İrem UĞUR

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ

2023

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ
ANABİLİM DALI

BROYLER KARKAS VE YENİLEBİLİR İÇ ORGAN KAYNAKLI *SALMONELLA* İZOLATLARININ *SALMONELLA* ENTERİTİDİS VE *SALMONELLA* TYPHİMURİUM VARLIĞI YÖNÜNDEN TİPLENDİRİLMESİ

İrem UĞUR

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

BURSA-2023

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ
ANABİLİM DALI

BROYLER KARKAS VE YENİLEBİLİR İÇ ORGAN KAYNAKLI *SALMONELLA* İZOLATLARININ *SALMONELLA* ENTERİTİDİS VE *SALMONELLA* TYPHİMURİUM VARLIĞI YÖNÜNDEN TİPLENDİRİLMESİ

İrem UĞUR

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:
Prof. Dr. Seran TEMELLİ

TGA-2021-398- Bursa Uludağ Üniversitesi Genel Araştırma Projesi (GAP)

BURSA-2023

T.C.

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum "Broyler karkas ve yenilebilir iç organ kaynaklı *Salmonella* izolatlarının *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium varlığı yönünden tiplendirilmesi" adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

İrem UĞUR
05.06.2023

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

05/06/2023

Adı Soyadı: İrem UĞUR

Anabilim Dalı: Besin Hijyeni ve Teknolojisi

Tez Konusu: Broyler Karkas ve Yenilebilir İç Organ Kaynaklı *Salmonella* İzolatlarının *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium Varlığı Yönünden Tiplendirilmesi

ÖZELLİKLER	**UYGUNDUR**	**UYGUN DEĞİLDİR**	**AÇIKLAMA**
Tezin Boyutları	■	❑	
Dış Kapak Sayfası	■	❑	
İç Kapak Sayfası	■	❑	
Kabul Onay Sayfası	■	❑	
Sayfa Düzeni	■	❑	
İçindekiler Sayfası	■	❑	
Yazı Karakteri	■	❑	
Satır Aralıkları	■	❑	
Başlıklar	■	❑	
Sayfa Numaraları	■	❑	
Eklerin Yerleştirilmesi	■	❑	
Tabloların Yerleştirilmesi	■	❑	
Kaynaklar	■	❑	

DANIŞMAN ONAYI

Unvan Adı Soyadı: Prof. Dr. Seran TEMELLİ

İmza:

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak
İç Kapak
ETİK BEYANI II
KABUL ONAY III
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU IV
İÇİNDEKİLER V
TÜRKÇE ÖZET VII
İNGİLİZCE ÖZET VIII
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 6
2.1. Tarihçe 6
2.2. Taksonomi ve Nomenklatür 7
2.3. Etiyoloji 13
2.4. Epidemiyoloji 15
2.5. *Salmonella* Varlığının Belirlenmesi 20
2.5.1. Geleneksel (Konvansiyonel) yöntemler 20
2.5.2. Hızlı yöntemler 23
2.6. Salmonellaların Tiplendirilmesi 25
2.6.1. Konvansiyonel (Fenotipik) yöntemler 25
2.6.2 Moleküler yöntemler 26
3. GEREÇ VE YÖNTEM 29
3.1. Gereç 29
3.1.1. Örnekler 29
3.1.2. Standart suşlar 29
3.1.3. Sarf Malzemeleri 29
3.1.4. Antiserumlar 30
3.1.5. Cihazlar 31
3.2. Yöntem 32
3.2.1. *Salmonella* spp. İzolatlarının Canlandırılması 32
3.2.2. Konvansiyonel Serotiplendirme 32
3.2.2.1. Aglütinasyon Reaksiyonlarının Değerlendirilmesi 33
3.2.2.2. İzolatların Otoaglütinasyon Özelliğinin Test Edilmesi 33
3.2.2.3. Serogruplandırma 34
3.2.2.4. Serotiplendirme 34
3.2.3. Serovarların Doğrulanması 37
3.2.4. *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium Spesifik rPCR (SE/ST-rPCR) 37
3.2.4.1. SE/ST-rPCR için Templeyt Hazırlama 37
3.2.4.2. *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium Spesifik rPCR (SE/ST-rPCR) Analizi 38
3.2.5. İstatistiksel Analizler 39
4. BULGULAR 40
4.1. *Salmonella* spp. İzolatlarının Konvansiyonel Serotiplendirme Sonuçları 40
4.1.1. Karkas kaynaklı *Salmonella* spp. İzolatlarına ait Sonuçlar 40
4.1.2. Yenilebilir İç Organ Kaynaklı *Salmonella* spp. İzolatlarına ait Sonuçlar 40
4.2. *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium Spesifik rPCR (SE/ST-rPCR) Sonuçları 41

4.2.1. Karkas kaynaklı *Salmonella* spp. İzolatlarına ait Sonuçlar..... 41
4.2.2. Yenilebilir İç Organ Kaynaklı *Salmonella* spp. İzolatlarına ait Sonuçlar..... 41
4.3. İstatiksel Analiz Sonuçları 41
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 49
5.1. Karkas Kaynaklı *Salmonella* Serovarları 49
5.2. Yenilebilir İç Organ Kaynaklı *Salmonella* Serovarları… 55
5.3. Sonuç. 63
6. KAYNAKLAR 65
7. SİMGELER VE KISALTMALAR 77
8. TEŞEKKÜR 79
9. ÖZGEÇMİŞ..... 80

TÜRKÇE ÖZET

Broyler kaynaklı *Salmonella* spp. izolatlarının *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium varlığı yönünden tiplendirilmesi ve Gold Standart olan konvansiyonel serotiplendirmeye göre real time PCR'ın bu iki serovarın olası varlığının tespitindeki etkinliğinin belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilen çalışmada, 2021-2022 yılları arasında ISO 6579-1:2017 metodu ile izole edilmiş ve *Salmonella* spp. oldukları doğrulanmış, 104 adet karkas ve 57 adet yenilebilir iç organ kaynaklı olmak üzere toplam 161 adet izolat ve aynı izolatlara ait PCR örnekleri analiz edildi. İzolatların tiplendirilmesinde konvansiyonel serotiplendirme ile *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium spesifik real time PCR (SE/ST-rPCR) analizi uygulandı.

Çalışmada, tüm örnekler birlikte değerlendirildiğinde, konvansiyonel serotiplendirme ile izolatların %6,83'ü, SE/ST-rPCR analizi ile de %6,21'i serovar Enteritidis yönünden pozitif bulunurken her iki yöntemle de Typhimurium serovarı negatif olarak tespit edildi. Geleneksel serotiplendirme ile sırasıyla *S.* Virchow (%81,99), *S.* Schwarzengrund (%9,32), *S.* Enteritidis (%6,83), *S.* Bredeney (%0,62) serovarları bulunmuş olup izolatlardan ikisinin tiplendirilemediği belirlendi. SE/ST-rPCR'ın relatif doğruluğu %99,37, duyarlılığı %90,91 ve özgünlüğü %100 ve her iki yöntem arasındaki uyumun (κ: 0,94) neredeyse mükemmel olduğu saptandı.

Sonuç olarak, yasal mevzuatta broyler örneklerinde aranması gereken iki serovardan *S.* Typhimurium'un bulunmaması ve *S.* Enteritidis'in ise çok düşük prevalans oranlarında saptanmış olması, dominant serovarın *S.* Virchow ve ikinci prevalan serovarın ise *S.* Schwarzengrund olarak tespit edilmesi, broylerlerin *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium dışında günümüzde farklı patojen serovarları da taşıdığını göstermesi yönünden güncel ve orijinal veri oluşturarak literatüre katkı sağladı. Ayrıca, SE/ST-rPCR'ın Enteritidis ve Typhimurium serovarlarının belirlenmesinde konvansiyonel serotiplendirmeye alternatif olabileceği de belirlendi.

Anahtar Sözcükler. *Salmonella*, serovar, Enteritidis, Typhimurium, broyler, karkas, iç organ

İNGİLİZCE ÖZET

Typing Of Broiler Carcass And Edible Organ *Salmonella* Isolates For The Presence Of *Salmonella* Enteritidis And *Salmonella* Typhimurium

This study was conducted to determine the presence of *S.* Enteritidis and *S.* Typhimurium serovars within 161 total broyler *Salmonella* spp. isolates, originating from 104 carcasses and 57 edible internal organs, which were isolated and confirmed by ISO 6579-1:2017 method as *Salmonella* spp., and to evaluate the efficiency of real time PCR in comparison to Gold Standard conventional serotyping. Pure cultures and PCR products were used in conventional serotyping, and in *S.* Enteritidis and *S.* Typhimurium specific real time PCR (SE/ST-rPCR) analysis, respectively.

Overall, 6,83% and 6,21% of the isolates were determined as serovar Enteritidis by conventional serotyping, whereas no serovar Typhimurium was detected by either method. Conventional serotyping revealed serovars as *S.* Virchow (%81,99), *S.* Schwarzengrund (%9,32), *S.* Enteritidis (%6,83), *S.* Bredeney (%0,62), with 2 isolates untyped. There was almost perfect agreement between two methods (κ: 0,94), with a 99,37% relative accuracy, 90,91% sensitivity, and 100% specificity.

Study results indicated that broilers do not carry *S.* Typhimurium, one of the two serovars mandated to be absent by current legal regulations, and have low prevalence of *S.* Enteritidis, and contributed original and up to date data to literature by showing *S.* Virchow and *S.* Schwarzengrund as the first and the second dominant serovars in broilers, revealing current pathogen serovar carriage in broilers other than *S.* Enteritidis and *S.* Typhimurium. Additionally, SE/ST-rPCR was determined as an alternative to conventional serotyping for the detection of Enteritidis and Typhimurium serovars.

Keywords. *Salmonella*, serovar, Enteritidis, Typhimurium, broiler, carcass, edible internal organ

1. GİRİŞ

Hayvansal gıdalar, günlük diyet için gerekli olan protein, vitamin ve mineraller gibi esansiyel besin maddelerini içermeleri sebebiyle, yeterli ve dengeli beslenmede önemli yer tutmaktadır. Et ve et ürünleri içerisinde kanatlı eti ve ürünleri özellikle daha ekonomik olması sebebiyle Dünya genelinde daha fazla tercih edilmektedir. Benzer şekilde, ülkemizde de kanatlı eti en çok tüketilen et türü olup, tüketim miktarı Dünya'daki artış ile doğru orantılı olarak artmaktadır (Anar, 2017; Kawataa, & Kubota, 2018).

Kanatlı etleri arasında ise broyler eti gerek üretim, gerekse tüketim bakımından ülkemizde birinci sırada yer almakta, kırmızı et ile kıyaslandığında yapısında daha fazla protein (%21), daha az yağ (%4,5) ve kolesterol (75mg/100g) bulundurmaktadır. Esansiyel aminoasitleri yeterli ve dengeli miktarda içermekte ve buna bağlı olarak yapısındaki proteinlerin biyolojik değerliği yüksek olmaktadır. Bileşimindeki yağların büyük çoğunluğu (%68) doymamış yağ asitlerinden oluşmakta ve bunların da %80'i esansiyel yağ asitleri tarafından meydana getirilmektedir. Bunun yanında, B1, B2 ve B3 başta olmak üzere B grubu vitaminler açısından ve demir, çinko, fosfor ile potasyum gibi mineraller bakımından da zengin bir içeriğe sahiptirler. Bu sebeple kanatlı etleri yeterli ve dengeli beslenme açısından oldukça önemli yer tutmaktadır (Erol, 2007; Hasipek, & Aktaş, 1991; Saucier, 1999).

Kanatlı etleri sade et olarak tüketimlerinin yanında, çok sayıda ileri işlem ürününe dönüştürülmeleri sebebiyle de tüketiciler tarafından sıklıkla tercih edilmektedir. Piliç etinden elde edilen sosis, salam gibi emülsifiye et ürünleri, köfte gibi hazırlanmış et karışımları ile nugget, şinitzel, sucuk gibi et ürünlerini içeren ileri işlem ürünlerinin yaygın üretimi sonucunda ürün çeşitliliğinin fazla olması da piliç eti tüketimini artıran faktörler arasında yer almaktadır (Petracci, Mudalal, Bonfiglio, & Cavani, 2013).

Dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de kanatlı eti üretimi ve tüketimi denilince ilk sırayı broyler eti almaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)'nun açıkladığı Ocak-Aralık 2022 yılı verilerine göre; kanatlı eti üretim miktarının 2.471,641 ton olduğu, bu miktarın içerisinde en büyük payı 2.417,995 ton ile piliç etinin oluşturduğu rapor edilmektedir (TÜİK, 2022).

Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü'nün (Organisation for Economic Cooperation and Development-OECD) verilerine göre; Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde kişi başı kanatlı eti tüketimi 50,9 kg, Avrupa Birliği (AB) ülkelerinde 32,9 kg, Japonya'da 18,4 kg, Çin Halk Cumhuriyeti'nde 14,2 kg, Türkiye'de 21,9 kg olup Dünya ortalaması ise 15,1 kg'dır. (OECD, 2021). Dünya'da ve Türkiye'de kanatlı eti üretim ve kişi başına düşen tüketim miktarları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Dünyada ve Türkiye'de yıllara göre kanatlı eti üretimi ve kişi başına düşen tüketim miktarı (FAO, 2021; TÜİK, 2022)

	Dünya		Türkiye	
Yıl	**Üretim (milyon ton)**	**Tüketim (kg/kişi)**	**Üretim (ton)**	**Tüketim (kg/kişi)**
2021	133,3	-	2.297,071	21,19
2020	132,1	-	2.194,475	21,10
2019	129,4	16,9	2.198,090	21,02
2018	124,8	16,3	2.226,207	21,62
2017	121,8	16,2	2.189,097	22,29
2016	119,7	15,9	1.925,518	20,52

Her yıl artan kanatlı eti üretimi ve tüketimi nedeniyle, kanatlı eti üretiminde gıda güvenliğinin sağlanması insan sağlığı açısından oldukça önemlidir. Kanatlı eti, hayvanın yetiştirilmesi, kesimhaneye nakli, kesimi ve sonrasında son tüketiciye sunulmasına kadar geçen süreçte patojenlerle kontaminasyona maruz kalabilmektedir (Majowicz ve ark., 2010; Sampedro, Wells, Bender, & Hedberg, 2019). Dünya genelinde insanlarda gıda kaynaklı salgınlara ve gastrointestinal enfeksiyonlara neden olduğu rapor edilen, *Campylobacter*'den sonra en prevalan olan etken *Salmonella* olarak bildirilmiştir (EFSA, 2022). Avrupa Hastalık Koruma ve Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control-ECDC) tarafından 2019'da yayınlanan *Salmonella* kontrol programında ise, bulaşta birincil hayvansal kaynak olarak kanatlı eti gösterilmiştir (Desai ve ark., 2013). Kanatlı eti dışında, enfekte insanların dışkıları ile kontamine su, kontamine sular ile yıkanan sebze ve meyveler, yumurta ve ürünleri, et ve et ürünleri, süt ve ürünleri gibi gıdalar da *Salmonella* açısından risk oluşturmaktadır (Ferrari, Rosario, Cunha-Neto, Mano, Figueiredo & Conte-Junior, 2019; Rahman, Mahmoud, Othman, & Amin, 2018). Salmonellalar arasında ise, gıda zehirlenmelerinden sıklıkla sorumlu olan serovarlar non-tifoidal salmonellalar *(Salmonella* typhi ve *Salmonella* paratyphi haricindeki salmonellalar-

NTS) olarak bildirilmektedir (Kao ve ark., 2010; Sampedro, Wells, Bender, & Hedberg, 2019). *Salmonella* kaynaklı enfeksiyonlar, gelişmiş ülkelerde yüksek morbidite, gelişen ülkelerde ise yüksek mortalite ile seyretmektedir (Sánchez-Vargas, Abu-El-Haija & Gómez-Duarte, 2011).

NTS enfeksiyonları çoğunlukla enfekte hayvanların dışkıları ile kontamine olmuş su, enfekte hayvanlar ile temas ve enfekte hayvanlardan elde edilen gıdaların tüketimi sonucunda insana bulaşmaktadır (Eng ve ark., 2015). İnsan izolatlarında yapılan serotiplendirme çalışmaları sonucunda, en sık rastlanılan *Salmonella* serotiplerinin; *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (*S*. Enteritidis, %43,5) ve *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S*. Typhimurium, %17,1) olduğu belirtilmektedir (Hendriksen ve ark., 2011). *S*. Enteritidis enfeksiyonları genellikle kontamine kanatlı eti ve yumurta tüketimine, *S*. Typhimurium enfeksiyonları ise sıklıkla kontamine kanatlı, domuz ve sığır eti tüketimine bağlı olarak meydana gelmektedir (Park, Birkhold, Kubena, Nisbet & Ricke, 2004; Spector, & Kenyon, 2012). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından yayımlanan ‘’Avrupa Birliği Tek Sağlık Zoonozlar 2021 Raporu’’ verilerine göre de; AB bölgesinde *Salmonella* insidansının 100.000 kişide 15,7 olduğu belirtilmiş ve önceki yıllara göre *Salmonella* insidansındaki artış vurgulanmıştır (EFSA, 2021).

Patojenlere karşı gıda güvenliğinin sağlanmasında hem üretim hem de son tüketiciye kadar oluşan zincirde çeşitli korunma yöntemleri uygulanmaktadır. Kanatlı sektöründe gerek yetiştiricilikte gerekse kesimhanelerde uygulanan Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Programı (Hazard Analysis and Critical Control Point, HACCP) uygulamaları, kanatlı karkas ve etindeki *Salmonella* varlığına karşı kısmen etkili olmasına rağmen, tam bir korunma sağlayamamaktadır (White ve ark., 2007).

HACCP uygulamaları yanında, farklı ülkeler kendi ulusal *Salmonella* mücadele programlarını geliştirip yürürlüğe koyarak, *Salmonella* gibi patojenlerden korunmayı amaçlamaktadır. Bu kapsamda, ülkemizde 2011 yılında 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanununun 4. maddesi, 639 sayılı Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’nın Teşkilat ve Görevleri Hakkında Kanun Hükmünde Kararnamenin 7. maddesi hükümlerine dayanılarak ve Zoonozlar ve Zoonotik Etkenlerin İzlenmesine dair 2003/99/EC sayılı Avrupa Birliği Konsey Direktifine paralel olarak, gıda kaynaklı bazı zoonozların da içinde yer aldığı Türk

Gıda Kodeksi (TGK) Zoonozlar ve Zoonotik Etkenler, İlgili Antimikrobiyal Direnç ve Gıda Kaynaklı Salgınların İzlenmesi Yönetmeliği (TGK, 2011a) yayımlanmış ve yayım tarihinde yürürlüğe girmiştir. Yönetmelik Ekinde yer alan Zoonozlar ve Zoonotik Etkenler kısmında 'Salmonellozis ve Etkenleri' de bulunmaktadır. Yine bu amaçla AB'nin 2160/2003/EC, 1177/2006/EC ve 2007/407/EC Direktifi doğrultusunda hazırlanan ''*Salmonella* ve Belirlenmiş Diğer Gıda Kaynaklı Zoonotik Etkenlerin Kontrol Altına Alınması Yönetmeliği'' 27 Mart 2014 tarihli ve 28954 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanarak yürürlüğe girmiştir. Yönetmeliğin 12. maddesi gereği ''Ulusal *Salmonella* Mücadele Programı'nın geliştirilmesi için ihtiyaç duyulan sörvey çalışması, 2014-2017 yılları arasında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi ve Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda Kontrol Genel Müdürlüğü işbirliği ile yürütülen 113R036/113R037 No'lu 'Kanatlı Hayvanlardan ve Gıdalardan *Salmonella* İzlenmesi ve Kontrol Programlarının Geliştirilmesi' projesi kapsamında yapılmış ve bu proje ile elde edilen bilimsel veriler ışığında "Ulusal *Salmonella* Kontrol Programı" hazırlanarak 2018 yılında yayımlanmıştır. Bu program ile gıda ve yemden numune alma kuralları, programda görevli laboratuvarlar, uygulanacak analiz metotları, resmi kontroller, programa dahil hayvanlara ait birincil üretimde uygulanacak kurallar ve tedbirler belirlenmiştir.

Aynı zamanda, TGK Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği Ek-1'de yer alan Gıda Güvenilirliği Kriterlerine ve Ek-3'de yer alan Patojen Mikroorganizma Limitleri'ne göre, alınan beşli gıda numunelerinde *Salmonella* varlığının referans metot olarak gösterilen Avrupa Normu/Uluslararası Standardizasyon Birliği (European Norm/International Organization for Standardization) EN/ISO 6579 ile test edilmesi ve bu ürünlerde *Salmonella* bulunmaması gerektiği (n=5, c=0) belirtilmiştir (TGK, 2011b). Ayrıca 9 Ekim 2018 tarihinde 30560 sayılı Resmi Gazete'de, ilgili Yönetmeliğin Ek 1. Gıda Güvenilirliği Kriterleri listesinde yer alan, 1.3.3. Çiğ kanatlı eti ve hazırlanmış kanatlı eti karışımları kısmında değişiklik yapılmış olup, damızlık tavuk (*Gallus gallus*) sürülerinden, yumurtacı tavuklardan, broyler, damızlık ve etlik hindi sürülerinden elde edilen çiğ etlerde (25 g), monofazik *Salmonella* Typhimurium 1,4,[5],12:i: dahil olmak üzere *S.* Typhimurium ve *S.* Enteritidis serovarlarının bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (TGK, 2018).

İnsanlardaki *Salmonella* enfeksiyonlarının prevalansını en az düzeye indirmenin birincil koşulu, hayvanlardaki bu enfeksiyonlar ile de mücadele etmektir. Bu nedenle, hayvanlarda ve hayvansal gıdalarda *Salmonella* enfeksiyonlarının tanısı ve serovarlarının belirlenmesi, *Salmonella* enfeksiyonlarından korunma ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesi için temel oluşturmaktadır (Bhan, Bahl, & Bhatnagar, 2005).

Salmonellaların izolasyon, identifikasyon ve serotiplendirilmesinde serolojik ve moleküler tabanlı birçok yöntem geliştirilmesine rağmen, konvansiyonel kültür yöntemi ve geleneksel serotiplendirme 'Gold Standart' olarak kabul edilmektedir (Lee, Runyon, Herrman, Phillips, & Hsieh, 2015).

Güncel olarak gıdalarda, hayvan yemlerinde, gıda üretim ve işleme alanından alınan çevresel örneklerde ve birincil üretim basamağında; *Salmonella* tespitine yönelik olarak uluslararası kabul görmüş standart metot ISO 6579-1:2017 olup, bu standart Bölüm 1; Tespit, Bölüm 2; Sayım ve Bölüm 3; Serotiplendirme olarak üç bölüme ayrılmaktadır (Mooijman, 2018). Günümüzde *Salmonella* varlığı ve serotiplerinin belirlenmesinde kullanılan bakteriyolojik ve konvansiyonel analiz metotlarının, özellikle tavuk eti (Jayaweera ve ark., 2020; Mourao ve ark., 2020; Santos ve ark., 2020) ve tavuk yenilebilir iç organları (Arkali, & Cetinkaya, 2020; Raji ve ark., 2021) gibi raf ömrü oldukça kısa olan gıdalarda, hızlı ve güvenilir olarak tespitinin doğrulanmasını gerektiren durumlarda, etkenin PCR tabanlı hızlı testler ile de desteklendiği görülmektedir.

Bu tez çalışmasında, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarında broyler karkasları ile yenilebilir iç organlarından (karaciğer, kalp, dalak ve taşlık) ISO 6579-1:2017 metodu ile izole edilmiş ve *Salmonella* spp. oldukları doğrulanmış, laboratuvarda -20ºC'de saklanan 104 adet broyler karkas ve 57 adet yenilebilir iç organ kaynaklı olmak üzere toplam 161 adet *Salmonella* izolatının ve aynı izolatlara ait PCR örneklerinin *S*. Enteritidis ve *S*. Typhimurium varlığı yönünden tiplendirilmesi amaçlanmaktadır. Bununla birlikte, Gold Standart olarak kabul edilen konvansiyonel serotiplendirmeye göre real-time PCR'ın bu iki serovarın olası varlığının tespitindeki etkinliğinin belirlenmesi de hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

*Salmonella'*nın bulunuş süreci ve klinik bir hastalık etkeni olarak ilk kez tanınması, antik çağlardan beri önemli bir halk sağlığı sorunu olan tifo hastalığının klinik özelliklerinin 1873 yılında William Budd tarafından tanımlaması ve *Salmonella* etkeninin sebep olduğunun düşünülmesi ile başlamıştır (Cunha, 2004; Ellermeier, & Slauch, 2006; Marineli, Tsoucalas, Karamanou, & Androutsos, 2013). 1880 yılında ise Karl Eberth, hastalarının dalak ve mezenterik lenf bezlerinde, ilk kez çubuk şekilli organizmaları gözlemlemiş ve tifo basilini izole etmiştir (Marineli ve ark., 2013).

1884 yılında ise George Gaffky, Alman hastalarından izole ettiği *Salmonella* serovar Typhi etkenini saf kültür halinde geliştirmeyi başarmış ve morfolojik olarak ilk tanımlanmasını yapmıştır (Ellermeier, & Slauch, 2006; Hardy, 2015). Bundan iki yıl sonra ise Daniel E. Salmon ile Theobald Smith, domuz kolerası etkeni olan *Bacillus choleraesuis*'u domuz bağırsağından izole ve identifiye etmiştir (Su, & Chiu, 2007). 1888 yılında, Almanya'da bozulmuş sığır etinin oral yolla tüketilmesi sonucunda oluşan ilk toplu gıda zehirlenmesi 58 vaka ile bildirilmiştir. Bir hastanın kontamine et tüketiminden 36 saat sonrasında ölümünün ardından iç organlarından alınan numuneden bakteri izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen bu bakteri, August Gärtner tarafından, *Bacterium enteritidis* yerine *Salmonella enteritidis* olarak isimlendirilmiş ve tarihte ilk defa salmonelloz salgını laboratuvar koşullarında doğrulanmıştır (Bell, & Kyriakides, 2003; Bryan ve ark., 1979; Hardy, 2015).

Salmonella sağlıklı taşıyıcı kavramının ilk kez kullanılması ABD'nde meydana gelmiştir. Mary Mallon, İrlanda'dan Amerika'ya göçmen taşıyan gemilerle gelip, konakçısı olduğu tifo hastalığını pek çok kişiye yayan bir aşçı kadındır. Mary, hastalığını ve hastalığı yaydığını inkâr etmesi dolayısıyla yüzlerce kişinin hastalığa yakalanmasına ve bir kısmının da ölümüne sebep olmuş ve medikal sözlüklere "Tifoid Mary" lakabıyla geçmiştir. Otoriteler tarafından Mary'ye mesleğinden vazgeçmesi ya da o zamanlar kronik enfeksiyonun kaynağı olduğu düşünülen safra kesesinin alınması

önerilmiş fakat bu teklifi kabul etmemiş, 26 yılını zorunlu karantinada geçirmiş ve yalnız ölmüştür (Marineli ve ark., 2013).

1900 yılında Joseph Léon Lignières tarafından bir cins içerisinde toplanmış ve Daniel Elmer Salmon'a ithafen *Salmonella* olarak adlandırılmıştır (Vazgeçer, & Temiz, 2005). 1990'ların başında *typhosum* (sonrasında *typhi* olarak adlandırılan), *paratyphosum* A ve B (*paratyphi* A ve B), *gallinarum* ve *typhimurium* gibi salmonellaların diğer bazı önemli türleri tanımlanmış ve bu türlerin insanlar ile hayvanlardaki hastalıkların etkenleri olduğu büyük ölçüde tespit edilmiştir. Topley ve Wilson, 1929 yılında laktozu fermente edemeyen, dekstroz ve diğer şekerlerden asit ve gaz oluşturan, ksilozu fermente eden ve litmus milk'te alkali reaksiyon gösteren bu basilin isimlendirilmesinde *Salmonella*'yı kabul etmiştir. Aynı araştırmacılar, ayrıca *Salmonella* grubundaki bu organizmaların (*Bacterium enteritidis* ve *Bacterium aertrycke*) ile enfekte gıdaların tüketimine bağlı olarak sıkça karşılaşılan, aniden ortaya çıkan ve nispeten kısa süren akut gastroenterit ile karakterize bir hastalık (gıda zehirlenmesi) oluşturduğunu belirtmiştir (Bell, & Kyriakides, 2002; Brands, 2006).

