



**GIDA KAYNAKLI *SALMONELLA* İZOLATLARINDA BİYOFİLM
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Sinem AKYILDIZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2015

Sinem AKYILDIZ tarafından hazırlanan “GIDA KAYNAKLI *SALMONELLA* İZOLATLARINDA BİYOFİLM VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Nihal YÜCEL

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Başkan: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Prof. Dr. Neslihan GÜNDOĞAN

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 04 / 06 / 2015

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Sinem AKYILDIZ

25.06.2015

GIDA KAYNAKLI *SALMONELLA* İZOLATLARINDA BİYOFİLM VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Sinem AKYILDIZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2015

ÖZET

Bu çalışmada Ankara'da süt fabrikasından temin edilen 50 çiğ süt örneği ve Ankara'da tüketime sunulan 160 tavuk örneği (25 boyun, 45 karaciğer, 45 kalp ve 45 taşlık) çalışılmıştır. Araştırma sonucunda 2 *Salmonella Paratyphi A* ve 106 *Salmonella* spp. izolatu standart yöntemlerle tanımlanmış (gram boyama, katalaz, üre vb.) tanımlamalar Gram negatif ID, BBL (Beckton Dickinson) tanımlama sistemi ile doğrulanmıştır. Elde edilen izolatlar ile siderofor ve biyofilm oluşturma karakteristikleri araştırılmıştır. İncelenen 108 izolatın %37,03 'ü rdar morfortipi, %62,97'si bdar morfortipi göstermiştir. Hem rdar (%35) hem de bdar (%31) morfortipinin en fazla görüldüğü izolatların taşlıktan elde edildiği görülmüştür. Çalışılan 108 *Salmonella* izolatının biyofilm sonuçlarına göre; 37°C'de 24 saat inkübasyonun kullanıldığı yöntemde (yöntem1) 28 izolat yüksek biyofilm, 53 izolat orta biyofilm, 27 izolat zayıf biyofilm göstermiştir. Yüksek biyofilm gösteren 28 izolatın; 4 (%14,2)'ü Kalp, 2 (%7,2)'si Karaciğer, 14 (%50)'ü Taşlık, 2 (%7,2)'si Boyun ve 6 (%21,4)'sı Süt izolatıdır. 20°C'de 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yöntemde (yöntem2) 94 izolat yüksek biyofilm, 12 izolat orta biyofilm, 2 izolat zayıf biyofilm göstermiştir. İzolatların %87'si yüksek biyofilm, %11'i orta biyofilm ve %2'si zayıf biyofilm karakterine sahip olarak bulunmuştur. Yüksek biyofilm gösteren 94 izolatın; 24(%25,5)'i Kalp, 18 (%19,1)'i Karaciğer, 28 (%29,8)'i Taşlık, 10 (%10,6)'sı Boyun ve 14 (%14,9)'u Süt izolatıdır. İki yöntem karşılaştırıldığında yöntem 2 de yer alan sıcaklık ve inkübasyon süresinin biyofilmi artırıcı olduğu söylenebilir. *Salmonella* izolatlarının siderofor üretimi incelendiğinde 108 izolattan yalnızca 7'sinde (%6,48) siderofor üretimi pozitif olarak gözlenmiştir. Siderofor pozitif izolatların elde edildikleri numune dikkate alınarak yapılan incelemeleri sonucu 4'ünün (%57,14) taşlık, 2'sinin (%28,57) boyun ve 1'inin (%14,29) karaciğer örneğinden elde edildiği görülmektedir. Sonuçlar incelendiğinde hem biyofilm yöntemlerinde yöntem 1 (%50), yöntem 2 (%29,8) hem de siderofor yönteminde (%57,14) en yüksek değerler Taşlık numunelerinden elde edilen örneklere aittir.

Bilim Kodu : 203.1.010

Anahtar Kelimeler : *Salmonella*, siderofor, biyofilm

Sayfa Adedi : 105

Danışman : Prof. Dr. Nihal YÜCEL

INVESTIGATION OF BIOFILM FORMATION IN THE FOOD-BORNE *SALMONELLA* ISOLATES

(M. Sc. Thesis)

Sinem AKYILDIZ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2015

ABSTRACT

In this study, 50 raw milk samples obtained from milk factory and 160 chicken samples (45 liver, 45 heart, 45 gizzard, 25 necks) offered for sale in Ankara were used as the materials. As a result of the study 2 *Salmonella Paratyphi A* and 106 *Salmonella* spp. were defined by standard methods (gram staining, catalase, urea ext.) and definitions were confirmed with identification system Gram negative ID BBL (Beckton Dickinson). Siderophore and biofilm characteristics were studied by using isolates. 108 isolates were researched in this study. As a result of the study, %37.03 isolates have rdar morphotype and %62.97 isolates have bdar morphotypes. Both rdar (%35) and Bdar (%31) morphotypes of the isolates were commonly seen from the gizzard. According to biofilm results; in the method used by incubation for 24 hours at 37 ° C (method 1), was showed 28 isolates high biofilm, 53 isolates middle biofilm and 27 isolates weak biofilm. The 28 isolates showed high biofilm; 4 (%14, 2) heart, 2 (%7, 2) liver, 14 (%50) gizzard, 2 (%7, 2) neck and 6 (%21, 4) milk isolates. According to biofilm results the method used by incubation for 48 hours at 20° C (method 2), was showed %87 of isolates high biofilm, %11 of isolates middle biofilm and %2 of isolates weak biofilm. The 94 isolates showed high biofilm; 24 (%25, 5) heart, 18 (%19, 1) liver, 28 (%29, 8) gizzard, 10 (%10, 6) neck and 14 (%14, 9) milk isolates. As a result of comparing two methods it can be said that temperature and incubation time which is used in method 2 increases biofilm. When the siderophore production of *Salmonella* isolates were examined, it can be seen that only 7 (6,48) of 108 *Salmonella* isolates were positive. Research results based on samples which were obtained from positive siderophore samples show that 4 (%57, 14) of them obtained from gizzard, 2 (%28, 57) of them obtained from neck and 1 (%14, 29) of them is obtained from liver samples. As a result of the study, we can say that both in biofilm method (method 1, 50 %) and siderophore method (method 2, 57,14 %) the highest values were obtained from gizzard samples.

Science code : 203.1.010

Keywords : *Salmonella*, siderophore, biofilm

Page number : 105

Supervisor : Prof. Dr. Nihal YÜCEL

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca maddi ve manevi destek ve yardımlarını benden esirgemeyen, her zaman bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösterici olan saygıdeğer danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nihal YÜCEL'e, tüm laboratuvar çalışmalarında yanımda olan, desteğini, yardımını ve dostluğunu esirgemeyen, manevi olarak zor zamanlarımda dayanağım olan canım arkadaşım Ece BAŞMAN ÖZGAN'a, laboratuvar çalışmalarım süresince bana bilgi ve deneyimleriyle destek olan Yrd. Doç. Dr. Ebru YILMAZ'a, Arş. Gör. Meryem Burcu KÜLAHCI'ya, Leyla BİGEÇ'e, Burcu ÇETİNGÜRBÜZ'e, Aytuna ÇERÇİ'ye, Gedif Meseret ABEBE'ye katkılarından dolayı teşekkür ederim. Her zaman yanımda olan, maddi manevi destek veren, hayatım boyunca emeklerini ödeyemeyeceğim çok sevdiğim canım annem Kader AKYILDIZ'a, babam Cumhur AKYILDIZ'a ve bitanecik kardeşlerim Simge ve Sibel AKYILDIZ'a, kuzenim Hilal ERKOL'a, ayrıca bana desteğini hep hissettiren, iyi ve kötü her anımda yanımda olan canım nişanlım Can ÖZDEMİR'e hoşgörü ve yardımları için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. <i>Salmonella</i> Hakkında Genel Bilgi.....	3
2.2. <i>Salmonella</i> Tarihçesi	4
2.3. <i>Salmonella</i> 'ların Sınıflandırılması	4
2.3.1. <i>Salmonella</i> 'ların nomenklatürü	5
2.4. <i>Salmonella</i> 'ların Etiyolojileri.....	6
2.4.1. Morfoloji ve boyanma özellikleri.....	6
2.4.2. Üreme ihtiyaçları	7
2.4.3. Koloni morfolojileri.....	8
2.4.4. Biyokimyasal özellikleri.....	9
2.4.5. Antijenik yapı	9
2.4.6. Kimyasal ve fiziksel ajanlara duyarlılığı	11
2.4.7. Toksinleri.....	12
2.4.8. Plazmidleri.....	12
2.4.9. Fajları ve faj tipleri	13

	Sayfa
2.4.10. Direnç	13
2.5. Salmonellozis'in Epidemiyolojisi	15
2.5.1. Konakçıları	15
2.5.2. Dağılım ve insidansı	16
2.5.3. Bulaşma	16
2.6. Yaptığı Hastalıklar	18
2.6.1. Gastroenterit	18
2.6.2. Tifo ve paratifo	19
2.6.3. Sepsis ve lokal organ enfeksiyonları	20
2.6.4. Taşıyıcılık	20
2.7. Salmonellozis'in Klinik Bulguları	21
2.8. Salmonellozis'in Patolojisi.....	22
2.9. Salmonellozis'in Patogenesi	22
2.10. Teşhis	23
2.10.1. Etken izolasyon ve identifikasyonu.....	24
2.10.2. <i>Salmonella</i> saptanmasında standart kültür metodları.....	25
2.10.3. Besiyerleri.....	26
2.10.4. Serotip ve genus belirlenmesi.....	27
2.10.5. Serolojik tanı	27
2.10.6. Hızlı tanı teknikleri.....	28
2.11. Koruma ve Kontrol	29
2.12. Tedavi.....	29
2.13. Epidemiyolojisi	31
2.13.1. Dünyadaki durum	31
2.13.2. Ülkesel durum	31
2.14. Biyofilm	31

	Sayfa
2.14.1. Biyofilmin tarihçesi	31
2.14.2. Biyofilm içerisindeki hayat döngüsü.....	32
2.14.3. Biyofilm oluşumunu etkileyen çevresel faktörler	34
2.15. Siderofor Üretimi	35
3. MATERYAL VE METOD	39
3.1. <i>Salmonella</i> spp. İzolasyonu.....	39
3.2. <i>Salmonella</i> spp. İzolasyonu İçin Kullanılan Besiyerleri ve İçerikleri.....	40
3.3. <i>Salmonella</i> spp. İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri, İçerikleri ve Testlerin Yapılışı.....	43
3.3.1. Gram boyama	43
3.3.2. Oksidaz testi	43
3.3.3. Katalaz testi	44
3.3.4. İndol testi	45
3.3.5. Metil Red (MR) - Voges-Proskauer (VP) testi.....	45
3.3.6. Sitrat testi.....	48
3.3.7. Triple Sugar Iron Agar (Tsi) Testi.....	49
3.3.8. Lisin Iron Agar (LIA) Testi	51
3.3.9. Ornitin dekarboksilaz testi.....	52
3.3.10. Üre testi	52
3.4. Enzimatik Özelliklerin Aranmasına Yönelik Testler	53
3.4.1. Proteolitik aktivite testi.....	53
3.4.2. Lipolitik aktivite	54
3.5. <i>Salmonella</i> spp.'nin BBL Crystal Enteric/Nonfermenter (E/NF) Identification (ID) System ile Doğrulanması.....	55
3.5.1. BBL Crystal E/NF ID kitin içerdiği testler.....	55
3.6. Kongo kırmızısı içeren Luria Bertani agar besiyerlerinde <i>Salmonella</i> suşlarının biyofilm morfolojilerinin belirlenmesi	56

	Sayfa
3.7. Polistiren Üzerinde Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi	57
3.8. Biyofilm Deneyi İçin Kullanılan Besiyerleri	60
3.9. <i>Salmonella</i> İzolatlarında Siderofor Varlığının Araştırılması	61
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	63
4.1. Kongo Kırmızılı NaCl'siz LB Agar Ortamında <i>Salmonella</i> Suşlarının Biyofilm Morfotiplerinin Belirlenmesi	66
4.2. <i>Salmonella</i> İzolatlarında Siderofor Varlığının İncelenmesi.....	81
5. TARTIŞMA	85
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	93
KAYNAKLAR	95
ÖZGEÇMİŞ	105

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. <i>Salmonella</i> 'ların kültürel ve biyokimyasal özellikleri.....	5
Çizelge 2.2. <i>Salmonella</i> türlerinin ve alttürlerinin klasifikasyonu.....	5
Çizelge 3.1. TSI testi sonuçları	50
Çizelge 4.1. Çiğ süt ve tavuk örneklerinden izole edilen <i>Salmonella</i> spp. ve <i>Salmonella paratyphi A</i> izolatlarının çalışılan örnek sayısına göre dağılımı	63
Çizelge 4.2. İzole edilen <i>Salmonella</i> izolatlarının elde edildikleri numune türlerine göre dağılımı.....	64
Çizelge 4.3. <i>Salmonella</i> suşlarının içerdikleri biyofilm morfotipine göre sayısal dağılımı.....	68
Çizelge 4.4. Biyofilm morfotiplerinin <i>Salmonella</i> türlerine göre dağılımı	69
Çizelge 4.5. <i>Salmonella</i> suşlarının izole edildikleri numune ve biyofilm morfotipine göre dağılımı.....	70
Çizelge 4.5. <i>Salmonella</i> suşlarının izole edildikleri numune ve biyofilm morfotipine göre dağılımı.....	71
Çizelge 4.6. 20°C'da 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre OD değerleri ...	72
Çizelge 4.7. 20°C'da 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD aralıklarına göre ve vasatına göre dağılımı.....	75
Çizelge 4.8. 37°C'da 24 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD değerleri	77
Çizelge 4.9. 37°C'da 24 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD aralıklarına göre ve vasatına göre dağılımı.....	79
Çizelge 4.10. Carla ve diğerlerinin (2014) çalışmasına göre biyofilm kriterleri	80
Çizelge 4.11. <i>Salmonella</i> izolatlarının siderofor üretim sonuçları	81

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. <i>Salmonella</i> spp. ve <i>Salmonella Paratyphi A</i> izolatlarının çalışılan örnek sayısına göre dağılımı	64
Şekil 4.2. <i>Salmonella</i> izolatlarında rdar morfotipinin dağılımı	68
Şekil 4.3. <i>Salmonella</i> izolatlarında bdar morfotipinin dağılımı.....	69
Şekil 4.4. 20°C’da 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD Aralıklarına göre ve vasatına göre dağılımı	75
Şekil 4.5. 20°C’da 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre OD değeri 3,000’den yüksek olan izolatların numune türüne göre dağılımı.....	76
Şekil 4.6. 37°C’da 24 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD Aralıklarına göre ve vasatına göre dağılımı	79
Şekil 4.7. Siderofor üretiminin pozitif olduğu izolatların numune cinsine göre dağılımı	83

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Mikroskop altında Gram negatif basil-kokobasil bakterilerin morfolojisi	7
Resim 2.2. XLT4 Agarda üreyen <i>Salmonella</i> kolonileri	8
Resim 2.3. Merkezi siyah etrafı şeffaf morfoloji gösteren <i>Salmonella</i> kolonileri.....	9
Resim 2.4. <i>Salmonella</i> Typhi.....	11
Resim 2.5. <i>Salmonella</i> cinsi bakterilerin intestinal mukozaya girişi	23
Resim 2.6. Biyofilm içerisindeki hayat döngüsünün basamakları.....	32
Resim 2.7. <i>S. enterica</i> bakterilerinde katekolat tipte siderofor taşınması	37
Resim 3.1. Oksidaz testi.....	44
Resim 3.2. Katalaz testi	44
Resim 3.3. İndol testi	45
Resim 3.4. Metil red testi	47
Resim 3.5. VP- testi	48
Resim 3.6. Sitrat testi	49
Resim 3.7. TSI testi.....	50
Resim 3.8. Ornithin testi	52
Resim 3.9. Üre testi.....	53
Resim 3.10. <i>Salmonella</i> spp. BBL™ Crystal™ Gram-Negative ID'nin panel ışık görünümü.....	56
Resim 3.11. Kongo kırmızısı agarda biyofilm morfotipleri	57
Resim 3.12. İnkübasyon sonrası mikropate içerisine aktarılan bakteri süspansiyonlarının görüntüsü	58
Resim 3.13. Kuyuların kristal viyole boyası ile muamele edilmesi	58
Resim 3.14. Kristal viyoleyı tutan biyofilm tabakalarının görünümü	59
Resim 3.15. Kristal viyolenin çözdürülmesi.....	59
Resim 4.1. Kongo kırmızılı agarda izolatların rdar ve bdar morfotipleri	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
-	Negatif
%	Yüzde
/	Bölüm
:	Bölüm
+	Pozitif
<	Küçüktür
±	Artı-eksi
≤	Küçük ve eşittir
≥	Büyük ve eşittir
°	Derece
°C	Derece Celcius
μ	Mikron
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre
cm	Santimetre
Da	Dalton
Dk	Dakika
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
Ph	Asitlik değeri
Sn	Saniye
w/w	Ağırlıkça oran

Simgeler	Açıklamalar
-----------------	--------------------

α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma

Kısaltmalar	Açıklamalar
--------------------	--------------------

AIDS	Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu
ATCC	American Tıp Kültür Koleksiyonu
BD	Becton dickinson
BDAR	Kahverengi, kuru ve pürüzlü
Bkz	Bakınız
CaCO₃	Kalsiyum karbonat
CAS	Chromal Azurol S
CDC	Hastalık kontrol merkezi
Cfu	Colony forming unit
DHBS	Dihidroksibenzoil serin
DNA	Deoksiribonükleik Asit
E/NF	Enteric/Nonfermenter
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EPS	Eksopolisakkarit
FeCl₃.6H₂O	Demir III klorür heksahidrat
Fe-E	Ferik enterokelin
H₂O₂	Hidrojen peroksit
H₂S	HidrojenSülfür
HCl	Hidroklorik Asit
HDTMA	Hexadecyltrimethylammonium
ID	İdentifikasyon
IMS	Immunomanyetik Seperasyon
K₂HPO₄	Dipotasyum Hidrojen Fosfat
KCN	Potasyum siyanür
KOH	Potasyum Hidroksit

Kısaltmalar	Açıklamalar
LBwo/NaCl	Sodyum klorürsüz Luria Bertani
LDC	Lisin dekarboksilaz
LIA	Lisin Iron Agar
LPS	Lipopolisakkarit
MKTTn	Muller Kauffman Tetrathionate Novobiocin Broth
MOPS	3-(N-morpholino) propane sulfonic asit
MR	Metil Red
NaCl	Sodyum klorür
NK	Negatif kontrol
OD	Optik yoğunluk
ODn	Negatif kontrolün optik yoğunluk ortalaması
ODo	Numunelerin optik yoğunluğunun ortalaması
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDAR	Pembe, kuru ve pürüzlü
PVC	Polivinil klorür
PW	Pepton Water
RDAR	Kırmızı, kuru ve pürüzlü
RVS	Rapport Vassiliadis Broth
SAW	Düz ve ıslak
SBAM	Düz, kahverengi ve mukoid
SMA	Yüzeğe daldırma yöntemi
SPV	<i>Salmonella</i> plazmit virülans
TS	Türk Standardı
TSA	Trypticase Soy Agar
TSI	Triple Sugar Iron Agar
USDA	Birleşmiş Milletler Tarım Departmanı
VP	Voges-Proskauer
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XLD	Xylose Lysine Deoksicholate
XLT4	Xylose Lysine Tergitol 4

1. GİRİŞ

Salmonella etkenleri *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan *Salmonella* cinsine ait türlerin içerdiği serotiplerdir. Son sınıflandırmaya göre bu cinste iki tür bulunmaktadır. Bunlar *Salmonella enterica* (*S. enteritica*) (*Salmonella Cholerasuis* olarak da adlandırılmaktadır) ve *Salmonella bongori*'dir. Günümüzde birçok patojeni içeren *S. enterica* türü altında ise altı alt tür bulunmaktadır (*S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, *S. enterica* subsp. *indica*). *Salmonella* 'ların sınıflandırılmasındaki bu değişikliklerin tümü DNA-DNA hibridizasyon ve multilokus enzim elektroforetik karakterizasyon teknikleri sonuçlarına dayanılarak yapılmıştır. Bu nedenle uzun süredir kullanılan *Salmonella* serovarlarını tür olarak kullanma sistemi artık geçerliliğini yitirmiştir. Böylece daha önce "*Salmonella Typhimurium*" olarak adlandırdığımız bir bakteri artık *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *Typhimurium* (kısaltılmış olarak da, *Salmonella* ser. *Typhimurium*, *Salmonella* *Typhimurium* veya *S. Typhimurium*) olarak adlandırılır (Caner ve diğerleri, 2001). İnsan ve hayvanlarda infeksiyon oluşturan *Salmonella* suşlarının % 99'u *S. enterica* subsp. *enterica* alt grubuna dâhil olup, bu grup çok fazla serovar ve serotip içermektedir (Angulo ve diğerleri, 2000).

Salmonella 'lar, Dünya'da ve Türkiye'de önemli bakteriyel patojenler arasındadır (Çarlı ve diğerleri, 2001; Gast, 2003). *Salmonella* infeksiyonlarını önlemek, hem gıda endüstrisi, hem de kanatlı hayvanların sağlığı açısından önemlidir. İnfeksiyondan korunma ancak iyi gözlem ve kontrol programları ile başarılabilir (Humbert ve diğerleri, 1997). *Salmonella*, diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri gibi fakültatif anaerob, sporsuz, 2-3 µm uzunluğunda, 0,4-0,6 µm eninde gram negatif basildir. *Salmonella* Gallinarum serovarları dışında hareketlidir ve peritriş flagellaya sahiptir (Erdem, 2013).

Salmonelloz, tüm dünyada en sık görülen gıda kaynaklı infeksiyonlardan biridir. *Salmonella* infeksiyonları epidemik ya da endemik olarak seyredilmekte ve özellikle bağışıklık sistemi zayıf olan yaşlılar ve yenidoğanlar başta olmak üzere immünsüpresif bireylerde ciddi sonuçlara yol açabilmektedir. İnsan *Salmonella* infeksiyonlarında primer kaynak kontamine et ve süt ürünleri gibi hayvan kaynaklı gıda olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde ülkeler arası gelişen ticari ilişkiler sonucunda gıda ürünlerinin tüm dünyada yaygın dolaşımı göz önüne alındığında, bu gıda ürünlerinden

kaynaklanabilecek *Salmonella* salgınlarının geniş coğrafi bölgeleri etkilemesi kaçınılmazdır (Erdem, 2013). Düşük miktarda *Salmonella*'nın bile çeşitli klinik belirtiler göstermesi, sepsis ve ölümlerle sonuçlanması, bu bakterinin patojenitesinin önemini göstermektedir. Bu bakterinin biyofilm özelliğinin de bu konuda önemli bir yerinin olduğu düşünülmektedir (Karaca, 2011).

Biyofilm, bakterilerin canlı veya cansız yüzey üzerinde oluşturdukları polimerik matriks içerisinde çoğalmasıdır. Biyofilm içerisinde canlı-cansız mikroorganizmalar, organik inorganik maddeler ve mikroorganizmaların ürettiği hücre dışı polimerik maddeler (EPS) bulunmaktadır. Tüm bu içerik nedeniyle, biyofilm tabakası kapalı bir mikrokoloni olarak şekil alır. *Salmonella*, doğal ortamda biyofilm oluşturabilmekte ve 'rdar' fenotipi olarak adlandırılan çok hücreli bir fenotip de gözlenebilmektedir. 'Rdar' fenotipi *Salmonella*'ya kurumaya ve sodyum hipoklorüre karşı direnç kazandırmaktadır (Erdem, 2013). Bu özelliğin patojen bir mikroorganizma da var olması, bu mikroorganizmanın gıdalarda tutunabilme kabiliyetini arttıracak sanılmaktadır (Karaca, 2011).

Biyofilmler, gıda işleme süreçlerinde normal temizlik işlemleri ile ortadan kaldırılamamakta ve bu nedenle gıdaların işlendiği yüzeylerdeki biyofilmler bu yüzeylerle temas eden gıdalar için kontaminasyon kaynağını oluşturmaktadır. Çevresel koşullarda, biyofilmler patojen mikroorganizmalar için rezervuar özelliği göstererek yüzeylerin ve suyun kontaminasyonuna neden olmaktadır. Biyofilm oluşumu gıda işleme ünitelerinde aynı zamanda ısı transfer sistemlerinin bozulmasına ve metal yüzeylerde korozyona neden olmaktadır. *Salmonella* kümes hayvanlarının işlendiği nemli ortamlarda ideal bir biyofilm üreticisidir. *Salmonella*'nın gıda işlenen ortamlardaki çimento, plastik ve paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilm üretebildiği saptanmıştır (Joseph ve diğerleri, 2001). Gıda endüstrisi ve gıda kaynaklı hastalıklar için son derece önemli bir bakteri olan *Salmonella*'nın Türkiye kaynaklı açıkta satışa sunulan tavuk ve gıda örneklerinden izole edilenlerinin tümünün biyofilm üreticisi suşlar olması, dikkat edilmesi gereken bir diğer durumdur. Gelişmekte olan ülkemizde gıda işleme süreçlerindeki sanitasyon işlemlerinin biyofilm oluşumunun dikkate alınarak yapılması önem arz etmektedir (Karaca, 2011).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. *Salmonella* Hakkında Genel Bilgi

Salmonella'lar, Dünya'da ve Türkiye'de önemli bakteriyel patojenler arasındadır (Çarlı ve diğerleri, 2001). *Salmonella* infeksiyonlarını önlemek, hem gıda endüstrisi, hem de kanatlı hayvanların sağlığı açısından önemlidir. İnfeksiyondan korunma ancak iyi gözlem ve kontrol programları ile başarılabilir (Humbert ve diğerleri, 1997). Kanatlı hayvanlar, gıda zinciri vasıtasıyla insanlara bulaşabilen *Salmonella*'ların en önemli rezervuarlarından birisi olduğundan dolayı (Stone ve diğerleri, 1994), resmi yetkililerce Salmonellozis gıda kaynaklı hastalığın önlenmesinde kanatlı üreticileri için öncelikli hastalık olmaktadır (Olivera ve diğerleri, 2002).

Kanatlılarda Salmonellozis, üç hastalık içerisinde sınıflandırılır: *S. Pullorum*'un neden olduğu pullorom hastalığı, *S. Gallinarum*'un neden olduğu tavuk tifosu (Shivaprasad, 2003) ve insanlarda gıda kaynaklı hastalıklarla ilişkili olan farklı grupların serovarları tarafından oluşturulan paratifo infeksiyonudur (İzgür, 2002; Oliveira ve diğerleri, 2002). 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 (Oliveira ve diğerleri, 2002). Dünya çapında, paratifoid *Salmonella*'lar gıda kaynaklı hastalık ajanlarının en yaygın olanları arasındadır ve WHO'nun raporuna göre, Amerika, Avrupa ve Afrika sağlık ajansları tavuk tüketimiyle ilgili olan bu tür hastalıklarda benzer bir artış olduğunu bildirmişlerdir (Rodrigue ve diğerleri, 1990). Ayrıca, geçtiğimiz 20 yılda *S. Enteritidis* Avrupa'nın birçok ülkesinde (Rabsch ve diğerleri, 2001) ve Amerika'da (Medici ve diğerleri, 2003) gıda kaynaklı zehirlenmelerin en yaygın sebeplerinden biridir. Bu gıdaların çoğunu tavuk ve yumurtalar oluşturmaktadır (Hargis ve diğerleri, 1995; Suzuky, 1994).

2.2. *Salmonella* Tarihçesi

Salmonella, Amerikalı bir patolog olan Daniel Elmer Salmon'a itafen adlandırılmıştır, ancak aslında bakteriyi 1885 yılında domuzlarda ilk keşfeden onun ortağı Theobait Smith'tir. Salmon ve Smith 1885'de domuz kolerası etkeni *Salmonella Choleraesuis*'i izole ettikten sonra bakteriyi ısı ile inaktive ederek ilk ölü tüm bakteri aşısını da hazırlamışlardır. 1887'de Pasteur Enstitüsünden Chamberland ve Roux bu konuda yayın yaparak ilk ölü bakteri aşısını hazırladıklarını belirtmişler, Salmon ve Smith'in öncelik iddiaları Pasteur ve Pasteur Enstitüsünün şöhreti karşısında yeterli yandaş bulamamıştır.

Isı veya formalin ile öldürülmüş bakteri süspansiyonunun aşı olarak kullanılabilceği anlaşılınca Almanya'da Pfeiffer ve Kolle, İngiltere'de Almroth Edward Wright 1896'da ölü tifo aşısını geliştirmişler ve bu aşı Wright tarafından Hint ordusunda 2,835 kişiye uygulanarak, şiddetli bölgesel ve genel reaksiyonlara rağmen, korunma yönünden ümit verici sonuçlar alınmıştır. Wright 1899'da Afrika'daki Boer Savaşı'nda İngiliz ordusunu aşılama istemiş ancak bazı doktorların insanlara bile bile mikrop enjekte edilmesine karşı çıkmaları nedeniyle ancak bir kısım askeri aşılayabilmiştir. Savaş sırasında İngiliz ordusunda 58,000 tifo olgusu, buna bağlı 9,000 ölüm görülmesi ve aşıllılarla aşısızlar arasındaki hastalık ve ölüm oranı farkı aşının etkinliğinin kabul edilmesine yol açmıştır (Popoff ve diğerleri, 2000). Tifonun modern antimikrobiyal tedavisinin başlangıcı, 1948'de Woodward ve diğerlerinin kloromisetin ile başarılı tedaviyi bildirmesi olarak kabul edilebilir (Woodward ve Kırvan, 1996).

2.3. *Salmonella*'ların Sınıflandırılması

Salmonella cinsi bakteriler ilk kez 1886 yılında Amerikalı bakteriyologlar T. Smith ve Daniel E. Salmon tarafından domuz etinden izole edilmiştir. İlk olarak *Bacterium suipestifer* olarak adlandırılan bakteri, 1900 yılında Lignieres tarafından önerilen *Salmonella* adıyla anılmaya başlanmıştır. 1960'lı yıllardan itibaren *Salmonella* ismi kabul edilmiş ve 1980 yılında Approved Lists of Bacterial Names' de yerini almıştır. *Salmonella*'lara ait olan özellikler Çizelge 2.1' de verilmiştir.

Çizelge 2.3. *Salmonella*'ların kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Koneman ve diğerleri, 2006)

Cins	K1a	Gaz	H ₂ S	Mr	Vp	İnd	Sit	Pat	Üre	Har	Ly	Arj	Orn	Onpg
<i>Salmonella</i>	Alk/A	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+/-	+	-
K1a, Kligler's iron agar, H ₂ S, hidrojen sülfür, mr,metil red, vp, voges preskauver, ind, indol, sit,sitrat, pad, fenilalenindeaminaz, üre, üreaz, har, hareket, lys, liysin, arj, arjinin, org, ornitin, onpg, onitrofenil- beta-D-galactopyranoside														

Salmonella nomenklatürü oldukça karmaşık ve tartışmalı bir mesele olmuştur. *Salmonella* cinsi mikroorganizmalar bütün *Enterobacteriaceae*'ların içinde en karmaşık olan mikroorganizmalardır ve Kauffman–White şemasına göre 2400'den fazla serotipi bulunmaktadır (Popoff ve diğerleri, 2000). 1 Temmuz 1983'den önce *Salmonella*'nın üç türü bulunduğu kabul edilmekteydi ve bunlar: *S. Choleraesuis*, *S. Typhi* ve çoğu serotipin ait olduğu *S. Enteritidis* idi. Günümüzde *Arizona*, *Salmonella* altgrupları ve bütün önceki türler aynı tür olarak düşünülmektedir ve altı farklı altgrupun bulunduğu yedi bölüme ayrılır. Eskiden altgrup V olarak bilinen *S. bongori*'nin, DNA–DNA hibridizasyon yöntemi ile farklı bir tür olduğu kabul edilmiştir (Reeves ve diğerleri, 1989). Bu nedenle *S. enterica* altı alttüre ayrılmakla birlikte artık *Salmonella*'nın iki türü bulunmaktadır. *Salmonella* türlerinin ve alttürlerinin farklı özellikleri de verilmiştir (Koneman ve diğerleri, 2006).

Çizelge 2.4. *Salmonella* türlerinin ve alttürlerinin klasifikasyonu (Koneman ve diğerleri, 2006)

<i>Salmonella</i> 'ların iki türü bulunmaktadır: Altı alttüre sahip <i>S. enterica</i> ve <i>S. bongori</i>
<i>S. enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> (I) : (Birçok serotipi vardır)
<i>S. enterica</i> subsp. <i>Salamae</i>
<i>S. enterica</i> subsp. <i>Arizonae</i>
<i>S. enterica</i> subsp. <i>Diarizonae</i>
<i>S. enterica</i> subsp. <i>Houtenae</i>
<i>S. enterica</i> subsp. <i>Indica</i>

<i>Salmonella</i> <i>Bongori</i> (eskiden alttür V olarak bilinirdi)

2.3.1. *Salmonella*'ların nomenklatürü

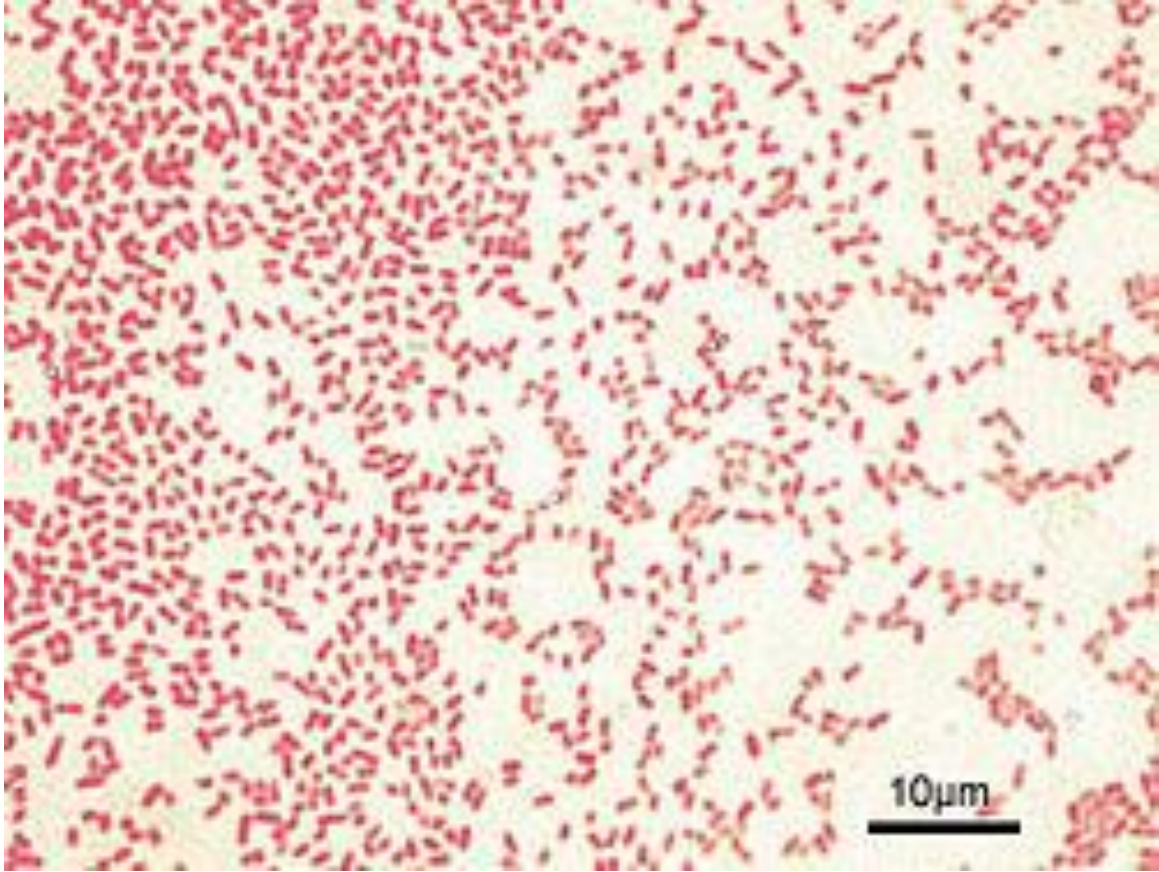
1966'nın başlarında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sadece alttür I'deki serotipleri adlandırmaya başlamıştır ve diğer tüm alttürlerdeki serotip adlarından vazgeçmiştir. CDC (Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi) bu pratiği uygulamış ve alttür I de ki serotip isimlerini, 1966'dan sonra tanımlanmış alttür II, IV, V ve *S. Bongori*'nin adlandırılmamış serotipleri için antijenik formüllerini kullanmıştır. İlk olarak bir serotipin cins ismi daha

sonra serotip kelimesinin kısaltması “ser” yazılır. Ondan sonra da serotip adı yazılır (*Salmonella* serotip veya ser Typhimurium veya *S. Typhimurium*) (Koneman ve diğeri, 2006). İnsan ve hayvanlardan izole edilen *Salmonella*’ların birçoğu *S. enterica* subsp. *Enterica* (I) alt grubuna dâhil olup bu grup bir serovar veya serotip içermektedir. Genellikle, ilk izole edildikleri şehrin ya da ilk izole edildikleri canlı türünün adını alırlar. Örneğin *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Dublin, ya da *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum denildiğinde Dublin serovarı ilk kez Dublin’de, *Typhi* serovarı tifoid ateş belirtisiyle seyreden bir hastalıktan ve Gallinarum serovarı ise tavuktan izole edildikleri için bu şekilde isimlendirilmişlerdir. Ancak çoğu kitap ve yayında bunlar kısaca *Salmonella Dublin*, *Salmonella Typhi* ve *Salmonella Gallinarum* diye adlandırılırlar ve tür isimleri de serotipi belirtmek için büyük harfle yazılır (İzgür, 2006).

