



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YUMURTACI IRK TAVUK KÜMESİ NUMUNELERİNDEN *SALMONELLA* SPP.
ARANMASINDA DUPONT BAX SİSTEM VE ISO 6579 YÖNTEMLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Burcu KESİN TUĞ

(DOKTORA TEZİ)

Bursa-2015



T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YUMURTACI IRK TAVUK KÜMESİ NUMUNELERİNDEN *SALMONELLA* SPP.
ARANMASINDA DUPONT BAX SİSTEM VE ISO 6579 YÖNTEMLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI

Burcu KESİN TUĞ






(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. K. TAYFUN ÇARLI

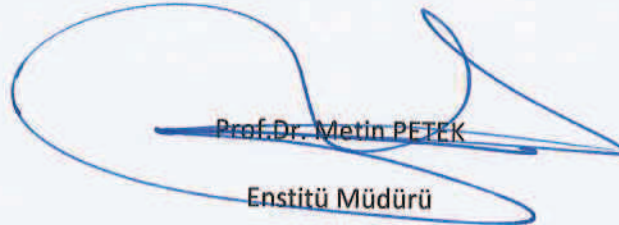
Bursa-2015

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi BURCU KESİN TUĞ tarafından hazırlanan 'Yumurtacı Irk Tavuk Kümesi Numunelerinden Salmonella Aranmasında Dupont BAX Sistem ve ISO 6579 Yöntemlerinin Karşılaştırılması' konulu Doktora tezi 23/01/2015 günü, 10:00-12:00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

	<u>Adı-Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Prof. Dr. K. Tayfun ÇARLI	
Üye	Prof. Dr. Mihriban ÜLGEN	
Üye	Prof. Dr. Ayşegül EYİGÖR	
Üye	Prof. Dr. Ayşin ŞEN	
Üye	Prof. Dr. K. Serdar DİKER	

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun 28.01.2015 tarih ve 2015/04 sayılı toplantısında alınan 12 numaralı kararı ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Metin PETEK
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET.....	III
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
GEREÇ ve YÖNTEM.....	15
BULGULAR.....	27
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	31
KAYNAKLAR.....	35
TEŞEKKÜR.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	49

ÖZET

Bu çalışmada, farklı yaşlardaki yumurtacı tavuk kümeslerine ait dışkı örneklerinden *Salmonella* tespiti için, Uluslararası Standartlar Örgütü'ne ait kültür metodu (ISO 6579:2002/Amd 1:2007) ve BAX® Q7 PCR (rPCR) sistemi sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışılan örneklerde 174 örneğin 11'i (% 6.3), kümes temel alınarak değerlendirildiğinde ise 58 kümesten 4'ü (% 6.9) BAX® Q7 PCR ve kültür yöntemi ile *Salmonella* yönünden pozitif olarak bulundu. Kültür sonucu elde edilen 11 adet *Salmonella* izolatu, Riboprinter® sisteminde (Dupont Qualicon, Wilmington, DE, USA) ribotiplendirildi. Sonuçlar 11' inin de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* olup 4 adedinin serovar Enteritidis (%36.4), 5 adedinin serovar Infantis (%45.5), 1 adedinin serovar Colombo (%9.1), 1 adedinin serovar Spartel (9.1), olarak 4 farklı serovarı olduğu belirlendi. Çalışma sonucunda dışkı örneklerinden rutin *Salmonella* tespitinde BAX® Q7 PCR sisteminin kültür metodu (ISO) kadar duyarlı olduğu, yumurtacı tavuklarda *Salmonella*'nın hızlı deteksiyonunda BAX® Q7 PCR sisteminin ISO metodunu destekleyici olarak kullanılabileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar Sözcükler: *Salmonella*, yumurtacı tavuk, BAX® Q7 PCR, ISO 6579, dışkı örneği

SUMMARY

Comparison of Dupont BAX® Q7 PCR and ISO 6579 methods on detection of *Salmonella* spp. from Layer Flocks

The purposes of this study were to compare BAX® Q7 PCR system method with a culture method described by International Organization for Standardization Method 6579:2002/Amd 1:2007 (ISO) for detection of *Salmonella* in layer flock faecal samples in Turkey. *Salmonella* was detected by ISO 6579 and DuPont BAX Q7 rPCR method from 11 out of 174 (6.3 %) faecal samples. Four out of 58 (6.9 %) flocks were found to be positive. Isolates ribotyped with Riboprinter® system (Dupont Qualicon, Wilmington, DE, USA). Ribotyping results showed all 11 isolates were *Salmonella enterica* subsp. *enterica* including serovars of 4 Enteritidis (%36.4), 5 Infantis (%45.5), 1 Colombo (%9.1), 1 Spartel (9.1). As a result, DuPont BAX Q7 system in faecal samples for *Salmonella* detection is sensitive as much as ISO 6579 and BAX® Q7 PCR system can be used to complement ISO method in rapid detection of *Salmonella*.

Key Words: *Salmonella*, layer chicken, BAX Q7 rPCR, ISO 6579, faecal sample

GİRİŞ

Türkiye’de kanatlı hayvan yetiştiriciliği önemli düzeyde artmıştır. Kanatlı hayvanların artan popülasyonları ve beslenmedeki önemleri bu hayvanlara ait zoonotik nitelikteki birçok enfeksiyonu gündeme getirmiştir. Doğada yaygın olarak bulunan salmonellalar, insan ve hayvanlarda enfeksiyonlara neden olabildikleri gibi gıda zehirlenmelerinin de sorumlusu olarak bilinmektedir. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovarları dünyada ve Türkiye’de kanatlıların (1-8) en önemli bakteriyel enfeksiyonlarından birkaçını oluşturur. İnsanlar için ise, gıda kökenli bakteriyel enfeksiyonların en önemlilerinden biridir (9-13). *Salmonella* enfeksiyonlarının insanlara bulaşmasında, kontamine yumurta, süt ve et gibi hayvansal kaynaklı gıdalar önemli rol oynamaktadırlar (14,15). Kanatlılardaki kontrol programlarının ana hedeflerinden biri de insan *Salmonella* enfeksiyonlarının sıklığını azaltmaktır (16). Salmonellaların vertikal yolla anaç tavuklardan civcivlere bulaşması, damızlık düzeyinde bir koruma ve kontrol programının geliştirilmesini ve uygulanmasını zorunlu hale getirmiştir (17-23).

Salmonellozis vakalarında ortaya çıkan tedavi masrafları ve iş gücü kaybı da önemli ekonomik zararlara neden olmaktadır. ABD’de salmonellalardan kaynaklanan gıda enfeksiyonlarına bağlı tedavi, iş gücü, gıda kaybı ve kontrol masraflarına ilişkin ekonomik kayıpların yıllık yaklaşık 3.4 milyar dolar, Kanada’da ise 1 milyar dolar olduğu bildirilmektedir. Almanya’da da yalnızca 1991 yılı için salmonellozisin 1.5 milyar Euro luk bir kayba neden olduğu bildirilmektedir (24).

Tavuklardaki *Salmonella* serovarları ‘konakçı bağımlı’ ve ‘konakçı bağımsız’ olmak üzere iki gruba ayrılır. *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Gallinarum* (*S. Gallinarum*) ve *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Pullorum* (*S. Pullorum*) konakçı bağımlı serovarları temsil ederlerken, *Salmonella enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Salmonella typhimurium* (*S. Typhimurium*), *Salmonella agona* (*S. Agona*) ve *Salmonella seftenberg* (*S. Seftenberg*) gibi diğer yaklaşık 200 serovar ‘konakçı bağımsız’ veya ‘paratifo’ grubu olarak anılırlar. ‘Konakçı bağımlı’ salmonellalar tavuklarda akut sistemik ve kronik hastalık tablolarına neden olurlar ve enfekte tavuklar bu bakterileri döllerine vertikal olarak aktarırlar (18).

Kanatlı hayvanlar, gıda zinciri vasıtasıyla insanlara bulaşabilen salmonellaların en önemli rezervuarlarından birisi olduğundan (25, 26), salmonellozis kanatlı üreticileri için öncelikli hastalık olmaktadır (27). Son yıllarda görülen gıda orijinli *S. Enteritidis* salgınlarının bazılarının kontamine yumurta içeren gıdalar veya kontamine yumurta tüketiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Araştırmacılara göre yumurtanın

Salmonella ile kontaminasyon seviyesi oldukça düşüktür ve albümin kısmı yumurta sarısından daha sıklıkla *Salmonella* yönünden pozitifdir (28).

Kanatlılarda salmonellozis, üç hastalık içerisinde klasifiye edilir: *S. Pullorum*'un neden olduğu 'pullorum hastalığı', *S. Gallinarum*'un neden olduğu 'tavuk tifosu' (26, 29) ve insanlarda gıda kaynaklı hastalıklarla ilişkili olan farklı grupların serovarları tarafından oluşturulan paratifo enfeksiyonudur. Tavuk ürünlerine bulaşan ve insanlarda gıda zehirlenmesi vakalarından en çok izole edilen serovarlar *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis*'dir. 1940'lı yıllardan beri, insan ve hayvanlardan spesifik konakçısı olmayan *Salmonella* serovarlarının izolasyonunda hızlı bir artış bulunmaktadır ve bu serovarlar genç tavuklarda önemli kayıplara neden olmaya devam etmektedir (27). Dünya çapında, paratifoid salmonellalar gıda kaynaklı hastalık ajanlarının en yaygın olanları arasındadır ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün raporuna göre, Amerika, Avrupa ve Afrika sağlık ajansları yumurta ve tavuk tüketimiyle ilgili olan bu tür hastalıklarda benzer bir artış olduğunu bildirmişlerdir (30). Ayrıca, geçtiğimiz 20 yılda *S. Enteritidis* Avrupa'nın bir çok ülkesinde (31) ve Amerika'da (32) gıda kaynaklı zehirlenmelerin en yaygın sebeplerinden biridir. Bu gıdaların çoğunu tavuk ve yumurtalar oluşturmaktadır (32-34). Kanatlı hayvan ve ürünlerini kapsayan bir üretim zincirini barındıran kanatlı sektöründe, 'konakçı bağımlı' ve 'konakçı bağımsız' *Salmonella* enfeksiyonlarından korunma ancak çok iyi tarama (screening) ve izleme (monitoring) programları ile başarılabilir (21-23). Bu programların temelini, çabuk lam aglutinasyon ve ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) gibi serolojik yöntemler ile kültür metotları oluşturmaktadır (35, 36). Serolojik testler özgünlüklerinin düşüklüğü nedeniyle, ancak birincil tarama testleri durumundadır ve sero-pozitif sürünün kültür metodu uygulanarak teyit edilmesi gerekir. *Salmonella* serovarlarını standart laboratuvar metotları ile izole ve identifiye etmek hem güç olmakta, hem de uzun süre almaktadır (25, 32, 37, 38). Kültür yöntemiyle *Salmonella* taraması 5-11 gün arasında bir zaman gerektirmektedir. Bu süre hızlı bir biçimde kontrol önlemleri almak veya sürü hakkında karar vermek için bekleyen yetiştiriciler açısından veya satışa çıkarılacak kanatlı ürünlerinin sağlamlılığının denetlenmesi açısından gıda sektörü için oldukça uzun bir süredir. Ayrıca, genellikle *Salmonella* ile subklinik enfekte tavuklardan alınan örneklerden ve belirli işleme tabi tutulan kanatlı etlerinden *Salmonella* izole edilemeyebilir. Bunun nedenleri arasında; *Salmonella* sayısının azlığı ve yarışmacı mikrofloranın yoğunluğu ve gıdalarda depolama aşamalarında zarar görmüş salmonellaların varlığı sayılabilir (21-23). Tanı süresinin kısaltılması, özgünlüğün artırılması ve duyarlılığın yükseltilmesine yönelik birçok test geliştirilmiştir. Diğer birçok

enfeksiyöz etkenin tanısında kullanım alanı bulmuş bir metot olan Polymerase Chain Reaction (PCR), *Salmonella* identifikasyonu ve taraması yöntemlerinin içinde duyarlılığı ve özgünlüğü yüksek ve tanı zamanını kısaltan bir test olarak tanımlanmıştır.

PCR teşhis yöntemi olarak spesifite, hız ve sensitivitesinin yüksek olması nedeniyle büyük bir avantaj sunmaktadır ve birçok klinik örnek ile yiyecek materyallerinden etken identifikasyonunda gittikçe artan bir şekilde kullanılmaktadır (25, 27, 39). PCR'ın diğer bir avantajı ise, antijenlerin ekspresyonuna veya bir substratın kullanımına bağımlı olmamasıdır ve antijenlerin biyokimyasal ve fenotipik varyasyonlarına rağmen mikroorganizmaları teşhis edebilmesidir (40).

Bu çalışmada, *Salmonella* deteksiyonu için BAX® Q7 PCR sisteminin referans kültür metodu ile (ISO 6579) karşılaştırılarak tavukçuluk entegrasyonlarında kullanıma sokulması amaçlanmıştır. Tavukçuluk sektörü bu testi kullanarak, *Salmonella* ile mücadele kapsamında yaptığı ilaç uygulaması, yönetim düzenlemeleri gibi uygulamaların sonuçlarının rasyonelliğini çok daha net bir biçimde değerlendirerek ekonomik kazanç sağlayabilecektir. Buna ek olarak, hastalığa bağlı canlı hayvan ve kuluçkalık yumurta üretim kayıpları, enfeksiyonun doğru tanısı ile yetiştirmeden çıkarılacak enfekte damızlıklar yoluyla en aza indirilerek ayrı bir ekonomik yarar daha kazanılmış olunacaktır.

GENEL BİLGİLER

Enterobacteriaceae familyasından *Salmonella* genusundaki bakterilerle oluşturulan enfeksiyonlar kanatlılarda akuttan kroniğe değişen hastalık olgularından sorumludur (41). Salmonellalar 1888 yılında et tüketimi sonucu şekillenen bir enfeksiyondan sorumlu etken olarak saptanmış ve veteriner ve bakteriyolog Daniel E. Salmon'a ithafen *Salmonella* olarak adlandırılmıştır. Bu genusta 2500 adet üzerinde serolojik olarak farklı varyant vardır ve bu serotiplerin 1400' den fazla sayıda patojen ve salmonellozise neden olan serotipleri olduğu bilinmektedir (42). Çoğunluğu tek bir tür altında toplanmıştır. Bu serotipler genellikle ilk izole edildikleri bölgenin, ilk izole edildikleri hastalığın belirtisinin ya da ilk izole edildikleri kanatlı türünün adını alırlar (43, 44). Etkenin ortalama 200 serotipi kanatlı hayvanlarla ilişkilidir (17).

Enterobacteriaceae familyasının genel özelliklerini taşıyan salmonellalar gram negatif, kısa ve küçük çomaklar tarzında olup, boyutları 0.7-1.5 x 2.0-5.0 µm' dir. Çoğunlukla boyalı preparatlarda tek tek görülen salmonellalar, sporsuz ve kapsülsüz olup, *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum* hariç hareketlidirler. Laboratuvar besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilen *Salmonella* etkenleri; 37°C' de 24-48 saatte, küçük, yuvarlak, S tipli koloniler meydana getirirler. Fakültatif anaerob özellikte olan bu etkenler buyyonda homojen bir şekilde hafif bulanıklık meydana getirerek ürerler. Biyokimyasal aktiviteleri oldukça yüksektir (45).

Kanatlılar, insanlarda enfeksiyona neden olan salmonellaların en önemli rezervuarları olarak belirlenmiştir (46-49). *Salmonella* genusu konakçı özgünlüğüne göre iki ana gruba ayrılır. Birinci grupta, kanatlılarla ilgili olarak 'konakçı bağımlı' serovarlar olan *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum* mononükleer fagositik sistemi etkileyerek sistemik enfeksiyonlara neden olurlar (17). İkinci grubu ise 'konakçı bağımsız' (Paratifo grubu) diye anılan paratifo enfeksiyonlarının etkenleri olan serovarlar oluşturur (20, 50). Yabani ve evcil hayvanlarda sıkça rastlanan bu serotipler kümes hayvanları ve bunların ürünleri ile bulaşan zoonozlara neden olduklarından insan sağlığı açısından da önem taşımaktadır. Kanatlı hayvan ürünlerinden insanlara bulaşan ve gıda kaynaklı zehirlenme vakalarından en çok izole edilen serovarlar *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis*'dir (51). Özellikle *S. Enteritidis* dünyada geniş dağılım gösteren bir problem halini almıştır. Bu etkenin başlıca kaynağı kanatlılar ve kanatlı orijinli gıdalardır. Özellikle *S. Enteritidis* yumurta üretim

çiftliklerini tehdit etmektedir. *S. Enteritidis*'in farklı tipleri ülkeler arasında değişiklik göstermesine karşın, insan ve kanatlılarda daha önceki yıllarda dominant tür olarak tanımlanan *S. Typhimurium* ile yer değiştirmesi dikkat çekicidir (52).

Tavuklar ve hindiler birçok *Salmonella* serovarına duyarlı olmasına rağmen, enfeksiyonun oluşumunda hayvanın yaşı, enfekte edici doz ve predispoze edici faktörler, enfeksiyonu oluşturan serovardan daha önemlidir. Paratifo grubu salmonellalar birçok farklı yolla kanatlı sürüleri içerisine girebilir ve farklı mekanizmalarla sürü içinde ve sürüler arasında kolaylıkla yayılabilir (20, 50).