Günümüze gelindiğinde uluslararası alanda da *Salmonella,* türleri, gıda zehirlenmesi (gastroenterit), tifo, paratifo, bakteriyemi, septisemi gibi hastalıklara sebep olan çok önemli gıda ve su kaynaklı organizmalar olarak tanımlanmakta olup Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezleri ve Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization-WHO) iş birliğinde önerilen sınıflandırmalar kullanılmaktadır. Salmonellalara yeni türler eklenebilmekte ve isimler değişebilmektedir (Issenhuth-Jeanjean ve ark., 2014; Popoff, Bockemühl, & Gheesling, 2003).

2.2.Taksonomi ve Nomenklatür

Yirminci yüzyılın ortalarına kadar *Salmonella*'nın da içerisinde bulunduğu Gram negatif, spor oluşturmayan, insan ve hayvan bağırsakları ile bitki ve toprakta bulunan, saprofit, kommensal veya patojen olabilen bakterilerin isimlendirilmesinde 'cins' ile ilgili olarak 'çubuk' anlamına gelen *Bacterium* ve *Bacillus* kullanılmıştır. 1960'lı yıllarda *Salmonella* ismi yaygın bir şekilde kabul görmüş olup, 1980 yılında International Journal of Systematic Bacteriology Dergisi'nde yayınlanan Bakteri İsimlerinin Onaylanmış Listesi (Approved Lists of Bacterial Names-ALBN)'nde

Enterobacteriaceae familyası altında spesifik bir cins olarak yer almıştır (Bell, & Kyriakides, 2002; Skerman, McGowan, & Sneath, 1980).

Salmonella cinsi üyelerindeki sınıflandırılmalar zaman içerisinde gelişmeler göstermiş ve çok sayıda değişikliğe uğramıştır. Ancak ilk çalışmalarda antijen yapısına göre sınıflandırılması günümüzde de etkinliğini sürdürmektedir. Homolog antiserumlar kullanılmasıyla gözlenen aglütinasyon reaksiyonları sayesinde salmonellalar antijenik yönden ayırt edilebilmektedir (Grimont, & Weill, 2007; Guibourdenche, Roggentin, & Mikoleit 2010; Issenhuth-Jeanjean ve ark., 2014). *Salmonella*'nın alt türlerinin antijen farklılıklarının belirlenmesi, 1920'li yıllarda başlamış olup, bakteri hücre yüzeyindeki O (somatik-yüzey) antijenleri ve çoğu *Salmonella* kültüründe iki fazda eksprese edilen H (flagella) antijenleri (H1 ve H2) ile çok az sayıdaki *Salmonella*'da üretilen Vi (kapsül) antijeni temel alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu antijenlerin kombinasyonu, her bir *Salmonella* serotipi için tek ve eşsiz olup 'antijenik formül' olarak tanımlanmaktadır. 1920'lerin sonlarına doğru ise yaklaşık 20 adet identifiye edilmiş ve genellikle her bir tip (tür); konakçıda oluşturduğu hastalık tipi ve ilk kez izole edildiği konakçı ya da yer ile ilişkilendirilerek adlandırılmıştır. Örneğin; *S. typhi;* tifoid ateş belirtisiyle seyreden bir hastalıktan, *S. gallinarum* ilk kez tavuktan, *S. dublin* ise ilk kez Dublin'de izole edildiği için bu şekilde adlandırılmıştır. Etkenin ilk izole edildiği yere göre isimlendirme yaklaşımı, yeni çıkan *Salmonella* tiplerinin isimlendirilmesinde kullanılan geleneksel bir yöntem haline gelmiştir (Aydın ve ark., 2006; Bell, & Kyriakides, 2003; Brenner, Villar, Angulo, Tauxe, & Swaminathan 2000).

Tarihte ilk defa 1926 yılında, Phillip Bruce White tarafından uygulanmış olan antijenlerin identifikasyonu ve isimlendirilmesi, 1930'ların başlarında Fritz Kauffmann tarafından daha da ilerletilerek oluşturulan White-Kauffmann şemasında, her bir *Salmonella* serotipi ve ilişkili antijenik formülü listelenmiştir. 1934 yılında ise ilk defa Uluslararası Mikrobiyologlar Birliği (International Association of Microbiologist) özel alt komitesince genel kullanıma açılmış ve White-Kauffmann şeması o yıldan beri aktif olarak kullanılır hale gelmiştir (Bell, & Kyriakides, 2003). *Salmonella* cinsinin nomenklatüründe, 1966 yılında ilk olarak Kauffmann tarafından önerilen bir serotip-bir tür yaklaşımı (*S. choleraesuis*) ile oldukça büyük bir ilerleme gözlenmiştir. Bu ilerleme ile tüm *Salmonella* serovarları antijenik formülleri ile

nitelendirilebildiğinden aynı cinsin içerisinde yer alan sayısız tür identifiye edilebilmiştir. Her bir serotipin ayrı bir tür olarak (ör. *S. paratyphi* A, *S. newport*, *S. enteritidis*) değerlendirildiği bu yaklaşım, günümüzde de devam etmektedir. *Salmonella* cinsine halen yeni serotipler eklenmekte olup en güncel serotip sayısının 2659 olduğu bilinmektedir (Issenhuth-Jeanjean ve ark., 2014). Sonraki çalışmalarda nomenklatürde suşun klinik rolü ve biyokimyasal özellikleri göz önünde bulundurularak serotiplerin alt cinslere ayrılması ve genomik benzerliklerinin araştırılmasının temel alındığı farklı ülkelerdeki çalışma grupları tarafından *Salmonella*'nın sınıflandırılması üzerine alternatif taksonomik yaklaşımlar önerilmiştir (Bell, & Kyriakides, 2003; Brenner ve ark., 2000). Sayısız *Salmonella* türü olması sebebiyle oluşabilecek nomenklatür karışıklığının önüne geçmek için bilim insanları tarafından *Salmonella* cinsinin üç türe ayrılması önerilmiştir: 1. *S. choleraesuis* (tip tür), 2. *S. typhosa* (*S. typhi*) ve 3. diğer tüm serovarları içen *S. kauffmannii* şeklindedir. Bunun üzerine, Kauffmann ve Edwards tüm salmonellaları içerecek *Salmonella enterica* adını önermiştir. 1966 yılında Ewing tarafından, ABD'nde uzun süre kullanılacak olan yeni bir üçlü serovar (tür) modeli önerilmiştir. Bu son nomenklatür yaklaşımda: 1. *S. typhi*, 2. *S. choleraesuis* ve bunların haricindeki tüm serovarları temsil eden 3. *S. enteritidis* olarak bildirilmiştir (Agbaje, Begum, & Oyekunle 2011; Brenner ve ark., 2000).

1970 yılında ise bazı bilim insanları tarafından alt cinsin tür olarak düşünülmesini öneren yeni bir yaklaşımda, örneğin *S. kauffmannii*'nin "alt cins I", *S. salamae*'nin "alt cins II", *S. arizonae*'nin "alt cins III" ve *S. houtenae*'nin "alt cins IV" olması önerilmiştir. Bu öneride "*S. kauffmannii*" nin serovarlarının, tür isimleri ve sonrasında serovar isimleri ile adlandırılmaları (örneğin "*S. kauffmannii*" serovar typhi) ve ve diğer üç türün serovarlarının ise kendi tür adları sonrasında antijenik formüllleri ile adlandırılmaları önerilmiştir. *Salmonella* taksonomisindeki bu yoğun çalışmalara rağmen nomenklatürde asıl dönüm noktası 1970'lerin başında meydana gelmiş ve DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları ve diğer moleküler analizler sonrasında cinsin içerisindeki nükleotid dizi ilişkileri ortaya konulmuştur (Agbaje ve ark., 2011; Brenner ve ark., 2000).

1973 yılında Crosa, Brenner ve Ewing (1973) yapmış oldukları DNA tabanlı çalışmalarda, *Salmonella*'nın tüm serotipleri ve alt cins I, II ve IV ile "Arizona"nın

tüm serotiplerinin tür düzeyinde birbirleri ile ilişkili ve bu nedenle tek bir türe ait olduğunu, ayrıca önceden alt tür V olarak bilinen *S. bongori*'nin ise diğerlerinden belirgin olarak farklı nükleotid dizisine sahip olması nedeni ile ayrı bir tür olduğunu belirlemiştir. 1980 yılında, *S. choleraesuis*'in ALBN'de *Salmonella*'nın tip türü olarak bulunması nedeni ile tür isminde öncelikli olarak kullanılmasının sebebi olmuştur. 1982'de Le Minor, Veron ve Popoff (1982), DNA yakınlığı ve numerik taksonomi bilgilerine bakarak, tek bir *Salmonella* türü için *S. choleraesuis* ismini ve altında da altı türün belirlenmesini, ayrıca serovar isimlerinin italik olmadan ve altı çizilmeden kullanılmasını önermiştir (örneğin *S. choleraesuis* subsp. *choleraesuis* ser. Typhimurium). Fakat "choleraesuis" isminin hem tür hem de serotip adı olması ile arabinoz ve trehaloz negatif olmasına bağlı olarak serotiplerin büyük bir bölümünü temsil edecek biyokimyasal özelliklere sahip olmaması nedeniyle nomenklatürdeki karışıklığın devam etmesine sebep olmuştur (Brenner ve ark., 2000).

1986'da gerçekleşmiş olan Uluslararası Sistematik Bakteriyoloji Komitesi *Enterobacteriaceae* Alt Komitesi'nin XIV. Uluslararası Mikrobiyoloji Kongresi'nde Le Minor ve Popoff (1987) tarafından *Salmonella* cinsi içerisinde *Salmonella*'nın tip-türü olarak *S. choleraesuis* yerine 1952'de Kauffmann ve Edwards (1952) tarafından verilen *Salmonella enterica* (*S. enterica*) ismi önerilmiştir. 2005 yılında, Yetkili Komisyon tarafından *S. choleraesuis* yerine *S. enterica*'nın kullanılması ile *S. bongori*'nin bir diğer tür olduğu ve *S. enterica*'nın da altı alt türü olduğu oy birliği ile kabul edilmiştir (Crosa ve ark., 1973). Her bir alt türün ismi tip türün adı kullanılarak türetilmiştir. Aynı yıl içerisinde üçüncü tür olarak identifiye edilerek *S. subterranean* ismi verilen Yetkili Komisyon tarafından onaylanarak sistem içerisine alınması beklenen bu türün yapılan genetik analizler sonrasında *Escherichia hermanii*'ye olan yakınlığı belirlenmiştir (Lin-Hui, 2007). 1987'de ise Le Minor ve Popoff (1987)'un önerisi ile *Salmonella*'nın yedi alt cinsi, alt tür (I, II, IIIa, IIIb, IV, V, ve VI) olarak adlandırılmış ve alt tür III, genomik yakınlıkları ve biyokimyasal reaksiyonları göz önüne alınarak IIIa ve IIIb olarak ikiye ayrılmıştır. Alt tür IIIa (*S. enterica* subsp. *arizonae*) monofazik "Arizona" serotiplerini, alt tür IIIb (*S. enterica* subsp. *diarizonae*) ise difazik serotipleri içermektedir. Günümüzde kullanılan White-Kauffmann-Le Minor şemasında; *Salmonella* cinsi, *S. enterica* ve *S. bongori* olmak üzere iki türden oluşmaktadır (Tablo 2). *S. enterica* türü Romen rakamı ve ismi ile

adlandırılmış altı alt tür içermekte olup (I. *S. enterica* subsp. *enterica*; II. *S. enterica* subsp. *salamae*; IIIa. *S. enterica* subsp. *arizonae*; IIIb. *S. enterica* subsp. *diarizonae*; IV. *S. enterica* subsp. *houtenae*; VI. *S. enterica* subsp. *indica*); *S. bongori* türü ise herhangi bir alt tür içermemekte ve toplam serotip sayısı 2659 olarak bildirilmektedir (Bell, & Kyriakides, 2003; Brenner ve ark., 2000; Grimont, & Weill, 2007; Guibourdenche ve ark., 2010; Issenhuth-Jeanjean ve ark., 2014).

Tablo 2. *Salmonella* taksonomisi ile güncel serotip sayıları (Grimont, & Weill, 2007; Guibourdenche ve ark., 2010; Issenhuth-Jeanjean ve ark., 2014)

Tür	**Alt tür (subsp.)**	**Sayı**
Salmonalla enterica		
	enterica (I)	1586
	salamae (II)	522
	arizonae (IIIa)	102
	diarizonae (IIIb)	338
	houtenae (IV)	76
	indica (VI)	13
*Salmonella bongori**		22
Toplam		**2659**

*: Eskiden alt tür V olarak bilinirdi.

White-Kauffmann-Le Minor şemasında bildirilen *Salmonella* serotiplerinin 1600'ünün *S. enterica* subsp. *enterica* alt türüne ait olduğu rapor edilmiştir (Elnekave ve ark., 2020). Bu alt türdeki en yaygın serogruplar A, B, C1, C2, D ve E'dir. Aynı zamanda bu serogrupların yaklaşık %99'u insanlarda ve sıcakkanlı hayvanlarda *Salmonella* enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. Gıda güvenliği açısından da en önemli alt türün *S. enterica* subsp. *enterica* olduğu bilinmektedir.

Salmonella serovarlarının tanımlanmış tüm antijenik formulleri White-Kauffmann-Le Minor şemasında listelenmekte olup yeni tanımlanan serovarlar her yıl Research in Microbiology dergisinde rapor edilmekte ve Fransa'da bulunan Pasteur Enstitüsü ile Dünya Sağlık Teşkilatı *Salmonella* Referans ve Araştırma Merkezi (World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, WHOCC-Salm) tarafından düzenli olarak güncellenmektedir. Yayımlanmış olan son güncelleme 2014 yılında olup "Supplement 2008-2010 (No.48)" içerisinde yapılmıştır. Bu rapor sonucuna göre; 63 yeni *Salmonella* serovarı ve 25 yeni varyant tanımlanmıştır. Yeni serovarlardan 44'ü *Salmonella enterica* subs. *enterica*, 12'si *Salmonella enterica* subs. *salamae*, 2'si *Salmonella enterica* subs.

arizonae, 2'si *Salmonella enterica* subs. *diarizonae,* 3'ü de *Salmonella enterica* subs. *houtenae*'a ait olduğu tespit edilmiştir. Tüm bu yeni serovar veya varyantların Multilocus Sequence Typing (MLST) analizi ile tanımı yapılmıştır (Issenhuth-Jeanjean ve ark., 2014).

2006 yılı American Society for Microbiology (ASM) yayınlarında, CDC'deki *Salmonella* nomenklatürü kullanılmaktadır. Tablo 3'de görüldüğü üzere güncel nomenklatürde; sadece alt tür I'deki serotipler adları ile, alt tür II, III, IV, VI ve *S. bongori*'ye ait serotipler antijenik formülleri ile; II, IV, VI ve *S. bongori*'ye ait serotiplerden 1966 yılından önce adlandırılanlar ise antijenik formülleri ile birlikte adları da yazılarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, gereksiz karışıklıklardan kaçınmak için serovar ve tür arasındaki serovar ismi italik olmayıp büyük harfle başlamaktadır.

Tablo 3. CDC'de kullanılan güncel *Salmonella* nomenklatürü (Brenner ve ark., 2000)

Taksonomi	Güncel Nomenklatür
Cins (İtalik)	*Salmonella*
Tür (İtalik)	• *enterica* (I, II, IIIa, IIIb, IV ve VI) • *bongori* (Eskiden alttür V olarak bilinirdi)
Serotip (Büyük harf, italik değil)	✓ Serotip metin içerisinde ilk defa kullanılacak ise; serotip adı 'serotip' ya da 'ser.' kısaltmasından sonra yazılır (*Salmonella* serotip (ser) Typhimurium) ✓ Alttür I'e ait serotipler adları ile; alttür II, III, IV, VI ve *S. bongori*'ye ait serotipler antijenik formülleri ile tanımlanır (*Salmonella* II 50:b:z_6, *Salmonella* IIIb 60:k:z) ✓ Alttür II, IV, VI ve S. bongori'ye ait serotiplerden 1966 yılından önce adlandırılan varsa adları da yazılır [Salmonella ser. Marina (IV 48:g,z_{51}:-)]

Türlerin yazılışında; örneğin ilk kez yazılırken "*Salmonella enterica*" şeklinde yazılıp sonrasında "*S. enterica*" olarak, alt türlerin yazımında ilk defa "*Salmonella enterica* subsp. *arizonae*" yazılırken sonrasında "*S. enterica* subsp. *arizonae*" ve serovarlarda ise ilk defa "*Salmonella enterica* serotype Typhimurium" ve sonrasında "*Salmonella* serotype Typhimurium" şeklinde olması gerektiği belirtilmiştir (Lin-Hui, & Cheng-Hsun, 2007). Bunun yanında sadece alt tür I'deki serotiplere özgü olmak üzere, salmonellaların uzun isimlerinin kullanımının oldukça zor olması nedeni ile örneğin; *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *typhimurium* ya *Salmonella* Typhimurium ya da *S.* Typhimurium şeklinde kullanımlarını kolaylaştırmak amaçlı kısaltılmaktadır (Bell, & Kyriakides, 2003; Brenner ve ark., 2000). Günümüzde ise,

serotip ve serovar kelimeleri birbirinin yerine kullanılmasına rağmen, bilimsel iletişimde Prokaryot Sistematiği Uluslararası Komitesi (International Committee on the Systematics of Prokaryotes-ICSP)'nin Yetkili Komisyonu tarafından kurulan Rules of Bacteriological Code'a göre serovar kelimesi tercih edilmektedir (Agbaje ve ark., 2011; Lin-Hui, & Cheng-Hsun, 2007).

2.3. Etiyoloji

Salmonellalar, *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan, fakültatif anaerobik, spor oluşturmayan, kapsülsüz, 0,7-1,5 x 2,0-5,0 μm boyutlarında çubuk şeklinde olan Gram negatif mikroorganizmalardır. Gram negatif olmalarına rağmen metilen mavisi ve korbol fuksin boyaları ile boyanabilmektedir. Salmonellalardan *S.* Pullorum ve tavuk tifosunun etkeni *S.* Gallinarum hareketsiz iken, paratifoid suşlar çoğunlukla peritrik flagellaları sebebiyle hareketlidir. Bu organizmalar, diğer Gram negatif bakterilerden çok sayıda kültür ortamında üreyebilmeleri, katı besi yerlerinde 37°C'de 24 saat içerisinde görünebilen, küçük, yuvarlak, S tipi, yaklaşık 2-4 mm çapında ve parlak özellikte koloniler meydana getirmesi ile ayrılabilmektedir. Ayrıca sıvı besi yerlerinde homojen bir şekilde hafif bulanıklık meydana getirerek üremektedir (Erol, 2010; Jay, 2000; Mahmoud, 2012).

Normal koşullarda *S.* Typhimurium nitrat, nitrit ve amonyağı da azot kaynağı olarak kullanabilirken diğer salmonellalar amino asitleri azot kaynağı olarak kullanamazlar. Salmonellalar aynı zamanda H_2S, katalaz, lizin ve ornitin dekarboksilaz pozitif olup, nitratı nitrite indirgemekte, oksidaz, indol ve üreaz negatif sonuç vermektedir. Genellikle laktoz, sakkaroz ya da salisini fermente edemezken glikoz, mannitol, maltoz, dulsitol gibi bazı monosakkaritleri fermente ederek asit ve gaz oluşturmaktadır. *Salmonella*'nın bazı serovarlarının laktozu da fermente ettiği bilinmektedir. Sitratı karbon kaynağı olarak kullanabilmektedir (Holt, Krieg, Sneath, Stanley, & William 1994; Jay, 2000; Mahmoud, 2012).

Salmonellalar, canlılığını ve gelişimini devam ettirebilmeleri için sıcaklık gibi birtakım faktörlere gereksinim duymaktadır. Mezofilik özellik gösteren *Salmonella*'nın gelişmesi için ihtiyaç duyduğu sıcaklık aralığı 5,0-45°C'ler arasında değişmekte olup en uygun (optimum) gelişim sağladığı sıcaklık 35-37°C'ler arasındadır (Cliver, 1990; Mahmoud, 2012). Bu bakteriler, 70°C'nin üzerindeki

sıcaklıklara, özellikle pastörizasyona duyarlı iken kurumaya karşı dirençlidir. Kuru dışkıda, tozda ve tohum gibi kuru yemlerde uzun süre canlılıklarını sürdürebildikleri bilinmektedir. Dondurma işlemi ile salmonellaların sayısında azalma görülmesine karşın muhafaza koşullarında uzun yıllar canlı kalabilmektedir (Cummings ve ark., 2009; Erol, 2010; Holley, Arrus, Ominski, Tenuta, & Blank 2006).

Salmonellaların gelişimini etkileyen diğer bir faktör pH değeridir. Salmonellaların gelişimi için gerekli olan pH değer aralığı 4,0-9,0 iken (Odumeru, & León-Velarde, 2012) optimum pH değeri 6,5-7,5'dur (Mahmoud, 2012). Ayrıca uygun olmayan pH değerlerinde salmonellalar, flagella ve fimbria gibi bazı yapısal özelliklerini kaybedebilmektedir (Cliver, 1990; Erol, 2010; Jay, 2000).

Salmonellalar, besin içeriği, sıcaklık, pH ve su aktivitesi (a_W) değerleri yönünden değerlendirildiğinde; çoğunun 0,945-0,999 a_W aralığında gelişebildiği, bu değerlerin dışında ve pH 7'de bakteri gelişiminin daha yüksek aktiviteye ihtiyaç duyduğu bilinmektedir (Cliver, 1990; Jay, 2000). Gıdanın su aktivitesi veya ortamın nemi, *Salmonella*'nın sıcaklığa karşı duyarlılığını değiştirebilmektedir. Organizma, nemli bir ortama kıyasla kuru bir ortamda uygulanan ısıl işleme daha toleranslıdır. Sıcaklığın yanısıra gıdanın bileşiminin de patojenin canlılığını etkilediği, şeker ve tuz konsantrasyonlarındaki değişimlerin etkeni inhibe edebildiği, yüksek tuz konsantrasyonundaki toleransın %7'ye kadar çıkabildiği ve %9 tuzlu suda canlılığını kaybettiği belirtilmektedir (D'Aoust, 2001; Jay, 2000; Mahmoud, 2012).

Salmonellalaların sayısı da gelişimi ve üremesi üzerinde etkili olan bir faktör olup sayının artması ile etkenin göreceli olarak daha düşük pH değerlerinde canlı kalmasına yardımcı olmaktadır. Ortamın oksidasyon-redüksiyon (Eh) değeri yönünden değerlendirildğinde, *Salmonella,* aerobik ve anaerobik ortamda üreyebilmesine rağmen, -30 mV'tan daha düşük değerlerde gelişmesi durmaktadır (Cliver, 1990).

Antijenik yapı yönünden salmonellaların somatik 'O', flagellar 'H' ve kapsüler 'Vi' olmak üzere 3 farklı antijene sahip olduğu bilinmektedir. Bu antijenik yapı özellikleri sayesinde yapılan sınıflandırma dahilinde, serogruplandırmada O antijenleri, serovarlara ayırmada ise H antijenleri kullanılmaktadır. Hücre duvarının lipopolisakkarit antijenleri, polisakkarit yapısında olup hareketli veya hareketsiz tüm

salmonellaların en az bir O antijenine sahip olduğu bilinmektedir (Aydın ve ark., 2006). Flagellar 'H' antijenleri de spesifik faz (Faz-1) ve non-spesifik faz (Faz-2) antijenlerinden oluşmaktadır (Jay, 2000). Salmonelların kapsüllerine ait 'Vi' antijeni ise, somatik O antijeninin dış kısmındaki glikolipit üzerinde yer alabilen ve her *Salmonella*'nın taşımadığı yüzeysel bir antijendir (Aydın ve ark., 2006).

2.4. Epidemiyoloji

Salmonellalar konak spesifik ve konak spesifik olmayan salmonellalar olarak iki epidemiyolojik sınıfta değerlendirilmektedir. Konak spesifik *Salmonella* serotiplerinin %1'inden azını oluşturmakta olup, yalnızca insanlarda ve yalnızca hayvanlarda enfeksiyon oluşturanlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. İnsanlarda yüksek ateş ve yüksek mortaliteyle sistemik enfeksiyona neden olan tifo etkeni (*S.* Typhi) uzun inkübasyon süresine sahiptir. Paratifo etkenleri (*S.* Paratyphi A, B ve C, *S.* Sendai gibi) ateş ve baş ağrısı gibi daha hafif seyirli enfeksiyon oluşturmaktadır. Konak spresifik olanlar, *S.* Gallunarum ve *S.* Pullorum gibi tavuklarda, *S.* Dublin gibi sığırlarda, *S.* Choleraesuis gibi domuzlarda, *S.* Abortus Equi gibi atlarda ya da *S.* Abortus Ovis gibi koyunlarda enfeksiyon oluşturmakta ve gıdalarda bulunabilmektedir. Konak spesifik olmayan serovarlar ise hem insan hem de hayvanlar için patojen olan ve gıda kaynaklı salgınlara ve enfeksiyonlara sebep olan *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium gibi serovarların çoğunu içermektedir (Agbaje ve ark., 2011; Erol, 2010; Jay, 2000).

Salmonella, hem hayvanlarda hem de kontamine hayvansal gıdalar aracılığıyla direkt ve indirekt şekilde insanlarda enfeksiyon oluşturarak birçok ülkede gıda kaynaklı salgınlara neden olan zoonoz bir patojendir (Lei ve ark., 2015). Salmonellalar içerisinde gıda enfeksiyonlarına sebep olan en önemli alt tür *S. enterica* ve bu alt türe ait başlıca Agona, Choleraesuis, Derby, Enteritidis, Hadar, Heidelberg, Kentucky, Meleagridis, Newport ve Typhimurium serovarlarıdır (Helke, McCrackin, & Galloway 2017). EFSA tarafından 2019 yılında yayınlanan rapora göre; *Salmonella* en sık enfeksiyon yapan etkenlerden biri olarak tanımlanmıştır. Dünya genelinde enterit ile seyreden enfeksiyonların morbiditesi ve mortalitesi oldukça yüksek olup her yıl ortaya çıkan diyare semptomlarının yaklaşık %9'unun nedeni olduğu

belirtilmektedir. 2018 yılında Avrupa'da görülen doğrulanmış toplam salmonellozis vaka sayısı 91.857, 2019'da ise 88,000 olarak bildirilmiştir (EFSA, 2019). EFSA ve Avrupa Hastalık Koruma ve Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control-ECDC) tarafından hazırlanan 2020 yılındaki rapora göre ise 52,702 kişiyi etkileyerek *Salmonella* enfeksiyonları en çok bildirilen ikinci zoonotik hastalık olarak rapor edilmiştir (EFSA, 2021). İnsan ve hayvanlarda *Salmonella* etkenlerinin oluşturduğu enfeksiyonlara salmonellozis adı verilmektedir. Enfeksiyonun dozu, serovar farklılıklarına, kişinin yaşına ve direncine bağlı olduğu için bazen antibiyotik tedavisine bile ihtiyaç duyulmazken, bazı durumlarda sistemik enfeksiyon, gastroenterit ve septisemi gibi enfeksiyonlara ve hatta ölüm ile sonuçlanan klinik tablolara sebep olmaktadır (Rasmussen ve ark., 2005). Her yıl Dünya'nın farklı ülkelerinde görülen 94 milyon *Salmonella* kaynaklı enfeksiyon vakasının 155.000'inin ölümle sonuçlandığı bildirilmektedir. Bu vakaların %85'inin ise gıda kaynaklı olduğu bilinmektedir (Majowicz ve ark., 2010).

