların 13 ayrı serotipten oluşan 45 *Salmonella spp.* suşu üzerindeki etkileri mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Araştırma sonucunda aldehid (gluteraldehid), kuarterner amonyum (benzalkonyum klorür), klor ve alkol bileşikleri içeren Benaldecid®, Bides-S® ve Terminatör®, ün tüm suşlara etkili olduğu görüldü. Ancak, oksitleyici bileşik olarak sınıflandırılan ve temel olarak potasyum peroksimonosülfat içeren Virkon-S®'e 25 (%55) suşun dirençli olduğu saptandı.

Gradel ve arkadaşları (182), dokuz farklı serotip içeren 286 *Salmonella spp.* suşunda Virkon-S®'e ek olarak formaldehid, gluteraldehid, benzalkonyum klorür, fenol ve iyot bileşikleri içeren dört ayrı ticari dezenfektan kullanmışlar ve herhangi bir dirençle karşılaşmamışlardır. Cardoso ve arkadaşlarının (183), yaptığı ve 80 tavuk gövde eti kaynaklı *S. Enteritidis* içeren çalışmada gluteraldehid, benzalkonyum klorür, fenol ve iyot kimyasal bileşikleri kullanılmışlardır. Tüm bileşikler suşlar üzerine etkili bulunmuştur.

Ramesh ve arkadaşlarının (184), yaptıkları araştırmada *Salmonella* ile kontamine ettikleri, organik atıklar ve biofilm ile kapladıkları metalik yüzeylerde farklı kimyasal maddeler içeren 13 değişik ticari dezenfektanı çeşitli konsantrasyonlarda uygulamışlar ve aktif içerikleri sodyum hipoklorit ve alkali peroksit olan iki dezenfektanı etkili bulmuşlardır. Norveç'te 2008 yılında kanatlı yemlerinden izole edilen *Salmonella* spp. suşlarına karşı bakterisidal etkinliği en yüksek dezenfektanların %70 etanol içeren P3AlcoDes® ve Virkon-S® olduğu bildirilmiştir (185).

Gehan ve arkadaşları (186), ticari kanatlı işletmelerinde kullanım alanı bulan içinde Virkon-S®'inde bulunduğu beş farklı ticari dezenfektan yedi ayrı bakteriyel, fungal ve viral etkene karşı etkisi in vitro olarak araştırmışlardır. Çeşitli zaman dilimlerini içeren, organik madde varlığında ve yokluğunda yapılan araştırmalar sonucunda Virkon-S®'in önerilen konsantrasyonlarda kanatlılardan izole edilen *S. Typhimurium* suşları üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir.

Aerestrup ve arkadaşları (187), 156 kanatlı *Salmonella* spp. suşunda benzalkonyum klorür, klorheksidin, çinko klorür, bakır sülfat, formaldehid ve hidrojen peroksit (potasyum peroksomonosülfat ile aynı gruptan) kullanarak yaptıkları araştırmada, en etkili iki kimyasal madde hidrojen peroksit ve formaldehid olarak belirlemişlerdir. İngiltere'de yapılan bir araştırmada ise kanatlı *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* suşları kullanılarak, farklı kimyasal maddeler içeren 13 ayrı ticari (Virkon-S® dahil) dezenfektanın etkinliği araştırılmış ve değişik zaman dilimlerinde ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan dezenfektanların etkinlikleri değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda gluteraldehid ve formaldehid içeren dezenfektanların bakterisidal etkinlikleri yüksek bulunmuştur(188).

Payne ve arkadaşlarının (189) ticari kanatlı kümeslerin tabanında ve laboratuvar koşullarında *S. Typhimurium* kullandıkları çalışmada, kuarternler amonyum, fenol, potasyum peroksomonosülfat ve peroksijen bileşiklerinin etkinlikleri araştırılmıştır. Testler sonucunda kullanılan tüm kimyasallar etkili bulunmuş ve aralarında ciddi bir fark gözlenmemiştir. Türkiye'de 2015 yılında gerçekleştirilen bir tez çalışmasında, kanatlılardan izole edilen *S. Infantis*, *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* suşları üzerine hidrojen peroksit, kuarternler amonyum bileşikleri, iyot bileşikleri ve gluteraldehid bileşiklerinin etkinlik araştırılmıştır. Hidrojen peroksit en etkili dezenfektan olarak saptanmış ve *S. Infantis*'in ise diğer

serotiplere kıyasla dezenfektanlara daha duyarlı olduğu görülmüştür. Ayrıca, *S. Typhimurium*'da kuarterner amonyum bileşiklerine karşı direnç belirlenmiştir (190).

Bu tez çalışmasında aldehid (gluteraldehid), kuarterner amonyum (benzalkonyum klorür), klor ve alkol bileşikleri içeren dezenfektanlar, suşların tümünde mikrodilüsyon testi sonucunda mikrobiyal üremeyi inhibe etmiştir. Ancak, potasyum temel aktif içeriği peroksomonosülfat olan Virkon-S® suşların 25'inde (%55) etkili olmamıştır. Virkon-S®'in etkili olmadığı suşların ; 11'i (%44) *S. Enteritidis*, ikisi (%8) *S. Virchow*, ikisi (%8) *S. Infantis*, diğerleri (%4) *S. Kentucky*, *S. Molade*, *S. Corvallis*, *S. Mbandaka*, *S. Anatum*, *S. Heidelberg*, *S. Typhi*, *S. Hadar*, *S. Teddington* ve *S. Albany*'dir. Virkon-S®'e karşı olan dirence tüm serotiplerde rastlanmaktadır. Ayrıca, dezenfektan direnci gösteren 25 suşun dokuzu (%36) tetrasiklin ve β-laktam grubu antibiyotiklere karşı da dirençlidir.

Tez çalışmasında 16 *S. Enteritidis* suşunun 11'i (%67.8) dirençli olduğu belirlenmiş ve bu dirençli suşların dokuzunun (%81.8) kuluçkahane kaynaklı olduğu görülmüştür. 15 kuluçkahane kaynaklı örneğin 11'i (%73), sekiz tavuk dışkısı kaynaklı örneğin beşi (%62.5) ve 18 damızlıkhane kaynaklı örneğin yedisi (%38) Virkon-S®'e direnç göstermiştir. Ticari tavukçuluk işletmelerinde sık olarak kullanılan bu dezenfektana karşı kuluçkahane kaynaklı örneklerde ve *S. Enteritidis* yüksek olarak izlenen direnç, hayvansal kaynaklı gıda tüketimi göz önüne alındığında insan sağlığı açısından tehlike oluşturabilecek durumdadır.

Dezenfektanlara karşı bakterilerde görülen direnç, antibiyotiklerde görülen dirençle karşılaştırıldığında oldukça düşük düzeyde kalmaktadır. Bunun temel nedeni kullanılan ticari dezenfektanların çoğunluğunun içerdikleri farklı düzeylerdeki çeşitli kimyasal maddelerin; değişik etki mekanizmalarıyla bakteri hücrelerinde yer alan bir çok hedefe etkili olmasıdır. Yapılan çalışmalarda saha suşları ve standard suşlar arasında yapılan karşılaştırmalarda, saha örneklerinde azalmış dezenfektan duyarlılığı görülebilmektedir. Bu çalışmada sahadan izole edilen suşlar kullanılmıştır. Yapılan dezenfeksiyon etkinlik testlerinde suşların yarısından fazlasında (%55) sadece bir dezenfektana (Virkon-S®) karşı direnç tespit edilmiştir. Direnç gelişimine neden olan faktörler olarak; suşların izole edildikleri yerlerde Virkon-S®'in uzun süreden beri, yetersiz temas sürelerinde ve konsantrasyonlarda uygulandığı, ayrıca dezenfeksiyon öncesi yeterli ön temizlik işleminin yapılmadığı düşünülmektedir.