2.4. *Salmonella*’ların Etiyolojileri

2.4.1. Morfoloji ve boyanma özellikleri

Salmonella’lar *Enterobacteriaceae*’ların bir üyesi olup Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz çomakçıklardır (Bilgehan, 2004). Boyutları 0,7– 1,5x2,0–5,0 µm’dır. Paratifoid suşların çoğu peritriş flagellaları vasıtasıyla hareketli olmasına karşın, (Barrow, 2000) Pullorum hastalığının etkeni olan, *S. Pullorum* ve Tavuk Tifosunun etkeni olan *S. Gallinarum* hareketsizdir (Li ve diğeri, 1993). *Salmonella*’lar Gram negatif olmalarına rağmen metilen mavisi ve karbon fuksin boyaları ile boyanabilirler (Gast, 2003).



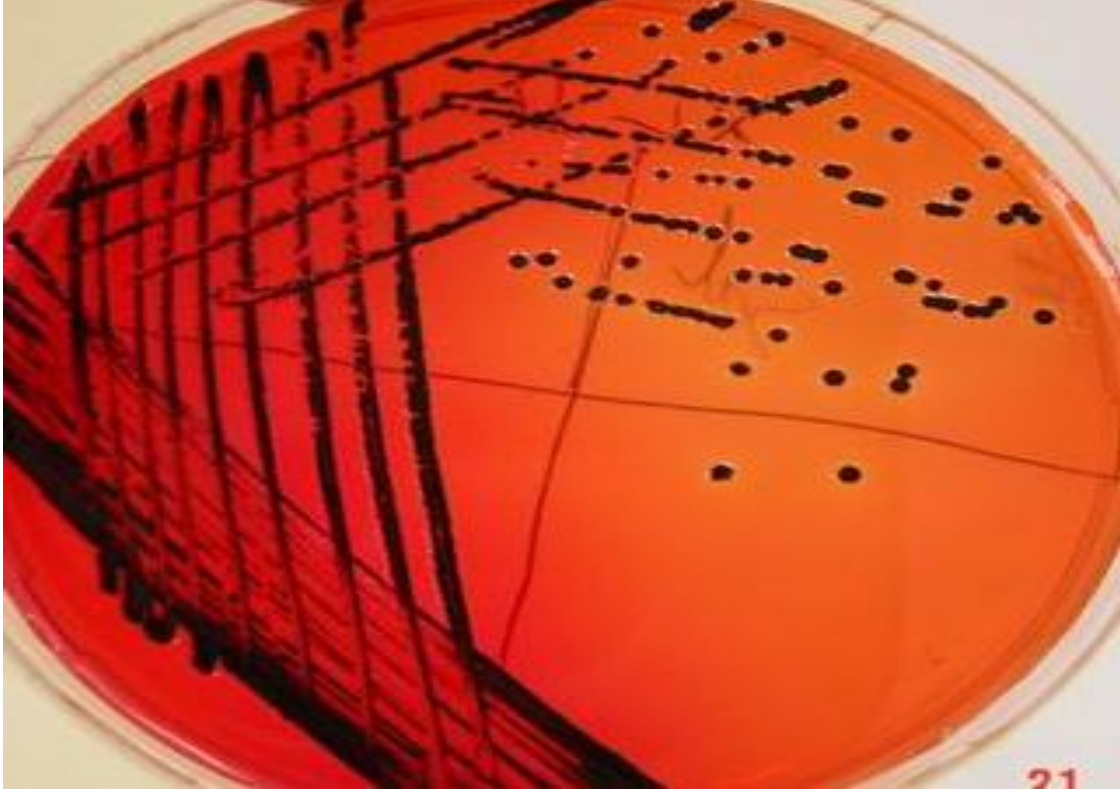
Resim 2.1. Mikroskop altında Gram negatif basil-kokobasil bakterilerin morfolojisi (<http://en.wikipedia.org>)

2.4.2. Üreme ihtiyaçları

Salmonella'lar fakültatif anaerobiktirler ve hem anaerobik hem de aerobik koşullar altında iyi üreme özelliğine sahiptirler. Üremeleri için gerekli olan ısı derecesi 37°C'dir, ancak bazıları yaklaşık 5–45°C de üreyebilirler. *Salmonella*'lar yaklaşık pH 4–9.0 aralığında üreyebilmelerine rağmen optimum pH'ları 7.0'dır. Uygun olmayan pH koşullarında üreyen etkenler flagella ve fimbriya gibi bazı özelliklerini kaybederler. *Salmonella*'ların besin ihtiyaçları oldukça basittir ve üremelerini destekleyen karbon ve nitrojen ihtiva eden çoğu besiyerinde üreyebilirler (Gast, 2003). *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* nutrient agar veya buyyonda kolayca ürerler. Bu organizmalar selektif zenginleştirme besiyeri olan Selenite–F ve Tetrathionat buyyonda diferansiyel besiyeri olan Brilliant Green, Bismuth Sülfite ve MacConkey agarda üreyebilirler (Shivaprasad, 2000, 2003). Tetrathionatlı buyyon, içerdiği pepton ve safra gibi maddelerle *Salmonella*'ların üremesini sağlarken, yine içerdiği kalsiyum karbonat, sodyum tiyosülfat, iyot ve potasyum iyodür ile özellikle dışkıda bulunan *Escherichia coli*'lerin üremesini inhibe eder (İzgür, 2006).

2.4.3. Koloni morfolojileri

Agardaki tipik *Salmonella* kolonileri yaklaşık 2–4 mm çapında, küçük, yuvarlak, S-tipli ve parlak özellik gösterirler (Gast, 2003; zgr, 2006). *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum*'un kolonileri bu özelliklere ek olarak mavi-gri ile grimsi-beyaz renkte, homojen, 3–4 mm veya daha büyük çapa sahiptirler (Shivaprasad, 2003).



Resim 2.2. XLT4 Agar'da üreyen *Salmonella* kolonileri (<http://www.miniscience.com>)



Resim 2.3. Merkezi siyah etrafı şeffaf morfoloji gösteren *Salmonella* kolonileri (<http://www.labm.com>)

2.4.4. Biyokimyasal özellikleri

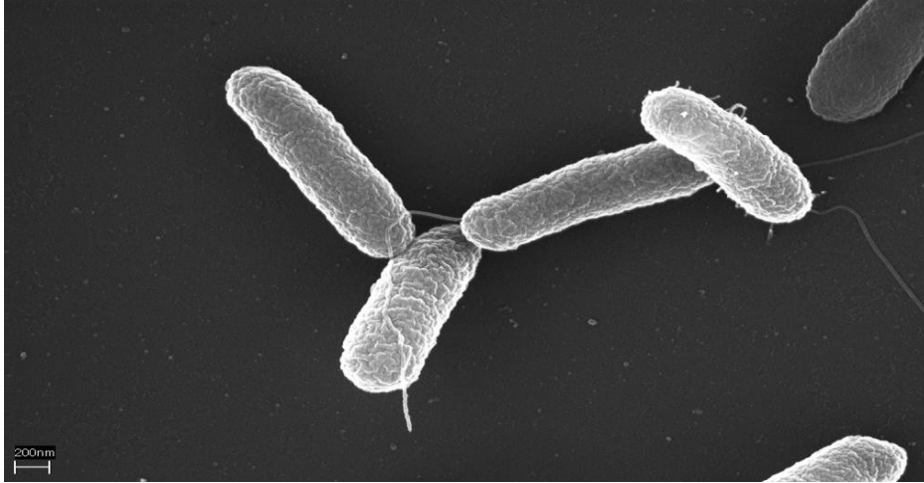
Tipik paratifo etkeni olan *Salmonella*'lar mannitol, maltoz, dulsitol, fermente ederken, glikozdan da hem asit hem de gaz oluştururlar. Malonat, sükröz, salisin ve laktozu ise fermente edemezler. H_2S , lizin ve ornitin dekarboksilat pozitifdir, nitrati nitrite indirgerler ve sitrati kullanırlar. Parotifo etkeni olan *Salmonella*'lar üreyi ve jelatini hidrolize edemezler, indol ise negatiftir (Holt ve diğerleri, 1994). Ayrıca Metil-Red pozitif ve Voges-Proskauer negatiftir. *S. Gallinarum*'un dulsitolü fermente etmesine karşılık *S. Pullorum*'un fermente edememesi bu iki mikroorganizma arasındaki en önemli biyokimyasal farklılıktır. Aynı zamanda *S. Pullorum*, genellikle, maltozu da fermente edemez. Bu mikroorganizmalar arasındaki en büyük farklılık *S. Pullorum* kültürlerinin ornitini hızlı bir şekilde dekarboksile etmelerine karşılık, *S. Gallinarum* kültürlerinin edememesidir (Shivaprasad, 2003).

2.4.5. Antijenik yapı

Salmonella'larda önem taşıyan üç çeşit antijen bulunmaktadır. Bunlar; Somatik "O" antijenleri, Flagellar "H" antijenleri ve yüzeysel antijenlerdir. *Salmonella*'lar O antijenleri

ile gruplara, H antijenleriyle de serovarlara ayrılır. O somatik antijenleri, bakterilerin hücre duvarındaki lipopolisakkarit katmanın polisakkarit biriminden ibarettir. Isıya, alkole (%96'lık alkole 4 saat) ve asite dirençlidirler. Formol etkisi ile aktiviteleri kaybolur veya çok azalır. Hareketli olsun veya olmasın tüm *Salmonella*'larda en az bir, çoğu kez birden çok sayıda O antijeni bulunur. *Salmonella* cinsi mikroorganizmalarda saptanmış 60'dan çok ve değişik yapıda O antijenleri vardır. *Salmonella*'lardaki O antijenlerinin bazıları *Escherichia*, *Citrobacter*, *Shigella* ve *Proteus* spp. gibi başka bakterilerde de bulunabilirler (Bilgehan, 2004). Somatik "O" antijenik yapısı, *Salmonella*'ların 60'dan fazla sero gruba ayrılmasını sağlayan değişik faktörler içermektedir. Bu faktörler; 1, 2, 3, 4, 5, ... gibi sayılarla ifade edilmekte ve ortak antijenik faktörleri içeren *Salmonella*'lar aynı grup içerisinde toplanarak grup adları alfabetik harflerle (A, B, ...,Z) isimlendirilmektedir. Şimdiye kadar 67 grup ortaya konmuş olup harfler yeterli gelmediğinden harf + rakamla belirtilmiştir. Örneğin "O" somatik antijenin 9 ve 12 faktörlerini ortak içeren *S. Typhi*, *S. Enteritidis*, *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* bu gruplandırılmada D 1 serogrubunda yer almışlardır (İzgür, 2006). "H" flagellar antijenleri protein yapısındadır. 60°C'nin üzerinde ısıtılmakla, alkol, asit ve proteolitik fermentlerin etkisi ile harap olurlar. Formole dirençlidirler. "H" antijenleri birbirlerinden ayrı yapı ve karakterde değişik komponentlerden yapılmışlardır. Bu antijenlerin bir kısmı *Salmonella*'lar için özgüldür ve değişmezler. Bunlara spesifik faz veya Faz: 1 antijenleri adı verilir. Bu antijenik faktörler a, b, c,z'ye kadar küçük harflerle ve alfabe harfleri yeterli olmadığından z1, z2,..... olarak adlandırılmışlardır. H antijenlerinden diğer bir kısmı ise kültürlerde üreme esnasında değişerek yerlerine yeni yapıda antijenler belirir. Bu sonuncular birçok *Salmonella*'da rastlanabildiklerinden bunlara da nonspesifik veya Faz-2 antijenleri adı verilir. Bunlar sayılarla (1, 2, 3, ...) ve bazen harflerle gösterilirler (n, x gibi antijenler hem birinci hem de ikinci safhada bulunurlar) (Bilgehan, 2004). *Salmonella*'ların "H" antijen grubundan sadece bir çeşit Faz antijen faktörlerini içerenler monofazik; hem Faz-1 ve hem de Faz-2 antijenlerini birlikte taşıyanlar ise difazik bakteriler olarak adlandırılmaktadır. *Salmonella*'larda bulunan "Vi" antijeni, Somatik "O" antijeninin en dışında glikolipid yapısında yüzeysel bir antijendir. Tüm *Salmonella*'larda bulunmaz. Bulunması halinde bakterilerin anti-O bağışık serumları ile aglütinasyonunu önler. 60 derecede bir saat ısıtıldığında bakterilerden ayrılarak etkinliğini kaybeder. *Salmonella*'ların yüzeysel antijenlerinden polisakkarit yapısında M antijeni nadir olarak, mukoid koloni oluşturan *S. Schottmuelleri* kökenlerinde görülebilir. Bu "O" antijenini maskeleyerek aglütinasyonunu önler. Pilus antijenleri (özellikle "Tip-1 Fimbria" antijenleri) bazı *Salmonella* türlerinde

bulunmaktadır (İzgür, 2006). *Salmonella*'lardaki yüzeysel fimbriya antijenlerinin önemi, bu antijenlere karşı antikor içeren aglütinan serumlarla, bakterilerin aglütine olmaları, bu suretle O, H ve Vi antijenlerinin araştırılmasını engellemeleri yönündedir (Bilgehan, 2004). İzole edilen *Salmonella*'ların serotiplendirilmesi buldukları O ve H antijenlerinin belirlenmesi ile olur (Gast, 2003). İdentifikasyonda öncelikle "O" grubu antiserumların karışımı kabul edilen *Salmonella* polivalan antiserumu ile yapılan aglütinasyon testinde pozitif sonuç elde edilir ise, incelenen etkenin *Salmonella* spp. olduğu kabul edilip, daha sonra "O" spesifik grup antiserumları (A, B, C, D, ...) ile bu etken tekrar aglütinasyona tabi tutulur. Hareketli *Salmonella* etkenlerinde, bu testlere ilaveten Faz-1 ve Faz-2'ye ait antiserumlar da kullanılarak izole edilen etken serotip düzeyinde identifiye edilir (İzgür, 2006).



Resim 2.4. *Salmonella Typhi* (<http://Salmonellatyphi.org>)

2.4.6. Kimyasal ve fiziksel ajanlara duyarlılığı

Genel olarak, *S. Pullorum*, *S. Gallinarum* ve paratifoid etkenlerin dış etkenlere karşı duyarlılıkları aynıdır. *Salmonella*'lar uygun çevre koşullarında birkaç yıl canlılığını sürdürürler, ancak *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* müsait olmayan çevre koşullarına, kimyasallara ve sıcaklığa paratifo etkenlerine göre daha az dayanıklıdır. Örnek olarak *S. Gallinarum* 60°C de 10 dakikada, direkt güneş ışığına maruz kalması durumunda birkaç dk, 1:1000'lik fenolde, %1'lik potasyum permanganatda 3 dk ve %2'lik formalinde 1 dk içerisinde canlılığını yitirir. Agarda üreyen *S. Gallinarum* kültürleri çok hızlı bir şekilde virülansını kaybedebilir. *S. Gallinarum* tavukların dışkılarında kapalı kümeslerde, 10 gün; açık kümeslerde 2 günden daha az canlılığını sürdürebilmektedir (Shivaprasad, 2003). Bu

mikroorganizmalar dış etkenlere karşı oldukça dayanıklı olmasından dolayı sürekli tekrarlayan *Salmonella* spp. durumlarında su aktivitesinin araştırılması önem taşımaktadır (Oparo ve diğerleri, 1992). Bunlara ek olarak hem *S. Enteritidis* hem de *S. Typhimurium*'un havada birkaç saat canlı kaldığı da bildirilmiştir (McDermid ve Lever, 1996).

2.4.7. Toksinleri

Salmonella'lar endotoksin, enterotoksin ve sitotoksin olmak üzere üç ayrı toksin sentezlemektedirler (İzgür, 2006). Sentezledikleri bu üç toksin *Salmonella*'ların patojenitelerinde önemli rol oynamaktadır. Endotoksin *Salmonella*'ların lipopolisakkarid hücre duvarında bulunan lipid-A kısmı ile ilgilidir. Bakteri hücresi lize olması durumunda açığa çıkan endotoksin kan dolaşımına karışır ise, ateşe neden olur. *S. Enteritidis*'den elde edilmiş endotoksinin 2 haftalık civcivlere intravenöz olarak verilmesi durumunda dalak ve karaciğerde lezyonlar oluşur (Gast, 2003). Lipopolisakkarid, aynı zamanda bakteri hücresini konak savunma sistemindeki fagositler tarafından fagosite edilmelerine karşı korumaktadır (Craven, 1994). *Salmonella*'ların sentezlediği enterotoksinler bağırsak epitelyum hücrelerinden aşırı sıvı salgılamasına sebep olmakta, bu da bağırsak lümeninde sıvı birikimi dolayısıyla diareye neden olmaktadır (Koupal ve Deibel, 1975). Hayvanlardan izole edilen 123 *S. Typhimurium* suşunun %44'ünde enterotoksin belirlenmiştir (McDonough ve diğerleri, 1989). Enterotoksin sentezlemeyen mutant suşlar hücre kültürlerinde daha az mukozal hasara neden olurken, farelerde de daha düşük mortaliteye sebep olmaktadır. *Salmonella*'ların sitotoksinleri protein sentezini inhibe ederek bağırsak epitel hücrelerinde yapısal hasarlara neden olur (Chen ve diğerleri, 1998).

2.4.8. Plazmidleri

Salmonella plazmidleri, antimikrobiyal ilaçlara direnci kodlayan genleri ve çeşitli virulans özelliklerini kodlayan genleri taşırlar. Birçok *Salmonella* serotipinde, birbirleriyle belirgin bir ilişkisi olmayan farklı büyüklükteki plazmidlerde saklanmış bir "virulans" bölgesinin (*Salmonella* plazmid virulans "spv" genleri) varlığı, DNA problemleri ile hibridizasyonlar yapılarak ortaya konulmuştur (Erdem, 1995; Erdem ve diğerleri, 1994). *Salmonella*'larda farklı serotiplere ait suşların plazmid analizleri, belirli serotiplerin, serotipe özgü denilebilecek plazmidler taşıdıklarını ortaya koymuştur. Bu serotipler, *S.Typhimurium*,

S.Dublin, *S.Enteritidis* ve *S.Choleraesuis*'tur. *Salmonella*'lardaki "spv" genleri de daha çok serotipe özgü plazmidlerde yer almaktadır. Bazı *Salmonella* serotiplerinde, çoğu suşlar yalnızca serotipe özgü plazmidleri taşıırken (örn: *S.Enteritidis*, *S.Dublin*), çoğu suşlarda hiç plazmid bulunmaz (örn: *S.Typhi*, *S.Infantis*). Bu serotiplerde plazmid analizleri, epidemiyolojik araştırmalarda, yeterli olmayabilir (Erdem, 1995).

2.4.9. Fajları ve faj tipleri

Salmonella'lar çeşitli kaynaklardan elde edilen fajlara (bakteriyofajlara) duyarlıdırlar. 1950'lerden beri çeşitli *Salmonella* serotipleri faj tiplendirme yöntemi ile, referans laboratuvarlarında incelenmektedir. Bu teknik hızlıdır, ucuzdur ve stabil ayıraçlar kullanılır. Serotiplendirme sonuçlarının doğrulanmasını ve aynı serotipe ait suşların daha ileri ayırımını sağlar. Sık karşılaşılan veya klinik önemi olan *S. Typhi*, *S. ParaTyphi B*, *S. Typhimurium*, *S. Hadar*, *S. Virchow* ve *S. Enteritidis* serotipleri için faj tiplendirme şemaları geliştirilmiştir. Bu şemalar, çeşitli kaynaklardan izole edilmiş olan, serolojik olarak farklı bakteriyofajların belirli serotipe ait suşlarda oluşturdukları lizis modeline dayanmaktadır (Mutlu ve diğerleri, 1999). İlk faj tiplendirme şeması 1938'de *S. Typhi* için düzenlenmiş ve bugün *S. Typhi*'nin faj tipi (PT) sayısı 106'ya ulaşmıştır. *S. Typhimurium*'un 1977'de 232 PT belirlenmiş ve buna bugün 40 tip daha eklenmiştir. En yaygın tipler, PT 12, PT 49, PT 103 ve PT 204'tür. *S. Enteritidis*'in 50'nin üzerinde PT'i tiplendirme şemasında yer almaktadır. İngiltere'de 1981-1986 yıllarında izole edilen *S.Enteritidis* suşlarının %86'sı PT 4 ve PT 8'dir. PT 4 özellikle kümes hayvanları ve ürünleri ile ilişkili tiptir (Erdem, 1995). Türkiye'de de PT 4'ün *S.Enteritidis*'in en yaygın faj tipi olduğu belirlenmiştir. 1991'de Ang-Küçüker ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada İstanbul'da izole edilen 23 *S. Enteritidis* suşunun faj tipleri, 6 suş PT 4, 6 suş PT 6a, 6 suş PT 6, 2 suş PT 8, 1 suş PT 7 ve 2 suş ise tiplendirilmeyen şekilde bildirilmiştir. 1994'te Erdem ve diğerlerinin yaptıkları çalışmada ise Türkiye'nin çeşitli şehirlerinden izole edilen 38 *S. Enteritidis*'in faj tiplerinin 25 suş PT 4, 7 suş PT 6a, 3 suş PT 6, 2 suş PT 1b, 1 suş PT 1 olduğu belirlenmiştir (Erdem, 1995).

2.4.10. Direnç

Salmonella'lar çevre koşullarına oldukça dirençlidir. Yaklaşık olarak toprakta 360-480 gün, suda 20-200 gün, atık suda 500-1000 gün, sığır dışkısında 930 gün, taze ette 14 gün,

dondurulmuş sütte 60-140 gün, peynirde 35-270 gün, tereyağında 105 gün, süttozunda 590 gün, dondurmada 2500 gün, balık ununda 360 gün süreyle canlılığını koruyabilmektedir. *Salmonella*'lar % 8 tuz konsantrasyonunda canlılığını koruyabilir. Isıya dayanıksızdırlar. 65,5°C'de 37 saniyede, 74°C'de 0,55 saniyede inaktive olurlar (Gast, 2003). *Salmonella*'lar doğrudan temas ettiklerinde, dezenfektanlara özellikle fenol ve krezole duyarlıdır. Normal yoğunluktaki klor konsantrasyonları, sulardaki *Salmonella*'ları öldürür. Dışkı parçaları ve diğer organik maddeler içindeki *Salmonella*'lara dezenfektanlar etkisizdir. *Salmonella*'ların bazı kimyasal maddelere ve boyalara karşı özel dirençleri vardır. Bu maddelere karşı diğer enterobakterilerden daha dirençlidirler. Kristal viyole, Brilliant yeşili, malasit yeşili, deoksikolat, safra tuzları, bizmut sitrat, lityum klorür ve tetrasyonat gibi maddeler uygun yoğunluklarda *E. coli*'yi inhibe ettikleri halde, *Salmonella*'lara karşı etkisizdirler ya da üremelerini arttırıcı etki yaparlar. Bu maddeler *Salmonella*'ların üretilmesi için seçici besiyerlerinin yapımında kullanılmaktadır. *Salmonella*'ların dezenfektanlara ve kimyasal maddelere dirençli oluşları nedeniyle *S. Choleraesuis* serotipi dezenfektanların etkinliğini ölçen testlerde standart test bakterisi olarak kullanılır (Erdem, 1995).

Salmonella'larda 1970'lerin başından beri giderek artan şekilde antibiyotiklere direnç gelişmektedir. *S. Typhimurium* serotipinde antibiyotik direnci, diğer serotiplerden daha yaygındır. Son yıllarda büyük oranda tetrasiklinlere, ampisilin, streptomisin, sulfonamid ve kloramfenikole direnç belirlenmeye başlanmıştır. Son yıllarda ayrıca betalaktamaz üreterek betalaktam antibiyotiklere dirençli olan *Salmonella* klonları dünyanın çeşitli bölgelerinden ve Türkiye'den de bildirilmektedir. 1970'lerin başından beri Meksika, Hindistan ve Güneydoğu Asya'da büyük salgınlar yapan farklı faj tiplerine ait, kloramfenikole dirençli *S. Typhi* suşlarının izlenmesinde antibiyogram başlıca yöntem olmuştur (Fluit ve diğerleri, 1993). *Salmonella*'larda antibiyotik direnci genellikle insan ve veteriner hekimlikte kullanılan antibiyotiklerin baskısının bir sonucu olarak kazanılan plazmidlerce kodlanır. Bu özelliği kodlayan genler büyük oranda bulasıcı (konjugatif) plazmidlerdir. Ayrıca belirli bir antibiyotiğe veya antibiyotiklere karşı oluşan direnç tümüyle farklı plazmidlerce düzenlenebilir veya farklı plazmidlerin aynı bakteri hücresinde bir arada bulunması sonunda, birbirleriyle ilişkisiz suşlarda benzer fenotipik direnç modeli ortaya çıkabilir. Bu yüzden *Salmonella*'larda antibiyogramı, serotiplerin alt ayrımında tiplendirme yöntemi olarak kullanmak doğru değildir. Ancak kolay, ucuz ve her klinik mikrobiyoloji laboratuvarında ortaya konulan bir özellik olması nedeniyle, antibiyotik duyarlılık

testlerinde elde edilen direnç modelleri, diğer tiplendirme yöntemlerine ek olarak, epidemiyolojik amaçlar için kullanılmaktadır (Erdem, 1995).

2.5. Salmonellozis'in Epidemiyolojisi

2.5.1. Konakçıları

S. Pullorum ve *S. Gallinarum*'un doğal konakçıları tavuklardır. Tavuklardan başka hindilerde, bıldırcınlarda, güvercin serçe ve papağanlarda da bu hastalıklar görülmektedir (Pennycott ve Duncan, 1999; Shivaprasad, 2000). Ayrıca *Pullorum* infeksiyonlarının kanaryalarda, kanatlı tifosunun da devekuşlarında görüldüğü bildirilmiştir. Ördeklerin bu patojenlere karşı dirençli olduğu ortaya konulmuştur (Barrow ve diğerleri, 1999). *Pullorum* hastalığı genellikle gençlerde görülmesine rağmen, erginlerde de zaman zaman görülebilmektedir. Kanatlı tifosu ergin hastalığı olarak kabul edilmesine karşın, gençlerde, özellikle ilk bir aylık civcivlerde %26 mortalite oluşturabilmektedir. Dolayısıyla gençlerin erginlere göre, dişilerin de erkeklere göre hastalığa daha duyarlı olduğu söylenebilir. *S. Pullorum*'un doğal ve deneysel olarak kanatlı türlerinden başka; şempanze, tavşan, kobay, sinsilla, domuz, kedi, tilki, köpek, mink ve sığırdan da görülebildiği, buna karşın insanda nadiren bu etkene ait infeksiyon saptandığı bildirilmiştir (İzgür, 2002; Gast, 2003).

Konakçı spesifik serotiplerin (*S. Pullorum*, *S. Gallinarum*) tersine, konakçı spesifik olmayan (paratifoid serotipler) serotiplerin epidemiyolojileri komplekstir. Bu nedenle de konak canlıda konakçı spesifik olmayan serotipler hiçbir hastalık belirtisi göstermeksizin çok sayıda mikroorganizmanın sindirim kanalı vasıtasıyla etrafa saçılmasına yol açarlar. Kanatlılar için bulaşma kaynakları kendileri, yem ve çevre olarak Kanatlılarda paratifo infeksiyonuna neden olan serotipler, aynı zamanda insanlarda görülen non-tifoid *Salmonella* infeksiyonlarına neden olurlar. CDC'ye göre 2001 yılında *Salmonella*'ların en çok izole edilen 3 serotipi tüm izolatların %50'sini oluşturmuş ve sırasıyla *S. Typhimurium*'un %22, *S. Enteritidis*'in %18 ve *S. Newport*'un %10 olarak tespit edildiği bildirilmiştir (Koneman ve diğerleri, 2006).

2.5.2. Dağılım ve insidansı

S. Pullorum ve *S. Gallinarum* dünya çapında sporadik bir dağılıma sahiptir (Barrow, 1992). Kanada da ve birçok Avrupa ülkesinde Tavuk tifosu çok düşük bir insidansa sahiptir. Meksika, Orta ve Güney Amerika, Afrika ve Hindistan'da zaman zaman *Pullorum* ve Kanatlı Tifosu ortaya çıkmaktadır. İdentifiye edilmiş olan 2400'den fazla *Salmonella* serotipinin %10 kadarı kanatlılardan izole edilmiştir (Gast, 2003). USDA (United State Department of Agriculture) Ulusal Veteriner Laboratuvarının Temmuz 1998- Temmuz 1999 arasında klinik ve çevre örneklerinden en çok identifiye ettiği Paratifo serotipleri, *S. Heidelberg*, *S. Kentucky*, *S. Senftenberg*, *S. Enteritidis*; tavuklardan, *S. Thompson*; hindilerden ise *S. Senftenberg*, *S. Heidelberg*, *S. Hadar*, *S. Muenster* ve *S. Typhimurium*'dur. CDC (The Center For Disease Control and Prevention) 1998 de Amerika'daki insanlardan en çok izole edilen 10 serotip içinde (*S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis*) 7'sinin tavuk ve hindilerden izole edilenlerle aynı olduğunu bildirmiştir. Bu sonuç da *Salmonella*'nın insan ve kanatlı rezervuarları arasında önemli bir epidemiyolojik bağlantısının olduğunu göstermektedir *S. Enteritidis* yüksek invazyon yeteneğiyle ovaryum ve ovidukt'a geçmekte böylece yumurta içeriğini kontamine edebilmektedir (Keller ve diğerleri, 1997). *S. Typhimurium* ile beraber diğer Paratifoid etkenlerinde yumurtaya içeriğinde bulunabildiği gösterilmiştir (Williams ve diğerleri, 1998). *S. Enteritidis* ticari yumurtacı ve broyler sürülerinden alınan yumurta içeriklerin de saptanmıştır, ancak yumurtanın *S. Enteritidis* ile kontaminasyon insidansı çok düşük bulunmuştur. İngiltere'de doğal yollarla infekte olmuş 17 yumurtacı sürüde yapılan araştırmada, *S. Enteritidis*'in yumurta içeriklerinde %1'den daha düşük oranda olduğu saptanmıştır (Humphrey ve diğerleri, 1989). Kanada'da, hem doku örneklerinden hem de çevre materyallerden *S. Enteritidis* izole edilen iki yumurtacı sürüde, mikroorganizmanın yumurta kontaminasyon oranının %0.06 olduğu bildirilmiştir (Gast, 2003). Amerika'da Hensler ve diğerlerinin (1998), *S. Enteritidis* ile infekte ticari sürelerde kotamine yumurta prevalansının %0,0264 olduğunu açıklamışlardır.

2.5.3. Bulaşma

Tavuklarda hastalıklara neden olan *Salmonella* türleri çok farklı kaynaklardan bulaşabilirler. Özellikle, hayvansal protein içeren kontamine yemler *Salmonella*'nın bulaşmasında önemlidir (Davies ve diğerleri, 1997). Yeme deneysel olarak yapılan

inokulasyon çalışmaları, yemde çok az seviyelerde *Salmonella* spp. bulunması halinde bile, o yemi tüketen tavuklarda infeksiyonun olduğunu göstermiştir. *Salmonella* spp. inokulasyonu yapılmış yemde etkenin 2 yıl süre ile etkenin canlılığını sürdürdüğü, yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Horizontal bulaşmaya kanatlılar arası direkt temas; (infekte tavuklar arası kanibalismus ve infekte derideki yaralarla temas) kontamine dışkı ve su aracılık eder (Gast, 2003). *Salmonella*'lar, dışkı ve kirli alanların üzerinde uzun süre canlı kalabilmektedirler. Aynı zamanda kanatlı hayvan dışkılarında 28 ay kadar canlılıklarını koruyabilmektedirler (Ward ve diğerleri, 2003). Kümeslerde çalışan kişiler ve ziyaretçiler korunma önlemleri alınmadığı takdirde, çizmeleri, elleri ve üzerindeki kıyafetler vasıtasıyla etkenleri bir kümeden diğerine hatta bir işletmeden diğerine, bulaştırabilirler. İnsanların kanatlılara *Salmonella* bulaştırması, ticari yumurtacılar ve vahşi hayvanlarda yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Kinde ve diğerleri, 1997). Benzer olarak işletmelere girip çıkan araçlar, vahşi kuşlar, memeliler ve insektler infeksiyonun taşınmasına yol açarlar. Yumurtacı sürülere *S. Enteritidis*'in bulaştırılmasında rezervuar olarak özellikle farelerin önemli bir yeri olduğu bildirilmiştir.

Vertikal bulaşma şekli, özellikle, *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum* infeksiyonlarında önem taşımakta ve sadece infekte olan kanatlılar değil aynı zamanda sonraki jenerasyonların da infekte olmasına neden olmaktadır. Vertikal bulaşma mikroorganizmaların ovuma yerleşmesi ve yerleşme sonrası oluşan ovulasyonda yumurtayı infekte etmesi ile oluşabilir. Yumurta bulaşmasında yumurta sarısında bulunan antikor seviyesi bulaşmayı etkilemektedir (Shivaprasad, 2003). Tavuklarda infeksiyonun transovariyel biçimde bulaşmasına neden olan önemli etkenlerden bir diğeri de *S. Enteritidis*'dir (Gast, 2003). İnsanlardaki nontifoid infeksiyonlarının yaklaşık yarısının sebebinin kontamine tavuk ve ürünlerinin olduğu bildirilmiştir. Bu da insanlara nontifoid etkenlerin bulaşmasında tavukların önemli bir rolünün olduğunu göstermektedir. *Salmonella*'lar yumurtaya direkt veya transovariyal biçimde geçebildiklerinden, insanlara mikroorganizmanın bulaşmasında yumurtalarda ön plana çıkmaktadır. Özellikle çiğ veya iyi pişmemiş yumurta içeriği (evde yapılan mayonez, dondurma, krema v.b. gıdalar) ile bulaşmada *S. Enteritidis*'in önemi, yapılan çeşitli çalışmalar ile ortaya konmuştur (Koneman ve diğerleri, 2006).

2.6. Yaptığı Hastalıklar

Salmonella'lar, insanlarda 4 değişik klinik tablo oluştururlar.

- Gastroenterit
- Tifo ve paratifo
- Septisemi ve lokal organ infeksiyonları
- Taşıyıcılık

2.6.1. Gastroenterit

En sık karşılaşılan *Salmonella* infeksiyonları gastroenterittir. İnsanlarda en sık *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* serotipleri bu tabloya yol açmaktadır. Fakat her *Salmonella* serotipinin insanlarda gastroenterit oluşturabileceği kuramsal olarak kabul edilmektedir. Bol miktarda bakteri bulunan su ve yiyeceklerin çiğ veya az pişmiş olarak tüketilmesi sonunda gelişir. Kuluçka süresi alınan bakterinin serotipine ve sayısına bağlı olarak değişir. Genellikle kısadır, 2-48 saattir. Ani başlangıçlıdır. Genellikle bulantı, kusma ile başlar, baş ağrısı eşlik eder. Kısa süre sonra kramp tarzında karın ağrısı ve ishal başlar. Dışkılamamanın sıklığı ve niteliği, diyarenin süresi değişkenlik gösterir. Günde birkaç kez olan yumuşak kıvamlı dışkılamadan, ağır su gibi koleraya benzer çok sayıda dışkılamaya kadar değişen özellikte olabilir. Dışkıda kan ve mukus nadiren bulunabilir. Bazen apandisit taklit edebilir. Olguların %50'sinde 39°C'ye yükselen ateş görülür ve genellikle iki günde normale iner. Gastroenterit seyrinde, olguların %1-4'ünde geçici bakteriyemi görülür (Erdem, 1995). *Salmonella* gastroenteritleri genellikle 2-5 günde kendiliğinden düzelir. İki haftadan uzun süren *Salmonella* gastroenteriti nadirdir. Ancak bazı olgularda (%31 olguda; çoğunlukla 40 yaş üstündeki kadınlarda) post infektif irritable kolon sendromu gelişebilir. Altta yatan hastalığı olanlarda, bebeklerde bakteriyemi önemli sonuçlara yol açabilir. Özellikle bebeklerde ve yaşlılarda aşırı sıvı kaybı durumunda hipovolemik şok gelişebilir. Orak hücre anemisi olan hastalarda *S. Enteritidis*, osteomyelit yapabilir. *Salmonella* osteomyeliti, tüm osteomyelitlerin %5'ini oluşturmaktadır. Bengisun ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada *S. Enteritidis*'in uygun konaklarda osteomyelite yol açabileceği vurgulanmıştır (Topçu ve diğerleri, 1996).