Salmonella serovar dağılımı coğrafik bölgelere göre değişiklik göstermektedir. 2018-2020 yılları arasında AB'nde en çok görülen dört serovar olarak; Enteritidis, Typhimurium, monophasic Typhimurium 1,4,[5],12:i:- ve Infantis tespit edilmiş ve bu yıllarda tespit edilen toplam vakanın %73'ünü oluşturduğu rapor edilmiştir. Tablo 4'de serovarların yıllara göre dağılımı gösterilmiştir (EFSA, 2021).

Tablo 4: Avrupa Birliği'nde 2021 yılında doğrulanmış insan salmonellozis vakalarında en sık gözlenen 20 serovarın 2018-2020 yılları arasındaki dağılımı (EFSA, 2021)

	2020			2019			2018		
Serovar	**Vaka**	**ÜS***	**%**	**Vaka**	**ÜS**	**%**	**Vaka**	**ÜS**	**%**
Enteritidis	20,610	25	48,7	39,451	27	50,4	39,516	27	50,0
Typhimurium	5,258	25	12,4	9,288	27	11,9	10,297	27	13,0
Monophasic Typhimurium 1.4.[5].12:i:-	4,697	16	11,1	6,432	18	8,2	6,347	17	8,1
Infantis	1,040	23	2,5	1,912	26	2,4	1,852	26	2,3
Derby	518	20	1,2	719	23	0,92	707	23	0,90
Napoli	512	12	0,97	493	18	0,63	450	15	0,57
Bovismorbificans	337	15	0,80	452	19	0,58	461	18	058
Newport	333	20	0,79	846	24	1,1	1,054	21	1,3
Coeln	321	18	0,76	441	18	0,56	441	20	0,56
Brandenburg	308	15	0,73	288	17	0,37	295	17	0,37
Muenchen	223	15	0,53	261	20	0,33	219	15	0,28
Stanley	206	20	0,49	509	19	0,65	469	22	0,59
Dublin	196	9	0,46	207	13	0,26	204	14	0,26
Panama	158	11	0,37	270	14	0,34	221	14	0,28
Agona	152	17	0,36	490	20	0,63	591	18	0,75
Kentucky	152	15	0,36	538	24	0,69	655	22	0,83
Saintpaul	152	14	0,36	292	20	0,37	314	20	0,40
London	142	13	0,34	185	15	0,24	193	16	0,24
Kottbus	127	17	0,30	152	17	0,19	208	20	0,26
Chester	126	12	0,30	340	17	0,43	366	19	0,46
Diğer	60835	–	16,2	14,716	–	18,8	14,077	–	17,8
Toplam	**42,203**	**25**	**100**	**78,282**	**27**	**100**	**78,964**	**27**	**100**

*ÜS: Üye ülke sayısı

Az gelişmiş ve alt yapının büyük sorun oluşturduğu (özellikle kanalizasyon sularının içme ve kullanma suları ile karıştığı, temiz içme suyu bulmanın zor olduğu) ülkelerde enterik ateşle seyreden ve halk arasında tifo olarak bilinen sistemik hastalık sık gözlenmekte iken gelişmiş ülkelerde daha çok *S.* Typhimurium'un neden olduğu gıda zehirlenmeleri ile karşılaşılmaktadır (Hardy, 2004).

Salmonella serovarlarının bulaşma ve enfeksiyonların oluşum zincirinde yem maddesi, hayvanlar, gıda ve insanlar arasında bir etkileşim bulunmaktadır. Salmonellaların çoğunluğu hayvanlarda (sıklıkla çiftlik hayvanlarında) enfeksiyonlara neden olmakta ve ciddi klinik tablolar ile seyretmektedir (Shivaprasad ve ark., 2013; Ünlü, 2011). *Salmonella* enfeksiyonlarının hayvanlardaki epidemiyolojisinde, evcil hayvanların sürüler halinde olması, mezbaha atıkları, yemlerin, suların ve meraların

kontamine olması, enfekte yabani hayvanlar, kuşlar, fareler, rodentler ve insektler en önemli bulaşma nedenlerindendir (Behravesh ve ark., 2014).

Salmonellalar, Dünya'nın her yerinde bulunan zoonotik enfeksiyon etkenleridir. *Salmonella typhi* ve diğer birkaç serotip dışındaki *Salmonella* serotiplerinin çoğuna hayvanların gastrointestinal sistemlerinde doğal olarak rastlanmaktadır. Dolayısı ile salmonellalar, gıda üretimi amacıyla yetiştirilen sığır, koyun, keçi, domuz, tavuk, hindi ve ördek ile kedi, köpek gibi evcil hayvanların bağırsaklarında da bulunmaktadır. İnsanlara bulaşma en sık kanatlı ürünlerinden olmakla birlikte sığır, koyun ve domuz ürünleri de diğer önemli enfeksiyon kaynakları olarak bilinmektedir. Evcil hayvanların %1-3'ü değişik *Salmonella* türleri ile enfektedir. Özellikle semptom göstermeyen taşıyıcılar, bulaşmada oldukça etkin bir rol oynamaktadır. Ayrıca etkenleri insanlara bulaştırmada kedi, köpek, kemirgen, kuş ve sürüngenlerin, alternatif taşıyıcılar olabileceği tespit edilmiştir (Behravesh ve ark., 2014).

Salmonelloz, kontamine gıdaların tüketilmesiyle insanlarda enfeksiyona sebep olan önemli bir halk sağlığı problemidir. Hayvansal gıdaların farklı *Salmonella* serotipleri ile çok yüksek oranda kontamine olduğu ve bu gıdaların tüketilmesine bağlı olarak gıda kaynaklı salmonelloz vakalarının görüldüğü bilinmektedir. Vakaların birincil kaynağının kanatlı hayvan etleri ve et ürünleri iken ikincil kaynağın ise semptomatik veya asemptomatik taşıyıcı olabilen büyükbaş ve küçükbaş kasaplık hayvanlardan elde edilen kırmızı et ve et ürünleri olduğu belirtilmektedir (Jorgensen ve ark., 2002). Sıklıkla çiğ veya az pişmiş tavuk eti ve ürünleri ile yumurta ve et ürünleri tüketimiyle salmonelloz salgınları meydana gelmektedir (Iseri, & Erol, 2010). Ayrıca kanatlı 'yenilebilir iç organları' özellikle de taşlık ve karaciğer, *Salmonella*'nın ana kaynağını oluşturmakta (Gast, 2013), kontamine iç organların özellikle karaciğerin yetersiz ısıl işlem uygulamaları ve/veya olası post kontaminasyonu sonrası tüketilmesi, salmonelloz riski nedeni ile gıda zehirlenmelerinde karşılaşılan en önemli kaynaklardan biri olmasına neden olmaktadır (Zdragas ve ark., 2012). Gıda üretim zincirinin tüm aşamalarında kontaminasyon riski yüksek olmasına karşın, kanatlı hayvanların kesim sürecinde tüy yolma, iç organların çıkarılması ve soğutma işlemlerinde, çapraz kontaminasyon riski çok daha fazla olmaktadır. Salmonellalar, kanatlı hayvanların kesiminde özellikle iç organ çıkartımı sırasında, sindirim sistemi

organlarına zarar verilmesiyle karkasın iç ve dış yüzeylerine kolonize olabilmektedir (Sackey, Mensah, Collison, & Sakyi-Dawson 2000). Ayrıca karkasın yıkanması ile bu mikroorganizmaların tüm karkas yüzeyine yayılmakta ve soğutmanın suya daldırılarak yapıldığı sistemlerde karkasın suya giren diğer karkasların çapraz kontaminasyonuna neden olmaktadır (Sackey ve ark., 2000). Canlı tavukların bağırsaklarında bulunan *Salmonella* spp. oranı %71 iken, kesimden sonra bu oranın karkas örneklerinde %76'ya yükseldiği bildirilmektedir. Etken, sıcak ya da soğukkanlı hayvanların sindirim sisteminde; safra kesesi ve bağırsaklarda asemptomatik olarak yer almakta ve çevreye feçes ile yayılmaktadır (Brichta-Harhay ve ark., 2011). Sığır, koyun ve keçilerde de klinik semptom göstermeksizin yayılım gösterebilmekte, ayrıca kesim prosesinde deri yüzme, iç organların çıkartılması aşamasında çapraz kontaminasyona neden olabilmektedir. Ulusal ve uluslararası düzeyde yem, canlı hayvan ve hayvansal ürün ticaretinin artmasına ve turizmin hızlı yaygınlaşmasına bağlı olarak, hayvansal gıdalardan kaynaklanan *Salmonella* enfeksiyonlarının sayısı da tüm Dünya'da belirgin bir yükseliş göstererek önemli halk sağlığı problemlerine neden olmaktadır. Günümüzde, gelişmiş ülkelerde dahi rapor edilen gıda kaynaklı salmonelloz vakalarının sayısının gerçek vaka sayısının çok altında olduğu ve bu konuda ülkemizde sağlıklı bir veri tabanının bulunmadığı da bilinen bir gerçektir. Enterik ateş haricinde çoğu *Salmonella* enfeksiyonlarının çocuklar ve yaşlı insanlar dışında nispeten daha hafif görülmesi, bu hastalığa verilmesi gereken önemi azaltmamalı ve yine her yıl *Salmonella* enfeksiyonlarının sebep olduğu iş gücü ve tedavi harcamalarına ilişkin büyük ekonomik zararlar da göz ardı edilmemelidir (Erol, 2007).

Epidemiyolojik çalışmalar, farklı *Salmonella* serotiplerinden kaynaklanan gıda enfeksiyonlarının meydana gelmesinde primer kontaminasyondan daha çok, gıdaların elde edilmesi, ambalajlanması, nakli ve muhafazası ile mutfaklarda hazırlanması aşamalarında oluşan sekonder ve özellikle çapraz kontaminasyonlar ile soğuk zincirin kırılmasının en önemli sebepleri oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca *Salmonella*'ya bağlı enterit olgularında iyileşme dönemindeki hastalar ile semptom göstermeden enfeksiyon geçiren kişiler de haftalarca ve hatta aylarca feçes yoluyla *Salmonella* etkenlerini saçarak ciddi bir enfeksiyon kaynağı olmaktadır (Erol, 2007).

Salmonella serovarlarının başlıca fekal-oral yol ile bulaşmakta olduğu bilinse de son yıllardaki araştırmalar düşük oranda olsa da insandan insana oral-anal yol ile

de bulaşma olabileceğini göstermektedir (Black, 2012). Salmonellozlu taşıyıcılar ortama feçes, idrar ve diğer salgılarıyla bol miktarda etkeni bırakmaktadır. Bulaşma, en çok hasta ya da taşıyıcıların fekal içeriği ile kontamine gıda ve suların tüketilmesi ile gerçekleşmekte olup özellikle, alt yapının yetersiz olduğu yerlerde, kanalizasyon sularının içme ve kullanma suları ile karışması sonucunda salgınlar görülebilmektedir. Kontamine olmuş suların direkt olarak içilmesi veya bu sularla temas eden gıdaların tüketilmesi, sinek ve böceklerin yiyecek ve içeceklere direkt teması, enfekte olmuş bireylerin kullandığı eşyalara dokunulması veya eller ile temas edilmesi gibi yollar vasıtasıyla da bulaşma olabilmektedir (Black, 2012; Murray ve ark., 2010; Riedel, & Hobden, 2007; Shivaprasad, Methner, & Barrow 2013).

2.5. *Salmonella* Varlığının Belirlenmesi

2.5.1. Geleneksel (Konvansiyonel) yöntemler

Salmonella serotiplerinin izolasyonu için öncelikle incelenecek örneğe seçici olmayan ön zenginleştirme uygulaması yapılmakta, sonrasında ise bunu selektif zenginleştirme basamağı takip etmektedir. Selektif zenginleştirme işleminden sonra selektif bir katı besi yeri ortamına ekimi ve ortamda belirli karakteristik özellikleri altında üreme gösteren şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve serolojik doğrulaması yapılmaktadır (Lee, 2015) (Şekil 1). Salmonellalara ait birtakım karakteristik biyokimyasal ve fiziksel özellikler temel alınarak uygulanan *Salmonella* zenginleştirme yaklaşımları, Uluslararası Standardizasyon Örgütü (International Organization for Standardization-ISO), Resmi Analitik Kimyagerler Birliği (Association of Official Analytical Chemists-AOAC), Gıda ve İlaç Dairesi-Bakteriyolojik Analitik El Kitabı (Food and Drug Administration-Bacteriological Analytical Manual-FDA-BAM) ve Gıda Güvenliği Bilgi Servisi (Food Safety and Inspection Service-FSIS) gibi birlikler tarafından geliştirilmiş ve standardize edilmiştir. Günümüzde, 2017 yılında güncellenen ve ülkemizde referans metot olarak *Salmonella* tespitinde kullanılan ISO 6579-1:2017 yatay metodu metodu, örneklere uygulanan Buffered Peptone Water (BPW) ile ön zenginleştirme işleminden sonra Rappaport Vassiliadis (MSRV) agar ve Muller-Kauffmann Tetrahionate-Novobiocin

(MKTTn) broth içerisinde seçici zenginleştirme basamaklarından oluşmaktadır (ISO, 2017). Diğer kurumlar ve kuruluşlar tarafından *Salmonella* tespiti için kullanılan diğer metotlar da temel olarak ISO metoduna benzemektedir.



Şekil 1. *Salmonella*'nın temel izolasyon ve identifikasyon şeması (Lee ve ark., 2015)

Salmonellaların tespiti amacıyla kullanılan geleneksel kültür yöntemleri aşağıdaki temel aşamaları içermektedir:

I. Ön zenginleştirme (pre-enrichment): Bu aşamada, zarar görmüş *Salmonella* hücrelerini tamir etmek ve canlandırmak amacı ile BPW ve Laktoz Broth gibi bazı selektif olmayan sıvı besi yerleri kullanılmaktadır.

II. Birincil selektif zenginleştirme: Primary enrichment olarak da adlandırılan bu aşamada, ön zenginleştirme sıvı besi yeri daha sonra safra tuzları, thiosulphate, brilliant green, malachite green, novobiocin, deoxycholate, tetrathionate, cycloheximide, nitrofurantoin ve sulphacetamide gibi iki veya daha fazla inhibitör madde içeren selektif zenginleştirme sıvı besi yerine aktarılmaktadır. Bu aşamada, inhibitörlerin kullanılması ile diğer bakterilerin çoğalması önlendiğinden *Salmonella'*nın gelişmesi seçici olarak desteklenmektedir. Rappaport-Vassiliadis (RV) broth ve Tetrathionate (TT) broth; FDA-BAM ve Food Emergency Response Network (FERN) tarafından tanımlanan ve kullanılan selektif sıvı besi yerlerinden bazılarıdır. Bu sıvı besi yerlerinin, *Salmonella* gelişiminin ve ortam seçiciliğinin artırılması amacı ile modifiye edilen formülleri de bulunmaktadır (Lee ve ark., 2015).

III. Selektif zenginleştirme: Enrichment olarak bilinen bu aşamada salmonellalar, BPW'de ön zenginleştirmeyi takiben MKTTn ve RVS'de seçici zenginleştirme basamağının ardından katı besi yerinde selektif zenginleştirme işlemine devam etmektedir. Katı besi yerleri içerisinde en çok tercih edilen besi yerleri, Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD) agar, Salmonella-Shigella (SS) agar, Xylose-Lysine-Tergitol-4 (XLT4) agar, Bismuth-Sulfite (BS) agar, Brilliant Green agar,

Hektoen Enteric agardır. Farklı *Salmonella* serovarlarına ait koloniler, aynı besi yerlerinde farklı koloni morfolojileri oluşturabilmekle birlikte bazı özel durumlar hariç salmonellaların selektif katı besi yerlerindeki koloni tipleri karakteristik olup diğer cins bakterilerden bu özellikleriyle ayırt edilebilmektedir. Bazı serotiplerin ayırt edici özellikler göstermediği hatta XLD üzerinde üremediği için yanlış negatif sonuçlara neden olabildiği de bilinmektedir. Laktozu fermente eden *S. arizonae* serovarları, XLD üzerinde açık pembe-kırmızı, etrafı zonlu koloniler oluşturabilirken, *S. montevideo* ve *S. virchow* gibi diğer serovarlar, bu agar üzerinde gelişim göstermeyebilmektedir. Bundan dolayı, iki veya daha çok selektif katı besiyerinin kullanılması veya novobiocin, thiosulphate, sulphamethazine ve malachite green gibi uygun supplementlerin besi yerine eklenmesiyle ortamın *Salmonella* yönünden seçiciliğinin ve etkenin spesifik besi yerinde üreyebilme şansının artırılması sağlanmaktadır (Carrique-Mas, & Davies, 2008; Lee ve ark., 2015).

Katı besi yerinde şüpheli bulunan ve *Salmonella* spp. olduğu belirlenen kolonilerden alınan tipik bir-beş tanesi, ön biyokimyasal identifikasyon amacıyla Triple Sugar Iron (TSI) agar ve Lysine Iron (LI) agar içerisine inokule edilip üreme durumları incelenmektedir. TSI ve LI agarda sırasıyla glukoz-fermantasyonu ve lizin dekarboksilaz reaksiyonları pozitif olan örneklere sonrasında yapılan üreaz testi sonucunda üreaz aktivitesi negatif olanlara, API 20E gibi diğer biyokimyasal testleri de içerisinde bulunduran identifikasyon testleri uygulanmaktadır. Biyokimyasal analizler, birim zamanda daha hızlı sonuç elde edilebilmesi, az hacimde reaktif, ortam ve ekipman kullanımı açısından pratik ve avantajlı testlerdir. Birçok minyatür biyokimyasal analiz, tek kullanımlık steril mikrotitre plaklarından, çoklu aşılama cihazlarından ve özel substratlardan oluşmaktadır. Testlerin uygulanması sırasında, mikrotitre plakasının oyuklarına saf kültürler yerleştirilmekte ve belirlenen sıcaklıkta 16-24 saat inkübasyonda bekletilmektedir. Katı ortam veya sıvı ortam üzerinde *Salmonella*'nın varlığı veya yokluğu, bir manuel tanımlama kodu yardımıyla spesifik bileşimlerin ve metabolitlerin reaktiflerle reaksiyonunun sebep olduğu renk değişikliklerinin izlenmesiyle belirlenebilmektedir. Bilgisayar arayüzlü otomatik okuyucu yardımı ile de okunarak değerlendirme yapılmaktadır.

Piyasada API 20E dahil *Salmonella* hızlı biyokimyasal karakterizasyonu yapabilen ticari kitlerden bazıları; (bioMerieux sa, Marcy-I'Etoile, Fransa), Enterotube

II (BD Diagnostik, Sparks, MD), Enterobacteriaceae Set II (önceden Mnitek II, BBL Mikrobiyoloji Sistemleri, Cockeysville, MD olarak bilinir), MICRO-ID (Remel, Lenexa, KS), EPS (Enterik Patojenler Ekranı Kart) (Vitek Systems, Hazelwood, MO), GNI (Gram Negatif Kimlik Kartı) (Vitek Systems, Hazelwood, MO), Microscan (Baxter Diagnostics, West Sacramento, CA), Dörtlü Enterik Panel (Micro-Media Systems, San Jose, CA), Quantum II (Abbott Laboratories, Diagnostic Division, Abbott Park, IL), Sensititre (Sensititre, Salem, NH), Tri Panel (DifcoPasco Laboratories, Wheat Ridge, CA), Vitek 2 (bioMerieux sa, Marcy-I'Etoile, Fransa) ve Walk Away (Dade MicroScan, Batı Sacramento, CA)'dır (Fung, 2002; Stager, & Davis, 1992). Biyokimyasal olarak *Salmonella* spp. olduğu belirlenen örneklere serolojik identifikasyon amacıyla serotiplendirme yapılmaktadır (Sørensen, Alban, Nielsen, & Dahl, 2004). *Salmonella* izolatlarının epidemiyolojik değerlendirilmelerinde, geleneksel serotiplendirme halen en geçerli yöntem olarak kabul edilmekte ve 19. yüzyılın sonlarından beri kullanılmaktadır. Serotiplendirme işlemleri, 167'den fazla antiserum, tecrübe ve akreditasyon gerektirdiğinden dolayı referans laboratuvarlarında gerçekleştirilmektedir (Lee ve ark., 2015).

Salmonellalar içerdikleri O, H ve Vi antijenlerine göre lam ve tüp aglütinasyon testleri kullanılarak serogruplara ve serovarlara ayrılmaktadır (Black, 2012; Riedel, & Hobden, 2007; Tekintaş, 2014; Telli, 2006).

2.5.2. Hızlı yöntemler

Salmonella varlığının tespiti için klasik yöntemlerin dışında kullanılan, klonlama ve rekombinant DNA kullanım prensibine göre geliştirilmiş ve validasyonları yapılmış birkaç hızlı tanı yöntemi bulunmaktadır. Hızlı yöntemlerin, geleneksel kültürel yöntemlere göre sarf malzeme kullanımı, zaman ve iş gücü, örnek işleme, depolama alanı gibi konularda avantaj sağlaması, tercih edilme oranını artırmaktadır.

Piyasada bulunan mevcut hızlı yöntemler, yeni seçici ortam, modifiye edilmiş geleneksel prosedürler, immunolojik testler ve nükleik asit temelli testler olmak üzere kategorilere ayrılmaktadır. İmmünoenzimatik Yöntem (Enzyme Linked Immunosorbent Assay- ELISA) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain

Reaction- PCR) tabanlı yöntemlerde, ELISA testleri, 10^4-10^5 ml seviyesinde *Salmonella* konsantrasyonunu tespit edebilirken, PCR testleri, zenginleştirmeden sonra 10^4 ml düzeyinde hassasiyet derecesi sağlamaktadır. Bu yöntemlerin güvenilirliği; örnek matrisine, mikrofloraya, kültürü yapılamayan hücrelere ve engelleyici maddelere göre farklılık gösterebilmektedir (Alakomi ve Saarela, 2009; Lee ve ark., 2015).

Yaygın olarak kullanılan nükleik asit temelli hızlı testler, mikroorganizmanın içerisinde bulunan belirli bir nükleik asit hedef dizisini kullanarak geliştirilmiş olup diğer yöntemlerden daha duyarlı, özgün ve kapsamlı olması gibi avantajları bulunduğundan *Salmonella* tespitinde son yıllarda sıklıkla tercih edilmektedir (Glynn ve ark., 2006). Bu testlerde kullanılan iki ana teknik, hibridizasyon (DNA probu) ve amplifikasyon (PCR) yöntemleridir. Örneklerde çok az sayıda etken olsa bile bunları belirleyebilen ve tek seferde fazla sayıda örnek analiz edilebilmesine imkan sağlayan bu yöntemler hızla geliştirilmekte ve üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır (Cohen ve ark., 1993). PCR testi, *Salmonella* tespitinde kullanılan kültür yapılmadan, DNA'nın spesifik bölgelerinin in vitro primerler aracılı enzimatik amplifikasyon prensibiyle çalışan bir tekniktir. PCR, ısıya dayanıklı DNA polimeraz kullanılarak, spesifik gen dizilimini DNA fragmanlarının bir milyon katına çıkarabilmekte ve etkenler düşük de olsa tespit edebilmektedir. Bu yöntemin avantajları zenginleştirme gibi süreçlerin olmaması ve hızlı sonuç alınmasıdır (Cocolin, Manzano, Cantoni, & Comi, 1998; Eijkelkamp, Aarts, & Van der Fels-Klerx, 2009).

PCR testleri, ISO (IOS 20838:2006, ISO/DIS 22119, ISO 16140:2003, ISO 6579:2002, ISO 22174) kriterlerine göre geliştirilmiş, validasyonları ve standartizasyonları yapılmıştır. PCR tabanlı ticari kitler, endüstri alanında ve acil tespit edilmesi gereken durumlar için geliştirilmiş ve doğru sonuç verme oranlarından dolayı başarıyla kullanılmaktadır. Bu ticari kitlerden bazıları; ABI Prism 7500 (Applied Biosystems, Warrington, İngiltere), Probelia (Sanofi -Diagnostics Pasteur, Marnes-laCoquette, Fransa), BAX sistemi (DuPont Qualicon, Wilmington, DE), TagMan yer alır. (PE-Applied Biosystems, Foster City, CA), Gene-Trak (Neogen Corporation, Lansing, MI), iQ-Check™ PCR (BioRad Laboratories, Hercules, CA), LightCycler (Roche Diagnostics, Manheim, Almanya) ve SmartCycler (Cepheid Inc., Sunnyville, CA)'dır (Bennett, Greenwood, Tennant, Banks, & Betts, 1998).

Real time PCR (rPCR) sistemi ise, floresan ışıma tekniğiyle çalışmakta olup floresan dedektör ve sisteme bağlı real time thermocycler parçalarından oluşmaktadır. rPCR'ın, yüksek hassasiyeti ve özgünlüğü, yüksek verimliliği, azaltılmış amplikon boyutu bu sistemin avantajları arasındadır. Ayrıca PCR sonrası aşamalarda meydana gelebilecek çapraz kontaminasyonun rPCR'de oldukça az olması önemli bir ayrıcalık olarak görülmektedir. PCR'ın varyasyonları, SYBR Green gibi DNA bağlayıcı boyaları veya Scorpion primerleri gibi floresan oligonükleotitleri içermektedir. Ayrıca moleküler işaretleri, floresan rezonans enerji transferi (FRET) probları ve TaqMan® problarını da bulundurmaktadır (Maurer, 2011). Hayvan dışkıları gibi çeşitli örneklerde, *Salmonella* tespit etmek için r-PCR ekipmanlarıyla birlikte testler de geliştirilmiş olup kanatlı karkas, çiğ süt, kırmızı ve beyaz etler, çiftlik etrafından alınan çevresel sürüntüler, meyve, sebze ve süt çiftliğinden alınan örneklerde bu testler kullanılmaktadır (Bohaychuk, Gensler, McFall, King, & Renter, 2007).

2.6. Salmonellaların Tiplendirilmesi

Salmonella izolatlarının tiplerinin belirlenmesi, daha etkin koruma ve kontrol programları uygulanması açısından oldukça önemlidir. Söz konusu izolatların tiplendirilmesinin yapılabilmesi her laboratuvarda mümkün olmayabilmekte ve bunun için referans laboratuvarlara ihtiyaç duyulmaktadır (De Cesare, Manfreda Dambaugh, Guerzoni, & Franchini 2001; Hollis, Bruce, Fritschel, & Pfaller, 1999).

2.6.1. Konvansiyonel (Fenotipik) yöntemler

Fenotipik tiplendirme; biyotiplendirme, serotiplendirme ve faj tiplendirme olarak üç farklı şekilde yapılabilmektedir.

Biyotiplendirme, 37^{o}C'de bir gün inkübasyondan sonra selektif besi yerinde üreyen kolonilerin identifikasyon işleminde, ilk olarak saf/ari kültürden Gram boyama ve hareket muayenesi yapılmaktadır. Sonraki aşamada ise dekstroz, laktoz, sükroz, mannitol, maltoz, dulsitol, malonat, jelatin, üre, sitrat kullanımı, ornitin dekarboksilaz, metil-red ve voges-proskauer, potasyum siyanür (KCN) ve onitrophenyl-beta-D-galaktopyranoside (ONPG) oluşumu, indol, hidrojen sülfür biyokimyasal testleri kullanılmaktadır (İzgür, 2006).