Paratifo grubu salmonellaların hem vertikal hem de horizontal bulaşma göstermeleri ve sindirim sistemine kolonize olup genellikle hastalık belirtisi göstermeksizin dışkı ile saçılmaları sonucu kesimhanelerde kesim sırasında ve kanatlı etlerinin işleme sürecinde karkasların kontamine olma riski, kanatlı etlerinin uygun olmayan koşullarda pişirilmesi sonucu gıda zincirine katılan salmonellaların insanlarda gıda zehirlenmelerine neden olmaları halk sağlığı açısından büyük bir risk faktörüdür (53, 54). Paratifo etkenleri 'konakçı bağımlı' olmadıklarından ve hiçbir hastalık belirtisi göstermeksizin dışkı ile etrafa saçıldıklarından, 'konakçı bağımlı' olan salmonellalara göre epidemiyolojileri daha komplekstir. Bir günlük civcivlerin enfekte anaç sürülerinden vertikal bulaşma sonucu *Salmonella* ile enfekte olmaları temel risk faktörlerinden biridir (55). Vertikal bulaşma, yumurtanın internal ve/veya eksternal kontaminasyonu sonucu şekillenir. Kuluçkahaneler, kümeslerde *Salmonella* kontaminasyonunun temel kaynaklarından biri durumundadır. Kuluçkahane *Salmonella* için iyi bir rezervuardır. Cox ve arkadaşları (56), yaptıkları çalışmada kuluçka örneklerinin yaklaşık % 75'inin *Salmonella* ile kontamine olduğunu rapor etmiştir. Jones ve arkadaşları (57), 1 günlük civcivlerin % 5-9'unun kuluçka kaynaklı olarak *Salmonella*-pozitif olduğunu bulmuştur. Kuluçkahanelerin temel bulaşma kaynaklarından biri olmasının diğer nedeni de kuluçkadan yeni çıkan civcivlerin ergin kanatlılardan daha fazla *Salmonella* kolonizasyonuna duyarlı olmasıdır. İlerleyen yaşla birlikte, ergin kanatlılar, olgunlaşan barsak mikroflorası nedeniyle salmonellanın intestinal kolonizasyonuna daha dirençlidir. Vertikal bulaşmanın yanı sıra kümes içinde horizontal bulaşmanın da çok kolayca şekillendiği bilinmektedir. Enfekte rodentler bu yatay bulaşmada çok önemli rol oynar (20, 58). Hayvansal proteinleri içeren özellikle peletlenmemiş yemlerle beslenme, daha önce *Salmonella* enfeksiyonu geçirilen bir kümese günlük civcivlerin yerleştirilmesi, kontamine alet ve ekipman, kümeslere kontrolsüz girişler, kümes çalışanları, *Salmonella*

ile kontamine içme suları ve sıcak mevsimler salmonellanın yaygın bulaşımında etkin faktörlerdir. Salmonellalar'ın uygun çevresel koşullarda uzun süre enfektif kalması, sürü içinde ve sürüler arasında enfeksiyonun bulaşmasına olanak verdiği için epidemiyolojik açıdan önemlidir (20).

Salmonella enfeksiyonları kanatlı hayvanlarda genel olarak yüksek mortalite, yumurta veriminde düşme, yumurta kalitesinde bozulma, civciv çıkım yüzdesinde azalma, ishal ile karakterize bir enfeksiyon tablosu oluşturur (59). Tavuklar etkenleri dışkıları yoluyla saçarlar. *S. Pullorum*, *S. Gallinarum* ve *S. Enteritidis* gibi bazı serotipler transovaryan bulaşabilirler. Yem, su, yumurta, kemirgenler, yabani kuşlar, insan, gübre, yumurta violleri önemli bulaşma faktörleri arasındadır (60). *Salmonella* kabuklu yumurtada bulunan önemli bir patojendir. Bakteri ovulasyon sırasında yumurta içine girebileceği gibi diğer bakterilerde olduğu gibi dışkı ile bulaşmış ıslak kabuk yüzeyinden de yumurta içine geçebilmektedir (59).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda salmonellozis vakalarından sorumlu tutulan gıdalar içinde tavuk etinin ilk sırada yer aldığı bildirilmiştir (61).

Salmonella insanlardaki gıda zehirlenmesinin başlıca sebebi olduğundan, kümes hayvanlarında *Salmonella* kontrolü bir halk sağlığı sorunudur. Kümes hayvanları tek kaynak olmasa da genel bir kaynak olarak bilinirler. Gıda üretimi amacıyla yetiştirilen hayvanlar, özellikle kanatlılar ve kanatlı ürünleri, insanlarda *Salmonella* nedenli enfeksiyonların temel kaynağı olarak kabul edildikleri için kanatlı ürünlerinin *Salmonella* ile kontaminasyonu, sadece yerel bir halk sağlığı problemi değil, kanatlı ve bunların yan ürünlerinin ihracatıyla uluslararası bir problem haline gelmiştir(62).

Avrupa Birliği tarafından 2007 yılında yapılan araştırma sonuçları European Food Safety Authority (EFSA) tarafından 2009 yılında rapor olarak yayımlanmıştır. Bu rapora göre; toplam 151.995 *Salmonella* vakası tespit edilmiştir. Bu oran 2006 yılında yapılan araştırma sonuçlarıyla karşılaştırıldığında % 14,2 oranında artış söz konusudur. Daha önceki yıllarda olduğu gibi *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* serotipleri en sık rastlanan serotipleri oluşturmaktadır (63).

Türkiye'de kanatlı hayvanlar ve kanatlı ürünleri ile ilgili olarak yasal düzenlemeler uyarınca Kanatlı Tifosu ve Pullorum Hastalığı ihbarı mecburi hastalıklardır (64). Kuluçkahane ve Damızlık Kanatlı İşletmeleri Yönetmeliği Uygulama Talimatı' na

göre *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum*'un neden olduğu hastalıkların tespiti halinde o kümeşte bulunan hayvanlar bedelsiz olarak itlaf edilmekte ve kuluçkahane ve günlük civcivlerde rastlanması durumunda civciv ve yumurtalar imha edilmektedir. *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'un yumurtada ve damızlık işletmesinde tespiti halinde bu yönetmeliğin ilgili maddeleri gereğince işlem yapılmaktadır (65). Broiler ve ticari yumurtacı kümeslerinde *Salmonella* Kontrol Programı Uygulama Talimatlarında zoonoz karakterdeki *Salmonella* etkenlerinin prevalansının tespit edilmesi ve prevalansın Avrupa Birliği tarafından öngörülen seviyeye düşürülmesi amaçlanmaktadır (66, 67).

Geçtiğimiz 20-25 yıl içerisinde değişik coğrafyalarda farklı serotiplerin neden olduğu gıda kaynaklı salmonellozis olgularında bir artış gözlemlenmiştir. ABD Center for Diseases Control and Prevention (CDC) 2006 yılı raporlarına göre sadece ABD'nde yıllık tahmini 1.4 milyon *Salmonella* olgusu rapor edildiği ve olguların 500'ünden fazlasında hastalarda ölümle sonuçlandığı belirtilmektedir. Yine Center for Science in the Public Interest (CSPI) 1990-2003 yılı verilerinde ABD'nde bakterilerin neden olduğu 554 salgının 111'inde sorumlu etkenin *Salmonella* olduğunu bildirilmiştir. Ayrıca CDC ve CSPI'in 1990-2001 yılları arasındaki gıda kaynaklı hastalıklar arasında sadece kanatlıların neden olduğu 476, yumurtanın neden olduğu 329 salgın olduğu ve bu salgınlarda sırasıyla 14.729 ve 10.847 kişinin etkilendiği belirtilmektedir. ABD'nde her yıl salmonellanın neden olduğu hastalıklara bağlı mali giderlerin 600 ile 3500 milyon dolar olduğu belirtilmektedir.(68).

Salmonella enfeksiyonlarından kaynaklanan ekonomik kayıpların ABD'nde yıllık ortalama 0.5-3.2 milyar dolar arasında olduğu bildirilmektedir. Ölümle sonuçlanan vakalarda 0.5-3.8 milyar dolarlık kayıp bildirilirken, hastanede tedavi masraflarının kişi başına en az 5460 dolara mal olduğu hesaplanmaktadır. Tedavi masrafları dışında iş gücü kaybı, hayvan ve ürün kayıpları da toplam kayıplar içerisinde yer almaktadır (69). Salmonellozis, gıda kaynaklı bakteriyel enteritler yönünden dünyada birçok ülkede en önemli enfeksiyon olarak bilinmektedir. Dünya genelinde yıllık salmonellozis vaka sayısı 1.3 milyar olarak rapor edilmekte ve bu vakalardan yaklaşık 3 milyonu ölümle sonuçlanmaktadır (11-15). 2005-2006 yılları arasında yapılan Avrupa Baseline Survey çalışmaları sonuçlarına göre Avrupa Birliği'nde *Salmonella* spp. oranı broylerlerde % 23.7, yumurtacı tavuklarda ise % 30.7 olarak rapor edilmektedir (70). 2007 yılı verilerine göre Avrupa Birliği ülkelerinde *Salmonella* bulunma oranı broyler kümeslerinde % 3.4, yumurtacı tavuklarda % 4.3, hindi kümeslerinde % 7.8 olarak bildirilirken, en düşük oranın

sığırlarda tespit edildiği rapor edilmiştir (71). Hong Kong'ta son yıllarda gıda zehirlenmesi etkenlerinin ilk üçünden biri salmonelladır (72). ABD ve Avrupa Birliği ülkelerinde, *Salmonella* kaynaklı gıda zehirlenmesi salgınları çok sık yaşanmaktadır (73-75). Avrupa Birliği'nin 2006 yılı verilerine göre; Salmonellozis en sık gözlenen gastrointestinal enfeksiyonlardandır. Salmonellozis vakalarının % 60'ı *S. Enteritidis*, % 12'si *S. Typhimurium* tarafından oluşturulmuştur (76). ABD'nde *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* en sık rastlanan *Salmonella* türleridir (77-79).

Hong Kong'ta 2000-2004 yılları arasında rapor edilmiş gıda zehirlenmelerinin %22'si *Salmonella* kaynaklıdır. 1999-2004 yılları arasında tüm *Salmonella* izolatları arasında *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Derby* ilk 3 sırayı almıştır (80).

CDC tarafından son yayınlanan verilerden birinde, 1990 yılından beri 45 kez kanatlı hayvan kaynaklı *Salmonella* salgını olduğu, bunların 1563 insan enfeksiyonuna neden olduğu, bu enfeksiyonların 221'inin hastanede tedavi edildiği ve 5 hastanın ise kurtarılamayıp öldüğü verisi bulunmaktadır. Yine CDC tarafından yayınlanan verilere göre; ABD'nde her yıl yaklaşık 42.000 salmonellozis vakası yaşandığı, yazın daha yaygın olduğu ve akut salmonellozis vakasından dolayı her yıl 400 kişinin hayatını kaybettiği bildirilmektedir (81). DSÖ'nün 1999-2000 yılı 8. raporunda; Türkiye'de *Salmonella* olguları ve insidensi ile ilgili olarak 1999 yılında 28.884 olgu ve % 49.3 insidens, 2000 yılında ise 26489 olgu ve % 39.2 insidens olarak rapor edilmiştir. Türkiye'de bazı çalışmalarda belirtilen sonuçlarda ise *Salmonella* insidensinin genel olarak % 1.1-6.2 arasında olduğu belirtilmektedir. Bir başka kaynakta ise 2006 yılında en fazla salmonellozis bildirilen ülkelerden birinin Türkiye olduğu ve 72 olgu rapor edildiği belirtilmektedir(68).

İngiltere'de yapılan bir araştırmada; Temmuz 1998- Ağustos 2007 tarihleri arasında 264 vaka 152 kümeste *Salmonella* izole edildiği bildirilmiştir (82). Ülkemizde Elazığ bölgesinde yapılan bir çalışmada; 365'i kesimhaneden, Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne hastalık şüphesiyle gelen 162 tavuk *Salmonella* yönünden incelenmiştir. Toplam 527 tavuğun 57'sinde *Salmonella* tespit edilmiştir (83). Eyigör ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada; 2000 yılı 2003 yılı arasında kanatlı hayvanlardan toplanan toplam 1785 numunede *Salmonella* profili araştırılmıştır. 15 farklı şirket, 191 kümesten toplanan intestinal örnekler, kloakal svablar, drag svab, civciv tüyü ve altlık numuneleri SYBR green-based real-time PCR (SGBRT-PCR), prob spesifik real-time PCR

(PSRT-PCR) ve standart kültür yöntemi ile test edilmiştir. Ocak 2000 ve Temmuz 2001 tarihleri arasında toplam 1242 örnekte SGBRT-PCR ve kültür yöntemi ile sırasıyla % 5.87 ve % 4.10 oranlarında *Salmonella* tespit edilmiştir. Temmuz 2001- Aralık 2003 tarihleri arasında ise toplam 543 örnekte PSRT-PCR ve kültür yöntemi ile sırasıyla % 11.42 ve % 5.52 oranlarında *Salmonella* tespit edilmiştir. Bu çalışmada en fazla izole edilen serovarin *S. Enteritidis* olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak Türkiye’de kanatlı damızlık işletmelerinin asıl problemi *S. Enteritidis* olduğu ve her iki real-time PCR yönteminin standart kültür yönteminden daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (84).

Ankara bölgesinde tavukçuluk işletmelerinde yapılan bir çalışmada tavukların kloakal svab ve yumurta örneklerinde klasik standart kültür yöntemi ve PCR ile *Salmonella* varlığı araştırılmıştır. Elli ticari yumurtacı kümeden alınan numunelerin 6’sında kloakal svabtan salmonella izole edilmiştir (85). Li ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada değişik yaş gruplarındaki ticari yumurtacı kümeslerinden alınan fekal örneklerde *Salmonella* prevalansı araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre hayvanın yaşının ve içinde bulunduğu üretim döneminin *Salmonella* prevalansını anlamlı bir şekilde etkilemediği bildirilmiştir. Bununla beraber en yüksek prevalans 18 haftalık hayvanlarda gözlenmiştir (86).

Japonya’da yapılan bir çalışmada, broilerlerde *Salmonella* prevalansı % 36.1 olarak bildirilmiştir. Fekal numunelerde en çok *S. Infantis* (% 22.6 oranında) saptanmıştır (87). Saad ve arkadaşları Suudi Arabistan’daki broiler karkasları ve çiftliklerindeki toplam 5028 örnekte *Salmonella* prevalans çalışması yapmışlardır. Marketlerden alınan tavuk eti örneklerinde oran % 17.23 iken direkt kesimhanelerden toplanan tavuk eti örneklerinde oran % 7.29’dur. Donmuş etteki oran %8.23 iken taze etteki oran % 13.83’tür. Broiler kümeslerinden alınan kloakal svablarda % 4.87 damızlık kümeslerden alınan kloakal svablarda ise oran % 2.19’dur. Kesimhanelerden alınan çevre svablarında *Salmonella* bulunma oranı % 10, kuluçkalardan alınan çevre svablarında ise % 1.65’tir. Toplamda 5028 numunedan 267’sinde *Salmonella* izole edilmiştir (88). Japonya’da yapılan bir prevalans çalışmasında 2345 broiler sekal örneğinin 336 adedinde *Salmonella* tespit edildiği bildirilmiştir (89).

Yukarıda değişik epidemiyolojik verilerin bir sonucu olarak, *Salmonella* kontrolünün kümeden sofraya kadar sağlanması gereken bir süreç olduğu ortadadır. *Salmonella* enfeksiyonlarından korunmanın kanatlı sağlığı, gıda endüstrisi ve dolayısıyla

halk sağlığı açısından önemli olduğu açıktır. Bu enfeksiyondan korunma ancak kanatlı yetiştiriciliği ve gıda sektöründe uygulanan iyi tarama ve izleme programları ve kapsamlı bir örnekleme planı ile sağlanabilmektedir (21-23).

Kanatlı sürülerinde ‘Paratifo grubu’ salmonellaların teşhisi, alternatif olarak aglütinasyon testleri (35, 90) konvansiyonel kültür yöntemi (23), ELISA-tabanlı testler (36, 91-93), immunomanyetik separasyon (IMS) ile bakteriyi yoğunlaştırıp daha sonra uygulanan testler (94, 95) ve bakterilerin çok sayıda olduğu durumlarda uygulanan DNA-DNA hibridizasyon testleri (96-98) ile yapılmıştır. Gıdalarda ise Avrupa’da ISO 6579, ABD’nde Bacteriological Analytical Manual (BAM) gibi konvansiyonel kültür yöntemi, ELISA tabanlı serolojik testler (99), IMS (100, 101) ve DNA-DNA hibridizasyon testleri (102, 103) *Salmonella* teşhisinde kullanılmıştır. Fakat bu metotlarla ilgili yaşanan duyarlılık ve özgünlük sorunları ve diagnostik mikrobiyoloji laboratuvarlarında daha hızlı teşhis yöntemlerine duyulan gereksinim, bu eksiklerini gideren alternatif tanı yöntemlerinin gelişimine yol açmıştır (39, 104-108).