2.6.2. Tifo ve paratifo

Genel infeksiyon şeklindeki bu tablo sıklıkla *S. Typhi*, *S. ParaTyphi A*, *S. ParaTyphi B*, *S. ParaTyphi C* tarafından oluşturulur. *S. Typhi* dışındaki serotipler bu tabloyu, daha seyrek oluştururlar. Genel infeksiyon şeklindeki *Salmonella* infeksiyonu *S. Typhi* tarafından oluşturulduğunda tifo; diğer serotipler tarafından oluşturulduğunda ise paratifo denir. Tifo ve paratifonun kliniği genellikle birbirinin aynı olmakla birlikte, paratifo daha hafif seyirlidir. Tifo ise çeşitli komplikasyonlarla seyreden ağır, uzun bir hastalıktır (Erdem, 1995). Kuluçka süresi 7 ile 21, ortalama 10-14 gündür. Alınan bakteri sayısına, bakterinin virulans özelliklerine ve konağın durumuna göre değişir. Nadiren 60 güne kadar uzayabildiği bildirilmiştir (Janda, 1998).

Tifo, tipik olarak dört dönem gösteren bir hastalıktır. Klasik tifo olgularında kırıklık, halsizlik, baş ağrısı ve yavaş yavaş yükselen ateş ile kendini gösteren bir başlangıç dönemi vardır. Akşam ateşi sabah ateşinden 0,5 – 1°C daha fazla olarak ateş giderek yükselir ve birinci haftanın sonunda 39 – 40°C'ye ulaşır. Bu döneme yükselme dönemi denir. İkinci hafta ateş bir plato çizer veya hafifçe dalgalanabilir. Hasta dalgındır, bilinç bulanıklığı vardır. Nabız ateşle birlikte yükselirken birdenbire düşer. Yüz soluk, dudaklar kuru ve çatlak, dil paslıdır. Karaciğer ve dalak büyür. Hastaların yarısından fazlasında, karın ve göğüs derisinde mercimek gibi, hafif kabarık, basınca kaybolan roseol denen döküntüler görülür. Hastalarda genellikle kabızlık vardır. Fakat %33-50 olguda ishal görülür. Bu döneme yerleşme dönemi denir (Erdem, 1995; Janda, 1998). Ateş üçüncü haftada da yüksek platoyu korur. Fakat üçüncü haftanın sonunda lizis şeklinde düşer. Bu haftada ateş yüksekliğine bağlı olarak delirium, ajitasyon gibi belirtiler görülebilir. Bu döneme açılma dönemi denir. Üçüncü hafta sonunda düşmeye başlayan ateş, hergün biraz daha aşağıya inerek dördüncü hafta sonunda normale iner. Bulgular yavaş yavaş kaybolarak hasta iyileşmeye başlar. Bu döneme iyileşme dönemi denir.

Erken dönemde geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılmaya başlanmasıyla, tifonun klasik tablosunu gösteren hastalara, çok seyrek olarak rastlanır. Tifoda paratifodan daha sık olmak üzere bir takım komplikasyonlar görülür. Özellikle etkili antibiyotikler kullanılmaya başlanmadan önce, ağır komplikasyonlar daha sık görülürdü ve ölüm oranı %10-15 idi. Bugün ölüm oranı %1'den azdır. Tifoda komplikasyon görülme oranı ülkemizde %20'dir. İntestinal kanama ve barsak perforasyonu en sık görülen komplikasyonlardır. Bunlardan

başka bronkopnömoni, kolanjit, kolesistit, miyokardit, arterit, tromboflebit, nefrit, karaciğer ve dalak abseleri ve benzer tablolardır (Bilgehan, 2000). Hastalarda ilk günlerden itibaren lökopeni vardır. İlk iki hafta boyunca 4000 - 6000, sonraki iki hafta boyunca 3000 – 5000'in altındadır. Sedimantasyon hızı artmıştır.

2.6.3. Sepsis ve lokal organ enfeksiyonları

Ağız yoluyla alınan bakterilerin hızla kana karışması, çeşitli organlara yayılması ve yerleşmesi ile gelişen bir enfeksiyon tipidir. Bu tip enfeksiyonların gelişmesinde bakterinin serotipi, virulans durumu ve organizmanın o andaki savunma gücünün eksikliği rol oynar. *Salmonella*'lar genellikle hasarlı dokuya yerleşme eğilimi gösterirler. Bu tip enfeksiyonlardan en sık izole edilen serotipler *S. ParaTyphi C*, *S. Choleraesuis*, *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis*'tir. Aniden üşüme-titremlerle başlar. Yüksek ateş (39-40°C), baş ağrısı, bulantı, kusma, kemik-kas-eklem ağrıları, dalgınlık, bilinç bulanıklığı görülür. *Salmonella*'ların yerleştiği organa göre bulgular ortaya çıkar: Pyelit, pyelonefrit, artrit, osteomyelit, plörezi, peritonit, perikardit, endokardit, menenjit, karaciğer ve dalak apsesi, kolanjit, kolesistit (Kurt ve diğerleri, 1999).

2.6.4. Taşıyıcılık

Salmonella enfeksiyonlarında taşıyıcılık 4 türdür.

- Geçici taşıyıcılık, bir yıldan kısa süren taşıyıcılara denir.
- Kronik taşıyıcılık, bir yıldan daha uzun süre dışkı ve idrar ile *Salmonella* bakterilerinin atılmasıdır.
- Nekahat taşıyıcılığı, bir *Salmonella* serotipi ile klinik belirti geçirdikten sonra taşıyıcı olan kişilere denir.
- Sağlam taşıyıcılık, *Salmonella* serotipleri ile bir enfeksiyon hastalığı geçirdiği bilinmeyen kişilerdeki taşıyıcılığa denir (Erdem, 1995).

S. Typhi ile tifo geçirenlerde, ortalama 90 gün için taşıyıcılık oranı %7-20'dir. Tifo geçirenlerin %2-5'i kronik taşıyıcı durumundadır. Diğer serotiplerle oluşan paratifoda ise kronik taşıyıcılık %0,2-0,6 oranındadır. Taşıyıcılık 40-60 yaş arasında ve kadınlarda daha siktir (Janda, 1998). Kronik safra taşıyıcılığı kadınlarda erkeklere göre 3-4 kez daha fazla

gelişmektedir. Bu fark kadınlarda safra kesesi rahatsızlıklarının erkeklere göre daha fazla olmasıyla açıklanmaktadır. Gerçekten de kolelitiyazi veya safra kesesi disfonksiyonu olanlarda kronik taşıyıcılık daha sıktır. Safra taşlarının içinde *S. Typhi*'nin antibiyotik ve antikor etkisinden korunduğu düşünülmektedir. Taşıyıcılar çoğu kez tifo geçirdiklerini hatırlamamaktadırlar. Aslan ve arkadaşları gıda çalışanlarında %2,2 oranında *Salmonella* taşıyıcılığı bildirmişlerdir. Yazar ve arkadaşları Erciyes Üniversitesi'nde çalışan 69 mutfak personelinin birinde *S. Typhimurium* (%1,45) izole etmişlerdir (Yazar ve diğerleri, 2000).

2.7. Salmonellozis'in Klinik Bulguları

Kanatlılardaki paratifo infeksiyonu, genellikle, genç hayvanlarla ilgilidir. *Salmonella*'ların yumurtayı infekte etmesi yüksek embriyonik ölümlere yol açar ve yumurtadan yeni çıkan civcivlerde klinik sinyaller oluşmaksızın hızlı bir şekilde ölümler gözlenir. Civciv yaşamının ilk iki haftalık döneminde mortalite ve morbiditenin yüksek olması nedeniyle gelişme geriliği dışında klinik bulgulara nadiren rastlanır. Genç kanatlılarda görülen paratifo infeksiyonların belirtileri, akut septisemiye neden olan diğer bakteri infeksiyonları ile kanatlı *Salmonella* infeksiyonlarına (Pullorum hastalığı ve kanatlı tifosu) büyük bir benzerlik göstermektedir. Paratifo infeksiyonlarındaki klinik belirtiler, genelde, ergin kanatlılarda görülmemesine rağmen, bazı *S. Enteritidis* suşları iştahsızlık, diyare ve yumurta veriminde düşme gibi belirtilere neden olurlar (Gast ve Beard, 1990; Shivaprasad ve diğerleri, 1990).

Paratifo infeksiyonlarındaki belirtiler iştahsızlık ve bunun sonucu zayıflık, körlük, halsizlik, karışmış tüyler, titreme, ısı kaynağına yakın bir arada toplanma, diyare nedeniyle dehidrasyon ve topallıktır (Gast, 2003). *S. Gallinarum* veya *S. Pullorum* ile infekte yumurtalarda kabuk altı ölümler gözlenir. Civcivlerde gelişme geriliği görülür, kloakaları beyaz tebeşir renginde materyalle kaplıdır ve ölümler ikinci veya üçüncü haftada pik seviyeye ulaşır. Pullorum hastalığında güç soluk alma görülebilir. Hayatta kalanlarda gelişme geriliği gözlenir, taşıyıcı olarak kalırlar ve hastalığın bulaşma kaynağını oluştururlar (Shivaprasad, 2003). Tavuklarda görülen *S. Pullorum* infeksiyonlarında körlük ve tibiotarsal, humeroradial ve ulnar eklemlerde bir şişlik bulunduğu bildirilmiştir (Johnson ve diğerleri, 1992; Mayahi ve diğerleri, 1995). Akut kanatlı tifosunda, yem tüketiminde ani azalma, halsizlik ve tüylerde karışıklık gözlenebilir. Hastalığın ciddiyetine bağlı olarak, hem Pullorum hem de tifo infeksiyonlarında yumurta verimi, fertilite ve çıkım

oranında azalma meydana gelebilir. İnfeksiyonun başlamasından sonra ölümler 4 gün içinde veya 5–10 gün arasında ortaya çıkabilir. Erginlerdeki en önemli semptomlar sırasıyla iştahsızlık, diyare, depresyon ve dehidrasyondur. *S. Pullorum*'un oluşturduğu hastalıkta mortalite %0'dan %100'e kadar değişen oranlarda görülmesine karşılık, kanatlı tifosunda bu oran %10 ile %93 arasında kalmaktadır (Shivaprasad, 2003).

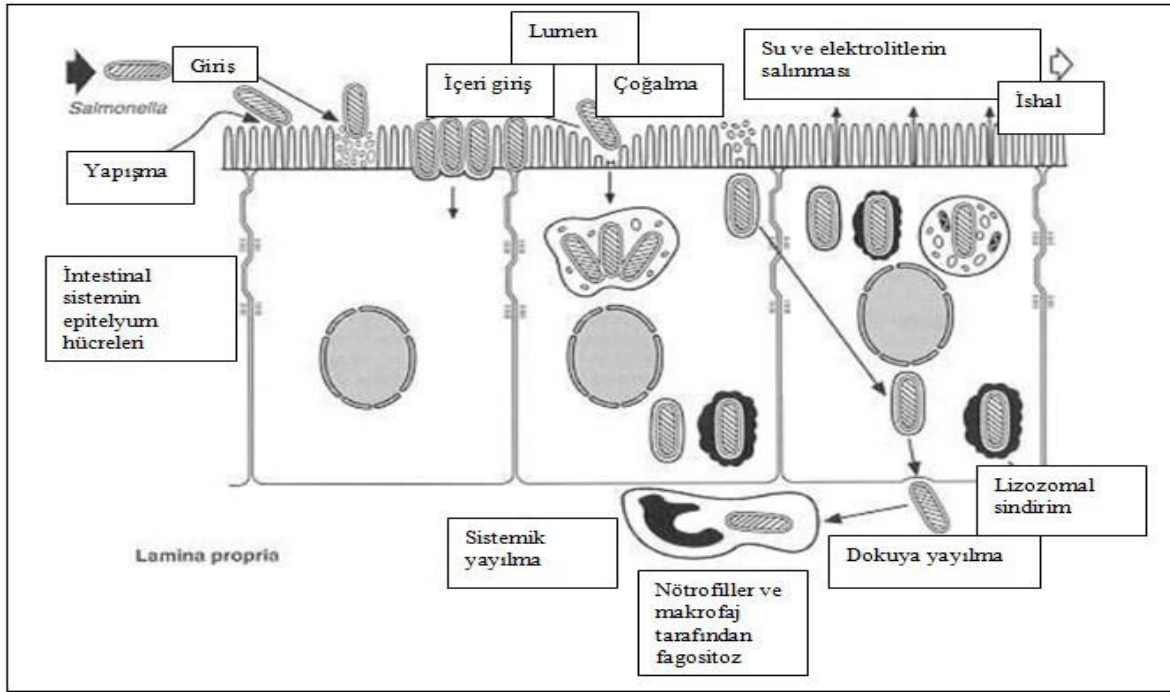
2.8. Salmonellozis'in Patolojisi

Ciddi paratifo infeksiyonlarında, hızlı gelişen septisemi nedeniyle yumurta çıkımında, hiçbir lezyona rastlanmaksızın yüksek mortalite oranı ile ölümler meydana gelir. Hastalığın uzun sürmesi durumunda ince bağırsak mukozasında fokal nekrotik lezyonlar ve önemli enteritidis tablosu görülür. Sekum da peynirimsi odaklar gözlenir. Dalak, karaciğer ve böbrek konjesyone olmuş ve büyümüştür. Fibrino-prulent perihepatitis ve perikarditis vardır (Gast, 2003). Genç hayvanlarda pullorum ve tifo infeksiyonlarında, perakut vakalarda, hiçbir ciddi lezyon görülmezsizin ani ölümler meydana gelir. Akut vakalarda paratifo infeksiyonlarındaki gibi karaciğer, dalak ve böbrekler büyümüş ve konjesyon bulunur. Genellikle, solunum sistemi belirtileri olan hayvanlarda kalp kasında ve akciğerlerde Marek hastalığındaki tümörlere benzeyen beyaz nodüller bulunabilir. Ergin hayvanlarda en sık görülen lezyonlar şunlardır: perikarditis, pankreasta ve testislerde görülen beyaz nodüller, ovaryumlardaki patolojik bozukluklar ve son olarak akciğer ile hava keselerinde bulunabilen kazeöz granülomlardır (Shivaprasad, 2003).

2.9. Salmonellozis'in Patogenesi

S. Pullorum ve *S. Gallinarum* dahil olmak üzere, *Salmonella* cinsi bakterilerin, konak canlıının iç organlarında (özellikle dalak ve karaciğer) hayatta kalma yetenekleri arasındaki farklılık mononukleer fagositik sistemdeki bilinmeyen bir mekanizmaya bağlanmaktadır. *S. Gallinarum* infeksiyonunun tavuklarda IL-6'da değişiklik yapmaksızın IL-1beta'da azalmaya neden olduğu bir çalışmada gösterilmiştir. IL-1beta'daki azalma *S. Gallinarum*'un sistemik infeksiyonuyla sonuçlanan inflamasyon cevabındaki bir eksiklik olarak yorumlanmaktadır. Başka bir çalışmada *S. Pullorum*'un bağırsaklarda infalamasyona neden olmadan önce bursa Fabricius'u hedef aldığı gösterilmiştir. Ayrıca *S. Gallinarum* kanda sialik asitte bir artışa ve anemiye sebep olabilir (Shivaprasad, 2003). Paratifo etkeni olan *Salmonella*'lar, özellikle, iliosekal kavşak noktasına affinite gösterirler

ve bütün bağırsak kanalı boyunca epitelyum hücrelerini istila ederler. *Salmonella*'ların bağırsak epitelyum hücrelerine invazyonu, sıvı ve elektrolit regülasyonunu etkileyen bir seri patolojik değişikliğe yol açar. Bunun sonucu olarak, diyare ve hücre ölümü gelişir (Henderson ve diğerleri, 1999; Porter ve Holt, 1993). *Salmonella*'ların epitel hücrelerine invazyonu makrofajların bakterileri lamina propria tabakasına geçirmesine yol açabilir (Gast, 2003).



Resim 2.5. *Salmonella* cinsi bakterilerin intestinal mukozaya girişi (Özaras ve diğerleri, 2002)

2.10. Teşhis

Salmonella infeksiyonlarında klinik ve nekropsi bulguları ile kesin teşhis yapılamaz (İzgür, 2002). Kesin tanı için etken izolasyon ve identifikasyonu yapılması gereklidir. Serolojik olarak pozitif bulguların hastalığı belirlemede önemli yeri vardır. Ancak infeksiyonda oluşan antikörlerin 3–10 gün sonra görülmesi nedeniyle negatif sonuçların tanı için yeterli olduğu düşünülemez. Benzer olarak, pozitif sonuçlar *S. Enteritidis* gibi sero grup D de bulunan diğer *Salmonella*'lar ile pozitif sonuç vermesi nedeniyle dikkatli yorumlanmalıdır (Waltman ve Horne, 1993).

2.10.1. Etken izolasyon ve identifikasyonu

Salmonella etkenlerinin izolasyonunda öncelikli olarak dalak, karaciğer ve sekum gibi iç organlar tercih edilebileceği gibi, bunlara ek olarak akciğer, kalp, mide ve pankreas da tercih edilebilir. Eğer lezyonlar reproduktif organlarda bulunuyorsa, bu organlar ve ovaryum follikülleri marazi madde olarak kullanılabilir. Bunların yanında yumurta ve kümes içi materyaller (dışkı, altlık gibi) de izolasyon için kullanılmaktadır. Serolojik testlerle kronik pullorum veya tifo hastalığı belirlenmiş olan kanatlılarda göze batan lezyonlara rastlanmayabilir. Testler sonucu böyle taşıyıcı hayvanlar saptanın ise iç organların tamamının kültüre edilmesi gereklidir (Shivaprasad, 2003). *Salmonella* serotiplerinin çoğu yüksek invazyon yeteneklerinden dolayı, diyagnostik kültür için örnek sağlayan, iç organların farklı dokularına (göz, snoviya, pankreas, safra kesesi, böbrek, kalp kanı, kalp, sarı kese, testis, ovidukt, ovaryum, dalak ve karaciğer) yayılabilir. Bu nedenle izolasyon oranını artırmak için her bir canlıdan birden fazla sayıda infekte doku veya organ kullanılmalıdır. Özellikle, *S. Enteritidis* gibi yüksek invazyon yeteneğine sahip bazı serotipler, yumurta içeriğinde bulunabilir (Gast ve Beard, 1990). İnfekte yumurtacı hayvanların yumurtalarında bulunabilen *S. Enteritidis*, halk sağlığı için potansiyel bir tehdit oluşturması nedeniyle izolasyonu önemli hale gelmektedir. *S. Enteritidis*'in deneysel olarak yumurtacı tavuklara inokulasyonundan sonra intestinal kanala diğer dokulardan daha fazla yayıldığı bildirilmiştir (Gast, 2003). *Salmonella* spp.'ler kanatlılarda sürekli intestinal kolonizasyona sahip olması nedeniyle kloakal svaplar (Gast ve Beard, 1990) ve dışkı (Gast, 1993a) örnekleri, izolasyon amacıyla kullanılmaktadır. İnfekte hayvanlar vasıtasıyla kümese *Salmonella*'ların dışkı ile saçılması nedeniyle, kümeden alınan örnekler izolasyonda önemli bir hale gelmektedir. Bu nedenle kümeden alınan örnekler *Salmonella* girişini monitorize etmek için iyi bir materyaldir. Tozlar, rodentler, yumurta viyolleri, su kaynakları ve kafes yüzeylerinin kültüre edilmesini kapsayan daha birçok çevresel örneklemeler de önerilebilmektedir. Tozlar, kümesin temizlenmesi ve dezenfeksiyonu sonrasında bile *Salmonella* ile kontamine olarak kalabilmektedir. Hava örneklemesiyle hem infekte kanatlıların buldukları odalardan hem de kuluçkalardan *Salmonella* spp. belirlenebilir. Kanatlı yemleri de *Salmonella* spp. izolasyonunda, özellikle, bazı serotiplerin infeksiyon kaynaklarını belirlemede önem arz etmektedir (Gast, 2003).

2.10.2. *Salmonella* saptanmasında standart kültür metodları

Salmonella spp. izolasyonu ve identifikasyonu için çok farklı kültür metodları önerilmesine rağmen, çoğu standart metod başlıca dört safhayı gerektiren genel bir planı takip eder. Birinci safha; selektif olmayan ön zenginleştirme, zarar görmüş *Salmonella* hücrelerinin kendilerini yenilemesini ve sayıca az ise üreyerek sayılarının artırması için kullanılır. İkinci safha; selektif zenginleştirme, diğer bakterilerin üremesini baskılamak, *Salmonella* popülasyonunun artmasını sağlar. Üçüncü safha; diferansiyel agara ekim, her biri tek bir bakteri hücresinden köken alan izole kolonileri elde etmek için kullanılır. İç organlardan selektif olmayan agarlara kanlı agar, MacConkey agar vb. yapılan ekimler de izolasyonda yarar sağlayabilir (İzgür, 2002). Dördüncü safhada; karakteristik *Salmonella* spp. kolonisi görünüşüne sahip olan kolonilerin serotip ve genus identifikasyonu için serolojik ve biyokimyasal testler yapılır. Aslında, son iki aşama bütün metotlarda ihtiyaç gösterir ancak, zenginleştirme gereksinimi örneklerin niteliğine göre değişir (Gast, 2003). İnfekte kanatlıların doku örnekleri (bağırsak dokusu ve içeriği hariç) ekseriyetle çok az diğer bakterileri içerir. Bu nedenle, iç organlardan alınan svaplar zenginleştirilmeksizin selektif olmayan ve selektif agarlara direkt bir şekilde geçilir. Nekropsi sırasında kesip çıkartılan doku örnekleri ve bağırsak kanalından elde edilen tüm örnekler genel olarak başlangıçta selektif zenginleştirme buyyonlarına aktarılır. Yumurta içeriğinden *Salmonella* spp. izolasyonu yapılmadan önce, yumurta kabuğu fekal kontaminasyonun önlenmesi amacıyla sterilize edilir ve yumurta içeriği aseptik koşullarda alınır (Gast, 2003). Yumurta içeriğinde *Salmonella* spp. prevalansının (birincil olarak *S. Enteritidis*) çok düşük olmasından, içerikte çok az sayıda *Salmonella* bulunmasından ve laboratuvar kaynaklarının da ekonomik kullanılması amacıyla, yumurta içeriğinden *Salmonella* spp. izolasyonu 10–20 yumurta içeriği, bir havuzda toplanarak yapılır (Gast, 1993a). Yumurta içeriğinin ön zenginleştirilmesiyle *S. Enteritidis* belirlenmesinin, direkt selektif zenginleştirmeye başlanan prosedürden daha hassas olduğu gösterilmiştir. Bunun muhtemel nedeninin de başlangıçta az sayıda bulunan *Salmonella*'ların selektif zenginleştirmede bulunan sert koşullara dayanamamaları olarak ileri sürülmekte ve direkt yumurta içeriğinin selektif agara geçilmesinin zaman, besiyeri ve çalışma gücünü azaltacağı belirtilmektedir. Ancak, bunun tanıda önemli hassasiyet kaybına sebep olacağı ön görülmektedir (Gast, 1993b). Kümes içinden alınan örnekler steril kaplara alınmalı ve vakit geçirmeden selektif zenginleştirme buyyonlarına geçilmelidir. Aynı şekilde kanatlı yemleri de önce selektif zenginleştirme buyyonuna geçilir. Yapılan çalışmalar yem için ön

zenginleştirme işleminin gerekli olmadığını bildirmektedir. Besiyerleri genel olarak 37°C'de 24 saat inkübe edilir. Selektif zenginleştirme besiyerinin ısı derecesi, özellikle, bağırsak örnekleri ve dışkı materyali için diğer flora etkenlerini baskılamak maksadıyla 42-43°C olarak tavsiye edilmektedir (D'Aoust ve diğerleri, 1992).

2.10.3. Besiyerleri

Salmonella'ların izolasyonu ve identifikasyonu için birbirinden farklı besiyerleri geliştirilmiştir. Selektif olmayan ön zenginleştirme besiyerleri için tamponlanmış peptonlu su ve trypticase soy buyyon önerilmektedir. Selektif zenginleştirme için son yıllarda en çok kullanılan besiyerleri tetrathionate ve Rappaport–Vassiliadis buyyonlardır. Tetrahionate buyyon selenite cystine ve Rappaport–Vassiliadis buyyondan kloakal svap, intestinal doku, yumurta içeriği ve kanatlı yemlerini de kapsayan farklı tipteki örneklerde, *Salmonella* spp. belirlenmesi bakımından daha hassas bulunmuştur. Rappaport–Vassiliadis buyyon çiğ kanatlı eti ve yumurta içeriğinden *Salmonella* spp. izole etmek için etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Gast, 2003). Kullanılan çeşitli diferansiyel besiyerleri arasında daha çok tercih edilenler; brilliant green agar, XLD agar, XLT4 agar, bizmut sulfite agar ve Hektoen enteric agardır. Bunlardan en çok kullanılanı brilliant green agardır ve farklı birçok materyalden *Salmonella* spp. İzolasyonunda yararlanılmaktadır (Gast, 1993). XLT4 agar drag svaplardan ve kümes içi materyalden *Salmonella* spp. izolasyonda başarıyla tatbik edilmektedir (Miller ve diğerleri, 1991). XLT4 agar ile Hektoen enteric agarın dışkıdan *Salmonella* spp. izolasyonu bakımından karşılaştırılmasında %100'e yakın ölçüde spesifitetespit edilmiş ve XLT4 agar Hektoen enteric agara alternatif olarak düşünülmüştür (Dusch ve Altwegg, 1995). XLT4 agar, XLD agardan farklı olarak içinde sodyum dezoksilat yerine iyonik olmayan surfaktan bir madde olan tergitol–4 bulunan selektif bir agardır. Bu agar Gram-negatif birçok bakteriyi (*Proteus*, *Providencia* ve *Pseudomonas* dahil), mantarı ve Gram pozitif bakterilerin tamamının üremesini inhibe eder. Buna ek olarak *Citrobacter* türlerinin bir kısmının üremesini engellerken, diğer kısmının nadiren siyah merkezli koloniler oluşturmasına izin verir. H₂S-pozitif *Salmonella* spp. kolonileri 18–24 saatlik inkübasyondan sonra siyah veya siyah merkezli periferi sarı renkli koloniler tarzındadır. İnkübasyona devam edilirse, tamamen siyah veya periferi pembeden kırmızıya değişen siyah merkezli koloniler oluşur. H₂S üretmeyen nadir *Salmonella* suşu pembemsi sarıdan pembeye değişen renkte koloniler meydana getirirler. *Salmonella* olmayan

bakteriler bu besiyerinde sarı renkte koloniler oluşturması ile ayrılırlar (Koneman ve diğerleri, 2006).

2.10.4. Serotip ve genus belirlenmesi

Selektif agarlarda karakteristik görünümleri ile üreyen *Salmonella* şüpheli kolonilerin serotiplerinin belirlenmesi ve cins identifikasyonunun doğrulanması için başka testler de yapılmaktadır. Bunlar Triple Sugar Iron Agar ve lysine iron agarın kullanımı ile kombine edilen, muhtemel *Salmonella*'ları ortaya koyan testlerdir (Gast, 2003). Bu besiyerlerinde 37°C'de 24 saat'lik inkübasyondan sonra tipik koloni gösteren *Salmonella* kolonilerini tanımlamak için biyokimyasal ve diğer testler yapılır (Quinn ve diğerleri, 2004; Anonim, 1998; Shivaprasad 2003). *Salmonella*'ların biyokimyasal özelliklerini gösteren, klinik örneklerden elde edilen izolatlar, bütün altgrupların antikorlarını bulandıran polivalanantiserum kullanılarak *Salmonella* spp. olduğu doğrulanır (Koneman ve diğerleri, 2006). Serotiplendirme, spesifik "O" antijenine karşı monovalan antiserumlar ile lam aglütinasyon ve flagellar "H" antijenine karşı tüp aglütinasyon testleri yapılarak tamamlanır (Gast, 2003; Bilgehan, 2004). Saf kültürden Gram boyama, hareket muayenesi (İzgür, 2002) ve bazı biyokimyasal testler yapılır: Bunlar, dekstroz, laktoz, sukroz, mannitol, maltoz, dulcitol, malonat, gelatin, üre, sitrat, ornithine dekarboksilaz, Metil-Red ve Voges-Proskauer, KCN, O-nitrophenyl-beta-D-galaktopyranside (ONPG), indol, hidrojen sulfid testleridir (Anonim, 1998).

2.10.5. Serolojik tanı

Salmonella'lara karşı oluşan spesifik antikorların, farklı aglütinasyon ve enzime immunoassay metotları kullanılarak infekte kanatlıların serumlarında saptanabilir. Aglutinasyon testleri taze kanla yapılan aglutinasyon, lam aglutinasyon, tüp aglutinasyon ve mikro aglutinasyon olarak sıralanabilir (İzgür, 2002). Bu testlerin yanında kanatlılarda *Salmonella* infeksiyonlarını belirleyen ELISA yöntemleri de bulunmaktadır (Gast, 2003). Altay ve Yardımcı (2001), tavuklarda *S. Enteritidis* antikorlarının kan serumunun yanı sıra yumurta sarısından da ELISA ile saptanabileceğini belirtmişlerdir.

2.10.6. Hızlı tanı teknikleri

Konvansiyonel kültür teknikleri ile negatif sonuçların alınması çoğu örnek için birkaç güne ihtiyaç gösterirken, pozitif sonuçların doğrulanması ise daha da uzun sürmektedir. Günümüzde geliştirilen birçok hızlı teknik bulunmaktadır, ancak bunlar kanatlılardaki *Salmonella* tanısı için geniş ölçüde kullanılmamaktadır. Hızlı tekniklerin çoğu bir gün veya biraz daha fazla zamanda sonuçlandığı için tanı zamanını kısaltmakta ve bir dereceye kadar otomasyona adapte edilebilmektedir (Gast, 2003). *Salmonella* antijenlerine karşı oluşan spesifik antikorlar ELISA metodunun geliştirilmesiyle saptanabilmektedir. Poliklonal antikorları kullanan bu yöntem yemden, altlıktan, drag svaptan, doku ve yumurta içinden *Salmonella*'ları belirlediği bildirilmiştir (Mallinson ve diğerleri, 1989). Flagella veya dış membran proteinlerine karşı oluşan monoklonal antikorlar ELISA yöntemiyle *S. Enteritidis*'in yumurtadan, dokulardan ve kümes içi materyalden spesifik olarak belirlenmesinde kullanılmaktadır (Gast, 2003). *Salmonella* belirlenmesinde antikorları kullanan diğer bir uygulama, immunomanyetik seperasyon (IMS) dur (Shaw ve diğerleri, 1998). Selektif agara ekimden önce IMS kullanımı, yem, kloakal svap, yumurta kabuğu, kanatlı eti ve doku örneklerindeki *Salmonella* kontaminasyonunu geleneksel selektif zenginleştirmeden daha yüksek bir hassasiyetle belirlemektedir (Cudjoe ve Krona, 1997). IMS aynı zamanda hem kültür hem de ELISA vasıtasıyla yumurta içeriğindeki küçük derecede *S. Enteritidis* kontaminasyonunu belirlemek için kullanılmaktadır (Cudjoe ve diğerleri, 1994). Kanatlılarda *Salmonella* spp. hızlı tespiti için diğer bir yaklaşım da cins ve türe özgü özel DNA sekans problemlerinin kullanılması ile yapılmaktadır. Örneklerden ekstrakte edilen DNA ile probun hibridizasyonu ile pozitif sonuçlar gösterilir. DNA problemleri yüksek spesifitede olup kümes içi örneklerden ve kanatlı dışkılarından *Salmonella* spp. Belirlenmesinde kullanılmaktadır (Cotter ve diğerleri, 1995). *Salmonella* DNA hibridizasyonu ile belirlenmesindeki hassasiyet ELISA yöntemi ile aynıdır ve genel olarak bir veya daha fazla zenginleştirmeye ihtiyaç gösterir (Soumet ve diğerleri, 1999). Polymerase chain reaction (PCR) tekniğinin gelişmesi özel hedef DNA segmentlerinin spesifik amplifikasyonuna izin vermektedir ve çok yüksek hassaslıkta su, (Feder ve diğerleri, 2001) dışkı, drag svap (Oliveria ve diğerleri, 2002) ve yumurta (Burkhalter ve diğerleri, 1995) örneklerinden *Salmonella* spp. tespiti problemlerinin hibridizasyon reaksiyonu ile mümkün olmaktadır (Cohen ve diğerleri, 1994). Dikkatli bir şekilde seçilen DNA problemleri; yüzeysel yapılardan fimbria (Woodward ve Kirwan, 1996), biyokimyasal veya

virülans özellikleri taşıyan genler gibi spesifik karakterlere sahip *Salmonella* spp. belirlenmesi için PCR ile birlikte kullanılabilir (Gast, 2003).

2.11. Koruma ve Kontrol

Etkili koruma ve kontrol programları probleme değişik yönlerden bakmayı ve eş zamanlı koordinasyonu gerektirir. Yumurta, civciv veya tavuklar sadece *Salmonella* ari damızlık kümeslerden alınmalıdır. Kuluçkalık yumurtalar tam olarak dezenfekte edilmeli ve sanitasyon standartlarına göre kuluçkaya konmalıdır. Kümesler tamamıyla önerilen şekilde temizlenmeli ve dezenfekte edilmelidir. Rodent ve insekt kontrolleri düzenli olarak yapılmalıdır. Biyogüvenlik tam olarak uygulanmalı, kümesler arası ve dışardan *Salmonella*'ların girişi engellenmelidir. Damızlık hayvanlara sadece peletlenmiş ve hayvansal protein kaynağı içermeyen yemler verilmelidir. *Salmonella* infeksiyonlarıyla mücadele de sağaltıma ek olarak yarışla dışlama (competitive exclusion; CE) kültürleri veya aşı uygulanabilir. Bu şekilde uygulanan koruma ve kontrol programlarının hem tavuklarda hem de hindilerde başarıya ulaştığı bildirilmiştir (İzgür, 2002). Bu çalışmada, tavukların dışkı ve yumurtalarında *Salmonella* etkenlerinin klasik yöntemlerle ve PCR ile tanısı amaçlanmıştır.

2.12. Tedavi

Salmonella gastroenteritlerinde destekleyici tedavi, sıvı ve elektrolit kaybının yerine konması önemlidir. Basit enterokolit olgularında antibiyotik tedavisi gereksizdir. Antibiyotik tedavisi taşıyıcılığı uzatır ve ilaca dirençli suşların artmasına yardım eder. Aktaş ve arkadaşlarının bildirdiği bir *Salmonella Enteritidis* besin zehirlenmesi olgusunda, hastaya herhangi bir antibiyotik verilmeden klinik düzelme ve üç kez yapılan kontrol dışkı kültürlerinde negatifleşme saptanmıştır. Bu sonuç *Salmonella* gastroenteritlerinde spontan şifayı gösterir nitelikte bulunmuştur. Fakat kendiliğinden düzelmeyen olmadığı, yüksek ateşle seyreden olgularda; hastaneye yatmayı gerektiren ağır ishallerde; bağışıklık bozukluğu olan olgularda (orak hücreli anemi, AIDS, kanser, diyabet, yeni doğan ve yaşlılık dönemi gibi) antibiyotik tedavisi önerilir (Topçu ve diğerleri, 2002; Mutlu ve diğerleri, 1999). Tifo, paratifo, septisemi ve lokal organ hastalıklarında antibiyotik tedavisi şarttır. *Salmonella* infeksiyonlarının tedavisinde eskiden beri kullanılan ilaçlar tercih sırasına göre kloramfenikol, ampisilin ve trimetoprim – sulfametoksazol (TMP-SMZ)'dur.