Serotiplendirme, salmonellaların antijenik yapılarına göre tiplendirilmesi olup serotiplendirme işlemi temelde bakteri yapısında bulunan O ve H antijenlerinin belirlenmesi ile yapılmaktadır. Polisakkarit yapıda olan O antijeni hücre duvarında protein ve lipitlere bağlı olarak bütün *Salmonella* serotiplerinde bulunmaktadır. Protein yapıda ve ısıya duyarlı olan H antijeni ise hareketli salmonellalarda bulunmaktadır. *Salmonella*'nın antijenik özelliklerine göre identifikasyonu oldukça önemlidir. İdentifikasyon işleminde öncelikle serogruplandırmada, O antijenini belirlemek için *Salmonella* polivalan antiserumları ile lam aglütinasyon testi yapılmakta, pozitif sonuç çıkarsa incelenen etkenin *Salmonella* spp. olduğu kabul edilmekte ve daha sonra 'O' spesifik grup antiserumları (A, B, C, D, ….) ile bu etkene tekrar lam aglütinasyon testi uygulanmaktadır. Hareketli salmonellalarda ise bu testlere ek olarak öncelikle Spicers Edwards antiserumları ve sonrasında grup faktör antiserumları ile tüp aglütinasyon testleri yapılarak Faz-1 ve Faz-2 belirlemekte ve böylece izole edilmiş etken serotip düzeyinde identifiye edilmektedir **(**İzgür, 2006**).**

Faj tiplendirme ise salmonellaların fajlarına göre tiplendirilmesidir. *Salmonella*'da yaklaşık %97 oranında lize olabilen *Salmonella* O-1 fajı, özellikle *Salmonella* cinsininin identifikasyonunda güvenilir ve cinse özgü spesifik bakteriyofajdır. Faj temelli tiplendirme, günümüzde hala özellikle halk sağlığı için önem arz eden *S. paratyphi* B, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. agona*, *S. hadar* ve *S. virchow* gibi serotiplerde, gıdaların neden olduğu *Salmonella* salgınlarının gözlenmesinde ve epidemiyolojik çalışmalarda ana metot olarak kullanılmaktadır (İzgür, 2006; Malorny ve ark., 2004).

2.6.2. Moleküler yöntemler

Salmonellaları moleküler bazda tiplendirmek için birçok yöntem bulunmaktadır.

Pulsed- Field Gel Electrophoresis (PFGE), Schwartz ve Cantor tarafından bulunmuş olup *Salmonella* serovarları arasında moleküler ilişkiyi belirlemede ilk yöntem olarak akla gelmektedir. DNA parçalarının ayrılması için katı matris boyunca elektrik alanının birden fazla yönde değişmesi sağlanan bu yöntemde; kesilmemiş DNA'nın hazırlanması, restriksiyon endonükleaz enzimi kullanılarak DNA'nın sindirilmesi, parçaların PFGE ile ayrılması ve bantlama modellerinin görselleştirilmesi ve yorumlanması gerekmektedir. Diğer yöntemlere göre daha yavaş ve pahalı olması,

spesifik ekipman, yüksek kaliteli kimyasal ve sistem hazırlığında tecrübeli personele ihtiyaç duyulması yöntemin dezavantajları arasında bulunmaktadır (Kaufmann, 1998).

Ribotiplendirme, endonükleazla sindirilmiş kromozomal DNA'nın agaroz jeller üzerinde ayrılmasıyla başlamaktadır. DNA daha sonra bir zara aktarılıp parçalanmakta, 16S ve 23S rRNA'yı tanıyan bir proba hibritlenmektedir. Ribotip analizi, bazı yaygın serotipler ve faj tiplerine giren izolatların bazılarını açıkça alt tiplendirebilmektedir (Landeras, 1996). Ribotiplendirme, bazı çalışmalarda genotiplendirmede Gold Standart yöntem olarak kabul edilen PFGE testi kadar duyarlı bulunamasa da, PFGE testinden çok daha hızlı bir şekilde sonuç vermesi, deneyimli personel ve laboratuvar şartlarına gereksinim göstermeyen kapalı otomotize bir sistem olması ile bir defada birden fazla örneğin işlenmesini gerektiren epidemiyolojik çalışmalarda alternatif olması yönünden avantajlarıyla sıklıkla kullanılmaktadır (De Cesare, Manfreda Dambaugh, Guerzoni, & Franchini 2001; Hollis, Bruce, Fritschel, & Pfaller, 1999).

Insersiyon dizisi (IS) tiplendirme ise, *Salmonella, Escherichia, Shigella, Vibrio, Enterococcus, Clostridium, Helicobacter* ve *Actinobacillus* gibi çeşitli bakterilerde var olan, tek bir gen içeren, hareketli bir elemen olan IS200 kullanılmaktadır. IS200 tiplendirmesi ile *Salmonella* suşları arasındaki moleküler ilişkiler tespit edilebilmektedir (Imen ve ark.,2012).

Randomly Amplified Polimorphic DNA (RAPD) teknolojisinde temel prensip olarak, PCR ile düşük bağlanma sıcaklıkları altında toplam genomik DNA'nın nanogram miktarlarını artırmak için primer olarak rastgele dizilerin kısa sentetik oligonükleotidleri (10 baz uzunluğunda) kullanılmaktadır. Tekniğin ileriki aşamalarında elde edilen çoğaltma ürünü radyoaktif olmayan standart jel elektroforezinde yürütülmekte ve çoğaltma ürünleri bantlar halinde gözlemlenerek incelenmektedir. Bantların varlığı veya yokluğuyla sonuçlar değerlendirilmektedir (Williams ve ark., 1990). Bir diğer hızlı yöntem olan Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) analiz yöntemi, adaptör spesifik primerlerle yapılan PCR amplifikasyonunun ardından genomik restriksiyon parçalarına probların bağlanmasıyla uygulanan bir yöntem olarak tanımlanmaktadır (Imen ve ark., 2012).

DNA dizileme tabanlı analizlerden biri olan MLST, temizlik veya virülans genlerinin bölümlerinden DNA sekanslarını ve/veya mutasyon veya rekombinasyon

olaylarına bağlı olarak değişen rRNA sekanslarını karşılaştıran bir moleküler tipleme stratejisidir. Çok odaklı sekans tiplemesi olarak da adlandırılan, yüksek ayrım gücü ile minimum insan girdisi gerektiren güçlü bir veri analizi yöntemidir. MLST, multilokus enzim elektroforezi ile elde edilenlere benzer veriler sağlamaktadır ancak incelenen enzimin genel yükündeki ve ifadesindeki değişiklikleri taramak yerine bireysel nükleotit değişikliklerini değerlendirme yeteneğine sahip olduğundan, önemli ölçüde daha ayrıntılıdır (Maiden ve ark., 1998). Salmonellalarda ilk MLST şeması, yedi housekeeping gen fragmanına spesifik olarak 2002 yılında *S.* Typhi ile *S*. enterica alt türünü birbirlerinden ayırt etmek için oluşturulmuştur. Bu housekeeping genler (*aroC*, *dnaN*, *hemD*, *hisD*, *purE*, *sucA* ve *thrA*) kromozom üzerinde yayılmış vaziyette bulunan ve bakterilerin çeşitlilik profillerini en iyi gösteren kısımlar olarak bilinmektedir (Malorny ve ark., 2011). DNA mikroarray tabanlı analizler ise son yıllarda hızla artan bir gelişme gösteren yöntemler olup burada biyolojik problar minyatürize gridler üzerinde bir yüzeye bağlanmış şekilde üretilmektedir. Bu şekilde farklı *Salmonella* DNA dizilerinden elde edilen probların kullanımı ile geliştirilerek üretilmiş olan mikroarrayler (tüm genom mikroarreyleri) bulunmaktadır (Bell, & Kyriakides, 2002)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Örnekler

Bu çalışmada, laboratuvarımızda yürütülen "Broyler karkaslarında soğutma öncesi ve sonrası *Salmonella* varlığı ve sayısının real time PCR ve ISO 6579-2:2012 ile belirlenmesi-TGA-2021-398" ve "Broyler yenilebilir iç organlarında *Salmonella* varlığının ISO 6579-1:2017 ve *Salmonella*-spesifik real-time PCR ile belirlenmesi-TGA-2021-488" isimli ve numaralı iki Genel Araştırma Projesi kapsamında elde edilen *Salmonella* spp. izolatları kullanıldı.

Güncel ve Gold Standart metot olan ISO 6579-1:2017 (ISO, 2017) ile izole edilen ve *Salmonella* spp. spesifik rPCR ile doğrulaması yapılarak -20ºC'de stoklanan, 104 broyler karkas ve 57 yenilebilir iç organ kaynaklı olmak üzere toplam 161 adet *Salmonella* spp. izolatı ile aynı izolatlara ait PCR örnekleri *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium varlığı yönünden tiplendirilmek üzere analiz edildi.

3.1.2. Standart Suşlar

Salmonella spp. izolatlarının konvansiyonel serotiplendirme ve SE/ST spesifik rPCR analizlerinde, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (*S.* Enteritidis) 64K (M.Y. Popoff, Institut Pasteur, Paris Cedex 15, France) ve *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (*S.* Typhimurium) NCTC 12416 (Refik Saydam, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara) standart bakteri suşları pozitif kontrol olarak kullanıldı.

3.1.3. Sarf Malzemeleri

Çalışmada kullanılan besiyeri ve ilaveleri ile kimyasal maddeler:

I. Besiyeri ve ilaveleri

- Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD) Agar (Oxoid, CM0469)
- Brilliance *Salmonella* (BS) Agar (Oxoid, CM1092)
- Mac Conkey (MC) Agar (Oxoid, CM0115)
- Brain Heart Infusion (BHI) Broth (Oxoid, CM1135)
- Nutrient Agar (NA) (Oxoid, CM0003)
- Motility GI Medium (Becton Dickinson, 286910)
- *Salmonella* Selective Supplement (Oxoid, SR0194)

II. Kimyasal maddeler

- Gliserol (Sigma Aldrich, 15524)
- Sodyüm Klorür (Merck, K25659900.925)

3.1.4. Antiserumlar

Serogruplandırma (Somatik-O antijenik yapıların belirlenmesi) ve serotiplendirme (Flagellar-Faz 1 ve Faz 2 antijenik yapıların belirlenmesi) için ticari anti-serumlar:

I. O antiserumları

1. Polivalan antiserumlar: *Salmonella* O Antiserum Poly A (Grup A, B, D, E_1, E_2, E_3, E_4, L); Poly B (Grup C_1, C_2, F, G, H); Poly C (Grup I, J, K, M, N, O);

2. Grup faktör antiserumları: *Salmonella* O Antiserum Grup A Faktör 1, 2, 12; Grup B Faktör 1, 4, 5, 12; Grup B Faktör 1, 4, 12, 27; Grup C_1 Faktör 6, 7; Grup C_2 Faktör 6, 8; Grup C_3 Faktör (8), 20; Grup D_1 Faktör 1, 9, 12; Grup D_2 Faktör (9), 46; Grup E Faktör 1, 3, 10, 15, 19, 34; Grup E_1 Faktör 3, 10; Grup E_2 Faktör 3, 15; Grup E_3 Faktör (3), (15), 34; Grup E_4 Faktör 1, 3, 19; Grup F Faktör 11; Grup G Faktör 13, 22, 23, (36), (37); Grup G_1 Faktör 13, 22 (36); Grup G_2 Faktör 1, 13, 23, (36), (37); Grup H Faktör 1, 6, 14, 24, 25; Grup I Faktör 16; Grup J Faktör 17; Grup K Faktör 18; Grup L Faktör 21; Grup M Faktör 28; Grup N Faktör 30; Grup O Faktör 35;

3. Single faktör antiserumları: *Salmonella* O Antiserum Faktör 2; Faktör 4; Faktör 4,5; Faktör 5; Faktör 7; Faktör 8; Faktör 9; Faktör 10; Faktör 12; Faktör 14; Faktör 15; Faktör 19; Faktör 20; Faktör 22; Faktör 23; Faktör 25; Faktör 27; Faktör 34;

II. Vi antiserumu

Salmonella Vi Antiserum

III. H antiserumları

1. Spicer-Edwards antiserumları: *Salmonella* H Antiserum Spicer-Edwards 1 (a, b, c, d, eh, G Kompleks, i); Spicer-Edwards 2 (a, b, c, k, r, y, z_{29}); Spicer-Edwards 3 (a, d, eh, k, z, z_4 Kompleks, z_{29}); Spicer-Edwards 4 (b, d, G Kompleks, k, r, z, z_{10});

2. Kompleks antiserumları: *Salmonella* H Antiserum EN Kompleks (e, n, x; e, n, z_{15}); G Kompleks (f, g; f, g, t; g, m; g, m, q; g, m, s; g, m, s, t; g, p; g, p, u; g, s, t; g, t; m, t); L Kompleks (l, v; l, w; l, z_{13}; l, z_{28}; l, z_{40}); Z_4 Kompleks (z_4, z_{23}; z_4, z_{24}; z_4, z_{32}); 1 Kompleks (1, 2; 1, 5; 1, 6; 1, 7);

3. Single faktör antiserumları: *Salmonella* H Antiserum Single Faktör 2; 5; 6; 7;

4. Diğer H antiserumları: a; b; c; d; eh; f; h; i; k; m; p; r; s; t; w; x; y; z; z_6; z_{10}; z_{13}; z_{15}; z_{23}; z_{28}; z_{29}; z_{32} kullanıldı (BD, 2017).

IV. Kalite kontrol antijenleri

1. QC Antijen *Salmonella* O Grup

2. QC Antijen *Salmonella* Vi pozitif kontrol olarak kullanıldı (BD, 2017).

3.1.5. Cihazlar

- Hassas terazi (Precisa, 220 M SCS)

- Deiyonize ve ultra saf su sistemleri (Milipore Mili-Q Q-Gard 1)
- pH metre (inoLab pH720)
- Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (Ikamag RH)
- Su banyosu (Nüve, RT 400)
- Otoklav (Thermo Scientific, 18102A-1CE)
- Vorteks (Stuart, SA8)
- Biyogüvenlik kabineti Tip II (Esco, AC2-4E1)
- Densimat (Biomerieux, 21250)
- İnkübatör (Thermo Scientific, Heratherm IGS100)
- Buzdolabı (Arçelik)
- -20°C'lik derin dondurucu (Arçelik)
- -80°C'lik derin dondurucu (Thermo Scientific-T series, TSX40086A)
- Blok ısıtıcı (Techne, DB-2D-FDB02DD)
- Nanodrop spektrofotometre (Thermo Scientific, ND-1000)
- Santrifüj (Thermo Scientific, MicroCL 17)
- PCR kabineti (Esco)
- Light Cycler 480 PCR cihazı ve sistemi (Roche Diagnostics, 05015278001)

3.2. Yöntem

3.2.1. *Salmonella* spp. İzolatlarının Canlandırılması

Güncel ve Gold Standart metot olan ISO 6579-1:2017 (ISO, 2017) ile izole edilen ve *Salmonella* spp. spesifik rPCR ile doğrulanarak Brain Heart Infusion (BHI) broth ve %50 steril gliserol içeren stokta -20ºC'de saklanan izolatlar, Mac Conkey (MC) agara (Oxoid, CM0115) inokule edilerek 37ºC'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üreme durumları ve saflık kontrolleri yapıldı.

3.2.2. Konvansiyonel Serotiplendirme

Ticari antiserumlar kullanılarak White-Kauffmann-Le Minor Şeması Grimont, & Weill (2007), Guibourdenche ve ark. (2010) ve Issenhuth-Jeanjean ve ark. (2014)'na göre serogruplandırma (Somatik-O antijenik yapılarının belirlenmesi) ve

serotiplendirme (Flagellar-Faz 1 ve Faz 2 antijenik yapıların belirlenmesi) işlemleri gerçekleştirildi. Lam aglütinasyon testi, somatik antijen analizleri için tüp aglütinasyon testi ise flagellar faz antijen analizleri için uygulandı. Aglütinasyon reaksiyonlarının değerlendirilmesinde ve izolatların otoaglütinasyon özelliğinin test edilmesinde lam ve tüp aglütinasyon işlemleri, üretici firma protokolüne uygun şekilde yapıldı.

3.2.2.1. Aglütinasyon Reaksiyonlarının Değerlendirilmesi

Lam ve tüp aglütinasyon işlemleri, üretici firma protokolüne uygun şekilde; +4 (%100 aglütinasyon; zemin açık veya yok denecek kadar puslu), +3 (%75 aglütinasyon; zemin çok az puslu), +2 (%50 aglütinasyon; zemin orta dereceli puslu), +1 (%25 aglütinasyon; zemin tam puslu) ve aglütinasyon negatif şeklinde değerlendirilerek değerlendirme yapıldı. Pozitif kontrolde kullanılan standart bakteri suşları ile kalite kontrol antijenleri +3 ve üzeri derecede aglütinasyon verdi. Negatif kontrolde aglütinasyon görülmedi. Test edilen izolatların +3 ve üzeri aglütinasyonları pozitif, +2 ve altı aglütinasyonları ile aglütinasyon süresi 1 dakikayı geçenler negatif olarak değerlendirildi.

3.2.2.2. İzolatların Otoaglütinasyon Özelliğinin Test Edilmesi

Serogruplandırma işlemlerinden önce izolatların otoaglütinasyon özelliklerinin test edilmesi amacı ile Nutrient agarda (OXOID, CM0003) saf olarak üretilen izolattan bir öze dolusu alınarak lam üzerine daha önceden damlatılmış olan 1 damla %0,85'lik NaCl (Merck, K25659900.925) içerisinde emülsifiye edildi. Lam 1 dakika dairesel hareketlerle çevrildikten sonra, aglütinasyon olup olmadığı incelendi. Aglütinasyon meydana geldiğinde (otoaglütinasyon), bu izolatın kültürü 'Rough' (R) olarak kabul edildi ve serogruplandırmaya geçilmeyerek, test tekrar edildi. Tekrar sonrasında da aglütinasyon oluşması durumunda, kültür saflaştırılarak identifikasyon işlemleri tekrarlandı. Otoaglütinasyon göstermeyen izolatlar ise direkt serogruplandırmada kullanıldı.

3.2.2.3. Serogruplandırma

Serogruplandırma işlemleri ve Vi antijen tespiti lam aglutinasyon testi ile yapıldı. Bir lam üzerine 1 damla antiserum konulduktan sonra NA üzerinde üreyen izole koloniden bir öze dolusu alındı ve antiserum ile karıştırıldı. Negatif kontrolde 1 damla antiserum, 1 damla %0,85'lik NaCl ile; pozitif kontrolde 1 damla antiserum 1 damla uygun kalite kontrol antijeni ile karıştırıldı. Lamlar 1 dakika dairesel hareketlerle çevrildikten sonra aglütinasyon olup olmadığı incelendi ve görülen aglütinasyonlar pozitif olarak değerlendirildi.

Serogruplandırmada ilk olarak izolatın *Salmonella* Polivalan O antiserumları ile aglütinasyonu test edildi. Öncelikle Poly A ve Poly B antiserumları ile test edilen izolat, eğer bunlardan biri ile aglütinasyon verdiyse, pozitif aglütinasyon veren Polivalan antiserumun kapsadığı Grup faktör antiserumları ile tek tek test edildi. Gerektiği durumlarda ilgili grupların altında yer alan Faktör antiserumları kullanılarak serogruplandırma işlemi tamamlandı.

Salmonella Poly A ve Poly B antiserumları ile test edilen izolat, bu 2 Polivalan antiserum ile aglütinasyon vermediği zaman *Salmonella* Vi Antijeninin somatik antijen aktivitesini maskelediği göz önünde bulundurularak *Salmonella* Vi antiserumu ile test edildi. Test sonrasında pozitif aglütinasyon gözlenmesi halinde ısıya duyarlı olan *Salmonella* Vi Antijenini (zarf antijeni) yıkımlamak için izolat ısıl işlem uygulandıktan sonra yeniden aynı antiserum ile test edildi. İzolatın ısıl işlem sonrasında *Salmonella* Vi Antiserumu ile aglütinasyon vermemesi beklendi. Sonrasında Poly A ve Poly B Antiserumları ile test tekrar edildi. Bu aşamada yine negatif sonuç gözlendiği taktirde Poly C Antiserumu ile test edildi. Bu sonuçlardaki pozitifliğe göre Grup faktör antiserumları ve Faktör antiserumları ile de test edilerek izolatın hangi serogruba ait olduğu belirlendi (Grimont, & Weill, 2007; Guibourdenche ve ark., 2010; Issenhuth-Jeanjean ve ark., 2014).

3.2.2.4. Serotiplendirme

Serogruplandırması tamamlanan izolatların, Faz 1 ve Faz 2 antijenlerinin belirlenmesi amacı ile yapılacak olan serotiplendirme işlemleri tüp aglutinasyon testi ile gerçekleştirildi. Serotiplendirmede ilk olarak izolatın Faz 1 antijenlerinin belirlenebilmesi için en sık izole edilen *Salmonella* serotiplerinin tespitine yönelik olarak *Salmonella* H antiserum Spicer-Edwards antiserumları ile aglütinasyonu test edildi.

Salmonella H antiserum Spicer-Edwards aglütinasyon testi öncesinde, NA'da saf olarak üretilen izolattan bir öze dolusu alınarak, içerisine Craigie tüpü yerleştirilen ve Motility GI Medium (Becton Dickinson, 286910) bulunan tüpe (Craigie tüpünün iç kısmına ve üst yüzeyine) inokule edildi. Tüpler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İzolatların hareketliliğinin artırılması amacı ile birkaç kez pasajlama işlemi gerçekleştirildi. Hareketliliği gözlemlenen tüplerden (Craigie tüpünün dış kısmından ve üst yüzeyinden) bir öze dolusu alınan izolat, BHI Broth'da 35°C'de 4-6 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası içerisinde %0,6 formalinize %0,85'lik NaCl bulunan tüpe BHI broth'da üreyen kültür aktarılarak türbiditesi McFarland No 3 olacak şekilde Densimat (Biomerieux, 21250) ile ölçülerek suspanse edildi.

Salmonella H antiserum Spicer-Edwards aglütinasyon testi için, üretici firma protokolüne uygun şekilde dilüe edilmiş (1:1000) ve 4 farklı tüpte hazırlanmış olan 0,5'er ml antiserumlar (Spicer-Edwards 1, 2, 3 ve 4) üzerine test edilecek izolatın türbiditesi ayarlanmış olan kültüründen her bir tüp içerisine 0,5'er ml ilave edilerek 50±2°C'deki su banyosunda 1 saat inkübe edildi. Tüplerin su banyosu içerisinde veya su banyosundan çıkarılma esnasında ve okunmadan önce sallanmamasına veya çalkalanmamasına dikkat edildi. İnkübasyon sonunda tüplerde gözlenen pozitif ve negatif aglütinasyon sonuçları, üretici firma protokolünde belirtilen tablo göz önünde bulundurularak değerlendirildi (Tablo 5). Değerlendirme sonucunda, Faz 1 antijenleri belirlenen izolatlara gerektiği durumlarda (G Kompleks ve z_4 Kompleks antijenleri ise) ilgili *Salmonella* H Kompleks antiserumları ve diğer *Salmonella* H antiserumları kullanılarak tüp aglütinasyon testi yapıldı ve serotiplendirmenin ilk aşaması tamamlandı.

Tablo 5. *Salmonella* H Antiserum Spicer-Edwards ile aglütinasyon tanımlaması (BD, 2017)

H Antijen(ler)	Salmonella H Antiserum Spicer-Edwards				H Antijen(ler)	Salmonella H Antiserum Spicer-Edwards			
	1	2	3	4		1	2	3	4
a	+	+	+	-	k	-	+	+	+
b	+	+	-	+	r	-	+	-	+
c	+	+	-	-	y	-	+	-	-
d	+	-	+	+	z	-	-	+	+
e, h	+	-	+	-	z_4 Kompleks**	-	-	+	-
G Kompleks*	+	-	-	+	z_{10}	-	-	-	+
i	+	-	-	-	z_{29}	-	+	+	-

*Salmonella H Antiserum Spicer-Edwards 1 ve 4'ün G Kompleks bileşeni, f, g; f, g, s; f, g, t; g, m; g, m, q; g, m, s; g, m, s, t; g, m, t; g, p; g, p, s; g, p, u; g, q; g, s, t; g, t; m, p, t, u ve m, t antijenleri ile reaksiyon verir.

** Salmonella H Antiserum Spicer-Edwards 3'ün z_4 Kompleks bileşeni, z_4, z_{23}; z_4, z_{24} ve z_4, z_{32} ile reaksiyon verir.

Faz 2 antijenlerinin belirlenmesi için gerekli olan faz döndürme işleminde, belirlenen Faz 1 antijenine ait antiserumun 1:10'luk dilüsyonundan 1 ml alınarak steril petri kabına aktarıldı. Üzerine faz dönüşümü için hazırlanan Motility GI Medium'dan 25 ml ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Hazırlanan besi yerinin orta kısmına NA'da saf olarak üretilen izolattan bir öze dolusu alınarak inokule edildi ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Örneğin, *S*. Typhimurium'un Faz 1 antijeni [i] olduğu için içerisinde [i] antiserumu olan besi yerine *S*. Typhimurium inokule edilerek Faz 2 antijenlerinin [1,2] üremesi ve yayılması sağlandı. Gerektiğinde izolatın hareketliliğinin artırılması amacı ile birkaç kez pasajlama işlemi gerçekleştirildi. Hareketliliği gözlenen izolatın besi yeri üzerinde inoküle edildiği bölgeye en uzak olan kısımdaki üremeden bir öze dolusu alınarak BHI broth'a ekim yapıldı ve 35°C'de 4-6 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası içerisinde %0,6 formalinize %0,85'lik NaCl bulunan tüpe BHI broth'da üreyen kültür aktarılarak türbiditesi McFarland No.3 olacak şekilde Densimat (Biomerieux, 21250) ile ölçülerek suspanse edildi.

Salmonella H Kompleks antiserumları, *Salmonella* H Single faktör antiserumları ve diğer *Salmonella* H antiserumları kullanılarak tüp aglütinasyon testleri yapıldı. Tüp aglütinasyon testinde, üretici firma protokolüne uygun şekilde dilue edilmiş (*Salmonella* H Kompleks antiserumları, *Salmonella* H Single faktör antiserumları ve diğer *Salmonella* H antiserum x, z_{13}, z_{15} ve z_{28} dışında kalan

Salmonella H antiserumları için 1:1000; Diğer *Salmonella* H antiserumları x, z_{13}, z_{15} ve z_{28} için ise 1:500) ve 0,5'er ml tüplere aktarılmış antiserumlar üzerine test edilecek izolatın türbiditesi ayarlanmış olan kültüründen her bir tüp içerisine 0,5'er ml ilave edilerek 50±2°C'deki su banyosunda 1 saat inkübe edildi. Tüplerin su banyosu içerisinde veya su banyosundan çıkarılma esnasında ve okunmadan önce sallanmamasına veya çalkalanmamasına dikkat edildi. İnkübasyon sonunda tüplerde gözlenen pozitif ve negatif aglütinasyon sonuçları değerlendirildi. Değerlendirme sonucunda Faz 2 antijenleri belirlenerek izolatın serotiplendirme işlemi tamamlandı (Grimont, & Weill, 2007; Guibourdenche ve ark., 2010; Issenhuth-Jeanjean ve ark., 2014).

3.2.3 Serovarların Doğrulanması

3.1.1'de belirtilen 161 adet *Salmonella* spp. izolatından serotiplendirme çalışmaları sonrasında seçilen 10 izolat doğrulama amacıyla T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarı'na gönderildi.

3.2.4. *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium spesifik rPCR (SE/ST-rPCR)

SE/ST-rPCR için, önceden ISO 6579-1:2017 (ISO, 2017) ile izole edilerek MC agarda üretilen bir öze dolusu saf kültürün eppendorf tüpü içerisinde 500 µl steril PCR-grade su ile homojenize edilip vortekslenerek (Stuart, SA8) -20°C'de stoklanan *Salmonella* spp. izolatlarına ait PCR örnekleri kullanıldı.

3.2.4.1. SE/ST-rPCR için Templeyt Hazırlama

SE/ST-rPCR analizinde kullanılmak üzere DNA izolasyonunda, Foodproof StarPrep One Kit (Biotecon, S400 07) el kitabı 2.3.1'de belirtilen prosedür gereklilikleri uygulandı. Eppendorf tüpleri içerisinde -20°C derin dondurucuda saklanan örnekler oda sıcaklığında çözündürülerek vorteksle (Stuart, SA8) homojenize edildikten sonra 8,000 × *g*'de 5 dakika santrifüje (Thermo Scientific, MicroCL 17)

edildi. Santifüj işleminin ardından supernatant pipetle uzaklaştırılarak Eppendorf tüpünün dip kısmında kalan pelet üzerine 200 µl lizis buffer eklenip homojenizasyon için vortekslendi. Kapakları iyice sıkıştırılan tüpler blok ısıtıcıda (Techne, DB-2D-FDB02DD) 97,5°C'de 10 dakikalık inkübasyonun ardından vortekslenip, 13,000 × *g*'de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminin ardından izole edilen supernatant içerisinde kalan DNA'nın saflığı ile konsantrasyonu Nanodrop Spektrofotometre (Thermo Scientific, ND-1000) ile ölçülerek miktarı 100 ng/µl, absorbans değeri 1,6-2,0 aralığında olan izolat DNA'ları, SE/ST-rPCR analizlerinde templeyt olarak kullanıldı.