Konvansiyonel yöntemle *Salmonella* serovarlarının teşhisi selektif besiyerlerinde gerçekleştirilen kültür ve bunu takiben şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve serolojik testlerle doğrulanması ve identifikasyonuna dayandığından oldukça zahmetli olup 5-11 güne varan bir süre gerektirmektedir. Bu süre, kanatlı üreticilerinin gerekli kontrol önlemlerini alacağı göz önünde tutulursa, oldukça uzun gözükmektedir. Kültürle *Salmonella* izolasyonunda karşılaşılan bir diğer önemli problem de, spesifik besiyerlerinde üreyen kolonilerin, *Salmonella* gibi H₂S pozitif, laktoz negatif olan ve dışkıda çok fazla bulunan *Citrobacter* ve özellikle *Proteus* ile karşıabilme olasılığıdır. Bu problemler, erken nlem alınabilmesi için, hızlı teşhis sağlayan moleküler sistemlerin kullanılması gerektiğini işaret etmiştir (109, 110). Bunun yanısıra, incelenen örnek tipi, *Salmonella* dışı bakteri kontaminasyon seviyelerindeki farklılıklar, örneklerdeki *Salmonella* sayısı, izole edilmek istenen serotiplerin farklılığı, zenginleştirme ve izolasyonda kullanılan besiyerleri arasındaki etkinlik farkı ve laboratuvar çalışanlarının becerisine bağlı olarak laboratuvardan laboratuvara *Salmonella* izolasyon oranları da farklılık göstermektedir (111). Tavuklarda *Salmonella* izolasyonunda kullanılan katı besiyerlerinin birçoğunda şekerlerin yıkımlanması, besiyeri içine katılan antibiyotikler, boyalar ve çeşitli katkı maddeleri ile yarışmacı mikrofloranın üremesi inhibe edilirken salmonellaların üremesi provoke edilmiştir. Konvansiyonel kültür yöntemi ile gıdalardan *Salmonella* tespitinin zaman alıcı olması, laboratuvarlara iş yükü getirmesi ve düşük mikrobiyal yüke sahip

numunelerde duyarlılığın düşük olması, salmonellozisin gerek kanatlı sektörünü gerek insan sağlığını tehdit eder boyutlara ulaşması ile kanatlı etlerinde *Salmonella* varlığının belirlenmesi için hızlı, duyarlı ve güvenilir teşhis metotlarına gereksinim vardır. Kanatlı sektörü ve gıda sektöründe de kültür yöntemi ile tanı süresinin uzun olması nedeniyle optimize edilmiş kültür yöntemi kadar güvenilir, daha hızlı, duyarlı, spesifik yöntemler geliştirilmeye ve kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemlerden biri PCR-tabanlı testlerdir (112-115). PCR, konvansiyonel metotlarla karşılaştırıldığında herhangi bir substrat kullanımı veya antijen ekspresyonuna dayanan bir teknik değildir (116). Bu nedenle biyokimyasal paternlerde ve detekte edilebilir antijende gözlenen fenotipik varyasyonlardan etkilenmez (117). PCR'ın bir diğer avantajı da, reaksiyonun belirli bir substratın kullanılmasına ya da belirli antijenlerin ekspresyonuna bağlı olmamasıdır ki, bu özelliği ile suşların biyokimyasal özelliklerindeki farklılıklar, fenotipik varyasyonlar ve saptanabilen antijenlerin eksikliğinden kaynaklanabilecek tanılama hatalarına engel olmasıdır (40). 1980'li yılların ortalarında birçok gıda patojeninin aranmasında kullanılan PCR (118-123), *Salmonella* için saf kültürlerde veya selektif agar pleytlerde (124, 125) veya direkt ön zenginleştirme ve/veya zenginleştirme besiyerlerinde (126-130) veya gıdalarda (131, 132) identifikasyon metodu olarak kullanılmak üzere tanımlanmıştır.

BAX[®] Q7 PCR kitinin, PCR için gerekli olan primerler, enzim, deoksiribonükleotidler gibi tüm reagentlerin basit liyofilize bir tablet içerisinde bulundurması ve bu nedenle laboratuvarlarda moleküler biyoloji açısından deneyimsiz laboratuvar çalışanlarının olası manipülasyon hatalarını bertaraf ettiği bildirilmiştir (107, 133, 134). Bailey ve arkadaşları kitlerle *Salmonella* aranmasını kanatlı karkaslarından ve tüketime hazır kanatlı ürünlerinden, konvansiyonel kültürel metotla karşılaştırıldığında 2-3 gün, ELISA ve genetik hibridizasyon metotları ile karşılaştırıldığında 1 gün avantajı olduğunu belirtmişlerdir. PCR'dan önce 16-20 saatlik ön zenginleştirme uygulanmıştır. Diğer bakterilerle çapraz reaksiyon oluşturmaksızın *Salmonella* deteksiyonunda güvenilir bir şekilde kullanılabileceği bildirilmiştir (133).

Standart yöntemde negatif sonucun yaklaşık 3 gün, konfirme edilmesi gereken pozitif sonucun ortaya koyulmasının yaklaşık 5-7 gün sürmesinin aksine ticari BAX-PCR sistemi ön zenginleştirme aşaması dahil 24 saatte sonuç vermektedir (133). BAX sistemi gerekli reagentleri, primerler, DNA polimeraz enzimi, nükleotidler, internal pozitif kontrol ve floresan boyayı (Sybr Green I) tek bir liyofilize tablet içinde toplayarak basitleştirmekte ve kolaylaştırmaktadır. Böylece etkili bir şekilde reagent transferi için geçen zamanı

kazandırır ve olası teknik hataları ve çapraz kontaminasyonun önüne geçer. Ayrıca BAX PCR sistem ile floresan boya deteksiyonu aşamalarını birleştirerek hem zamandan tasarruf sağlar hem de jel elektroforez aşamasını elimine eder (135).

PCR, DNA aranması için ilk kez 1985 yılında kullanılan, yüksek ölçüde duyarlı ve özgün bir teknik olarak tanımlanmış ve bu tekniğin bulucusu Kary Mullis tanı ve araştırma olanaklarında evrime yol açan bu başarısından ötürü Nobel ödülünü almıştır. Bu evrimsel buluştan sonra diyagnostik mikrobiyoloji yeni bir sürece girmiş, nükleik asit amplifikasyon teknolojileri mikroorganizmaların fenotipik özelliklerinin tanımlanması temeline dayanan standart tanı tekniklerinin yerini almaya, hatta bazı mikroorganizmaların tespiti için altın-standart olmaya başlamıştır (116, 136-147).

Kanatlı endüstrisinde teşhis amacı ile PCR testleri geleneksel metotların sınırlamalarından dolayı, gittikçe artan biçimde kullanılmaktadırlar. *Salmonella* ari kanatlı sürülerinin yetiştirilmesinde PCR'la ilgili çalışmalarda önemli gelişmeler yaşanmaktadır (25). Teşhisi günler/haftalar alacak mikroorganizmaların teşhisinde, PCR'ın kullanımı çok önem kazanmıştır. PCR ile yakın türler arasında ya da alt tipler arasında ayırım yapılabilir ve klinik örnekler ön zenginleştirmeye gereksinim duymadan kontrol edilebilirler (148). PCR geleneksel metotların yerini her zaman tamamen alamaz. Ancak kültürle, serolojik sürü profiliyle ve klinik belirtilerle desteklenirse PCR enfeksiyonların hızlı teşhisinde kullanılabilir (149).

PCR, bakteri, virus, mantar, parazit, protozoon gibi hastalık etkenlerine ait hedef nükleik asitin primer adı verilen spesifik komplementer oligonükleotitler ve sıcaklığa dayanıklı polimeraz enzimleri kullanılarak in vitro olarak çoğaltılmasını (amplifikasyonunu) sağlayan oldukça özgün ve güvenilir bir tekniktir (151-155). DNA veya RNA dizilerinin sayısal olarak artırılması esasına dayanan PCR'ın en önemli yönü, özel bir DNA dizisi seçip çoğaltılarak istenmeyen dizilerin ortaya çıkmasının önlenmesidir. Bu özellik sadece dizinin tanınmasını kolaylaştırmakla kalmayıp DNA'nın analiz edilmesini de sağlamaktadır (156, 157). Bu hedef genetik materyaller çok az sayıda ve hatta birçok ilgisiz DNA'lar arasında olsa bile homojen bir DNA materyali haline getirilip çoğaltılabilir, kolayca tanımlanabilir (155-158).

Biraz daha ayrıntılarıyla PCR hedef sıranın komplementeri 2 oligonükleotit DNA primerlerinin enzimatik amplifikasyonuna dayalı bir tekniktir. Sıcaklığı sürekli birleşme (annealing) ve uzamaya (extension) göre ayarlanmasıyla, bu primerlerin DNA

polimeraz enzimi sayesinde hedef sıraya dizilmesi ve her sıcaklık değişiminde ortamdaki bazlarla uzamaları sayesinde amplifikasyon tamamlanmaktadır. Yani PCR prosesi 3'e ayrılır. Önce çift zincirli DNA 90 °C'nin üzerinde bir sıcaklıkta 2'ye ayrılır (denaturasyon), sonra oligonükleotit primerler 50-60 °C'lerde hedef DNA ile birleşmeye başlar (annealing) ve en sonunda 70-78 °C'lerde optimal zincir uzaması meydana gelir ve yeni DNA zinciri oluşturulur (extension). Bu sıcaklık değişimi 30-40 kez tekrarlanarak 2ⁿ sayıda yeni hedef DNA oluşumu sağlanır. Amplifiye olan hedef DNA'nın tespiti ve görüntülenmesi agaroz jel elektroforez ya da uygun problarla hibridizasyonla gerçekleştirilir (151, 152, 159).

Geleneksel PCR tabanlı testler, multipl kompleks basamaklar ve bu nedenle uzmanlaşmış kişiler gerektiren, örneklerin dışarıdan başka DNA'larla kontaminasyon riskini artıran açık reaksiyon sistemleridir. Bu testlerin kompleksliğine bir de maliyet yüksekliği eklenmektedir (161). PCR reaksiyonundan sonra PCR ürününü ortaya koymak için agaroz jel elektroforez, southern blot, ELISA benzeri sistemlerden yararlanır. Bu sistemler tatminkar sonuçlar verse de PCR sonrası amplikonu ortaya koymada işlemlerin yoruculuğu, iş gücü kaybı ve artan kontaminasyon riski kaçınılmazdır (159, 161-175).

Real-Time PCR ilk kez Higuchi ve arkadaşları (176) tarafından geliştirilmiştir. Real-Time PCR, PCR reaksiyonu sırasında oluşan ürünleri görünür hale getiren ve monitorize edebilen floresan işaretli prob ve boyaların kullanıldığı, floresanın oluşan DNA ile doğru orantılı olarak arttığı ve bunları tek bir tüpte belirlemeyi mümkün kılan bir metottur (174, 175). Real-Time PCR ile sağlanan önemli bir gelişme, sonuçların hızlı bir biçimde alınabilmesidir. Bu hız genel olarak siklus sürelerininin kısalması, PCR sikluslarından sonra yapılan tespit işlemlerinin olmaması ve oluşan ürünlerin erken tespitini sağlayan hassas floresan tespit ekipmanlarının kullanımıyla sağlanmaktadır. Real-Time PCR ile kros kontaminasyon ve çevresel kontaminasyon riski çok aza indirgenir. Testi yapan kişiden kaynaklanan yanlışlık olasılığı, test süreci içinde yapılan işlem sayısı azaldığı için düşmektedir (151, 152, 159, 176-178).

Salmonella enfeksiyonunun tanısında kültürde karşılaşılan zorluklar, serolojik testlerdeki yanıltıcı sonuçlar ve güçlükler nedeniyle, moleküler düzeydeki gelişmeler sonucunda PCR tekniği önem kazanmış ve sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (8,9). PCR tekniğinin, kısa sürede en doğru sonuç alınabilmesi, bakteriyel kontaminasyonlardan

etkilenmemesi, antibiyotik kullanımı sonrasında da doğru sonuç alınması ve tür spesifik olması tercih edilme sebeplerindedir (109, 160).

Sonuç olarak DNA tabanlı testler geleneksel metotların yerini tamamen almasa da PCR metotlarının kullanımı tanıda doğru ve güvenli sonuç verebilir. Buna karşın DNA tabanlı testler yeni çıkan *Salmonella* türleri, onların patojenite, immunojenite ve antimikrobiyal direnç gibi özelliklerini tespit etmeye yetmez.

DuPont BAX *Salmonella* sistemi, et, tavuk, balık, deniz ürünleri, meyve ve sebze ürünleri, süt ürünlerinden birçok besinden, hayvan yeminden salmonellaların tespit edilmesinde başarıyla kullanılmıştır (133, 179-185). BAX® Q7 PCR sistemi, salmonellaları tespit etmedeki %98'lik sensitivitesi ve spesifitesiyle, United States Department of Agriculture's Food Safety and Inspection Service (USDA-FSIS) tarafından kabul edilmiştir ve tüm dünya ülkelerinde de yaygınlığını artırmaya devam etmektedir (186).

DNA'ya bağlanan boyalara bir alternatif sistem olan (ör. Sybr Green I) BAX sistemi, kullanıma hazır hedef spesifik problu tabletleri içeren optimize bir rPCR sistemidir.

Kanatlı hayvan işletmelerinde *Salmonella* enfeksiyonlarını tespit etmek amacıyla kloakal svab örnekleri kullanılabilir (7). Bireysel olarak kanatlı hayvanlardan kan ya da kloakal svab alınması, kanatlılarda strese neden olmakta, işletme çalışanlarına iş yükü getirmekte ve etkenin aralıklı saçılım özelliğinden, enfeksiyonun tespit edilebilme olasılığını azaltmaktadır. Bu nedenle salmonellosis problemi bulunan kümeslerin belirlenmesinde ayda bir drag svab almanın daha faydalı olacağı bildirilmiştir (187-190).

Bu çalışmayla, BAX® Q7 PCR sistemi, dışkı örneklerinde *Salmonella* tespiti için kullanılarak, elde edilen sonuçların klasik kültür yöntemi olan ISO 6579 yöntemi sonuçları ile karşılaştırılması ve aynı zamanda farklı yaşlardaki yumurtacı tavuk sürülerinden rutin kontrol amacıyla alınan dışkı örnekleriyle, sağlıklı yumurtacı sürülerdeki *Salmonella* yaygınlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

GEREÇ

1. Klinik Örnekler

1. Dışkı Örnekleri: Ocak 2009 - Haziran 2012 tarihleri arasında 58 adet yumurtacı kümeden toplanan 174 adet örnek, fermuarlı steril poşetlerde buz kalıpları ile laboratuvara ulaştırıldı. Örnekler alınırken her örnek için ayrı steril eldiven kullanıldı. Alınan örnekler güvenli bir şekilde paketlenerek aynı gün içinde laboratuvara ulaştırıldı. Örnek olarak kafes sistemli kümeslerden doğal olarak karışmış 200-300 g dışkı toplandı. Gübre toplama sistemine göre örnekler;

- Tavukların dışkısının toplandığı konveyör hatlarının boşaltıldığı kısım,
- Kazıma yolu ile gübre toplanan kümeslerde kazıma işleminden sonra gübrenin toplandığı yerler,
- Tek bir çukurda toplama işlemi yapılan küçük ölçekli kümeslerde de gübre çukurundan alındı. Dışkının, örnek alınacağı gün toplanmasının sağlanması ve örneklerin kümesin değişik bölgelerini temsil edecek tarzda ve kümesi örnekleyecek şekilde küçük porsiyonlar halinde mümkün olduğunca çok sayıda farklı noktalardan alınmasına dikkat edildi.

2. Besiyerleri

2.1. Tamponlanmış Peptonlu Su (Buffered Peptone Water, BPW)

Alınan örneklerden *Salmonella* izolasyonu yapılmasında ve BAX[®] Q7 PCR testi için ön zenginleştirme aşamasında kullanılmak üzere BPW (kat.no:1.07228.0500)] kullanıldı.

MERCK Buffered Peptone Water (BPW)

1 litre içerisindeki maddeler ve ortalama miktarları aşağıdaki gibidir.

Peptone from Casein	10.0 g
Sodium chloride	5.0 g
Disodium hydrogen phosphate dodecahydrate	9.0 g
Potassium dihydrogen phosphate	1.5 g

Hazırlanışı: Toz BPW 25.5 g tartılıp 1 litre distile suyla karıştırıldı. Su banyosunda homojen hale gelene kadar eritildi. 121°C’de 15 dakika otoklav edildi. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra 50°C’ye kadar soğutulup sterilite kontrolü için 37°C’de 1 gün inkube edildikten sonra, kontaminasyon sonucu üremeye bağlı renk değişimi ve bulanıklık yönünden incelendi. Renk değişimi ve bulanıklık görülmeyen steril besiyeri +4°C’lik buzdolabına kaldırılarak en fazla 1 hafta içinde ön zenginleştirme amacıyla kullanıldı.

2.2. Rappaport Vassiliadis Soy Broth

MERCK Rappaport Vassiliadis Broth (RVS Broth) (kat. no: 1.07700.0500). *Salmonella*’nın klinik örneklerden izolasyonu için zenginleştirme aşaması için kullanıldı.

MERCK Rappaport Vassiliadis Soya Broth (RVS Broth)

1 litre içerisindeki maddeler ve ortalama miktarları aşağıdaki gibidir.

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

Hazırlanışı: Toz Rappaport Vassiliadis brothdan 41.8 g tartılıp 1 litre distile suyla karıştırıldı. Su banyosunda homojen hale gelene kadar eritildi. 121 °C’de 15 dakika otoklav edildi. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra 50 °C’ye kadar soğutulup steril vidalı kapaklı cam tüplere 10’ar ml dağıtıldıktan ve sterilite kontrolü için 37 °C’de 1 gün inkube edildikten sonra, kontaminasyon sonucu üremeye bağlı renk değişimi ve bulanıklık yönünden incelendi. Renk değişimi ve bulanıklık görülmeyen steril besiyerleri +4°C’lik buzdolabına kaldırılarak en fazla 1 hafta içinde *Salmonella* izolasyonu amacıyla zenginleştirme aşamasında kullanıldı.

2.3. Mueller Kaufmann Tetrathionate broth (base)

MERCK Tetrathionate broth (base) (kat. no: 1.05285.0500).

Salmonellaların klinik örneklerden izolasyonu için zenginleştirme aşaması için kullanıldı.

MERCK Tetrathionate broth (base)

1 litre içerisindeki maddeler ve ortalama miktarları aşağıdaki gibidir.

Peptone from casein	2.5 g
Peptone from meat	2.5 g
Bile salt mixture	1.0 g
Calcium carbonate	10.0 g
Sodium thiosulfate	30.0 g

Hazırlanışı: Toz Tetrathionate brothdan 46 g tartılıp 1 litre distile suyla karıştırıldı ve yavaşça ısıtılarak kaynama noktasına getirildi. Hızla soğutuldu. Kullanımdan önce 20ml/l olacak şekilde iodine/potasyum iodyür çözeltisi ve % 0.1'lik brilliant green çözeltisinden 10 ml/l olacak şekilde ilave edilip karıştırıldı. Steril vidalı kapaklı cam tüplere 10'ar mililitre dağıtıldı. Katkıları ilave edilmiş besiyerleri aynı gün içerisinde *Salmonella* izolasyonu amacıyla zenginleştirme aşamasında kullanıldı.