Bu ilaçlara direnç gelişimi başta olmak üzere çeşitli nedenlerle son yıllarda yeni antibakteriyel ilaçlar kullanılmaya başlanmıştır. Bu yeni ilaçlar; kinolonlar, üçüncü kuşak sefalosporinler ve bir ölçüde de aztreonamdır. Kloramfenikol 1948'den beri tifo tedavisinde kullanılmaktadır. Bu ilacın tedavide kullanılmaya başlanması ile tifodan ölüm oranı %20'lerden %1'lere inmiş, ateş süresi 2-4 haftadan 3-5 güne kadar kısalmıştır. Ancak kronik taşıyıcılığı ortadan kaldırmaması ve bu ilaca karşı gelişen yaygın dirençlilik durumu nedeniyle kullanımı giderek azalmaktadır. Ampisilin, kronik taşıyıcılıkta etkilidir. Fakat penisilin alerjisi olanlarda kullanılamamakta ve direnç sorunu nedeniyle kullanımı kısıtlıdır. TMP-SMZ diğer iki ilaca alternatif oluşturmaktadır, ancak daha az etkindir (Topçu ve diğerleri, 1996). Ülkemizde *S. Typhi* suşlarında kloramfenikol, ampisilin ve TMP-SMZ'a direnç henüz bildirilmemiştir. Fakat *S. Typhi* dışı *Salmonella* türlerinde sayılan antibakteriyellere %20-40 arasında değişen direnç saptanmaktadır. Tüm dünyada ve Türkiye'de *S. Typhi* dışındaki *Salmonella*'larda antibiyotiklere direncin artmakta olduğu, serogrup D'nin izolasyon sıklığının son yıllarda artış göstermesine karşın özellikle serogrup B'de antibiyotik direncinin diğer serogruplardan daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Özellikle dirençli suşlara bağlı tifo ve paratifo olgularının tedavisinde son yıllarda denenen ve başarılı sonuçlar alınan ilaç grubu kinolonlar ve üçüncü kuşak sefalosporinlerdir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda oflaksasin gibi kinolon türevleri ile yapılan uygulamalarda, tifo ve paratifo olgularında ateşin bir daha çıkmamak üzere düşme süresi ortalama 3 gün olarak bulunmuştur. Oysa bu süre kloramfenikolle tedavide 6-7 gün olarak bildirilmiştir. Yeni kinolon türevlerinin tifo'da kullanılan eski ilaçlara göre pahalı olması, 16 yaşın altındakilerde, gebelerde ve süt veren annelerde kullanılmaması bu ilacın kullanımını kısıtlamaktadır. Üçüncü kuşak sefalosporinler, özellikle çocuklarda, gebelerde ve süt emzirenlerde kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (Topçu ve diğerleri, 1996). Kinolonların kullanılmadığı, diğer antibiyotiklere dirençli *S. Typhi*'nin etken olduğu tifo olgularında aztreonam az sayıda hastada kullanılmıştır. Ancak bu ilaçla daha fazla grup çalışmalarına gereksinim vardır. Antibiyotik tedavisi tifo ve paratifo da 14 gün, lokal organ infeksiyonlarında ise ortalama 4-6 hafta sürdürülmelidir. Lokal organ infeksiyonlarında eksizyon, drenaj gibi cerrahi işlemlerde gereklidir. Kronik taşıyıcıların tedavisinde ampisilin, amoksisilin veya kinolonlar 4-6 hafta süreyle kullanılmaktadır. Ayrıca safra sisteminde bir patoloji varsa kolesistektomi önerilmektedir (Mutlu ve diğerleri, 1999).

2.13. Epidemiyolojisi

2.13.1. Dünyadaki durum

Tüm dünya ülkelerinde genel olarak sinsi bir şekilde yayılıp ortaya çıkması ve hastalık görülmesi problemlere, çok yönlü ciddi ekonomik kayıplara (sürülerde ölüm, verim kaybı, yoğun antibiyotik kullanımı, damızlıklardan vertikal bulaşma nedeni ile sağlıksız ticari sürüler, gıda zehirleri) sebep olmaktadır. Bu nedenle uzun yıllardan beri tavuk ve hindi kümeslerinde dünya çapında pullorum hastalığı ve tavuk tifosu ile ilgili kontrol çalışmaları yapılmaktadır. İşletmelerde temel programların uygulanması ile hem tavuk tifosu hem de pullorum hastalığı azaltılmıştır. Bu hastalıklarda en basit uygulamalar, damızlık kümeslerin *Salmonella Gallinarum* ve *Salmonella Pullorum*'dan ari olarak yetiştirilmesi ve bu sürülerden elde edilen civcivlerin indirekt ve direkt olarak bu organizmalarla temasının önlenmesi esasına dayanmaktadır.

2.13.2. Ülkesel durum

Türkiye'de Tavukların Salmonellozis'i 3285 sayılı Hayvan Sağlığı ve Zabıtası Kanunu'na göre "İhbarı Mecburi Hayvan Hastalıkları" kapsamında olup, damızlık kümeslerin *Salmonella pullorum/gallinarum* yönünden kontrolü de son olarak 1998'de Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nın çıkarmış olduğu "Kuluçkahane ve Damızlık işletmelerinin Sağlık ve Kontrol Yönetmeliği ve Talimatı" ile düzenlenmiştir. Bölge Enstitüleri ve İl Tarım Müdürlükleri iş birliği ile Kuluçkahane ve Damızlık işletmesi ihtiyaç duyulduğunda daha sık olmak kaydı ile en az 6 ayda bir denetlenmekte ve Laboratuvar kontrollerinden tabii tutulmakta, şartları uygun işletmeler (*Salmonella* testleri dahil) sertifikalandırılarak, miyadlı olarak üretim izni haketmiş olurlar (<http://www.bornovavet.gov.tr/kanatli.Salmonella.htm>)

2.14. Biyofilm

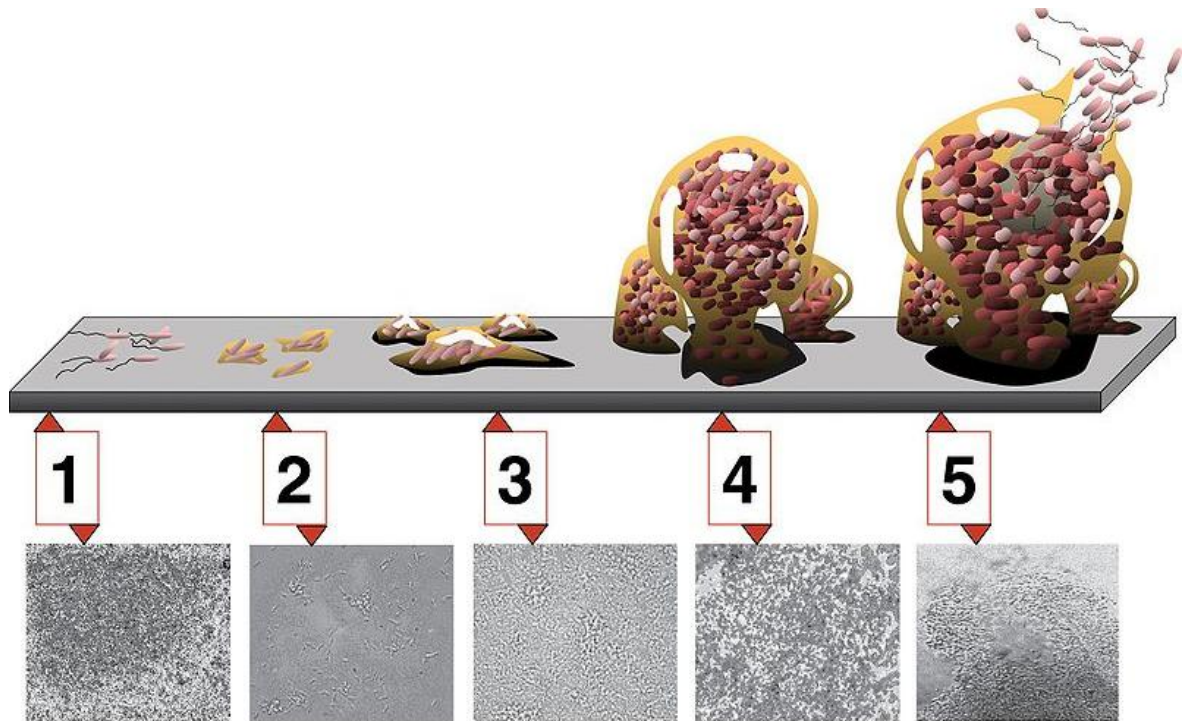
2.14.1. Biyofilmin tarihçesi

Eksternal biyofilm olarak adlandırılan ve çıplak gözle bakıldığında görülebilecek kalınlıktaki mikrobiyal topluluklar, erken dönemlerden bu yana mikrobiyologların ilgisini çekmiştir. Belki de ilk biyofilm çalışmaları Anton van Leeuwenhoek'un kendi dişlerinin

yüzeyinden kazıdığı plaklarda yine kendi icadı olan basit mikroskopla ‘‘hayvancıklar’’ olarak tanımladığı mikroorganizmaları göstermesine kadar gitmektedir. Yine de bilim adamlarının pek çok çevrede bakteri kütleleri şeklinde gözlemlenen biyofilmlerin varlığını keşfi 1970’lerde gerçekleşmiştir. 1890 ve 1990’larda ise bakteriyel biyofilm topluluklarının organizasyonları üzerine dikkatle eğilmeye başlanmıştır (<http://mpkb.org/home>).

Biyofilm araştırmaları son 20-30 yıl içerisinde hız kazanırken odak noktası, çevremizde çeşitli yüzeylerde oluşan eksternal biyofilmler olmuştur. Bunlar arasında su borularının iç yüzeylerinde oluşarak, korozyona yol açanlar ya da gıda işleme alanlarında oluşarak yüzey temizliğinde sorun yaratanlar olabilir. Bu gibi ortamlarda biyofilmlerin varlığı endüstriyel kayba da yol açtığı için pek çok şirket biyofilm araştırma projelerini destekler hale gelmiştir. Bu durum sadece mikrobiyologlar değil, ekolojistler, çevre mühendisleri ve matematikçiler için de geniş bir araştırma sahası yaratmıştır (<http://mpkb.org/home>)

2.14.2. Biyofilm içerisindeki hayat döngüsü



Resim 2.6. Biyofilm içerisindeki hayat döngüsünün basamakları
(www.processinstruments.com.tr)

Tutunma ve kolonizasyon

Biyofilm oluşumu bakterinin bir yüzeye tutunduktan sonra sümüksü, yapışkan bir madde salgılaması ve bu maddenin bir çapa gibi görev görmesiyle metal, plastik, tıbbi implant yüzeyi ya da çoğunlukla insan ya da hayvan dokusu gibi canlı ya da cansız yüzeyler üzerinde kolonize olmasıyla başlar. Başlarda yüzeye tutunma van der Waals bağları gibi geri dönüşümlü, zayıf bağlarla gerçekleşir. Bu aşamada eğer bakteri kolonileri yüzeyden uzaklaştırılmazlarsa, yüzeylerindeki hücresel adezyon molekülleri ve proteinleri vasıtasıyla tutunmayı daha kalıcı ve kuvvetli bir hale dönüştürür; hücre adezyonu denilen diğer hücrelere de bağlanma işlemini gerçekleştirerek aralarında bağ oluştururlar. Aynı zamanda bir matriks yapısı inşa ederek, bir arada kalacakları biyofilm dokusunu şekillendirirler. Ortama yeni eklenen bakteriler de matriks yapısına tutunarak, yeni katmanlar meydana getirirler. Yapılan araştırmalarda bir bakteri türünün bu yapıyı oluşturmak için yaklaşık 800 gen ekspresyonu gerçekleştirdiği ortaya konulmuştur (Erdem, 2013).

Büyüme ve gelişme

İlk kolonizasyondan sonra, biyofilm yapısı, hücrelerin bölünmesi ve bir araya toplanması ile büyümeye başlar. Bir sonraki aşama, biyofilmin şekil ve boyutlarının değişimiyle gelişmesidir. Tam oluşmuş bir biyofilm tabakası sıklıkla içeride besin dolaşımına imkan veren kanallar içerir. Biyofilm tabakasının farklı bölgelerindeki hücreler farklı gen ekspresyonları gösterirler. Çünkü biyofilmler çoğunlukla kendi metabolizmalarını geliştirirler. Biyofilmler bu süreçte farklı yönlerde doğru yavaş yavaş büyüyen bir oluşum sergiler ve yavaş yavaş semptom oluştururlar.

Hareket

Biyofilm bakterileri, yeni dokuları enfekte etmek üzere çeşitli yollarla hareket halindedirler. Biyofilm dalgalanma ya da yuvarlanma hareketiyle ya da kümeler halinde kopup, kayarak yüzey üzerinde topluca hareket edebilir. Bazı durumlarda da başka yerlere yayılmak amacıyla, biyofilm içerisindeki planktonik hücreler arkalarında bir boşluk bırakarak, yüzme/yayılma hareketleriyle, biyofilm dışına çıkacak şekilde hareket edebilirler.

Ayrılma ve eksternal kolonizasyon

Biyofilm tabkası bir kez oluştuktan sonra, periyodik aralıklarla biyofilmden planktonik bakterilerin kendi kendilerine ayrıldıkları gösterilmiştir. Bunu yapan bakterilerin hızla çoğaldıkları ve yeni biyofilmler oluşturmak üzere yayıldıkları izlenmiştir. Buradan yola çıkarak, biyofilmlerden programlanmış hücre ayrımlarının gerçekleştiği ve bunun doğal bir seyri olduğu donucuna varılmıştır. Biyofilm içerisindeki bakteriler bir matriks yapısı ile korundukları için, konak bağışık yanıtından kaçmaktadırlar; ancak eğer biyofilmden düzenli olarak planktonik bakteri salınımı oluşuyorsa, bağışıklık sistemi bu bakterilerin varlığından haberdar hale gelebiliyordur. Bu da kronik tekrarlayan enfeksiyonların nedenini açıklamaktadır. Eğer bir bakteri üzerinde yaşadığı konağı öldürürse, kendisinin de yaşayacağı yer kalmamaktadır. Dolayısıyla bir enfeksiyonun kronik formu bakterilerin aslında işine gelmektedir. Bu formu devam ettirmek için de pek çok durumda biyofilmler aracılık etmektedir (Erdem, 2013).

2.14.3. Biyofilm oluşumunu etkileyen çevresel faktörler

Biyofilm oluşumu; bakteri hücresi, tutunulan yüzey ve bunları çevreleyen ortam olmak üzere üç ana bileşene bağlıdır. Biyofilmin ilk aşaması olan bakteri hücrelerinin yüzeye yapışması, hücre yüzeyinin fizikokimyasal özelliklerinden etkilenmektedir ki bu özellikler de hücrenin hangi üreme fazında olduğu, kültür koşulları ve suş çeşitliliğini içermektedir. Çoğu bakteri hücresinin yüzeyi negatif elektirik yüklüdür ve bu net negatif yük elektorsitatik itici güçler nedeniyle bakterinin herhangi bir yüzeye yapışmasını olumsuz etkiler. Bununla birlikte bakteriler yüzeylerindeki fimbria, faljella ve lipopolisakkarit yapılarına bağlı olarak hidrofobisite gösterirler. Hücre yüzeyi ve tutunulacak tabaka arasındaki hidrofobik etkileşimler, bakteri hücresinin itici güçlerin üstesinden gelmesini sağlar ve tutunma gerçekleşir.

Tutulan yüzeyin, yüzey pürüzleri, temizliği, ıslanabilirliği gibi özellikleri biyofilm oluşumunu etkileyen diğer önemli faktörlerdir. Gıda endüstrisinde fizikokimyasal kararlılığı ve korozyona karşı dayanıklılığı nedeniyle sıklıkla paslanmaz çelik yüzeyler tercih edilmektedir. Dolayısıyla pek çok biyofilm çalışması da bakterilerin bu yüzeye tutunması üzerine yapılmaktadır.

Isı, Ph, ozmolarite, oksijen yüzeyi, besin durumu ve diğer bakterilerin ortamda varlığı gibi çevresel faktörler bitofilm yapısının oluşumunda etkili ve önemli olan yüzey ve bakteriden bağımsız faktörlerdir. Gıda ile çalışılan ortamlarda yüzeye bakteri tutunmasında rol oynayan bir diğer faktör gıdanın içeriğidir. Yüzey tarafından absorbe edilip, biyofilm oluşumuna zemin hazırlayan ya da tam tersi etki gösteren gıdalar vardır. Örneğin yağsız süt, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, ve *Serratia marcescens*'in paslanmaz çeliğe adezyonunu azaltmaktadır. Diğer yandan olumsuz bir örnek olarak, *Hafnia alvei*'nin hücresiz kültür süpernatantı da *S. Enteritidis*'in paslanmaz çelik üzerinde biyofilm oluşturmasını inhibe etmektedir.

2.15. Siderofor Üretimi

Demir elementi, canlılığın başlangıcından bu yana, yeryüzünde bulunan temel elementlerden biridir ve canlıların yaşamını sürdürebilmesi için gereklidir. Mikroorganizmalar için demir, zar yapısına bağlı elektron taşıma zincirlerinin ve sitoplazmik indirgenme tepkimelerindeki enzim yapısına katılması açısından metabolik öneme sahiptir. Doğada bol miktarda demir bulunmasına rağmen, serbest halde bulunan Fe(III) radikallerinin mikroorganizmalar tarafından doğrudan alımı söz konusu olamamaktadır.

Bakterilerin çoğu çözülmüş demir miktarının yetersiz olduğu durumlarda düşük moleküler ağırlığa (genellikle < 1500 Da) ve yüksek demir bağlama kapasitesine sahip sideroforları üreterek ortamdan demir alımını sağlamakta, böylece hayatta kalabilmeyi ve üremeyi başarabilmektedir (Varma ve Chincholkar, 2007).

Sideroforlar, katı yüzeyler dışında ferrik sitrat, ferrik fosfat, Fe-transferrin, ferritin ve demir bağlı şekerler, bitkilerde bulunan flavonoid pigmentler, glikozitler ve hatta yapay demir taşıyıcıları olan etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve nitrilotriasetat gibi maddelerden de demir alımını sağlamaktadır

Sideroforlar yapısal olarak 3 grup altında incelenebilir:

1. Hidroksimatlar (N-hydroxyornithine bileşenlerini içerirler)
2. Polikarboksilatlar (sitrik asit bileşenlerini içerirler)

3. Fenolat-katekolatlar.

Sideroforların bakteri metabolizmasına üç çeşit yararı olduğu düşünülmektedir (Varma ve Chincholkar, 2007):

1. Hidroksimat ve katekolat tipte sideroforlar güçlü demir bağlayıcıları olarak kararlı moleküler yapılar oluşturmaktadırlar.
2. Mantar ve bakteri patojenlerine buldukları ortamdan demir alımını sağlayarak hayatta kalma imkânı sunmakta ve böylece virülansı arttırıcı etki göstermektedirler.
3. Dış zarda gösterdikleri yapısal uyum sayesinde alıcı ve taşıyıcı zar proteinlerinin genetik yapıları, işleyişleri ve mutasyonları konusunda bilgi sahibi olunmasını sağlamaktadırlar.

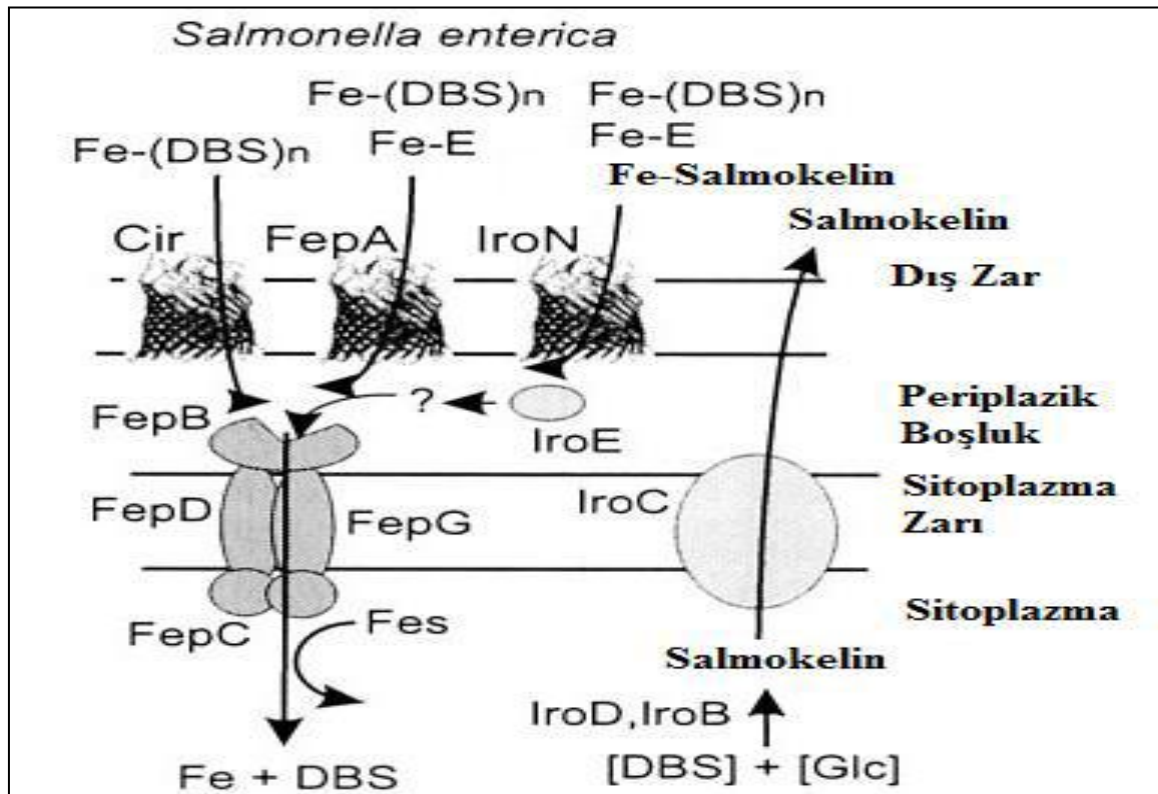
Sideroforların laboratuvar ortamlarında tespit edilebilmesi için eser miktarda demir içeriğine sahip (genellikle % 0,1 oranını geçmeyecek miktarda) besiyerleri kullanılmaktadır. Böylece bakterilerin, demir moleküllerini ortamdan alabilmek için siderofor üretme yeteneğine sahip olup olmadığı araştırılmaktadır.

Bakterilerin oluşturduğu infeksiyonlarda siderofor üretimi sayesinde, konak serumu içerisinden demir alımı gerçekleşmektedir. Bu nedenle siderofor üretiminin, bakterilerde önemli bir virülans faktörü olduğu düşünülmektedir (Weinberg, 1978).

Enterobacteriaceae ailesi üyesi *Escherichia coli* ve *Salmonella enterica* türleri, sahip oldukları *fur* gen bölgesi ürünleri sayesinde, katekolat tipte bir siderofor olan enterokelin (enterobaktin) moleküllerini üretmektedirler. Albümin gibi serum proteinlerinin hidrofobik bölgelerine tutunma özelliği gösterdiği için, enterokelinin basit bir siderofor olduğu iddia edilmektedir. Enfeksiyonlarda belirleyici rol oynayan demir kazanımının *S. enterica* türünde gerçekleşmesini sağlayan enterokelinin, patojeniteyi arttırıcı etkisi üzerindeki çalışmalar devam etmektedir (Litwin ve Calderwood, 1993).

Tüm sistemlerde, ferrik enterokelin (Fe-E) FepA proteini aracılığıyla dış zarı geçerken, doğrusal bir yol izleyen indirgenme ürünlerinden ferrik dihidroksibenzoil-serin (DHBS) bileşikleri, Fiu ve FepA proteinleri tarafından tutularak hücre içine alınmaktadır. *E. coli*

türlerinde görülen bu durum, *Salmonella* bakterilerinde kesin olarak bilinmemektedir. Buna karşın, *E. coli* ve *Salmonella* bakterilerinde, sistemlerin aynı şekilde çalıştığı düşünülmektedir. Fiu ve FepA ile tutunmanın ardından demir bileşikleri, bağlayıcı FepB, zar bileşenlerinden FepD, FepG ve ATPaz FepC proteinlerini içeren ABC taşıma sistemi ile sitoplazmik zara taşınmaktadır. Ferrik enterokelin kompleksinden demirin ayrıştırılarak alınabilmesi için Fes proteinine ihtiyaç duyulmaktadır. *Salmonella* bakterilerinde salmokelin, glukoz ve DHBS ile sentezlenir. Salmokelin sentezinin IroD ve IroB proteinlerinin yardımıyla gerçekleştiği ve bu molekülün, taşıyıcı bir protein olan IroC tarafından salgılandığı düşünülmektedir. IroE protein yapısının ise demir-salmokelin bileşimini indirgeyerek ABC taşıyıcı sisteminden geçişine olanak sağladığı sanılmaktadır. Taşınmanın *S. enterica* türlerinde ve üriner sistem patojeni olan *E. coli* suşlarında aynı genetik işleyişe sahip olduğu bulunmuştur (Hantke ve diğerleri, 2003).



Resim 2.7. *S. enterica* bakterilerinde katekolat tipte siderofor taşınması (Varma ve Chincholkar, 2007).

S. Typhi ve diğer *S. enterica* serotiplerinin çoğunluğunda, siderofor üretimi *iroA* ve eşleştiği olan *iroN* ve *iroBCDE* gen bölgeleri tarafından kontrol edilmektedir. Oluşan yeni siderofor kompleksine, sadece *Salmonella* türlerine özgü olduğu için, salmokelin adı

verilmektedir. Salmokelin yapısının hidrofilik olması sayesinde *Salmonella* bakterilerinde patojenite arttırılmaktadır (Hantke ve diğerleri, 2003).

Salmonella bakterilerinde katekolat tipte salmokelin dışında hidroksimat tipte aerobaktin denilen sideroforlar da bulunmaktadır.

Yapılan bir çalışmada (Kokosharov ve Phetisova, 2002), *Salmonella* serotiplerinden *S. enterica* serovar *Gallinarum* bakterilerinin dışık miktarda demir içeren besiyerinde aerobaktin ürettiği tespit edilmiştir. Ayrıca araştırmacılar tarafından, bakterilerin siderofor üretimi ile hemoliz oluşturma özellikleri gibi virülans faktörleri arasında ilişki bulunabileceği savunulmaktadır.

3. MATERYAL VE METOD

Araştırmamızda Ankara’ da tüketime sunulan sokak sütlerinden ve çeşitli bölgelerden getirilerek, işleme sonrası Ankara piyasasında satışa sunulacak olan çiğ süt örneklerinden 50 adet, yine Ankara’da tüketim amaçlı satılan 45 adet tavuk karaciğeri, 45 adet tavuk kalbi, 45 adet taşlık ve 25 adet tavuk boyun örneği materyal olarak kullanılmıştır. Tüm örnekler mikrobiyal yükü etkilenmeyecek şekilde steril kaplarda muhafaza edilerek laboratuara getirilmiş ve aynı gün çalışılmıştır. Çalışılan örneklerden elde edilen bakteri türlerinin izolasyonunda, Bergey" s Manual of Systematic Bacteriology ve Manual of Clinical Microbiology" de belirtilen biyokimyasal testler esas alınmıştır, ayrıca cins ve tür bazında doğrulama amaçlı Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification Systems Gram-Negatif ID kit kullanılmıştır.

3.1. *Salmonella* spp. İzolasyonu

Kültürel yöntemlere göre uygulanacak metotta izolasyon 4 aşamada gerçekleştirilmiştir:

Ön zenginleştirme; Alınan örnekler 9:1 oranında Tamponlanmış Peptonlu Su (PW)’ya konuldu (sıvı örnekler için 25ml örnek/ 225 ml PW; katı örnekler için 5g örnek/45 ml PW). Örnekler 24 saat 37°C de inkübe edildikten sonra bir sonraki aşama olan zenginleştirme işlemine geçilmiştir.

Zenginleştirme; *Salmonella*’nın iyi ürediği, bunun yanı sıra diğer bakterilerin üremesinin kısmen engellendiği spesifik besiyerleri kullanılmıştır. Rapport Vassiliadis Broth (RVS) ve Muller Kauffman Tetrathionate-Novobiocin Broth (MKTTn) bu işlem için kullanılan iki besiyeridir. PW’ da üretilen gecelik kültürlerden 1ml alınarak 9ml RVS ve MKTTn’ye aktarılarak, RVS; 24 saat 37°C’de, MKTTn ise 41,5°C’de 24 saat bekletilmiştir.

Selektif Agar’a ekim; RVS ve MKTTn’ de üretilen gecelik kültürlerden 100µl alınarak *Salmonella* için selektif bir besi yeri olan xylose-lysine-tergiyol-4 (XLT4) agara dregaski özesi ile yayma ekim yapılarak ve yayma ekimler 37°C’ de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. *Salmonella* türleri XLT4 agar üzerinde merkezi siyah etrafı şeffaf zon oluşturmuş koloniler şeklinde görülmektedir.

Saf kültür; XLT4 Agar'da gözlenen *Salmonella* şüpheli kolonilerden tekrar XLT4 Agar'a, Macconkey agara ve Brilliant green agara tek koloni ekim yapılarak, kullanılan üç besiyerinde de beklenen sonucu veren örnekler saf kültürler olarak elde edilmiştir.

Elde edilen *Salmonella* şüpheli kolonilere gerekli identifikasyon testleri ile tanımlama yapılarak BBL Gram Negatif Kit yardımıyla doğrulaması yapılmıştır.

3.2. *Salmonella* spp. İzolasyonu İçin Kullanılan Besiyerleri ve İçerikleri

Tamponlanmış peptonlu su (Buffered Peptone Water) (Merck 1.07228.0500)

Bileşimi:	g/L
Peptone	10,0
Sodyum klorid	5,0
Di sodyum hidrojen fosfat on iki hidrat	9,0
Potasyum di hidrojen fosfat	9,0

Hazırlanışı; Dehidre besiyeri, 25,5 g/L olacak şekilde damıtık su içinde eritilip, amaca uygun kaplara (erlen, kavanoz, tüp vs.) 225'er mL dağıtılır ve otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsı renklidir. Sterilizasyon sonrası 25 °C'da pH 7,0±02'dir

Rapport Vassiliadis Broth (RVS) (Merck 1.07700.0500)

Bileşimi:	g/L
Peptone from soymeal	4,5
Magnesium chloride hexahydrate	28,6
Sodium chloride	7,2
di-Potassium hydrogen phosphate	1,26
potassium dihydrogen phosphate	0,18
malachite-green	0,036

Hazırlanışı; Dehidre besiyeri, 41,8 g/L olacak şekilde damıtık su içinde gerekirse hafifçe ısıtılarak çözülür. Standart deney tüplerine 10'ar mL dağıtılır ve otoklavda 115 °C'da 15

dakika sterilize edilir. Otoklav sonrası 25 v'da pH 5,2±0,2'dir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve koyu mavi renklidir.

Muller Kauffman Tetrathionate-Novobiocin Broth (MKTTn) (Merck 1.05878.0500)

Bileşimi :	g/L
Meat extract	4,3
Peptone from casein	8,6
Sodium chloride	2,6
Calcium carbonate	38,7
Sodium thiosulpahte (anhydrous)	30,5
Ox bile	4,78
Brilliant green	0,0096
Novobiocin	0,040

Hazırlanışı; Dehidre besiyeri, 89,5 g/L olacak şekilde damıtık su içinde eritilir. Gerekirse pH 25°C'a 8,0±0,2'ye ayarlanır. Sonra hafifçe ısıtılarak (5 dakika kaynatılarak) sterilize edilir ve hızla soğutulur. Besiyeri bu şekil ile buzdolabı sıcaklığında (2-8°C) 4 hafta saklanabilir. Bazal besiyerine iyot/potasyum iyodür çözeltisi ilave edildikten sonra aseptik koşullara uyularak steril tüplere dağıtılıp aynı gün kullanılmalıdır. Bu besiyeri otoklavlanmaz, aşırı ısıtmadan kaçınılmalıdır. Hazırlanmış besiyeri bulanık ve yeşil renklidir. Tüpün dibinde CaCO₃ kaynaklı beyaz bir çökelti olur. İyot/potasyum iyodür çözeltisi hazırlanırken önce 2 mL damıtık su içinde 5 g potasyum iyodür tam olarak çözülür, sonra 4 g iyot eklenip, damıtık su ile 20 mL'ye tamamlanır. Ayrıca 1L hazırlanmış besiyerine kullanım öncesi 20 ml damıtık suda çözülmüş 5,0 g Potassium iodide ve 4,0 g iodine ilave edilir.

Mac- Conkey Agar (Merck 1.05465.0500)

Bileşimi	g/L
Peptone from casein	17,0
Peptone from meat	3,0
Sodium chloride	5,0
Lactose	10,0

Bile salt mixture	1,5
Neutral red	0,03
Cyrsital violet	0,001
Agar-agar	13,5

Hazırlanışı; Dehidre besiyeri, 50,0g/L olacak şekilde ısıtılarak damıtık su içinde eritilir ve otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edilip, 45-50 °C'a soğutulup petri kutularına 12,5'er mL dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak ve kırmızı kahverenkli olup 25 °C'da pH'sı 7,1±0,2'dir.

Brilliant Green Agar (OXOID CM0263)

Bileşimi:	g/L
Proteose peptone	10
Yeast extract	3,0
Sodium chloride	5,0
Lactose	10,0
Sucrose	10,0
Phenol red	0,08
Brilliant green	0,0125
Agar-agar	12,0

Hazırlanışı; Dehidre besiyeri, 50,0 g/L olacak şekilde ısıtılarak damıtık su içinde eritilir ve otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edilir. 25 °C'da pH'sı 6.9±0.2'dir.

Xylose-Lysine-Tergitol-4 (Xlt4) Agar (Merck 1.13919.0500)

Bileşimi:	g/L
Proteose peptone	1,6
Yeast extract	3,0
L-lysine	5,0
Xylose	3,75
Lactose	7,5
Sucrose	7,5

Ammonium-Iron(III) citrate	0,8
Sodium thiosulfate	6,8
Sodium chloride	5,0
Phenol-red	0,08
Agar-agar	18,0

Hazırlanışı; Dehidre besiyeri, 59,0 g/L ve XLT4 Agar Supplement (Merck 1.08981) 4,6 mL/L olacak şekilde beraberce damıtık suda kaynatılarak eritilir. Steriliasyon, besiyerini eritirken yapılmış olur. Isıya oldukça duyarlı olan bu besiyeri 50°C'da 45 dakikadan fazla tutulmamalıdır. Besiyeri, 45-50°C'a soğuyunca steril Petri kutularına 12,5'er mL dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak ve kırmızıdır. 25°C'da pH'sı 7,4±0,2'dir.

3.3. *Salmonella* spp. İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri, İçerikleri ve Testlerin Yapılışı

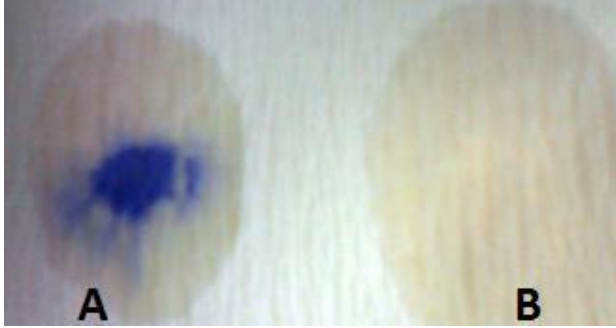
3.3.1. Gram boyama

Temiz bir lam üzerine bir damla distile su damlatılır. Genel bir katı besiyerine ekilmiş olan bakteri kolonisi steril öze yardımı ile alınarak lam yüzeyine ince bir tabaka oluşturacak şekilde yayılır ve havada kurumaya bırakılır. Kuruyan lam alevden birkaç kez geçirilerek bakteri hücrelerinin lama yapışması sağlanır. Lamın üzerine pastör pipeti yardımı ile kristal-viyole dökülüp 60sn beklenir, sonra distile su ile tüm yüzey yıkanır. Yıkanan lamın üzerine pipet yarımıyla lügol dökülür 60sn beklenir, distile su ile hafifçe yıkanır ardından % 95'lik etil alkol ile kısa bir süre (6-8 sn) muamele edilerek distile su ile yıkanır. Yıkanan lamın üzerine safranin dökülerek 30 sn beklenip distile su ile yıkanır. Boyanan preparat mikroskopta incelenmek üzere kurumaya bırakılır. Mikroskobik olarak Gr (-) basil ya da kokobasil şeklinde görünen koloniler *Salmonella* spp. şüpheli kolonileri olarak incelemeye alınır (Prescott,2002).

3.3.2. Oksidaz testi

Tetrametil p-fenilendiamin dihidrokloridin (%1'lik) çözeltisi hazırlanarak Whatman No.1 kurutma kağıdına emdirilir. Bu kurutma kağıdının üzerine, inceleme yapılacak koloniler öze ile yaydırılarak reaksiyona sokulur. 5-10 saniye içinde mavi renk oluşturan koloniler

oksidaz pozitif, kurutma kağıdında renk değişimi göstermeyen koloniler ise oksidaz negatif olarak değerlendirilir (Prescott, 2002). *Salmonella* spp. oksidaz negatiftir.



Resim 3.1. Oksidaz testi; A: Oksidaz pozitif; B: Oksidaz negatif

3.3.3. Katalaz testi

Genellikle aerobik ve fakültatif anaerobik mikroorganizmaların sahip olduğu katalaz enzimi, ortamda bulunan hidrojen peroksidi su ve oksijene ayrıştırır. Sıvı veya katı besiyerinde geliştirilen bakterilerin üzerine H_2O_2 ilave edildiğinde, açığa çıkan serbest oksijenin gaz kabarcıkları şeklinde gözlenmesi, hidrojen peroksidin ayrıştığını, dolayısıyla bakteride katalaz enziminin varlığını gösterir.