Tez çalışmasının son aşamasında suşlar arasındaki klonal yakınlığı belirlemek amacıyla PFGE yöntemi uygulanmıştır. Bu moleküler tiplendirme yöntemi epidemiyolojik araştırmalarda ve salgınlarda kullanım alanına sahiptir. PFGE yüksek ayırım gücü, tekrarlanabilirliği ile güven veren bir yöntemdir ve sahip olduğu bu nitelikler ile ön plana çıkmaktadır. Bu yöntem özellikle salgınlar sırasında suşlar arasındaki klonal ilişkinin ortaya konmasında, salgınlara ait kaynağın belirlenmesinde, bulaşma yolları ve araçları ile bulaşma derecelerinin saptanmasında faydalıdır (135, 154, 191, 192).

PFGE ile 45 *Salmonella* suşundan, dördünde (13 numaralı *S. Corvallis*, 17 numaralı *S. Kentucky*, 20 numaralı *S. Kentucky* ve 39 numaralı *S. Kentucky*) yöntem tekrar edilmesine rağmen patern elde edilememiştir. Ortaya çıkan 13 ayrı *Salmonella* serotipi içeren 41 suşa ait dendogramda yüksek ayırım gücünün bir göstergesi olarak 39 ayrı pulstotip tespit edilmiştir. Suşlar arası klonal yakınlık %30 ile % 100 arasında değişmektedir. Ayırım / sınır değeri, % 53 olarak alındığında, örnekler arasında sekiz ayrı küme oluşumu gözlenmiştir. 35 (*S. Enteritidis*) numaralı suşa ait pulstotip ayırım / sınır değerinin altında kaldığı için ve diğer suşlarla benzerlik oranı çok düşük olduğu için kümelendirme işlemine dahil edilmemiştir. Kümelerin sahip olduğu suş sayılarının genetik benzerliklerine dayanarak üç ile 12 arasında değiştiği saptanmıştır.

Dendogramda yapılan incelemede aynı serotipte olan ve bazı durumlarda farklı köken alanlarına sahip suşlar arasında % 80 ve %100 arasında değişen oranlarda yüksek benzerlik gözlemlenmiştir. Kuluçkahaneden izole edilen 11 numaralı *S. Enteritidis* suşu ile kuluçkahaneden izole edilen 36 numaralı *S. Enteritidis* suşu ve tavuk dışkılarından izole edilen 40 numaralı *S. Enteritidis* suşunun arasında %100 yakınlık tespit edildiğinden aynı suş olarak kabul edilmiştir. Bu suş ile kuluçkahaneden izole edilen 38 ve 33 numaralı *S. Enteritidis*, tavuk iç organlarından izole edilen 27 numaralı *S. Enteritidis* suşları arasında %83 - %94 arasında değişen genetik benzerlik vardır. Kuluçkahaneden izole edilen 43 numaralı *S. Enteritidis* suşu ile kuluçkahaneden izole edilen 44 numaralı *S. Enteritidis* suşu arasında %95, kuluçkahaneden izole edilen 26 numaralı *S. Enteritidis* suşu ile yine kuluçkahaneden izole edilen 30 numaralı *S. Enteritidis* suşu arasında %87 benzerlik saptanmıştır.

Yüksek benzerlik oranları Enteritidis serotipi dışında Infantis, Virchow, Molade serotipleri arasında da bulunmuştur. Genetik benzerlik oranları; damızlıktan izole edilen 16 numaralı *S. Infantis* suşu ile damızlıktan izole edilen 19 numaralı *S. Infantis* suşu arasında %97, damızlıktan izole edilen 8 numaralı *S. Infantis* suşu ile yine damızlıktan izole edilen 28 numaralı *S. Infantis* suşu arasında %83, damızlıktan izole edilen 1 numaralı *S. Infantis* suşu ile damızlıktan izole edilen 25 numaralı *S. Infantis* suşu arasında %82'dir. Ayrıca, damızlıktan izole edilen 18 numaralı *S. Virchow* suşu ile damızlıktan izole edilen 21 numaralı *S. Virchow* suşu arasında %85, tavuk dışkıdan izole edilen 24 numaralı *S. Molade* suşu ile tavuk dışkıdan izole edilen 34 numaralı *S. Molade* suşu arasında %81 oranında klonal yakınlık vardır.

Bazı farklı serotipler arasında da yüksek benzerlik oranları gözlenmiştir. damızlıktan izole edilen 15 numaralı *S. Enteritidis* suşu ile kuluçkahaneden izole edilen 22 numaralı *S. Enteritidis* suşu arasında %95 benzerlik belirlenmiş ve adı geçen suşlarla, 24 numaralı tavuk dışkıdan izole edilen *S. Molade* suşu arasında % 82 oranında genetik benzerlik saptanmıştır. Ayrıca, kuluçkahaneden izole edilen 3 numaralı *S. Enteritidis* suşu ile tavuk dışkıdan izole edilen 42 numaralı *S. Hadar* arasında %87 oranında klonal yakınlık görülmüştür.

Aynı olarak kabul edilen 11, 36, 40 numaralı kuluçkahane kaynaklı *S. Enteritidis* suşları içerisinde 36 numaralı suş, %87 genetik benzerlik gösterdiği 33 numaralı kuluçkahane kaynaklı *S. Enteritidis* suşu ile aynı antibiyotik (AMP) direnç paternine sahip olduğu görülmüştür. Ancak diğer *S. Enteritidis* suşlarında benzer bir ilgi belirlenmemiştir. Yüksek klonal yakınlık gösteren (\geq %80) 12 *S. Enteritidis* suşunun dokuzunun (%75) Virkon-S®'e dirençli olduğu saptanmıştır. Ayrıca, %100 genetik yakınlık gösteren 11 ve 40 numaralı suşlar ile %95 oranında yakınlığa sahip olan 43 ve 44 numaralı suşların tüm virülans genlerini taşıdığı görülmüştür.

Yukarıda yüksek oranda klonal yakınlığı olduğu belirtilen ve tümü damızlıkhane kaynaklı olan altı *S. Infantis* suşunun tamamında aynı antibiyotik (DO/OT) direnç paterni tespit edilmiştir. Ek olarak 1 ve 16 numaralı suşlarda Virkon-S® direnci de görülmüştür.

Aralarında yüksek genetik benzerlik bulunan Virchow ve Molade serotiplerinde antibiyotik ve dezenfektan direnci bağlamında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir.

PFGE analizi sonucu, aralarında yüksek oranda genetik benzerlik belirlenmiş olan 15 ve 22 numaralı *S. Enteritidis* suşları ile 24 numaralı *S. Molade* suşunda Virkon-S® direnci vardır. Aynı durum, yüksek benzerlik gösteren 3 numaralı *S. Enteritidis* suşu ile 42 numaralı *S. Hadar* için de geçerlidir.