2.3.a. İodine/potasyum iodyür çözeltisi

Potasyum iodyür (Merck, kat. no:1.05043) ve resublime iyot (Merck, kat. no: 1.04761) çözelti halinde tetrathionate broth (base) hazırlanışında kullanıldı.

Hazırlanışı: 20 ml distile su içinde 5 g potasyum iodyür ve 4 g resublime iyot eritildi. Tetrathionate broth (base) içerisinde 20ml/l olacak şekilde karıştırıldı.

2.3.b. Brilliant Green çözeltisi

Brilliant green (Merck,kat. no:1.01310) %0.01' lik brilliant green çözeltisi hazırlanışında kullanıldı.

Hazırlanışı: 100 ml distile su içinde 0.01 g brilliant green eritildi. Tetrathionate broth (base) içerisinde 10ml/l olacak şekilde karıştırıldı.

2.4. Xylose Lysin Deoxycholate Agar (XLD)

XLD Agar (MERCK, kat. no: 1.05287.0500). Salmonellaların klinik örneklerden izolasyonunda selektif katı besiyeri olarak kullanıldı.

MERCK XLD Agar

1 litre içerisindeki maddeler ve ortalama miktarları aşağıdaki gibidir.

Yeast extract	3.0 g
Sodium chloride	5.0 g
Xylose	3.75 g
Lactose	7.5 g
Sucrose	7.5 g
L(+) lysine	5.0 g
Sodium deoxycholate	1.0 g
Sodium thiosulfate	6.8 g
Ammonium iron(III) citrate	0.8 g
Phenol red	0.08 g
Agar-agar	14.5 g

Hazırlanışı: Toz XLD Agar'dan 55.0 g tartılıp 1 litre distile suyla karıştırıldı, yavaşça ısıtılarak kaynama noktasına getirildi. Hızla 50-55 0 C' ye soğutulup Steril 9 cm'lik petrilere 25'şer ml döküldükten sonra sterilite kontrolü için, 1 gece 37 °C'lik etüvde bekletildi. Kontrolden geçirilen besiyerleri +4 °C'lik buzdolabına kaldırılarak en fazla 1 hafta içinde *Salmonella* izolasyonu amacıyla kullanıldı.

2.5. Brilliant-Green Phenol-Red Lactose Sucrose Agar (BPLS)

BPLS Agar (MERCK, kat. no: 1.07237.0500). Salmonellaların klinik örneklerden izolasyonunda selektif katı besiyeri olarak kullanıldı.

BPLS Agar

1 litre içerisindeki maddeler ve ortalama miktarları aşağıdaki gibidir.

Peptone from meat	5.0 g
Peptone from casein	5.0 g
Meat extract	5.0 g
Sodium chloride	3.0 g

di-sodium hydrogen phosphate	2.0 g
Lactose	10.0 g
Sucrose	10.0 g
Phenol red	0.08 g
Brilliant green	0.0125 g
Agar-agar	12.0 g

Hazırlanışı: Toz BPLS Agar'dan 57.0 g tartılıp 1 litre distile suyla karıştırıldı, yavaşça ısıtılarak kaynama noktasına getirildi. 121 °C'de 15 dakika otoklav edildi. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra 50 °C'ye kadar soğutulup steril 9 cm'lik petrilere 25'şer ml döküldükten sonra sterilite kontrolü için, 1 gece 37 °C'lik etüvde bekletildi. Kontrolde geçirilen besiyerleri +4 °C'lik buzdolabına kaldırılarak en fazla 1 hafta içinde *Salmonella* izolasyonu amacıyla kullanıldı.

2.6. Nutrient Agar

Nutrient Agar (MERCK, kat. no: 1.05450.0500). *Salmonellaların* klinik örneklerden izolasyonunda *Salmonella* şüpheli kolonilerden saf kültür elde etmek için kullanıldı.

Nutrient Agar

1 litre içerisindeki maddeler ve ortalama miktarları aşağıdaki gibidir.

Peptone from meat	5.0 g
Meat extract	3.0 g
Agar-agar	12.0 g

Hazırlanışı: Toz Nutrient Agar'dan 20.0 g tartılıp 1 litre distile suyla karıştırıldı, yavaşça ısıtılarak kaynama noktasına getirildi. 121 °C'de 15 dakika otoklav edildi. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra 50 °C'ye kadar soğutulup steril 9 cm'lik petrilere 25'şer ml döküldükten sonra sterilite kontrolü için, 1 gece 37 °C'lik etüvde bekletildi. Kontrolde geçirilen besiyerleri +4 °C'lik buzdolabına kaldırılarak en fazla 1 hafta içinde *Salmonella* şüpheli kolonilerden saf kültür yapmak amacıyla kullanıldı.

2.7. Mueller-Hinton Agar (MH)

MH Agar (MERCK, kat. no: 1.05437.0500). Agar disk difüzyon metodu ile antibiyogram testi yapılırken kullanıldı.

MH Agar

1 litre içerisindeki maddeler ve ortalama miktarları aşağıdaki gibidir.

Meat infusion	2,0 g
Casein hydrolysate	17,5 g
Starch	1,5 g
Agar-agar	13,0 g

Hazırlanışı: Toz MH Agar'dan 34.0 g tartılıp 1 litre distile suyla karıştırıldı, yavaşça ısıtılarak kaynama noktasına getirildi. 121 °C'de 15 dakika otoklav edildi. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra 50 °C'ye kadar soğutulup steril 9 cm'lik petrilere 25'şer ml döküldükten sonra sterilite kontrolü için, 1 gece 37 °C'lik etüvde bekletildi. Kontrolde geçirilen besiyerleri +4 °C'lik buzdolabına kaldırılarak en fazla 1 hafta içinde *Salmonella* şüpheli kolonilerden agar disk difüzyon metodu ile antibiyogram yapmak amacıyla kullanıldı.

2.8. API 20E: İzolatların ileri biyokimyasal tanılamalarında, enterik Gram (-) basiller için spesifik API 20E biyokimyasal ticari test kitleri (Biomérieux, France) kullanılmıştır (bioMérieux API 20E referans kodu: 20100, France).

API 20E kit içeriği aşağıdaki gibidir.

- 25 adet API 20E test stribi
- 25 adet inkubasyon kutusu
- 25 adet sonuç formu
- 1 adet poşet kapama klipsi
- 1 adet prospektüs
- Ampul içerisinde NaCl % 0.85 süspansiyon ortamı (5 mL)
- Mineral yağ

2.8.1 Reaktifler

2.8.1.1 API NaCl, 0.85% Medium, 5ml. 1000 ml distile su içinde 8.5 g sodyum klorür. Koloni süspansiyonu hazırlamak için kullanılan sıvı ortam (BioMérieux referans kodu: 20230, France).

2.8.1.2 API 20E Reaktif kit, BioMérieux marka biyokimyasal identifikasyon test stribi ile kullanılmak üzere reaktif seti (BioMérieux, 20120, France).

API 20E Reaktif kit içeriği aşağıdaki gibidir.

- TDA (5 ml) (3.4 gr demir klorür, 100 mL distile su)
- James ayırıcı (5 ml) (0.5 gr Bileşik J2183(patentli), 100 mL HCl)
- VP1 (5ml) (0.4 gr potasyum hidroksit, 100 mL distile su)
- VP2 (5 ml) (6 gr α -naftol, 100 mL etanol)

- NIT1 (5 ml) (0.4 sülfanilik asit, 30 gr asetik asit)
- NIT2 (5 ml) (0.6 gr N,N-dimetil-1-naftilamin, 30 gr asetik asit)

2.8.1.3 Zn reaktif 10 g çinko tozu, BioMérieux marka N₂ gazını indirgeme özelliğini belirlemekte kullanılan reaktif (BioMérieux, referans kodu: 70380, France).

2.8.1.4 Oksidaz, BioMérieux marka oksidaz aktivitesini belirlemekte kullanılan reaktif (BioMérieux, referans kodu: 55635, France).

2.8.1.5 Mineral Yağ, BioMérieux marka, anaerobik ortam oluşturmak için kullanıldı (BioMérieux, referans kodu: 70100, France).

2.8.1.6 API 20 E Analitik Profil İndeksi BioMérieux marka oluşan profilin analizini sağlayan bilgisayar tanımlama programı (BioMérieux, referans kodu: 20190, France).

2.8.1.7 Pipetler veya Pastör Pipetleri kolonilerin süspansiyonunun hazırlanmasında ve API 20E test stribine aktarılmasında kullanıldı.

Tüm API içerikleri 2-8°C’de buzdolabında ışık görmeyecek biçimde muhafaza edildi.

3. BAX[®] Q7 *Salmonella* PCR kiti Dupont Qualicon marka (BAX System PCR Assay Salmonella kod: D11000133, A.B.D.).

BAX[®] Q7 *Salmonella* PCR kit içeriği aşağıdaki gibidir.

- 96 adet içinde tableti ile PCR tüpleri
- 96 adet optik kapak
- Protease (400 µl)
- Lysis buffer (2x12)

4. BAX[®] system Q7 makinesi: PCR reaksiyonları BAX[®] system Q7 makinesi ile gerçekleştirildi.

5. Bilgisayar: BAX[®] Q7 PCR uygulama programı analizin yürütülmesi ve sonuçların görüntülenmesi için kullanıldı.

6. Isıtıcı bloklar, Dupont marka (Dry Block Heater) 2 adet ısıtıcı blok DNA ekstraksiyonu sırasında, reagentlerin uygun sıcaklığa getirilmesi ve bu sıcaklıklarda gereken beklemenin yapılması amacıyla kullanıldı.

7. Soğutucu bloklar, 2 adet soğutucu blok DNA ekstraksiyonu sırasında, reagentlerin uygun sıcaklığa getirilmesi ve bu sıcaklıklarda gereken beklemenin yapılması amacıyla kullanıldı.

8. Optik kapakların açılıp kapatılmasını sağlayan aletler Cluster tüp kapağı ve PCR reaksiyon tüpünün optik kapağını açılıp kapatılırken kullanıldı.

9. Otomatik Pipetler: stepper (Thermo Finnpiquette, CJ 08700.4540, Thermo Fisher Scientific, ABD,), 5-50 µl (Thermo Finnpiquette, CJ 077885.4500, Thermo Fisher Scientific, ABD,), 5-50 µl sekiz kanallı (Thermo Finnpiquette, CJ 09617.4510, Thermo Fisher Scientific, ABD,), 20-200 µl (Thermo Finnpiquette, CJ 17642.4500, Thermo Fisher Scientific, ABD,)' lik pipetler PCR reaksiyonu sırasında ve DNA ekstraksiyonları aşamalarında kullanıldı.

10. Otomatik Pipetler için pipet uçları: 5-50 ve 20-200µl pipetler (Finntip 250 Universal steril Cat: 9400263), stepper (Finntip stepper sterile 5ml. Cat.9404203) için steril pipet uçları kullanıldı.

11. Steril Plastik Pipetler: 1 ml (LP Italiana Spa; Milano- Italy, 160110) ve 10 ml (LP Italiana Spa; Milano- Italy, 161010)'lik pipetler bakteriyolojik analizler ve besiyeri hazırlık aşamalarında kullanıldı.

12. Deiyonize Saf Su Sistemi: NUVE marka (NS 103, Ankara, Türkiye). İzolasyon sırasında kullanılacak besiyerlerinin hazırlanmasında, kullanılacak olan cam ya da plastik malzemenin temizliğinde kullanıldı.

13. Buzdolabı: Arçelik marka (model: 3061 plus, Türkiye). 2-4 °C'de saklanması gereken malzemelerin ve besiyerlerinin saklanması amacıyla kullanıldı.

14. Laminer Hava Kabini: NÜVE marka (NÜVE, model: LN120, Ankara, Türkiye). Bakteri izolasyonu ve DNA ekstraksiyonu yapılırken gereken steril ortamın sağlanması amacıyla kullanıldı.

15. İnkübatör: NÜVE marka (Model: EN 055, Ankara, Türkiye). Bakteri izolasyonu için gerekli inkubasyon ısılarının sağlanması amacıyla kullanıldı.

16. Hassas Terazî: Sartorius Marka (Model: GM 2202, Germany). *Salmonella* izolasyonunda kullanılan besiyerlerinin hazırlanmasında gerekli tartımların yapılabilmesi için kullanıldı.

17. Dupont Riboprinter® Sistem kiti: Dupont Qualicon marka (RiboPrinter® Sistem kod: D12531875, A.B.D.).

Riboprinter® kit içeriği aşağıdaki gibidir:

- 8 adet DNA prep pack
- 8 adet jel kaset
- 8 adet membran

- 8 adet Riboprinter® Sistem restriction enzim
- 8 adet prob
- 8 adet konjugat
- 8 adet substrat
- 2 adet 2 litrelik saf su

17.1. Dupont Riboprinter® Sistem Hazırlık paketi: Dupont Qualicon marka (RiboPrinter® Sistem kod: D10734042, A.B.D.).

RiboPrinter® sistem hazırlık paket içeriği aşağıdaki gibidir:

- Koloni çubukları
- Numune kuyucukları
- Tamponlanmış numune dilüsyon solüsyonu

18. Isıtıcı Blok: Kolonilerin ısı aracılığı ile inaktivasyonu ve inaktivasyonun durdurulması için soğutulması aşamalarında kullanıldı.

19. Dupont Riboprinter® Sistem karakterizasyon ünitesi: Dupont Qualicon marka RiboPrinter® Sistem kod: D10734042, A.B.D.). Elde edilen izolatin identifikasyonu için kullanıldı.

YÖNTEM

1. Kültür

1.1. Dışkı örneklerinden *Salmonella* İzolasyonu: Laboratuarda örnekler 1:9 oranında tamponlanmış peptonlu su ile homojenize edildi. 35-37 ° C' da 16-20 saat inkübasyona bırakıldı. Ön zenginleştirme ortamından 0.1 ml alınarak 10 ml'lik Rappaport Vasiliadis Soya (RVS) Broth'a inokulasyon yapıldı. RVS broth vortekste iyice karıştırıldıktan sonra 42 °C'de 24 saat inkübe edildi. Ayrıca Müller Kaufmann Tetrahionate Broth (MKTT)'a ön zenginleştirme ortamından 1 ml inokülüm yapıldı ve 24 saat 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra her zenginleştirme ortamından Xylose Lysine Desoxycholate Agar (XLD) ve Brilliant Green Phenol-Red Lactose Sucrose Agar (BPLSA)'a çizgi ekim yöntemine göre ekim yapıldı ve petriler 24 saat boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda XLD agarda siyah merkezli pembe koloniler, BPLS agarda ise pembe-kırmızı renkte ve çevrelerinde kırmızı zon oluşturan koloniler seçilerek biyokimyasal ve serolojik testlere tabi tutuldu.

1.1.a. API 20E API 20E kiti, enterik Gram (-) basillerin biyokimyasal tanılaması amacıyla kullanılmaktadır. İzolatların API 20E ile tanınması için, Nutrient Agar'a ekilerek aktifleşmeleri sağlandı. NaCl % 0.85 süspansiyon ortamı ampulleri dikkatli bir şekilde açılıp içine 1 koloni inokule edilerek homojen bakteri solüsyonu hazırlandı. API test kuyucuklarının sadece tüp kısımlarına içinde hava kabarcığı kalmayacak şekilde steril uçlu mikropipet kullanılarak inokulasyon yapıldı. |CIT|, |VP| ve |GEL| kuyucukları bakteriyel süspansiyon ile tamamen dolduruldu, fakat ADH, LDC, ODC, H2S ve URE testleri için anaerobik ortam sağlamak amacıyla kuyucukların üst kısımları konveks şeklinde mineral yağ ile örtüldü. Bir tabla ve bir kapaktan oluşan inkübasyon kutusunda nemli bir ortam sağlamak amacıyla 5 ml distile su petekli yapıdaki tablaya dağıtıldı. Mikrotüplerden oluşan stripler bu tablalara yerleştirilerek kapakları kapatıldı. İzolat numaraları inkübasyon kutularına yazılarak 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda striplere TDA testi için TDA, IND testi için JAMES, VP testi için VP1 ve VP2, NIT testi için NIT1 ve NIT2 ayraçlarından her bir izolat için birer damla damlatılarak gerekli süre beklenerek süre sonunda gelişen bütün reaksiyonlar okundu.

1.1.b. API 20 E test sribinin okuma ve değerlendirilmesi: İnkübasyon sonunda strip okuma tablosuna göre okundu. 3 ya da daha fazla test pozitif ise testler kaydedildi ve reaktiflerin eklenmesini gerektiren testler yapıldı.

- TDA testi: bir damla TDA reaktifi eklendi, kırmızı kahverengi renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.
- IND testi: bir damla JAMES reaktifi eklendi. Pembe renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.
- VP testi: VP1 ve VP2 reaktiflerinin her birinden birer damla eklendi, en az 10 dakika beklendi. Pembe veya kırmızı renk pozitif olarak değerlendirildi.

Değerlendirme sayısal profil ile elde edildi. Her test tüpünün sayısal profili sonuç formunda alt tarafta yazılı olan rakamlarla oluşturuldu. Pozitif sonuç veren tüp için sayısal değeri kaydedildi. Negatif sonuç veren test tüpleri için değer sıfır olarak alındı. Daha sonra elde edilen 7 basamaklı sayısal profil veritabanı kullanılarak identifikasyon yazılımında otomatik olarak taranarak tanımlama elde edildi.