Testin yapılışı; temiz bir lam üzerine, bir-iki damla %3" lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatılır. İzole edilen saf kolonilerden steril bir öze dolusu alınarak hidrojen peroksit ile reaksiyona girmesi sağlanır ve gaz kabarcıklarının oluşup oluşmadığı gözlemlenir. Lam üzerinde gaz kabarcıklarının oluşumu katalaz pozitif olarak, gaz kabarcıklarının oluşmaması ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Prescott, 2002). *Salmonella* spp. katalaz pozitifdir.



Resim 3.2. Katalaz testi; A: Katalaz pozitif; B: katalaz negatif

3.3.4. İndol testi

İçeriğinde triptofan bulunan bir besiyerinde geliştirilen bakterilerin, triptofanı enzimatik hidrolize uğratarak indol oluşturup oluşturmadıklarını belirlemek amacı ile yapılan bir testtir (Prescott, 2002). Triton soy agar (TSA) besiyerindeki stok kültürden steril öze ile alınarak 5ml tryptone water içeren tüplere ekim yapılır. 30-35°C'de 3 gün inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası sıvı besiyerine 0,2-0,3ml kovaks ayırıcı ilave edilir. Üst kısımda kırmızı halka oluşumu pozitif reaksiyonun, sarı-kaverengi halka oluşumu ise negatif reaksiyonun göstergesidir. *Salmonella* spp. indol negatiftir.



Resim 3.3. İndol testi; A: İndol pozitif; B: İndol negatif

Tryptone water (LAB M lab 129)

Bileşimi:	g/L
Tripton	10 0
Sodyum Klorid	5,0

Hazırlanışı; Besiyerinden 15 g tartılıp 1000 ml distile su içerisinde çözdürülür, 121°C'de 15 dakika steril edilir. Hazırlanan besiyerinin 25°C'da pH'sı $7,5 \pm 0,2$ 'dir.

3.3.5. Metil Red (MR) - Voges-Proskauer (VP) testi

Bazı bakteriler, ortamda bulunan glikozu kullanarak çeşitli organik asitler oluştururlar ve sonuçta ortamın pH'sı düşer. Bu özellikten faydalanarak bakterilerin glikozdan asit oluşturup oluşturmadığını belirleyebilmek amacı ile metil red testi yapılır. Bu testte

kullanılan metil red indikatörü pH 6,2'de sarı, pH 4,2 ve altında ise kırmızı bir renk oluşturur. Diğer taraftan bazı bakteriler de glikoz bulunan ortamda glikozu kullanarak 2, 3-bütülen glikol gibi çeşitli nötral ürünler oluştururlar. Bu nötr maddelerden biri olan asetoin, ortama alkali bir madde eklendiğinde okside olarak diasetile dönüşür. Diasetil ise peptondaki kreatin, arjinin veya kreatinin ile birleşerek pembe-kırmızı bir renk oluşumuna neden olur. Metil red ve Voges-Proskauer testleri çoğu analizde beraberce uygulanırlar.

Testin yapılışı; test edilecek her izolat için 2 ayrı Metil red- Voges Proskauer (MR-VP) besiyeri içeren tüp hazırlanır. İzolatlar MR-VP sıvı besiyerine ekilip, 37 °C'de 2-7 gün aerobik ortamda inkübasyona bırakılır. Metil Red testi için, 5 ml kültüre 5 damla metil red indikatörü eklenir. Rengin kırmızı-pembeye dönmesi testin pozitif, sarı kalması ise negatif olarak değerlendirilir. Voges-Proskauer testi için, inkübasyon sonucunda besiyerine 0,6 ml α -naphtol + etil alkol karışımı olan VP indikatörü ve 0,2 ml %40'luk KOH ilave edilir. Test sonucunda pembe renk oluşumu pozitif, sarı renk oluşumu ise negatif olarak değerlendirilir. (Prescott, 2002).

Metil Red- Voges Proskauer (MR-VP) Broth (Merck 1.05712.0500)

Bileşimi:	g/L
Pepton (etten)	7,0
D (+) Glikoz	5,0
Fosfat tamponu	5,0
PH 6,9 \pm 0,1	

Hazırlanışı; Besiyerinden 17 g /l olacak şekilde distile su içerisinde çözülür, 121°C'de 15 dakika otoklavlanır.

MR indikatörü

Bileşimi:	g/L
Metil red	0,2
%95'lik etil alkol	0,05
Damıtık su	0,05

Hazırlanışı; Metil red 50 ml etil alkol içerisinde homojen hale getirildikten sonra çözeltiliye 50 ml distile su eklenerek 100 ml'lik indikatör solüsyon hazırlanır.

VP indikatörü

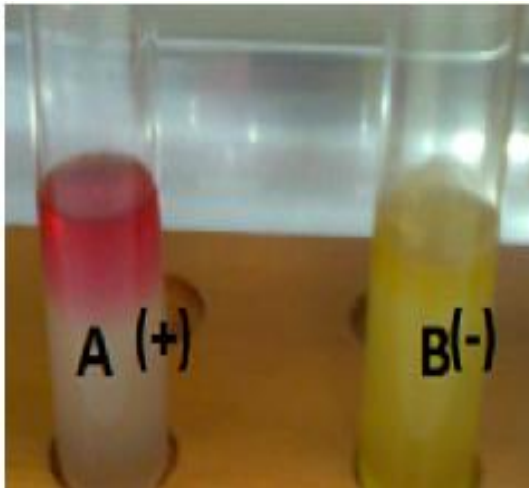
Bileşimi	g/L
Alfa naftol	5
Etil alkol	0,1

Hazırlanışı; 5 gr α -naphtol 100 ml etil alkol içerisinde homojen hale getirilerek indikatör solüsyon hazırlanır.

%40 Potasyum Hidroksit (KOH)

Bileşimi	g/L
Potasyum hidroksit	40
Distile su	0,1

Hazırlanışı; 40 gr potasyum hidroksit 100 ml distile su içerisinde homojen hale getirilerek %40'luk KOH solüsyonu hazırlanır.



Resim 3.4. Metil red testi; A: Metil red pozitif; B: Metil red negatif



Resim 3.5. VP- testi ; A: Voges-Proskauer pozitif ; B: Voges-Proskauer negatif

3.3.6. Sitrat testi

Bazı bakteriler karbon ve enerji kaynağı olarak sitratlar kullanabilirler. Sitrat testi, bakterinin tek karbon kaynağı olarak sitratı kullanıp kullanmadığını belirlemek amacı ile yapılır. Kültür süspansiyondan, Simon's sitrat yatık agar besiyerine öze ile sürme yapılarak optimum sıcaklıkta 2-7 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Orijinal rengi yeşil olan ve indikatör olarak %0, 2 bromo timol mavisi kullanılan besiyerinde, besiyeri renginin maviye dönüşmesi ve ekim hattı boyunca üreme gözlenmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Prescott, 2002).

Simmon's Sitrat Agar (Oxoid CM 155)

Bileşimi	g/L
Magnezyum sülfat	0, 2
Amonyum dihidrojen fosfat	0, 2
Sodyum amonyum fosfat	0, 8
Sodyum Sitrat	2, 0
Sodyum Klorid	5, 0
Brom timol mavisi	0, 08
Agar	15, 0

Hazırlanışı; Besiyeri 23.28 g /l olacak şekilde distile su içerisinde çözülür. Agar eriyene dek kaynar su banyosunda tutulur. Tüplere dağıtılarak, otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edilir. Tüpler otoklavlama sonrası yatık vaziyette katılaşmaya bırakılır.



Resim 3.6. Sitrat testi ; A: sitrat pozitif; B: sitrat negatif

3.3.7. Triple Sugar Iron Agar (Tsi) Testi

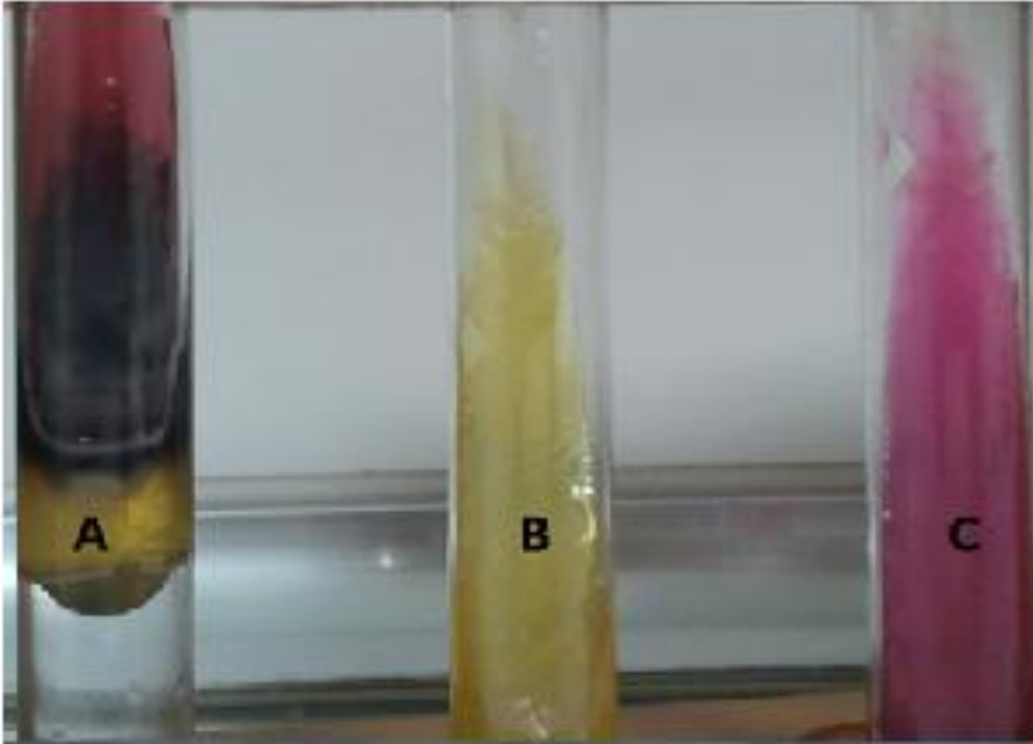
Triple Sugar Iron Agar, üç karbonhidrat (glikoz, laktoz ve sükroz) içerir. Bu karbonhidratlar fermente edildiğinde, oluşan asit üretimi fenol kırmızısı indikatörü ile saptanır. Oluşan renk değişimleri asit üretimi için sarı ve alkalinizasyon için kırmızıdır. Laktoz ve sükroz, glikozdan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu için, uçta asit oluşumu bu şekerlere bağlı iken, glikozdan asit oluşumu tüpün yatık alanında az miktarda asidin hızlı oksidasyonu ile baskılanarak yalnızca glikoz fermente olduğunda nötral veya bazik pH reaksiyonuna yol açar (Prescott, 2002).

Triple Sugar Iron Agar (Merck 1.03915)

Bileşimi	g/L
Kazain Pepton	15,0
Pepton (etten)	5,0
Meat extract	3,0
Yeast extract	3,0
Sodyum klorür	5,0
Laktoz	10,0
Sükroz	10,0
D(+) glikoz	1,0
Amonyum demir (III) sitrat	0,5

Sodyum trisülfat	0,5
Fenol kırmızısı	0,024
Agar	12,0
pH: 7,4 ± 0,2	

Hazırlanışı; Bileşenlerden 65 gr 1000 ml distile su içerisinde çözdürülür. Agar eriyene kadar su banyosunda tutulur ve daha sonra test tüplerine 5-7 ml miktarında dağıtılır. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilir ve sterilizasyon sonrası tüpler yatık vaziyette soğumaya terk edilir. Test edilecek izolat TSA besiyerindeki stok kültürden iğne öze ile yoğun miktarda alınıp, yatık agar yüzeyine sürme ekim yapılmış ve öze bu işlem sonunda besiyerinin dip kısmına batırılıp çıkarılmıştır. 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonunda sonuçlar aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir.



Resim 3.7. TSI testi

Çizelge 3.1. TSI testi sonuçları

	Tüp A	Tüp B	Tüp C
Yatık yüzey	Alkali	Asit	Alkali
Dip kısım	Asit	Asit	Alkali
Gaz	+	-	-
H ₂ S	+	-	-

3.3.8. Lysin Iron Agar (LIA) Testi

Besiyeri Bileşimindeki Lysin, LDC pozitif bakteriler (*Salmonella*) tarafından kadeverine çevrilir. Bu reaksiyon pH indikatörünün menekşe renk almasına neden olur. Reaksiyon pH 6'dan daha düşük asit ortamda gerçekleşir. Bu nedenle önce glikoz fermantasyonu sonucu ortam asitlenir. Dolayısı ile bu besiyeri glikozu fermente edebilen bakterilerin LDC enzimi varlığını belirlemek için kullanılabilir. LDC enzimi olmayan bakterilerde besiyeri rengi sarı olarak kalır, ancak inkübasyonun uzaması halinde alkalinizasyon gerçekleşerek sahte pozitif sonuçlar alınabilir. Bu nedenle inkübasyon süresi 24 saati geçmemelidir. Birkaç *Proteus morganii* suşu hariç olmak üzere *Proteus* ve *Providencia* ise lisini α -ketocarboxylic asit oluşacak şekilde deamine eder. Bu bileşik ise yüzeyin hemen altında oksijen etkisi ile demirle reaksiyona girerek kırmızımsı kahverengi bir bileşik oluşturur. Hidrojen sülfür oluşumu dipte siyah renk ile belirlenir.

Lysine Iron Agar (Merck 111640.0500)

Bileşimi	g/L
Peptone from meat	5,0
Yeast extract	3,0
D(+) Glucose	1,0
L-Lysine monohydrochloride	10,0
Sodium thiosulfate	0,04
Ammonium iron(III) citrate	0,5
Bromocresol purple	0,02
Agar-agar	12,5

Hazırlanışı; Dehidre besiyeri, 32,0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde kaynar su banyosunda 5-10 dakika tutularak ve sürekli karıştırılarak ya da mikrodalga fırın kullanılarak besiyerinin iyice erimesi sağlanır. Besiyeri henüz sıvı halde iken 16 X 160 mm tüplere 7'şer mL olarak dağıtılır ve tüpler 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir. Otoklav çıkışında besiyeri henüz sıvı iken tüpler 1-1,5 cm yüksekliğinde bir çubuğa yatırılır. Tüpler bu şekilde bekletilir, besiyeri katılaştıktan sonra yüzeye sürme ve aşı iğnesi ile dibe daldırma yapılır. Bu şekilde tüpün dibinde 2-2,5 cm yüksekliğinde bir besiyeri kalınlığı olmalıdır. Hazırlanmış besiyeri berrak ve menekşe renkli olup, 25 °C 'da pH'sı $6,7 \pm 0,2$ 'dir.

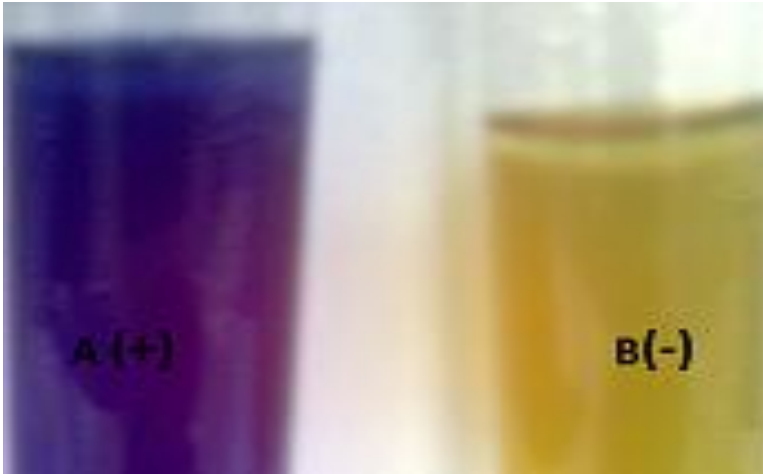
3.3.9. Ornitin dekarboksilaz testi

Test edilecek izolatdan alınan koloniler besiyerine inoküle edilir. . Üzerine steril mineral yağ örtülür. Tüpler 30°C’de inkübe edilir. Aminoasitlerin dekarboksilasyonu koyu mor bir rengin oluşması ile anlaşılır. Negatif sonuçlarda sarı renk olur [Prescott, 2002; Resim 3.9].

Ornithin Dekarboksilaz testi besiyeri

Bileşimi	g/L
Pepton	5
Yeast extract	3
L-ornitin hidroklorid	10
% 50 etanol içerisinde bromekrezol mavisi’nin % 02 eriyiği	0,005

Hazırlanışı: Besiyeri 1000 ml distile su içinde çözülür, 121°C’de 15 dakika otoklavlanır.



Resim 3.8. Ornitin testi; A: ornithin testi pozitif B: ornithin testi negatif

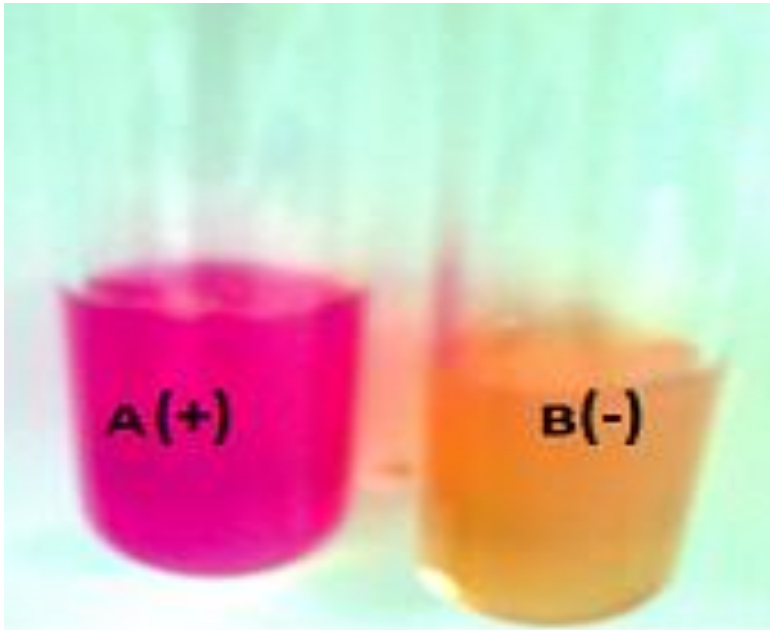
3.3.10. Üre testi

Örnekler besiyerine aşılanarak 25°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda besiyerinde pembe renk oluşumu ile reaksiyon pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Üre agar base (Oxoid CM 53)

Bileşimi	g/L
Pepton	1,0
Glikoz	1,0
Sodyum klorid	5,0
Disodyum fosfat	1,2
Potasyum dihidrojen fosfat	0,8
Fenol kırmızısı	0,012
Agar	15,0
pH 6,8 ± 0,2	

Hazırlanışı; Besiyerinden 2,4 gr tartılıp 95 ml distile suda çözülür.121 °C'de 15 dakika otoklavlanır.



Resim 3.9. Üre testi; A: Üre pozitif; B: Üre negatif

3.4. Enzimatik Özelliklerin Aranmasına Yönelik Testler

3.4.1. Proteolitik aktivite testi

Test edilecek izolattan iğne uçlu öze ile alınan bakteriler SMA saplama şeklinde (spot on the law) inoküle edilmiştir. Bakteriler izole edildikleri sıcaklık derecelerinde inkübasyon

sonucu besiyerinde şeffaf zon oluşturan türlerin proteolitik aktiviteleri pozitif ve zon oluşturmeyen türler ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Prescott, 2002).

Skim Milk Agar

Bileşimi	g/L
Skim milk powder	25,0
Distile su	0,25
Agar	5,0
Distile su	0,25

Hazırlanışı; Besiyeri 121°C’de 15 dakika otoklavlanır. Her iki karışım 50°C’ye gelince karıştırılır ve petrilere dökülür.

3.4.2. Lipolitik aktivite

Test edilecek izolatdan iğne uçlu öze ile alınan bakteriler SMA saplama şeklinde (spot on the law) inoküle edilmiştir. Bakterilerden 24 saat 30 °C inkübasyon sonucu besiyerinde şeffaf zon oluşturan türlerin proteolitik aktiviteleri pozitif ve zon oluşturmeyen türler ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Prescott, 2002).

Tributyryn Agar (Merck 1.01957.0500)

Bileşimi	g/L
Meat pepton	2, 5
Kazein pepton	2, 5
Yeast extract	3, 0
Agar	12
pH 7,5 ± 0,2	

Hazırlanışı; Tributyrin Agar besiyerinden 20 g/l olacak şekilde distile su içerisinde çözülüp 121°C’de 15 dakika otoklavlanır. Daha sonra besiyeri oda sıcaklığına kadar soğutulur ve hızlıca karıştırılarak üzerine 10ml/1000ml oranında Tributyrin ilave edilir.

3.5. *Salmonella* spp. 'nin BBL Crystal Enteric/Nonfermenter (E/NF) Identification (ID) System ile Doğrulanması

Salmonella cinsine ait izolatların saflık kontrolleri yapıldıktan sonra, cins ve tür seviyesindeki tanımlamalarının doğrulanması Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Enteric/Nonfermenter (E/NF) Identification (ID) System ile yapılmıştır. İndol ve oksidaz testi sonuçları bilinen izolatlar Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerine tek koloni yöntemine göre ekilip 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda üreyen *Salmonella* kültürleri, tanımlama kitlerine ait solüsyonlarda 0,5 McFarland bulanıklık olacak şekilde ayarlanmıştır ve vortex yardımıyla homojenizasyonu sağlanan süspansiyonlar, BBL Crystal Base paneline boşaltılmış ve tüm kuyucukların süspansiyonla dolması sağlanmıştır.

Paneller, 18-24 saat 35-37°C'de inkübe edildikten sonra, BBL Crystal Panel Viewer cihazı ve BBL Crystal E/NF ID kit'e ait renkli okuma kartı ile değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonuçları bilgisayar ortamında, BBL Crystal Identification System programına göre yapılarak *Salmonella* türleri doğrulanmıştır.

3.5.1. BBL Crystal E/NF ID kitin içerdiği testler

BBL Crystal E/NF ID kitin içerdiği biyokimyasal testler;

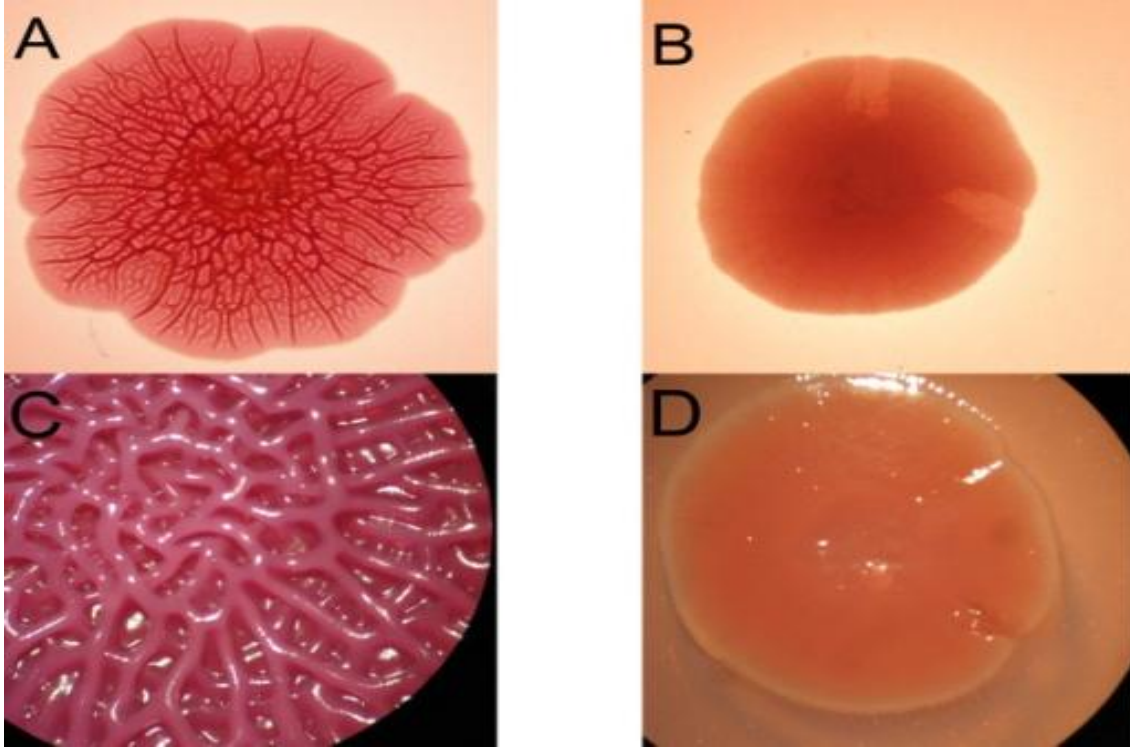
Arabinoz	p-n-p-fosfat	γ -L-glutamil p-nitroanilid
Mannoz	p-n-p α - β -glikozit	Eskülin
Sükroz	p-n-p- β -galaktosid	p-nitro-DL-fenilalanin
Melibiyoz	Prolin nitroanilid	Üre
Ramnoz	p-n-p bis-fosfat	Glisin
Sorbitol	p-n-p-ksilozit	Sitrat
Mannitol	p-n-p- α -arabinosid	Malonik asit
Adonitol	p-n-p-fosforilkolin	Trifenil tetrazolyum klorür
Galaktoz	p-n-p- β -glukuronid	Arjinin
İnositol	p-n-p-N-asetil glukosaminid	Lizin



Resim 3.10. *Salmonella* spp. BBL™ Crystal™ Gram-Negative ID'nin panel ışık görünümü

3.6. Kongo kırmızısı içeren Luria Bertani agar besiyerlerinde *Salmonella* suşlarının biyofilm morfotiplerinin belirlenmesi

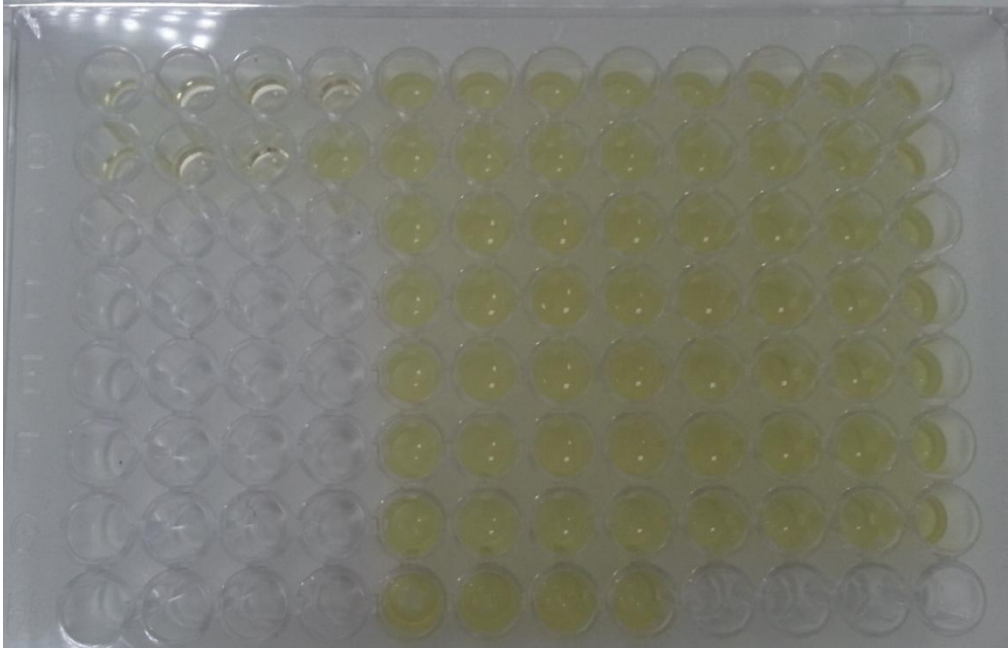
Salmonella spp. olarak tanımlanan 105 suş ve *Salmonella Paratyphi A* olarak tanımlanan 2 suş -20°C stoğundan alınarak 5'er mL'lik LB broth besiyerlerine % 1 inokülasyon oranıyla aktarıldı ve bir gece (18 saat) çalkalamalı koşullarda (200 rpm/dakika) 37°C 'de inkübasyona bırakıldı. Bir gecelik inkübasyondan sonra aktif kültürlerden % 1 oranında alınan kültürler 5'er mL'lik NaCl'siz LB broth ortamlarına aktarıldı ve suşlar 37°C 'de bir gece inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra daha önceden hazırlanmış, biyofilm matriksinin bileşenleri için indikatör özellik gösteren Kongo kırmızısını içeren NaCl'siz LB agar besiyerlerine aktif kültürlerden 10 μL , 15 μL , 20 μL damlatıldı. Petriler daha sonra 20°C 'de en az 8 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Tüm petriler stereo mikroskopunda ve görsel olarak incelendi. Çalışma 2 paralel ve 2 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Suşların içerdiği morfotipler; biyofilmin matriksinde kıvrımlı fimbriya ve selüloz bulunduran rdar (kırmızı, kuru ve pürüzlü), yalnızca kıvrımlı fimbriya bulunduran bdar (kahverengi, kuru ve pürüzlü), yalnızca selüloz bulunduran pdar (pembe, kuru ve pürüzlü) ve her ikisini de bulundurmeyen saw (düz ve ıslak) olmak üzere kategorize edildi (Resim3.11) (Vestby ve diğerleri, 2009).



Resim 3.11. Kongo kırmızısı agarda biyofilm morfolojileri (A- rdar morfolojisi, B- bdar morfolojisi, C- pdar morfolojisi, D- saw morfolojisi)

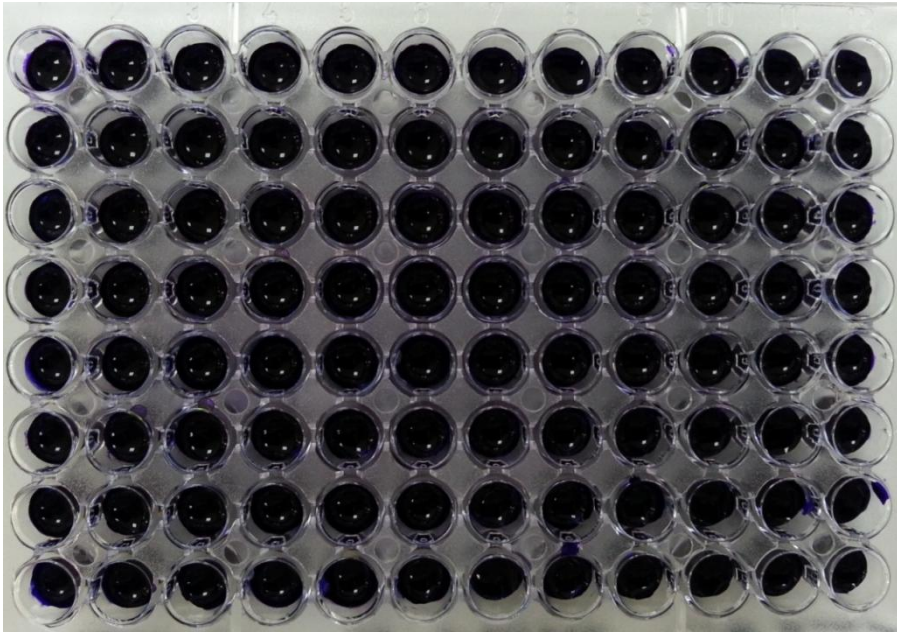
3.7. Polistiren Üzerinde Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi

Salmonella izolatlarının polistiren üzerinde biyofilm oluşturma özelliklerinin incelenmesi için Woodward ve diğerleri (2000) tarafından önerilen yöntem ile Stepanovic ve diğerleri (2000) tarafından önerilen yöntem modifiye edilmiştir. Bu amaçla, NaCl içermeyen 5 mL'lik LB broth (LBwo/NaCl) ortamlarında 37 °C'de çalkalamalı koşullarda bir gece boyunca geliştirilen aktif kültürler LBwo/NaCl ile 0,5 Mcfarland düzeyine kadar seyreltildi ve bu süspansiyonlardan 96 kuyuluk mikrotitrasyon plaklarına 130 µL aktarıldı.



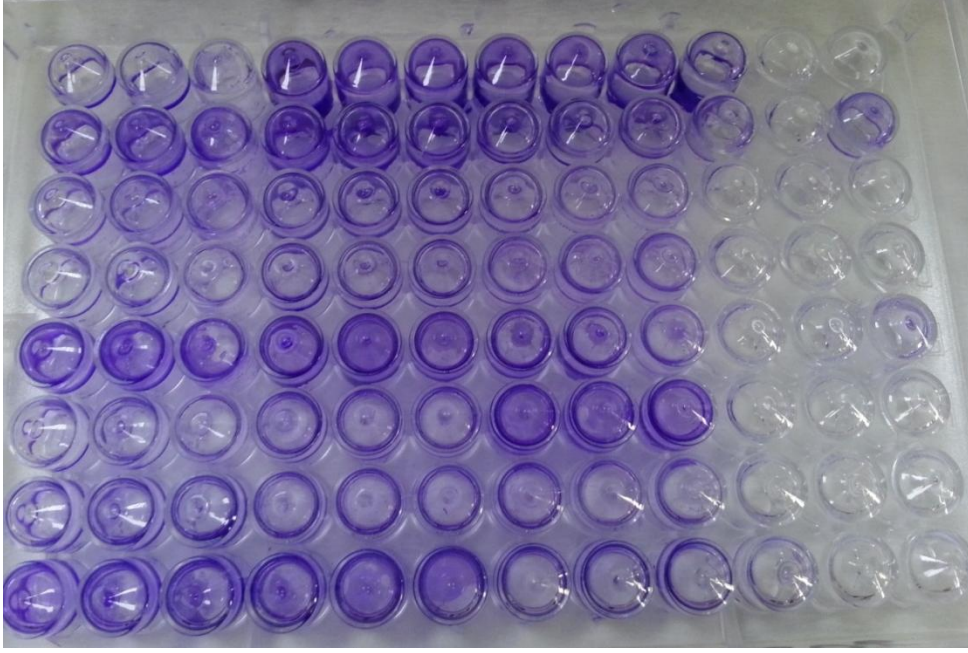
Resim 3.12. İnkübasyon sonrası mikroplate içerisine aktarılan bakteri süspansiyonlarının görüntüsü

İnkübasyon süresi bitiminde, kuyular 2 defa steril distile su ile yıkandıktan ve plaklar oda sıcaklığında kurutulduktan sonra 130 μ L % 1'lik kristal viyole kuyulara aktarıldı ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.



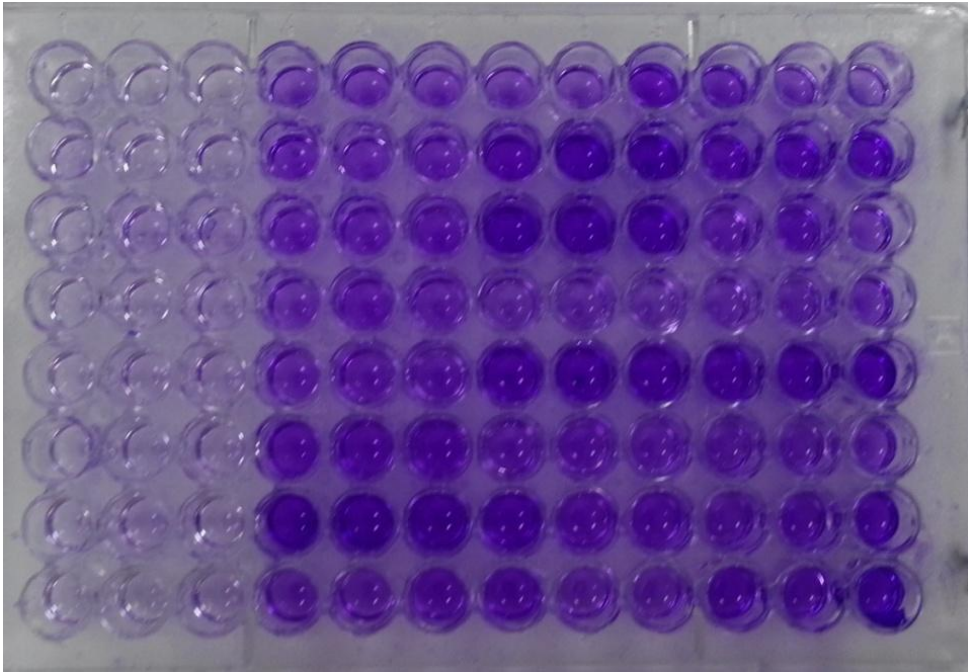
Resim 3.13. Kuyuların kristal viyole boyası ile muamele edilmesi

Daha sonra plaklar steril distile su ile 2 kez yıkandı.