Golab ve arkadaşlarının (192), 22 farklı serotipten oluşan 47 kanatlı kaynaklı *Salmonella* spp. suşunda yaptıkları PFGE çalışmasında, 39 pulsotip saptanmış ve sekiz suşta PFGE paterni elde edilememiştir. Pulsotipler sınıflandırıldığında ise yedi küme oluşumu gözlemlenmiş ve en büyük kümenin üç pulsotip içerdiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada suşlar arasında benzerlik ise %46-100 arasında bulunmuştur. Lee ve arkadaşlarının (193), Güney Kore’de yaptıkları bir araştırmada, insan ve tavuklardan izole edilen 173 *S. Enteritidis* suşunda 19 farklı pulsotip saptanmış ve bunlar üç ana kümede toplanmıştır. Ana kümelerden birinde 17 alt küme ayırımına gidilmiş ve bu alt kümelerden sadece birinde insan ve tavuk suşları arasında klonal benzerliğe rastlanmıştır. 173 suş arasındaki benzerlik ise %75-100 arasında bulunmuştur. Gai ve arkadaşları (194) Çin’de 12 farklı bölgede bulunan mezbahanelerden izole ettikleri 100 kanatlı eti kaynaklı *Salmonella* spp. suşunda 38 ayrı pulsotip tespit etmişler, 10 suşta PFGE paterni elde edememişlerdir. Pulsotipler sınıflandırıldığında ise dört küme oluşumu saptamışlar ve suşlar arasında benzerliği ise %80-100 arasında bulmuşlardır. Aynı çalışmada *S. Enteritidis* serotipine ait suşların aynı paternleri sergilediği görülmüş ve yapılan ayrıntılı incelemede bu suşların farklı yerlerde bulunan mezbahanelerden izole edilmiş olduğu saptanmıştır. Bu durum adı geçen suşların, aynı çiftlikten kaynaklandığı veya mezbahaneler arası çapraz kontaminasyon oluştuğu şeklinde yorumlanmıştır.

Macaristan’da 2006 yılı içerisinde yapılan bir araştırmada, insan ve hayvanlardan (kanatlı, inek, domuz) izole edilen 138 *S. Infantis* suşunun PFGE analizi sonucunda 16 pulsotip ve beş küme elde edilmiştir. Suşlar genetik benzerlik %82-100 arasında değişmekle beraber 91 (%66) suşun (41 insan, 19 tavuk, 25 kanatlı eti ve altı diğer) aynı paterne sahip olduğu belirlenmiştir. Aynı genetik klon olarak nitelendirilen bu suşların, kanatlı ürünleri ile yayılım gösterdiği ve insanlara bulaştığı ifade edilmiştir (195).

Campioni ve arkadaşlarının (149), insan ve hayvan kaynaklı çeşitli salgınlardan izole edilen 128 *S. Enteritidis* suşunda yaptıkları PFGE analizinde, 68 pulsotip tespit edilmiş ve üç ana küme halinde sınıflandırılmıştır. Suşlar arası genetik

benzerlik ise %73.1 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, sporadik vakaların salgın suşlarından ayırt edilemediği belirtilmiş ve farklı salgınlardan elde edilen suşların birlikte gruplandırılabilmesi vurgulanmıştır. Yine aynı çalışmada PFGE ve ERIC-PCR ayırım gücü açısından karşılaştırılmış ve ERIC-PCR sonucu elde edilen 55 alt tipin, PFGE'nin ayırım gücünün gerisinde kaldığı belirtilmiştir. Brezilya'da yapılan bir çalışmada ise kanatlı mezbahanelerinden izole edilen 14 *S. Corvallis* suşunun tümünün aynı pulsotipe ait olduğu saptanmış ve bu suşların farklı antibiyotiklere direnç göstermelerine rağmen %100 genetik benzerliğe sahip oldukları görülmüştür (196).

Modaressi ve arkadaşları (197), 11 farklı serotipten oluşan 88 kanatlı eti, biftek ve sokak yiyeceklerinden izole edilmiş *Salmonella* spp. suşunda 61 ayrı pulsotip, sekiz küme saptanmışlar ve PFGE tekrarlarında da aynı sonuçların elde edildiği belirtilmişlerdir. Suşlar arasında %65 oranında benzerlik görülmüş, *S. Corvallis* serotipleri yüksek oranda genetik ayırım gösterirken, sokak yiyeceklerinden izole edilen *S. Hadar* suşlarının tek bir pulsotipe sahip oldukları belirtilmiştir. Xia ve arkadaşları (198) ise 2008 yılında yaptıkları insanlardan izole edilen 35 *S. Enteritidis* içeren çalışmada, ayırım değerini %85 almışlar ve 10 farklı pulsotip belirlemişlerdir. Ek olarak yapılan inceleme sonucunda 24 suşun dört farklı yerden izole edilmesine rağmen aynı antibiyotik direnç paternine ve pulsotipe ait olduğunu ortaya koymuşlardır.

Tez çalışmasında elde edilen veriler, aynı serotiplerin yüksek genetik benzerliğe sahip olması, yüksek ayırım gücü, pulsotip çeşitliliği, yöntem tekrarlanabilirliği ve farklı yerlerden izole edilen suşların benzer genetik karaktere sahip olduğu gibi kriterler ele alındığında, Golab ve arkadaşlarının, Lee ve arkadaşlarının ve Gai ve arkadaşlarının çalışmaları ile uyum göstermektedir. Bu çalışmada yararlanılan suşlar hasta ve sağlıklı hayvanlar ile çevreden elde edilmiştir. Farklı ortamlardan izole edilmelerine rağmen aynı paterni gösteren suşlar ile yüksek homoloji (%80-99 benzerlik) gösteren suşlar, bir bulaşmanın olabileceği ihtimalini göstermektedir. Ayrıca, araştırılan tüm virülans genlerini taşıyan, dezenfektan ve antibiyotik direnci gösteren benzer genetik özelliklere sahip *S. Enteritidis* suşları bir bulaşa işaret etmektedir.

Klonal yakınlık gösteren farklı veya aynı serotiplere ait bir çok suşun, değişik yerlerden izole edilmelerine rağmen, aynı dezenfektana direnç göstermeleri, bu

dezenfektanın kanatlı endüstrisinde yaygın olarak kullanıldığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Ayrıca, değişik zamanlarda izole edilen ve tümü damızlıkhane kaynaklı olan *S. Infantis* suşlarının, yüksek genetik yakınlık gösterip eş zamanlı olarak aynı antibiyotik direnç profiline sahip olmaları, bu tip tesislerde tedavi amaçlı aynı antimikrobialerin kullanıldığını ortamlar arasında bulaşım sonucu antibiyotik direncinin aktarılabileceği şeklinde yorumlanabilir.



BÖLÜM V

SONUÇ ve ÖNERİLER

Salmonella'lar sahip oldukları 2600'dan fazla serotip ile insan ve hayvanlarda dünya çapında infeksiyonlara ve gıda zehirlenmelerine neden olan bakterilerdir. İnsanlarda ve hayvanlarda *Salmonella* türlerinden kaynaklanan infeksiyonlarda son zamanlarda görülen artış ve izole edilen etkenlerde tespit edilen çoklu antibiyotik direnç tabloları, salmonellozun hayvan ve halk sağlığı açısından önemini ortaya koymaktadır.

Salmonelloz tedavisinde yaygın olarak uygulama alanı bulan tetrasiklin ve β -Laktam grubu antibiyotikler ile hatalı tedavi ve profilaksi uygulamaları sonucunda gelişen direnç, bu antibiyotik gruplarının kullanımında sınırlamalara neden olmaktadır. Dirençli suşların doğru olarak saptanması, ülke çapında izleme programları ile kayıt altına alınması ve takip edilmesi uygun ve rasyonel sağaltım programlarının hayata geçirilmesi insan ve hayvan sağlığı açısından büyük öneme sahiptir. Kanatlı işletmelerinde dezenfeksiyon amacıyla kullanılan maddelerin uygun ve düzenli kullanımının sağlanması *Salmonella*'ların eradike edilmesi konusunda diğer önemli bir unsur olarak değerlendirilmelidir.

Salmonelloz patogenezi bir çok virülans faktörünün dahil olduğu karmaşık bir süreçtir. Patogenezi de rol alan faktörlerin ve mekanizmaların yapılacak çalışmalar ile daha ayrıntılı bir şekilde incelenmesi ve anlaşılması, tedavi ve korunma konularında yeni stratejiler geliştirilmesine öncülük edebilecektir.