1.2. Antibiyogram: *Salmonella* izolatlarının antibiyotik direnç profilleri agar disk difüzyon metodu ile belirlenerek Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI)'a göre değerlendirildi. Test edilen 24 antibiyotik ve konsantrasyonları 24 antibiyotik ve konsantrasyonları: Amikacin (AK, 30 µg, Oxoid CT0107B), Amoxycillin (AML, 10 µg, Oxoid CT0161B), Ampicillin (AMP, 10 µg, Oxoid CT0003B), Azithromycin (AZM, 15 µg, Oxoid CT0906B), Cefoxitin (FOX, 30 µg, Oxoid CT0119B), Ceftriaxone (CRO, 30 µg, Oxoid CT0417B), Cephazolin (KZ, 30 µg, Oxoid CT0011B), Chloramphenicol (C, 30 µg, Oxoid CT0013B), Ciprofloxacin (CIP, 5 µg, Oxoid CT0425B), Colistin (CT, 10 µg, Oxoid CT0017B), Doxycycline hydrochloride (DO, 30 µg, Oxoid CT0018B), Enrofloxacin (ENR, 5 µg, Oxoid CT0639B), Erythromycin (E, 15 µg, Oxoid CT0020B), Forfenicol (FFC, 30 µg, Oxoid CT1754B), Gentamicin (CN, 10 µg, Oxoid CT0024B), Nalidixic acid (NA, 30 µg, Oxoid CT0031B), Neomycin (N, 30 µg, Oxoid CT0033B), Ofloxacin (OFX, 5 µg, Oxoid CT0446B), Oxytetracycline (OT, 30 µg, Oxoid CT0041B), Penicillin G (P, 10 units, Oxoid CT0043B), Streptomycin (S, 10 µg, Oxoid CT0047B), Sulphamethoxazole/Trimethoprim 19:1 (SXT, 25 µg, Oxoid CT0052B), Sulphonamides Compound (S3, 300 µg, Oxoid CT0059B), Tetracycline (TE, 10 µg, Oxoid CT0053B). Kontrol amaçlı olarak CLSI'da belirtilen *E. coli* (ATCC 25922) ve *S. aureus* (ATCC 25923) standart suşları kullanıldı. İnokulum hazırlamak için 3-5 adet iyi ayırt edilebilen aynı morfolojiye sahip koloni agardan seçildi. Koloniler içinde 5 ml. Serum fizyolojik bulunan tüplere aktarıldı. Bulanıklık 0.5 Mac Farland standardına ayarlandı. İnokulum bulanıklığı ayarlandıktan sonra steril pamuklu svab tüpe daldırılarak inokulum svaba emdirildi. İnokulum emdirilmiş svab daha sonra Mueller-Hinton Agar yüzeyine sürülerek

inokule edildi. İnokulasyon 2-3 kez tekrarlanarak her bölgeye eşit inokulasyon yapılması sağlandı. Agarın yüzeyinin kuruması için oda sıcaklığında 5-10 dakika bekletildi. Kuruma işlemi bittikten sonra daha önce belirlenen antibiyotik diskleri aralarında 24 mm olacak şekilde dairesel olarak agar yüzeyine yerleştirildi. Etüvde 16-18 saat inkubasyon sonrasında pleytler değerlendirmeye alındı. İnhibisyon zon ölçüleri cetvelle siyah zemin üzerinde ölçülerek referans aralıklarına göre; ‘duyarlı’, ‘orta değerli’ ve ‘dirençli olarak değerlendirildi.

2. Bax Q7 System PCR: Tamponlanmış peptonlu su ile homojenize edilen örnekler 35-37 ° C’ da 16-20 saat inkubasyona bırakıldı. İnkuasyon sonunda BAX System Q7 makinesi çalıştırılıp, bilgisayarda operasyon dosyası açıldı. Çalışılacak numunenin template dosyası hazırlandı. 150 µl protease 12 ml lysis buffer ile karıştırılarak lysis reagent hazırlandı. Herbir cluster tüpe 200 µl lysis reagent eklendi. Cluster tüplerdeki lysis reagentlerin üzerine analizi yapılacak numunenin ön zenginleştirmesinden 5 µl eklendi. Cluster tüpler kapakları kapatılarak daha önce ısıtılmış ısıtma bloklarında 35 ° C’ da 20 dakika, 95 ° C’ da 10 dakika lysis aşamasının gerçekleşmesi için ısıtıldı. Lysis tamamlanınca cluster tüpler soğutma bloğuna alınarak 5 dakika bekletildi. PCR tüpleri soğutma bloğunda hazırlandı. 5 dakikalık süre sonunda cluster tüplerdeki lizatlardan 50 µl PCR tüplerine aktarıldı. Optik kapaklar kapatıldı. Template yerleşimine göre PCR tüpleri makineye yerleştirilir. 210 dakika sonunda bilgisayardaki programda sonuçlar gözlendi.

3. Dupont Riboprinter® Sistem : Besiyerinde üreyen kolonilerin MH agarda saf kültür olarak elde edilmesinden sonra Riboprinter® Sistem için 200 µl sample buffera 1 koloni eklenerek süspansiyon hazırlanıp 30 µl numune taşıyıcı tüpe aktarılarak ısıtma bloğuna konuldu. Bilgisayar programı üzerinde gereken bilgiler girildikten sonra ısıtma işlemi biten numune tüpü ve enzim, MP base, konjugat, prob, substrat, jel kaset, membran gibi sarf malzemeleri de makineye konarak program başlatıldı. Yaklaşık 8 saat sonunda bilgisayardaki programda sonuçlar gözlendi.

BULGULAR

Kültür Bulguları: Çalışılan 174 örneğin 11'i (% 6.3), kümes temel alınarak değerlendirildiğinde ise 58 kümeden 4'ü (% 6.9) kültür metodu ile *Salmonella* pozitif olarak bulundu.

Biyokimyasal Test Sonuçları: Toplam 174 örneğin 11' inin (%6.3) API 20E (BioMerieux, Marcy L'Etoile 20120, France) kullanılarak biyokimyasal identifikasyonu yapıldı ve *Salmonella* yönünden pozitif bulundu.

BAX Q7 rPCR Bulguları: Çalışılan numunelerde *Salmonella* DNA'sı varlığı yönünden 174 örneğin 11'i (% 6.3), kümes temel alınarak değerlendirildiğinde ise 58 kümeden 4'ü (% 6.9) BAX Q7 PCR ile *Salmonella* pozitif olarak bulundu(Tablo 1).

Ribotiplendirme Bulguları: Kültür sonucu elde edilen 11 adet *Salmonella* izolatu, Riboprinter® sisteminde (Dupont Qualicon, Wilmington, DE, USA) ribotiplendirildi. Sonuçlar 11' inin de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* olup 4 adedinin serovar Enteritidis (%36.4), 5 adedinin serovar Infantis (%45.5), 1 adedinin serovar Colombo (%9.1), 1 adedinin serovar Spartel (9.1), olarak 4 farklı serovarı olduğu belirlendi.

Antibiyoqram Bulguları: İzolatların tümü (%100) iki yada daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli bulundu (Tablo-2). İzolatların tümü (%100) penisillin, ampicillin, neomisin ve eritromisin' e karşı dirençli bulundu (Tablo 2).

Tablo 1- Örnek ve kümes bazında kültür ve rPCR sonuçları

Pozitif örnek/ toplam kümes sayısı (%)	Pozitif örnek/toplam örnek (%)	
	Kültür	BAX rPCR
11/58 (19)	11/174 (6.3)	11/174 (6.3)

Tablo: 2- Firma koduna göre izole edilen *Salmonella* serotiplerinin dirençli oldukları antibiyotikler

Firma	Serotip	Dirençli olduğu antibiyotikler
3	<i>Salmonella</i> Enteritidis izolat 1	P/AMP/N/GEN/OT/E/SXT/FFC
6	<i>Salmonella</i> Enteritidis izolat 2	P/AMP/KZ/N/GEN/CP/NA/E/CRO
26	<i>Salmonella</i> Enteritidis izolat 3	P/AMP/AML/N/GEN/STR/E
26	<i>Salmonella</i> Enteritidis izolat 4	P/AMP/AML/N/GEN/TE/DO/OT/NA/E
8	<i>Salmonella</i> Infantis izolat 1	P/AMP/AML/N/TE/DO/OT/OFX/NA/E/S3/FOX/C/SXT
33	<i>Salmonella</i> Infantis izolat 2	P/AMP/AML/N/GEN/STR/TE/DO/OT/ENR/CP/NA/E/AZM/S3/FOX/C/FC
35	<i>Salmonella</i> Infantis izolat 3	P/AMP/AML/N/GEN/STR/TE/DO/OT/ENR/NA/E/AZM/S3/C/SXT/FFC
35	<i>Salmonella</i> Infantis izolat 4	P/AMP/N/STR/TE/O/OT/NA/E/AZM/S3/FOX/CRO/C/SXT
46	<i>Salmonella</i> Infantis izolat 5	P/AMP/KZ/N/STR/TE/DO/OT/ENR/OFX/NA/E/AZM/S3/FOX/C/
2	<i>Salmonella</i> Spatel	P/AMP/AML/N/GEN/OT/NA/E/S3/CT/FFC
32	<i>Salmonella</i> Colombo	P/AMP/AML/KZ/N/GEN/TE/DO/OT/EF/E/AZM/S3/FOX/FFC

AK, Amikacin; AML, Amoxicillin; AMP, Ampicillin; AZM, Azithromycin; FOX, Cefoxitin; CRO, Ceftriaxone; KZ, Cephazolin; C, Chloramphenicol; CIP, Ciprofloxacin; CT, Colistin; DO, Doxycycline hydrochloride; ENR, Enrofloxacin; E, Erythromycin; FFC, Forfenicol; CN, Gentamicin; NA, Nalidixic acid; N, Neomycin; OFX, Ofloxacin; OT, Oxytetracycline; P, Penicillin G; S, Streptomycin; SXT, Sulphamethoxazole/Trimethoprim 19:1; S3, Sulphonamides Compound; TE, Tetracycline

Tablo: 3- Firma koduna göre izole edilen *Salmonella* serotiplerinin duyarlı oldukları antibiyotikler

Firma	Serotip	Duyarlı olduğu antibiyotikler
3	<i>Salmonella</i> Enteritidis izolat 1	AK/AML/AZM/FOX/CRO/KZ/C/CIP/CT/DO/ENR/NA/OFX/S/S3/TE
6	<i>Salmonella</i> Enteritidis izolat 2	AK/AML/AZM/FOX/C/CT/ENR/FFC/OFX/OT/SXT/S/S3/TE
26	<i>Salmonella</i> Enteritidis izolat 3	AK/AML/AZM/FOX/CRO/KZ/C/CIP/CT/DO/ENR/FFC/NA/OFX/OT/SX T/S3
26	<i>Salmonella</i> Enteritidis izolat 4	AK/AML/AZM/FOX/CRO/KZ/C/CIP/CT/ENR/FFC/OFX/SXT/S/S3
8	<i>Salmonella</i> Infantis izolat 1	AK/FOX/CRO/KZ/C/CIP/CT/OFX/S3
33	<i>Salmonella</i> Infantis izolat 2	AK/AML/CRO/KZ/C/CT/OFX/SXT/S3
35	<i>Salmonella</i> Infantis izolat 3	AK/AZM/CRO/KZ/CIP/CT/FFC/CN/ENR/S
35	<i>Salmonella</i> Infantis izolat 4	AK/AML/CRO/KZ/CIP/CT/FFC/ENR/CN/OFX
46	<i>Salmonella</i> Infantis izolat 5	AK/AML/CRO/CIP/CT/FFC/CN/SXT
2	<i>Salmonella</i> Sparte	AK/ENR/SXT
32	<i>Salmonella</i> Colombo	AK/CT/DO

AK, Amikacin; AML, Amoxicillin; AMP, Ampicillin; AZM, Azithromycin; FOX, Cefoxitin; CRO, Ceftriaxone; KZ, Cephazolin; C, Chloramphenicol; CIP, Ciprofloxacin; CT, Colistin; DO, Doxycycline hydrochloride; ENR, Enrofloxacin; E, Erythromycin; FFC, Forfenicol; CN, Gentamicin; NA, Nalidixic acid; N, Neomycin; OFX, Ofloxacin; OT, Oxytetracycline; P, Penicillin G; S, Streptomycin; SXT, Sulphamethoxazole/Trimethoprim 19:1; S3, Sulphonamides Compound; TE, Tetracycline

Tablo: 4- *Salmonella* serotiplerinin duyarlı (S) ve dirençli (R) oldukları antibiyotikler

Etken madde	4	22	100	99	105	127	98	104	128	136	158
Serovar	Enteritidis Izolat 1	Enteritidis Izolat 2	Infantis Izolat 1	Infantis Izolat 2	Enteritidis Izolat 3	Enteritidis Izolat 4	Infantis Izolat 3	Infantis Izolat 4	Infantis Izolat 5	Spartel	Colombo
Amikacin (AK)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Amoxicillin (AML)	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
Ampicillin(AMP)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Azithromycin (AZM)	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R
Cefoxitin (FOX)	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R
Ceftriaxone (CRO)	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R
Cephazolin (KZ)	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R
Chloramphenicol (C)	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R
Ciprofloxacin (CIP)	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R
Colistin(CT)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Doxycycline(DO)	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
Enrofloxacin(ENR)	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R
Erythromycin(E)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Florfenicol (FFC)	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R
Gentamicin (CN)	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R
Nalidixic acid (NA)	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
Neomycin (N)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ofloxacin (OFX)	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R
Oxytetracycline (OT)	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R
Penicillin G (P)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Streptomycin (S)	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R
Sulphamethoxazole /Trimethoprim 19:1 (SXT)	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R
Sulphonamides Compound (S3)	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R
Tetracycline (TE)	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R

TARTIŞMA ve SONUÇ

Salmonellozis insanlarda ve hayvanlarda enterik hastalığa sebep olan önemli bir bakteriyel enfeksiyondur (14). Kanatlılarda çok bulaşıcı ve öldürücü olan salmonellozis hayvan sağlığını olumsuz etkilemekte, yumurta veriminde azalma ve ölümlere sebebiyet vermekte, kanatlı eti ve ürünleri ile de halk sağlığını tehdit etmektedir. Ülkemizde ve diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda insanlarda, kanatlılarda ve kanatlı hayvan ürünlerinde *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Infantis* ve *S. Newport*, sadece kanatlılarda ise *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum* enfeksiyonlarının değişik oranlarda olduğu bildirilmektedir (83, 135, 191).

Kanatlı hayvanların ve insanların zaman zaman sağlığını tehdit eden salmonellaların kültür metodu ile tanı süreleri oldukça uzun sürmektedir. Bu nedenle de Amerika Birleşik Devletleri ve bazı Avrupa ülkelerinde optimize edilmiş, kültür yöntemi kadar güvenilir, fakat daha kısa sürede sonuç alınan yöntemler geliştirilmeye ve kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemlerden biri PCR–tabanlı testlerdir. Bu testlerde temel olarak salmonellaların spesifik DNA segmenti aranmaktadır (135, 192-196).

Yapılan bu çalışmada, *Salmonella* etkenlerinin dışkı örneklerinden cins düzeyinde izolasyonu ve identifikasyonu ve ayrıca PCR testiyle hızlı tanısının yapılması, ve ribotiplendirilmesi amaçlandı. Klasik kültür metoduyla hedeflenen izolasyon ve identifikasyon dışkı örneklerinden başarıyla yapıldı ve aynı örneklerden PCR testi ile pozitif sonuç alındı. Bu iki yöntemle elde edilen bulgular uyumlu bulundu.

Burkhalter ve ark. (28), yumurta örnekleri üzerine yaptıkları çalışmada, teşhis açısından PCR testi ile klasik kültür metodunu karşılaştırmış PCR'ın daha güvenilir bir şekilde *Salmonella* teşhisini gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir. Ancak çalışmamızda dışkı örneklerinden klasik kültür metodu ile *Salmonella* pozitif bulunan örnekler PCR ile de pozitif bulunmuştur. Bu bulgular *Salmonella* saptanmasında, bu yöntemler arasında farklılığın olmadığını göstermektedir.

Salmonella aranmasında PCR'unun kültür yöntemine göre etkin olduğunu saptayan araştırmalara örnek olarak Fratamico (197)'nin çalışmasını verebiliriz. Bu çalışmalarında hindi etlerinde kültür ile % 16.8 oranında *Salmonella* saptarken, PCR ile % 24 oranında pozitiflik saptamışlardır. Aynı araştırmacılar kültür ve PCR ile tavuk etlerinde % 18 ve % 28.5 oranlarında pozitiflik belirlemişlerdir. Yine başka bir araştırmada 103

değişik kanatlı örneği tümüyle değerlendirildiğinde *Salmonella* varlığı PCR ile 41 adet örnekte, kültür yöntemi ile 18 adet örnekte saptanmıştır (135).

PCR'nun kültür metoduna göre benzer sonuçları farklı klinik ve doğal örnekler içeren başka araştırmaları da literatürde görmek olanaklıdır (198-200). Genel olarak PCR'ın *Salmonella* bakteriyolojisine göre etkinliğinin nedeni olan faktörler şu şekilde sıralanmaktadır: Doğal kontamine örneklerdeki salmonellalar atipik biyokimyasal karakter gösterebilirler ve *Salmonella* hücreleri canlı fakat kültürleri yapılabilir statülerde olmayabilirler (40, 97). *Salmonella* aranmasında PCR'ın kültür yöntemine göre daha etkin olduğunu rapor eden çalışmaların tersine, kültür yönteminin daha duyarlı olduğunu saptayan araştırmalar da bulunmaktadır (130, 193). Örneğin Soumet ve arkadaşları (130), 207 tavuk eti örneğini analiz etmişler ve bu örneklerin kültür ile 7 adedinde daha fazla *Salmonella* izole etmişlerdir. Çarlı ve arkadaşları (193), 50 ileosekal örneğin 35'ini PCR ile pozitif bulurken, kültür yöntemi ile 42 pozitiflik saptamışlardır. Bu çalışmalarda araştırmacılar, kültür yönteminin PCR üstünlüğünün nedenlerini gıda ve barsak örneklerinde PCR'ı inhibe edici maddelerin, tüm purifikasyon işlemlerinden sonra bile kalıcı olması ve örnekler içinde PCR deteksiyon limiti altında *Salmonella* DNA'sının PCR reaksiyonuna girmesi şeklinde vermişlerdir. PCR ve kültür yönteminin birbirine üstünlüklerinin yanı sıra, sonuçlarının aynı şekilde rapor edildiği çalışmalar da bulunmaktadır (201, 202). Bu çalışmaların içinde de birincil zenginleştirme basamağından PCR templeyt örnekleri alındığı için, eğer örnek içinde yeterli sayıda *Salmonella* bulunuyor ise, PCR ve kültür metodunda hata yapılmadığı da var sayıldığında, bu tip bir sonucun normal olacağı da bildirilmektedir.