Resim 3.14. Kristal viyoleyi tutan biyofilm tabakalarının görünümü

Kuyulara 130 μ L etanol:aseton (70:30 w/w) aktarıldı. 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi ve biyofilm tabakasına bağlanan boyanın çözünmesi sağlandı.



Resim 3.15. Kristal viyolenin çözdürülmesi

Biyofilm tabakasına bağlanan boyanın çözünmesi aşamasında etanol:aseton karışımının kullanılması yanında boyayı daha iyi çözdüğü bilinen % 33'lük glasiyel asetik asit de kullanıldı (Stepanovic ve diğerleri, 2000). İnkübasyon bitiminde OD 595'te çözünen kristal

viyole boyası Elisa okuyucusunda ölçüldü. Bu deneme tüm suşlar için 3 paralel ve 3 tekrar olacak şekilde gerçekleştirildi. Biyofilm ölçümlenmesinin sonucu her üç paralelden alınan OD değerlerinin ortalamasından, kontrol (yalnızca NaCl'siz LB broth içeren kuyular) kuyularının OD değerlerinin ortalamasının çıkarılmasıyla hesaplandı.

3.8. Biyofilm Deneyi İçi Kullanılan Besiyerleri

Luria Bertani (LB) Broth ve Agar (Merck, Germany)

Bileşimi	g/L
Trypton	10
Maya ekstraktı	5
Sodyum klorid	10
Agar	15

Hazırlanışı; Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Sterilizasyondan önce pH 7.0 ± 0.2 'ye ayarlanır. Broth besiyeri cam tüplere dağıtıldıktan, katı besiyeri ise agar ilavesinden sonra, otoklavda ($121\text{ }^{\circ}\text{C}$ / 15 dakika) sterilize edilir. Katı besiyerleri $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulduktan sonra petrilere dökülür.

Luria Bertani (LB) Broth ve Agar (NaCl'siz)

Bileşimi	g/L
Trypton (Fluka,France)	10
Maya ekstraktı (Merck,Germany)	5
Agar (Sigma-Aldrich,Germany)	15

Hazırlanışı; Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Sterilizasyondan önce pH 7.0 ± 0.2 'ye ayarlanır. Broth besiyeri cam tüplere dağıtıldıktan, katı besiyeri ise agar ilavesinden sonra, otoklavda ($121\text{ }^{\circ}\text{C}$ / 15 dakika) sterilize edilir. Katı besiyerleri $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulduktan sonra petrilere dökülür.

Kongo Kırmızısı İçeren (40 µg/mL) Luria Bertani (LB) Agar (NaCl'siz)

Bileşimi	g/L
Trypton (Fluka,France)	10
Maya ekstraktı (Merck, Germany)	5
Kongo kırmızısı (Sigma-Aldrich, USA)	0,04
Agar (Merck,Germany)	15

Hazırlanışı: Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Sterilizasyondan önce pH 7.0 ± 0.2'ye ayarlanır. Çözülen içeriğe 0,04 gram Kongo kırmızısı ilave edilir. pH ayarı yapıp 15 gram agar ilavesinden sonra besiyeri 121 °C'de 15 dakika steril edilir. Katı besiyerleri 55 °C'ye kadar soğutulduktan sonra petrilere dökülür.

3.9. *Salmonella* İzolatlarında Siderofor Varlığının Araştırılması

İzolatların siderofor tayinleri Chrome Azurol Sulphate (CAS) Agar kullanılarak Schwyn ve Neilands yöntemine göre yapılmıştır. Tryptic soy agar besiyerine ekilerek 24 saatlik kültürlerden 2-3 koloni alınarak CAS agara inoküle edilir. 30-37 °C'de 24-48 saatlik inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası mavi-turkuaz renkteki CAS agarın renginin sarı-turuncuya dönmesi siderofor varlığı olarak yorumlanır.

Chrome Azurol Sulphate (CAS) Agar

CAS indikatör solüsyonunun hazırlanması;

Chrome Azurol S (CAS)	: 60,5 mg
Demir-III klorid hekzahidrat	: 27 mg
Hidroklorik asit	: 83,3 µl
Hexadecyltrimethylammonium bromide (HDTMA)	: 72,9 mg

CAS indikatör solüsyonunu hazırlamak için ilk olarak 60,5 mg CAS 50 ml distile suda çözdürülür ve üzerine 10 ml Iron III solüsyonu eklenir. Iron III solüsyonu 100 ml distile suya 83,3 µl konsantre HCl üzerine 27 mg FeCl₃.6H₂O ilave edilerek hazırlanır. Hazırlanan solüsyona 40 ml distile suda çözdürülmüş 72,9 mg HDTMA karıştırılarak yavaşça eklenir. Hazırlanan koyu mavi renkli karışım 121 °C'de 15 dakika steril edilir.

Basal Agarın Hazırlanması:

3-(N-morpholino) propane sulfonic asit (MOPS)	:3,0 g
Agar	: 1,5 g
Sodyum klorür	: 0,05 g
Potasyum fosfat	: 0,03 g
Amonyum klorür	: 0,01 g
L-asparjin	: 0,5 g
Distile su	: 83 ml
% 50 Sodyum hidroksit	: 5 ml

100 ml basa lagar hazırlamak için agar hariç yukarıda sıralanan tüm maddeler 83 ml distile suda eritilir ve besiyerinin pH'sı Sodyum hidroksit solüsyonu ile 6,8'e ayarlanır. Daha sonra 1,5 g agar karışımı karıştırmak suretiyle yavaşça eklenir. Karışım 121 °C'de 15 dakika steril edilir. Steril edilmiş basa lagar ve CAS indikatörü öncelikle 50 °C sıcaklığa kadar soğutulmuştur. Bu işlemde sonra 2 ml % 50'lik glukoz solüsyonu basa lagar üzerine karıştırılarak eklenir. CAS indikatörü de bu karışım üzerine yavaşça ve karıştırılarak ilave edilir ve karışım steril plaklara aktarılır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Araştırmamızda; Ankara’da süt fabrikasından temin edilen 50 çiğ süt örneği ve Ankara’da tüketime sunulan 160 tavuk örneği (25 boyun, 45 karaciğer, 45 kalp ve 45 taşlık) çalışılmıştır. Araştırma sonucunda 2 *Salmonella Paratyphi A* ve 106 *Salmonella* spp. izolatu standart yöntemlerle tanımlanmış (gram boyama, katalaz, üre vb.) tanımlamalar gram negatif ID, BBL (Beckton Dickinson) tanımlama sistemi ile doğrulanmıştır.

Çiğ süt ve tavuk örneklerinden izole edilen ve tanımlaması yapılan *Salmonella* spp. ve *Salmonella Paratyphi A* izolatlarının çalışılan örnek sayısı ve izolasyon sayısı Çizelge 4.1’ de görülmektedir.

Çizelge 4.1. Çiğ süt ve tavuk örneklerinden izole edilen *Salmonella* spp. ve *Salmonella paratyphi A* izolatlarının çalışılan örnek sayısına göre dağılımı

Materyal	Örnek sayısı	<i>Salmonella</i> spp.		<i>Salmonella ParaTyphi A</i>	
		İzolot sayısı	%	İzolot sayısı	%
Çiğ süt	50	14	13,20	0	0
Kalp	45	26	24,53	0	0
Karaciğer	45	22	20,75	0	0
Boyun	25	11	10,38	0	0
Taşlık	45	33	31,13	2	100
Toplam	210	106	100	2	100

Not: Yüzde değerleri elde edilen toplam izolot sayısına göre alınmıştır.

Çizelge 4.1’e göre; çalışılan 50 çiğ süt örneğinden 14 (%28), 45 kalp örneğinden 26 (%57,78), 45 karaciğer örneğinden 22 (%48,89), 25 boyun örneğinden 11 (%44) *Salmonella* spp. izolatu ve 45 taşlık örneğinden 33 (73,33) *Salmonella* spp. izolatu ile 2 (%4,44) *Salmonella* paratyphi A izolatu elde edilmiştir.

Çizelge 4.1’deki sonuçlarımıza göre; 210 örnekten; 14’ü (%13,20) çiğ süttten, 26’sı (%24,53) kalpten, 22’si (%20,75) karaciğerden, 11’i (%10,38), 33’ü (31,13) taşlıktan olmak üzere; toplam 106 *Salmonella* spp. izolatu ve 2’si (%100) taşlıktan olmak üzere toplam 2 *Salmonella* paratyphi A izolatu elde edilmiştir.

Çizelge 4.1’deki değerlendirmeler ele alındığında *Salmonella* cinsine ait bakteri bulundurma olasılığı en yüksek olan numunenin % 73,33 ile taşlık (tavuk) olduğu anlaşılmaktadır.

Salmonella spp. ve *Salmonella Paratyphi A* izolatlarının çalışılan örnek sayısına göre dağılımı



Şekil 4.1. *Salmonella* spp. ve *Salmonella Paratyphi A* izolatlarının çalışılan örnek sayısına göre dağılımı

Çizelge 4.2. İzole edilen *Salmonella* izolatlarının elde edildikleri numune türlerine göre dağılımı

İZOLAT NUMARASI	CİNS/TÜR	NUMUNE TÜRÜ
1	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
2	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
3	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
4	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
5	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
6	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN
7	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
8	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
9	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER
10	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER
11	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
12	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
13	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
14	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
15	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
16	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
17	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
18	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER
19	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
20	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
21	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER
22	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER
23	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
24	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
25	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
26	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER
27	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
28	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
29	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
30	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
31	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT
33	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
34	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
35	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN
36	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK

Çizelge 4.2. (Devam). İzole edilen *Salmonella* izolatlarının elde edildikleri numune türlerine göre dağılımı

İZOLAT NUMARASI	CINS/TÜR	NUMUNE TÜRÜ
37	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
38	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
39	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
40	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
41	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
42	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
43	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
44	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
45	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
46	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
48	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
49	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
50	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
51	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	TAŞLIK
53	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
54	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN
55	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
56	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN
57	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
58	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
59	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
60	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
61	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN
62	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
63	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
64	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
65	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
67	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
68	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
69	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
70	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
71	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
72	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
73	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
74	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN
75	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
76	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
77	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
79	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
80	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
81	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
82	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
83	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
84	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
85	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
86	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
87	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER
88	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
89	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
90	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN
91	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
92	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
93	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
94	<i>Salmonella</i> spp.	KALP

Çizelge 4.2. (Devam). İzole edilen *Salmonella* izolatlarının elde edildikleri numune türlerine göre dağılımı

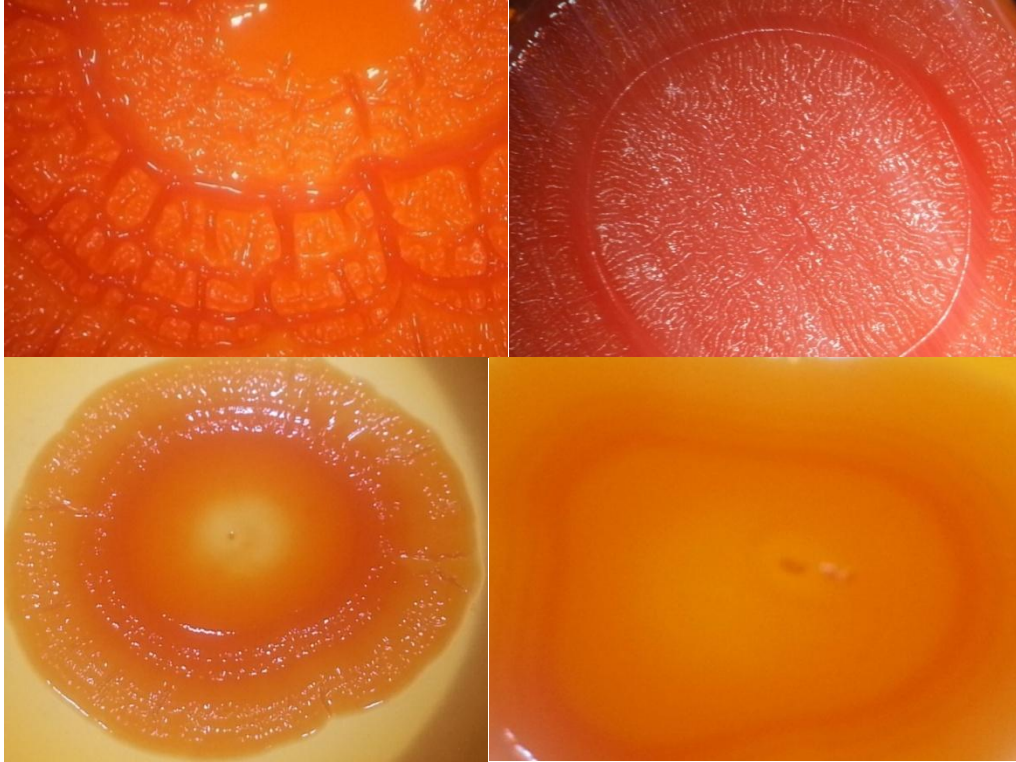
İZOLAT NUMARASI	CINS/TÜR	NUMUNE TÜRÜ
95	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
97	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
98	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER
99	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	TAŞLIK
100	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
101	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
102	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN
103	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
104	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
105	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
107	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
108	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
109	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN
111	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
112	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
113	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK
114	<i>Salmonella</i> spp.	KALP
115	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN

4.1. Kongo Kırmızılı NaCl'siz LB Agar Ortamında *Salmonella* Suşlarının Biyofilm Morfotiplerinin Belirlenmesi

Bu yöntem ile *Enterobacteriaceae* ailesine dahil olan genellikle *Salmonella* ve *E. Coli* gibi enterik mikroorganizmaların içerdikleri biyofilm morfotiplerinin taranması mümkündür. Yöntemde çiğ süt ve tavuk örneklerinden izole ettiğimiz, toplamda 108 *Salmonella* suşu çalışılmıştır.

Uygulanacak yöntemde tüm çalışmalar için NaCl içermeyen Luria Bertani (LB) broth besiyeri kullanılmıştır. Suşların bu ortamda geliştirilmesinin nedeni, artan ozmolariteyle *Salmonella*'nın biyofilmin matriksinde önemli bir yapısal ve fonksiyonel görevi olan kıvrımlı fimbriya (curli) genlerinin transkripsiyonel düzeyde ifadelerinin engellenmesidir. Çalışmada morfotip analizi için tercih edilen NaCl'siz LB agar (LB agar wo/NaCl) besiyerinde aynı zamanda Coomassie brilliant blue (20 µg/mL) ve kıvrımlı fimbriyanın bağlanabildiği ve biyofilm morfotipi için indikatör bir boya özelliği gösteren Kongo kırmızısı (40 µg/mL) bulunmaktadır. NaCl'siz LB broth ortamlarında 37 °C'de çalkalamalı koşullarda bir gece boyunca geliştirilen suşlar, Kongo kırmızısı içeren NaCl'siz LB agar ortamlarına inoküle edilmiştir. İnokülasyondan sonra suşlar biyofilm oluşturmaları için 20 °C'de 8 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır (Vestby ve diğerleri, 2009). 8 günlük inkübasyon sonunda suşlar içerdikleri morfotiplere göre değerlendirilmiştir. Kongo

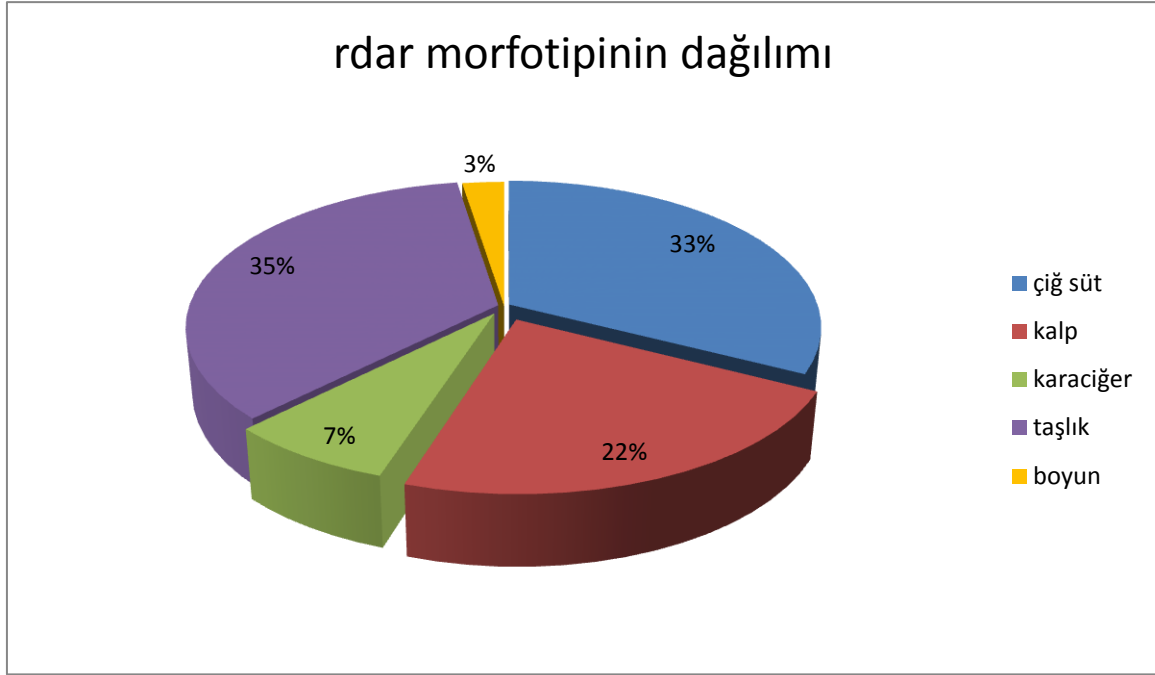
kırmızılı agar ortamlarında *Salmonella*'nın farklı biyofilm morfotipleri oluşturabildiği saptanmıştır. Bunlar: rdar (kırmızı, kuru ve pürüzlü) morfotipi; hücre dışı matriks bileşenleri olarak selüloz ve kıvrımlı fimbriya üreten, bdar (kahverengi, kuru ve pürüzlü) morfotipi, hücre dışı matriks bileşenleri olarak kıvrımlı fimbriya üreten, pdar (pembe, kuru ve pürüzlü) morfotipi, hücre dışı matriks bileşeni olarak selüloz üreten morfotiplerdir. Bu morfotiplere ilave olarak biyofilm üreticisi olamayan ve hücre dışı matriksinde selüloz ve kıvrımlı fimbriya bileşenlerini bulundurmayan saw (düz ve beyaz) morfotipi de tanımlanmıştır (Sato ve diğerleri, 1997). Ayrıca bu morfotiplerden farklı olarak yakın zamanda hücre dışı matriksinde selüloz ve kıvrımlı fimbriya içermeyen ancak yüksek düzeyde kapsüler polisakkarit ürettiği bilinen ve biyofilm üreten yeni bir morfotip daha tanımlanmıştır. Bu morfotip SBAM (düz, kahverengi ve mukoid) morfotipi olarak adlandırılmıştır. Bu çalışmada biyofilm morfotiplerine göre değerlendirilen suşların morfotip dağılımları çizelge 4.3' de gösterilmiştir.



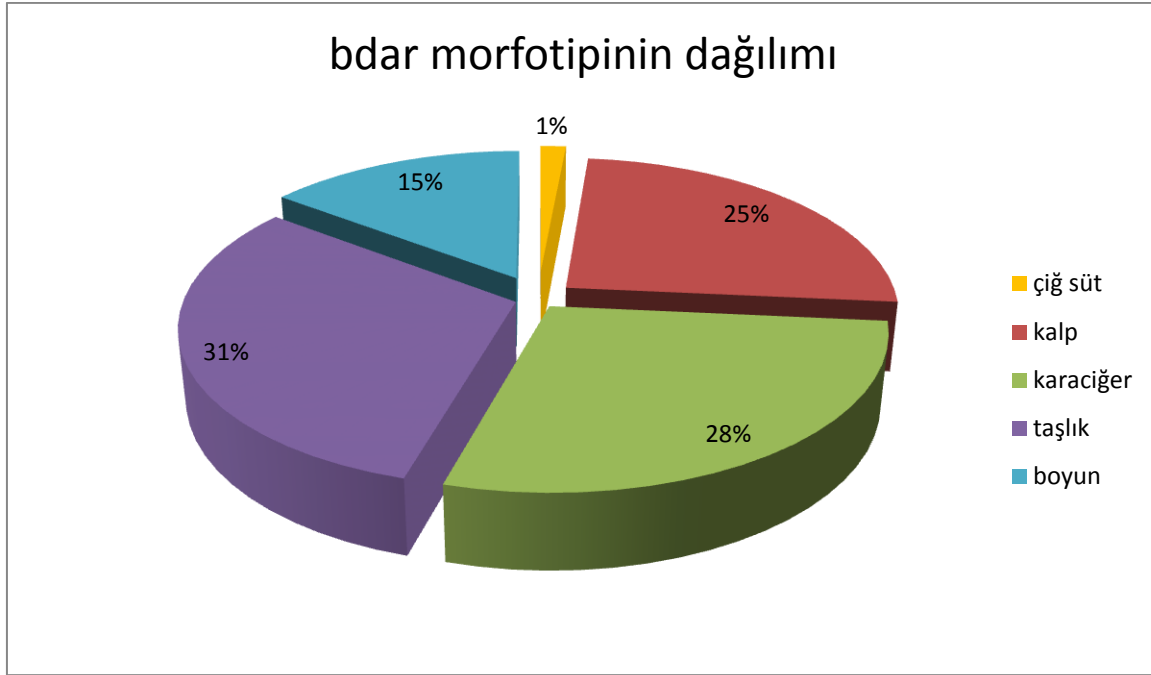
Resim 4.1. Kongo kırmızılı agarda izolatların rdar ve bdar morfotipleri

Çizelge 4.3. *Salmonella* suşlarının içerdikleri biyofilm morfotipine göre sayısal dağılımı

Morfotip	Çiğ süt	Boyun	Karaciğer	Kalp	Taşlık	Toplam
rdar	13	1	3	9	14	40
bdar	1	10	19	17	21	68
pdar	-	-	-	-	-	-
sbam	-	-	-	-	-	-
saw	-	-	-	-	-	-
Toplam	14	11	22	26	35	108

Şekil 4.2. *Salmonella* izolatlarında rdar morfotipinin dağılımı

Şekil 4.2' e göre *Salmonella* izolatlarının biyofilm morfotipi incelemesi sonucunda rdar morfotipi içeren izolatların %35'inin taşlıktan, %32'sinin çığ sütten, %22'sinin kalpten, %8'inin karaciğerden ve %1'inin boyundan izole edildiği görülmektedir. Bu verilere göre Rdar morfotipi gösteren izolatların en fazla taşlıktan (%35) elde edildiği gözlenmektedir.



Şekil 4.3. *Salmonella* izolatlarında bdar morfortipinin dağılımı

Şekil 4.3' e göre *Salmonella* izolatlarının biyofilm morfortipi incelemesi sonucunda bdar morfortipi içeren izolatların %31'inin taşlıktan, % 28'inin karaciğerden, %25'inin kalpten, %15'inin boyundan ve %1'inin çiğ süttten izole edildiği görülmektedir. Bu verilere göre bdar morfortipi gösteren izolatların en fazla taşlıktan (%31) elde edildiği gözlenmektedir. Şekil ve Şekil 'e göre hem rdar (%35) hem de bdar (%31) morfortipinin en fazla görüldüğü izolatların taşlıktan elde edildiği anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.4. Biyofilm morfortiplerinin *Salmonella* türlerine göre dağılımı

Morfortip	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	Toplam
Rdar	40	-	40
Bdar	66	2	68
Pdar	-	-	-
Sbam	-	-	-
Saw	-	-	-
Toplam	106	2	108

Çizelge 4.5. *Salmonella* suşlarının izole edildikleri numune ve biyofilm morfortipine göre dağılımı

ÖRNEK NUMARASI	CİNS/TÜR	NUMUNE TÜRÜ	BİYOFİLM MORFOTİPİ
1	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	RDAR
2	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
3	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
4	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	RDAR
5	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
6	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	BDAR
7	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
8	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
9	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
10	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
11	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
12	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	BDAR
13	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	RDAR
14	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
15	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
16	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
17	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
18	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
19	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
20	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
21	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
22	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	RDAR
23	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
24	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	RDAR
26	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
27	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
28	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
29	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
30	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
31	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	RDAR
32	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	BDAR
33	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
34	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
35	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	BDAR
36	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
37	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
38	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	RDAR
39	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
40	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
41	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
42	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
43	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
44	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
45	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
46	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
48	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
49	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
50	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
51	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	TAŞLIK	BDAR
53	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
54	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	BDAR
55	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	RDAR
56	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	RDAR
57	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR

Çizelge 4.5. (Devam) *Salmonella* suşlarının izole edildikleri numune ve biyofilm morfolofipine göre dağılımı

ÖRNEK NUMARASI	ÇİNS/TÜR	NUMUNE TÜRÜ	BİYOFİLM MORFOTİPİ
58	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
59	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
60	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
61	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	BDAR
62	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
63	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
64	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
65	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
67	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
68	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
69	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
70	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
71	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
72	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	RDAR
73	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	RDAR
74	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	BDAR
75	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
76	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
77	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
79	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
80	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
81	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	RDAR
82	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
83	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
84	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
85	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
86	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
87	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	BDAR
88	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
89	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
90	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	BDAR
91	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
92	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
93	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
94	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
95	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
97	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
98	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	RDAR
99	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	TAŞLIK	BDAR
100	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
101	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
102	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	BDAR
103	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
104	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
105	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
107	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
108	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	RDAR
109	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	BDAR
111	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
112	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	BDAR
113	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	BDAR
114	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	RDAR
115	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	BDAR

Salmonella bakterilerinin biyofilm oluşturma kapasitesi, kristal viyole boyama yöntemi ile 96 kuyucuklu, düz tabanlı, steril, polistren (PVC), kapaklı mikroplaterler kullanılarak incelenmiştir (Friedman ve Kolter, 2004; Haslan, 2010; Woodward ve diğerleri, 2000). Yöntemin bazı kısımlarında değişiklikler yapılmıştır. Bu yöntemle göre yapılan ölçüm sonuçları çizelge’de ve çizelge’ de verilmiştir.

Bu çalışmada, farklı gıda kaynaklarından izole edilmiş 115 adet *Salmonella* izolatının biyofilm miktarları Woodward ve diğerleri (2000) tarafından önerilen yöntemle göre mikroplatede ölçülmüştür. Yöntemle göre 20 °C’ de 48 saat bekletilen mikroplaterler inkübasyon sonrası 595 nm de Elisa cihazında ölçülmüş ve çizelge ‘deki sonuçlar elde edilmiştir. Yöntemde bakterilerin biyofilm kapasite değeri olarak OD ortalamalarının negatif kontrol ortalamasından farkının çıkarılmasıyla elde edilen değer, negatif kontrol olarak yalnızca besi yeri içeren kuyulardan elde edilen OD sonuçlarının ortalaması kullanılmıştır. Negatif kontrol $OD_{(595)} = 0,333$

Çizelge 4.6. 20°C’de 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yöntemle göre OD değerleri

ÖRNEK NUMARASI	CİNS/TÜR	NUMUNE TÜRÜ	OD ₍₅₉₅₎ ortalaması	OD ortalaması-Kontrol ortalaması ₍₅₉₅₎	Ortalama/NK ortalaması
1	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,842	3,509	10
2	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,555	2,222	6
3	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,666	3,333	10
4	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,853	2,520	7
5	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,068	1,735	5
6	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	3,062	2,729	8
7	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,401	3,068	9
8	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,584	3,251	9
9	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	2,350	2,017	6
10	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	3,014	2,681	8
11	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,744	3,411	10
12	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,668	3,335	10
13	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,662	3,329	10
14	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,071	2,738	8
15	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,863	3,530	11
16	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,724	3,391	10
17	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,651	3,318	10
18	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	2,983	2,650	8
19	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,645	3,312	10
20	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,775	3,442	10
21	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	2,612	2,279	7
22	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	2,055	1,722	5
23	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,364	2,031	6
24	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	0,987	0,654	2
25	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,059	2,726	8
26	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	2,051	1,718	5
27	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,887	1,554	5

Çizelge 4.6. (Devam) 20°C’de 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre OD değerleri

ÖRNEK NUMARASI	CİNS/TÜR	NUMUNE TÜRÜ	OD ₍₅₉₅₎ ortalama ası	OD ortalama-Kontrol ortalama ₍₅₉₅₎	Ortalama/NK ortalaması
28	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,437	3,104	9
29	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,411	3,078	9
30	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,443	3,110	9
31	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,854	3,521	10
32	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	3,878	3,545	11
33	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,109	0,776	2
34	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,586	3,253	9
35	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	3,751	3,418	10
36	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,697	1,364	4
37	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	3,103	2,770	8
38	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,900	3,567	10
39	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,738	3,405	10
40	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,999	2,666	8
41	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,368	2,035	6
42	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	2,540	2,207	6
43	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,574	3,241	9
44	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,831	3,498	10
45	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	2,680	2,347	7
46	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,790	3,457	10
48	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,766	1,433	4
49	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	2,253	1,920	6
50	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,360	3,027	9
51	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	TAŞLIK	3,619	3,286	10
53	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,925	3,592	10
54	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	3,832	3,499	10
55	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,971	2,638	8
56	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	3,504	3,171	9
57	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,703	2,370	7
58	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	2,872	2,539	7
59	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	3,078	2,745	8
60	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,152	1,819	5
61	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	3,652	3,319	10
62	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,802	3,469	10
63	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,785	3,452	10
64	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,519	3,186	9
65	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,919	3,586	11
67	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,433	3,100	9
68	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,826	3,493	10
69	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,390	1,057	3
70	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	2,493	2,160	6
71	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,890	3,557	10
72	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	3,712	3,379	10
73	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,867	3,534	10
74	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	3,434	3,101	9
75	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	2,192	2,192	6
76	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,341	3,008	9
77	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,897	3,564	11
79	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,293	2,960	9
80	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	3,785	3,452	10
81	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,281	1,948	6

Çizelge 4.6. (Devam) 20°C’de 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre OD değerleri

ÖRNEK NUMARASI	CİNS/TÜR	NUMUNE TÜRÜ	OD ₍₅₉₅₎ ortalama ası	OD ortalama-Kontrol ortalama ₍₅₉₅₎	Ortalama/NK ortalaması
82	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,417	1,084	3
83	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,895	1,562	4
84	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,795	1,462	4
85	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,481	3,148	9
86	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,516	1,183	3
87	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	2,286	1,953	6
88	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,448	2,115	6
89	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,272	0,939	3
90	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	1,713	1,380	4
91	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,426	1,093	3
92	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,644	1,311	4
93	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,886	3,553	10
94	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,745	3,412	10
95	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,228	1,895	6
97	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,576	2,243	7
98	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	3,924	3,591	10
99	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	TAŞLIK	1,509	1,176	3
100	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,365	3,032	9
101	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,994	3,661	11
102	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	3,950	3,617	11
103	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,777	2,444	7
104	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,868	3,535	10
105	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,744	3,411	10
107	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,581	3,248	9
108	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,818	3,485	10
109	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	3,971	3,638	11
111	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,678	2,345	7
112	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,338	3,005	9
113	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,347	3,014	9
114	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,977	3,644	11
115	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	3,698	3,365	10

20°C’de 48 saat inkübasyona bırakılan 108 izolat arasında en yüksek biyofilm değerine sahip olanı 101 numaralı izolat olup taşlık örneğidir ve biyofilm değeri 595 nm’de 3,661’dir. Biyofilm değeri en düşük olan izolat ise 24 numaralı izolat olup kalp örneğinden elde edilmiştir ve biyofilm değeri 595 nm’de 0,654’dür.

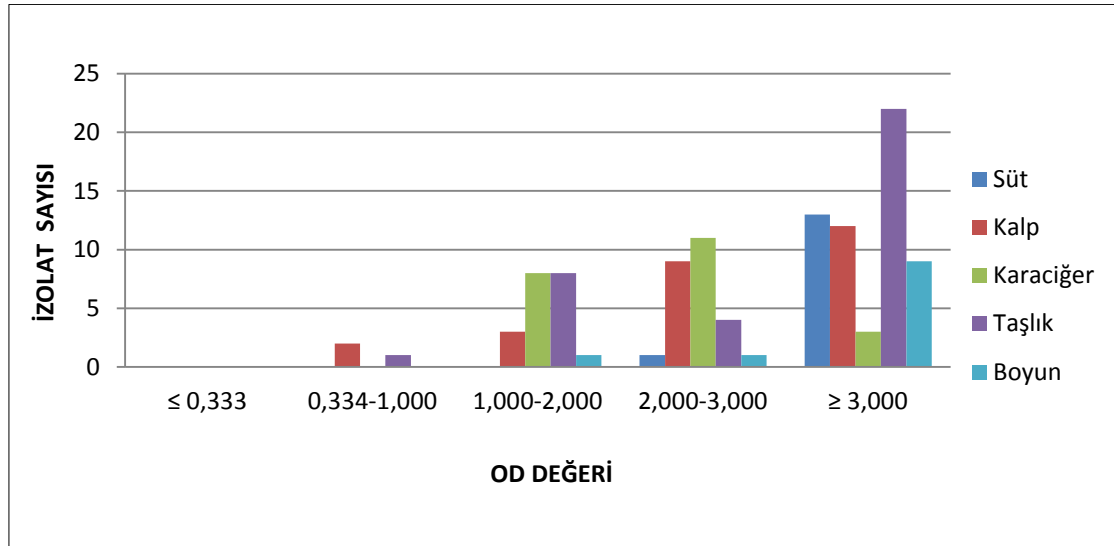
Çizelge 4.6 ‘daki değerlendirmeye göre, 94 izolat yüksek biyofilm, 12 izolat orta biyofilm, 2 izolat zayıf biyofilm göstermiştir. Çalışılan izolatlar arasında negatif biyofilme saptanmamıştır. İzolatların %87’si yüksek biyofilm, %11’i orta biyofilm ve %2’si zayıf biyofilm karakterine sahip olarak bulunmuştur. Yüksek biyofilm gösteren 94 izolatın; 24(%25,5)’i Kalp, 18 (%19,1)’i Karaciğer, 28 (%29,8)’i Taşlık, 10 (%10,6)’sı Boyun ve 14 (%14,9)’u Süt izolatıdır. Orta biyofilm gösteren 12 izolatın; 4 (%33,3)’ü Karaciğer, 7

(%58,4)'ü Taşlık, 1 (%8,3)'ü Boyun izolatıdır. Zayıf Biyofilm gösteren 2 izolattın; 2 (%100)'ü Kalp izolatıdır.