Kanatlılarda görülen *Salmonella* infeksiyonları, ekonomik kayıplara yol açmakla beraber, halk sağlığı açısından da ciddi bir tehlike oluşturmaktadır. Bu konuda ticari kanatlı işletmelerinde biyogüvenlik önlemlerinin geliştirilmesi, aşı programlarının düzenli uygulanması, yem ve su hijyeninin sağlanması, personelin eğitimine önem verilmesi ve hastalıkla mücadelenin gıda üretim zincirinin her aşamasında yapılması salmonelloz görülme sıklığını önemli düzeyde azaltılabilecektir.

Salmonella türlerinin antibiyotik ve dezenfektan direnç yaygınlığının saptanmasını, moleküler tiplendirme yöntemleri ile salgınlara neden olabilecek suşların belirlenmesini ve virülans mekanizmalarının ayrıntılı şekilde ortaya konmasını sağlayabilecek daha kapsamlı araştırmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ustaçelebi Ş, editör. Enterobacteriaceae, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999: 471-515.
2. A. Majid, M. Siddique AK. Avian Salmonellosis: Gross And Histopathological Lesions Pakistan Vet. J. 2000. 183–6.
3. Shivaprasad HL, Methner U, Barrow PA. Salmonella Infections in the Domestic Fowl Salmonella in Domestic Animals. 2013.
4. Black JG, Black LJ. Microbiology: Principles and Explorations. Library of Congress; 2013: 974-5
5. Saif YM, editör. Diseases of Poultry. Iowa : Blackwell Publishing; 2008. 636-665
6. Erdem B, editör. Salmonella. İstanbul: Logos Yayıncılık; 2013.
7. Brooks G, Carroll K, Butel J, Morse S, editörler. Jawetz, Melnick & Adelberg Tıbbi Mikrobiyoloji. 24. baskı. İstanbul: Nobel; 2010
8. Dobler G. Veterinary Microbiology. Vol. 140. 2010. 221-228
9. Şahan Ö. Salmonella İnfeksiyonları . Vet .Tav. Der. 2014;12(3):3–10.
10. Kanatlılarda Salmonella İnfeksiyonları. Vet .Tav. Der. 2008;6(2):3–43.
11. Trembley MA, Berrus HL, Whicher JR, Dixon ELH. Backyard Poultry Flocks and Salmonellosis: A Recurring, Yet Preventable Public Health Challenge. 2014;1–21.
12. Sanchez S, Hofacre CL, Lee MD, Maurer JJ, Doyle MP. Animal sources of salmonellosis in humans. J Am Vet Med Assoc . 2002;221(4):492–7.
13. Diker S, editör. Veteriner Mikrobiyoloji ve Epidemiyoloji. 3. Baskı. Eskişehir : Anadolu Üniversitesi; 2013
14. Pui CF, Wong WC, Chai LC, Tunung R, Jeyaletchumi P, Noor Hidayah MN, et al. Salmonella: A foodborne pathogen. Int Food Res J. 2011;18(2):465–73.
15. Hackett B, editör. Salmonella, Prevalance, Risk Factors and Treatment Options. New York : Nova Science Publishers; 2015.
16. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2013. Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data. 2013. p.248

17. World Organisation for Animal Health [OIE]. Prevention, Detection and Control of Salmonella in Poultry. OIE Terr Man 2010 [Internet]. 2010; [kaynak 10 Mart 2017]. Tarihinde adresinden erişildi: Article 6.:1–7. Available from: http://web.oie.int/eng/normes/mcode/en_chapitre_1.6.5.pdf
18. World Health Organization. A global Salmonella surveillance and laboratory support project of the World Health Organization. 2007.
19. Basler C, Nguyen T, Anderson TC, Hancock T, Behravesh CB. Outbreaks of Human Salmonella Infections Associated with Live Poultry, United States, 1990–2014. 2016;22(10):1705–11.
20. Braden CR. Salmonella enterica serotype Enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States. Clin Infect Dis 2006;43(4):512–7.
21. Samiullah S. Salmonella infantis, a potential human pathogen has an association with table eggs. Int J Poult Sci. 2013;12(3):185–91.
22. Miller T, Prager R, Rabsch W, Fehlhaber K, Voss M. Epidemiological relationship between Salmonella Infantis isolates of human and broiler origin. Lohmann Inf. 2010;45(2):27–31.
23. Töreci K, Erdem B, Ongen B. Salmonella serovars isolated in Turkey up to the end of year 2011. Mikrobiyol Bul. 2013;47(3):442–60.
24. T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı; Hayvan Hastalıkları İle Mücadele ve Hayvan Hareketleri Kontrolü Programı Kitapçığı. 2014.
25. Türkiye ve dünyada kanatlı eti üretimi ve tüketimi [İnternet].2016 [kaynak 14 Mart 2017]. Tarihinde adresinden erişildi: <http://www.besd-bir.org/istatistikler>
26. Çiçekgil Z. Türkiye’ de Tavuk Yumurtası Mevcut Durumu ve Üretim Öngörüsü. TEAD dergisi. 2016;2(2):26–34.
27. Tekintaş Y. Klinik Salmonella İzolatlarında Antimikrobiyal Duyarlılık Profilinin, Virülans Genlerinin ve Klonal İlişkinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2014.
28. Ünlü A. Tavuklarda Salmonella Tanısında Kültür ve Real Time PCR’ın Kullanımı. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2011.
29. Guthrie, R. (1991). Taxonomy and Grouping of the Salmonella, p 23-40. In Salmonella. CRC press.
30. Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. Salmonella Nomenclature. J Clin Microbiol 2000;38(7):2465–7.

31. Su L-H, Chiu C-H. Salmonella: Clinical Importance and Evolution of Nomenclature. *Chang Gung Med J* 2007;30(3):210–9.
32. Telli R. Afyon’da Tüketime Sunulan Tavuk Karkas ve Tavuk Eti Örneklerinde Salmonella spp. Varlığının Klasik Kültür Tekniği ile Saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2006
33. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M, editörler. Tıbbi Mikrobiyoloji. 6. baskı. Ankara: Atlas; 2010.
34. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editörler. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. baskı. İstanbul: Nobel; 2008.
35. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M, editörler. Asya Mikrobiyoloji. 4. baskı. İzmir: Asya Tıp Kitabevi; 2005.
36. Oral A. Tavuk İç Organlarından Salmonella Enteritidis’in İzolasyonu ve İzole edilen Suşların Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.
37. Hohmann EL. Nontyphoidal Salmonellosis. *Clin Infect Dis*. 2001;32 (2): 263–9.
38. Limawongpranee S, Hayashidani H, Okatani a T, Ono K, Hirota C, Kaneko K, et al. Prevalence and persistence of Salmonella in broiler chicken flocks. *J Vet Med Sci*. 1999;61(3):255–9.
39. Telli R, Tez S, Yrd MAN, Akkaya L. Afyon ’ da Tüketime Sunulan Tavuk Karkas ve Tavuk Eti Örneklerinde Salmonella spp . varlığının Klasik Kültür Tekniği İle Tanımlanması. 2006.
40. Abadi A, Mayah A, Mayah AASA-, Abadi A, Mayah A. Isolation and identification of Salmonella spp . from chicken and chicken environment in Basrah province. *African J Biol Sci*. 2012;2:89–99.
41. Ruban, S. Wilfred, Thiyageeswaran, M. and Sharadha R. Isolation and Identificatiton of Salmonella From Meat. *Int J Microbiol Res*. 2010;1(3):106–9.
42. Kalender H. Elazığ Bölgesindeki Tavuklardan izole Edilen Salmonella Türlerinin Tiplendirilmesi. *Tr J Vet Anim Sci*. 1999;23:297–303.
43. Ata Z, Aydin N. Ankara Bölgesi ’ndeki tavukçuluk işletmelerinden Salmonella spp . izolasyonu. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 2008;55(22):161–6.
44. Kim J, Kim S, Kwon N, Bae W, Lim J, Koo H, et al. Isolation and identification of Salmonella in Meat and Poultry. *Vet Med*. 2005;6(4):7–19.
45. Özdemir H. Tavuk Kesimhanelerinde Salmonella Kontaminasyonu ve Serotip Dağılımı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 1996;(43):85–90.

46. Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Gast R, Humphrey TJ, et al. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis: Review article. *FEMS Microbiol Rev.* 2009;33(4):718–38.
47. Foley SL, Nayak R, Hanning IB, Johnson TJ, Han J, Ricke SC. Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(13):4273–9.
48. Chai SJ, White PL, Lathrop SL, Solghan SM, Medus C, McGlinchey BM, et al. *Salmonella enterica* serotype enteritidis: Increasing incidence of domestically acquired infections. *Clin Infect Dis.* 2012;54
49. Zaidi MB, Macías CL, Calva E. *Salmonella*, the host and disease: a brief review. *Rev Latinoam Microbiol* 2006;48(2):121–5.
50. Agbor TA, McCormick BA. *Salmonella* effectors: Important players modulating host cell function during infection. *Cell Microbiol.* 2011;13(12):1858–69
51. Hurley D, McCusker MP, Fanning S, Martins M. *Salmonella*-host interactions - modulation of the host innate immune system. *Front Immunol.* 2014;5(2):1–11.
52. Wallis TS, Galyov EE. Molecular basis of *Salmonella* -induced enteritis. *Molecular Microbiol.* 2000;36(5):997–1005.
53. Sterzenbach T, Robert W. Crawford, Winter SE, Bäumlér AJ. *Salmonella* Virulence Mechanisms and their Genetic Basis. *Domest Anim vol 2* 2013; 1–564.
54. Ata Z. *Salmonella* Türlerinin Klasik Virulans Faktörleri Giriş. *Uludag Univ J Fac Vet Med* 2015;34:35–40
55. Utrecht U, Magnificus R. Virulence factors of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. 2002.
56. Van Asten AJAM, Van Dijk JE. Distribution of “classic” virulence factors among *Salmonella* spp. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005;44(3):251–9.
57. Casadesús J. The virulence plasmids of *Salmonella*. *Int Microbiol.* 1999;2(3):177–84.
58. Hossain MS, Chowdhury EH, Islam MM, Haider MG, Hossain MM. Avian *Salmonella* Infection: Isolation and Identification of Organisms and Histopathological Study. *Bangl J Vet Med.* 2006;4(1):7–12.
59. Ahmed A, Islam M, Haider M, Hossain M. Seroprevalence and pathology of naturally infected *Salmonellosis* in poultry with isolation and identification of causal agents. *J Bangladesh Agric Univ.* 2010;6(2):327–34.

60. Foley SL, Lynne AM. Food animal-associated Salmonella challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. *J Anim Sci.* 2008;86
61. Sırıken B. Salmonella Patojenite Adaları. *Mikrobiyol Bul.* 2013;47(1):181–8.
62. Hensel M. Evolution of pathogenicity islands of Salmonella enterica. *Int J Med Microbiol.* 2004;294(2–3):95–102.
63. Marcus SL, Brumell JH, Pfeifer CG, Finlay BB. Salmonella pathogenicity islands: Big virulence in small packages. *Microbes Infect* 2000;2(2):145–56.
64. Jones MA, Hulme SD, Barrow PA, Wigley P. The Salmonella pathogenicity island 1 and Salmonella pathogenicity island 2 type III secretion systems play a major role in pathogenesis of systemic disease and gastrointestinal tract colonization of Salmonella enterica serovar Typhimurium in the chicken. *Avian Pathology.* 2007;36(3):199–203.
65. Garai P, Marathe SA, Chakravorty D. Effectors of salmonella pathogenicity island 2: An island crucial to the life of salmonella. *Virulence.* 2011;2(3):177–80.
66. Waterman SR, Holden DW. Functions and effectors of the Salmonella pathogenicity island 2 type III secretion system. *Cell Microbiol.* 2003;5(8):501–11.
67. Hensel M. Bakteriologie L, Pettenkofer-institut M Von. Salmonella pathogenicity island 2. *Mol Microbiol.* 2000;36(5):1015–23.
68. Ibarra JA, Steele-Mortimer O, Salmonella--the ultimate insider. Salmonella virulence factors that modulate intracellular survival. *Cell Microbiol.* 2009; 11:1579–86.
69. Müller SI, Valdebenito M, Hantke K, . Salmochelin, the long-overlooked catecholate siderophore of Salmonella. *Biometals.* 2008; 22(4): 691–5.
70. Ledebner NA, Frye JG, McClelland M, Jones BD. (2006). Salmonella enterica serovar typhimurium requires the Lpf, Pef, and Tafi fimbriae for biofilm formation on HEp-2 tissue culture cells and chicken intestinal epithelium. *Infect Immun.* 2006; 74(6), 3156–69.
71. Humphries AD, Townsend SM, Kingsley R a, Nicholson TL, Tsohis M, Ba AJ. Role of fimbriae as antigens and intestinal colonization factors of Salmonella serovars. *FEMS Microbiol Lett.* 2001;201:121–5.

72. Uchiya K, Sugita A, Nikai T. Involvement of SPI-2-encoded SpiC in flagellum synthesis in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *BMC Microbiol.* 2009; 9:179.
73. Saini S, Slauch JM, Aldridge PD, Rao C V. Role of cross talk in regulating the dynamic expression of the flagellar *Salmonella* pathogenicity island 1 and type 1 fimbrial genes. *J Bacteriol.* 2010;192(21):5767–77.
74. Spanò, S., Ugalde, J.E., Galán, J.E., (2008). Delivery of a *Salmonella* Typhi exotoxin from a host intracellular compartment. *Cell Host & Microbe*, 3 (1), 30–8.
75. Levinson , W. *Enterobacteriaceae*, Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 2016.
76. Abbasoğlu U, Çevikbaş A, editörler. *Farmasötik Mikrobiyoloji*. Ankara : Efil Yayınevi; 2011:343-45.
77. Türkoğlu M, Sarıca M, editörler. *Tavukçuluk Bilimi (Yetiştirme, Beslenme, Hastalıklar)*. 3.Basım.Ankara: Bey Ofset Matbaacılık; 2009:507-11.
78. Güneş M. Türkiye Kaynaklı *Salmonella* İzolatlarının Antibiyotik Direnç Özelliklerinin Genomik Analizi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2012.
79. Bayramova M. *Salmonella* Serotiplerinde Plazmit Profillerinin Araştırılması. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2017.
80. Çiftci A, Aksoy A. Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol. Toxicol.-Special Topics* 2015;1(2):1–10.
81. Demirtürk N, Demirdal T. Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. *Antibiyotiklere direnç sorunu. The Medical Journal of Kocatepe* 5:2004;17–21.
82. Yener B. Çoklu ilaç dirençli *Salmonella* suşlarının tanısı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2012;69(4):201–12.
83. Lutful Kabir SM. Avian colibacillosis and salmonellosis: A closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. *Int J Environ Res Public Health.* 2010;7(1):89–114.
84. Yıldırım Y. Antimikrobiyel Duyarlılık Testleri ; İlgili Metodlar , Sonuçların Yorumlanması ve Kanatlılarda Bulunan Bazı Bakterilerdeki Dirençlilik. 2010;7(2):117–29.
85. Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of Gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med.* 2012;27(2):128–42.