3.2.4.2. *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium spesifik rPCR (SE/ST-rPCR) Analizi

Hazırlanan izolat DNA'larının *S*. Enteritidis ve *S*. Typhimurium serovarlarına ait olup olmadığının tespiti amacı ile içerisinde önceden doldurularak liyofilize edilmiş 96 reaksiyon kuyucuklu, 8'li tüp stripleri içeren Foodproof *Salmonella* Enteritidis & Typhimurium Detection Lyokit (Biotecon Diagnostics, R 602 34-1/R 602 34-2) ile bu kitin kullanım gerekliliklerini karşılayan (*S*. Enteritidis deteksiyonu için FAM, *S*. Typhimurium deteksiyonu için HEX, ve IAC deteksiyonu için ROX boyalarını birlikte detekte edebilen kanalları olan) LightCycler 480 (Roche Diagnostics, 05015278001) cihazı kullanıldı.

Kitin el kitabı, 2.2. Prosedür bölümündeki (A) Programın planlanması kısmında yer alan protokol, sisteme (1) ön inkübasyon (37 ºC'de 4 dk ardından 95 ºC'de 5 dk, 1 siklus); (2) 50 siklus amplifikasyon (aşama 1: 95 ºC'de 5 sn, aşama 2 ve floresan sinyal okuma 60 ºC'de 60 sn) olarak yüklendi. (B) PCR karışımının hazırlanması aşamasında ise öncelikle, içerisinde kullanıma hazır PCR karışımı (*S*. Enteritidis ve *S*. Typhimurium DNA'sına ve IAC'a spesifik primerler, problar ile Taq DNA Polimeraz ve sıcaklığa duyarlı Uracil-DNA Glycosylase içeren) liyofilize edilmiş 96 reaksiyon kuyucuklu, 8'li tüp stripleri alüminyum paketinden çıkarıldı ve PCR port tüpüne yerleştirildi. Stripte bir adet kuyucuk pozitif kontrol ve bir adet kuyucuk negatif kontrol olarak belirlendi. Kuyucukların üzerindeki kapaklar açıldıktan sonra, negatif kontrol kuyucuğuna 25 µl PCR-grade su, pozitif kontrol kuyucuğuna ise 25 µl

foodproof® *Salmonella* Enteritidis & Typhimurium Detection Control Template, örnek kuyucuklarına ise herbir örnek DNA'sından 25 µl pipetlendi. Kapakları kapatılan stipler vorteks santrifüjde 200 × *g*'de 30 sn vortekslendikten sonra cihaza yerleştirilerek program başlatıldı.

Sonuçların değerlendirilmesinde kitin 2.4. bölümündeki veri yorumlanması kısmı kullanıldı. *S*. Enteritidis-spesifik DNA bölgesinin amplifikasyon analizi FAM etiketli proba uygun floresan kanalında, *S*. Typhimurium DNA bölgesinin amplifikasyon analizi HEX etiketli proba uygun floresan kanalında, IAC'ün spesifik amplifikasyonu ise ROX etiketli proba uygun floresan kanalında analiz edildi. Sonuçlar kitin el kitabı bölüm 2.4'deki tabloya göre yorumlandı (Tablo 6).

Tablo 6. Sonuçların değerlendirilmesi

FAM Kanalı	HEX Kanalı	ROX Kanalı	Sonuç Değerlendirme
+	+	+/-	*S*. Enteritidis ve *S*. Typhimurium Pozitif
-	+	+/-	*S*. Typhimurium Pozitif
+	-	+/-	*S*. Enteritidis Pozitif
-	-	+	*S*. Enteritidis ve *S*. Typhimurium Negatif
-	-	-	Geçersiz

3.2.5. İstatistiksel Analizler

Broyler karkas ve yenilebilir iç organ kaynaklı toplam 161 *Salmonella* izolatına uygulanan konvansiyonel serotiplendirme ve SE/ST-rPCR yöntemi sonrasında elde edilen sonuçların relatif doğruluk, duyarlılık, özgünlük değerleri; ISO 16140-2:2016 "Gıda Zincir Mikrobiyolojisi- Metot Validasyonu-Bölüm 2: Referans Metoda Göre Alternatif Metotların Validasyon Protokolü" (ISO, 2016) nde belirtildiği şekilde hesaplandı. Karşılaştırılan yöntemler arasındaki uyumun güvenirliği Cohen'in kappa (κ) testi ile belirlenerek (Landis, & Koch, 1977) SE/ST-rPCR'ın tiplendirmedeki etkinliği değerlendirildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, broyler karkas ve yenilebilir iç organ kaynaklı *Salmonella* izolatları, *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium varlığı yönünden konvansiyonel yöntem ve SE/ST-rPCR ile tiplendirilmek üzere analiz edilmiştir.

4.1. *Salmonella* spp. İzolatlarının Konvansiyonel Serotiplendirme Sonuçları

Salmonella spp. izolatlarının serolojik tiplendirilmesi amacı ile gerçekleştirilen serogruplandırma ve serotiplendirme işlemlerine ait aşamalar ve sonuçlar Tablo 7' de sunulmuştur.

4.1.1. Karkas Kaynaklı *Salmonella* spp. İzolatlarına ait Sonuçlar

Altı parti halinde izole edilen broyler karkaslarına ait *Salmonella* serovarları Tablo 8'de verilmiştir. Toplam 104 adet izolatın 86'sının (86/104, %82,70) *S.* Virchow, 15'inin (15/104, %14,42) *S.* Schwarzengrund, 1'inin (1/104, %0,96) *Salmonella* Bredeney ve 2'sinin (2/104, %1,92) ise tiplendirilemediği tespit edilmiştir (Tablo 10).

4.1.2. Yenilebilir İç Organ Kaynaklı *Salmonella* spp. İzolatlarına ait Sonuçlar

İki parti halinde izole edilen broyler yenilebilir iç organlarına ait *Salmonella* serovarları Tablo 9'da sunulmuştur. Elli yedi *Salmonella* izolatının 46 tanesi (46/57, %80,70) *S.* Virchow ve 11 tanesi (11/57, %19,30) *S.* Enteritidis olarak tiplendirilmiştir (Tablo 10).

Çalışmada incelenen izolatların tümü birlikte değerlendirildiğinde; sırasıyla *S.* Virchow (132/161, %81,99), *S.* Schwarzengrund (15/161, %9,32), *S.* Enteritidis (11/161, %6,83), *S.* Bredeney (1/161, %0,62) serovarları olarak bulunmuştur. İzolatlardan 2 adedi ise tiplendirilememiştir (2/161, %1,24). Bunula birlikte, 161 izolatın 11'i (%6,83) serovar Enteritidis olarak bulunurken, hiçbirinin Typhimurium serovarı olmadığı saptanmıştır (Tablo 10).

4.2. *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium Spesifik rPCR (SE/ST-rPCR) Sonuçları

Yapılan *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium spesifik rPCR analizlerine ait elde edilen sonuçlar örnek tipine göre aşağıda belirtilmiştir.

4.2.1. Karkas Kaynaklı *Salmonella* spp. İzolatlarına ait Sonuçlar

SE/ST-rPCR ile analiz edilen broyler karkas *Salmonella* spp. izolat DNAları'na ait sonuçlar Tablo 8'de verilmiştir. Toplam 104 adet örneğin *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium yönünden negatif sonuç verdiği belirlenmiştir (Tablo 10).

4.2.2. Yenilebilir İç Organ Kaynaklı *Salmonella* spp. İzolatlarına ait Sonuçlar

Broyler yenilebilir iç organ *Salmonella* spp. izolat DNAları ile gerçekleştirilen analiz sonuçları Tablo 9'da sunulmuştur. Birinci parti örneklerinin 6'sı ve ikinci parti örneklerinin ise 4'ü olmak üzere toplam 10 adedinin (10/57, %17,54) *S.* Enteritidis yönünüden pozitif olduğu bulunmuştur. Bunun yanı sıra, SE/ST-rPCR sonuçları, 161 izolat DNA'sının 10'unun (%6,21) Enteritidis serovarı açısından pozitif olduğunu, hiçbirinin Typhimurium serovarı olmadığını göstermiştir (Tablo 10).

4.3. İstatistiksel Analiz Sonuçları

ISO 16140-2:2016 (2016)'ya göre yapılan istatistiksel analizler sonrasında, referans yöntem olan konvansiyonel serotiplendirmeye göre alternative yöntem olan SE/ST-rPCR karşılaştırıldığında, rPCR'ın relatif doğruluğu %99,37, duyarlılığı %90,91 ve özgünlüğü %100 değerlerinde bulunmuştur. Ayrıca, konvansiyonel serotiplendirme ve rPCR arasındaki uyumun güvenirliğini ölçen Cohen'in kappa (κ) katsayısı da 0,94 olarak belirlenmiştir. Bu değer, her iki yöntem arasındaki uyumun neredeyse mükemmel (0,81-1,00) olduğunu göstermiştir (Tablo 11).

Tablo 7. Karkas ve yenilebilir iç organ kaynaklı *Salmonella* spp. izolatlarına ait serogruplandırma ve serotiplendirme aşamaları ve sonuçları

İzolat		Serogruplandırma			Serotiplendirme					
		Polivalan Antiserum	Grup Faktör Antiserum	Somatik (O) Antijen	Spicer-Edwards Antiserum	Flagellar (H) Antijen	Kompleks Antiserum	Single Faktör Antiserum	Flagellar (H) Antijen	Serovar
Kaynak (n)	**Sayı**					**Faz 1**			**Faz 2**	
	86	Poly B	C_1	6, 7, 14	2 ve 4	r	1 Kompleks	2	1, 2	Virchow O:7
	15	Poly A	B	1, 4, 12, 27	1, 3 ve 4	d	1 Kompleks	7	1, 7	Schwarzengrund O:4
Karkas (104)					**Kompleks Antiserum**		**Kompleks Antiserum**			
	1	Poly A	B	1, 4, 12, 27	L Kompleks	l, v	1 Kompleks	7	1, 7	Bredeney O:4
	2									Tiplendirilemedi

İzolat		Serogruplandırma			Serotiplendirme					
		Polivalan Antiserum	Grup Faktör Antiserum	Somatik (O) Antijen	Spicer-Edwards Antiserum	Flagellar (H) Antijen	Kompleks Antiserum	Single Faktör Antiserum	Flagellar (H) Antijen	Serovar
Kaynak (n)	**Sayı**					**Faz 1**			**Faz 2**	
	46	Poly B	C_1	6, 7, 14	2 ve 4	r	1 Kompleks	2	1, 2	Virchow O:7
Yenilebilir iç organ (57)					**Spicer-Edwards Antiserum**	**Kompleks Antiserum**	**Diğer H Antiserum**	**Flagellar (H) Antijen**		
								Faz 1	**Faz 2**	
	11	Poly A	D1	1, 9, 12	1 ve 4	G Kompleks	m	g, m	-	Enteritidis O:9

Tablo 8. Broyler karkas kaynaklı *Salmonella* izolatlarının konvansiyonel serotiplendirme ve rPCR sonuçları

Parti No (n)	İzolat No	İzolat ID	Serovar	SE/ST	
				Serotiplendirme	rPCR
1. Parti (11)	1	BD1-MS-XLD	Virchow	-	-
	2	AO1-MK-XLD	Virchow	-	-
	3	AY1-MS-XLD	Virchow	-	-
	4	AD1-MS-BS	Virchow	-	-
	5	KY1-MS-BS	Schwarzengrund	-	-
	6	BY1-MS-BS	Virchow	-	-
	7	BY2-MS-XLD	Virchow	-	-
	8	BD2-MS-BS	Schwarzengrund	-	-
	9	BO2-MK-BS	Schwarzengrund	-	-
	10	KO2-MS-XLD	Virchow	-	-
	11	KY2-MS-XLD	Schwarzengrund	-	-
2. Parti (14)	12	KY3-M-KXLS	Virchow	-	-
	13	AD3-MS-BS	Virchow	-	-
	14	A03-MS-BS	Virchow	-	-
	15	BD3-MS-BS	Virchow	-	-
	16	BO3-MS-BS	Schwarzengrund	-	-
	17	KO3-MK-BS	Virchow	-	-
	18	AY3-RV-BS	Virchow	-	-
	19	BO4-MK-BS	Schwarzengrund	-	-
	20	AD4-MS-BS	Virchow	-	-
	21	BD4-MK-XLD	Virchow	-	-
	22	KD4-MK-BS	Virchow	-	-
	23	AO4-MS-BS	Virchow	-	-
	24	AY4-MS-XLD	Virchow	-	-
	25	KY4-RV-XLD	Virchow	-	-
3. Parti (15)	26	BD5-MS-BS	Schwarzengrund	-	-
	27	BO5-MS-BS	Virchow	-	-
	28	KO5-MS-BS	Virchow	-	-
	29	AO5-RV-BS	Schwarzengrund	-	-
	30	BY5-MK-BS	Virchow	-	-
	31	AY5-MK-XLD	Virchow	-	-
	32	KY5-MK-BS	Virchow	-	-
	33	BD6-MS-XLD	Schwarzengrund	-	-
	34	B06-MS-BS	Schwarzengrund	-	-
	35	KD6-MS-BS	Virchow	-	-
	36	AO6-MS-XLD	Virchow	-	-
	37	AY6-MK-XLD	Virchow	-	-
	38	K06-MK-BS	Virchow	-	-
	39	KY6-MK-BS	Schwarzengrund	-	-
	40	BY6-MS-BS	Schwarzengrund	-	-
4. Parti (18)	41	A07-MS-XLD	Virchow	-	-
	42	BO7-MS-XLD	Virchow	-	-

	43	KO7-MS-XLD	Virchow	-	-
	44	KY7-MS-XLD	Virchow	-	-
	45	AY7-MS-XLD	Virchow	-	-
	46	BY7-RV-XLD	Virchow	-	-
	47	KO8-MS-BS	Virchow	-	-
	48	BO8-MS-BS	Virchow	-	-
	49	AO8-RV-XLD	Virchow	-	-
	50	AY8-MS-BS	Virchow	-	-
	51	KY8-MS-BS	Virchow	-	-
	52	BY8-MS-XLD	Virchow	-	-
	53	BD9-MS-XLD	Virchow	-	-
	54	BO9-MS-BS	Virchow	-	-
	55	KO9-MK-BS	Virchow	-	-
	56	KY9-MS-XLD	Virchow	-	-
	57	BY9-RV-XLD	Virchow	-	-
	58	AY9-RV-XLD	Virchow	-	-
5. Parti (15)	59	KD10-MS-XLD	Bredeney	-	-
	60	KO10-MS-XLD	Virchow	-	-
	61	BD10-MK-BS	Virchow	-	-
	62	BO10-MS-XLD	Virchow	-	-
	63	BY10-RV-BS	Virchow	-	-
	64	KY10-MS-XLD	Virchow	-	-
	65	AO10-MS-BS	Virchow	-	-
	66	AY10-MS-BS	Virchow	-	-
	67	BD11-MS-XLD	Virchow	-	-
	68	B011-MK-BS	Virchow	-	-
	69	KD11-MS-BS	Virchow	-	-
	70	KO11-MS-XLD	Virchow	-	-
	71	AO11-MS-XLD	Virchow	-	-
	72	KY11-MS-XLD	Virchow	-	-
	73	BY11-MS-XLD	Virchow	-	-
6. Parti (31)	74	BD12-MS-XLD	Tiplendirilemedi	-	-
	75	BO12-MS-BS	Virchow	-	-
	76	KD12-MS-XLD	Schwarzengrund	-	-
	77	KO12-MS-BS	Virchow	-	-
	78	AD12-MS-BS	Virchow	-	-
	79	KY12-MS-XLD	Tiplendirilemedi	-	-
	80	AO12-MS-BS	Virchow	-	-
	81	AY12-MS-XLD	Virchow	-	-
	82	BY12-MS-XLD	Virchow	-	-
	83	BO13-MS-XLD	Virchow	-	-
	84	BY13-MS-XLD	Virchow	-	-
	85	AD13-MS-XLD	Schwarzengrund	-	-
	86	AO-13-MS-XLD	Virchow	-	-
	87	BD13-MS-BS	Virchow	-	-
	88	KD13-MS-BS	Schwarzengrund	-	-
	89	KO13-MS-BS	Virchow	-	-

90	KY13-MS-BS	Virchow	-	-
91	AY13-MS-BS	Virchow	-	-
92	AD14-MS-XLD	Virchow	-	-
93	AO-14-MS-BS	Virchow	-	-
94	BD14-MS-BS	Virchow	-	-
95	BO14-MS-XLD	Virchow	-	-
96	KO14-MS-XLD	Virchow	-	-
97	KY14-MS-BS	Virchow	-	-
98	AY14-MS-XLD	Virchow	-	-
99	BY14-MS-XLD	Virchow	-	-
100	KD14-MS-BS	Virchow	-	-
101	Y-10-1-1C-XLD	Virchow	-	-
102	O-6-XLD	Virchow	-	-
103	D3-1B-XLD	Virchow	-	-
104	KD-MS-XLD	Virchow	-	-
		Toplam	**0**	**0**

Tablo 9. Broyler yenilebilir iç organ kaynaklı *Salmonella* izolatlarının konvansiyonel serotiplendirme ve rPCR sonuçları

Parti No (n)	İzolat No	İzolat ID	Serovar	SE/ST	
				Serotiplendirme	rPCR
1. Parti (30)	18	T1-MS-XLD	Virchow	-	-
	122	T2-MS-BP	Enteritidis	SE	-
	123	T3-MS-XLD	Virchow	-	-
	138	T4-MS-XLD	Virchow	-	-
	124	T5-MS-XLD	Virchow	-	-
	125	T6-MS-XLD	Virchow	-	-
	126	T7-MK-XLD	Virchow	-	-
	127	T8-MS-XLD	Virchow	-	-
	128	T9-MS-XLD	Virchow	-	-
	137	T10-MK-XLD	Virchow	-	-
	129	T11-MS-XLD	Virchow	-	-
	130	T12-MS-XLD	Virchow	-	-
	131	T13-MK-XLD	Virchow	-	-
	132	T14-MK-BP	Virchow	-	-
	133	T15-MS-BP	Virchow	-	-
	24	KKD-1-MK-XLD	Enteritidis	SE	SE
	25	KKD2-MS-BP	Enteritidis	SE	SE
	146	KKD3-MS-BP	Virchow	-	-
	147	KKD4-MS-XLD	Virchow	-	-
	26	KKD5-MS-XLD	Enteritidis	SE	SE
	29	KKD6-MK-XLD	Enteritidis	SE	SE
	148	KKD7-MK-XLD	Virchow	-	-
	27	KKD8-MS-XLD	Virchow	-	-
	30	KKD9-MS-BP	Virchow	-	-
	134	KKD-10-MK-BP	Virchow	-	-
	135	KKD11-MS-XLD	Enteritidis	SE	SE
	136	KKD12-MK-XLD	Virchow	-	-
	149	KKD13-MK-XLD	Virchow	-	-
	150	KKD14-MS-BP	Virchow	-	-
	28	KKD15-MS-XLD	Enteritidis	SE	SE
2. Parti (27)	139	T1-MS-XLD	Virchow	-	-
	140	T2-MS-XLD	Virchow	-	-
	142	T3-MS-XLD	Virchow	-	-
	20	T7-MS-XLD	Enteritidis	SE	SE
	21	T8-MS-BP	Enteritidis	SE	SE
	145	T9-MS-BP	Virchow	-	-
	143	T10-MS-XLD	Virchow	-	-
	141	T11-MS-XLD	Virchow	-	-
	144	T12-MS-XLD	Virchow	-	-
	19	T13-MS-XLD	Enteritidis	SE	SE
	22	T14-MS-BP	Virchow	-	-
	23	T15-MK-XLD	Enteritidis	SE	SE
	151	KKD1-MS-XLD	Virchow	-	-

156	KKD2-MS-XLD	Virchow	-	-
157	KKD3-MS-BP	Virchow	-	-
152	KKD4-MS-BP	Virchow	-	-
31	KKD5-MS-XLD	Virchow	-	-
158	KKD6-MS-XLD	Virchow	-	-
153	KKD7-MS-XLD	Virchow	-	-
154	KKD8-MS-XLD	Virchow	-	-
159	KKD9-MS-XLD	Virchow	-	-
160	KKD10-MS-BP	Virchow	-	-
155	KKD11-MS-XLD	Virchow	-	-
32	KKD12-MS-XLD	Virchow	-	-
34	KKD13-MS-XLD	Virchow	-	-
161	KKD14-MS-XLD	Virchow	-	-
33	KKD15-MS-XLD	Virchow	-	-
		Toplam	**11 SE**	**10 SE**

Tablo 10. *Salmonella* izolatlarının örnek tipi ve partilere göre serovar dağılım yüzdeleri ile SE/ST-rPCR sonuçları

Kaynak (n)	Parti No (n)	Serovar				Tiplendirilemedi	SE/ST-rPCR
		Virchow	Bredeney	Enteritidis	Schwarzengrund		
Karkas (104)	1 (11)	7 (63,64)	-	-	4 (36,36)	-	0 (0,00)
	2 (14)	12 (85,71)	-	-	2 (14,29)	-	0 (0,00)
	3 (15)	9 (60,00)	-	-	6 (40,00)	-	0 (0,00)
	4 (18)	18 (100,00)	-	-	-	-	0 (0,00)
	5 (15)	14 (93,33)	1 (6,67)	-	-	-	0 (0,00)
	6 (31)	26 (83,87)	-	-	3 (9,68)	2 (6,45)	0 (0,00)
	Toplam (%)	86 (82,70)	1 (0,96)	0 (0,00)	15 (14,42)	2 (1,92)	0 (0,00)
Yenilebilir iç organ (57)	1 (30)	23 (76,67)	-	7 (23,33)	-	-	6 SE (20,00)*
	2 (27)	23 (85,19)	-	4 (14,81)	-	-	4 SE (14,81)
	Toplam (%)	46 (80,70)	-	11 (19,30)	-	-	10 SE (17,54)*
Karkas + yenilebilir iç organ (161)	Genel Toplam (%)	132 (81,99)	1 (0,62)	11 (6,83)	15 (9,32)	2 (1,24)	10 (6,21)*

* Bir adet serovar Enteritidis izolatı SE/ST-rPCR'da negatif sonuç verdi.

Tablo 11. SE/ST spesifik rPCR yönteminin relatif doğruluk, duyarlılık ve özgünlük sonuçları

Referans Yöntem		Alternatif Yöntem					
Konvansiyonel Serotiplendirme		SE/ST-rPCR					
Pozitif	Negatif	Yanlış $_{negatif}$	Yanlış $_{pozitif}$	Doğruluk (%)	Duyarlılık (%)	Özgünlük (%)	κ
11	150	1	0	99,37	90,91	100	0,94

κ: Cohen kappa katsayısı

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Salmonlla spp. serotiplerinin özellikle de patojen olan ve yasal mevzuatta aranması gerektiği bildirilen *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium serovarları yönünden araştırıldığı uluslararası düzeyde yayımlanmış güncel literatürün incelenmesi sonucunda, özellikle aynı örnek tipi (broyler/tavuk karkas ve yenilebilir iç organ/sakatat) üzerinde çalışılan, farklı uluslararası standart izolasyon yöntemi (ISO 6579:2002, ISO 6579-1:2017, FDA-BAM) ile izole edilmiş ve serotiplendirmenin konvansiyonel yöntem ve/veya serovar spesifik PCR yöntemi kullanılarak yapıldığı çalışmaların bulguları temel alınarak tartışılmıştır.

5.1. Karkas Kaynaklı *Salmonella* Serovarları

Çalışmada, broyler karkaslarından elde edilen *Salmonella* izolatlarının konvansiyonel serotiplendirme ve SE/ST-rPCR ile hiçbirinin *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium olmadığı bununla birlikte %82,70'inin *S.* Virchow, %14,42'sinin *S.* Schwarzengrund, %0,96'sının *S.* Bredeney serovarı olduğu ve %1,92'sinin ise tiplendirilemediği tespit edilmiştir (Tablo 10).

Forgaciu ve ark. (2022)'nın Romanya'da 2011-2021 yılları arasında kanatlı karkası, parça eti ve sakatatlarından ISO 6579-1:2017 metodu ile elde ettikleri 112 *Salmonella* izolatının, patojenik *Salmonella* serovarlarının (SE ve ST yönünden) prevalansı, antimikrobiyal duyarlılığı ve antimikrobiyal direnç genlerini karakterize etmek amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmada, tüm izolatların %56'sının *S.* Enteritidis ve %25'inin *S.* Typhimurium olduğu rapor edilmiştir. Multipleks PCR analizi ile bu serovarların kanatlı karkas kökenli izolatlardaki oranını ise, Enteritidis için %60,4 iken Typhimurium için %20,8 ve SE/ST dışındaki serovarlar için de %18,8 olarak belirtmiştir.

Aynı yıl Mısır'da yapılan diğer çalışmada, Elshebrawy ve ark. (2022) tarafından süpermarketlerden Ağustos 2019-Nisan 2020 döneminde (yılın dört mevsimi boyunca) satın alınan toplam 200 adet dondurulmuş bütün tavuk karkasının ISO 6579-1:2017'ye göre 78'inin (%39) *Salmonella* spp. ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Konvansiyonel serotiplendirme ile test edilen 152 izolatın içerisinde en

yaygın serovarların sırasıyla *S.* Typhimurium %24,3 (37/152), *S.* Enteritidis %19,1 (29/152) ve *S.* Kentucky %16,4 (25/152) olduğu saptanmıştır.

Rusya'da Zaiko ve ark. (2021) tarafından, sosis üretiminde kullanılan ham madde kanatlı eti, domuz eti, sığır eti ve kıymasından izole edilen salmonellaların prevalans, serovar ve antimikrobiyal direnç profillerini araştırmak amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmada, ISO 6579-1:2017 kullanılarak toplam 116 örneğin 20 tanesinin *Salmonella* varlığı yönünden pozitif olduğu bulunmuştur. Yirmi pozitif örneğin 6'sının (%20,7) kanatlı eti kaynaklı olduğu ve konvansiyonel serotiplendirme ile 2'şer tanesinin *S.* Enteritidis (%33,3) ve *S.* Agama iken 1'er tanesinin de *S.* Typhimurium (%16,6) ve *S.* Infantis serovarları olduğu tespit edilmiştir.

2021 yılında sığır, domuz ve kanatlı kesimhanelerinde resmi veteriner hekim tarafından denetlenerek insan tüketimine uygun olarak sınıflandırılan karkas parçalarından elde edilen 180 örnek (60 sığır eti, 60 domuz eti ve 60 kanatlı eti) üzerinde yapılan çalışmada, ISO 6579-1:2017 ile kanatlı etlerinin %56,67'sinin (34/60) *Salmonella* taşıdığı bulunmuştur. Geleneksel serotiplendirme sonrasında, kanatlı izolatlarının 19'unun (%31,67) *S.* Enteritidis yönünden pozitif iken *S.* Typhimurium yönünden negatif olduğu belirlenmiştir (Pławińska-Czarnak ve ark., 2021). Polonya'da yapılan bu çalışmada, incelenen kesimhane kaynaklı kanatlı etlerinde *S.* Typhimurium serovarının bulunmaması yönünden bulgumuz ile uyum göstermektedir.

Aynı yıl, Juncu ve ark. (2021) tarafından Moldova'da, Merkezi Tarım Pazarı'nda satılan kanatlı karkası ve yumurta örneklerinde *Salmonella* spp. ve *Listeria* spp. varlığı araştırılmıştır. Bu amaç ile 60 yumurta, 20 dondurulmuş ve 40 soğutulmuş piliç karkas olmak üzere toplam 120 örnek incelenmiştir. *Salmonella* varlığının belirlenmesinde kullanılan ISO 6579-1:2017 metodu ile 60 karkas örneğinin 6'sında (%10) *Salmonella* spp. tespit edilmiş, 6 izolatın 4'ünün (%66,6) Enteritidis ve 2'sinin de Typhimurium (%33,3) serovarı olduğu konvansiyonel serotiplendirme ile belirlenmiştir.