Çalışmamızda elde edilen izolatlar 4 adet *S. Enteritidis* (%36.4), 5 adet *S. Infantis* (%45.5), 1 adet *S. Colombo* (%9.1), 1 adet *S. Spartel* (9.1), olarak 4 farklı serotip grubunda serotiplendirildi. İzole edilen *Salmonella* serovarlarının birden fazla antibiyotiğe direnç gösterdiği belirlendi. İzole edilen suşların hepsi (%100) iki yada daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli bulundu. İzolatların tümünün (%100) penisillin, ampicillin, neomisin ve eritromisin' e karşı dirençli oldukları gözlemlendi. Bu durum halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Olası gıda zehirlenmelerinde antibiyotik direnci nedeniyle tedavi süresinin uzaması, hastalığın ağır seyri ve ölümlerle sonuçlanabilecek vakalarda artış görülebilecektir. Bu durumun önüne geçebilmek için kanatlılarda hastalıkların sağaltımı amacıyla duyarlı antibiyotikler tercih edilmeli, direnç gözlenen grupta bulunan antibiyotiklerin kullanımından kaçınılmalıdır.

Hem yurt dışında hem de yurdumuzda izole edilen salmonellaların antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik profillerinin belirlendiği çalışmalar bulunmaktadır. Yurt dışında yapılan çalışmalarda; Sojka ve ark. (203), İngiltere ve Galler’de kanatlılardan izole ettikleri tüm *Salmonella* suşlarını ampisiline % 10 ve gentamisine % 0.2 oranında dirençli, *S. Typhimurium* izolatlarını ise ampisilin ve trimetoprim + sulfametoksazole duyarlı bulduklarını bildirmişlerdir. Rampling ve ark. (204), tavuklardan izole ettikleri 38 *S. Enteritidis*’lerin tümünün ampisilin, gentamisin, tetrasiklin ve trimetoprim + sulfametoksazole duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Singer ve ark. (206), yaptıkları bir çalışmada; tavuklardan izole ettikleri tüm *S. Enteritidis*’lerin ampisilin, gentamisin, enrofloksasin ve trimetoprim + sulfametoksazole duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir. Hernandez ve ark. (206), İspanya’da yaptıkları bir çalışmada, 112 *Salmonella* serovarının % 34.8’ini ampisiline ve % 33.9’unu tetrasikline dirençli bulmuşlardır. Yurdumuzda yapılan çalışmalarda; Boynukara ve Aydın (207), izole ettikleri 33 *Salmonella*’nın trimetoprim-sulfametoksazole % 61.7, gentamisine % 21.2, enrofloksasine % 2.1 dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Özdemir (208), kanatlı hayvanlara ait *S. Enteritidis* izolatlarının gentamisin ve ampisiline % 22.2 duyarlı olduğunu; *S. Typhimurium* izolatlarının ise gentamisine % 50 duyarlı olduğunu tespit etmiştir. Kalender ve Muz (209), tavuk kökenli *S. Enteritidis* izolatlarının; enrofloksasine % 100, gentamisine % 74.36, trimetoprim-sulfametoksazole % 53.85, tetrasikline % 12.82, ampisiline % 2.57 oranında duyarlı olduklarını; *S. Typhimurium* izolatlarının ise enrofloksasine % 100, gentamisine % 75, trimetoprim-sulfametoksazole % 50, tetrasikline % 25, ampisiline % 50 duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Türkiye’de ve diğer ülkelerde yapılan araştırmalarda insanlardan, kanatlı hayvanlardan ve kanatlı ürünlerinden izole edilen salmonellaların antibiyotik dirençliliklerinin ülkelere ve hatta coğrafi bölgelere göre farklı dağılım göstermektedir. Ülkelerde ve coğrafi bölgelerde görülen bu farklılık farklı bölge ve ülkelerde uygulanan antibiyotik çeşitliliği ve kullanım sıklığı ile ilişkilendirilebilir. İnsanlarda görülen antibiyotiklere dirençli salmonellaların birçoğunun kaynağı hayvansal orijinli gıdalardır. Bundan dolayı çiftlik hayvanlarında mümkün olduğunca ve zorunlu kalmadıkça antibiyotik kullanılmamalıdır. Çiftliklerde hijyen ve sanitasyon koşullarının oluşturulması ve artırılması ile antibiyotik dirençli patojenlerin oluşumu ve yayılması büyük oranda azaltılabilir (210).

Bu çalışmada izole ettiğimiz *Salmonella* spp. olarak doğrulanan 11 izolat RiboPrinter® ile serotiplendirildi. 16S rRNA ile yapılan sekanslama sonucunda 4 adet *S.*

Enteritidis (%36.4), 5 adet *S. Infantis* (%45.5), 1 adet *S. Colombo* (%9.1), 1 adet *S. Spartel* (9.1) olarak 4 farklı serotip grubunda ribotiplendirildi.

Sonuç olarak bu çalışmada, kümes bazında 58 kümesin 4'ünde (%6.9), örnek bazında da 174 örneğin 11'inden (%6.3) selektif zenginleştirmeden sonra yapılan PCR ve kültür metodu ile *Salmonella*'nın cins düzeyinde varlığı tespit edildi. Tavuk dışkılarından *Salmonella* etkenlerinin PCR yöntemi ile tanısının yapılabileceği ortaya konulmuş olup, rutin teşhis amacıyla uygulanabilirliği belirlenmiştir. Bu nedenle *Salmonella* varlığını ortaya koymak için daha hızlı bir yöntem olan PCR metodunun kullanımı önerilmektedir. Pozitif olan PCR bulguları altın standart olan klasik *Salmonella* zenginleştirme metoduyla doğrulanmalıdır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda kanatlı hayvanların aşılmasının yanı sıra mutlaka hijyen ve biyogüvenlik önlemleri alınmalıdır. İşletmelerdeki *Salmonella* kontaminasyonu gözle görülür bir olgu olmadığı için, işletmede yapılan biyogüvenlik işlemlerinin kalitesini ölçmek ve tamamlamak amacıyla, bu konuda çalışan iyi bir laboratuvar tarafından uygulanan örnekleme metodu ve örnekleme sıklığı iyi düzenlenmiş bir bakteriyolojik izlemeye ihtiyaç vardır. Yapılan bakteriyolojik gözlem sayesinde işletmede *Salmonella* tespit edildiğinde hemen olası kontaminasyon yok edilmeye çalışılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. BYRD JA, DELOACH JR, CORRIER DE, NISBET DJ, STANKER LH. Evaluation of Salmonella serotype distribution from commercial broiler hatcheries and grower houses. *Avian Diseases*, 43: 39-47, 1999.
2. BARNHART HM, DREESEN DW, BASTIEN R, PANCORBO OC. Prevalence of Salmonella enteritidis and other serovars in ovaries of layer hens at time of slaughter. *Journal of Food Protection*, 54: 488-491, 1991.
3. GIESSEN AW, PETERS R, BERKERS PA, JANSEN WH, NOTERMANS SH. Salmonella contamination of poultry flocks in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*, 13: 41-46, 1991.
4. LIMAWONGPRANEE S, HAYASHIDANI H, OKATANI AT, ONO K, HIROTA C, KANEKO K, OGAWA M. Prevalence and persistence of Salmonella in broiler chicken flocks. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 61: 255-259, 1999.
5. ÇARLI KT. Bursa bölgesinde yumurta ve broiler tipi tavuklardan izole edilen Salmonella türleri üzerinde bakteriyolojik ve serolojik çalışmalar. *Doga Türk Veteriner Hayvancılık Dergisi*, 14: 428-438, 1990.
6. ÖZDEMİR Ü. Kanatlılardan izole edilen Salmonella suslarının identifikasyonunda kullanılan metotlar üzerinde araştırmalar. *Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Doktora Tezi*, Bursa, 1995.
7. GONCAGÜL G, ÇARLI KT. Tavuklardan Salmonella izolasyonunda kloakal svab ve drag svab metotlarının karşılaştırılması. *Veterinarium*, 10: 31-33, 1999.
8. ÇARLI KT, KAHRAMAN MM, SEN A, SÖNMEZ G. Septicemia and blindness by Salmonella typhimurium, Salmonella enteritidis and Salmonella enterica in adult chicken. III. International Poultry and Poultry Diseases Symposium, Manisa, page 56-57, 1996.
9. BETANCOR L, SCHELOTTO F, MARTINEZ A, PEREIRA M, ALGORTA G, RODRIQUEZ MA, VIGNOLI R, CHABALGOITY JA. Random amplified polymorphic DNA and phenotyping analysis of Salmonella enterica Serovar Enteritidis isolates collected from humans and poultry in Uruguay from 1995 to 2002. *Journal of Clinical Microbiology*, 42: 1155-1162, 2004.
10. ZHAO S, OAIYUMI S, FRIEDMAN S, SINGH R, FOLEY SL, WHITE DG, McDERMOTT PF, DONKAR T, BOLIN C, MUNRO S, BARON EJ, WALKER RD. Characterization of Salmonella enterica Serotype Newport isolated from humans and food animals. *Journal of Clinical Microbiology*, 41: 5366-5371, 2003.
11. TANSEL Ö, EKUKLU G, OTKUN M, TATMAN-OTKUN M, AKATA F, TUGRUL M. A food-borne outbreak caused by Salmonella Enteritidis. *Yonsei Medical Journal*, 44: 198-202, 2003.
12. ANĞ-KÜÇÜKER M, TOLUN V, HELMUTH R, RABSCH W, BÜYÜKBABA BORAL Ö, TÖRÜMKÜNEYAKBULUT D, SUSEVER S, ANĞ Ö. Phage types, antibiotic susceptibilities and plasmid profiles of Salmonella typhimurium and Salmonella enteritidis strains isolated in İstanbul, Turkey. *Clinical Microbiology and Infection*, 6: 593-599, 2000.
13. ÇİFTÇİ E, GÜRİZ H, AYSEV AD, İNCE E, ERDEM B, DOGRU Ü. Salmonella bacteraemia in Turkish children: 37 cases seen in a university hospital between 1993 and 2002. *Annals of Tropical Pediatrics*, 24: 75-80, 2004.
14. KONEMAN, EW, ALLEN, SD, JANDA, WM, SCHRECKENBERGER, PC, WINN, WC. *Diagnostic Microbiology Fourth Edition*. J.B. Lippincott Company. Philadelphia, page: 105-184, 1992.

15. QUINN PJ, CARTER ME, MARKEY BK, CARTER GR. Clinical Veterinary Microbiology. Mosby-Year Book Europe Limited, Lynton House, London WC1H9LB, England, page: 226-234, 1994.
16. WEGENER HC, HALD T, WONG DLF, MADSEN M, KORSGAARD H, BAGER F, GERNER-SMIDT P, MOLBAK K. Salmonella Control Programs in Denmark. Emerging Infectious Diseases, 9: 774-780, 2003.
17. SHIVAPRASAD HL. Pullorum disease and fowl typhoid, In "Diseases of Poultry", 10th, Iowa State University Press, Iowa, USA, page 82-96, 1997.
18. EDEL W. Salmonella enteritidis eradication programme in poultry breeder flocks in The Netherlands. International Journal of Food Microbiology, 21: 171-178, 1994.
19. MCLLROY SG, MCCRACKEN RM, NEILL SD, O'BRIEN JJ. Control, prevention and eradication of Salmonella enteritidis infection in broiler and broiler breeder flocks. Veterinary Record, 125: 545-548, 1989.
20. GAST RK. Paratyphoid infections, In "Diseases of Poultry", 11th, Iowa State University Press, Iowa, USA, page 583-613, 2004.
21. HUMBERT F, CARRAMINANA JJ, LALANDE F, SALVAT G. Bacteriological monitoring of Salmonella enteritidis carrier birds after decontamination using enrofloxacin, competitive exclusion and movement of birds. Veterinary Record, 141: 297-299, 1997.
22. NOTERMANS S, VAN DE GIESSENA, HENKEN AM. Future requirement for diagnosis and monitoring of pathogenic microorganisms in poultry and eggs, p. 9-14. In C. J. Thorns and p. Jones (ed.), COST Action 97 pathogenic microorganisms in poultry and eggs. Monitoring procedures, rapid detection methods and techniques. Office for Official Publications of the European Communities, Luxemburg, Belgium. Office for Official Publications of the European Communities, page: 9-14, 1997.
23. United States Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection Service. The National Poultry Improvement Plan. Subpart B. Bacteriological examination procedure. 147-11. Laboratory procedure recommended for the bacteriological examination of Salmonella, United States Department of Agriculture, Washington DC, page:14-19, 1996.
24. EROL, İ. *Salmonella* : Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti., sayfa: 60-70, 2007.
25. STONE GG, OBERST RD, HAYS MP, MCVEY S, CHENGAPPA MM. Detection of Salmonella serovars from clinical samples by enrichment broth cultivation-PCR procedure. Journal of Clinical Microbiology, 32:1742-1749, 1994.
26. GAST RK. Salmonella Infections. In: Diseases of poultry 11. Ed. Ed: SAIF, YM Iowa State Press, page: 567-613, 2003.
27. OLIVEIRA SD, SANTOSA LR, SCHUCHA DMT, B SILVAA AB, SALLEA CTP, CANALA CW. Detection and identification of salmonellas from poultry-related samples by PCR. Veterinary Microbiology, 87: 25-35, 2002.
28. BURKHALTER PW, MÜLLER C, LÜTY J, CANDIRAN U. Detection of *Salmonella* spp. in eggs: DNA Analyses, Culture, Techniques ve Serology. Journal of AOAC International, 78: 1531-1537, 1995.
29. SHIVAPRASAD HL. Salmonella Infections. In: Diseases of poultry 11. Ed. Ed: SAIF, Y.M. Iowa State Press, page: 568-582, 2003.
30. RODRIGUE DC, TAUXE RV, ROWE B. International increase in Salmonella enteritidis: a new pandemic? Epidemiology and Infection. 105: 21-27, 1990.
31. RABSCH W, TSCHAPE H ve BAUMLER A J. Non-typhoidal salmonellosis: emerging problems. Microbes and Infection, 3: 237-247, 2001.
32. MEDICI DD, LUCIANA C, DELIBATO E, PASQUALE SD, FILETICI E, TOTI L. Evaluation of DNA Extraction Methods for Use in Combination with SYBR Green I Real-

- Time PCR To Detect *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis in Poultry. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(6): 3456-3461, 2003.
33. HARGIS BM, CALDWELL DJ, BREWER RL, CORRIER DE, DELOACH JR. Evaluation of the chicken crop as a source of *Salmonella* contamination for broiler carcasses. *Poultry Science*. 74: 1548–1552, 1995.
34. SUZUKY S. Pathogenicity of *Salmonella enteritidis* in poultry. *Journal of Food Microbiology*. 21: 89–105, 1994.
35. HOOP RK, POSPISCHIL. Bacteriological, serological, histological and immunohistochemical findings in laying hens with naturally acquired *Salmonella enteritidis* phage type 4 infection. *Veterinary Record*, 133: 391-393, 1997.
36. NICHOLAS RAJ. Serological response of chickens naturally infected with *Salmonella typhimurium* detected by ELISA. *British Veterinary Journal*, 148: 241-248, 1992.
37. MEER RR, PARK DL. Immunochemical detection methods for *Salmonella* spp. *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* in foods. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 142: 1–12, 1995.
38. WAWERLA M, STOLLE A, SCHALCH B, EISGRUBER H. Impedance microbiology: applications in food hygiene. *Journal of Food Protection*. 62: 1488–1496, 1999.
39. TUCHILI LM, KODAMA H, IZUMOTO Y, MUKAMOTO M, FUKATA T, BABA T. Detection of *Salmonella gallinarum* and *S. typhimurium* DNA in experimentally infected chicks by polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Medical Science*. 57: 59–63, 1995.
40. HOORFAR J, BAGGESEN DL, PORTING PH. A PCR-based strategy for simple and rapid identification of rough presumptive *Salmonella* isolates. *Journal of Microbiological Methods*. 35: 7–84, 1999.
41. İZGÜR M. Kanatlı *Salmonella* Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Science*; 1(2): 61-8, 2010.
42. Su LH, Chiu CH. *Salmonella*: Clinical importance and evolution of nomenclature. *Chang Gung Medical Journal*, 30(3): 210-219, 2007.
43. BRENNER FW, VILLAR RG, ANGULO FJ, TAUXE R and SWAMINATHAN B. *Salmonella* nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology*, 38: 2465-2467, 2000.
44. ÇARLI KT. Kanatlı Hayvanların İnfeksiyöz Hastalıkları. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, yayın no: 2003-1, Bursa, sayfa 14-33, 2003.
45. İZGÜR M. *Salmonella* enfeksiyonları. Editörler: İZGÜR M, AKAN M. Kanatlı Hayvan Hastalıkları, 1. baskı, Medisan yayın serisi, Ankara, sayfa 41-55, 2002.
46. DAUM L, BARNES WJ, McAVIN JC, NEIDERT MS, COOPER LA, HUFF WB, GAUL L, RIGGINS WS, MORRIS S, SALMEN A, LOHMAN KL. Real-time PCR detection in suspect foods from a gastroenteritis outbreak in Kerry County, Texas. *Journal of Clinical Microbiology*, 40: 3050-3052, 2002.
47. MOORE JE, MURRAY L, FANNING S, CORMICAN M, DALY M, DELAPPE N, MORGAN B, MURPHY PG. Comparison of phenotypic characteristics of *Salmonella* Breedeney associated with a poultry-related outbreak of gastroenteritis in Northern Ireland. *Journal of Infection*, 47: 33-39, 2003.
48. TAUXE RV. Emerging foodborne diseases: an evolving public health challenge. *Emerging Infectious Diseases*, 3: 425-427, 1997.
49. ALTEKRUSE SF, COHEN ML, SWERDLOW DL. Emerging Foodborne Diseases. *Emerging Infectious Diseases*, 3: 285-293, 1997.
50. GAST RK. Paratyphoid Infections, In 'Diseases of Poultry', 10th, Iowa State University Press, Iowa, USA, page 97-121, 1997.