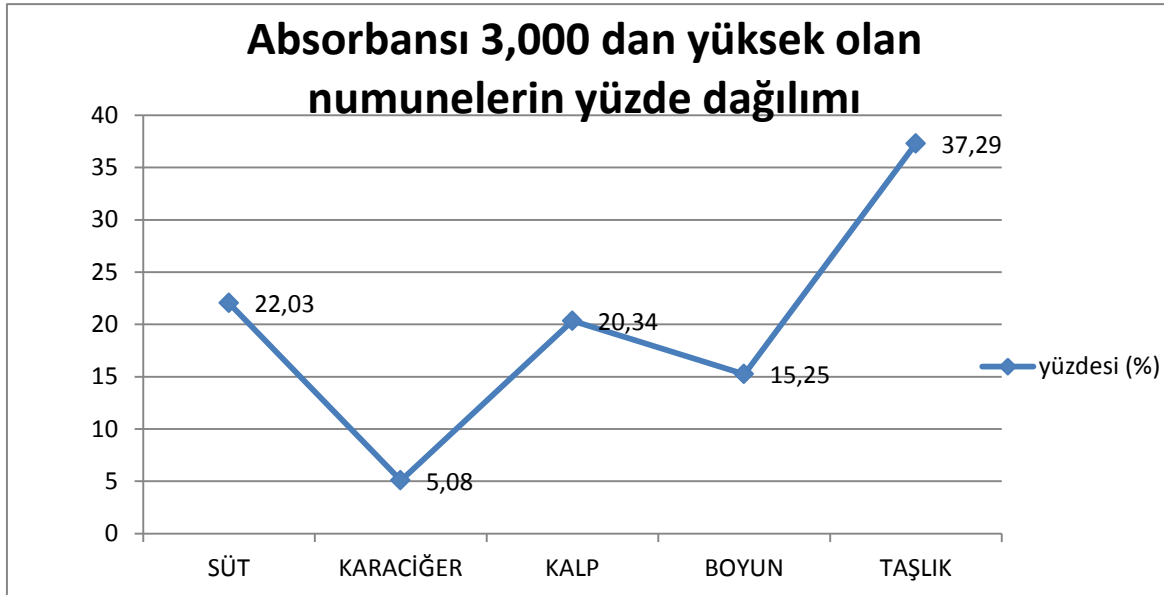
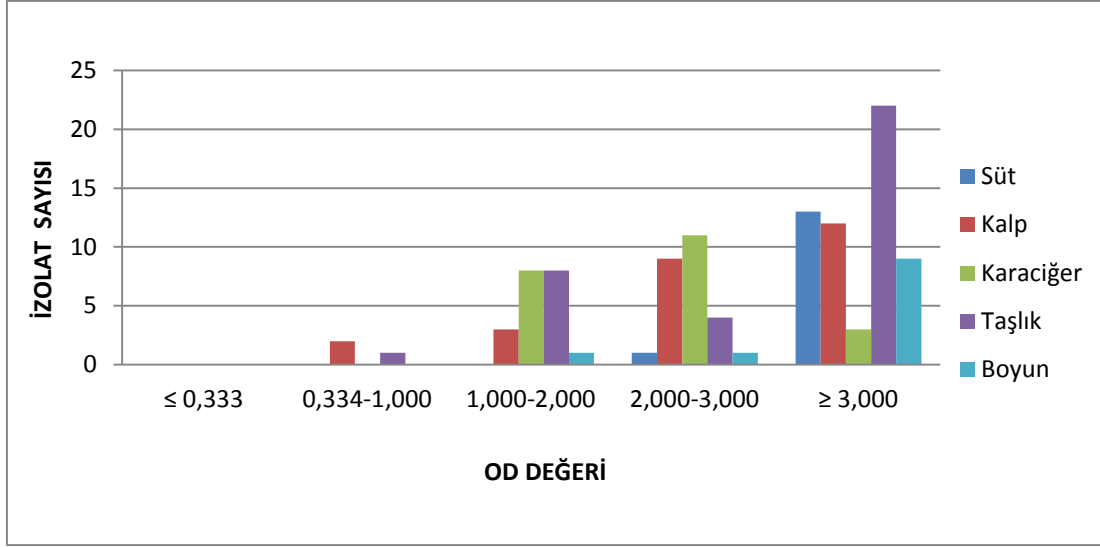
Çizelge 4.7. 20°C'de 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD aralıklarına göre ve vasatına göre dağılımı

Absorbans değeri	Süt izolatı	Karaciğer izolatı	Kalp izolatı	Boyun izolatı	Taşlık izolatı	Toplam (%)
$\leq 0,333$	0	0	0	0	0	0
0,334-1	0	0	2	0	1	3 (2,78)
1-2	0	8	3	1	8	20 (18,52)
2-3	1	11	9	1	4	26 (24,08)
≥ 3	13	3	12	9	22	59 (54,62)
Toplam	14	22	26	11	35	108 (100)

Çizelge 4.7' de görüldüğü gibi 20 °C'de 48 saat inkübasyon sonucu yapılan biyofilm ölçümünde negatif kontrol değerinin (0,333) altında bir değer elde edilmemiştir. Buradan çıkarılan sonuçla, bu yönteme göre biyofilm negatif izolata rastlanılmamıştır. İzolatların %54,62'sinin absorbans değeri 3,000 dan yüksek çıkmıştır. Absorbans değeri 3,000 dan yüksek olan 59 izolattın süt, karaciğer, kalp, boyun ve taşlık numunelerinden elde edilmelerine göre dağılımları sırasıyla; 13, 3, 12, 9 ve 22'dir.



Şekil 4.4. 20°C'de 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD Aralıklarına göre ve vasatına göre dağılımı



Şekil 4.5. 20°C’de 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yöntemde göre OD değeri 3,000’den yüksek olan izolatların numune türüne göre dağılımı

37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılan mikroplateler 595 nm de Elisa cihazında ölçülmüştür. Yöntemde negatif kontrol olarak yalnızca besi yeri içeren kuyulardan elde edilen OD sonuçlarının ortalaması kullanılmıştır. Negatif kontrol $OD_{(595)} = 0,445$

Çizelge 4.8. 37°C'de 24 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD Değerleri

ÖRNEK NUMARASI	CİNS/TÜR	NUMUNE TÜRÜ	OD ₍₅₉₅₎ ortalaması	OD ortalama-Kontrol ortalama ₍₅₉₅₎	Ortalama/NK ortalaması
1	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,277	1,832	5
2	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,653	1,208	3
3	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	1,174	0,728	2
4	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,003	0,558	2
5	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,206	0,760	2
6	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	0,765	0,320	1
7	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	1,385	0,940	3
8	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	2,043	1,597	4
9	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,151	0,705	2
10	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,197	0,751	2
11	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	1,308	0,863	2
12	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	1,899	1,453	4
13	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,181	1,736	4
14	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,171	1,726	4
15	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	2,481	2,036	5
16	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,481	1,035	3
17	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	2,294	1,849	5
18	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,542	1,097	3
19	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,016	2,570	6
20	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,109	2,664	6
21	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,573	1,128	3
22	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,994	1,549	4
23	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,638	1,192	3
24	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	0,550	0,105	1
25	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	3,133	2,688	7
26	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	2,457	2,012	5
27	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,390	0,944	3
28	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	2,571	2,125	5
29	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	2,037	1,592	4
30	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	0,817	0,371	1
31	<i>Salmonella</i> spp.	SÜT	2,169	1,723	4
32	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	1,928	1,482	4
33	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	0,748	0,303	1
34	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,604	1,158	3
35	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	2,033	1,588	4
36	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,087	1,642	4
37	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,788	1,343	4
38	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,645	2,199	5
39	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,528	1,083	3
40	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,981	1,536	4
41	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,383	1,938	5
42	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	3,030	2,585	6
43	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,163	1,718	4
44	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,048	1,603	4
45	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	0,937	0,491	2
46	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,475	1,030	3
48	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,414	0,969	3
49	<i>Salmonella</i> spp.	KARACİĞER	1,304	0,859	2
50	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,005	0,559	2
51	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	TAŞLIK	1,411	0,966	3
53	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,421	1,976	5

Çizelge 4.8. (Devam) 37°C’de 24 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD Değerleri

ÖRNEK NUMARASI	CİNS/TÜR	NUMUNE TÜRÜ	OD ₍₅₉₅₎ ortalaması	OD ortalama-Kontrol ortalama ₍₅₉₅₎	Ortalama/NK ortalaması
54	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	2,640	2,194	5
55	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,158	0,712	2
56	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	1,289	0,844	2
57	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	0,775	0,330	1
58	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	1,031	0,585	2
59	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	1,761	1,316	3
60	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,611	1,165	3
61	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	0,864	0,419	1
62	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,022	1,577	4
63	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,202	0,757	2
64	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,506	2,061	5
65	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,401	0,955	3
67	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,197	0,752	2
68	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,523	1,078	3
69	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,476	2,031	5
70	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	1,837	1,392	4
71	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,358	2,913	7
72	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	0,811	0,365	1
73	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	0,812	0,367	1
74	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	1,850	1,404	4
75	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	1,340	0,894	3
76	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,528	1,082	3
77	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,988	1,543	4
79	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,383	0,937	3
80	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	0,708	0,263	1
81	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,920	1,475	4
82	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	1,599	1,154	3
83	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	1,128	0,683	2
84	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	1,949	1,504	4
85	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,640	2,195	5
86	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,430	0,984	3
87	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	1,417	0,972	3
88	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,247	0,801	2
89	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,244	1,798	5
90	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	1,538	1,092	3
91	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,151	0,706	2
92	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,661	2,215	5
93	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	3,646	3,201	8
94	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	3,603	3,158	8
95	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,885	1,440	4
97	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,244	0,799	2
98	<i>Salmonella</i> spp.	KARACIĞER	2,090	1,645	4
99	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	TAŞLIK	3,166	2,720	7
100	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,820	2,375	6
102	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	2,344	1,899	5
103	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,380	1,935	5
104	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,360	1,915	5
105	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,658	2,212	5
107	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	1,700	1,255	3
108	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,101	1,656	4
109	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	1,550	1,105	3

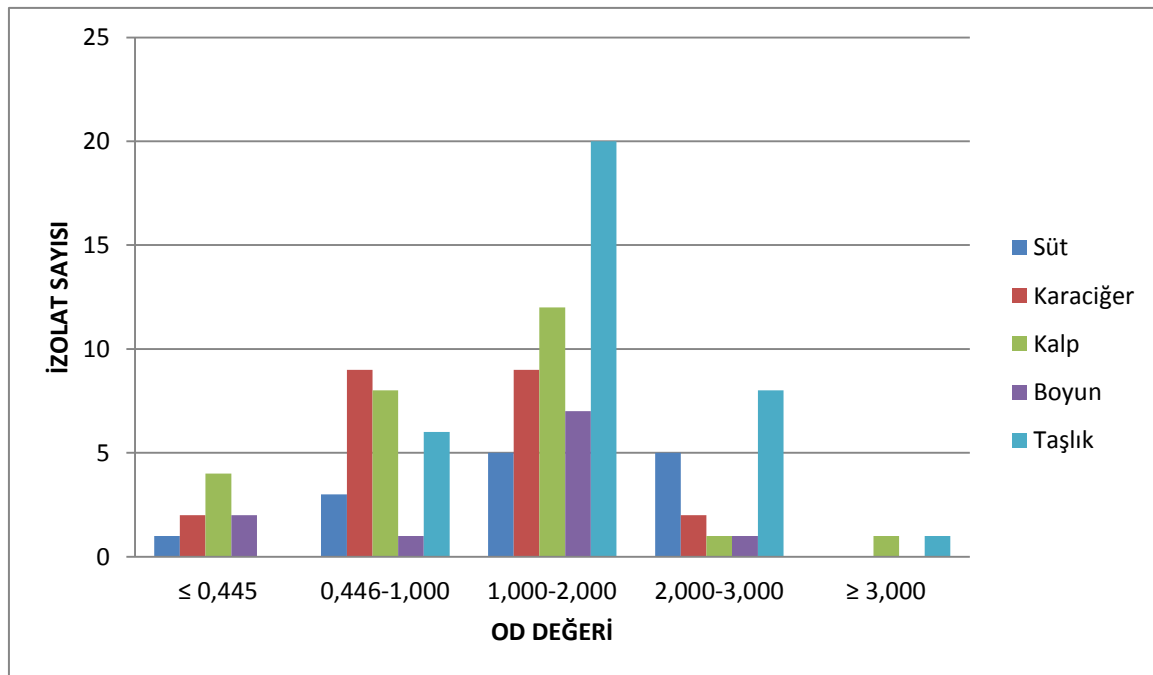
Çizelge 4.8. (Devam) 37°C’de 24 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD Değerleri

ÖRNEK NUMARASI	CİNS/TÜR	NUMUNE TÜRÜ	OD ₍₅₉₅₎ ortalaması	OD ortalama-Kontrol ortalama ₍₅₉₅₎	Ortalama/NK ortalaması
111	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	1,868	1,423	4
112	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,188	1,743	4
113	<i>Salmonella</i> spp.	TAŞLIK	2,388	1,942	5
114	<i>Salmonella</i> spp.	KALP	2,172	1,727	4
115	<i>Salmonella</i> spp.	BOYUN	1,541	1,096	3

37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılan 108 izolat arasında en yüksek biyofilm değerine sahip olanı 93 numaralı izolat olup taşlık örneğidir ve biyofilm değeri 595 nm’de 3,201’dir. Biyofilm değeri en düşük olan izolat ise 24 numaralı izolat olup kalp örneğinden elde edilmiştir ve biyofilm değeri 595 nm’de 0,105’dir.

Çizelge 4.9. 37°C’de 24 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD Aralıklarına göre ve vasatına göre dağılımı

Absorbans değeri	Süt izolatu	Karaciğer izolatu	Kalp izolatu	Boyun izolatu	Taşlık izolatu	Toplam (%)
≤ 0,445	1	2	4	2	0	9 (8,33)
0,446-1	3	9	8	1	6	27 (25,00)
1-2	5	9	12	7	20	53 (49,07)
2-3	5	2	1	1	8	17 (15,74)
≥ 3	0	0	1	0	1	2 (1,85)
Toplam	14	21	26	11	35	108 (100)



Şekil 4.6. 37°C’de 24 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre izolatların OD Aralıklarına göre ve vasatına göre dağılımı

Çizelge 4.8' de görüldüğü gibi 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonucu yapılan biyofilm ölçümünde negatif kontrol değerinin (0,445) altında toplam 9 (%8,33) izolata rastlanılmıştır. Bu 9 izolat biyofilm negatif olarak değerlendirilmiştir. Biyofilm negatif izolatların elde edildikleri numunelere göre dağılımı 1'i süttten, 2'si karaciğerden, 4'ü kalpten, 2'si boyun şeklindedir. İzolatların %1,85'inin absorbans değeri 3,000 dan yüksek çıkmıştır. Absorbans değeri 3,000 dan yüksek olan 2 izolatın 1'i kalp örneğinden 1'i taşlık örneğinden elde edilmiştir. Bu yöntemle göre, izolatların % 49,07'sinin absorbans değeri 1,000-2,000 aralığındadır.

Bir başka değerlendirme yöntemi ise (Carla ve diğerleri, 2014) izolatların 37 °C 'de 24 saat göstermiş oldukları biyofilm absorbansları ortalamasının negatif kontrol ortalamasına oranından yola çıkılarak yüksek, orta, zayıf ve negatif olarak değerlendirilmesidir (tablo)

Çizelge 4.10. Carla ve diğerlerinin (2014) çalışmasına göre biyofilm kriterleri

Biyofilm derecesi	Değerlendirme kriteri
Negatif	$ODo \leq ODn$
Zayıf	$ODn < ODo \leq 2ODn$
Orta	$2ODn < ODo \leq 4ODn$
Yüksek	$4ODn < ODo$
ODo: İzolatların absorbans ortalaması	
ODn: Negatif kontrol ortalaması	

Çizelge 4.10 'daki değerlendirmeye göre, 28 izolat yüksek biyofilm, 53 izolat orta biyofilm, 27 izolat zayıf biyofilm göstermiştir. Çalışılan izolatlar arasında negatif biyofilme saptanmamıştır. İzolatların %25,6'sı yüksek biyofilm, %49,4'ü orta biyofilm ve %25 i zayıf biyofilm karakterine sahip olarak bulunmuştur. Yüksek biyofilm gösteren 28 izolatın; 4(%14,2)'ü Kalp, 2 (%7,2)'si Karaciğer, 14 (%50)'ü Taşlık, 2 (%7,2)'si Boyun ve 6 (%21,4)'sı Süt izolatıdır. Orta biyofilm gösteren 53 izolatın; 12 (%22,6)'u Kalp, 12 (%22,6)'si Karaciğer, 18 (%34)'i Taşlık, 6 (%11,3)'sı Boyun ve 5 (%9,5)'i Süt izolatıdır. Zayıf Biyofilm gösteren 27 izolatın; 10 (%37,1)'u Kalp, 8 (%29,6)'i Karaciğer, 3 (%11,1)'ü Taşlık, 3 (%11,1)'ü Boyun ve 3 (%11,1)'ü Süt izolatıdır.

Ölçülen absorbans değerlerinin artış ya da azalışı polistiren mikropate kuyucuklarındaki kristal viyolenin yoğunluğuna göre değerlendirilmektedir. Kristal viyolenin yoğunluğu ise kuyucukların yüzeyine tutunan bakterilerin miktarıyla doğrudan ilişkilidir. Yüzeye tutunan bakteri kolonisinin miktarı arttıkça tutulan boya miktarda artış göstermektedir. Bu açıklamalar doğrultusunda iki yöntem karşılaştırıldığında 20 °C'de 48 saat inkübasyon

sonrası elde edilen sonuçlar, 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonrası elde edilen sonuçlara göre daha yüksektir. Buradan, ilk yöntemde (20°C-48 saat) kullanılan sıcaklık ve inkübasyon süresinin *Salmonella* cinsine ait bakterilerin biyofilm tabakası oluşturması açısından daha uygun olduğu anlaşılmaktadır.

4.2. *Salmonella* İzolatlarında Siderofor Varlığının İncelenmesi

Birçok bakteri, demir açısından fakir ortamlarda siderofor denilen protein yapıdaki molekülleri salgılayarak demir ihtiyaçlarını gidermeye çalışmaktadırlar. Sideroforlar, bakteriler tarafından salgılanan ve ortamdan demir kazanımını sağlayan küçük ve difüze olabilen moleküllerdir (Varma ve Chincholkar, 2007).

Schwyn ve Neilands'in (1987) önerdiği yönteme göre modifiye edilmiş Chrome Azurol S (CAS) Agar besiyeri kullanılarak yapılan deneyler sonucunda elde edilen sonuçlar çizelge 4.11'de verilmiştir.

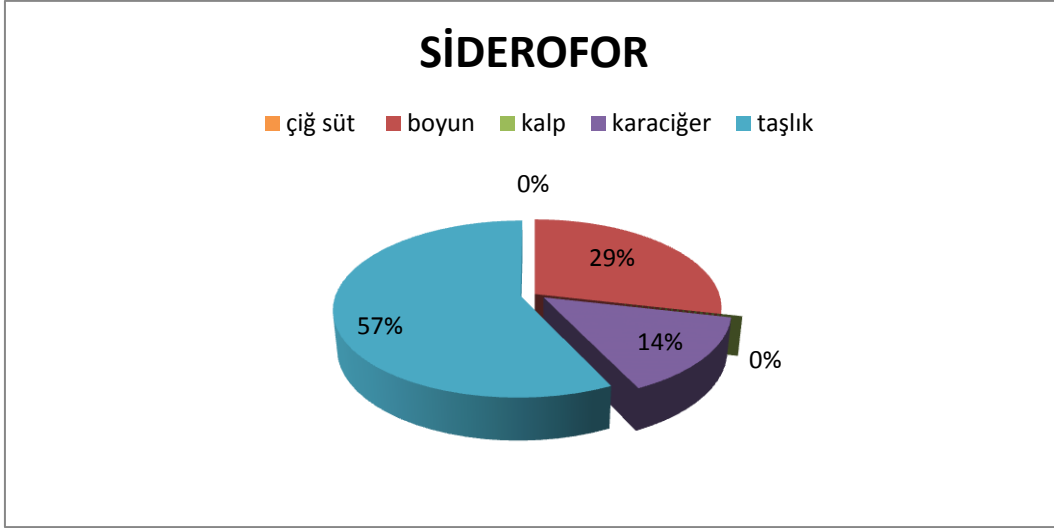
Çizelge 4.11. *Salmonella* izolatlarının siderofor üretim sonuçları

ÖRNEK NUMARASI	NUMUNE TÜRÜ	SİDEROFOR ÜRETİMİ	ÖRNEK NUMARASI	NUMUNE TÜRÜ	SİDEROFOR ÜRETİMİ
1	KALP	-	57	KALP	-
2	TAŞLIK	-	58	KARACİĞER	-
3	SÜT	-	59	KARACİĞER	-
4	KALP	-	60	TAŞLIK	-
5	KALP	-	61	BOYUN	-
6	BOYUN	-	62	TAŞLIK	-
7	SÜT	-	63	KALP	-
8	SÜT	-	64	TAŞLIK	-
9	KARACİĞER	-	65	TAŞLIK	-
10	KARACİĞER	-	67	TAŞLIK	-
11	SÜT	-	68	TAŞLIK	-
12	SÜT	-	69	TAŞLIK	-
13	KALP	-	70	KARACİĞER	-
14	KALP	-	71	TAŞLIK	+
15	SÜT	-	72	KARACİĞER	-
16	KALP	-	73	KALP	-
17	SÜT	-	74	BOYUN	-
18	KARACİĞER	-	75	KARACİĞER	-
19	SÜT	-	76	TAŞLIK	-
20	SÜT	-	77	KALP	-
21	KARACİĞER	-	79	KALP	-
22	KARACİĞER	-	80	KARACİĞER	-
23	KALP	-	81	KALP	-
24	KALP	-	82	KARACİĞER	-
25	SÜT	-	83	KARACİĞER	-
26	KARACİĞER	-	84	KARACİĞER	-

Çizelge 4.11. (Devam) *Salmonella* izolatlarının siderofor üretim sonuçları

ÖRNEK NUMARASI	NUMUNE TÜRÜ	SİDEROFOR ÜRETİMİ	ÖRNEK NUMARASI	NUMUNE TÜRÜ	SİDEROFOR ÜRETİMİ
27	KALP	-	85	TAŞLIK	-
28	SÜT	-	86	TAŞLIK	-
29	SÜT	-	87	KARACİĞER	-
30	SÜT	-	88	KALP	-
31	SÜT	-	89	TAŞLIK	-
32	BOYUN	-	90	BOYUN	-
33	KALP	-	91	TAŞLIK	-
34	TAŞLIK	-	92	TAŞLIK	-
35	BOYUN	+	93	TAŞLIK	+
36	TAŞLIK	-	94	KALP	-
37	KARACİĞER	-	95	TAŞLIK	-
38	KALP	-	97	KALP	-
39	TAŞLIK	-	98	KARACİĞER	+
40	TAŞLIK	-	99	TAŞLIK	+
41	KALP	-	100	TAŞLIK	+
42	KARACİĞER	-	101	TAŞLIK	-
43	KALP	-	102	BOYUN	-
44	TAŞLIK	-	103	TAŞLIK	-
45	KARACİĞER	-	104	TAŞLIK	-
46	TAŞLIK	-	105	TAŞLIK	-
48	KARACİĞER	-	107	KALP	-
49	KARACİĞER	-	108	TAŞLIK	-
50	TAŞLIK	-	109	BOYUN	-
51	TAŞLIK	-	111	TAŞLIK	-
53	TAŞLIK	-	112	KALP	-
54	BOYUN	-	113	TAŞLIK	-
55	KALP	-	114	KALP	-
56	BOYUN	-	115	BOYUN	+

Çizelge 4.11'e göre *Salmonella* izolatlarının siderofor üretimine bakıldığında 108 izolattan yalnızca 7'sinde (%6,48) siderofor üretimi pozitif olarak gözlenmiştir. Siderofor pozitif izolatların elde edildikleri numune dikkate alınarak yapılan incelemeleri sonucu 4'ünün (%57,14) taşlık, 2'sinin (%28,57) boyun ve 1'inin (%14,29) karaciğer örneğinden elde edildiği görülmektedir.



Şekil 4.7. Siderofor üretiminin pozitif olduğu izolatların numune cinsine göre dağılımı

5. TARTIŞMA

Molla ve Mesfin (2003), Etiyopya’da Debre Zeit ve AddisAbaba’da bulunan kümes işleme tesisleri ve perakende satış yapan marketlerden topladıkları çiğ tavuk eti ve sakakatlarda (kalp, taşlık ve karaciğer) *Salmonella* bulunma sıklığını ve dağılımını araştırmışlardır. Kasım 2001- Nisan 2002 yılları arasında toplam 378 örnek toplanmıştır. İncelenen 378 örnekten 80 (%21,1) *Salmonella* izolasyonu sağlamışlardır. İncelenen tavuk örnekleri ve sakatatların *Salmonella* izolat yüzdeleri şöyledir; tavuk eti (%15,4), karaciğer (%34,5), taşlık (%41,1), kalp (%23,7) ve deri (%7,7). Bizim çalışmamızda ise toplam 160 tavuk örneği çalışılmış bunlardan 45’i kalp, 45’i karaciğer, 45’i taşlık ve 25’i boyundur. Çalışılan 45 kalp örneğinden 25 (%15,6), 45 karaciğer örneğinden 22 (%13,7), 45 taşlık örneğinden 35 (%21,9) *Salmonella* izolatı elde edilmiştir. Molla ve Mesfin’in Etiyopya’da yaptıkları çalışmada izole edilen *Salmonella* izolat oranları bizim çalışmamızdan daha yüksektir.

Jaowapa, Chailai, D. Kriengsag ve S. Kriengsag (1994), Tayland’da yaptıkları çalışmada Bangkok’tan topladıkları çiğ tavuk eti, sakatat (karaciğer, kalp, taşlık) ve pişmiş tavuk ürünlerinde (köfte ve sosis) *Salmonella* varlığını araştırmışlardır. Dokuz açık pazardan, dokuz süpermarketten ve dört kümes işleme tesisinden toplam 1135 örnek toplayıp incelemişlerdir. 705 tavuk eti örneğinden 467 (%66), 221 sakatat örneğinden 190 (%86), 209 pişmiş üründen 21 (%10) *Salmonella* izolasyonu gerçekleştirmişlerdir (Jaowapa ve ark., 1994). Bizim çalışmamızda toplanan 160 tavuk (45 karaciğer, 45 kalp, 45 taşlık, 25 boyun) örneğinden 94 (%58,7) *Salmonella* izolatı elde edilmiştir. Jaowapa ve diğerlerinin yaptığı çalışmadaki oranlardan daha düşüktür.

Rahimi (2012), İran’da yaptığı çalışmada perakende satışa sunulan tavuk, hindi ve devekuşu et örneğinde (kalp, taşlık ve kalp) *Salmonella* spp. bulunma sıklığını ve antimikrobiyal direnci araştırmıştır. Haziran 2009-Şubat 2011 yılları arasında İsfahan ve Shahrekord’dan rastgele alınan toplam 300 numunenin: tavuk (n=150), hindi (n=105) ve devekuşu (n=45) *Salmonella* izolasyonu, serotiplendirmesi ve antibiyotik duyarlılıklarını belirlemiştir. Tavuk örneklerinden; 50 karaciğer örneğinden toplam (%18), 50 kalp örneğinden toplam (%6), 50 taşlık örneğinden (%4) *Salmonella* izolasyonu gerçekleştirmiştir (Rahimi, 2012). Bizim çalışmamızda kalp, karaciğer ve taşlık örneklerinden izole edilen *Salmonella* izolat sayısı ve oranı daha fazladır (bkz. Çizelge4.1.).

El Aziz (2013), çalışmanın amacı perakende olarak satışa sunulan çiğ tavuk eti ve sakatatta (kalp, karaciğer, taşlık) dünya çapında gıda kaynaklı salgınların başında gelen *Salmonella Typhimurium* serovarını izole etmektir. Assiut şehir pazarlarından toplanan toplam 100 perakende çiğ tavuk eti ve sakatat (karaciğer, kalp ve taşlık) örneği incelenmiştir. *S. Typhimurium* izolat oranları kalpten %48, karaciğerden %40'dır. Taşlıktan *Salmonella* izolasyonu gerçekleşmemiştir. Bizim çalışmamızda kalpten %15,6, karaciğerden %13,7 *Salmonella* izolatı gerçekleşmiştir. Bu oranlar El Aziz'in yaptığı çalışmadaki oranlara göre düşük olmasına rağmen bizim çalışmamızda taşlıktan %21,9 oranında izolasyon olmuştur.

Raufu, Hendrisken, Ameh ve Aarestrup (2009), yaptıkları çalışmanın amacı Nijerya'nın kırsal alanlarında tavuklarda ve diğer kanatlı et ürünlerinde *Salmonella* yaygınlığını belirlemek ve elde edilen izolatların antibiyotik duyarlılıklarını tespit etmektir. 525 farklı tavuktan 865 örnek toplamıştır ve bu örnekler, böbrek, akciğer, çekum, bağırsak, karaciğer, kalp, taşlık ve kloak bezlerindedir. Örneklerden toplam 130 *Salmonella* izole edilmiştir. 60 taşlık örneğinden, 76 kalp örneğinden ve 75 karaciğer örneğinden *Salmonella* izolasyonu gerçekleşmemiştir. Bizim çalışmamızda kalp örneklerinden %15,6, karaciğer örneklerinden %13,7 ve taşlıktan %21,9 *Salmonella* izolasyonu olmuştur.

Tadesse ve Dabassa (2012), Etiyopya'nın çeşitli bölgelerinden topladıkları 100 çiğ süt örneğini incelemişler ve toplam 20 *Salmonella* spp. izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Fearnley, F ve ark., 'nın 2008 yılındaki verilerine göre 356 tavuk eti örneğinin 123'ünde ve 199 yumurta örneğinin 7'sinde *Salmonella* izole edilmiştir. Türkyılmaz ve ark (2007) Aydın ilindeki broylerlerde *S. Enteritidis*'in varlığını bakteriyolojik ve serolojik olarak araştırmışlar; çalışmanın sonucunda 19 (% 4,1) *S. Enteritidis* izolasyon ve identifikasyonu yaptıklarını; serolojik olarak da (Lam Aglutinasyon Testi ile % 12,2; ELISA ile % 23,7) seropozitiflik saptadıklarını bildirmişlerdir. Kılınç ve Aydın (2006), Kayseri İli'nde 578 kanatlı iç organ materyalinden 61 (% 10,5) örnekte *S. Gallinarum*, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'un neden olduğu salmonellozis infeksiyonu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. 2005 yılında kanat ve boyun örneklerinde yapılan bir çalışmada izole edilen 58 suşun 19'u *S. Enteritidis*, 18'i *S. Virchow*, 11'i *S. Typhimurium*, 4'er adedi *S. Hadar* ve *S. Agama*, 1'er adedi ise *S. Give* ve *S. Bsilla* olarak serotiplendirilmiştir (Yazıcıoğlu ve ark., 2005).

Biyofilmler, bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanabilir. Bu jelsi tabaka,

bakteri hücreleri tarafından üretilen nükleik asit, proteinler ve ekzopolisakkaritlerden (EPS) oluşan hücre dışı matriks yapısından oluşur. Bir başka tanımlamaya göre biyofilm, birbirine ya da bir yüzeye yapışık bakterinin organik bir polimer matriks içine gömülmesidir (Gün, 2009).

Biyofilm gelişiminin moleküler ve genetik temeli üzerine olan çalışmalarda, bir planktonik hücrenin toplumsal forma dönerken çok sayıda gen aktivitesinde değişiklik yaptığı ortaya konulmuştur. Yapılan bir çalışmada *Salmonella* Typhimurium'un silikon bir tüp üzerinde oluşturduğu biyofilm modeli incelenmiş ve bu sırada planktonik formdaki hücrelerine kıyasla genomunun % 10'unun (yaklaşık 433 gen) iki kat ya da daha fazla değişikliğe uğradığı saptanmıştır. Belirgin oranda fazla eksprese edilen genlerin, aminoasit metabolizması, hareket, stres toleransı ile ilgili olanlar oldukları gözlenmiştir (Hamilton S., 2009).

Biyofilm yapısı içerisinde yer alan hücreler sadece dışarıdan uygulanan antimikrobiyalere değil, vücudun doğal bağışıklığının bir parçası olan salgılar ve enzimlere de planktonik hücrelere kıyasla daha fazla direnç göstermektedirler. Scher ve ark.'nın yaptığı çalışmada biyofilm matriksi içine gömülü *S. Typhimurium*'un 500 mg/L'nin üzerindeki konsantrasyonlarda sodyum hipokloride dayandığı buna karşılık, planktonik hücrelerinin 50 mg/L konsantrasyonlara duyarlı oldukları gösterilmiştir (Giaouris E., 2012).

Yaptığımız çalışmalarda 108 *Salmonella* spp. izolatının tamamında biyofilm varlığı görülmüştür. 37°C'de 24 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre; 28 izolat yüksek biyofilm, 53 izolat orta biyofilm, 27 izolat zayıf biyofilm göstermiştir. Çalışılan izolatlar arasında negatif biyofilme saptanmamıştır. İzolatların %25,6'sı yüksek biyofilm, %49,4'ü orta biyofilm ve %25 i zayıf biyofilm karakterine sahip olarak bulunmuştur. Yüksek biyofilm gösteren 28 izolatın; 4(%14,2)'ü Kalp, 2 (%7,2)'si Karaciğer, 14 (%50)'ü Taşlık, 2 (%7,2)'si Boyun ve 6 (%21,4)'sı Süt izolatıdır. Orta biyofilm gösteren 53 izolatın; 12 (%22,6)'u Kalp, 12 (%22,6)'si Karaciğer, 18 (%34)'i Taşlık, 6 (%11,3)'sı Boyun ve 5 (%9,5)'i Süt izolatıdır. Zayıf Biyofilm gösteren 27 izolatın; 10 (%37,1)'u Kalp, 8 (%29,6)'i Karaciğer, 3 (%11,1)'ü Taşlık, 3 (%11,1)'ü Boyun ve 3 (%11,1)'ü Süt izolatıdır. 20 °C'de 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yönteme göre ise; 94 izolat yüksek biyofilm, 12 izolat orta biyofilm, 2 izolat zayıf biyofilm göstermiştir. Çalışılan izolatlar arasında negatif biyofilme saptanmamıştır. İzolatların %87'si yüksek biyofilm, %11'i orta biyofilm ve

%2'si zayıf biyofilm karakterine sahip olarak bulunmuştur. Yüksek biyofilm gösteren 94 izolatın; 24(%25,5)'i Kalp, 18 (%19,1)'i Karaciğer, 28 (%29,8)'i Taşlık, 10 (%10,6)'sı Boyun ve 14 (%14,9)'u Süt izolatıdır. Orta biyofilm gösteren 12 izolatın; 4 (%33,3)'ü Karaciğer, 7 (%58,4)'ü Taşlık, 1 (%8,3)'ü Boyun izolatıdır. Zayıf Biyofilm gösteren 2 izolatın; 2 (%100)'ü Kalp izolatıdır.

Manijeh ve diğerlerinin (2008) çalışmasında *S. Enteritidis*'in çelik, cam ve polietilen yüzeylere adezyonundan sonraki 2., 4., 8., 16., ve 20. Saatlerde oluşturduğu biyofilm yapısı incelenmiştir. Çalışmada mikroorganizmanın her üç yüzeyde de biyofilm yaptığı ancak 2 saat sonra cam ve çelik yüzeylerde oluşturduğu biyofilmin polietilen yüzeye göre anlamlı oranda daha kuvvetli olduğu izlenmiştir. Çalışma sonuçları biyofilm oluşumunda bakteri hidrofobisitesi yanında yüzey özelliklerinin de önemli rolü olduğunu göstermiştir. Bu bulgular halk sağlığı ve gıda endüstrisi açısından önem taşımaktadır.

Salmonella spp. ile kontamine yemler, hayvanlarda ve takiben de bu hayvan ürünlerini tüketen insanlarda *Salmonella* enfeksiyonu riski oluşturmaktadır. Norveç'te yem ve balık yemi üreten fabrikalardan 1991-2006 yılları arasında izole edilen 111 *Salmonella* suşunun biyofilm oluşturma kapasitelerinin incelendiği bir çalışmada serovarlar arasında belirgin farklılıklar olduğu ortaya konulmuştur. Fabrikalarda yıllarca kalıcılık gösteren *Salmonella* serovar Agona ve serovar Montevideo'nun biyofilm oluşturma gücü yüksek bulunurken, kısa süreli kolonizasyon yapan serovar Senftenberg orta derecede biyofilm oluşturmuştur. Bununla birlikte Norveç'te dağol yaşamda görülmekle birlikte, yem fabrikalarında kolonizasyonuna rastalınmayan serovar Typhimurium'un diğer serovarlara kıyasla zayıf biyofilm oluşturduğu saptanmıştır (Vestby LK., ve ark. 2009).

Stepanovic ve diğerleri, 122 *Salmonella* spp. ve 48 *L. monocytogenes* izolatının plastik yüzeylerde oluşturdukları biyofilm yapılarını inceledikleri çalışmalarında, mikroorganizmaların içinde buldukları vasatın besleyici değerinin oluşan biyofilm miktarını doğrudan etkilediğini ortaya koymuşlardır. Yine aynı çalışmada *Salmonella* türlerinin oluşturduğu biyofilm miktarının *L. monocytogenes*'inkinden daha fazla olduğu gösterilmiştir. Plastik çok kuyucuklu plaklarda gerçekleştirilen çalışmada, *Salmonella* türlerinin biyofilm oluşumunu besinden fakir vasatlar indüklerken, *L. monocytogenes*'in zengin besiyerlerinde daha fazla biyofilm oluşturduğu izlenmiştir. Çalışma, biyofilm

oluşumunun mikroorganizmanın türü ve içinde bulunduğu ortam ile doğrudan ilişkisini ortaya koymuştur.

Pui ve diğerlerinin (2011), mutfaklarda kullanılan plastik kesme tahtalarının üzerinde *Salmonella Typhi* ve *S. Typhimurium*'un oluşturdukları biyofilmleri inceledikleri çalışmalarında, iki patojenin de adezyonlarının 12. saatlerinde yüzeyde biyofilm oluşturduklarını saptamışlardır. Sonuçlar *Salmonella* adezyonunun suya ve zamana bağımlı olduğunu göstermiştir. Sonrasında kontamine plastik yüzeylerden, bu yüzeylerde kesilen diğer meyvelere de *S. Typhi* için % 79, *S. Typhimurium* içinse % 72 oranında geçiş olabileceğini saptamışlardır. Bulgular biyofilmle kaplı yüzeylerde gıda kontaminasyonu olabileceğine işaret etmesi açısından anlamlıdır.