Awad ve ark. (2020), Eylül-Aralık 2017 tarihleri arasında Mısır'ın Mansoura şehrinde yerel perakende tavuk eti satış yerlerinden aldıkları 200 tavuk karkasını, *Salmonella* serovarlarının belirlenmesi yönünden analiz etmiştir. ISO 6579:2002 ile incelenen karkasların 31'i (%15,5) *Salmonella* spp. içermekte olup izolatların

Kauffmann-White-Le Minor'e göre serotiplendirilmesi sonucunda, en prevalan serovarlar *S*. Enteritidis (%22,6), *S*. Kentucky (%22,6) ve *S*. Typhimurium (%19,4) olarak saptanmıştır.

Çin'in Shaanxi Eyaletinde yapılan bir diğer çalışmada, Nisan-Ekim 2011 ve Ocak-Mart 2012 ayları arasında her ay 20 (10 kesimhane ve 10 perakende kaynaklı) soğutulmuş/dondurulmuş tavuk karkas örneği olmak üzere 10 ay boyunca toplam 200 örnek, *Salmonella* serovarlarının prevalansını belirlemek için analiz edilmiştir. Elde edilen 406 *Salmonella* izolatından 39 adet serotip tanımlanmış ve en yaygın serovar *S*. Typhimurium (%16,7) olarak rapor edilmiştir. Diğer yaygın serotipler arasında *S*. Thompson (%12,8), *S*. Essen (%9,1), *S*. Infantis (%6,9), *S*. Rissen (%5,7) ve *S*. Enteritidis (%5,4) bulunduğu bildirilmiştir (Li ve ark., 2020).

Brezilya'da Penha Filho ve ark. (2019) tarafından 2009 ve 2012 yılları arasında beş farklı çiftlik ve iki farklı mezbahadan alınan broyler karkas örneklerinden izole ettikleri *Salmonella* serovarlarının Çoklu İlaç Direnci-ÇİK (Multi Drug Resistant-MDR)'nin belirlendiği 2019 yılında yapılan çalışmada, öncesinde ISO 6579:2002 yöntemi ile izole edilerek stoklanan 83 *Salmonella enterica* izolatının konvansiyonel serotiplendirilmesi sonrasında 36 farklı serovar saptanmıştır. En yaygın serovar, *S*. Schwarzengrund, (10/83; %12) olup ikinci yaygın serovarın *S*. Infantis (7/83; %8,5) ve takiben aynı prevalans oranları ile *S*. Enteritidis ve *S*. Typhimurium (2/83; %2,4) olduğu bulunmuştur. Ayrıca, bu serovarın %90'a ulaşan yüksek MDR oranlarına sahip olduğu ve bu özelliğinin serovarın hayvanlarda sıklıkla bulunmasına ve yayılmasına katkıda bulunmuş olabileceği de bildirilmiştir. Karkas kaynaklı izolatlarda elde ettiğimiz hem *S*. Schwarzengrund serovarı ve hem de prevalans oranı (%14,42) yönünden bulgumuz ile bu çalışmadaki serovarın varlığı ve prevalans bulgusu (%12) benzerlik göstermektedir.

Broyler karkas ve sakatatlarından izole edilen salmonellaların virulans genleri ile antibiyotik direnç genlerinin tanımlanması amacıyla Mısır'da yapılan çalışmada, 50 karkas ve 50 sakatat örneği ISO 6579:2002 metodu ile analiz edilmiş, karkas örneklerinin %72'si (36/50) *Salmonella* pozitif olarak sonuç vermiştir. *Salmonella* izolatlarının serotiplendirilmesinde Kauffmann-White şeması kullanılmış ve izolatların %52,8'i *S*. Infantis, %36,1'i *S*. Kentucky ve %5,55'i *S*. Virchow serovarı olarak belirlenmiştir (Hassan, Salam, & Abdel-Latef, 2021). Çalışmada, karkas

örneklerinde Virchow serovarının bulunması yönünden bulgumuz ile paralellik bulunmakta iken bu serovara ait prevalans oranı (%5,55) yönünden bulgumuzdan (%82,70) düşük bulunmaktadır.

Dört farklı ülkeden Irak'a ithal edilen donmuş tavuk karkaslarındaki *Salmonella* varlığı ve izolatların antimikrobiyal dirençliliği açısından Harb ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada, İran (100), Türkiye (100), Brezilya (100) ve Hindistan (100)'dan geldiği bilinen markalara ait toplam 400 adet örnek, Kasım 2015 ile Ağustos 2016 arasında farklı perakende mağaza ve pazarlardan toplanmıştır. ISO 6579:2002 kullanılarak yapılan analizler sonrasında, tavuk karkas örneklerinin 46'sının (%11,5) *Salmonella* spp. varlığı yönünden pozitif olduğu, 46 *Salmonella* izolatı içerisinde konvansiyonel serotiplendirme ile 14 farklı serotip bulunduğu saptanmıştır. *S*. Typhimurium en yaygın serotip (%23,9- 11/46), ardından *S*. Enteritidis (%21,7-10/46) ve *S*. Kentucky (%10,9-5/46) diğer yüksek prevalans oranına sahip serotipler olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, *Salmonella* prevalansının tavuğun ithal edildiği ülkelere göre değişiklik gösterdiği belirlenmiş olup İran'dan ithal edilen karkaslarda %16, Brezilya menşeli karkaslarda %12, Türkiye'den ithal edilen tavuklarda %11 ve Hindistan'dan gelenlerde %7 oranında bulunduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde, *Salmonella* serovar Typhimurium'un İran'dan ithal edilen örneklerde belirgin şekilde yaygın (%72,7) iken, Brezilya'dan ithal edilen dondurulmuş tavuklarda serovar Enteritidis'in en prevalan olduğu (%50), Türkiye'den gelenlerde ise *S*. Kentucky'nin (%80) baskın serovar olduğu rapor edilmiştir.

Atlanta metropol bölgesindeki (Georgia, ABD) perakende satış yerlerinden toplanan derili ve derisiz tavuk parça etleri (but ve göğüs), *Salmonella* prevalansı ve serotiplerini belirlemek üzere analiz edilmiştir. Derili örneklerde prevalansın derisiz örneklere göre daha yüksek bulunduğu (derili baget örneklerinde %41) bildirilen çalışmada, 117 *Salmonella* izolatı elde edilmiştir. İzolatların tiplendirilmesi, PFGE temelli serotiplendirme ile genotipik olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçta, *S*. Heidelberg (%46,1), *S*. Kentucky (%26,4), *S*. Typhimurium (%11,1), *S*. Infantis (%5,1), *S*. Seftenberg (%2,5) ve *S*. Thompson (%0,8) dahil olmak üzere sekiz *Salmonella* serotipi tanımlanmış olup bulgumuza paralel olarak incelenen örneklerde *S*. Enteritidis serovarı tespit edilmemiştir (Guran, Mann, & Alali, 2017).

Hu ve ark. (2017)'nın Çin'de yaptıkları bir çalışmada, Nisan 2011'den Mart 2012'ye kadar sürede altı farklı eyalette bulunan süpermarket ve çiftçi pazarlarından aldıkları 1438 soğutulmuş ve dondurulmuş tavuk karkas örneği, NTS serovarlarının dağılımı ve antimikrobiyal dirençliliği yönünden analiz edilmiştir. FDA-BAM metodu ile yapılan izolasyon sonrasında elde edilen 2210 adet izolatın, Kauffmann-White-Le Minor şeması dahilinde konvansiyonel ve multipleks PCR ile moleküler yöntem kullanılarak gerçekleştirilen serotiplendirilmesi sonucunda belirlenen serovarlar ve prevalans oranları yüksekten düşüğe sırasıyla; Enteritidis (673, %30,5), Indiana (365, %16,5), Infantis (211, %9,6), Typhimurium (163, %7,4) ve Agona (162, %7,3) olarak bulunmuştur. Aynı zamanda, serovarların bulunma sıklığının örneklerin alındığı mevsimlere göre değiştiği, örneğin *S*. Enteritidis sayısının kış aylarında artarken *S*. Typhimurium sayısının ise ilkbahar aylarında daha fazla olduğu rapor edilmiştir.

Aynı ülkede, Zhu ve ark. (2017), Mart 2012-Ekim 2014 yılları arasında yerel bir piliç kesim tesisinde, kesim ve işleme sırasında toplam 627 broyler örneğinde (196 sekal içerik, 181 soğutma öncesi karkas, 150 kanatma sonrası karkas ve 100 donmuş et ürünü) *Salmonella* izolatlarının antimikrobiyal dirençliliği ve direnç genlerinin varlığını araştırmıştır. Çalışmada, 431 adet karkas örneğinden elde edilen 98 izolatın geleneksel serotiplendirme sonrasında, 53'ü (%54,08) Enteritidis serovarı, 29'u (%29,60) Typhimurium serovarı olarak tanımlanmış ve 16'sı (%16,32) ise tiplendirilememiştir.

Brezilya'nın Rio de Janeiro eyaletindeki altı mezbahadan alınan 60 adet soğutulmuş tavuk karkas örneği FDA-BAM metodu ile incelenmiş, örneklerin 4'ünden (%6,67) *Salmonella* izole edilmiş ve 4 izolatın 2'sinin *S.* Typhimurium (%50) iken diğer ikisinin de *S.* Albany (%50) olduğu belirlenmiştir (Panzenhagen ve ark., 2016). Çalışma, karkas örneklerinde *S*. Enteritidis serovarı bulunmaması yönünden bulgumuza paralellik göstermektedir.

Cui ve ark. (2016), Çin'de damızlık ve broyler kümeslerinden, kesimhane ve parekende satış yerlerinden alınan örneklerde *Salmonella* prevalansı ve antimikrobiyal direncini inceledikleri çalışmada, toplam 1148 örnekten 172'sinin, 508 karkasa ait örneğin ise 116'sının (%22,83) *Salmonella* yönünden pozitif bulunduğunu rapor etmiştir. Konvansiyonel serotiplendirme ile predominant (82/116) serotipin *S.* Enteritidis (%70,6) olduğu, belirlenen diğer serovarların ise sırasıyla *S*. Infantis, *S.*

Gueuletapee, *S*. Derby, *S*. Meleagridis ve *S*. London olarak bulunduğu belirtilmiştir. Çalışmada, *S*. Typhimurium serovarının broyler karkas örneklerinde bulunmaması yönünden bulgumuza uyum göstermektedir.

Piliç eti örneklerinde *Salmonella* varlığını araştırmak ve izolatların antimikrobiyal duyarlılıklarını değerlendirmek amacıyla Romanya'nın Köstence sahilinde yapılan bir diğer çalışmada Tirziu ve ark., (2015), materyal olarak 317 örneği iki özel mezbahadan (289 adet karkas) ve sekiz perakende marketten (28 adet taze et) almış ve ISO 6579:2002 yöntemi ile analiz etmiştir. Yapılan izolasyon ve identifikasyon sonrasında, karkas örneklerinin 37'si (%12,8) ve taze et örneklerinin 5'i (%17,8) olmak üzere toplam 42 örneğin (%13,2) *Salmonella* ile kontamine olduğu bulunmuştur. Karkas örneklerindeki 37 izolata spesifik antiserumlar uygulanarak gerçekleştirilen aglütinasyon işlemi ile *Salmonella enterica* subsp. *enterica*'ya ait sekiz serotip belirlenmiştir. Bu serotipler sırasıyla; Infantis (13/37, %35,14), Bredeney (7/37, %18,92), Virchow (6/37, %16,22), Djugu (4/37, %10,81), Grampian (4/37, %10,81), Brandenburg (1/37, %2,70), Derby (1/37, %2,70) ve Ruzizi (1/37, %2,70) olarak tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada, belirlenen serotipler arasında *S*. Enteritidis ve *S*. Typhimurium bulunmaması ve ayrıca *S*. Beredeney ve *S*. Virchow serovarlarının karkas örneklerinde tespit edilmesi yönünden bulgularımız ile benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte, Bredeney ve Virchow serovarlarının karkas örneklerindeki prevalans oranı (%18,92 ve %16,22) bakımından çalışmamızda elde edilen prevalans oranları (%82,70 ve %0,96) yönünden uyumlu bulunmamaktadır.

Karkas örneklerinde yapılan çalışmalarda elde edilen serovarlar, *S*. Enteritidis ve *S*. Typhimurium varlığı yönünden incelendiğinde; *S*. Typhimurium'un bulunmaması yönünden bulgumuz, Plawinska-Czornak ve ark. (2021) ve Cui ve ark. (2016)'nın bulgusu ile, *S*. Enteritidis'in bulunmaması yönünden bulgumuz da, Guran ve ark. (2017) ve Panzenhagen ve ark. (2016)'nın bulgusu ile uyum göstermektedir. Bunun yanında, *S*. Enteritidis ve *S*. Typhimurium'un çalışmada tespit edilmemesi, her iki serovarın birlikte veya diğer serovarlarla beraber olduğunu bildiren araştırmacıların (Awad ve ark., 2020; Elshebrawy ve ark., 2022; Forgaciu ve ark., 2022; Harb ve ark., 2018; Hu ve ark., 2017; Juncu ve ark., 2021; Li ve ark., 2020; Zaiko ve ark., 2021; Zhu ve ark., 2017) bulguları ile uyumsuz bulunmaktadır.

Çalışmada en yaygın serovar olarak belirlenen Virchow'un varlığının bu örnek tipinde tespit edilmesi yönünden Hassan ve ark. (2021) ile Tirziu ve ark. (2015)'nın sonuçları ile benzer bulunurken serovara ait prevalans oranları (%5,55 ve %16,22) yönünden çalışmada elde edilen orandan (%82,70) çok daha düşük olduğu görülmektedir. Serotiplendirme sonrasında ikinci en prevalan (%14,42) serovar olarak bulduğumuz *S.* Schwarzengrund'a ait bulgumuz, bu serovarı %12'lik prevalans oranında karkaslarda tespit ettiğini bildiren Penha Filho ve ark. (2019) ile uyum göstermektedir. Bununla birlikte, *S.* Bredeney serovarının karkas örneklerinde saptanması (%18,92) yönünden Tirziu ve ark. (2015) ile benzer olan bulgumuz, prevalas oranı yönünden araştırıcıdan daha düşük (%0,96) olup uyumsuz bulunmaktadır.

5.2. Yenilebilir İç Organ Kaynaklı *Salmonella* Serovarları

Çalışmada, broyler yenilebilir iç organlarından elde edilen *Salmonella* izolatlarının konvansiyonel serotiplendirme ile %80,70'inin *S.* Virchow ve %19,30'unun *S.* Enteritidis olduğu, yapılan SE/ST-rPCR analizi ile de benzer şekilde izolatların %17,54'ünün *S.* Enteritidis iken *S.* Typhimurium olmadığı belirlenmiştir (Tablo 10).

Kanatlı hayvanların iç organları, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde yaygın olarak tüketildiğinden, 2023 yılında Güney Afrika'da Ndlovu ve ark. (2023) tarafından yapılan bir çalışmada, yenilebilir iç organların insanlarda *Salmonella* enfeksiyon kaynağı olabilme potansiyeli araştırılmıştır. KwaZulu-Natal'deki perakende satış noktalarından 446 tavuk sakatat (taşlık, kalp ve karaciğer) örneğinden izole edilen *Salmonella* serovarları, virülans faktörleri ve antimikrobiyal direnç profillerinin belirlenmesi amacıyla analiz edilmiştir. Sonuçta, ISO 6579-1:2017 metodu kullanılarak 446 sakatat örneğinin 13'ü *Salmonella* varlığı yönünden pozitif bulunmuştur. *Salmonella* izolatlarının Kauffmann-White-Le Minör şeması kullanılarak serotiplendirilmesi sonrasında %38,46 oranı ile en prevalan serovar olarak *S.* Heidelberg (5/13), ikinci %23,07 oranında *S.* Enteritidis (3/13) ve *S.* Infantis (3/13), üçüncü ise %7,69 oranında *S.* Typhimurium (1/13) ve *S.* Mbandaka (1/13) şeklinde saptanmıştır. Çalışmada belirlenen *S.* Enteritidis serovarına ait prevalans oranı (%23,07) ile elde ettiğimiz prevalans bulgumuz (%19,30) benzerlik göstermektedir.

Abdel-Kader ve ark. (2022), Mısırda yaptıkları çalışmada, perakende satış yerlerinden temin ettikleri 129 sakatat (boyun, karaciğer ve taşlık) örneğini, ISO 6579:2002 ile *Salmonella* spp. varlığı bakımından incelenmiş, 13 örneğin (%10,07) pozitif sonuç verdiği belirlenmiştir. Konvasiyonel serotiplendirme sonrasında ise en dominant serovarın *S*. Virchow (%15,38) olduğu, bunu takiben *S*. Enteritidis (%7,69) ve *S*. Typhimurium (%7,69)'un geldiği bildirilmiştir. *S*. Virchow'un dominant serovar olması ve *S*. Enteritidis'in de ikinci sırada yer alması yönünden bulgumuz, bu çalışma ile uyum gösterirken prevalans oranları yönünden ise yüksek bulunmaktadır.

Aynı ülkede aynı yıl yapılan diğer bir çalışmada, Saleh ve ark. (2022)'nca, 120 tavuk eti ve et ürünü (göğüs, uyluk, sakatat, dondurulmuş uyluk, nugget, burger, shish ve öğle yemeği, her birinden 15'er tane) ile 50 çiğ inek sütü örneği, *Salmonella* prevalansı, serotipleri, izolatların virülans genleri ve antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi amacıyla test edilmiştir. İncelenen örneklerden 15 sakatat örneğinin 4'ünden *Salmonella* izole edilmiş, geleneksel serotiplendirme ile yarısının (%50) *S*. Enteritidis iken %25'inin *S*. Typhimurium ve %25'inin de *S*. Kentucky olduğu rapor edilmiştir. *S*. Enteritidis serovarına ait prevalans (%19,30) bulgumuz ile çalışma uyum göstermemektedir.

Yemeye hazır taşlık örneklerinde, ISO 6579:2002 kullanarak *Salmonella* izolasyon oranını ve serotiplerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmada, Kasım 2016'dan Temmuz 2017'ye kadar Nijerya'da iki farklı marketten toplanan 100 adet örneğin 10 tanesinin pozitif bulunduğu ve serovarların beşinin *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar 45:d:1,7 ve beşinin de *S*. Haifa olduğu tespit edilmiştir (Raji ve ark., 2021).

Fowler ve ark., (2021) çalışmalarında, Nepal'de kümes hayvanları üretim bölgeleri içerisinde önde gelen Chitwan'da, tyfoidal olmayan *Salmonella enterica* (NTS) serotiplerinin yaygınlığı ve antibiyotik direnç modellerini tanımlamayı amaçlamıştır. 2021 yılında yapılan araştırmada, Mayıs 2019'da 18 kümes hayvanı çiftliğinden temin edilen 288 çevresel (su, yem, feçes, toprak/altlık, çiftlik svap ve yumurta kabuğu svap) ve 20 kesimhaneden alınan 420 biyolojik (kursak, sekum, kas, deri, kalp, karaciğer ve dalak) olmak üzere toplam 708 örnek NTS varlığı açısından test edilmiştir. İncelenen örnekler arasında çalışmamızda kullanılan aynı örnek tipi göz önüne alındığında, 180 sakatat (her birinden 30'ar adet kalp, karaciğer ve dalak)

örneğinin 32'sinin *Salmonella* spp. pozitif bulunduğu saptanmıştır. İzolatların spesifik antiserumlar ile konvansiyonel olarak serotiplendirilmesi sonucunda, en yaygın üç serovarın %49'luk (50/103) oran ile *S.* Typhimurium, %35'lik (36/103) oran ile *S.* Enteritidis ve %5'lik (5/103) oran ile de *S.* Virchow olarak belirlendiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada, yenilebilir iç organ kökenli *Salmonella* izolatlarında *S.* Virchow serovarının tespit edilmesi yönünden çalışmamız ile paralellik göstermekte olup bu serovara ait prevalans oranı (%5) yönünden bulgumuzdan (%80,70) düşük bulunmaktadır.

Mısır'da Hassan, Abd El Tawab, & El-Shannat, (2020)'nın gerçekleştirdikleri çalışmada, *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium izolatlarının genotiplendirilmesi ve prevalansı belirlenmiştir. Bu amaç için, farklı tavuk kesimhanelerinden 125 iç organ örneği (karaciğer, böbrek, kalp, dalak ve bağırsak) alınarak ISO 6579:2002 yöntemi ile analiz edilmiş ve 125 örneğin 12'sinin (%9,6) *Salmonella* pozitif olduğu bildirilmiştir. Elde edilen izolatlara, *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium spesifik PCR ile tiplendirme yapılmış, 12 *Salmonella* izolatının %75'inin (9/12) *S.* Enteritidis ve %25'inin (3/12) *S.* Typhimurium olduğu tespit edilmiştir.

Byomi ve ark., (2019) çalışmalarında, hem hayvan hem de insanlarda salmonelloz epidemiyolojisini belirlemek amacıyla farklı kaynaklardan 352 örnek almıştır. Kanatlı sakatatlarından 114 (52 karaciğer, 32 taşlık, 30 kalp), dondurulmuş kıymalardan 58, buzağı feçesinden 50 ve insan feçesinden 130 örnek *Salmonella* spp. varlığı açısından incelenmiştir. Sakatat örneklerindeki prevalansın %68,42 (78/114) olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sakatat kökenli 78 *Salmonella* izolatının içerisinden tesadüfen seçilen üç tanesine yapılan geleneksel serotiplendirme sonrasında, ikisinin (%66,6) *S.* Typhimurium iken birinin (%33,3) *S.* Enteritidis olduğu bulunmuştur. *S.* Enteritidis serovarının tespit edilmesi yönünden çalışma, bulgumuz ile paralellik göstermektedir

Aynı ülkede yapılan diğer bir çalışmada, broyler karkas ve sakatatlarından izole edilen salmonellaların virulans genleri ile antibiyotik direnç genlerinin tanımlanması amacıyla 50 karkas ve 50 sakatat (karaciğer, kalp ve taşlık) örneği alınmış, ISO 6579:2002 metodu ile analiz edilmiş, sakatat örneklerinin %64'ü (32/50) *Salmonella* pozitif olarak sonuç vermiştir. *Salmonella* izolatlarının serotiplendirilmesinde Kauffmann-White şeması kullanılmış ve izolatların %50'si *S.*

Infantis, %25'i *S.* Kentucky ve %12,5'i *S.* Virchow olarak belirlenmiştir (Hassan, Salam ve Abdel-latef, 2021). Çalışmada, sakatat örneklerinde Virchow serovarının bulunması yönünden bulgumuz ile benzerlik bulunmakta iken bu serovara ait prevalans oranı (%12,5) yönünden bulgumuzdan (%80,70) düşük bulunmaktadır.

Salmonella spp. izolasyonunda iki kültür yönteminin (ön zenginleştirme ve doğrudan seçici katı besiyerinde zenginleştirme) performansını değerlendirmek üzere Arjantin'de yapılan çalışmada, dokuz farklı kesimhaneden alınan 666 tavuk karaciğer örneğinin 32'sinin (%4,80) *Salmonella* ile kontamine olduğu saptanmıştır. Dört kesimhaneden izole edilen toplam 50 *Salmonella* izolatına konvansiyonel serotiplendirme yapılmış ve üç serovar tespit edilmiştir. En dominant serovar *S.* Schwarzengrund (%78) iken *S.* Enteritidis (%18) ve *S.* Typhimurium (%4) diğer serovarlar olarak bulunmuştur (Procura ve ark., 2019). Çalışmadaki *S.* Enteritidis serovarının prevalans oranı (%18), çalışmamızda elde edilen serovar Enteritidis oranı (%19,28) ile benzerlik göstermektedir.

Ülkemizde Telli ve ark., (2018) tarafından yapılan bir araştırmada, tüketime sunulan tavuk eti ve sakatatlarında *Salmonella* spp. ve iki önemli *Salmonella* serotipinin (*S.* Thyphimurium ve *S.* Enteritidis) varlığı ve izolatların antimikrobiyal direncinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Konya ilindeki süpermarket ve kasaplarda tüketime sunulan tavuklara ait karaciğer (40), taşlık (40), kalp (30), deri (30), baget (10) ve kanat (20) olmak üzere toplam 170 örnek, ISO 6579:2002 metodu ile analiz edilmiş ve 43 tanesi (%25,29) *Salmonella* varlığı yönünden pozitif bulunmuştur. Yenilebilir iç organ örneklerindeki prevalansın ise karaciğer örneklerinde %17,5 (7/40), taşlık örneklerinde %20 (8/40) ve kalp örneklerinde de %0 olduğu saptanmıştır. Elde edilen 15 izolatın *S.* Thyphimurium ve *S.* Enteritidis spesifik dupleks PCR yöntemi ile tiplendirilmesi sonrasında, bu serovarlar yönünden negatif olarak sonuç verdiği rapor edilmiştir. Bunun yanı sıra, yasal mevzuat açısından daha düşük insidense sahip patojen türlerin tespit edilmesine yönelik çalışmalara dikkat çekmenin önemli olduğu bildirilmiştir. Çalışma, *S.* Thyphimurium serovarının bulunmaması yönünden bulgumuz ile uyum göstermektedir.

Mısır'da yerel perakende mağazalarında satışa sunulan ve rastgele alınan 50 adet tavuk karaciğer ve taşlık örneğinin FDA-BAM metodu ile yapılan analizi sonrasında, karaciğer ve taşlıkların sırasıyla %24 ve %36'sından *Salmonella* spp. izole

edilmiştir. Sakatat örneklerine ait izolatların spesifik antiserumlar kullanılarak yapılan tiplendirilme işlemi sonrasında, %16'sının *S.* Enteritidis, %16'sının *S.* Typhimurium, %8'inin *S.* Infantis, %8'inin *S.* Kentucky, %4'ünün *S.* Labadi, %4'ünün *S.* Larochelle ve %4'ünün de *S.* Virchow olduğu belirtilmiştir (Hassanin ve ark., 2017). *S.* Enteritidis'in prevalans oranı (%16) ile çalışmamızda elde edilen *S.* Enteritidis prevalans bulgusu (%19,30) benzerlik göstermektedir.

Aynı ülkede yapılan diğer bir çalışmada, 2014-2015 yılları arasında Kafr El-Sheikh Eyaletinde bulunan 41 broyler tavuk çiftliğinden izole edilen *Salmonella enterica* serovarlarının prevalansı, epidemiyolojik ve moleküler tiplendirilmesi ile antibiyotik duyarlılıkları incelenmiştir. Broyler sürülerinden elde edilen toplam 615 iç organ (205 karaciğer, 205 bağırsak içeriği ve 205 safra kesesi) örneği salmonellaların varlığı yönünden analiz edilmiştir. Yenilebilir iç organ olarak düşünüldüğünde sadece karaciğer örnekleri temelinde alınan sonuçlar değerlendirildiğinde, 205 örneğin 22'sinde (%10,74) *Salmonella* pozitif sonuç vermiştir. *Salmonella enterica* serovarlarının belirlenmesinde ise *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium spesifik geleneksel PCR yöntemi kullanılmış ve 22 izolatın 20'si (%90,90) *S. enterica* serovar Enteritidis ve kalan iki izolatın (%9,10) da *S. enterica* serovar Typhimurium olduğu bildirilmiştir (El-Sharkawy ve ark., 2017).

Ülkemizde Al ve ark., (2016) tarafından yapılan çalışmada, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovarlarından Typhimurium, Enteritidis ve Typhi'nin kanatlı ürünlerindeki varlığını ve antimikrobiyal dirençliliklerini belirlemek üzere Kayseri'de satışa sunulan 100 yumurta, 60 et ürünü (20 nugget, 20 salam) ve 92 sakatat (50 karaciğer ve 42 taşlık) olmak üzere 252 adet örnek alınmıştır. Örneklerdeki *Salmonella* spp. varlığı ve serovarları konvansiyonel PCR ile analiz edilmiştir. İncelenen 92 sakatat örneğinin 42'sinin (%46) *Salmonella* spp. yönünden pozitif olduğu, *S.* Typhimurium'un %35,71 (15/42) oranı ile en prevalan serovar iken *S.* Enteritidis'in ise %4,76 (2/42) oranında bulunduğu bildirilmiştir.

Ülkemizde yapılan bir başka araştırmada Göncüoğlu ve ark., (2016)'nın Ankara'da süpermarketlerde satışa sunulan tavuk karaciğer, karkas ve kanat örneklerinde *Salmonella* spp. ve *S.* Typhimurium'un prevalansı ve antibiyotik dirençliliğini belirlemek üzere yaptığı çalışmada, ISO 6579:2002 ile 110 karaciğer örneğinin 37'sinde (%33,63) *Salmonella* spp. izole edilmiştir. İzolatların konvansiyel

serotiplendirilmesi neticesinde, %21,62'sinin Typhimurium serovarı olduğu bildirilmiştir. Çalışma, incelenen örneklerde *S*. Typhimurium'un bulunması yönünden bulgumuz ile uyum göstermemektedir.

Kanatlı eti ve sakatatında *Salmonella* prevalansı, serotipleri ve antimikrobiyal dirençliliğinin belirlendiği İran'da yapılan araştırmada, Sodagari, Mashak, & Ghadimianazar (2015), perakende satış yerlerinden 200 tavuk eti ve 360 sakatat (120 karaciğer, 120 taşlık ve 120 kalp) olmak üzere toplam 560 örnek toplamıştır. Sakatat örneklerinde, *Salmonella* izolasyon oranı %14,72 (53/360) olarak belirlenmiş ve Kauffmann-White şemasına göre izolatların beş serotipe ait olduğu saptanmıştır. Baskın serotipin *S*. Thompson (%35,85; 19/53) iken ikinci baskın serotipin *S*. Enteritidis (%24,52; 13/53) ve sırasıyla *S*. Typhimurium (%20,75; 11/53), *S*. Newport (%15,10; 8/53) olduğu ve izolatların %3,78'inin (2/53) ise tiplendirilemediği rapor edilmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde *S*. Enteritidis'in ikinci en yaygın serovar olarak belirlenmesi ve prevalans değerinin de bulgumuza (%19,30) paralel bir değerde olması yönünden uyumlu bulunmaktadır.

Yenilebilir iç organ örneklerinde yapılan çalışmalarda elde edilen serovarlar, *S*. Enteritidis ve *S*. Typhimurium varlığı yönünden incelendiğinde; her iki serovarın tespit edilmediğini bildiren çalışmalar (Raji ve ark., 2021; Telli ve ark., 2018) ve *S*. Enteritidis'in bulunmadığını rapor eden Hassan ve ark. (2021) ile bulgumuz uyum göstermemektedir. Her iki serovarın varlığı yönünden pozitif sonuç elde edilen makaleler (Abdel-Kader ve ark., 2022; Al ve ark., 2016; Byomi ve ark., 2019; El-Sharkawy ve ark., 2017; Fowler ve ark., 2021; Hassan ve ark., 2020; Hassanin ve ark., 2017; Ndlovu ve ark., 2023; Procura ve ark., 2019; Saleh ve ark., 2022; Sodagari ve ark., 2015) ile çalışmamız *S*. Enteritidis bulunması ile uyumlu iken *S*. Typhimurium bulunması bakımından uyumlu bulunmamaktadır.

S. Enteritidis'e ait prevalans bulgumuz (%19,30) ise; Ndlovu ve ark. (2023), Procura ve ark. (2019), Hassanin ve ark. (2017) ve Sodagari ve ark. (2015)'nın bulgularına (%16-%24,52) benzer olup, Abdel-Kader ve ark. (2022) ve Al ve ark. (2016)'nın bulgularından (%4,76 ve %7,69) yüksek, Saleh ve ark. (2022), Fowler ve ark. (2021), Hassan ve ark. (2020), Byomi ve ark. (2019), El-Sharkawy ve ark. (2017)'nın değerlerinden (%33,30-%90,90) ise düşük bulunmaktadır. Çalışmada en prevalan serovar olarak belirlenen Virchow'un varlığının bu örnek tipinde tespit

edilmesi yönünden, Abdel-Kader ve ark. (2022), Fowler ve ark. (2021), Hassan ve ark. (2021) ve Hassanin ve ark. (2017)'nın sonuçları ile paralellik göstermekte olup serovara ait prevalans oranları (%15,38, %5, %12,5 ve %4) bakımından çalışmada elde edilen orandan (%80,70) çok daha düşük olduğu görülmektedir.

Son 10 yıl içerisinde broyler eti ve/veya iç organlarında *Salmonella* serovar farklılıkları ve prevalanslarının rapor edildiği ve uluslararası dergilerde yayınlanan araştırma bilgileri, yıl ve coğrafi bölge yönünden sınıflandırarak değerlendirildiğinde, Amerika kıtasından özellikle Brezilya ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmalarda Enteritidis ve Typhimurium serovar izolasyon oranlarında azalışa karşın Heidelberg, Kentucky, Newport, Schwarzengrund gibi serovarların izolasyon oranlarında artış gözlemlenmektedir (Baptista, 2023; Guran, 2017; Panzenhager, 2016; Penha Filho, 2019). Avrupa'da daha çok Romanya'da yapılmış olan çalışma verileri olması göz önünde bulundurularak yapılan değerlendirmede ise son yıllarda Enteritidis ve Typhimurium serovar izolasyon oranları oldukça yüksek olup, bu serovarları Derby, Newport, Infantis ve Kentucky izlemektedir (Forgaciu, 2022; Juncu, 2021; Plawinska, 2021; Tirziu, 2015). Coğrafyasının genişliği ile büyük bir kesimi kapsayan Asya kıtası verilerine göre, Çin'den 3, Rusya, Irak, Türkiye, Japonya ve Tayvan'dan birer çalışmanın değerlendirilmesi sonucunda özellikle son 8 yıl içerisinde yapılan broyler eti ve yenilebilir iç organı çalışmaların çoğunda Enteritidis ve/veya Typhimurium'un izolatların yaklaşık üçte biri ya da daha azını oluşturduğu, bunlar dışında ise Agama, Thopson, Indiana, Infantis, Kentucky serovarlarının da sık izole edilen serovarlar arasında olduğu görülmektedir (Arkalı, 2020; Cui, 2016; Dümen, 2015; Fowler, 2021; Goncuoğlu, 2016; Harb, 2018; Li, 2020; Sodagari, 2015; Telli, 2018; Zaiko, 2021; Zhu, 2017) Bununla birlikte aynı kıtada 2009 ve 2012 yıllarına ait çalışmalarda tavuk eti örneklerinde Schwarzengrund serovarının en prevalan serovar olduğu rapor edilmiştir (Chen, 2012; Matsui, 2009). Benzer şekilde Afrika kıtasında da izolatların yaklaşık üçte bir kadarını Enteritidis ve/veya Typhimurium'un oluşturduğu, ayrıca Virchow, Haifa, Kentucky ve Infantis serovarlarının da bazı çalışmalarda bu 2 serovarın üzerinde prevalans değeri ile bulunduğu bildirilmektedir (Abdel Kader, 2022; Awad, 2020; Byomi, 2019; Elshadawy, 2022; El-Mohsen, 2022; El-Sherkowy, 2017; Hassan, 2020; Hassan Salam, 2021; Ndlow, 2023; Hassanin, 2017; Raji, 2021; Saleh, 2022; Sedeik, 2019).

Tüm çalışma verileri değerlendirildiğinde, serovar farklılıklarının öncelikle örnekleme yapılan yıl aralığı, ülkede o dönemlerde sirküle olan serovarlar ile alınan örnek tipi ve sayısının sonuçlar üzerinde birincil derecede etkili olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında örnekten etkenin izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan yöntem ile serolojik tanımlama düzey ve doğruluğunun (serotiplendirilemeyen izolatların serogrup ya da tür düzeyinde raporlanmasının) çalışma sonuçlarındaki heterojenliğe etkisinin de ikincil önemli unsurlar olarak belirtilmesi gerekmektedir.

Çalışmada, SE/ST-rPCR ile analiz edilen broyler karkas kaynaklı izolatların tümünün *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium varlığı yönünden negatif sonuç verdiği, yenilebilir iç organ kaynaklı izolatların ise %17,54'ünün *S.* Enteritidis yönünüden pozitif iken *S.* Typhimurium varlığı bakımından negatif olduğu belirlenmiştir. *Salmonella* serovarlarının belirlenmesinde çalışmamıza benzer şekilde moleküler yöntemlerin yer aldığı araştırmalardan karkas örneklerinde; Forgaciu ve ark (2022) ile Hu ve ark. (2017) *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium spesifik multipleks PCR, Guran ve ark. (2017) PFGE temelli analiz metotlarını kullanırken sakatat örneklerinde; Hassan ve ark. (2020) ile El-Sharkawy ve ark. (2017) *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium spesifik PCR, Telli ve ark. (2018) *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium spesifik dubleks PCR ve Al ve ark. (2016) konvansiyonel PCR metodunu uygulamıştır.

Tüm örnekler göz önüne alındığında *Salmonella* spp. izolatlarının konvansiyonel serotiplendirme ile %6,83'ü ve SE/ST spesifik rPCR ile %6,21'i Enteritidis serovarı olarak bulunurken her iki yöntemle de izolatların tümünün Typhimurium serovarı olmadığı belirlenmiştir. Bilgimiz dahilinde hem konvansiyonel hem de *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium spesifik PCR ile serotiplendirmenin birlikte kullanılarak etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmaması nedeniyle bu yöndeki bulgularımız tartışılamamış olup çalışmamızda, SE/ST-rPCR'ın istatistiksel analizler sonrasında relatif doğruluk (%99,37), duyarlılık (%90,91) ve özgünlük (%100) değerlerinin ve her iki yöntem arasındaki uyumum (κ: 0,94) yüksek olması ile de örneklerde *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium varlığının hızlı tanısı yönünden konvansiyonel serotiplendirmeye alternatif olabileceği düşünülmektedir (Tablo 11).

5.3. Sonuç

S. enterica türünün, altı alt türe ve 2.500'den fazla farklı serovara sahip ancak yaklaşık 100 serovarının patojen özellikte olup insanlardaki enfeksiyonlardan sorumlu olduğu bilinmektedir. Dünya'da ve ülkemizde yaygın serovarların tespiti ve izole edilen serovarların prevalans değerlerinin belirlenmesi ile hem hayvan hem de insan sağlığını tehdit eden salmonellalarla mücadelede kullanılabilecek veriler sağlanmaktadır. Benzer şekilde, kanatlı hayvanlar arasındaki *Salmonella* serovarlarının çeşitliliğinin belirli zaman aralıklarında incelenerek elde edilen serovarların dağılım yönelimlerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu sayede, kanatlı hayvan sürülerinde salmonellozu kontrol etmeye yönelik önleme stratejilerinin oluşturulması ile sadece *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium değil *S.* Virchow ve *S.* Schwarzengrund gibi diğer patojen serovarların da insanlar yönünden oluşturabileceği tehlikenin belirlenmesi ve ülke mevzuatında gerekli yasal düzenlemelerin yapılabilmesinde tarafsız bilimsel altyapı oluşturulabilecektir. AB'nde de olduğu gibi, günümüz ülke yasal mevzuatı ise, damızlık tavuk sürülerinden, yumurtacı tavuklardan, broyler, damızlık ve etlik hindi sürülerinden elde edilen çiğ etlerde, *Salmonella*'nın monofazik *Salmonella* Typhimurium 1,4,[5],12:i: dahil olmak üzere *S.* Typhimurium ve *S.* Enteritidis serovarlarının bulunmaması gerekliliği ile sınırlıdır.

Tez çalışmasında, broyler karkas ve yenilebilir iç organlarından elde edilen izolatlarda yasal mevzuat gereğince, *S.* Enteritidis ve *S.* Typhimurium serovarlarının varlığı hem konvansiyonel hem de spesifik rPCR yöntemi ile belirlenmiştir. Serovar Enteritidis konvansiyonel serotiplendirme ile %6,83 ve SE/ST-rPCR analizi ile de %6,21 prevalans değerinde tespit edilirken Typhimurium serovarı her iki yöntemle de saptanmamıştır. Kullanılan yöntemler arasındaki uyumum (κ: 0,94) yüksek bulunması nedeniyle SE/ST-rPCR'ın konvansiyonel serotiplendirmeye alternatif olabileceği tespit edilmiştir. Geleneksel serotiplendirme ile sırasıyla *S.* Virchow (%81,99), *S.* Schwarzengrund (%9,32), *S.* Enteritidis (%6,83), *S.* Bredeney (%0,62) serovarları bulunmuş olup izolatlardan ikisinin tiplendirilemediği belirlenmiştir.

Çalışmada broyler örneklerinde *S.* Typhimurium'un bulunmaması, *S.* Enteritidis'in ise çok düşük prevalans oranlarında saptanmış olması, son on yılda Dünya'da ve ülkemizde ticari kanatlı hayvan çiftliklerinde özellikle bu iki serovarı kontrol etme amacına yönelik uygulanan spesifik aşılar ve biyogüvenlik önlemlerinin

bu serovarların prevalansının azalmasına katkıda bulunabileceği ve diğer serovarların ortaya çıkmasına neden olabileceği ile açıklanabilmektedir. Son 30 yıldır gıdalardan (özellikle tavuk karkas, çiğ tavuk eti) ve hayvanlardan (özellikle tavuk) en yüksek oranda izole edilen 15 serovar arasında yer alan *S.* Schwarzengrund ve *S.* Virchow gibi serovarların kendilerine ekolojik olarak daha uygun bölge ve ortamlarda ortaya çıkmalarında etkin olabilecek antimikrobiyal direnç mekanizmasında görevli bazı Mobil Genetik Element (MGE)'i taşıma kapasitelerinin yüksek olması ve/veya taşıdıkları bazı invazif karakterleri ile ortamda diğer serovarlara göre daha yüksek prevalansta kalma kapasitelerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, 2000'li yılların başından itibaren *S.* Schwarzengrund'un insanlarda özellikle invazif tipte gıda kaynaklı salmonelloza neden olduğu bilinmektedir.

Bununla birlikte, çalışmada dominant serovar olarak *S.* Virchow ve ikinci prevalan serovar ise *S.* Schwarzengrund olarak tespit edilmiştir. Bilgimiz dahilinde, ükemizde bu iki serovarın broyler karkas ve sakatatlarında benzer prevalans oranları ile belirlendiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, güncel ve orijinal veri oluşturması yönünden literatüre sağladığı katkı yanında kümes hayvanlarının SE/ST dışında farklı *Salmonella* serovarlarının asemptomatik taşıyıcısı olabileceğini de göstermektedir. Avrupa Birliği'nde 2006 yılından itibaren uygulamaya konulan 'damızlık kontrol programı' içerisinde sürülerde %1'in altında bulunması gereken 5 ana serovar (Enteritidis, Typhimurium, Infantis, Hadar ve Virchow) hedefinin 2012 yılı itibariyle birçok ülkede gerçekleştirildiği rapor edilmiştir. Dolayısı ile bu çalışma verilerinin de yakın gelecekte ülke yasal otoritelerince Ulusal Salmonella Kontrol Programı ve Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde kanatlı hayvan etlerinde bulunmaması gereken patojen serovarların güncellenmesinde güvenilir ve tarafsız referans veri potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Abdel-Kader, F., Hamza, E., Abdel-Moein, K. A., & Sabry, M. A. (2022). Retail chicken giblets contaminated with extended-spectrum cephalosporin-and carbapenem-resistant *Salmonella enterica* carrying blaCMY-2. *Veterinary World*, *15*(5), 1297.

Agbaje, M., Begum R. H., Oyekunle, M. A., Ojo, O. E. & Adenubi, O. T. (2011). Evolution of *Salmonella* nomenclature: a critical note. *Folia Microbiologia*, *56*(6), 497-503. https://doi.org/10.1007/s12223-011-0075-4.

Al, S., Hizlisoy, H., Onmaz, N. E., Yildirim, Y., & Gönülalan, Z. (2016). Occurrence and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovars Typhimurium, Enteritidis, and Typhi isolated from chicken eggs and poultry products. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, *40*(6), 737-743.

Alakomi, H. L., & Saarela, M. (2009). *Salmonella* importance and current status of detection and surveillance methods. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, *1*(3), 142-152.

Anar, Ş. (2017). Etin Tanımı-Etin beslenmedeki önemi. *Et ve Et Ürünleri Teknolojisi* (4. Basım) içinde (s. 4-11). Bursa: Dora Yayınevi.

Arkali, A., & Çetinkaya, B. (2020). Molecular identification and antibiotic resistance profiling of *Salmonella* species isolated from chickens in eastern Turkey. *BMC Veterinary Research*, *16*, 205. https://doi.org/10.1186/s12917-020-02425-0

Awad, A., Gwida, M., Khalifa, E., & Sadat, A. (2020). Phenotypes, antibacterial-resistant profile, and virulence-associated genes of *Salmonella* serovars isolated from retail chicken meat in Egypt. *Veterinary World*, *13*(3), 440.

Aydın, N., İzgür, M., Diker, K. S., Yardımcı, H., Esendal, Ö., Paracıkoğlu, J., & Akan, M. (2006). *Salmonella* İnfeksiyonları. *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)* içinde (s. 116-121). Ankara: İlke-Emek Matbaacılık ve Yayıncılık.

Baptista, D. Q., Borsoi, A., Reischak, D., Nascimento, A. C. O., Montesino, L. O., Camillo, S. C. A., ... & Pereira, V. L. A. (2023). Salmonella Serovars Isolated from Poultry Breeding Flocks under the Brazilian Official Control Programme Between 2016 and 2018. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *25*.

Behravesh, C. B., Brinson, D., Hopkins, B. A. & Gomez, T. M. (2014). Backyard poultry flocks and salmonellosis: a recurring, yet preventable public health challenge. *Clinical Infectious Diseases*, *58*(10):1432-1438. https://doi.org/10.1093/cid/ciu067

Bell, C., & Kyriakides, A. (2002). *Salmonella: A Practical Approach to The Organism and its Control in Foods*. First published, UK, (s. 1-25).

Bennett, A. R., Greenwood, D., Tennant, C., Banks, J. G., & Betts, R. P. (1998). Rapid and definitive detection of *Salmonella* in foods by PCR. *Letters in Applied Microbiology*, *26*(6), 437-441.

Bhan, M. K., Bahl, R., & Bhatnagar, S. (2005). Typhoid and paratyphoid fever. *Lancet, 366*(9487), 749-762. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)67181-4

Black, J. G. (2012). Oral and Gastrointestinal Diseases. In *Microbiology: Principles and Explorations, 8th* Ed. (pp. 685-691). USA: John Wiley & Sons Inc.

Bohaychuk, V. M., Gensler, G. E., McFall, M. E., King, R. K., & Renter, D. G. (2007). A real-time PCR assay for the detection of *Salmonella* in a wide variety of food and food-animal matrices. *Journal of Food Protection, 70*(5), 1080-1087.

Brands, D.A. (2006). *Deadly Diseases and Epidemics Salmonella* (pp.16). New York: Chelsea House Publications, Illustrated Edition.

Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R., & Swaminathan, B. (2000). *Salmonella* nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology, 38*(7), 2465-2467.

Brichta-Harhay, D. M., Arthur, T. M., Bosilevac, J. M., Kalchayanand, N., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., & Koohmaraie, M. (2011). Diversity of multidrug-resistant *Salmonella enterica* strains associated with cattle at harvest in the United States. *Applied and Environmental Microbiology, 77*(5), 1783-1796.

Bryan, F. L., Fanelli, M. J., & Riemann, H. (1979). *Salmonella* infections. *Food-borne Infections and Intoxications,* 2nd Ed. *Academic Press, New York, NY*, 73-130.

Byomi, A., Zidan, S., Hadad, G., Sakr, M., & EL-Waraqi, S. (2019). Characterization of *Salmonella* spp. isolated from poultry giblets, calves and human beings in Menoufiya Governorate. *Journal of Current Veterinary Research, 1*(2), 78-94.

Carrique-Mas, J.J., & Davies, R.H. (2008). Sampling and bacteriological detection of *Salmonella* in poultry and poultry premises: A review. *Revue Scientifique et Technique, 27*(3), 665-667. https://doi.org/10.20506/rst.27.3.1829.

Chen, M. H., Chiou, C. S., Chiang, Y. C., Chen, P. H., Tsai, S. W., & Tsen, H. Y. (2012). Comparison of the pulsed field gel electrophoresis patterns and virulence profiles of the multidrug resistant strains of Salmonella enterica serovar Schwarzengrund isolated from chicken meat and humans in Taiwan. *Food Research International, 45*(2), 978-983.

Cliver, D.O. (1990). *Foodborne Diseases.* Academic Press, Inc. s: 185-208.

Cocolin, L., Manzano, M., Cantoni, C., & Comi, G. (1998). Use of polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis to directly detect and identify *Salmonella typhimurium* in food. *Journal of Applied Microbiology, 85*(4), 673-677.

Cohen, N. D., Neibergs, H. L., McGruder, E. D., Whitford, H. W., Behle, R. W., Ray, P. M., & Hargis, B. M. (1993). Genus-specific detection of *Salmonella* using the polymerase chain reaction (PCR). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 5* (3), 368-371.

Crosa, J.H., Brenner, D.J., & Ewing W.H. (1973). Molecular relationships among the *Salmonellae*. *Journal of Bacteriology, 115*, 307-315.

Cui M., Xie M., Qud Z., Zhao S., Wang J., Wang Y., He T., Wang H., Zuo Z., & Wu, C. 2016. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from an integrated broiler chicken supply Chain in Qingdao, China. *Food Control*, *62*, 270-276.

Cummings, K. J., Warnick, L. D., Alexander, K. A., Cripps, C. J., Gröhn, Y. T., James, K. L., & Reed, K. E. (2009). The duration of fecal *Salmonella* shedding following clinical disease among dairy cattle in the northeastern USA. *Preventive Veterinary Medicine*, *92*(1-2), 134-139. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.07.002

Cunha, B. A. (2004). Osler on typhoid fever: Differentiating typhoid from typhus and malaria. *Infectious Disease Clinics of North America*, *18*, 111–125. https://doi.org/10.1016/s0891-5520(03)00094-1.

D'Aoust, J.Y. (2001). *Salmonella.* In Labbe, R. G., Garcia, S. (Eds.), Guide to Foodborne Pathogens. 2nd Edition *(*pp. 163-191). Newyork: Wiley.

De Cesare, A., Manfreda, G., Dambaugh, T.R., Guerzoni, M.E., & Franchini, A. (2001). Automated ribotyping and random amplified polymorphic DNA analysis for molecular typing of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* strains isolated in Italy. *Journal of Applied Microbiology*, *91*, 780-785.

Desai, P.T., Porwollik, S., Long, F., Cheng, P., Wollam, A., Clifton, S.W., & McClelland, M. (2013). Evolutionary genomics of *Salmonella enterica* subspecies. *Bimonthly*, *4*(2), e00579-12.

Dümen, E., AYDIN, A., & ISSA, G. (2015). Prevalence, Serological Typing and PCR Sensitivity Comparision of SalmonellaTyphimurium, Salmonella Enteritidis and Salmonella spp. Isolated from Raw Chicken Carcasses. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, *21*, 653-658.

EFSA (2021). European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, *19*(2): 6406, 286 s. 13-285. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6406.

EFSA (2022). European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, *20*(12), e07666.

EFSA. (2019). European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 17(12), e05926. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926

Eijkelkamp, J. M., Aarts, H. J. M., & Van der Fels-Klerx, H. J. (2009). Suitability of rapid detection methods for *Salmonella* in poultry slaughterhouses. *Food Analytical Methods*, 2(1), 1-13.

Ellermeier, C. D., & Slauch, J. M. (2006). *Genus Salmonella*. In Dworkin, M. D. (Eds.), The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria (Vol. 6) (s. 123-159). New York: SpringerPress.

El-Mohsen, A., & El-Sherry, S. (2022). Serological And Antibacterial Characteristics of Salmonella Isolates From Chickens In Assiut, Egypt. *Benha Veterinary Medical Journal*, *41*(2), 93-99.

Elnekave, E., Hong, S. L., Lim, S., Boxrud, D., Rovira, A., Mather, A. E., ... & Alvarez, J. (2020). Transmission of multidrug-resistant *Salmonella enterica* subspecies *enterica* 4,[5], 12: i:-sequence type 34 between Europe and the United States. *Emerging Infectious Diseases*, *26*(12), 3034.

El-Sharkawy, H., Tahoun, A., El-Gohary, A. E. G. A., El-Abasy, M., El-Khayat, F., Gillespie, T., ... & El-Adawy, H. (2017). Epidemiological, molecular characterization and antibiotic resistance of *Salmonella enterica* serovars isolated from chicken farms in Egypt. *Gut Pathogens*, *9*, 1-12.

Elshebrawy, H. A., Abdel-Naeem, H. H., Mahros, M. A., Elsayed, H., Imre, K., Herman, V., ... & Sallam, K. I. (2022). Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovars isolated from frozen chicken carcasses. *LWT-Food Science and Technology*, *164*, 113647.

Eng, S. K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N. S., Ser, H. L., Chan, K. G., & Lee, L. H. (2015). *Salmonella*: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, *8*(3), 284-293.

Erol, İ. (2007). *Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi.* Ankara: Pozitif Matbaacılık ltd. şti.

Erol, İ. (2010). *Salmonella* enfeksiyonlarının zoonotik önemi. *Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Science*, 1(2), 105-13. Erişim adresi: https://www.turkiyeklinikleri.com/article/tr-salmonella-enfeksiyonlarinin-zoonotik-onemi-59032.html

FAO, Food and Agricultural Organisation (2021). http://www.fao.org/faostat/en/#data (27.03.2021).

Ferrari, R. G., Rosario, D. K., Cunha-Neto, A., Mano, S. B., Figueiredo, E. E., & Conte-Junior, C. A. (2019). Worldwide epidemiology of *Salmonella* serovars in animal-based foods: a meta-analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, *85*(14), e00591-19.

Forgaciu, A., Tabaran, A., Colobatiu, L., Mihaiu, R., Dan, S. D., & Mihaiu, M. (2022). Concerning increase in antimicrobial resistance patterns of pathogenic strains of *Salmonella* isolated in poultry meat products. *Antibiotics*, *11*(11), 1469.

Fowler, P. D., Sharma, S., Pant, D. K., Singh, S., & Wilkins, M. J. (2021). Antimicrobial-resistant non-typhoidal *Salmonella enterica* prevalence among poultry farms and slaughterhouses in Chitwan, Nepal. *Veterinary World*, *14*(2), 437.

Fung, D. Y. C. (2002). Rapid methods and automation in microbiology. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *1*, 3-14.

Gast, R. K., Guraya, R., Jones, D. R., & Anderson, K. E. (2013). Colonization of internal organs by *Salmonella* Enteritidis in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. *Poultry Science*, *92*(2), 468-473.

Glynn, B., Lahiff, S., Wernecke, M., Barry, T., Smith, T. J., & Maher, M. (2006). Current and emerging molecular diagnostic technologies applicable to bacterial food safety. *International Journal of Dairy Technology*, 59(2), 126-139.

Goncuoglu, M., Ormanci, F. S. B., Uludag, M., & Cil, G. I. (2016). Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. and *Salmonella* Typhimurium in broiler carcasses wings and liver. *Journal of Food Safety*, *36*(4), 524-531.

Grimont, P.A.D., & Weill, F. (2007). *Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars: White-Kauffmann-Le Minor Scheme*. 9th Edition. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Available at www.pasteur.fr/sante/clre/ cadrecnr/salmoms-index.html (03.11.2016).

Guibourdenche, M., Roggentin, P., Mikoleit, M., Fields, P. I., Bockemühl, J., Grimont, P. A., & Weill, F. X. (2010). Supplement 2003–2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor Scheme. *Research in Microbiology*, 161 (1), 26-29.

Guran, H. S., Mann, D., & Alali, W. Q. (2017). *Salmonella* prevalence associated with chicken parts with and without skin from retail establishments in Atlanta metropolitan area, Georgia. *Food Control, 73*, 462-467.

Harb, A., Habib, I., Mezal, E. H., Kareem, H. S., Laird, T., O'Dea, M., & Abraham, S. (2018). Occurrence, antimicrobial resistance and whole-genome sequencing analysis of *Salmonella* isolates from chicken carcasses imported into Iraq from four different countries. *International Journal of Food Microbiology*, *284*, 84-90.

Hardy, A. (2004). *Salmonella*: a continuing problem. *Postgraduate Medical Journal*, 80, 541–545.

Hardy, A. (2015). *Salmonella Infections, Networks of Knowledge, and Public Health in Britain, 1880-1975*. First edition (s. 4-5). United Kingdom: Oxford University Press.

Hasipek, S., & Aktaş N. (1991). *Ülkemizde tavuk eti ve yumurtanın beslenmemizdeki yeri ve önemi*. İstanbul: Uluslararası Tavukçuluk Kongresi, 22-25.

Hassan, A. H., Salam, H. S., & Abdel-Latef, G. K. (2021). Identification of virulence genes, β-lactams and quinolones resistance-associated genes and integrons in *Salmonella* isolated from retail chicken meat and giblets in Egypt. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1320-1325.

Hassan, A. H., Salam, H. S., & Abdel-Latef, G. K. (2021). Identification of virulence genes, β-lactams and quinolones resistance-associated genes and integrons in Salmonella isolated from retail chicken meat and giblets in Egypt. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, *2021*, 1320-1325.

Hassan, W. M., Abd El Tawab, A. A., & El-Shannat, S. M. (2020). Current advances in molecular subtyping using multilocus variable number of tandem repeat analysis of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in Egyptian chickens. *Veterinary World, 13*(10), 2252.

Hassanin, F. S., Hassan, M. A., Shaltout, F. A., Shawqy, N. A., & Abd-Elhameed, G. A. (2017). Bacteriological criteria of chicken giblets. *Benha Veterinary Medical Journal*, *33*(2), 447-456.

Helke, K. L., McCrackin, M. A., Galloway, A. M., Poole, A. Z., Salgado, C. D., & Marriott, B. P. (2017). Effects of antimicrobial use in agricultural animals on drug-resistant foodborne salmonellosis in humans: A systematic literature review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(3), 472-488.

Hendriksen, R. S., Vieira, A. R., Karlsmose, S., Lo Fo Wong, D. M., Jensen, A. B., Wegener, H. C., & Aarestrup, F. M. (2011). Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization global foodborne infections network country data bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathogens and Disease*, *8*(8), 887-900.

Holley, R. A., Arrus, K. M., Ominski, K. H., Tenuta, M. & Blank, G. (2006). *Salmonella* survival in manure-treated soils during simulated seasonal temperature exposure. *Journal of Environmental Quality*, 35, 1170-1180. https://doi.org/10.2134/jeq2005.0449

Hollis, R. J., Bruce, J. L., Fritschel, S. J., & Pfaller, M. A. (1999). Comparative evaluation of an automated ribotyping instrument versus pulsed-field gel electrophoresis for epidemiological investigation of clinical isolates of bacteria. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *34*(4), 263-268.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T. & William, S.T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams and Wilikins, Baltimore, 786-788.

Hu, Y., He, Y., Wang, Y., Fanning, S., Cui, S., Chen, Q., ... & Li, F. (2017). Serovar diversity and antimicrobial resistance of non-typhoidal *Salmonella enterica* recovered from retail chicken carcasses for sale in different regions of China. *Food Control*, *81*, 46-54.

Imen, B. S., Ridha, M., & Mahjoub, A. (2012). *Salmonella*-A Dangerous Foodborne Pathogen. *Laboratory typing methods for diagnostic of Salmonella strains, the "old" organism that continued challenges* içinde (pp.349-372.) Rijeka: Intechopen.

Iseri, O., & Erol, I. (2010). Incidence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. in ground turkey meat. *British Poultry Science*, *51*(1), 60-66.

ISO (2002). International Organization for Standardization. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the Detection of *Salmonella* spp. ISO 6579:2002, Geneva, Switzerland.

ISO (2017). International Organization for Standardization. *Microbiology of the Food Chain-Horizontal Method for the Detection, Enumeration and Serotyping of Salmonella-Part 1: Detection of Salmonella spp. ISO 6579-1:2017*, Geneva, Switzerland.

Issenhuth-Jeanjean, S., Roggentin, P., Mikoleit, M., Guibourdenche, M., Pinna, E. D., Nair, S., ... & Weill, F. X. (2014). Supplement 2008-2010 (No. 48) to the White Kauffmann-Le Minor scheme. *Research in Microbiology*, *165*(7), 526-530. https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.07.004.

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

Jay, J.M. (2000). *Modern Food Microbiology. 6th Edition*, pp. 511-524. Maryland: An Aspen Publication.

Jayaweera, T. S. P., Ruwandeepika, H. A. D., Deekshit, V. K., Vidanarachchi, J. K., Kodithuwakku, S. P., Karunasagar, I., & Cyril, H. W. (2020). Isolation and identification of *Salmonella* spp. from broiler chicken meat in Sri Lanka and their antibiotic resistance. *The Journal of Agricultural Sciences-Sri Lanka*, *15*(3), 395-410

Jørgensen, F., Bailey, R., Williams, S., Henderson, P., Wareing, D. R. A., Bolton, F. J., ... & Humphrey, T. J. (2002). Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *International Journal of Food Microbiology*, *76*(1-2), 151-164.

Juncu, O., Starcıuc, N., Antohıev, T., & Osadcı, N. (2021). Some ındıces of contamınatıon of poultry products wıth bacterıa of the genus *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. *Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine*, *67*(2).

Kao, J.Y, Zhang, M., Miller MJ, Mills JC, Wang B, Liu M., … & Luther, J. (2010). *Helicobacter pylori* immune escape is mediated by dendritic cell-induced treg skewing and Th17 suppression in mice. *Gastroenterology*, *138*(3), 1046-1054.

Kauffmann, F. & Edwards, P. R. (1952). Classification and nomenclature of *Enterobacteriaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2*(1), 2-8. https://doi.org/10.1099/0096266X-2-1-2

Kaufmann, M. E. (1998). *Pulsed-field gel electrophoresis. In Molecular Bacteriology* (pp. 33-50). American: Humana Press.

Kawataa, Y., & Kubota, S. (2018). Consumers' willingness to pay for reprocessed fried chicken: A way of reducing uneaten food. *Appetite, 120*, 571-577.

Landeras, E., onzalez-Hevia, M. A., Alzugaray, R., & Mendoza, M. C. (1996). Epidemiological differentiation of pathogenic strains of *Salmonella enteritidis* by ribotyping. *Journal of Clinical Microbiology*, *34*, 2294-6.

Landis, J. R., & Koch, G. G. (1977). An application of hierarchical kappa-type statistics in the assessment of majority agreement among multiple observers. *Biometrics*, 363-374.

Le Minor, L. & Popoff, M.Y. (1987). Request for an opinion. Designation of *Salmonella enterica* sp. Nov., nom., rev., as the type and only species of the genus *Salmonella*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, *37*(4), 465-468. https://doi.org/10.1099/00207713-37-4-465

Le Minor, L., Veron, M. & Popoff, M. Y. (1982). A proposal for *Salmonella* nomenclature. *Annals Microbiology*, *133*(2), 245-254.

Lee, K.M., Runyon, M., Herrman, T.J., Phillips, R., & Hsieh, J. (2015). Review of *Salmonella* detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. *Food Control, 47*, 264-276.

Lei, C. W., Zhang, A. Y., Liu, B. H., Wang, H. N., Yang, L. Q., Guan, Z. Bin, … & Yang, Y. Q. (2015). Two novel *Salmonella* genomic island 1 variants in *Proteus mirabilis* isolates from swine farms in China. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *59*(7), 4336-4338. https://doi.org/10.1128/AAC.00120-15

Li, Y., Yang, Q., Cao, C., Cui, S., Wu, Y., Yang, H., ... & Yang, B. (2020). Prevalence and characteristics of *Salmonella* isolates recovered from retail raw chickens in Shaanxi Province, China. *Poultry Science*, *99*(11), 6031-6044.

Li, Y., Yang, Q., Cao, C., Cui, S., Wu, Y., Yang, H., ... & Yang, B. (2020). Prevalence and characteristics of Salmonella isolates recovered from retail raw chickens in Shaanxi Province, China. *Poultry science*, *99*(11), 6031-6044.

Lin-Hui, S., & Cheng-Hsun, C. (2007). *Salmonella*: Clinical importance and evolution of nomenclature. *Chang Gung Medical Journal*, *30*(3), 210-218.

Mahmoud, B. (2012). *Salmonella - A Dangerous Foodborne Pathogen* (pp. 21-31, 99, 109-112). In Tech. Erişim adresi: https://www.doi.org/10.5772/1308

Maiden, M. C. J., Bygraves, J.A., Feil, E., Morelli, G., Russell, J.E., Urwin, R., … Spratt, B. G. (1998). Multilocus sequence typing: a protable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*-USA, 95, 3140-3145.

Majowicz, S. E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F. J., Kirk, M., O'Brien, S. J., ... Hoekstra, R. M. (2010). The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clinical Infectious Diseases*, *50*(6), 882-889. https://doi.org/10.1086/650733.

Malorny B., Hauser E., & Dieckmann R. (2011). New Approaches in Subspecies-Level *Salmonella* Classification. *Salmonella from Genom to Function* içinde (s. 1-23). UK: Caister Academic Press.

Malorny, B., Paccassoni, E., Fach, P., Bunge, C., Martin, A., & Helmuth, R. (2004). Diagnostic real-time PCR for detection of *Salmonella* in food. *Applied and Environmental Microbiology, 117*, 211 – 218.

Marineli, F., Tsoucalas, G., Karamanou, M., & Androutsos, G. (2013). Mary Mallon (1869-1938) and the history of typhoid fever. *Annals of Gastroenterology*, *26*(2), 132-134.

Matsui, K., Nakazawa, C., Thiri Maung Maung Khin, S., Iwabuchi, E., Asai, T., & Ishihara, K. (2021). Molecular characteristics and antimicrobial resistance of Salmonella enterica serovar schwarzengrund from chicken meat in japan. *Antibiotics*, *10*(11), 1336.

Maurer, J. J. (2011). Rapid detection and limitations of molecular techniques. *Annual Review of Food Science and Technology*, *2*, 259-279.

Mooijman, K. A. (2018). The new ISO 6579-1: A real horizontal standard for detection of *Salmonella*, at last!. *Food Microbiology*, *71*, 2-7.

Mourão, J., Rebelo, A., Ribeiro, S., Peixe, L., Novais, C., & Antunes, P. (2020). Atypical non-H_2S-producing monophasic *Salmonella typhimurium* ST3478 strains from chicken meat at processing stage are adapted to diverse stresses. *Pathogens*, *9*(9), 701.

Murray, P., Rosenthal, K. & Pfaller, M. (Eds.) (2010). Bakteriyoloji. *Tıbbi Mikrobiyoloji* (6. Baskı) içinde (s. 308-309). Ankara: Atlas.

Ndlovu, L., Butaye, P., Maliehe, T. S., Magwedere, K., Mankonkwana, B. B., Basson, A. K., ... & Madoroba, E. (2023). Virulence and Antimicrobial Resistance Profiling of *Salmonella* Serovars Recovered from Retail Poultry Offal in KwaZulu-Natal Province, South Africa. *Pathogens*, *12*(5), 641.

Ndlovu, L., Butaye, P., Maliehe, T. S., Magwedere, K., Mankonkwana, B. B., Basson, A. K., ... & Madoroba, E. (2023). Virulence and Antimicrobial Resistance Profiling of Salmonella Serovars Recovered from Retail Poultry Offal in KwaZulu-Natal Province, South Africa. *Pathogens*, *12*(5), 641.

Odumeru, J.A., León-Velarde, C. G. (2012). *Salmonella* Detection Methods for Food and Food Ingredients. In Mahmoud, B. S. M. (Ed.), *Salmonella - A Dangerous Foodborne Pathogen* (pp. 373-392). In Tech. https://www.doi.org/10.5772/29526

OECD/FAO. OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030. Paris: OECD Publishing, 2022.

Panzenhagen, P. H. N., Aguiar, W. S., da Silva Frasão, B., de Almeida Pereira, V. L., da Costa Abreu, D. L., dos Prazeres Rodrigues, D., ... & de Aquino, M. H. C. (2016). Prevalence and fluoroquinolones resistance of *Campylobacter* and *Salmonella* isolates from poultry carcasses in Rio de Janeiro, Brazil. *Food Control*, *61*, 243-247.

Park, S.Y., Birkhold, S.G., Kubena, L.F., Nisbet, D.J., & Ricke, S.C. (2004). Survival of a *Salmonella typhimurium* poultry marker strain added as a dry inoculum to zinc and sodium organic acid amended feeds. *Journal of Food Safety*, *23*, 263–274.

Penha Filho, R. A. C., Ferreira, J. C., Kanashiro, A. M. I., Junior, A. B., & da Costa Darini, A. L. (2019). Emergent multidrug-resistant nontyphoidal *Salmonella* serovars isolated from poultry in Brazil coharboring blaCTX-M-2 and qnrB or blaCMY-2 in large plasmids. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *95*(1), 93-98.

Petracci, M., Mudalal, S., Bonfiglio, A., & Cavani, C. (2013). Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens. *Poultry Science*, *92*, 1670-1675.

Pławińska-Czarnak, J., Wódz, K., Kizerwetter-Świda, M., Nowak, T., Bogdan, J., Kwieciński, P., ... & Anusz, K. (2021). *Citrobacter braakii* yield false-positive identification as *Salmonella*, a note of caution. *Foods*, *10*(9), 2177.

Pławińska-Czarnak, J., Wódz, K., Kizerwetter-Świda, M., Nowak, T., Bogdan, J., Kwieciński, P., ... & Anusz, K. (2021). Citrobacter braakii yield false-positive identification as salmonella, a note of caution. *Foods*, *10*(9), 2177.

Popoff, M.Y., Bockemühl, J., & Gheesling, L.L. (2003). Supplement 2001 (No. 45) to the Kauffmann-White scheme. *Research in Microbiology*, *154*(3), 173-174.

Procura, F., Bueno, D. J., Bruno, S. B., & Rogé, A. D. (2019). Prevalence, antimicrobial resistance profile and comparison of methods for the isolation of *Salmonella* in chicken liver from Argentina. *Food Research International*, *119*, 541-546.

Rahman, H. S., Mahmoud, B. M., Othman, H. H., & Amin, K. (2018). A review of history, definition, classification, source, transmission, and pathogenesis of *Salmonella*: a model for human infection. *Journal of Zankoy Sulaimani*, *20*(3-4), 11-19.

Raji, M. A., Kazeem, H. M., Magyigbe, K. A., Ahmed, A. O., Lawal, D. N., & Raufu, I. A. (2021). *Salmonella* serovars, antibiotic resistance, and virulence factors isolated from intestinal content of slaughtered chickens and ready-to-eat chicken gizzards in the ilorin metropolis, Kwara State, Nigeria. *International Journal of Food Science, 2021*, 1-11. Article ID 8872137.

Rasmussen, M. A., Carlson, S. A., Franklin, S. K., McCuddin, Z. P., Wu, M. T., & Sharma, V. K. (2005). Exposure to rumen protozoa leads to enhancement of pathogenicity of and invasion by multiple-antibiotic-resistant *Salmonella enterica* bearing SGI1. *Infection and Immunity*, *73*(8), 4668-4675. https://doi.org/10.1128/IAI.73.8.4668-4675.2005

Riedel, S. & Hobden, J. A. (2007). Bacteriology, The *Salmonellae*. In Brooks, G., Carroll, K., Butel, J. & Morse, S., Jawetz, Melnick & Adelberg (Eds.), *Medical Microbiology*, 24, 245-250. China: McGraw-Hill.

Sackey, B. A., Mensah, P., Collison, E., & Sakyi-Dawson, E. (2001). *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* and *Escherichia coli* in live and dressed poultry from metropolitan Accra. *International Journal of Food Microbiology*, *71*(1), 21-28.

Saleh, E., El-Lawendy, H., Khedr, E., & Ali, E. (2022). Molecular detection of some virulence genes in multidrug resistant *Salmonella* species isolated from chicken meat products and raw milk. *Damanhour Journal of Veterinary Sciences*, *7*(2), 24-27.

Sampedro,, F., Wells, S. J., Bender, J. B., & Hedberg, C. W. (2019). Developing a risk management framework to improve public health outcomes by enumerating *Salmonella* in ground turkey. *Epidemiology & Infection*, 147, e69, 1-8. https://doi.org/10.1017/S095026881800328X.

Sánchez-Vargas, F. M., Abu-El-Haija, M. A., & Gómez-Duarte, O. G. (2011). *Salmonella* infections: an update on epidemiology, management, and prevention. *Travel Medicine and Infectious Disease*, *9*(6), 263-277.

Santos, P. D. M., Widmer, K. W., & Rivera, W. L. (2020). PCR-based detection and serovar identification of *Salmonella* in retail meat collected from wet markets in Metro Manila, Philippines. PloS one, *15*(9), e0239457.

Saucier, L. (1999). Meat safety: challenges for the future. *Outlook on agriculture*, *28*(2), 77-82.

Sedeik, M. E., El-Shall, N. A., Awad, A. M., Elfeky, S. M., Abd El-Hack, M. E., Hussein, E. O., ... & Swelum, A. A. (2019). Isolation, conventional and molecular characterization of Salmonella spp. from newly hatched broiler chicks. *AMB Express*, *9*, 1-6.

Shivaprasad, H. L., Methner, U., & Barrow, P. A. (2013). Salmonella infections in the domestic fowl. In *Salmonella in domestic animals* (pp. 162-192). Wallingford UK: CABI.

Skerman, V.B.D., McGowan, V., & Sneath, P.H.A. (1980). Approved lists of bacterial names. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 30, 225-420.

Sodagari HR., Mashak Z., & Ghadimianazar A., 2015. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from retail chicken meat and giblets in Iran. *Journal of Infection in Developing Countries*, 9, 463-469.

Sørensen, L. L., Alban, L., Nielsen, B., & Dahl, J. (2004). The correlation between *Salmonella* serology and isolation of *Salmonella* in Danish pigs at slaughter. *Veterinary Microbiology*, *101*(2), 131-141.

Spector, M. P., & Kenyon, W. J. (2012). Resistance and survival strategies of *Salmonella enterica* to environmental stresses. *Food Research International*, *45*(2), 455-481.

Stager, C. E., & Davis, J. R. (1992). Automated systems for identification of microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, *5*(3), 302-327.

Su, L., & Chiu, C. H. (2007). *Salmonella*: clinical importance and evolution of nomenclature. *Chang Gung Medical Journal*, *30*(3), 210.

Tekintaş, Y. (2014). *Klinik Salmonella İzolatlarında Antimikrobiyal Duyarlılık Profilinin, Virülans Genlerinin ve Klonal İlişkinin Araştırılması* [Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü]. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp.

Telli, A. E., Biçer, Y. Ö., Kahraman, H. A., Telli, N., & Doğruer, Y. (2018). Presence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. isolated from chicken meat and giblets consumed in Konya, Turkey. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, *34*(3), 164-170.

Telli, R. (2006). *Afyon'da Tüketime Sunulan Tavuk Karkas ve Tavuk Eti Örneklerinde Salmonella spp. Varlığının Klasik Kültür Tekniği ile Saptanması* [Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü]. https://acikerisim.aku.edu.tr/xmlui/handle/11630/3907.

TGK (2011a). Türk Gıda Kodeksi. Zoonozlar ve Zoonotik Etkenler, İlgili Antimikrobiyal Direnç ve Gıda Kaynaklı Salgınların İzlenmesi Yönetmeliği (23 Aralık). *Resmi Gazete* (Sayı: 28151). Erişim adresi: https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111223-6.htm

TGK (2011b). Türk Gıda Kodeksi. Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (29 Aralık). *Resmi Gazete* (Sayı: 28157). Erişim adresi: https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm

TGK (2018). Türk Gıda Kodeksi. Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Resmi Gazete 09.10.2018-30560.

Tirziu, E., Lazăr, R., Sala, C., Nichita, I., Morar, A., Şereş, M., & Imre, K. (2015).

Salmonella in raw chicken meat from the Romanian seaside: frequency of isolation and antibiotic resistance. *Journal of Food Protection*, *78*(5), 1003-1006.

TÜİK. Türkiye İstatistik Kurumu. https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kumes-Hayvanciligi-Uretimi-Aralik-2022 49417#:~:text=Bir%20%C3%B6nceki%20ay%20200%20bin,201%20bin%20123%20ton%20oldu.&text=Bir%20%C3%B6nceki%20ay%201%20milyar,milyon%20979%20bin%20adet%20oldu. (14.02.2023)

Ünlü, A. (2011). *Tavuklarda Salmonella Tanısında Kültür ve Real Time PCR'ın Kullanımı* [Yayınlanmış doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü]. Erişim adresi: https://dspace.ankara.edu.tr/xmlui/handle/20.500.12575/35802).

White, P.L., Naugle, A.L., Jackson, C.R., Fedorka-Cray, P.J., Rose, B.E, Pritchard, K.M. … & Buchanan, S. (2007). *Salmonella* Enteritidis in meat, poultry, and pasteurized egg products regulated by the US food safety and inspection service, 1998 through 2003. *Journal of Food Protection, 70*(3), 582–591.

Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, *18*(22), 6531-6535.

Zaiko, E. V., Bataeva, D. S., Yushina, Y. K., Grudistova, M. A., & Velebit, B. (2021, October). Prevalence, serovar, and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from meat and minced meat used for production smoked sausage. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *854*(1), 012108. IOP Publishing.

Zdragas, A., Mazaraki, K., Vafeas, G., Giantzi, V., Papadopoulos, T., & Ekateriniadou, L. (2012). Prevalence, seasonal occurrence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in poultry retail products in Greece. *Letters in Applied Microbiology*, *55*(4), 308-313.

Zhu, Y., Lai, H., Zou, L., Yin, S., Wang, C., Han, X., ... & Liu, S. (2017). Antimicrobial resistance and resistance genes in *Salmonella* strains isolated from broiler chickens along the slaughtering process in China. *International Journal of Food Microbiology*, *259*, 43-51.

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

µl: Mikrolitre
µm: Mikrometre
AB: Avrupa Birliği
ABD: Amerika Birleşik Devletleri
ABI: Applied Biosystems
AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism
AOAC: Resmi Analitik Kimyagerler Birliği
API: Application Programming Interface
a_w: Su aktivitesi
BHIB: Brain Heart Infusion Broth
BPW: Bufferd Peptone Water-Tamponlanmış Peptonlu Su
BSA: Brilliance Salmonella Agar
BS: Bismuth-Sulfite Agar
Cat: Kategori
CDC: Centers for Disease Control and Prevention
ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control
EFSA: European Food Safety Authority
Eh: Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyeli
ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Essay
FAO: Food and Agricultural Organization
FDA-BAM: Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual
FERN: Food Emergency Response Network
FRET: Floresan Rezonans Enerji Transferi
g: Gram
GKGM: Gıda Kontrol Genel Müdürlüğü
HACCP: Hazard Analysis And Critical Control Point
ISO: International Organization for Standardization
KCN: Potasyum siyanür
Kob: Koloni Oluşturan Birim
LIA: Lysine Iron Agar
log: Logaritma
MCA: MacConkey Agar
mg: Miligram
MKTTn: Muller-Kauffmann Tetrahionate-Novobiocin
ml: Mililitre
MLST: Multi Locus Sekans Tiplendirmesi
mm: Milimetre
MSSRVA: Modified Semi Solid Rappaport Vassiliadis Agar
mV: Mili volt
NA: Nutrient Agar
ng: Nanogram
NTS: Non Typhoidal *Salmonella*
ONPG: Onitrophenyl- Beta-D-galaktopyranoside
OXD: Oksidasyon
PCR: Polimerase Chain Reaction
PFGE: Pulsed Field Gel Electrophorezis

pH: Power of Hydrogen
qPCR: Quantitative PCR
RAPD: Randomly amplified polimorphic DNA
rPCR: Real time PCR
rRNA: Ribozomal RNA
RV: Rappaport Vassiliadis
SE: *Salmonella* enteritidis
Ser: Serotip
SS: Salmonella-Shigella Agar
ST: *Salmonella* Typhimurium
Subs: Subspecies
TGK: Türk Gıda Kodeksi
TSIA: Triple Sugar Iron Agar
TT: Tetrathionate
TÜBİTAK: Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu
TÜİK: Türkiye İstatistik Kurumu
USDA-FSIS: United States Department of Agriculture Food Safety Inspection Service
WHO: World Health Organization
WHOCC-Salm: World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*
XLDA: Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar
XLT4: Xylose-Lysine-Tergitol-4
yy: Yüzyıl

8. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle özveriyle paylaşan, sevgisini, şefkatini, sabrını ve hoşgörüsünü esirgemeden hep yanımda olan ve yoluma ışık tutan kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Seran TEMELLİ başta olmak üzere,

Danışman hocam ile birlikte çalışmalarımda emek ve katkılarıyla, kıymetli bilgisi, tecrübesi, anlayışı ve sevgisiyle her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Ayşegül EYİGÖR'e,

Laboratuvar çalışmalarımda hem akademik bilgisi hem de ağabeyliği ile desteğini bana hep gösteren, bilimsel katkıları ile kendimi geliştirmeme yardımcı olan sevgili ağabeyim Doktora öğrencisi A. Gökhan COŞKUN ve yolumun kesişmesinden mutluluk duyduğum Dr. Veteriner Hekim Ayşegül ERTEKİN'e,

Mesleğime olan katkılarından dolayı Anabilim Dal'ımızın saygıdeğer hocalarına,

Tez çalışmamın gerçekleşmesinde maddi imkân sağlayarak beni destekleyen Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Desteklerini ve dostluklarını bana her zaman hissettirerek içimi ferahlatan, aynı zamanda akademik hayatıma da katkılarda bulanan kıymetli dostlarım Veteriner Hekim Başak YÜCEL, Diyetisyen Yağmur SÜRÜCÜ, Fizyoterapist Miray ALA, Eczacı Betül ÇETİN ve Diyetisyen Aziz BEDELOĞLU'na,

Hayatımın her döneminde olduğu gibi bu süreçte de hep yanımda olduklarını hissettiren, gösterdikleri sonsuz destek ve verdikleri manevi güç ile bu günlere gelmemi sağlayan canım annem Vildan UĞUR, babam Metin UĞUR, kardeşim Enes UĞUR başta olmak üzere; iyi niyetleriyle her zaman güç ve huzur bulduğum, kalbimi ısıtan çok sevgili aile büyüklerime,

En içten duygularımla teşekkür ederim.

9. ÖZGEÇMİŞ

Lisans eğitimini 2016-2020 yılları arasında İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nde tamamlayarak Diyetisyen ünvanı almıştır. Lisans döneminde aktif kulüp başkanlığı ve dernek yönetim kurulu üyeliği ile mesleki ve sosyal birçok etkinlik düzenlemiştir. Aynı yıllarda gıda sektörüne ilgisinden dolayı Anadolu Üniversitesi Aşçılık bölümünü tamamlamıştır. Obezite, diyabet, kardiyoloji, onkoloji, anne çocuk, sporcu beslenmesi, metabolik ve bariatrik cerrahi, yeme bozuklukları, alerji intolerans ve eliminasyon diyeti, fonksiyonel tıp diyetisyenliği, gıda hijyeni ve denetimi gibi birçok alanda kongre, kurs ve eğitim programına katılmıştır. Özellikle otoimmün hastalıklar ve gıda mikrobiyolojisi üzerinde çalışmaktadır. 2020 yılı itibari ile Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Eğitimi'ne başlamış olan İrem UĞUR, çeşitli dergilerde yayınlanmış makaleleri ve kitap bölüm yazarlıkları ile akademik çalışmalarına devam etmekte olup 2022 yılı itibariyle Bursa Fatih Sultan Mehmet Bulvarı'nda beslenme ve diyet danışmanlığı hizmeti vermektedir.