51. CARRIQUE-MASS JJ, DAVIES RH. Sampling and bacteriological detection of salmonella in poultry and poultry premises:a review. *Revue Scientifique et Technique et Technique de L'Office International des Epizooties*. 7(3):665-77, 2008.
52. AYSEV AD, GÜRİZ H, ERDEM B. Drug Resistance Of Salmonella Strains From Community Infections In Ankara, Turkey. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 33: 420-2, 1999.
53. TAUXE RV. Emerging foodborne diseases: an evolving public health challenge. *Emerging Infectious Diseases*, 3: 425-427, 1997.
54. ALTEKRUSE SF, COHEN ML, SWERDLOW DL. Emerging Foodborne Diseases. *Emerging Infectious Diseases*, 3: 285-293, 1997.
55. BERCHIERI A, WIGLEY P, PAGE K, MURPHY CK, BARROW PA. Further studies on vertical transmission of Salmonella enterica serovar Enteritidis phage type 4 in chickens. *Avian Pathology*, 30: 297-310, 2001.
56. COX NA, BAILEY JS, MAULDIN JM, BLANKENSHIP LC. Presence and impact of salmonellae contamination in the commercial integrated broiler hatchery. *Poultry Science*, 69: 1606-1609, 1990.
57. JONES FT, AXTELL RC, RIVES DV, SCHEIDELER SE, TARVER FR, WALKER RL, WINELAND MJ. A survey of Salmonella contamination in modern broiler production. *Journal of Food Protection*, 54: 502-507, 1991.
58. ROSE N, BEAUDEAU F, DROUIN P, TOUX JY, ROSE V, COLIN P. Risk factors for Salmonella enterica subsp. enterica contamination in French broilerchicken flocks at the end of the rearing period. *Preventive Veterinary Medicine*, 39; 265-277, 1999.
59. SNOEYENBOS GH and WILLIAMS JE. Salmonellosis. Editörler: CALNEK BW, BARNES HJ, BEARD CW, REID WM, Jr. YODER HW. *Diseases of poultry*, Iowa State University Pres, 9. edition, page 72-138, 1995.
60. YARDIMCI, H. Kanatlı Salmonellalarının Zoonotik Önemi. *İnfeksiyon Dergisi*. 14(3):455-457, 2000.
61. DOMINGUEZ A, SALA R, MALINGEZ A, BENEL J. Trends In Salmonellosis and other Infections and Intoxications In Catalonia. In: *Proceedings of 3rd World Congress of Foodborne Infections and Intoxications*, Berlin. 106-109, 1999.
62. HUMPREY TJ, MEAD GC, ROWE B. Poultry Meat As A Source Of Human Salmonellosis In England and Wales. *Epidem Inf*. 100,175-184, 1988.
63. European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009; *EFSA Journal*. 9(3):2090, 2011
64. ANONİM. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü. *İhbarı Mecburi Hayvan Hastalıkları ve Bildirimine ilişkin Yönetmelik*, Ankara, 2011.
65. ANONİM. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü. *Kuluçkahane ve Damızlık Kanatlı İşletmeleri Yönetmeliği*, Ankara, 2007.
66. ANONİM. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü. *Broiler kümeslerinde salmonella kontrol programı uygulama talimatı*, Ankara, 2010.
67. ANONİM. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü. *Ticari yumurtacı kümeslerde salmonella kontrol programı uygulama talimatı*, Ankara, 2010.
68. *Türkiye'de ve Avrupa Birliğinde Kanatlılarda Salmonella İnfeksiyonları ve Kontrol Programları*, Ankara, 21 Mayıs 2008.
69. KENNEDY M, VILLAR R, VUGIA DJ, RABATSKY-EHR T, FARLEY MM, PASS M, et al. Hospitalizations and deaths due to salmonella infections, FoodNet, 1996-1999. *CID*; 38(Suppl 3):142-8, 2004.

70. EFSA. Report of the task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in broiler flocks of Gallus gallus, in the EU, 2005–2006. Part A: Salmonella prevalence estimates. The EFSA Journal, 1-85, 2007.
71. ANONİM. Trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. The community summary report. EFSA J, 223:1-312, 2009.
72. KONG H and YEUNG S. An overview of notifiable infectious diseases in the Hong Kong Special Administrative Region in 1998, Public Health and Epidemiology Bulletin 8, 11-15, 1999.
73. ALLOS BM, MOORE M, GRIFFIN PM AND TAUXE RV. Surveillance for sporadic foodborne disease in the 21st Century:the FoodNet perspective, Clinical Infectious Diseases 38(Suppl. 3):S115-S120, 2004.
74. MEAD PS, SKUTSKER L, DIETZ V, McCAIG LF, BRESEE JS, SHAPIRO C, GRIFFIN PM and TAUXE RV. Food related illness and death in the USA, Emerging Infectious Diseases 5, 607-625, 1999.
75. BAUMLER AJ, HARGIS BM and TSOLIS RM. Tracing the origins of Salmonella outbreaks, Science 287, 50-52, 2000.
76. EFSA. The Community Summary Report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006. EFSA Journal 130, 2007.
77. ANONİM. CDC, Morbidity and mortality weekly report 49, 48, 2000.
78. ANONİM. CDC, Morbidity and mortality weekly report 50, 241-246, 2001.
79. ANONİM. CDC, Salmonella surveillance summary, 2002.
80. LAM T. Salmonellosis:changing patterns and trends. Communicable Diseases Watch 2, 45-47, Hong Kong:Department of Health, 2005.
81. ANONİM. CDC, Salmonella, general, 2012.
82. CARRIQUE-MAS JJ, BRESLIN M, SNOW L, Mc LAREN I, SAYERS AR and DAVIES RH. Persistence and clearance of different Salmonella serovars in buildings housing laying hens. Epidemiology and Infection, 837-846, 137, 2009.
83. KALENDER H, MUZ A. Elazığ Bölgesindeki Tavuklardan İzole Edilen Salmonella Türlerinin Tiplendirilmesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23, ek sayı 2, 297-303, 1999.
84. EYİĞOR A, GONCAGUL G, GUNAYDIN E, CARLI KT. Salmonella profile in chickens determined by real-time polymerase chain reaction and bacteriology from years 2000 to 2003 in Turkey. Avian Pathology, 34 (2), 101-105, 2005.
85. ATA Z, AYDIN N. Ankara Bölgesi' ndeki tavukçuluk işletmelerinden Salmonella spp. izolasyonu. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 55, 161-166, 2008.
86. LI X, PAYNE JB, SANTOS FB, LEVINE JF, ANDERSON KE, SHELDON BW. Salmonella Populations and Prevalence in Layer Feces from Commercial High-Rise Houses and Characterization of the Salmonella Isolates by Serotyping, Antibiotic Resistance Analysis, and Pulsed Field Gel Electrophoresis. Poultry Science, 86, 591-597, 2007.
87. ISHIHARA K, TAKAHASHI T, MORIOKA A, KOJIMA A, KIJIMA M, ASAI T, TAMURA Y. National surveillance of Salmonella enterica in food producing animals in Japan. Acta Veterinaria Scandinavica, 51, 35-39, 2009.
88. SAAD AM, ALMUJALI DM, BABIKER SH, SHUAIB MAM, ABDELGADIR KA, ALFADUL YA. Prevalence of Salmonellae in Broiler Chicken Carcasses and Poultry Farms in the Central Region, K.S.A. Journal of Animal and Veterinary Advances 6 (2), 164-167, 2007.

89. LIMA WONGPRANEE S, HAYASHIDANI H, OKATANI AT, ONO K, HIROTA C, KANEKO K, OGAWA M. Prevalance and Persistence of *Salmonella* in Broiler Chicken Flocks. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 61 (3), 255-259, 1999.
90. GAST RK, BEARD CW. Serological detection of experimental *Salmonella enteritidis* infection in laying hens. *Avian Diseases*, 34: 721-728, 1990.
91. HASSAN JO, BARROW PA., MOCKETT APA, MCLEOD S. Antibody response to experimental *Salmonella typhimurium* infection in chickens measured by ELISA *Veterinary Record*, 126: 519-522, 1991.
92. NICHOLAS RAJ, CULLEN GA. Development and application of ELISA for detecting antibodies to *Salmonella enteritidis* in chicken flocks. *Veterinary Record*, 128: 74-76, 1991.
93. THORNS CJ, BELL MM, SOJKA MG, NICHOLAS RA. Development and application of enzyme-linked immunosorbent assay for specific detection of *Salmonella enteritidis* infections in chickens based on antibodies to SEF 14 fimbrial antigens. *Journal of Clinical Microbiology*, 34: 792-797, 1996.
94. SHAW SJ, BLAIS BW, NUNDY DC. Performance of the Dynabeads anti-*Salmonella* system in the detection of *Salmonella* species in foods, animal feeds, and enviromental samples. *Journal of Food Protection*, 61: 1507-1510, 1998.
95. SAFARIK I, SAFARIKOVÁ M, FORSTSHE SJ. The application of magnetic separations in applied microbiology. *Journal of Applied Bacteriology*, 78: 575-585, 1995.
96. GOPO JM, MELIS R, FILIPSKA E, MENEVERI R, FILIPSKI J. Development of a *Salmonella*-specific biotinylated DNA probe for rapid routine identification of *Salmonella*. *Molecular Cellular Probes*, 2: 271-279, 1988.
97. KNIGHT IT, SHULTS S, KASPAR CW, COLWELL RR. Direct detection of *Salmonella* spp. in estuaries by using a DNA probe. *Applied and Enviromental Microbiology*, 56: 1059-1061, 1990.
98. ROSE B, LIABRES CM, BENNET B. Evaluation of a colorimetric DNA hybridization test for the detection of *Salmonella* in meat and poultry products. *Journal of Food Protection*, 54: 127-130, 1991.
99. INSALATA NF, MHNKE CW, DUNLAP WC. Direct fluorescent-antibody technique for the microbiological examination of food and enviromental swabs for salmonellae. *Applied Microbiology*, 26: 268-270, 1973.
100. MANSFIELD LP, FORSTYHE SJ. Immunomagnetic separation as an alternative to enrichment broths for *Salmonella* detection. *Letters in Applied Microbiology*, 16: 122-125, 1993.
101. SKJERVE E, OLSVIK Ø. Immunomagnetic separation of *Salmonella* from foods. *International Journal of Food Microbiology*, 15: 11-18, 1991.
102. CURIALE MS, CLATT MJ, BARLETT CL. Colorimetric deoxyribonucleic acide hybridization assay for rapid screening of *Salmonella* in foods: collaborative study. *Journal-Association of Official Analytical Chemists*, 73: 248-256, 1990.
103. FITTS R, DIAMOND M, HAMILTON C, NERI M. DNA DNA hybridization assay for the detection of *Salmonella* spp. in foods. *Applied and Enviromental Microbiology*, 46: 1146-1151, 1983.
104. CHIU C-H, OU J-T. Rapid identification of *Salmonella* serovars in feces by specific detection of virulence genes, *invA* and *spvC*, by enrichment broth culture multiplex PCR combination assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 34: 2619-2622, 1996.
105. SOUMET C, ERMEL G, FACH P, COLIN P. Evaluation of different DNA extraction procedures for the detection of *Salmonella* from chicken products by polymerase chain reaction. *Letters in Applied Microbiology*, 19: 249-298, 1994.

106. AABO S, ANDERSEN JK, OLSEN JE. Reseach note: Detection of Salmonella in minced meat by the polymease chain reaction. *Letters in Applied Microbiology*, 21: 180-182, 1995.
107. BENNETT AR, GREENWOOD D, TENNANT C, BANKS JG, BETTS RP. Rapid and definitive detection of Salmonella in foods by PCR. *Journal of Applied Microbiology*, 26: 437-441, 1998.
108. CHEN S, YEE A, GRIFFITHS M, WU KY, WANG C-N, RAHN K, DE GRANDIS SA. A rapid, sensitive and automated method for detection of Salmonella species in food using AG-9600 AmpliSensor Analyzer. *Journal of Applied Microbiology*, 83: 314-321, 1997.
109. Uyttendaele M, Vanwildemeersch K, Debevere J. Evaluation of real-time PCR vs automated ELISA and a conventional culture method using a semi-solid medium for detection of Salmonella. *Letters in Applied Microbiology*, 37(5): 386-391, 2003.
110. Voogt N, Raes M, Wannet WJ, Henken AM, van de Giessen AW. Comparison of selective enrichment media for the detection of Salmonella in poultry faeces. *Letters in Applied Microbiology*, 32(2): 89-92, 2001.
111. VOOGT N, NAGELKERKE NJD, VAN DE GIESSEN AW. Differences between reference laboratories of the European Community in their ability to detect Salmonella species. *European Journal of Clinical Infectious Diseases*, 21: 449-454, 2002.
112. Kim JS, Lee GG, Park JS, Jung YH, Kwak HS, Kim SB, Nam YS, Kwon S. A novel multiplex PCR assay for rapid and simultaneous detection of five pathogenic bacteria: Escherichia coli O157:H7, Salmonella, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, and Vibrio parahaemolyticus. *Journal of Food Protection*, 70(7): 1656-1662, 2007.
113. Kawasaki S, Horikoshi N, Okada Y, Takeshita K, Sameshima T, Kawamoto S. Multiplex PCR for simultaneous detection of Salmonella spp., Listeria monocytogenes, Escherichia coli O157:H7 in meat samples. *Journal of Food Protection*, 68(3): 551-556, 2005.
114. Wolffs PFG, Glencross K, Norling B, Griffiths MW. Simultaneous quantification of pathogenic Campylobacter and Salmonella in chicken rinse fluid by a flotation and real-time multiplex PCR procedure. *International Journal of Food Microbiology*, 117: 50-54, 2007.
115. Wang X, Jothikumar N, Griffiths MW. Enrichment and DNA extraction protocols for the simultaneous detection of Salmonella and Listeria monocytogenes in raw sausage meat with multiplex real-time PCR. *Journal of Food Protection*, 67(1): 189-192, 2004.
116. MULLIS K, FALOONA F, SCHARF S, SIAKI R, HORN G, ERLICH H. Specific enzymatic amplification of DNA invitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51: 263-273, 1986.
117. VANEECHOUTTE M, VAN ELDERE J. The possibilities and limitations of nucleic acid amplification technology in diagnostic microbiology. *Journal of Medical Microbiology*, 46: 188-194, 1997.
118. JINNEMAN KC, TROST PA, HILL WE. Comparasion of template preparation methods from foods for amplification of Escherichia coli O157 shiga-like toxins type I and II DNA by multiplex polymerase chain reaction. *Journal of Food Protection*, 58: 722-726, 1995.
119. RAFII F, HOLLAND MA, HILLWE, CERNIGLIA CE. Survival of Shigella flexneri on vegetables and detection of polymerase chain reaction. *Journal of Food Protection*, 58: 727-732, 1995.
120. RASMUSSEN HN, RASMUSSEN OF, CHRISTENSEN H, OLSEN JE. Detection of Yersinia enterocolitica O-3 in fecal samples and tonsil swabs from pigs using IMS and PCR. *Journal of Applied Microbiology*, 78: 563-568, 1995.

121. SIMON MC, GRAY DI, COOK H. DNA extraction and PCR methods for the detection of *Listeria monocytogenes* in cold smoked salmon. *Applied and Environmental Microbiology*, 62: 822-824, 1996.
122. SAILS AD, FOX AJ, BOLTON FJ, WAREING DRA, GREENWAY DLA. A Real-Time Assay for the detection of *Camphylobacter jejuni* in foods after enrichment culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 1383-1390, 2003.
123. HONG Y, BERRANG ME, LIU T, HOFACRE CL, SANCHEZ S, WANG L, MAURER JJ. Rapid detection of *Camphylobacter coli*, *C. jejuni*, and *Salmonella enterica* on poultry carcasses by using PCR-Enzyme –Linked Immunosorbent assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 3492-3499, 2003.
124. AABO S, RASMUSSEN OF, ROSSEN L, SORENSEN PD, OLSEN JE. *Salmonella* identification by the polymerase chain reaction. *Molecular Cellular Probes*, 7: 171-178, 1993.
125. STENOVICOVA A, REHACOVA H, SKARKOVA, A, RIJPENS N, KUCHTA T. Confirmation of presumptive *Salmonella* colonies by the polymerase chain reaction. *Journal of Food Protection*, 61: 1381-1383, 1998.
126. FLUIT AD, WIDJOJOATMODJO MN, BOX ATA, TORENSMA R, VERHOEF J. Rapid detection of *Salmonellae* in poultry with immuno-polymerase chain reaction assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 1342-1346, 1993.
127. BEJ AK, MAHBUBANI MH, BOYCE MJ, ATLAS RM. Detection of *Salmonella* spp. in oysters by PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 368-373, 1994.
128. MAHON J, MURPHY CK, JONES PW, BARROW PA. Comparasion of multiplex PCR and standart bacteriological methods of detecting *Salmonella* in chicken skin. *Letters in Applied Microbiology*, 19: 169-172, 1994.
129. COHEN ND, MARTIN LJ, SIMPSON B, WALLIS DE, NEILBERGS HE. Comparasion of polymerase chain and microbiological culture for detection of salmonellae in equine feces and enviromental samples. *American Journal of Veterinary Research*, 57: 780 786, 1996.
130. SOUMET C, ERMEL G, SALVAT G, COLIN P. Detection of *Salmonella* spp. in food products by polymerase chain reaction and hybridization assay in microplate format. *Letters in Applied Microbiology*, 24: 113-116, 1997.
131. CANO RJ, RASMUSSEN SR, SACHEZ FRAGA G, PALOMARES JC. Fluorescent detection-polymerase chain reaction (FD-PCR) assay on microwell plates as a screening test for salmonellas in foods. *Journal of Applied Bacteriology*, 75: 247-253, 1993.
132. LIN C-K, TSEN HY. Use of two targeted oligonucleotides as PCR primers for the specific detection of *Salmonella* in foods. *Journal of Applied Bacteriology*, 80: 659-666, 1996.
133. BAILEY JS, COSBY DE. Detection of *Salmonella* from chicken rinses and chicken hot dogs with tha automated BAX PCR system. *Journal of Food Protection*, 66: 2138-2140, 2003.
134. BAILEY JS. Detection of *Salmonella* cells within 24 to 26 hours in poultry samples with the polymersae chain reaction BAX system. *Journal of Food Protection*, 61:792-795, 1998.
135. OLIVIERA SD, SANTOS LR, SCHUCH DM, SILVA AB, SALLE CT, CANAL CW. Detection and identification of salmonellas from poultry-related samples by PCR. *Veterinary Microbiology*, 87(1):25-35, 2002.
136. COHEN HJ, MECHANDA SM and LIN W. PCR amplification of the *fimA* gene sequence of *Salmonella typhimurium*, a spesific method for detection of *Salmonella* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 4303-4308, 1996.