Giouris ve diğerlerinin (2012) çalışmasında, ısı, pH ve ıslaklık gibi önemli çevresel faktörlerin paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilm oluşumundaki etkilerini göstermek üzere bir deney düzeneği tasarlanmıştır. Sıcaklık dereceleri olarak 5, 20 ve 37 °C'ler; pH dereceleri olarak 4,5; 5,5; 6,5 ve 7,4 değerleri, suyun etkisini incelemek üzere de % 0,5; 1,5; 5,5 ve 10,5 NaCl değerleri seçilmiştir. 7. günde en fazla biyofilm oluşumu 20°C'de izlenmiştir. Çalışmada yüksek düzey tuz konsantrasyonunun (%10,5) bakterilerin yüzeye tutunmasını anlamlı oranda inhibe ettiği gösterilmiştir. Yüzeyle tutunan bakterilerin vorteksleme yoluyla yerlerinden ayrılmadıkları da not edilmiştir.

Agay (2014), bakterilerin % 35,1' inin zayıf, % 37,8' inin orta ve % 8,1' inin kuvvetli biyofilm oluşturma kapasitesine sahip olduğu, % 18,9' unun ise biyofilm oluşturmadığı (non-adherent) saptanmıştır. Çalışmasında farklı kaynaklardan izole edilen *Salmonella* bakterileri ile standart *S. Typhimurium* ATCC 14028 ve *S. Enteritidis* ATCC 13076 bakterilerinin biyofilm oluşturma kapasitelerini incelemiştir. Deney sonuçlarına göre, bakterilerin çoğunlukla zayıf (% 35,1) ve orta (% 37,8) kuvvetli biyofilm oluşturma yeteneğinde olduğu, elde edildikleri kaynaklara göre bakteriler arasında biyofilm oluşturma kapasiteleri açısından belirgin bir fark olmadığı saptanmıştır. Kıyma, deniz suyu ve klinik örneklerden izole edilen *Salmonella* bakterileri ve standart bakterilerin CAS Agar besiyerinde siderofor üretim kapasiteleri sırasıyla % 100, % 57,1, % 100 ve % 50 olarak tespit edilmiştir. Siderofor üretimi açısından incelenen toplam 37 bakterinin % 75,7' inde siderofor üretimi pozitif olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda 108 izolattan yalnızca 7'inde (%6,48) siderofor üretimi pozitif olarak gözlenmiştir. Siderofor pozitif izolatların

elde edildikleri numune dikkate alınarak yapılan incelemeleri sonucu 4'ünün (%57,14) taşlık, 2'sinin (%28,57) boyun ve 1'inin (%14,29) karaciğer örneğinden elde edildiği görülmektedir. Agay 2014'ün çalışmasında siderofor üretimi bizim çalışmamıza göre daha yüksektir.

Carla ve diğerlerinin (2014), yaptıkları çalışmada 10 adet gıda kaynaklı patojen ve 10 adet kümes hayvanı orjinli olmak üzere toplam 20 adet *Salmonella* Enteritidis izolatu elde etmişlerdir. Bu izolatlarla yapılan biyofilm çalışmalarında izolatların % 25 'inin güçlü biyofilm, %35'inin orta biyofilm, %35'inin zayıf biyofilm ve %10'unun biyofilm oluşturmadığını gözlemlemişlerdir. Yine bu çalışmaya göre gıda kaynaklı *S. Enteritidis*'lerin tamamının ve kümes hayvanı kaynaklı izolatların % 80'inin biyofilm oluşturduğu saptanmıştır. Gıda kaynaklı izolatların %30'u güçlü biyofilm, %50'si orta biyofilm ve %20'si zayıf biyofilm göstermiştir. Kümes hayvanı orjinli izolatlardan %10'u güçlü biyofilm, %10'u orta biyofilm ve %60'ı zayıf biyofilm karakteri göstermiştir. Bizim çalışmamızda yer alan bakterilerin biyofilm kapasiteleri daha yüksektir.

Karaca (2011), yaptığı çalışmasında Yoğun rdar|| morfotipi içerdiği saptanan *Salmonella* serovaryetelerinin mikrotitre plaklarda ölçülen biyofilm miktarları arasında istatistiksel anlamda çok önemli bir farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). OD 595'te ölçülen biyofilm miktarları, serovaryetelerin ortalama ölçüm değerleri olan 0,8077 (*S. Salford*) ile 3,435 (*S. Typhimurium*) değerleri arasında dağılım göstermiştir. Çalışmada en yüksek biyofilm miktarı, literatür verilerinde zayıf bir biyofilm üreticisi olduğu bildirilen, *S. Typhimurium*'da tespit edilmiştir (Vestby vd. 2009). Çalışmada kullanılan Türkiye kaynaklı iki adet *S. Typhimurium* suşunun biyofilm miktarlarının, standart suş olarak kullanılan *S. Typhimurium* LT2 suşunun ürettiği biyofilm miktarından çok daha yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla 3,398; 3,4 ve 0,15). Bizim çalışmamızda 37°C'de 24 saatlik inkübasyonun kullanıldığı yöntemde biyofilm aralıkları en düşük 0.105 ile en yüksek 3.201 arasındadır. 20°C'de 48 saat inkübasyonun kullanıldığı yöntemde ise biyofilm aralıkları en düşük 0,654 ile en yüksek 3,661 arasındadır.

Yaptığımız çalışmada; *Salmonella* izolatlarının biyofilm morfotipi incelemesi sonucunda rdar morfotipi içeren izolatların %35'inin taşlıktan, %32'sinin çiğ süttten, %22'sinin kalpten, % 8'inin karaciğerden ve %1'inin boyundan izole edildiği görülmektedir. Bu

verilere göre Rdar morfortipi gösteren izolatların en fazla taşlıktan (%35) elde edildiği gözlenmektedir.

Çalışmamıza göre *Salmonella* izolatlarının siderofor üretimine bakıldığında 108 izolattan yalnızca 7'sinde (%6,48) siderofor üretimi pozitif olarak gözlenmiştir. Siderofor pozitif izolatların elde edildikleri numune dikkate alınarak yapılan incelemeleri sonucu 4'ünün (%57,14) taşlık, 2'sinin (%28,57) boyun ve 1'inin (%14,29) karaciğer örneğinden elde edildiği görülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İnsanlarda görülen *Salmonella* infeksiyonlarının büyük çoğunluğu gıda kaynaklı olarak oluşmaktadır. Birçok ülkede yıl içerisinde görülen infeksiyonlar kayıt altına alınarak epidemiyolojik değerlendirmeler yapılmaktadır. Avrupa Birliği üyesi 27 ülkede 2009 yılında toplam 109.884 *Salmonella* vakası bildirilmiş olup bunların 108.614'ü çeşitli yöntemlerle doğrulanmıştır. Elde edilen verilere göre 2008 yılında 131.468 olan vaka sayısı 2009 yılında yaklaşık % 17,4 düşüş göstermiştir. Yine AB ülkelerinde 2005-2009 yılları arasında yapılan çalışmalarda *Salmonella* vaka sayısının giderek azaldığı görülmektedir. *Salmonella* olduğu doğrulanan 2009 yılındaki 108.614 vakanın yaş dağılımı incelendiğinde; en yüksek oranda 0-4 yaş grubu çocukların, daha sonra 5-14 yaş arasındaki çocukların ve ne düşük oranda 15 yaş üstü insanların bulunduğu rapor edilmiştir. Doğrulanan 53.167 vakanın % 0.08'inin ölümlerle sonlandığı belirlenmiştir (EFSA).

Bakteriyel biyofilmler özellikle son 20-30 yıl içerisinde, hem gıda sektörü, hem de halk sağlığı üzerine olan etkileri nedeniyle tüm dünyada oldukça önem kazanmıştır. Biyofilm oluşumu üç ana bileşenin birbirleriyle etkileşimi sonucu gerçekleşmektedir: bakteri hücreleri, tutunulan yüzey ve çevreleyen ortam (Van Houdt R., 2010).

Salmonella'ların asetik asit ve pirinç sirkesi varlığında canlılıklarını devam ettirebilmeleri, biyofilm oluşturma kapasiteleri ile açıklanmıştır. Biyofilm oluşturma özelliği ve gıda kaynaklı salgınlar arasındaki ilişki *Salmonella* ve *Listeria* için günümüzde ispatlanmıştır. Bu nedenle suşa bağlı biyofilm oluşturma kapasitesindeki değişkenlikler *Salmonella*'ların özellikle düşük pH'ya sahip gıdaları kontamine etmeleri sonucunda gelişen enfeksiyonlarının önlenmesi açısından önem taşımaktadır (Hasegawa A., 2011).

Salmonella türleri gıda işlenen fabrikalar ve çevrelerinden sıklıkla izole edilmekte ve bazı *Salmonella* klonları yıllarca bu çevrelerde kalabilmektedirler. *Salmonella*'lara dezenfeksiyon gibi çevresel stres faktörlerinden etkilenmeden bu dayanıklılığı sağlayan faktörlerden birinin biyofilm oluşturma yetenekleri olduğu düşünülmektedir. Biyofilmlerin gıda işlenen fabrikalarda çevre yüzeylerde oluşması, gıdaların kontaminasyonu sonucu raf ömürlerinin azalmasına ve aynı zamanda infeksiyon hastalıklarının yayılmasında yol açmaktadır. Bu açıdan bakılınca biyofilmler gıda endüstrisinde hijyen açısından sorun oluşturmalarının yanı sıra, ekonomik kayıplara da neden olmaktadır (Erdem, 2013).

KAYNAKLAR

- Altay, G. ve Yardımcı, H. (2001). Tavuklarda *Salmonella Enteritidis* Antikorlarının Serum ve Yumurta Sarısında ELISA ile Saptanması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*. 25. 983-988.
- ANONİM. (2003). *Salmonella*. U.S. Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5.
- Arda, M., Esenal, Ö. M., Akay, Ö., Keskin, O., ve İzgür, M. (1995). Tavuk Salmonellozis Teşhisinde Propylene Glycollü Yeni Bir Besiyerinin Kullanılması. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*. 42, 91-96.
- Barrow, P. A. (1992). In-vitro and in-vivo characteristics of TnpHoA mutant strains of *Salmonella* serotype gallinarum not invasive for tissue culture cells. *Journal of Medical Microbiology*. 36, 389-397.
- Barrow, P. A. (2000). The paratyphoid *Salmonella*. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*. 19, 351-375.
- Barrow, P. A., Lowell, M. A., Murphy, C.K., and Page, K. (1999). *Salmonella* infection in a commercial line of ducks; Experimental studies in virulence, intestinal colonization and immune protection. *Epidemiology and Infection* 123, 121- 132.
- Baumler, A. J., Heffron, F., and Reissbrodt, R. (1997). Rapid Detection of *Salmonella enterica* with Primers Specific for *iroB*. *Journal of Clinical Microbiology*. 35, 1224-1230.
- Bilgehan, H. (2004). Klinik Mikrobiyolojik Tanı. İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları. 425-455.
- Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R., and Swaminathan, B. (2000). *Salmonella* Nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology*. 38, 2465-2467.
- Bucholz, P.S. ve Fairbrother, A. (1992). Pathogenicity of *Salmonella pullorum* in northern bobwhite quail and mallard ducks. *Avian Diseases*. 36, 304- 312.
- Burkhalter, P. W., Muller, C., Luty, J. and Candiran, U. (1995). Detection of *Salmonella* spp. in eggs: DNA Analyses, Culture, Techniques ve Serology. *Journal of AOAC International*. 78, 1531-1537.
- Candrian, U. (1995). Polymerase chain reaction in food microbiology. *Journal of Microbiological Methods*. 23, 89–103.
- Chen, M., Stern, J. S., Bailey, J. S. ve Cox, N. A. (1998). Administering mucosal competitive exclusion flora for control of *Salmonella*. *Journal of Applied poultry Research*. 7, 384-391.
- Cohen, N. D., Mcgruder, E. D., Neilbergs, H. L., Behle, R. W., Wallis, D. E., and Hargis, B. M. (1994). Detection of *Salmonella enteritidis* in feces from poultry using booster

- PCR and oligonucleotide primers specific for all members of the genus *Salmonella*. *Poultry Science* 73, 354-357.
- Cotter, P. F., Murphy, J. E., Klinger, J. D., and Taylor, R. L. (1995). Identification *Salmonella* enteritidis from experimentally infected hens using a colorimetric DNA hybridization method. *Avian Diseases*. 39, 873-878.
- Craven, S. E. (1994). Altered colonizing ability for the ceca of broiler chicks by lipopolysaccharid-deficient mutants of *Salmonella* typhimurium. *Avian Diseases*. 38, 401-408.
- Cudjoe, K. S., and Krona, R. (1997). Detection of *Salmonella* from raw food samples using Dynabeads anti-*Salmonella* and a conventional reference methods. *International Journal of Food Microbiology*. 37, 55-62.
- Cudjoe, K. S., Krona, R., Gron, B., and Olsen, E. (1994). Use of ferrous sulphate and immunomagnetic separation to recover *Salmonella* enteritidis from raw eggs. *International Journal of Food Microbiology*. 23, 149-158.
- Çakıroğlu, H. S. (2005). *Ankara garnizonunda tüketime sunulan tavuk yumurtalarının Salmonella spp. Yönünden analizi*. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 110-112.
- Çarlı, K. T., Unal, C. B., Caner, V. ve Eyigor, A. (2001). Detection of Chicken Feces by a Combination of Tetrathionate Broth Enrichment, Capillary PCR, and Capillary Gel electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology*. 39 (5), 1871-1876.
- D'aoust, J. Y., Sewell, A. and Daley, E. (1992). Inadequacy of small transfer volume and short (6h) selective enrichment for the detection of foodborne *Salmonella*. *Journal of Food Protection* 55, 326-328.
- Davies, R. H., Nicholas, R. A. J., McLaren, I. M., Corkish, J. D., Lanning, D. G., and Wray, C. (1997). Bacteriological and serological investigation of persistent *Salmonella* enteritidis infection in an integrated poultryorganisation. *Veterinary Microbiology*. 58, 277-293.
- Dusch, H., and Altwegg, M. (1995). Evaluation of New Plating Media for Isolation of *Salmonella* Species. *Journal of Clinical Microbiology*. 33, 802-804.
- EFSA. European Food Safety Authority. (2011). The European Union summary reports on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks.. European Food Safety Authority Journal. 9(3): 2090.
- Erdem, B. (1995). Epidemiyolojik *Salmonella* 'ların Fenotipik ve Genetik Özellikleri ile Bu Özelliklerin Epidemiyolojik Değeri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. 25, 40-45.
- Erdem, B. (Editör). (2013). *Salmonella*. İstanbul: Logos Tıp Yayıncılığı, 143-160.
- Erdem, B., Threlfall, E. J., Schfield, S. L., Ward, L. R., and Rowe, B. (1994). Plasmid profile typing provides a method for the differentiation of strains of *Salmonella* enteritidis phage type 4 isolated in Turkey. *Letters in Applied Microbiology*. 19, 265.

- Fearnly, E., Raupach, J., Lagala, F., and Cameron, S. (2011). *Salmonella* in chicken meat, eggs and humans; Adelaide, South Australia, 2008. *International Journal of Food Microbiology*. 146, 219-27.
- Feder, I., Nietfeld, J. C., Galland, J., Yeary, T., Sargeant, J. M., Oberst, R., Tamplin, M. L. and Luchansky, J. B. (2001). Comparison of Cultivation and PCR-Hybridization for Detection of *Salmonella* in Porcine Fecal and Water Samples. *Journal of Clinical Microbiology*. 39, 2477-2484.
- Fluit, A. C., Widjojoatmodjo, M. N., Box, A. T. A., Torensma, R., and Verhoef, J. (1993). Rapid detection of *Salmonellae* in poultry with the magnetic immuno-polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology*. 59, 1342–1346.
- Fricker, C. R. (1987). The Isolation of *Salmonella* and *Campylobacter*. *Journal of Applied Bacteriology*. 63, 99 -116.
- Gast, R. K. (1993a). Detection of *Salmonella* enteritidis in experimentally infected laying hens by culturing pools of egg contents. *Poultry Science* 72, 267-274.
- Gast, R. K. (1993b). Evaluation of direct plating for detecting *Salmonella* enteritidis in pools of egg contents. *Poultry Science* 72:1611-1614.
- Gast, R. K. and Beard, C. W. (1990). Production of *Salmonella* Enteritidis contaminated eggs by experimentally infected hens. *Avian Diseases* 34, 438-446.
- Gast, R. K. and Saif, Y. M. (Editör) (2003). *Salmonella* Infections in Diseases of poultry Iowa State Press. 567-613.
- Girwood, A. W. R., Fricker, C. R. and Mundo, D. (1985). The incidence and significance of *Salmonella* carriage by gulls in Scotland. *Journal of Hygiene*. 95, 229-241.
- Giaouris, E., Chorianopoulos, N., Skandamis, P., and Nychas, G. J. (2012). Attachment and biofilm formation by *Salmonella* in food processing environments. In: Mahmoud *Salmonella* A dangerous foodborne pathogen. Intech 2012; DOI: 10.5772/1308.
- Gün, İ., ve Ekinci F. Y. (2009). Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. *GIDA* 34, 165-73.
- Hamilton, S., Bongaerts, R. J., Mulholland, F. (2009). The transcriptional programme of *Salmonella* enteritica serovar Typhimurium reveals a key role for tyryptophan metabolism in biofilms. *BMC Genomics*. 10, 599.
- Hantke, K., Nicholson G., Rabsch, W. and Winkelmann, G. (2003). Salmochelins, siderophores of *Salmonella enterica* and uropathogenic *Escherichia coli* strains, are recognized by the outer membrane receptor IroN, *Proceedings of the national Academy of sciences of the United States of America*. 100 (7), 3677-3682.
- Hargis, B. M., Caldwell, D. J., Brewer, R. L., Corrier, D. E., and Deloach, J. R. (1995). Evaluation of the chicken crop as a source of *Salmonella* contamination for broiler carcasses. *Poultry Science*. 74, 1548–1552.

- Hasegawa, A., Hara-Kudo, Y., Kumaga, S. (2011). Survival of *Salmonella* strains differing in their biofilm-formation capability upon exposure to hydrochloric and acetic acid and to high salt. *Journal of Veterinary Medical Science*. 73 (1), 163-8.
- Henderson, S. C., Bounous, D. I., and Lee, M. D. (1999). Early Events in the Pathogenesis of Avian Salmonellosis. *Infection and Immunity*. 67(7), 3580-3586.
- Henzler, D. J., Kradel, D. C. and Sisco W. M. (1998). Management and environmental risk factors for *Salmonella* enteritidis contamination of eggs. *American Journal of Veterinary Research* 59, 824-829.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. And Williams, S. T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th Edition.
- Hoorfar, J., Baggesen, D. L., Porting, P. H. (1999). A PCR-based strategy for simple and rapid identification of rough presumptive *Salmonella* isolates. *Journal of Microbiological Methods*. 35, 7-84.
- Humbert, F., Carram-nana, J. J., Lalande, F., and Salvat, G. (1997). Bacteriological monitoring of *Salmonella* Enteritidis carrier birds after decontamination using enrofloxacin, competitive exclusion and movement of birds. *Veterinary Record* 141, 297-299.
- Humphrey, T. J., Baskerville, A., Maver, S., Rowe, B., and Hopper, S. (1989). *Salmonella* enteritidis phage type 4 from the contents of intact eggs: A study involving naturally infected hens. *Epidemiology and Infection* 103, 415-423.
- İnternet:URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fid.wikipedia.org%2Fwiki%2FGram-negatif&date=2015-06-18>. Son Erişim Tarihi: 18.06.2015.
- İnternet:URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fmpkb.org%2Fhome+&date=2015-06-20>. Son Erişim Tarihi: 20.06.2015.
- İnternet:URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2FSalmonellatyphi.org+&date=2015-06-18>. Son Erişim Tarihi: 18.06.2015.
- İnternet:URL:http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.labbulletin.com%2Farticles%2FSpecific-Salmonella-detection-with-Lab-M-new-XLT4-Agar-for-effective-monitoring-in-the-presence-of-competing-organisms%23.VXq_KPntmko&date=2015-06-18. Son Erişim Tarihi: 18.06.2015.
- İnternet:URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.labm.com%2Fproducts%2Fharlequin-Salmonella-abc-medium.asp&date=2015-06-18>. Son Erişim Tarihi: 18.06.2015.
- İnternet:URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.bornovave.t.gov.tr%2FkanatliSalmonella.htm&date=2015-06-18>. Son Erişim Tarihi: 18.06.2015.

- İnternet:URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.newaquatek.com%2Fnewsroom.html&date=2015-06-18>. Son Erişim Tarihi: 18.06.2015.
- İzgür, M. ve Akan, M. (Editörler). (2002). *Salmonella* İnfeksiyonları. *Kanathı Hayvan Hastalıkları*. Ankara: *Medisan Yayınevi*, 41-53.
- İzgür, M., Aydın, N., ve Paracıklıoğlu, J. (Editörler). (2006). *Salmonella* İnfeksiyonları. In: *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*, Ankara: İlke-Emek Yayınları, 116-121.
- Janda, J. M., Abbott, S. L. (1998). *The Enterobacteriaceae*, Philadelphia: Lippincott – Raven.
- Jaowapa, J., Chailai, K., Kriengsag, D. and Kriengsag, S. (1994). Occurrence of *Salmonella* in Raw Broilers and Their Products in Thailand. *Journal of Food Protection*, 758-844.
- Johnson, D. C., David, M. and Goldsmith, S. (1992). Epizootiological investigation of an outbreak of pullorum disease in an integral broiler operation. *Avian Diseases*. 36, 770-775.
- Joseph, B., Otta, S. K., and Karunasagar, I. (2001). Biofilm formation by *Salmonella* spp. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. *International Journal of Food Microbiology*. 64(3), 367-372.
- Karaca, B. (2011). Türkiye’den İzole Edilen *Salmonella* Suşlarının Biyofilm Oluşturma Özelliklerinin Tanımlanması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 45-50.
- Keller, L. H., Schifferli, D. M., Benson, C. E., Aslam, S. and Eckroade, R. J. (1997). Invasion of chicken reproductive tissues and forming eggs is not unique to *Salmonella enteritidis*. *Avian Disease*. 41, 535-539.
- Kılınç, Ü., ve Aydın, F. (2006). Kayseri yöresindeki tavukçuluk işletmelerinden toplanan tavuklardan izole edilen *Salmonella* türlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 15, 35–40.
- Kinde, H., Adelson, M., Ardans, A., Little, E. H., Willoughby, D., Bechtold, D., Read, D. H., Breitmeyer, R., Kerr, D., Tarbell, R. and Hughes, E. (1997). Prevalence of *Salmonella* in municipal sewage treatment plant effluents in Southern California. *Avian Disease*. 41, 392-398.
- Kokosharov, T. and Phetisova, K. (2002). Hemolysins and aerobactin in *Salmonella Gallinarum* strains isolated from poultry, *Revue de médecine vétérinaire*, 153 (6), 411-414.
- Koneman, E., Washington, W. J., Allen, S., Janda, W., Procop, G., Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006). *Koneman’ s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology sixth edition*. USA: Lippincott Williams & Wilkins, Chapter 6.

- Koupal, L., P. and Deibel, R., H. (1975). Assay, characterization and localization of an enterotoxin produced by *Salmonella*. *Infection and Immunity*. 11, 14-22.
- Kurt, H., Erdem, B., M, K. O., Gerçeker, D., Yağcı, S., ve Bumin, O. (1999). *Salmonella* enteric subsp enterica ser Typhimurium'un neden olduğu dalak absesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 33: 223.
- Kwon, H. J., Park, K. Y., Yoo, H. S., Park, J. Y. and Kim, S. J. (2000). Differentiation of *Salmonella* enterica serotype gallinarum biotype pullorum from biotype gallinarum by analysis of phase 1 flagellin C gene (fliC). *Journal of Microbiological Methods*. 40, 33-38.
- Li, J., Smith, K. N., Crichton, P. B., Old, D. C., Whittam, T. S. and Selander, R. K. (1993). Evolutionary origin and radiation of the avian-adapted nonmotile *Salmonella*. *Journal of Medical Microbiology*. 129-139.
- Litwin, C. M. and Calderwood, S. B., 1993, Role of iron in regulation of virulence genes, *Clinical Microbiology Reviews*. 6 (2), 137-149.
- Mallinson, E. T., Tate, C. R., Miller, R.G., Bennett, B. ve Russek-cohen, E. (1989). Monitoring poultry farms for *Salmonella* by drag-swap sampling and antigen-capture immunoassay. *Avian Disease*. 33, 684-690.
- Manjeh, M., Mohammad, J., and Roha, K. K. (2008). Biofilm formation by *Salmonella* enteritidis on food contact surfacez. *Journal of Biological Sciences*. 8, 502-5.
- Mayahi, M., Sharma, R. N. and Maktabi, S. (1995). An outbreak of blindness in chicks associated with *Salmonella* pullorum infection. *Indian Veterinary Journal*. 72, 922-925.
- Mcdermid, A. S. and Lever, M. S. (1996). Survival of *Salmonella* enteritidis PT4 and S. typhimurium Swindon in aerosol. *Letters in Applied Microbiology*. 23, 107-109.
- McDonoug, P. L., Jacobson, R. H. and Timoney, J. F. (1989). Virulence determinants of *Salmonella* typhimurium from animal sources. *American Journal of Veterinary Research*. 50, 662-670.
- Mdegela, R. H., Yongolo, G. S., Minga, U. M. and Olsen, J. E. (2000). Molecular epidemiology of *Salmonella* gallinarum in chickens in Tanzania. *Avian Pathology*, 29, 457-463.
- Medici, D. D., Luciana, C., Delibato, E., Pasquale, S. D., Filetici, E., and Toti, L. (2003). Evaluation of DNA Extraction Methods for Use in Combination with YBR Green I Real-Time PCR To Detect *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis in Poultry. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(6), 3456-3461.
- Medici, D. D., Pezzotti, G., Marfoglia, C., Caciolo, D., Foschi, G., and Orefice, L. (1998). Comparison between ICS-Vidas, MSR/V and standard cultural method for *Salmonella* recovery in poultry meat. *International Journal of Food Microbiology*. 45, 205-210.

- Meer, R. R., and Park D. L. (1995). Immunochemical detection methods for *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* in foods. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 142, 1–12.
- Miller, R. G., Tate, C. R., Mallinson, E. T. and Scherrer, J. A. (1991). Xyloselysine-tergitol 4: An improved selective agar medium for the isolation of *Salmonella*. *Poultry Science*, 70, 2429-2432.
- Molla, B. and Mesfin, A. (2003). A survey of *Salmonella* contamination in chicken carcass and giblets in Central Ethiopia. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 154(4), 267-270.
- Mutlu, G., İmir, T., Cengiz A. T., Ustaçelebi, S., Tümbay, E., ve Mete, Ö. (Editörler). (1999). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Ankara: Güneş Kitabevi, 489-502.
- Oliveira, S. D., Santosa, L. R., Schucha, D. M. T., B, Silvaa, A. B., Sallea C. T. P., and Canala, C. W. (2002). Detection and identification of *Salmonellas* from poultry-related samples by PCR. *Veterinary Microbiology*. 87, 25-35.
- Oliveira, S. D., Rodenbusch, C. R., Cé, M. C., Rocha, S. L. S., and Canal, C. W. (2003). Evaluation of selective and non-selective enrichment PCR procedures for *Salmonella* detection. *Letters in Applied Microbiology*, 36, 217-221.
- Opara, O. O., Carr, L. E., Russek-cohen, E., Tate, C. R., Mallinson, E. T., Miller, R. G., Stewart, L. E., Johnston, R. W., and Joseph, W.S. (1992). Correlation of water activity and other environmental conditions with repeated detection of *Salmonella* contamination on poultry farms. *Avian Disease* 36, 664-671.
- Pennycott, T. W., and Duncan, G. (1999). *Salmonella pullorum* in the common pheasant. *Veterinary Record* 144, 283-287.
- Popoff, M. Y., Bockemühl, J., and Brenner, F. W. (2000). Supplement 1998 (No:2) to the Kaufmann-White scheme. *Research in Microbiology*. 151, 63-65.
- Porter, R. E., Holt, P. S., and Jr. (1993). Effect of induced molting on the severity of intestinal lesions caused by *Salmonella* enteritidis infection in chickens. *Avian Disease*. 37, 1009-1016.
- Prescott H. (2002) ‘‘Laboratory Exercises in Microbiology’’ 5th ed., *Mc Graw Hill*, New York, 31-206.
- Pui C. F., Wong W. C., and Chai L. C. (2011). Biofilm formation by *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Typhimurium on plastic cutting board and its transfer to dragon fruit. *International Food Reserach*. 18, 31-8.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Carter, M. E., Donnelly, W. J. and Leonard, F. C. (2004). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. India Replica Pres Ptv. Ltd., Chapter 18.
- Rabsch, W., Tschäpe, H. and Baumler, A. J. (2001). Non-typhoidal salmonellosis: emerging problems. *Microbes and Infection*. 3, 237–247.

- Rahimi, E. (2012). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp isolated from retail chicken, Turkey, and ostrich by-products in Iran. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 163(6), 271-275.
- Raufu, I., Hendrisken, R. S., Ameh, J. A., and Aarestrup, F. M. (2009). Occurrence and characterization of *Salmonella* *Hiduddify* from chicken and poultry meat in El Aziz, D.M.A. (2013). Detection of *Salmonella* *Typhimurium* in retail chicken meat and chicken giblets. *Elsevier, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 3(9), 678–681.
- Reeves, M. V., Evins, G. B., and Hebia, A. A. (1989). Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other *Salmonellae* as shown by multilocus 52 enzyme electrophoresis and proposal of *Salmonella bongori* *comb. nov.* *Journal of Clinical Microbiology*. 27, 313-320.
- Rodrigue, D. C., Tauxe, R. V., and Rowe, B. (1990). International increase in *Salmonella* enteritidis: a new pandemic. *Epidemiology and Infection*. 105, 21–27.
- Sato, Y., Sato, G., Tuchili, L., Pandey, G.S., Nakajima, A., Chimana, H., and Sinsungwe, H. (1997). Status of *Salmonella* gallinarum-pullorum infections in poultry in Zambia. *Avian Disease*. 41, 490-495.
- Schrank, I. S., Mores, M. A. Z., Costa, J. L. A., Frazzon, A. P. G., Soncini, R., Schrank, A., Vanstein, M. H., and Silva, S. C. (2001). Influence of enrichment media and application of a PCR based method to detect *Salmonella* in poultry industry products and clinical samples. *Veterinary of Microbiology*. 82, 45–53.
- Shaw, S. J., Blais, B. V., and Nundy, D. C. (1998). Performance of the Dynabeads anti-*Salmonella* system in the detection of *Salmonella* species in food, animal feeds, and environmental samples. *Journal of Food Protection*. 61, 1507-1510.
- Shivaprasad, H. L. (2000). Fowl Typhoid and Pullorum disease. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*. 19, 405-424.
- Shivaprasad, H. L. (2003). *Salmonella* Infections. In: *Diseases of poultry 11*. Ed. Ed: SAIF, Y.M. Iowa State Press. 568-582.
- Shivaprasad, H. L., Timoney, J. F., Morales, S., Lucio, B. and Baker, R. C. (1990). Pathogenesis of *Salmonella* enteritidis infection in laying chickens. I. Studies on egg transmission, clinical signs, fecal shedding, and serologic responses. *Avian Disease* 34, 548-557.
- Soumet, C., Ermel, G., Rose, N., Drouin, P., Salvat, G. and Colin, P. (1999). Identification by a multiplex PCR-based assay of *Salmonella* *Typhimurium* and *S. Enteritidis* strains from environmental swabs of poultry houses. *Letters in Applied Microbiology*. 29, 1- 6.
- Stepanovic, S., Cirkovic, I., Ranin, L., Svabic-Vlahovic, M. (2004). Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. *Letters in Applied Microbiology*. 38, 428-32.

- Stone, G. G., Oberst, R. D., Hays, M. P., Mcvey, S. And Chengappa, M. M. (1994). Detection of *Salmonella* serovars from clinical samples by enrichment broth ultivation-PCR procedure. *Journal of Clinical Microbiology*. 32, 1742– 1749.
- Suzuky, S. (1994). Pathogenicity of *Salmonella Enteritidis* in poultry. *Journal of Food Microbiology*. 21, 89–105.
- Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. (1998). Kuluçkahane ve Damızlık İşletmelerin Sağlık Kontrol Yönetmeliği ve Talimatı. Ankara: Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, 1-64.
- Teshome, T., and Anbessa, D. (2012). Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Isolated from Raw Milk Samples Collected from Kersa District, Jimma Zone, Southwest Ethiopia. *Journal of Medical Sciences*, 12, 224-228.
- Topçu, A. W., Söyletir, G., ve Doğanay, M. (1996). İnfeksiyon Hastalıkları, Cilt 1, İstanbul: Nobel Tıp Kitapları. 491-505.
- Topçu, A. W., Söyletir, G., ve Doğanay, M. (2002). İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 2, Nobel Tıp Kitapları; İstanbul, 1586-1596.
- Tuchili, L. M., Kodama, H., Izumoto, Y., Mukamoto, M., Fukata, T., and Baba, T. (1995). Detection of *Salmonella gallinarum* and *S. Typhimurium* DNA in experimentally infected chicks by polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Medical Science*. 57, 59–63.
- Tuchili, L. M., Kodama, H., Sharma, R. N., Takatori, I., Pandey, G. S., Kabilika, S., Mukamoto, M., Tsuji, S., and Baba, T. (1996). Detection of *Salmonella* DNA chicken embryos and environmental samples by PCR. *Journal of Veterinary Medical Science*. 58, 881-884.
- Türkyılmaz, S., Savasan, S., Kırkan, S., ve Kaya, O. (2007) *Tavuklarda Salmonella Enteritidis* enfeksiyonlarının bakteriyolojik ve serolojik yöntemlerle teşhisi. İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 33.
- Van Houdt, R., and Michiels, C. W. (2010). Biofilm formation and the bacterial outer surface. *Journal of Applied Microbiology*. 109, 17-31.
- Varma, A. and Chincholkar, S. B., (2007). *Soil microbiology: Microbial siderophores*, 12th ed., Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, 978-3-540-71159-9.
- Vestby, L. K., Moretro, T., Langsrud, S., Heir, E., and Nesse, L. L. (2009). Biofilm forming abilities of *Salmonella* are correlated with persistence in fish meal and feed factories. *BMC Veterinary Research* 5, 20.
- Waltman, W. D., and Horne, A. M. (1993). Isolation of *Salmonella* from chickens reacting in the pullorum-typhoid agglutination test. *Avian Disease*. 37, 805-810.
- Ward, M. P., Ramer, J. C., Proudford, J., Garner, M. M., Juan-Salles, C., and Wu, C. C. (2003): Outbreak of Salmonellosis in a Zoologic Collection of Lorikeets and Lories (*Trichoglossus*, *Lorius* and *Eos* spp.). *Avian Disease*. 47, 493- 498.

- Wawerla, M., Stolle A., Schalch B. and Eisgruber, H. (1999). Impedance microbiology: applications in food hygiene. *Journal of Food Protection*. 62, 1488–1496.
- Weinberg, E. D., 1978, Iron and infection, *Microbiological reviews*, 42 (1), 45-66.
- Williams, A., Davies, A. C., Wilson, J., Marsh, P. D., Leach, S. and Humphrey, T. J. (1998). Contamination of the contents of intact eggs by *Salmonella typhimurium* DT104. *Veterinary Record*. 143, 562-563.
- Woodward, M. J. and Kirvan, S. E. S. (1996). Detection of *Salmonella enteritidis* in eggs by the PCR. *Veterinary Recor*. 143, 411-413.
- Yazar, S., Gökahmetoğlu, S., Altinoluk, B., Karagöz, S., ve Şahin, İ. (2000). Erciyes Üniversitesi Yemekhanelerinde Çalışan Mutfak Personelinde Barsak Parazitlerinin ve *Salmonella* Taşıyıcılığının Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 24(1), 146-148.
- Yazıcıoğlu, N., Kaya, K., Ayaz, Y., Sen, S., Özkök, S., Aksoy, M., Yavuz, M. K., Kaplan, Y. Z., Tunca, S. T., Vural, S., Evgin, N., Karakoç, S. R., Miroğlu, M., ve Turut, N. (2005). Research on the isolation, serotyping and antibiotic resistance of *Salmonella* from neck and wing samples of poultry collected from cutting units of slaughterhouses. *Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*. 16 (1-2).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AKYILDIZ, Sinem
 Uyuşu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 27.10.1990, Bursa
 Medeni hali : Bekâr
 Telefon : 0 (553) 371 17 47
 e-mail : sinem.akyildiz@gazi.edu.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi /Biyoloji Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Bölümü	2013
Lisans	Gazi Üniversitesi / Biyoloji Bölümü	2012
Lise	Kayabayazıtöglu Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi	2008

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2015- Halen	Mikromed Tıbbi Malzemeler San. Ve Tic. Ltd. Şti	Aplikasyon Uzmanı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Akyıldız, S., Yücel, N. (2014, Haziran). *Gıda Kaynaklı Salmonella İzolatlarında Biyofilm Varlığının Araştırılması*. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi'nde poster olarak sunuldu, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.



GAZİ GELECEKTİR..