86. Daş YK, ATMACA E. Antibiyotik Direncinin Önlenmesi İçin Yapılması Gerekenler ve Çözüm Önerileri. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol. Toxicol.-Special Topics 2015;1(2):69–75.
87. Yüce A. Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. Klimik Derg. 2001;14(2):41–6.
88. Hasdemir U. Çoklu İlaç Direncinde Bakteri Hücre Duvarı Organizasyonu Ve Aktif PomPA istemlerinin Rolü. Mikrobiyol Bul. 2007;41(2):309–27.
89. Chopra I, Roberts M. Tetracycline Antibiotics : Mode of Action , Applications , Molecular Biology , and Epidemiology of Bacterial Resistance Tetracycline Antibiotics : Mode of Action , Applications , Molecular Biology , and Epidemiology of Bacterial Resistance. Microbiol Mol Biol Rev . 2001;65(2):232–260.
90. Roberts M. Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. FEMS Microbiol Rev . 1996;19:1–24.
91. Abbasoğlu D. Salmonella enterica Subspecies enterica Serovar Infantis Suşlarında Çoklu İlaç Dirençliliğinin Genetik Doğası. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi; 2009.
92. Mühlemann K. Mechanisms of antibiotic resistance. Ther Umschau. 2002;59(1):5–10.
93. Tillotson GS. Trojan Horse Antibiotics — A Novel Way to Circumvent Gram-Negative Bacterial Resistance ?. Infect Dis Res Treat. 2016;45–52.
94. Beceiro A, Tomás M, Bou G. Antimicrobial resistance and virulence: A successful or deleterious association in the bacterial world? Clin Microbiol Rev. 2013;26(2):185–230.
95. Carattoli A. Plasmid-mediated antimicrobial resistance in Salmonella enterica. Curr Issues Mol Biol 2003;5(4):113–22.
96. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL) ve Tanı. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2012;(2):1–9. duygu Dağlar, Gözde Öngüt
97. Threlfall EJ, Kanelopoulou M, Kalapothaki V, Malamou-lada H, Legakis NJ. Molecular Epidemiology of Ampicillin-Resistant Clinical Isolates of Salmonella enteritidis. J Clin Microbiol. 1994;32(5):1322–5.
98. Demir N. Gram Negatif Bakterilerde Genişlemiş Spektrumlu Beta – Laktamaz (GSBL) Üretimine Katkıda Bulunan Çeşitli Risk Faktörlerinin Araştırılması.

- Uzmanlık Tezi. Dr. Lütfü Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği; 2006.
99. Bradford P. Extended spectrum betalactamase in the 21 century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistant threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14(4):933–51.
 100. Moghaddam MN, Beidokhti MH, Jamehdar SA, Ghahraman M. Genetic properties of bla CTX-M and bla PER β -lactamase genes in clinical isolates of Enterobacteriaceae by polymerase chain reaction. *Iran J Basic Med Sci.* 2104;(17):378–83.
 101. Gundogdu A, Kilic H, Ulu Kilic A, Parkan OM, Ture Z. Distribution and Antimicrobial Resistance of Salmonella Serovars Isolated in Kayseri Region. *Klimik J* 2017;30(1):22–6.
 102. Hassan H, Abdalhamid B. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in a Saudi Arabian tertiary hospital. *J Infect Dev Ctries.* 2014;8(3):282–8.
 103. Monstein HJ, Östholm-Balkhed Å, Nilsson M V., Nilsson M, Dornbusch K, Nilsson LE. Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae. *Apmis.* 2007;115(12):1400–8.
 104. Uyanık MH, Yazgı H. Kan ve Dışkı Örneklerinden İzole Edilen Salmonella Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derg.* 2009;39(2):48–51
 105. Telli R. Afyon’da Tüketime Sunulan Tavuk Karkas ve Tavuk Eti Örneklerinde Salmonella spp. Varlığının Klasik Kültür Tekniği ile Saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2006
 106. Voogt N, Raes M, Wannet WJB, Henken AM, Van De Giessen AW. Comparison of selective enrichment media for the detection of Salmonella in poultry faeces. *Lett Appl Microbiol.* 2001;32(2):89–92.
 107. T.C. Sağlık Bakanlığı. Ulusal Mikrobiyoloji Standardları (UMS). Salmonella İnfeksiyonlarının Mikrobiyolojik Tanısı. : 1–12.
 108. Crump JA, Gordon MA, Parry CM. Salmonella Infections. *Clinical Microbiology Reviews.* 2015;28(4):901–37.

109. Mir IA, Kashyap SK, Maherchandani S. Isolation, serotype diversity and antibiogram of *Salmonella enterica* isolated from different species of poultry in India. *Asian Pac J Trop Biomed* . 2015;5(7):561–7.
110. Dalyan Cilo B, Özmerdiven GE, Efe K, Güleşen R, Levent B, Ağca H, et al. Serotype Distribution and Antimicrobial Susceptibility Profiles of *Salmonella* Isolates from South Marmara Region, Turkey. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy Dergisi* 2016;45(3):122–7.
111. Türkyılmaz S, Savaşan S, Kırkan Ş. Tavuklarda *Salmonella* Enteritidis İnfeksiyonlarının Bakteriyolojik ve Serolojik Yöntemlerle Teşhisi. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg.* 2010;47(3):303–7.
112. Jackson, George & F. Langford, Carolyn & Archer, Douglas. (1991). Control of salmonellosis and similar foodborne infections. *J. Food Control.* 2. 26-34.
113. Ok AÇ, Yardımcı H. Ankara İli'ndeki kafes kuşlarında *Salmonella* türlerinin izolasyonu. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 2010;57:201–3.
114. Poyraz İ, Ören S. Adapazarı Bölgesi Bazı Broiler Tipi Tavukçuluk İşletmelerinden *Salmonella* İzolasyonu ve Tiplendirilmesi. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilim Derg.* 2015;2(1):61–8.
115. Abadi A, Mayah A, Mayah AASA-, Abadi A, Mayah A. Isolation and identification of *Salmonella* spp . from chicken and chicken environment in Basrah province. *African J Biol Sci.* 2012;2:89–99.
116. Kalender H. Elazığ Bölgesindeki Tavuklardan izole Edilen *Salmonella* Türlerinin Tiplendirilmesi. *Tr J Vet Anim Sci.* 1999;23:297–303.
117. Özdemir H. Tavuk Kesimhanelerinde *Salmonella* Kontaminasyonu ve Serotip Dağılımı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 1996;(43):85–90.
118. Olsen JE, Brown DJ, Skov MN, Christensen JP. Bacterial typing methods suitable for epidemiological analysis. Applications in investigations of salmonellosis among livestock. *Vet Q* . 1993;15(4):125–35.
119. Lim H, Lee KH, Hong C-H, Bahk G-J, Choi WS. Comparison of four molecular typing methods for the differentiation of *Salmonella* spp. *Int J Food Microbiol.* 2005;105(3):411–8.
120. Wattiau P, Boland C, Bertrand S. Methodologies for *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* Subtyping: Gold Standards and Alternatives. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(22):7877–85.

121. Foley SL, Lynne AM, Nayak R. Molecular typing methodologies for microbial source tracking and epidemiological investigations of Gram-negative bacterial foodborne pathogens. *Infect Genet Evol.* 2009;9(4):430–40.
122. Lukinmaa, S., Nakari, U. M., Eklund, M. and Siitonen, A. 2004. Application of molecular genetic methods in diagnostics and epidemiology of food-borne bacterial pathogens. *APMIS*, 112, 908-929.
123. Durmaz R, editör. *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji*. 2. baskı. İstanbul: Nobel; 2001.
124. Gülmez D. Antimikrobiyal Direnci Belirlemede Fenotipik Yöntemler veya Klasik yöntemler. *ANKEM Derg.* 2014;28(Ek 2):221-228
125. Temelli S, Kahya S, Eyigor A, Carli KT. Incidence of Salmonella Enteritidis in chicken layer flocks in Turkey: Results by real-time polymerase chain reaction and International Organization for Standardization culture methods. 2017;(September):1406–10.
126. Temelli S, Kahya S, Eyigor A, Carli KT. Antibiotic resistance phenotypes of Salmonella isolates of broiler meat and chicken origin. 2012;(2):107–14.
127. Pınar A. Mikrobiyolojide Moleküler Tanı Yöntemleri. İçinde: Günalp A, Yılmaz YA, Pınar A, editörler. *Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Eğitim Kitabı*. Hacettepe Üni. Yayınları, 2003; s. 199–210.
128. Durmaz R, editör. IV. *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji Kursu Kurs Kitabı*. İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi; 2007.
129. *Mikrobiyolojide PCR Temelli Yöntemler” Kursu Kurs Kitabı*. Adnan Menderes Üniversitesi; 2016.
130. Çetinkaya E, Ayhan K. Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*.2012;2(1):53–62.
131. Türe M, Altınok İ. Pulsed-Field Jel Elektroforez (PFGE) Metodu ve Akuatik Organizmalarda Kullanımı. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Derg.* 2013;9(1):44–54.
132. Meneses Y. Identification and Characterization of Salmonella Serotypes Isolated from Pork and Poultry from Commercial Sources. Thesis for Master of Science. University of Nebraska; 2010.
133. Basım H. Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) Technique and its use in Molecular Biology. *Turk J Biol.* 2001;25:405–18.

134. World Health Organization. A global Salmonella surveillance and laboratory support project of the World Health Organization. 2007;(April).
135. Güldemir D. Hastane kaynaklı enterokok izolatlarının pulsed-field jel elektroforezis yöntemiyle moleküler tiplendirilmesi. Türk Hij ve Deney Biyol Derg. 2015;72(1):1–10.
136. Tenover FC, Arbeit RD, Goering R V., Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed- field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol. 1995;33(9):2233–9.
137. Herikstad H, Motarjemi Y, Tauxe R V. Salmonella surveillance: a global survey of public health serotyping. Epidemiol Infect. 2002;129(1):1–8.
138. Information for Healthcare Professionals and Laboratories [İnternet]. 2016 [kaynak 5 Mart 2017].Tarihinde adresinden erişildi: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>
139. Coburn B, Grassl AG, Finlay BB. Salmonella Salmonella, the host and disease: a brief review. Immunology and Cell Biology. 2007; 85:112–118
140. Sırıken, B. Türk H. Kanatlı etleri ve Salmonellozis. Anim Heal Prod Hyg. 2013;2:174–82. İ
141. Tauxe R V. Emerging Foodborne Diseases: An Evolving Public Health Challenge. Emerg Infect Dis. 1997;3(4):425–34.
142. Bell C, Kyriakides A. Salmonella: A practical approach to the organism and its control in foods. London. Blackwell Publications. 2007; 99-275
143. Bayhan Gİ, Tanır G, Levent B, Özkan Ş, Güleşen R, Metin Timur Ö. Salmonella infeksiyonlarının serotip dağılımı, antibiyotik direnci ve klinik özellikleri. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi. 2014; 34(2): 137-44 İ
144. Wegener HC, Hald T, Wong DLF, Madsen M, Korsgaard H, Bager F, et al. Salmonella control programs in Denmark. Emerg Infect Dis. 2003;9(7):774–80.
145. Şengül S. Broylerlerde Salmonella Enteritidis ve Salmonella Typhimurium Infeksiyonlarının ELISA ve Drag Sıvap Yöntemleri ile İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.
146. Clinical and Laboratory Institute (2013) Performance Standarts for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational

Supplement CLSI document M100-S23, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.

147. Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157 : H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* 2013;157(4):1–13.
148. Rahmani M, Peighambari SM, Svendsen CA, Cavaco LM, Agersø Y, Hendriksen RS. Molecular clonality and antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Infantis from broilers in three Northern regions of Iran. *BMC Vet Res* . 2013;9(1):66.
149. Campioni F, Moratto Bergamini AM, Falcão JP. Genetic diversity, virulence genes and antimicrobial resistance of *Salmonella* Enteritidis isolated from food and humans over a 24-year period in Brazil. *Food Microbiol* . 2012;32(2):254–64.
150. Şahan Ö, Aral EM, Muhktar M, Aden A, Aksoy A, Yilmaz Ö, et al. Türkiyedeki broiler tavuk işletmelerinden izole edilen *Salmonella* serovarlarının antimikrobiyel direnç durumu. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 2016;(63):1–6.
151. Antunes P, Réu C, Sousa JC, Peixe L, Pestana N. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *Int J Food Microbiol*. 2003;82(2):97–103.
152. Karmi M. Detection of Virulence Gene (inva) in *Salmonella* Isolated from Meat and Poultry Products. *Int J Genet*. 2013;3(2):7–12.
153. Phagoo L, Neetoo H. Antibiotic Resistance of *Salmonella* in Poultry Farms of Mauritius. *J World's Poult Res*. 2015;5(3):42–7.
154. Almeida F, Pitondo-Silva A, Oliveira MA, Falcão JP. Molecular epidemiology and virulence markers of *Salmonella* Infantis isolated over 25years in São Paulo State, Brazil. *Infect Genet Evol*. 2013;19:145–51.
155. Tawab AAAE, Ammar AM, Nasef SA, Hofy FIE, Nabil M. Molecular studies on antimicrobial resistance genes in *Salmonella* isolated flocks in Egypt. *Benha Vet Med J*. 2015;(June):176–87.
156. Kuang X, Hao H, Dai M, Wang Y, Ahmad I, Liu Z, et al. Serotypes and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from farm animals in China. *Front Microbiol*. 2015;6

157. Aksakal A. Bazı Kanatlıların Dışkılarında Salmonella Türlerinin Varlığı ve Yaygınlığı ile Antibiyotiklere Duyarlılıkları. YYÜ Vet Fak Derg.2003;14(1):95–101.
158. Anđ-Küçüker M, Tolun V, Helmuth R, Rabsch W, Büyükbaba-Boral Ö, Törümküney-Akbulut D, et al. Phage types, antibiotic susceptibilities and plasmid profiles of Salmonella typhimurium and Salmonella enteritidis strains isolated in Istanbul, Turkey. Clin Microbiol Infect. 2000;6(11):593–9.
159. Cruchaga S, Echeita A, Aladueña A, García-Peña J, Frias N, Usera MA. Antimicrobial resistance in salmonellae from humans, food and animals in Spain in 1998. J Antimicrob Chemother . 2001;47(3):315–21.
160. Chuanchuen R, Padungtod P. Antimicrobial resistance genes in Salmonella enterica isolates from poultry and swine in Thailand. J Vet Med Sci. 2009;71:1349–55.
161. Adesiji YO, Deekshit VK, Karunasagar I. Antimicrobial-resistant genes associated with Salmonella spp. isolated from human, poultry, and seafood sources. Food Sci Nutr . 2014;2(4):436–42.
162. Pezzella C, Ricci A, Digiannatale E, et al. Tetracycline and Streptomycin Resistance Genes, Transposons, and Plasmids in Salmonella enterica Isolates from animals in Italy. J Ant Che Mar.2004;48(3):903–8.
163. Peirano G, Agersø Y, Aarestrup FM, dos Reis EMF, dos Prazeres Rodrigues D. Occurrence of integrons and antimicrobial resistance genes among Salmonella enterica from Brazil. J Antimicrob Chemother. 2006;58(2):305–9.
164. Randall LP, Cooles SW, Osborn MK, Piddock LJ V, Woodward MJ. Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of Salmonella enterica isolated from humans and animals in the UK. J Antimicrob Chemother. 2004;53(2):208–16.

165. Ghoddusi A, Nayeri Fasaei B, Karimi V, Ashrafi Tamai I, Moulana Z, Zahraei Salehi T. Molecular identification of *Salmonella* Infantis isolated from backyard chickens and detection of their resistance genes by PCR. *Iran J Vet Res.* 2015;16(3):293–7.
166. Djeflal S, Bakour S, Mamache B, Elgroud R, Agabou A, Chabou S, et al. Prevalence and clonal relationship of ESBL-producing *Salmonella* strains from humans and poultry in northeastern Algeria. *BMC Vet Res* . 2017;13(1):132.
167. Eguale T, Birungi J, Asrat D, Njahira MN, Njuguna J, Gebreyes WA, et al. Genetic markers associated with resistance to beta-lactam and quinolone antimicrobials in non-typhoidal *Salmonella* isolates from humans and animals in central Ethiopia. *Antimicrob Resist Infect Control*2017;6(1):13
168. Chen S, Zhao S, White DG, Schroeder CM, Lu R, Yang H, et al. Characterization of Multiple-Antimicrobial-Resistant *Salmonella* Serovars Isolated from Retail Meats. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70(1):1–7.
169. Ahmed AM, Ishida Y, Shimamoto T. Molecular characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from animals in Japan. *J Appl Microbiol.* 2009;106(2):402–9.
170. Dione MM, Ikumapayi U, Saha D, Mohammed NI, Adegbola RA, Geerts S, et al. Antimicrobial resistance and virulence genes of non-typhoidal *Salmonella* isolates in The Gambia and Senegal. *J Infect Dev Ctries.* 2011;5(11):765–75.
171. Chaudhary JH, Nayak JB, Brahmhatt MN, Makwana PP. Virulence genes detection of *Salmonella* serovars isolated from pork and slaughterhouse environment in Ahmedabad, Gujarat. *Vet World.* 2015;8(1):121–4.
172. Skyberg JA, Logue CM, Nolan LK. Virulence genotyping of *Salmonella* spp. with multiplex PCR. *Avian Dis.* 2006;50(1):77–81.
173. De Oliveira SD, Rodenbusch CR, Michael GB, Cardoso MIR, Canal CW, Brandelli A. Detection of virulence genes in *Salmonella enteritidis* isolated from different sources. *Brazilian J Microbiol.* 2003;34(SUPPL. 1):123–4.
174. Krawiec M, Kuczkowski M, Kruszewicz A, Wieliczko A. Prevalence and genetic characteristics of *Salmonella* in free-living birds in Poland. *BMC Vet Res.* 2015;11(1):15.

175. Das A, Hari SS, Shalini U, Ganeshkumar A, Karthikeyan M. Molecular screening of virulence genes from *Salmonella enterica* isolated from commercial food stuffs. *Biosci Biotechnol Res Asia*. 2012;9(1):363–9.
176. Borges KA, Furian TQ, Borsoi A, Moraes HLS, Salle CTP, Nascimento VP. Detection of virulence-associated genes in *Salmonella Enteritidis* isolates from chicken in South of Brazil. *Pesqui Vet Bras*. 2013;33(12):1416–22.
177. Zishiri O, Mkhize N, Mukaratirwa S. Prevalence of virulence and antimicrobial resistance genes in *Salmonella* spp . isolated from commercial chickens and human clinical isolates from South Africa and Brazil. *Onderstepoort J Vet Res*. 2013;83(1):1–11.
178. Shanmugasamy M, Velayutham T, Rajeswar J. Inv a gene specific pcr for detection of salmonella from broilers. *Vet World*. 2011;4(12):562–4.
179. Amini K, Salehi TZ, Nikbakht G, Ranjbar R, Amini J. Molecular detection of *invA* and *spv* virulence genes in *Salmonella enteritidis* isolated from human and animals in Iran. *African J Microb Res*. 2010;4(21):2202–10.
180. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(1):147–79.
181. Russell AD. Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52(5):750–63.
182. Gradel KO, Randall L, Sayers AR, Davies RH. Possible associations between *Salmonella* persistence in poultry houses and resistance to commonly used disinfectants and a putative role of *mar*. *Vet Microbiol*. 2005;107(1–2):127–38.
183. Cardoso MO, Ribeiro AR, Dos Santos LR, Pilotto F, De Moraes HLS, Salle CTP, et al. Antibiotic resistance in *Salmonella Enteritidis* isolated from broiler carcasses. *Brazilian J Microbiol*. 2006;37(3):368–71.
184. Ramesh N, Joseph SW, Carr LE, Douglass LW, Wheaton FW. Evaluation of chemical disinfectants for the elimination of *Salmonella* biofilms from poultry transport containers. *Poult Sci*. 2002;81:904–10.
185. Møretro T, Vestby LK, Nesse LL, Storheim SE, Kotlarz K, Langsrud S. Evaluation of efficacy of disinfectants against *Salmonella* from the feed industry. *J Appl Microbiol*. 2009;106(3):1005–12.

186. Gehan ZM, Anwer W, Amer HM, Rezk A, Badawy EM. In vitro Efficacy Comparisons of Disinfectants Used in the Commercial Poultry Farms. 2009;8(3):237–41.
187. Aerestrup FM, Hasman H. Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection. *Vet Microbiol.* 2004 May 20;100(1-2):83-9
188. McLaren I, Wales A, Breslin M, Davies R. Evaluation of commonly-used farm disinfectants in wet and dry models of Salmonella farm contamination. *Avian Pathol.* 2011;40(1):33–42.
189. Payne JB, Kroger EC, Watkins SE. Evaluation of disinfectant efficacy when applied to the floor of poultry grow-out facilities. *J Appl Poult Res.* 2005;14(2):322-9
190. Aksoy A. Kanatlı Salmonella'ları üzerine dezenfektanların etkisinin karşılaştırmalı değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2015.
191. Karagöz A. Optimization of a pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of *Proteus mirabilis*. *J Clin Exp Investig* 2013;4(3):306–12.
192. Golab N, Khaki P, Noorbakhsh F. Molecular Typing of Salmonella Isolates in Poultry by Pulsed-Field Gel Electrophoresis in Iran. *Int J Enteric Pathog.* 2014;2(4):1–5.
193. Lee YJ, Kim HJ, Park CK, Kim KS, Bae DH, Kang MS, et al. Characterization of Salmonella spp. isolated from an integrated broiler chicken operation in Korea. *J Vet Med Sci* 2007;69(4):399–404.
194. Gai W, Wang J, Cui Z, Qu Z, Hong J, et al. Shandong Eyaletindeki Kanatlı Hayvan Kesimhanelerinden İzole Edilen Salmonella spp.'nin Karakterizasyonu ve Yaygınlığı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2016;22(3):3–10.
195. Nógrády N, Tóth A, Kostyák A, Pászti J, Nagy B: Emergence of multidrug resistant clones of *Salmonella Infantis* in broiler chickens and humans in Hungary. *J Antimicrob Chemother* 2007, 60:645–648.

196. Yamatogi RS, Oliveira HC, Camargo CH, Fernandes SA, Hernandes RT, Pinto JP, et al. Clonal relatedness and resistance patterns of salmonella corvallis from poultry carcasses in a Brazilian slaughterhouse. *J Infect Dev Ctries.* 2015;9(10):1161–5.
197. Modarressi S, Thong KL. Isolation and molecular sub typing of Salmonella Enterica from chicken, beef and street foods in Malaysia. *Sci Res Essays.* 2010;5(18):2713–20.
198. Xia S, Hendriksen RS, Xie Z, Huang L, Zhang J, Guo W, et al. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of Salmonella isolates from infections in humans in Henan Province, China. *J Clin Microbiol.* 2009;47(2):401–9.



ÖZGEÇMİŞ

1998 yılında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden veteriner hekim ünvanı ile mezun oldum. 2001-2002 yıllarında askerlik hizmetimi tamamladım. Eylül 2005'de T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nda göreve başladım. İlk 4 yıl Pınarhisar / KIRKLARELİ'nde saha veteriner hekimi olarak çalıştıktan sonra Kasım 2009'da Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne tayin oldum. 2010 yılı başından beri Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarında çalışmaktayım. Eylül 2012'de Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi Farmasötik Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladım.