137. SWAMY SC, BARNHART HM, LEE MD and DREESEN DW. Virulence of determinants *invA* and *spvC* in salmonellae isolated from poultry products, wastewater and human sources. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 3768-3771, 1996.
138. ROOSEN L, NORSKOV P, HOLSTROM K, RASMUSSEN OF. Inhibition of food samples, microbial diagnostic assays and DNA-extraction solutions. *International Journal of Food Microbiology*, 17(1):37-45, 1992.
139. SOUMET C, ERMEL G, FACH P, COLIN P. Evaluation of different DNA extraction procedures for detection of salmonella from chicken products by polymerase chain reaction. *Letters in Applied Microbiology*, 19(5):294-8, 1994.
140. GIESENDORF BA, QUINT WG, HENKENS MH, STEGEMAN H, HUF FA, NIESTERS HG. Rapid and sensitive detection of campylobacter spp. in chicken products by using the polymerase chain reaction. *Applied Environmental Microbiology*, 58(12):3804-8, 1992.
141. CHEVRIER D, POPOFF MY, DION MP, HERMANT D, GUESDON JL. Rapid detection of salmonella subspecies I by PCR combined with non-radioactive hybridisation using covalently immobilised oligonucleotide on a microplate. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 10(3-4):245-501, 1995.
142. TSEN HY, LIOU JW, LIN CK. Possible use of a polymerase chain reaction method for specific detection of salmonella in beef. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 77(2):137-43, 1994.
143. OYOFO BA, ROLLINS DM. Efficacy of filter types for detecting *Campylobacter coli* in environmental samples by PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(12):4090-5, 1993.
144. COLEMAN DJ, CHICK KE, NYE KJ. An evaluation of immunomagnetic separation for the detection of salmonellas in raw chicken carcasses. *Letters in Applied Microbiology*, 21(3):152-4, 1995.
145. FERETTI R, MANNAZZU I, COCOLIN L, COMI G, CLEMENTI F. Twelve hour PCR based method for detection of *Salmonella* spp. in food. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 977-978, 2001.
146. CHEUNG PY, KWOK KK, KAM KM. Application of BAX system, Tecra Unique™ *Salmonella* test and a conventional culture method for the detection of *Salmonella* in ready to eat and raw foods. *Journal of Applied Microbiology* 103, 219-227, 2007.
147. MULLIS KB, FALOONA FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods of Enzymology*, 155: 335-351, 1987.
148. SACHSE K. Specificity and performance of PCR detection assays for microbial pathogens. *Molecular Biotechnology*, 26: 61-79, 2004.
149. ANONIM. Biotechnology in the diagnosis of infectious diseases and vaccine developments. *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines*, Chapter 1.1.7. Office International Epizootics Terrestrial Manual, Paris, 2009.
150. REED GH, WITTEWER CT. Sensitivity and specificity of single-nucleotide polymorphism scanning by high-resolution melting analysis. *Clinical Chemistry*, 50: 1748-1754, 2004.
151. ANONIM. Validation and quality control of polymerase chain reaction methods used for the diagnosis of infectious diseases. *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines*, Chapter 1.1.5, Office International Epizootic terrestrial Manual, Paris, 2008.
152. ANONIM. Biotechnology in the diagnosis of infectious diseases and vaccine developments. *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines*, Chapter 1.1.7. Office International Epizootics Terrestrial Manual, Paris, 2008.

153. ERLICH AH, GELFAND D, SNINSKY JJ. Recent advances in polymerase chain reaction. *Science*, 252: 1643-1652, 1991.
154. PERSING HD. Polymerase chain reaction: trenches to benches. *Journal of Clinical Microbiology*, 29: 1281-1285, 1991.
155. SCHOCHETMAN G, JONES KW. Polymerase Chain Reaction. *Journal of Infectious Diseases*, 158: 1154-1157, 1998.
156. SAIKI KR, GELFAND HD, STOFFI S, SCHARF JS, HIGUCHI R, HORN TG. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239: 487-491, 1988.
157. WALKER J, DOUAN G. DNA Probes: A new role in diagnostic microbiology. *Journal of Applied Microbiology*, 67: 229-230, 1989.
158. ARDA M. Biyoteknoloji (bazı temel ilkeler). *Kükem Derneği Bilimsel Yayınları*, No: 3, Ankara, 1995.
159. MACKAY IM. Real time PCR in the microbiology laboratory. *Clinical Microbiology and Infection*, 10: 190-212, 2004.
160. VALASEK MA, REPA JJ. The power of real-time PCR. *Advances in Physiology Education*, 29: 151-159, 2005.
161. COCKERILL FR, SMITH TF. Rapid-cycle real-time PCR: A revolution for clinical microbiology. *American Society for Microbiology News*, 68: 77-83, 2002.
162. SARIKAYA AT. DNA'nın izolasyonu ve analizi. Editörler: TEMİZKAN G, ARDA N. *Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler. Biyogem yayınları, Nobel Tıp Kitabevleri*, No:1, Bölüm 2, İstanbul, sayfa 55-80, 2004.
163. GREENFIELD L, WHITE TJ. Sample preparation methods. Editörler: PERSING DH, SMITH TFS, TENOVER FC, WHITE TJ. *Diagnostic molecular microbiology*, 1 baskı. American society for microbiology, Washington, page 122-137, 1993.
164. HANGEN-MANN KC. Polymerase chain reaction-some quadlines for a succesful amplification. *British Forum for Ethnomusicology*, 7: 313-316, 1990.
165. LAWYER FC, STOFFEL S, SAIKI RK, MYAMBO K, DRUMMOND R, GELFAND DH. Isolation, characterization and expression in *Escherichia coli* of the DNA polymerase gene from *Thermus aquaticus*. *Journal of Biological Chemistry*, 264: 6427-6437, 1989.
166. WILSON IG. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 3741-3751, 1997.
167. ALDEMİR OS, UÇAN US. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), Temel prensipler. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 1: 53-59, 2001.
168. INNIS MA, GELFAND DH, SNINSKY JJ. Optimization of PCR's . Editörler: INNIS MA, GELFAND DH, SNINSKY JJ. *PCR Applications protocols for fonctional genomics. Academic press, San Diego*, page 39-67, 1995.
169. ROUX KH. Optimization and troubleshooting in PCR. *Genome Research*, 4: 185-194, 1995.
170. KUBISTA M, ANDRADE JM, BENGTSSON M, FOROOTAN A, JONAK J, LIND K. The real-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects in Medicine*, 27: 95-125, 2006.
171. AHMED FE. Detection of genetically modified organisms in foods. *Trends in Biotechnology*, 20: 215-223, 2002.
172. KLEIN D. Quantification using real-time PCR technology: Applications and limitations. *Trends in Molecular Medicine*, 8: 257-260, 2002.
173. MHLANGA MM, MALMBERG L. Using Molecular beacons to detect single-nucleotide polymorphisms with real-Time PCR. *Methods*, 25: 463-471, 2001.

174. GIBSON UE, HEID CA, WILLIAMS PM. A novel method for real-time quantitative RT-PCR. *Genome Research*, 6: 995-1001, 1996.
175. BUSTIN SA. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of Molecular Endocrinology*, 25: 169-193, 2000.
176. HIGUCHI R, DOLLINGER G, WALSH PS, GRIFFITH R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology*, 10: 413-417, 1992.
177. GÜNEL T. Gen anlatımının kantitatif analizi 'Real-Time PCR'. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 27: 763-767, 2007.
178. ŞAHİN F, ÇİFTÇİ M, PİRİM İ. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR). II. Uygulamalı moleküler biyoloji teknikleri kurs notları. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, 2000.
179. TOMAZELLI IB, FREITAS JB, FABBI LM, FILIPINI TA, SILVA CM, BEDIN JM, DUARTE DAM, SANTOS A, BACCARIN A, HIGA LRH, YANO DMY, BACCARIN A, HIGA LRG, YANO DMY, KILLNER M, FREZZA ALC, ABECIA ECG, TRONCO VM, JUNIOR OT, JUNIOR WB. Comparison of the BAX system PCR method to Brazil's Official Method for the detection of Salmonella in food, water and environmental samples, *Journal of Food Protection*, 71, 2442-2447, 2008.
180. TICE G, ANDOLORO B, FALLON D, WALLACE FM. Dupont Qualicon BAX System polymerase chain reaction assay performance tested method 100201, *J AOAC Int*, 92, 1902-1905, 2009.
181. LÖFSTRÖM C, KRAVSE M, JOSEFSEN MH, HANSEN F, HOORFAR J. Validation of a same-day Real-Time PCR method for screening of meat and carcasses swabs for Salmonella. *BMC Microbiology*, 9, 1-9, 2009.
182. FRANCHIN P, OGLIARI PJ, ANDRADE DF, CHIAPINOTO M, SILVA IGD, BATISTA CRV. Comparison of the BAX System with an in house MRSV method for the detection of Salmonella in chicken carcasses and pork meat. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37, 521-526, 2006.
183. ERIKSSON E, ASPAN A. Comparison of culture, ELISA and PCR techniques for Salmonella detection in faecal samples for cattle, pig and poultry, *BMC Veterinary Research*, 3, 1-19, 2007.
184. SILBERNAGEL K, JECHOREK R, CARVER C, BARBOUR WM, MRONINSKI P. Evaluation of the BAX system for detection of Salmonella in selected foods: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 86, 1149-1159, 2003.
185. SOMMER D, ENDERLEIN D, ANAKLI A, SCHÖNENBRÜCHER H, SLAGHUIS J, REDMANN T, LIER M. Salmonella detection in poultry samples. Comparison of two commercial real-time PCR systems with culture methods for the detection of Salmonella spp. in environmental and fecal samples of poultry. *Tierarztl Prax*, 40, 383-389, 2012.
186. ANONİM. Dupont qualicon BAX® system user guide. Performance Tested Method™ 100201. Dupont qualicon BAX system polymerase chain reaction assay. *J AOAC Int*, 92, 1902-1905, 2009.
187. GAST RK, BEARD CW. Isolation of Salmonella Enteritidis from internal organs of experimentally infected hens, *Avian Diseases*, 34, 991-993, 1990.
188. WHO. 2006. Progress Report (2000-2005): Building capacity for laboratory-based foodborne diseases surveillance and outbreak detection and response/WHO Global Salm-Surv. <http://www.who.int/gfn/links/GSSProgressReport2005.pdf> Accessed Feb. 2010.
189. ANONİM. United States Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection Service, The National Poultry Improvement Plan, CFR Part 147 auxiliary

provisions on National Poultry Improvement Plan. Subpart B- bacteriological examination procedure. 147-11 laboratory procedure recommended for the bacteriological examination of Salmonella, 14-19, 1996.

190. WALLACE HA, JUNE G, SHERROD P, HAMMACK TS, AMAGUANA RM. Salmonella, In: Food Drug Administration Bacteriological Analytical Manual, online, edited: Tomlison LA, Hypertext source, Pp: 114-117, 1999.

191. SAINI, SS., RAMPAL, S., KWATRA, MS. Isolation and characterization of Salmonella gallinarum from fowl typhoid cases and in vitro drug sensitivity test. Indian Journal of Comparative Microbiology, Immunol and Infectious Diseases, 10:190, 1989.

192. BÄUMLER, A.J., HEFFRON, F. ve REISSBRODT, R. Rapid Detection of Salmonella enterica with Primers Specific for iroB. Journal of Clinical Microbiology, 35:1224-1230, 1997.

193. ÇARLI KT, UNAL CB, CANER V, EYIGOR A. Detection of n Chicken Feces by a Combination of Tetrathionate Broth Enrichment, Capillary PCR and Capillary Gel electrophoresis. Journal of Clinical Microbiology, 39(5): 1871-1876, 2001.

194. FEDER I, NIETFELD JC, GALLAND J, YEARY T, SARGEANT JM, OBERST R, TAMPLIN ML, LUNCHANSKY JB. Comparison of Cultivation and PCR-Hybridization for Detection of Salmonella in Porcine Fecal and Water Samples. Journal of Clinical Microbiology, 39: 2477-2484, 2001.

195. COTTER PF, MURPHY JE, KLINGER JD, TAYLOR RL. Identification Salmonella enteritidis from experimentally infected hens using a colorimetric DNA hybridization method. Avian Diseases, 39: 873-878, 1995.

196. WOODWARD, M.J. ve KIRVAN, S.E.S. Detection of Salmonella enteritidis in eggs by the PCR. Veterinary Record, 138: 411-413, 1996.

197. FRATAMICO PM. Comparison of culture, PCR, TaqMan Salmonella, and Transia Card Salmonella assays for detection of Salmonella spp. in naturally contaminated ground chicken, ground turkey, and ground beef. Molecular and Cellular Probes, 17: 215-221, 2003.

198. WAAGE AS, VARDUND T, LUND V, KAPPERUD G. Detection of low numbers of Salmonella in environmental water, sewage and food samples by a nested polymerase chain reaction assay. Journal of Applied Microbiology, 87: 418-428, 1999.

199. VANTAKARIS A, KOMNINOU G, VENIERI D, PAPPETROPOUIOU M. Development of a multiplex PCR detection Salmonella spp. and Shigella spp. in mussels. Letters in Applied Microbiology, 31: 105-109, 2000.

200. EYİĞÖR A, GONCAGÜL G, GÜNAYDIN E, ÇARLI KT. Salmonella profile in chickens determined by real-time polymerase chain reaction and bacteriology from years 2000 to 2003 in Turkey. Avian Pathology, 34: 101-105, 2005.

201. EYIGOR A, ÇARLI KT. Rapid detection of Salmonella from poultry by real-time polymerase chain reaction with fluorescent hybridization probes. Avian Diseases, 47; 380-386, 2003.

202. GOUWS PA, VISSER M, BRÖZEL VS. A polymerase chain reaction procedure for the detection of Salmonella spp. within 24 hours. Journal of Food Protection, 61: 1039-1042, 1998.

203. SOJKA, WJ, WRAY C, MCLAREN I. A survey of drug resistance in Salmonellae isolated from animals in England and Wales in 1982 and 1983. Br.Vet.J., 142 (4): 371-380, 1986.

204. RAMPLING A, UPSON R, BROWN DFJ. Nitrofurantoin resistance in isolates of Salmonella enteritidis phage type 4 from poultry and humans. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 25: 285-290, 1990.

205. SINGER JT, OPITZ HM, GERSHMAN M, HALL MM, MUNIZ IG, RAO SV. Molecular characterization of *Salmonella enteritidis* isolates from maine poultry and poltry farm environments. *Avian Diseases*, 36: 324-33, 1992.
206. HERNANDEZ T, RODRIGUEZ C, AREVALO MP. Antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* serovars isolated from chickens in Spain. *Journal of Chemotherapy*. 14: 346–350, 2002.
207. BOYNUKARA B, AYDIN F. Tavuklardan izole edilen *Salmonella* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları üzerinde bir araştırma. *Türk Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 90(6): 21-23, 1990.
208. ÖZDEMİR Ü. Kanatlılardan izole edilen *Salmonella* suşlarının identifikasyonunda kullanılan metotlar üzerine araştırmalar. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 27(2): 143-162, 1996.
209. KALENDER H, MUZ A. Elazığ bölgesindeki tavuklardan izole edilen *Salmonella* türlerinin tiplendirilmesi, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 23(2): 297-303, 1999.
210. ANGULO FJ, JOHNSON K, TAUXE RV, COHEN ML. Significance and sources of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella* infections in the United States. *Microbial Drug Resistance*, 6: 77-83, 2000.

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, gerçekleştirilmesi ve yazım aşamasında bana yol gösterip, zaman ayıran saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. K. Tayfun ÇARLI'ya, tezim boyunca desteğini esirgemeyen Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı Prof. Dr. Ayşegül EYİGÖR'e, başından beri bana sabırla yol gösteren Yard. Doç. Dr. Serpil Kahya'ya, eğitimimde emekleri olan Ana Bilim Dalımız'ın değerli hocaları Prof. Dr. Ayşin Şen, Prof. Dr. Mihriban Ülgen ve Prof. Dr. Cengiz Çetin'e, Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma, laborant Ayşe Uyar'a, çalışma arkadaşlarıma, değerli amirim Tuğbay Tırakoğlu'na, her zaman her koşulda yanımda olan değerli aileme en derin sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

21. 12. 1979 tarihinde İstanbul'da doğdum. İlkokul öğrenimimi Gölcük PiriReis İlkokulu'nda, ortaokulu öğrenimimi Gölcük Merkez Ortaokulu'nda, lise öğrenimimi ise Gölcük Barbaros Hayrettin Lisesi'nde tamamladım. 1996 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde eğitimime başladım ve 2002 yılında mezun oldum. 2003 yılında Gölcük'te Zeytinoğlu Tavukçuluk'ta sorumlu veteriner hekimi olarak çalışmaya başladım. 2005 yılından bu yana C.P. Standart Gıda A.Ş. Hayvan Sağlığı Departmanı Teşhis ve Analiz Laboratuvarı'nda görev yapmaktayım. 2007 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım.