



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KANATLI *SALMONELLA*'LARI ÜZERİNE DEZENFEKTANLARIN ETKİSİNİN KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDİRİLMESİ

Adil AKSOY

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hakan YARDIMCI

2015-ANKARA

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KANATLI *SALMONELLA*'LARI ÜZERİNE
DEZENFEKTANLARIN ETKİSİNİN
KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDİRİLMESİ**

Adil AKSOY

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hakan YARDIMCI

2015- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mikrobiyoloji Doktora Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma, aşğıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20/05/2015



Prof.Dr. K.Serdar DİKER

Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof.Dr. Hakan YARDIMCI
Ankara Üniversitesi



Prof.Dr. T. Haluk ÇELİK
Ankara Üniversitesi



Prof.Dr. Murat YILDIRIM
Kırıkkale Üniversitesi



Doç.Dr. K.Semih GÜMÜŞSOY
Erciyes Üniversitesi
Raportör

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
İçindekiler	III
Önsöz	IV
Simgeler ve Kısaltmalar	V
Çizelgeler	VII
Şekiller	VIII
1.GİRİŞ	1
1.1. Etiyoloji	2
1.2. Epidemiyoloji	4
1.3. Teşhis	6
1.4. İzolasyon ve İdentifikasyon	7
1.5. Koruma ve Kontrol	9
1.5.1. Yönetim Prosedürleri	10
1.5.2. Ulusal Kontrol Programı	11
1.5.3. Aşılama	12
1.5.4. Kompetativ Eksklüzyon	13
1.6. Sağaltım	14
1.7. Dezenfeksiyon	15
1.8. Dezenfektanların Etki Tarzları ve Dezenfektanların Türleri	15
1.8.1. Bakteri Membranlarının Fonksiyonunu Bozanlar	16
1.8.1.1. Fenol-Fenollü Bileşikler	16
1.8.1.2. Sentetik Deterjanlar	17
1.8.1.3. Organik Solventler	18
1.8.2. Proteinleri Denatüre Edenler	18
1.8.3. Enzim Aktivitesini Bozanlar	18
1.8.4. Nükleer Sistemi Bozanlar	19
1.9. Dezenfeksiyonun Dereceleri	19
1.9.1. Düşük Dereceli Dezenfeksiyon	19
1.9.1.1. Fenollü Dezenfektanlar	20
1.9.1.2. Kuarterner Amonyum Bileşikleri	20
1.9.2. Orta Dereceli Dezenfeksiyon	21
1.9.2.1. Alkoller	22
1.9.2.2. Hipokloridler	22
1.9.2.3. İyot ve İyodofor Dezenfektanlar	23
1.9.3. Yüksek Dereceli Dezenfeksiyon	24
1.9.3.1. Hidrojen Peroksit	24
1.9.3.2. Gluteraldehit	25

1.9.3.3. Formaldehit	26
1.9.3.4. Orto-Fitalaldehit	26
1.9.3.5. Perasetik Asit	27
1.9.3.6. Perasetik Asit ve Hidrojen Peroksit	27
1.10. Dezenfektanların Seçim Kriterleri	28
1.11. Dezenfektanlara Karşı Direnç	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM	32
2.1. Mikroorganizmalar	32
2.2. Dezenfektanlar	32
2.3. Besiyerleri	33
2.4. Tampon Solüsyonlar	33
2.5. Organik Maddeler	34
2.6. Mikroorganizmaların Aktivasyonu	34
2.7. Bakteri Sayımları	34
2.8. Antimikrobial Aktivitenin Saptanması	35
2.9. PCR’da Kullanılan Maddeler	35
2.10. PCR’da Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar	36
2.11. Kuarterner Amonyum Bileşikleri (Benzalkonyum Klorür) Dirençliliğinin Belirlenmesi	39
3. BULGULAR	40
3.1. Bakteri Sayısı	40
3.2. Antimikrobial Aktivitenin Sonuçları	40
3.2.1. Benzalkonyum Klorür (Kuarterner Amonyum Bileşikleri)	42
3.2.2. Glutaraldehit	45
3.2.3. Hidrojen Peroksit	47
3.2.4. İyot	48
3.3. Kuarterner Amonyum Bileşiklerinin Dirençliliğinde Rol Oynayan Sınıf I İntegrone Ait Genotipik Bulgular	51
3.4. Kuarterner Amonyum Bileşikleri Dirençlilik Testlerine Ait Genotipik Bulgular	52
4. TARTIŞMA	53
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
ÖZET	64
SUMMARY	66
KAYNAKLAR	68
ÖZGEÇMİŞ	74

ÖNSÖZ

Türkiye’de *Salmonella* infeksiyonları uygulanan tüm kontrol stratejilerine (biyogüvenlik, aşılama, vb.) karşınl görölmeye devam etmektedir. Ayrıca endemik ve epidemik infeksiyonlar içerisindeki önemini korumaktadır. Dezenfektan uygulamaları ile hastalıkların kontrol altına alınması mümkündür. Dezenfektanların kanatlı sektöründe doğru bir şekilde uygulanması sonucunda üretimden tüketime kadar olan aşamalarda patojen etkenlerin kontrol altına alınmasında başarı sağlanmaktadır. Bu nedenle, kanatlı *Salmonella*’ları üzerine dezenfektanların etkisinin karşılaştırılmalı değerlendirilmesine çalışıldı.

Ders dönemi ve tez çalışmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli danışman hocam Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hakan YARDIMCI başta olmak üzere, tez izleme komitesindeki hocalarım Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. K. Serdar DİKER ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Tarık Haluk ÇELİK’e, çalışmalarım boyunca katkılarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Müjgan İZGÜR’e, Prof. Dr. Mehmet AKAN’a, Prof. Dr. Barış SAREYYÜPOĞLU’na, Yar. Doç. Dr. H. Kaan MÜŞTAK’a, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında tüm yüksek lisans ve doktora yapan arkadaşlarıma, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok sevgili eşim Tuğba AKSOY’a ve çocuklarıma İsmail AKSOY ve Enes AKSOY’a teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
AAC	Aminoglikozid asetilaz
ANT	Aminoglikozid nukleotidil transferaz
APH	Aminoglikozid fosforilaz
ANOVA	Varyans analizi istatistik bilim dalında, grup ortalamaları ve (gruplar içi ve gruplar arası varyasyon gibi) bunlara bağlı olan işlemleri analiz etmek için kullanılan bir istatistiksel modeller koleksiyonudur.
<i>attI</i>	İntegrasyon kaset alanlarını içeren hedef gen bölgesi, ORF ile birleşerek onları fonksiyonel hale getiren genler olarak tanımlanmaktadır.
BPW	Buffere Peptone Water
CFU/ml	1 mL lik su numunesi içinde oluşan koloni sayısı
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
FTS	Fizyolojik tuzlu su
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₂ S	Hidrojen sülfür
HIV	Human immunodeficiency virus (İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü)

ISO 6579	International Organization for Standardization Method 6579
IMVIC	İndol, Metil red, Voges - Proskauer ve Citrat testleri
<i>intI1</i>	İntegraz genini ve antibiyotik direnç gen kasetlerini barındıran hedef gen bölgesi, ORF ile birleşerek onları fonksiyonel hale getiren genler olarak tanımlanmaktadır.
L	Litre
McFarland	Bakteri sayısını belirlemek için referans tüpler
MgCl ₂	Magnezyum klorür
MKTTnB	Muller Kauffmann tetrathionate-novobiocin Broth
ml	Mililitre
MRVS	Moddified Rappaport Vassiliadis Semi Solid
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
NH ⁺⁴	Amonyum
OPA	Orto-fitalaldehit
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
pH	Hidrojenin gücü
ppm	Milyonda bir birim
QAC	Quarter amonyum bazlı dezenfektan
<i>qacEΔ1</i>	Quarter amonyum bileşiklerine karşı direnç geni
S.	<i>Salmonella</i>
<i>sul1</i>	Sülfonamid direnç geni
TBE	Tris Borik asit EDTA
TSB	Trypticase Soy Broth
TSI	Triple Sugar Iron
UV	Ultraviyole
XLD	Xylose-Lysine-Deoxycholate

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Primerin baz dizisi, bağlandığı spesifik gen bölgeleri, PCR ürünü uzunluğu.

Çizelge 3.1. Dezenfektan uygulamadan önce bakteri sayısı

Çizelge 3.2. Dezenfektan etkinlik bulguları

Çizelge 3.3. PCR sonucunda hedef gene göre pozitif çıkan kuarterner amonyum bileşikleri dirençli suşlar

ŞEKİLLER

Şekil 3.2.1. Benzalkonyum klorür'ün 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Enteritidis üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.2. Benzalkonyum klorür'ün 1:200'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Infantis üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.3. Benzalkonyum klorür'ün 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Infantis üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.4. Benzalkonyum klorür'ün 1:200'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Typhimurium üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.5. Benzalkonyum klorür'ün 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Typhimurium üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.6. Glutaraldehid'in 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Enteritidis üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.7. Glutaraldehid'in 1:100'lük, 1:200'lük ve 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Infantis üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.8. Glutaraldehid'in 1:200'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Typhimurium üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.9. Glutaraldehid'in 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Typhimurium üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.10. Hidrojen Peroksit'in 1:100'lük, 1:200'lük ve 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Infantis ve *Salmonella* Enteritidis üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.11. İyod'un 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Enteritidis üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.12. İyod'un 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Infantis üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.13. İyod'un 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Typhimurium üzerine etkisinin grafiği.

Şekil 3.2.14. PCR'da qacE Δ 1 pozitif örnek görüntüsü.

1. GİRİŞ

Salmonella, genus adını (*Enterobacriaceae* ailesinde yer alan) bir Veteriner Hekim olan mikrobiyolog Daniel E. Salmon'a (1850-1914) atfen almıştır. Serolojik olarak 2500'den fazla farklı serovarı bulunmaktadır. Son zamanlarda yapılan taksonomik çalışmalar, kanatlılara ait tüm *Salmonella* etkenlerinin genetik olarak bir tek tür "*Salmonella enterica*" içerisinde tanımlandığını bildirmektedir (Gast, 2008; Barrow ve ark., 2010).

"O" ve "H" antijenlerinin analizi ile 1926 yılında White tarafından başlatılan ve 1941 yılında Kauffmann tarafından sürdürülen çalışmalar serotiplerin sayılarının belirlenmesinde kullanılmıştır (Grimont ve ark., 2000). Basılmış ilk tablo 20 serotip içerirken (Erdem, 2002), son zamanlarda bu sayı yaklaşık 2500'ü aşmış durumdadır (Nataro ve ark., 2009).

Salmonella'ların neden olduğu kanatlı infeksiyonları üç kategori içerisinde gruplandırılmaktadır. Bunlardan ikisi diğer tüm serovarlar içerisinde hareketsiz bulunan ve kanatlı türlerine spesifik serovarlar olan, *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum*'dur. *S. Pullorum* kanatlılarda ve civcivlerde akut sistemik bir hastalık olan Pullorum hastalığına neden olmaktadır. *S. Gallinarum* ise daha çok yetişkin tavuklarda akut ya da kronik septisemik bir hastalık olan Kanatlı Tifo'suna neden olmaktadır. Bu hastalıkların her ikisi de geçmişte kanatlı üreticileri açısından ciddi problemlere neden olurken, günümüzde ciddi anlamda uygulanan eradikasyon programları nedeni ile gerekli önlemler alınmaktadır (Gast, 2008; Desin ve ark., 2013). Diğer grupta ise çok sayıda hareketli olan ve konak spesifik olmayan *Salmonella* serotipleri yer almakta ve paratifoid *Salmonella*'lar adı altında toplanmaktadırlar. Çeşitli serotiplerin bulunduğu bu gruptan evcil ve vahşi hayvanlar etkilenirken aynı zamanda

gıda zinciri ile insanlara da bulaşmalar şekillenmektedir. Paratifoid infeksiyon, kanatlılar arasında oldukça sık gözlenmesine rağmen, akut sistemik infeksiyonlar dışında, stres koşulları altında genç kuşlarda da yatkınlık gözlenmektedir. Ayrıca, tavuklar ve hindiler arasında karkas elde edilmesinin son aşamasında kontaminasyonu gözlenen paratifoid *Salmonella*, asemptomatiktir, aynı zamanda da bağırsaklar ve sindirim sisteminde persiste kolonize olabilmektedir. *S. Enteritidis* gibi bazı serotipler ise yumurtacıları sistematik olarak infekte etme kabiliyetine sahiptirler. Üçüncü ve son grubu teşkil eden ve hareketli olan *S. enterica* subspecies *arizonae*'dir. Bu mikroorganizma diğerlerinden biyokimyasal özellikleri ile ayrılmasına rağmen diğer *Salmonella* infeksiyonlarından klinik olarak ayırt edilemeyen akut septisemik bir hastalığa neden olmaktadır. Kanatlı endüstrisinde yer alan modern tesisler giderek artmakta ve *Salmonella*'nın yayılmasındaki fırsatları daha kompleks ve zor hale getirmektedir (Gast, 2008; Desin ve ark., 2013).

Salmonella genusunda yer alan bakteriler, kanatlılarda çeşitli akut ve kronik hastalıklara neden olmaktadır. Bu hastalıklar dünya çapında süreklilik arz etmekte ve önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Infekte olan kanatlı sürüleri *Salmonella* için önemli bir rezervuardır ve gıda zinciri vasıtasıyla da insanlara bulaşmaktadır. Kanatlı endüstrisinde yer alan modern tesisler giderek artmakta ve *Salmonella*'nın yayılmasındaki fırsatları daha kompleks ve zor hale getirmektedir (Gast, 2008).

1.1. Etiyoloji

Salmonella, *Enterobacteriaceae* familyasının genel karakteristik özelliklerini taşımaktadır. Kanlı agar'a ekim işlemini takiben 37°C'lik etüvde 24-48 saat

içerisinde üreme göstermektedir. MacConkey agar, Brilliant Green agar ve Xylose-Lysine-Deoxycholate (XLD) agar'da laktoz negatif olarak üreme özelliğine sahiptir. Gram negatif çomak şeklinde, 0,7-1,5 x 2-5 µm büyüklüğündedir. Flagella'ya sahip olan serotipleri hareketli olup, diğer serotipler hareketsizdir. Fakültatif anaerobik, katalaz pozitif, oksidaz negatif mikroorganizmalardır. Nutrient Broth içerisinde homojen üreme göstermektedirler. Triple Sugar Iron (TSI) agar'da laktoz negatif olarak üreyen *Salmonella*'lar glukoz, sükroz ve H₂S açısından pozitiflik ihtiva etmektedirler. IMVIC testlerinde; İndol negatif, Metil Red pozitif, Voges-Proskauer negatif ve Sitrat pozitifler. *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* arasındaki ayrımı sağlayan en önemli biyokimyasal test dulcitol fermentasyonudur; *S. Gallinarum* pozitif iken, *S. Pullorum* negatiftir. Yine, *S. Pullorum* kültürleri ornitin dekarboksilazı hızlı bir şekilde üretmektedir, *S. Gallinarum* ise bunu gerçekleştiremez. *Salmonella*'lar hareketlidirler, buna rağmen *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* hareketsizdir (Shivaprasad ve Barrow, 2008; Gast, 2008).

Salmonella türleri fakültatif hücre içi bakterilerdir. Bütün türleri patojen olarak kabul edilmektedir (Sırıken, 2013). *Salmonella* serotiplerinin belirlenmesinde, "O" (somatik) ve "H" (flagellar) temel alınarak Kauffmann-White Şeması kullanılmaktadır. Son sınıflandırmaya göre iki tür bulunmaktadır. Bunlar: *S. bongori* ve *S. enterica*'dır. *S. enterica* türü ise, aşağıda belirtilen altı alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar; *S. enterica* subsp. *enterica* (I), *S. enterica* subsp. *salamae* (II), *S. enterica* subsp. *arizonae* (IIIa), *S. enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb), *S. enterica* subsp. *houtenae* (IV), *S. enterica* subsp. *indica* (V)'dır (Guibourdenche ve ark., 2010).

1.2. Epidemiyoloji

Salmonellozis, *Salmonella*'nın iki türü (*Salmonella enterica* ve *S. bongori*) tarafından insanlarda ve hayvanlarda meydana gelen infeksiyöz bir hastalıktır. *Salmonella*, intestinal bakteri olmasına rağmen, çiftliklerde, insan dışkısında ve fekal kontamine materyallerde, kısacası çevrede yaygın olarak bulunan bir mikroorganizmadır. Kronik taşıyıcılar ya da semptomatik ve asemptomatik infeksiyonlar sıklıkla ayırt edilememekle birlikte kanatlıları ve insanları tehdit etmektedir (Poppe, 2000; Lutful Kabir, 2010).

İnsan ve hayvanlardaki hastalığın en yaygın etkenleri *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* iken; *S. Infantis*, *S. Hadar* *S. Heidelberg* ve *S. Virchow* için de artan ciddi endişeler bulunmaktadır (Freitas Neto ve ark., 2010; Foley ve ark., 2011). Son on beş yıllık süre içerisinde kanatlılarda en yaygın gözlenen serovarlardan *S. Enteritidis*'in yerini *S. Typhimurium* almıştır. Kanatlılarda meydana gelen *Salmonella* infeksiyonlarının birçok kaynağı bulunmaktadır. Kanatlılar ve diğer birçok hayvan latent infekte ve klinik olarak hasta olmakla birlikte *Salmonella* etkenini sekret ve ekskretleri ile etrafa saçmaktadırlar (Poppe, 2000). Böylelikle hem geniş bir rezervuar görevi görmektedirler hem de çevresel, diğer hayvanlar ve insanlar için hastalık kaynağını taşımaktadırlar. Kanatlılar çoğunlukla damla, dışkı, yem, su, toz, alet ve ekipmanlar ile horizontal olarak ayrıca, *Salmonella* etkeni ile infekte olan bireysel hayvanlarla direkt temas sonucunda da hastalık tablosu şekillenmektedir (Poppe, 2000).

Ovaryum follikülleri infekte olduğunda ya da oviduktun içerisindeki yumurta infekte hale geldiğinde vertikal olarak bulaşma şekillenmektedir. Yönetim uygulamaları (management) *Salmonella* etkeninin bulaşmasını

önemli bir derecede azaltmaktadır. Birçok faktör horizontal ve vertikal bulaşma için birbirileri ile ilişki içerisinde (Poppe, 2000).

Paratifo infeksiyonları çok sayıda *Salmonella* serotipi tarafından meydana gelmektedir. Bu serotipler; *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Derby*, *S. Virchow*, *S. Heidelberg*, *S. Newport*, *S. Stanley*, *S. Thomson* ve *S. Agona*'dır. Paratifoid etkenlerin asemptomatik özellikte olmaları, konakçı spesifik olmamaları ve dışkıyla etrafa saçılmalarından dolayı tifoid etkenlere göre epidemiyolojileri daha karmaşık olarak karşımıza çıkmaktadır (Lapuz ve ark., 2008).

Paratifoid etkenlerin bulaşmasında çevresel kaynaklar, kontamine atık sular, hayvan yemleri, evcil ve vahşi hayvanlar, kuşlar, rodentler ve insanlar rol oynamaktadır. Civcivler, yumurta çıkışında ağız yoluyla etkeni alabilmekte ve dışkı yoluyla yoğun bir şekilde saçmaktadırlar. Etkenin, kontamine yumurta kabuğu, tüy ve tozlardan alınarak, civcivlerin kuluçka makinalarında infekte olması kuluçka makinalarının da kontaminasyonuna yol açmaktadır. Bu şekilde meydana gelen infeksiyon, broylerin hayatı boyunca sürmekte ve aynı kümesteki hayvanlar arasında kros-kontaminasyonlara neden olmaktadır. Dışkıyla saçılma oranını ise antibiyotik, probiyotik ve büyütme faktörlerinin kullanımı etkilemektedir (İzgür, 2002).

Yem de paratifoid etkenlerin bulaşmasında önemli bulaşma kaynaklarından biridir. Özellikle kanatlıların üretim aşamasında *Salmonella* kontrolü en kritik noktalardan biridir ve bulaşmadaki ana nedeni teşkil etmektedir (Cox ve Pavic, 2010).

Bulaşmada kümesin bulunduğu bölgenin iklimi önem taşımaktadır. Ilıman iklimli bölgelerde yetiştiriciliğin yapıldığı yarı açık kümesler, fare, diğer kemiriciler ve sürüngenlerin girişi açısından risk kaynağıdır. Farelerle mücadelede kullanılan kediler de kontaminasyon kaynağıdır. Ayrıca, hamam böcekleri, küçük yer kurtları, diğer hayvanlar, kümes personeli, ekipman ve kanatlıların kümes içerisindeki içme suyu kaynakları da paratifoid etkenlerinin bulaşmasında rol oynamaktadırlar (İzgür, 2002).

Batı Japonya'da 2004-2006 yılları arasında yapılan bir çalışmada; *S. Enteritidis* ve *S. Infantis* kontaminasyonun yumurta çiftliklerine yayılımında sıçanların rolünün saptanması amaçlanmıştır. Bu nedenle, 851 sıçan incelenmiş ve bunların, 113'ü *S. Enteritidis*, 158'i *S. Infantis* ve 28'i her iki serotip pozitif olarak tespit edilmiştir (Nataro ve ark., 2009).

1.3. Teşhis

Pullorum Hastalığı ve Kanatlı Tifo'su için ayırıcı teşhisin yapılması gerekmektedir. Bu amaçla *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* için düzgün bir izolasyon ve identifikasyon yapılmalıdır. Öncelikle kümesin hastalık geçmişi öğrenilmeli, klinik semptomlar, ölümler ve lezyonlar dikkate alınmalıdır. Pozitif serolojik bulgular identifikasyon için en önemli kriterdir. Sonuçlar, negatif olsa dahi enfeksiyonu takiben antikor aglütinasyonunun görünürlülüğünün 3-10 gün içerisinde ayırıcı teşhis için kullanılamayacağı bilinmelidir. Benzer olarak pozitif sonuçlar, *S. Enteritidis* gibi diğer serogrup D *Salmonella*'lar ile kros-reaksiyon verebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır (Gast, 2008).

1.4. İzolasyon ve İdentifikasyon

Salmonella spp.'lerin üretiminde bazı selektif zenginleştirme metotları da kullanılmaktadır. Böylelikle hem kontaminant bakterilerin üremesi engellenmekte hem de *Salmonella* spp.'lerin üremeleri arttırılmaktadır. Bu amaçla, laboratuvarlarda kullanılan birçok metot bulunmaktadır. Uluslararası olarak en yaygın kullanılanı ise, International Organization for Standardization Method 6579 (ISO 6579: 2002)'dur. Buna göre, 25 g örnek 225 ml Buffered Peptone Water (BPW; Oxoid) içerisinde 18-24 saat 37°C'de etüvde inkubasyona bırakılmaktadır. İnkubasyon sonrasında, örnekten alınan 1 ml PCR için gerekli olan template DNA hazırlığında kullanılmaktadır. Örnekten 1ml Muller Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin Broth (MKTTnB;Oxoid) ve 0,1 ml Modified Rappaport Vassiliadis Semi Solid Medium (MRVSS;Oxoid)'a transfer edilerek sırasıyla 18-24 saat 37°C'de ve 24 saat 41,5°C'de zenginleştirme aşamaları gerçekleştirilmektedir. Selektif besiyerlerine ekim aşamasına ön zenginleştirmede kullanılan MKTTnB ve MRVS kullanılarak Xylose Lysine Deoxycholate agar (XLD; Oxoid) ve Xylose Lysine Tergitol-4 Agar (XLT; Oxoid)' a ekim yapılarak, pleytler 37°C'de 24 saat inkubasyona bırakılmaktadır. Şüpheli *Salmonella* kolonileri biyokimyasal testlere (TSI, H₂S, gaz oluşumu, VP, Üre, Lizin Dekarboksilaz, β-Galaktosidaz) tabi tutulmaktadır (ISO 6579(2002); Koyuncu ve Haggblom, 2009; Eyigor ve ark., 2010).

Pullorum hastalığı ve kanatlı Tifo'su karakteristik olarak sistemik infeksiyonlara neden olmakta ve daha çok iç organlardan izole ve identifiye edilmektedir. Kültür amacıyla, daha çok karaciğer, dalak ve sekum örnekleri kullanılmaktadır. Lezyonlar ise akciğerler, kalp, ventriküller, pankreas ya da sarı kesede tespit edilmektedir. Yetişkin kanatlılarda ise üreme sisteminde ovaryumlarda lezyonlar gözlenebilir ve bu lezyonlu bölgelerden Kanlı agar'a ve Brilliant Green agar'a gerçekleştirilen ekimler ile izolasyon yapılmaktadır.

Bu petriler 24-48 saat 37°C'de inkubasyona bırakılmaktadır (Shivaprasad ve Barrow, 2008).

Her iki organizma da Gram negatif ve sporsuzdur. *S. Pullorum* küçük, düzgün kenarlı ve translusent bir koloni oluşumu gösterirken, *S. Gallinarum* düzgün kenarlı, mavi-gri, nemli koloniler şeklinde üremektedir. *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum*, TSI agar'da bulunan karbonhidratları fermente edememekte ancak H₂S pozitifdir, indol ve üreaz testleri negatif iken hareket mevcut değildir. Bu iki organizma ornitin, dulsitol, maltoz ve mannitol testleri ile ayırt edilebilmektedirler (Shivaprasad ve Barrow, 2008).

Paratifoid *Salmonella*'lardan olan *S. Enteritidis*, sporsuz, 0,7-1,5 x 2,0-5,0 µm büyüklüğünde, Gram negatif bir etkidir ve peritrik flagella'ları ile hareketlidirler. 24-48 saat 37°C'de inkubasyon süresinden sonra düzgün kenarlı koloniler meydana gelmektedir. TSI agar'da glikozu fermente ederken, laktoz ve sükrozu fermente edememektedir. Ancak, H₂S üretimi gözlenmektedir. Üreaz testi negatiftir ve indol üretemezler. Konak spesifik etkenler olan *S. Pullorum*'dan dulsitol'u fermente edememesi ile ve *S. Gallinarum*'dan glikoz fermentasyonu sırasında gaz oluşturmaması biyokimyasal özellikleri ile ayrılmaktadır. Yine hareketli olmaları da paratifoid *salmonella*'lar için ayırt edici bir özelliktir (İzgür, 2002; Gast, 2008).

Paratifo infeksiyonları, tavuklarda klinik ve enterik form olarak seyretmektedir. Kanatlı hayvanlarda bazı vakalarda, civcivlerde erken dönem infeksiyonlarında, mortalite %10-80 arasındadır. Bu durumda sarı kese infeksiyonu, karaciğer ve dalakta büyüme, ayrıca poliserozitis tabloları da dikkat çekmektedir. Paratifo infeksiyonları, kanatlı hayvanın yaşına, immun direncine, etkenin virülansına ve vücuda giriş yoluna bağlı olarak infeksiyon meydana getirmektedir. Ergin kanatlılarda şiddetli sistemik tablolara

rastlanmamaktadır. Klinik tablolar genellikle civcivlerde gözlenmektedir. İştahsızlık, su tüketiminde azalma, tüylerde karışıklık ve artan ishal klinik septomlar arasında bulunmaktadır. Enterik formda ise klinik belirtiler ve mortalite görülmemekte, ancak dışkı ile çevreye saçılım söz konusu olmaktadır (İzgür, 2002; Akan,2008).

1.5. Koruma ve Kontrol

Kontrolün ilk hedefi tavuk sürülerinde *Salmonella* infeksiyonlarını mümkün olduğunca düşük düzeye indirmektedir. Bu nedenle, tavuk sürülerinin piramidinin tepesinden başlayıp aşağıya doğru *Salmonella*'nın tamamen ortadan kaldırılmasının sağlanması prensibine dayanmaktadır (Wegener ve ark., 2003).

Üreticiler *Salmonella*'nın yayılmasının engellenmesi amacı ile dünya çapında birçok ülkede koruma stratejileri geliştirmişlerdir. Avrupa Birliği de üye ülkelerin çiftliklerinin ve yumurtacı kümeslerinin *Salmonella*'dan arı olmaları için kontrol programları uygulanmasını öne sürmüşlerdir. Bu amaçla 250'den fazla kanatlıdan dışkı örnekleri toplanarak bir havuz oluşturulmakta ve örnekler incelenmektedir (Poppe, 2000).

Sonuçta, *S. Enteritidis* ya da *S. Typhimurium* identifikasyonu yapıldığında yetiştirici bu hastalığın varlığını devlete bildirmek zorundadır. Sonrasında, Veteriner Hekim kontrolünde karaciğer, ovaryum ve bağırsak alınarak gruplandırılmaktadır. Alınan örneklerden pozitiflik tespit edilirse kanatlı kümeslerinde bulunan altlık ve dışkı derhal uzaklaştırılmalı, kümesler temizlenmeli ve dezenfekte edilmelidir. Damızlık kümeslerinde pozitiflik

saptanması sonucunda ise kümes boşaltılmalı ve yüksek risk taşıyan kümes materyalleri de mutlaka dezenfekte edilmelidir. Kümes örneklemelerinde aynı zamanda kanatlı yemleri ve yem materyalleri de kullanılmaktadır. Sanitasyon programı, damızlık ve yumurtacı sürülerde *Salmonella* için kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra sanitasyon işlemi yine kanatlı yemlerine ısıya tabi tutma şeklinde uygulanmaktadır. Altılık örnekleri ise laboratuvara gönderilerek etken yönünden incelenmesi yapılmaktadır. Cıvcıvler kümeslere yerleştirilmeden önce kümeslerin dezenfektanlar ile mutlaka temizlenmesi gerekmektedir. Ancak, *Salmonella*'nın tamamen eliminasyonu ve patojen etkeni taşıyıcı rodent'lerin tamamen uzaklaştırılmasının çözümülenmesi oldukça güç bir problemdir (Poppe, 2000).

Birçok ülkede, kanatlı Tifo'su ve Pullorum hastalığı resmi verilerin azlığı ve kayıt altına alınmamasından dolayı gerçek insidansının çok altında bulunmaktadır. Kanatlı kümeslerinin Pullorum hastalığı ve kanatlı Tifo'su etkenleri olan *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum*'dan ari olması gerekmektedir. Bu nedenle temel yönetim prosedürleri uygulamaları ile hastalık insidansının azaltılması sağlanmaktadır (Barrow ve Freitas Neto, 2011). Aynı zamanda ulusal kontrol programı, aşılama ve kompetitiv eksklüzyon hastalık insidansının azaltılmasına katkı sağlamaktadır.

1.5.1. Yönetim Prosedürleri

Yönetim prosedürleri büyük ölçüde *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* mevcudiyetini engellemek adına korumayı esas almaktadır. Yumurtaya geçmesi nedeni ile sürülerin bu etkenlerden ari olması gerekmektedir. Şöyle ki;

- 1) Civcivler ve kanatlılar, Pullorum Hastalığı'ndan ve Kanatlı Tifo'sundan ari kaynaklardan sağlanmalıdır.
- 2) Pullorum'dan ve Tifo'dan ari olan kanatlılar diğer kanatlılar ile biraraya getirilmemelidir.
- 3) Civcivler ve kanatlılar, tüm *Salmonella*'lardan ari olmalı, işlenmiş yemler ile beslenmeli ve yemler içeriklerinin de *Salmonella*'lardan ari olmalıdır.
- 4) Civcivler ve kanatlılar temizlenmiş, sanitize edilmiş ve *Salmonella* etkenlerine spesifik kimyasallar ile dezenfeksiyon işlemi yapılmış kümeslere yerleştirilmelidir.
- 5) *Salmonella*'ların çevresel etkenlerine karşı kümeslerin korunması amacıyla biyogüvenlik önlemleri alınmalıdır. Bunlar:
 - a. Serbest olarak bulunan kanatlılar genellikle *Salmonella* etkenlerinin taşıyıcılarıdır. Bu nedenle kümesler bu kanatlılardan uzak tutulmalıdır.
 - b. Fareler, ratlar, tavşanlar, kediler, köpekler ve diğer pet hayvanları diğer *Salmonella*'ların taşıyıcıları olabilirler, ayrıca nadir de olsa *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* ile infekte olabilirler. Bu nedenlerle, kümesler bu hayvanlardan uzak tutulmalıdır.
 - c. İnsektlerin kontrolleri önemlidir.
 - d. İçme sularının kontrolü için ise sular mutlaka klorlanmalıdır.
 - e. Hasta ve ölü kanatlılar ise, mutlaka kümeslerden uzaklaştırılmalıdır (Shivaprasad ve Barrow, 2008).

1.5.2. Ulusal Kontrol Programı

Pullorum ve Tifo'dan ari kümesler elde etmek için Amerika Birleşik Devletleri, bir Ulusal Kontrol Programı uygulamıştır. Bu amaçla, sürü yönetim

programları uygulanmakta ve alan eradikasyonu yapılmaktadır. Bu programa göre;

- 1) Pullorum Hastalığı ve Kanatlı Tifo'su bildirimi zorunlu hastalıklardır.
- 2) Hastalık patlak verdiği zaman alan karantina altına alınmalıdır.
- 3) Pullorum Hastalığı ve Kanatlı Tifo'su için yapılan tüm bildirimler mutlaka kontrol edilmelidir.
- 4) Kümeslere alınacak olan yumurtacılar ve diğer kanatlılar mutlaka Pullorum
- 5) Hastalığı'ndan ve Kanatlı Tifo'sundan ari olmalıdır.
- 6) Kanatlı üretim yapılan yerlerde mutlaka Pullorum-Tifo kontrol programları kullanılmalıdır (Shivaprasad ve Barrow, 2008).

1.5.3. Aşılama

Kanatlıların aşılama; *Salmonella* oranını azaltmak, kanatlı ürünlerinde kontaminasyonu önlemek ve insanlara bulaşmasının engellemek için gerekli görülmektedir. Konuyla ilgili olarak birçok çalışma yapılmasına karşın halen daha iyi tanımlanmış ve daha güvenilir *Salmonella* aşılara ihtiyaç duyulmaktadır (Matulova ve ark., 2012; Desin ve ark., 2013).

Canlı-atenüe *Salmonella* aşı suşları birkaç farklı yaklaşımla atenüe edilmekte ve sonrasında kanatlılardaki koruyucu etkinliği için test edilmektedir. Canlı ve attenüe edilmiş aşılar ile aşılamamanın amacı *S. Enteritidis*, *S. Gallinarum* ve *S. Typhimurium* suşlarının karaciğer, dalak, ovaryum ve sekumda ve yine *S. Enteritidis*'in dışkı ve yumurta içerisindeki kolonizasyonunu azaltmaktır (Cerquetti ve Gherardi, 2000; Feberwee ve

ark., 2001; Gantois ve ark., 2006; Penha Filho ve ark., 2010; Methner ve ark., 2011; Nandre ve ark., 2012; Matulova ve ark., 2012).

Pullorum hastalığı'nın eradikasyon programları birçok ticari kümeste uygulanmakta ve büyük çoğunlukla da eradike edilmiş durumdadır. Kanatlı Tifo'su ise, dünyanın bazı bölgelerinde hala önemli bir problem teşkil etmektedir. Ölü bakteri ile hazırlanan *S. Gallinarum* aşısı Amerika'da üretilmiş ve yine Amerika'da kullanılmayan canlı modifiye aşı ise diğer ülkelerde kullanılmaktadır. Kanatlı Tifo'su için ayrıca 9R suşu kullanılarak birçok ülkede aşı çalışmaları yapılmaktadır. Son zamanlarda da *S. Gallinarum*'un mutant bir suşu ile Kanatlı Tifo'suna karşı immünizasyon sağlanmaktadır (Zhang-Barber ve ark., 1999; Feberwee ve ark., 2001; Gast, 2008; Howard ve ark., 2012).

1.5.4. Kompetitiv Eksklüzyon (Yarışmacı Dışlama)

Bu uygulama biçimi; bir ya da daha fazla faydalı mikroorganizmayı içerisinde barındıran probiyotiklerin gastrointestinal floranın düzenlenmesi için kullanımını içermektedir. Yarışmacı dışlamanın en etkili olanı anaeroblardan laktik asit bakterilerine kadar bir çok mikroorganizma türünü içermektedir (Cox ve Pavic, 2010).

Dışlamada, uçucu yağ asitlerinin üretimi ve kolonizasyon alanlarında meydana gelen yarışma sonucunda direkt etkisini göstererek, bağırsak hareketlerinde artış ve konak immun sistemini uyarıcı etki yapmaktadır. Ticari koşullarda, *Salmonella*'nın dışlanması düşük stres koşullarında ve iyi bir biyogüvenlik ile ilk birkaç günlük uygulama süresince yarışmacı dışlama

uygulaması sonucunda *Salmonella*-ari civcivlerin üretimi sağlanmaktadır (Cox ve Pavic, 2010).

1.6. Sağaltım

Pullorum Hastalığı'na ve Kanatlı Tifo'suna karşı etkili olan koruyucu ve tedavi edici ilaçlar geliştirilmiştir. Çeşitli Sülfonamid'ler, Nitrofuran'lar, Tetrasiklin'ler ve Aminoglikozid'ler bu hastalıklardan şekillenen ölümleri azaltmaktadır. Aminoglikozid'lerden ise Gentamisin, rutin izleme programlarında sıklıkla başvurulmuş önemli bir ajandır ve hem hayvan hem de insan infeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Gast, 2008; Yıldırım, 2010).

Gentamisin dirençliliği Aminoglikozid Asetilaz (AAC), Aminoglikozid Nukleotidil Transferaz (ANT) ve Aminoglikozid Fosforilaz (APH) enzimlerini kodlayan birçok gen tarafından belirlenmektedir. Yumurtaların, inkubasyondan önce neomisin sülfat ile spreylenecekleri civcivleri Pullorum Hastalığı'ndan korumaya yardımcı olmaktadır. Fazla kontamine olan yumurtaların ise *S. Gallinarum*'dan korunmalarına yardımcı olmak için Gentamisin içeren antibiyotikli solüsyonlar kullanılmaktadır. *S. Pullorum*'un ise Klortetrasiklin ve Nitrofurazon'lara karşı direnç geliştirdiği bildirilmiştir (Gast, 2008; Yıldırım, 2010).

1.7. Dezenfeksiyon

Hastalıklara neden olan mikroorganizmaların inaktivasyonuna 'dezenfeksiyon' denilmektedir. Dezenfeksiyon çoğunlukla kimyasallar, ısı ve ultraviyole ışığı ile yapılmaktadır (Arda, 2006).

Kimyasal maddeleri içeren birçok dezenfektan ürün mevcuttur. Dezenfektan maddeler bakterilerin vejetatif formlarını öldürür, ancak daha dirençli olan spor formlarını öldürmeyebilir. Bundan dolayı dezenfeksiyon işlemi yapıldığında, sterilizasyonun gerçekleştiği söylenemez (Ewart, 2001; EPA, 2004).

Dezenfeksiyon, *Salmonella*'nın infeksiyon zincirini kırmak ve kros-kontaminasyonları engellemek amacıyla oldukça büyük öneme sahiptir. *Salmonella* etkenlerine spesifik olan dezenfektanların kullanılması ile cansız ortamlarda bulunan tüm mikroorganizmaların uzaklaştırılması ve gıda maddelerine bulaşmalarını engellemek amacıyla dezenfeksiyon işlemleri yapılmaktadır (Moretro, 2012).

1.8. Dezenfektanların Etki Tarzları ve Dezenfektanların Türleri

Dezenfektanların etki tarzları ve dezenfektanların türleri ise bakteri membranlarının fonksiyonunu bozanlar, proteinleri denatüre edenler, enzim aktivitesini bozanlar ve nükleer sistemi bozanlar olarak dört guruba ayrılmaktadır. Bunlar;

1.8.1. Bakteri Membranlarının Fonksiyonunu Bozanlar

Dezenfektan maddelerin genel özellikleri arasında yüzey gerilimini düşürmek ve ozmotik basıncı arttırmak bulunmaktadır. Böylelikle zararlı organizmaların hücre membranlarının yarı geçirgen özelliği bozulmakta, beslenmesi aksamakta ve sonuç olarak metabolizması durarak ölümleri gerçekleşmektedir. Bu etki tarzına sahip olan kimyasal maddeler arasında fenoller-fenollü bileşikler, sentetik deterjanlar ve organik solventler bulunmaktadır (Arda, 2006).

1.8.1.1. Fenol-Fenollü Bileşikler

Fenolün dezenfeksiyon etkisi için genellikle %2-3'lük solüsyonları kullanılmaktadır. Ayrıca sabunlara da katılarak suda erime veya etki etme kabiliyetini de arttırmaktadır. Aynı zamanda, bakteri ve aşılarda inaktivasyonu ile birlikte serum muhafazası amacıyla da %0,1- 0,2'lik solüsyonlarından da yararlanılmaktadır. Fenol yapısında bulunan halkaların yapısal yer değiştirmesi sonucunda etkileri artmaktadır. Metil fenol, orto, meta ve para kresol ve halogenlenmiş fenol bunlara örnek olarak verilirken diğer fenollü bileşiklere, kreolin, sagrotan, dettol, diklorfen, tetraklorfen, valvanol, baktol ve sudal gibi %1-5 yoğunluklu dezenfektanlar örnek verilebilmektedir (Arda, 2006).

1.8.1.2. Sentetik Deterjanlar

Bu tarz deterjanlar yüzey aktif maddelerdir. Yapılarında bulunan hidrofobik kısım; uzun zincirli hidrokarbonlardan oluşmakta ve yine yapılarında bulunan hidrofilik polar grupların kimyasal karakterlerine göre üç gruba ayrılmaktadır (Arda, 2006).

a) Katyonik Deterjanlar: Kuarterner amonyum bileşikleri içerisinde yer alan bu deterjanlar yüzey aktif maddelerdir. Etki tarzlarını bakterinin yarı geçirgenlik özelliğini bozarak membranlarında bulunan fosfor, nitrojen, protein, lipid ve diğer komponentler arasında bulunan bağları koparmak sureti ile etki etmektedirler. Böylelikle membran bütünlüğü zarar görmekte, enzimler denatüre olmakta etken inaktive edilmektedir. Kuarterner amonyum bileşikleri içerisinde alkil içeren birçok radikal girebilir ve zephiran, ceepryn, phemerol, diaparane, cetavlon, roccal ve laurodin örnek verilebilmektedir (Arda, 2006).

b) Anyonik Deterjanlar: yüksek yağ asitlerinin sodyum ve potasyum tuzları olup, en önemlileri sabunlardır. Yüzey gerilimini azaltarak suyun ıslatma kabiliyetini arttırmaktadırlar. Genellikle Gram pozitif etkenlere etki etmektedirler. Sodyum lauryl sulphate ve alkil benzen sülfonat diğer anyonik deterjanlara örnek olarak verilebilmektedir (Arda, 2006).

c) İyonik Olmayan Deterjanlar: Polieter ve poligliserol esterler burada yer almaktadırlar. Çok etkili dezenfektanlar arasında yer almamakta, deride bulunan bakterilere saponifikasyon ile girerler ve bu şekilde etki göstermektedirler (Arda, 2006).

1.8.1.3. Organik Solventler

Bu solventler mikrobiyostatik etkiye sahip olmakla beraber etil alkol, metil alkol, aseton, isopropilakol ve toluen bu maddelerdendir. Alkoller hücre membranında bulunan lipidleri ayırarak etkilerini göstermektedirler. Bakteri sporları üzerine etkileri bulunmamaktadır (Arda, 2006).

1.8.2. Proteinleri Denatüre Edenler

Enzimlerin yapısında bulunan proteinlerin denatüre olması, bakterilerin ölümüne neden olmaktadır. Bu maddeler arasında; asitler ve alkaliler yer almaktadır. Asit maddelere mineral asitlerden; hidroklorik asit, sülfirik asit, fosforik asit ve nitrik asit, organik asitlerden; laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit örnek verilebilir. Alkali maddelerden fazla iyonize olabilenlere; sodyum hidroksit ve potasyum hidroksit örnek verilebilirken, zayıf alkalilere; kalsiyum dioksit, nitrat iki oksit gibi örnekler verilmektedir (Arda, 2006).

1.8.3. Enzim Aktivitesini Bozanlar

Bu maddeler mikroorganizmalarda bulunan enzimlerin katalitik etkiye sahip bölgelerine ya da substantlar ile birleşen fonksiyonel gruplara (-SH gruplarına) karşı afinite duyarak özel bağlarla bu bölgelere bağlanmaktadır. Böylelikle mikrobiyosidal ve mikrobiyositik etki göstermektedirler. Ağır metaller, tuzlar-iyonlar, oksidan maddeler ve alkilen

maddeler bunlar arasında yer alan kimyasallardır (Arda, 2006). Ayrıca, bu bileşiklerin yüksek konsantrasyonlarda kullanımı hücrel enzim sisteminin inaktif olmasını ve temel metabolitlerin (amino asit vb.) hücreden dışarı sızmasını sağlamaktadır (O'connor ve Rubino, 1991).

1.8.4. Nükleer Sistemi Bozanlar

Bu grubu kimyasal boyalar meydana getirmektedir. Boyalar, organizmaların DNA'sı ile birleşerek aktivitelerini, replikasyonlarını ve protein sentezlerini engellemektedirler. Bazı boyalar, asidik ve nötr boyalardan daha etkilidirler. Malaşit yeşili, kristal viyole ve akridin boyalar bunlar arasında yer almaktadır (Arda, 2006).

1.9. Dezenfeksiyonun Dereceleri

Dezenfeksiyonların dereceleri üçe ayrılmaktadır. Bunlar, düşük, orta ve yüksek dereceli dezenfeksiyonlar başlıkları altına 3 bölümde incelenebilir (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

1.9.1. Düşük Dereceli Dezenfeksiyon

Düşük düzeyli dezenfektanların kullanıldığında birçok bakterinin vejetatif formunu, bazı mantarları ve zarflı virüsleri (örneğin; hepatit B, C, hantavirus

ve HIV) öldürebilmektedir. Böyle dezenfektanlar mikobakterileri ve bakteri sporlarını öldürememektedir. Bu dezenfektanlar genellikle çevresel yüzeylerin temizlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

1.9.1.1. Fenollü Dezenfektanlar

Fenol, genellikle ağız çalkalama sularında, sıvı sabun ve yüzeylerde ayrıca, ev içinde kullanılabilen (örneğin; Lisol gibi) dezenfektanlarda bulunmaktadır. Fenollü dezenfektanlar bakterilere (özellikle Gram pozitif bakteriler) ve zarflı virüslara karşı etkilidirler. Zarfsız virüsler ve sporlara ise etki edememektedirler. Bu dezenfektanlar etkilerini organik materyallerin varlığında sürdürebilmektedirler. Bu sınıf maddeler, laboratuvar yüzeyleri ve çok kritik öneme sahip olmayan medikal malzemeler dahil hastane çevresinin de dekontaminasyonunda kullanılmaktadır. Fenoller, yarı kritik öneme sahip malzemelerin dekontaminasyonu için önerilmemektedir, çünkü bu maddeler kalıcı olabilmekte ve doku irritasyonuna yol açabilmektedir. Fenol içeren dezenfektanlar genellikle güvenlidir, ancak etki süresinin uzunluğuna bağlı olarak deri irritasyonuna yol açabilmektedir (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

1.9.1.2. Kuarterner Amonyum Bileşikleri

Yüzey aktif katyonik deterjanlar olarak sayılan bir grup kimyasal maddelerdir (Cords ve Dychdala, 1993; Boothe, 1998). Kuarterner amonyum bileşikleri yaygın olarak kullanılan dezenfektanlar arasında bulunmakta ve konsantre

edilerek antiseptik olarak da kullanılmaktadırlar. Direkt olarak deri ve doku antiseptiği olarak kullanımları ise ciddi sağlık problemlerine neden olmuştur. Bunun dışında, stetoskop ya da kardiyak kateterler gibi hasta sağlığı materyallerinde dezenfeksiyon amaçlı olarak kullanılmaktadırlar. Yüksek sertliğe sahip sularda, pamuk içeren materyallerde iyi bir temizleyicidir, çünkü aktif içerikleri ile bu materyaller kuarterner amonyum bileşiklerini absorbe etmekte ve mikrobiyal kirliliği azaltmaktadır. Bu bileşiği içeren dezenfektanların içeriğinde; NH^{+4} bulunmakta ayrıca, aril alkil, benzil, didesil, etilbenzil, aksitil gibi amonyum klorid içeren maddeler ile de kombine edilebilmektedir. Benzalkonyum klorür, kuarterner amonyum bileşiklerinden daha çok doku dostu olan dezenfektanlardır. Kuarterner amonyum bileşikleri, Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ve zarflı virüslara karşı etkili dezenfektanlar arasında bulunmaktadır (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

Zarfsız virüslara, mantar ve sporlu bakterilere karşı etkisiz kalmaktadır. Kuarterner amonyum bileşikleri, genellikle toksik etkili olmamasına karşın, uzun süreli temaslarda irritasyona neden olmaktadır. Bu bileşikler genellikle yer yüzeyleri ve duvarlar için kullanımda tercih edilmektedir (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

1.9.2. Orta Dereceli Dezenfeksiyon

Orta düzeyli dezenfektanların kullanıldığı bu uygulama bakterilerin vejetatif formlarını, birçok virüs ve mantarı öldürürken, bakterilerin spor formlarına etki edememektedir.

1.9.2.1. Alkoller

Alkoller arasında: Etil alkol ve İsopropil alkol yer almaktadır. Bu alkollerin bakterilerin vejetatif formlarına karşı bakteriyostatik etkisinden çok bakterisidal etkileri bulunmaktadır. Ayrıca, bunlar tüberkülosidal, fungusidal ve zarflı virüslara karşı virüsidal etkiye de sahiptirler. Alkoller zarfsız virüsler ve bakteri sporlarına karşı etkili değildir. %50 konsantrasyonun altında dilüe edildiklerinde sidal aktiviteleri aniden kesilmektedir. Bakterisidal etkinin elde edilebilmesi için su içerisinde %60-90 (hacim/hacim) oranında bir dilüsyon hazırlanması gerekmektedir. Alkollerin antimikrobiyal etkileri proteinleri denatüre etmelerinden kaynaklanmaktadır. Bunlar aynı zamanda yüzey ya da medikal malzemelerin dezenfeksiyonu için de kullanılmaktadır. Alkollerin etki etme zamanlarına bağlı olarak organik materyallere penetre olamayabilirler. Yanıcı bir madde olmasından dolayı depolanması mutlaka serin bir yerde yapılmalı ve iyi havalandırma koşullarına sahip olmalıdır. Uçucu özellikte olmasından dolayı ise, maddelere etki süresine dikkat edilmesi gerekmektedir. Dokuları irrite etmektedir. Yüzey dezenfektanı olarak kullanılması içinse oldukça pahalıdır. Etil ya da isopropil alkolün kullanımında yukarıda belirtildiği gibi koruma ve el antiseptiği amacıyla %60-90'lık dilüsyonları kullanılmalıdır (Larson, 1991; Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

1.9.2.2. Hipokloridler

Klor içeren dezenfektanlar arasında en çok kullanılanı hipokloridlerdir. Hem sıvı olan (örn; sodyum hipoklorid) hem de katı olan (örn; kalsiyum hipoklorid, sodyum dikloroizosiyanürat) formları bulunmaktadır. En yaygın kullanılan formu ise sıvı solüsyon halinde bulunan %4-6'lık sodyum hipoklorid'dir. Geniş

spektrumlu antimikrobiyal aktivitesi bulunmakta ve toksisite oranı oldukça düşük seviyededir. Dezavantajlarından biri ev içerisinde kullanıldıklarında deri, göz, orofarinks ve özefageal irritasyonlara neden olmakta, diğeri ise yüksek konsantrasyonlarda (>500 ppm) metaller üzerine koroziv etkiye sahip olmaları, organik materyalleri ise inaktif hale getirmeleridir (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

Hipokloridler uygun konsantrasyonda temasta bulunduğu zarflı ve zarfsız virusları elimine etmektedir. Ayrıca, mantar, bakteri ve algelere karşı da etkilidir. Ancak, sporlu bakteriler üzerine etkisizdir. Yüzey dezenfeksiyonu amacıyla 1:50 oranında dilüe edilerek kullanılmaktadır. Dekontaminasyon amacıyla tavsiye edilen dezenfektanlar arasında yer almaktadır. Kan ya da dışkı gibi organik materyalleri klor içerikli dezenfektanlar inaktive etmektedir, böylece bu materyaller ile çalışılmadan önce mutlaka dezenfeksiyon işleminin yapılması gerekmektedir (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

1.9.2.3. İyot ve İyodofor Dezenfektanlar

İyot ve iyodoforlar kimyasal dezenfektanlar arasında yer almaktadır. Bileşimleri birbirine benzeyen kimyasallardır. Bunlar bakterisidal, sporosidal, virusidal ve fungusidal etkili maddelerdir. Bütün bu özellikleri ise etki süresine bağlı olarak değişmektedir. İyodun dezenfeksiyon özelliği, klor gibi, uygulama süresine bağlı olarak organik materyallerin mevcudiyetini nötralize etmelerine dayanmaktadır (Gottardi, 199; Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008). İyot dokular için irrite edici ya da metaller için koroziv etkili olabilmektedir. "Tamed" iyodinleri gibi cerrahi operasyonlar sırasında kullanılan çeşitleri antiseptik özellikte olup, doku irritasyonuna yol

açmamaktadırlar (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008). En sıklıkla kullanılan iodophor povidon-iyot'tur. Ticari povidon-iyot solüsyonlarının 1:2'lik ve 1:100'lük sulandırmaları *Staphylococcus aureus* üzerine mikrobisidal etkiye sahiptir (Rutala ve Weber, 1997).

1.9.3. Yüksek Dereceli Dezenfeksiyon

Bu derecedeki dezenfeksiyon bakterilerin vejetatif formlarına, mikobakterilere, mantarlara, zarflı ve zarfsız virüslara etki ederken, bakteri sporlarında etkisiz kalmaktadır. Yüksek düzeyli dezenfektan kimyasalları (genellikle kimyasal sterilizanlar olarak bilinmektedirler) uygulama süresinin uzunluğuna bağlı olarak sterilizasyon kabiliyetine sahiptirler. Bu kimyasallar ile uygulama yapılmadan önce mutlaka uygulama yapılacak maddenin önceden temizlenmesi gerekmektedir (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

1.9.3.1. Hidrojen Peroksit

Peroksitlerden olan hidrojen peroksit anaerobik bakterilere karşı en iyi etkiyi gösteren dezenfektanlardandır. Yüksek konsantrasyonlarda uygulama zamanına bağlı olarak dokulara zarar verebilmektedir.

Çevresel dezenfektanlar olarak stabilize hidrojen peroksit kullanılmaktadır. Araştırmalar stabilize hidrojen peroksit'in geniş ölçüde zarflı ve zarfsız virüsler, vejetatif bakteriler, mantarlar ve bakterisporları gibi

patojen mikroorganizmalara karşı etkili olduğunu göstermiştir. Ticari üreticiler bu solüsyonun 30 dakika içerisinde sterilizasyon, yüksek konsantrasyonlarının ise 5 dakikada dezenfeksiyon yaptığını ortaya koymuşlardır (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008). Hidrojen peroksit, endüstriyel alanlarda % 30 gibi yüksek konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. % 5-20 konsantrasyon aralıklarında bakterisidal, virüsidal ve fungusidal etki, daha yüksek konsantrasyonlarda ise sporosidal etki göstermektedir (Cords ve Dychdala, 1993).

1.9.3.2. Gluteraldehit

Aldehidler germisidal etkili, gluteraldehit'ler ise bakterisidal, virusidal, fungusidal, sporosidal ve parasitisidal etkilidirler. Likid ve gaz formları bulunan gluteraldehit'ler hem sterilizasyon hem de dezenfeksiyon için kullanılmaktadır. Orta derecede kalıcı özelliktedir ve organik materyallerde kısıtlı miktarda etki göstermektedir (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve ark., 2008). Organik madde varlığında gluteraldehit'ler, formaldehid'e oranla daha yüksek antibakteriyel etkinliğe sahiptir (Quinn ve Markey, 2001). Gluteraldehit'ler yüksek toksik etkili olabilen bir dezenfektandır. Uygulama yapıldıktan sonra iyi bir havalandırma yapılması gerekmektedir (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008). En iyi, pH'nın 7,0 ve sıcaklığın yüksek olduğu ortamda çalışmaktadır (Quinn ve Markey, 2001). Sekiz dezenfektan arasında yapılan testlerde, yüksek sıcaklıkta en etkili çalışan kimyasal dezenfektan grubunun gluteraldehit'ler olduğu saptanmıştır (Gelinas ve ark., 1991).

1.9.3.3. Formaldehit

Formaldehit gaz ve sıvı formlarında dezenfeksiyon ve sterilizasyon amacıyla kullanılmaktadır. Formaldehit, %37 oranında formaldehit içeren ve formalin olarak adlandırılan su bazlı içerik şeklinde ticari olarak satılmaktadır. Su içerikli solüsyonu bakterisidal, tüberkülosidal, fungisidal, virusidal ve sporosidal olarak etkimektedir. Bu madde, potansiyel karsinojenik olması nedeni ile kullanımı 8 saat olarak sınırlanmaktadır. Bu nedenden dolayı formaldehitin kullanım alanları ile uygulayıcıların direkt olarak temasa geçmemesi gerekmektedir. Sonuç olarak, dezenfeksiyon ve sterilizasyon için kullanımına oldukça dikkat edilmelidir.

Mikroorganizmaların geniş bir kısmı sıvı formulu formaldehit solüsyonunun farklı konsantrasyonlarında zarar görmektedir. Formaldehit-alkol kimyasal sterilizasyona neden olmasına rağmen neden olduğu irritasyondan dolayı kullanımı sınırlıdır (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve ark., 2008).

1.9.3.4. Orto-Fitalaldehit

Orto-fitalaldehit (OPA), tıpkı gluteraldehit gibi antimikrobiyal etkiye sahiptir ve benzer bir kimyasal sterilizandır. OPA, glueraldehit'lere göre birçok potansiyel avantaja sahiptir. Yüksek aralıktaki pH (pH 3-9)'da mükemmel bir kullanım alanına sahiptir. Ayrıca, gözler ve burun için de irritan değildir. OPA'nın dezavantajı ise, proteinleri (korunmayan deri) boyaması nedeni ile zarar vermesidir ve uygulanmasına dikkat edilmesi gerekmektedir. Uygulama

anında ellerin, gözlerin ve ağzın kapanması gerekmektedir. Kokusu yoktur (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

1.9.3.5. Perasetik Asit

Perasetik ya da peroksiasetik asit tüm mikroorganizmalara karşı hızlı bir şekilde etki etmektedir. En önemli avantajlarından biri, beraber kullanıldığı ürünlerin (asetik asit, su, oksijen, hidrojen peroksit gibi) yapısını bozmaması ve kalıntı bırakmamasıdır. Organik maddeler üzerinde etkisi kalıcı olmaktadır ve düşük ısılarda dahi sporosidal etkilidir. %1'lik solüsyonu 6 gün içerisinde hidrolize olarak stabil olmayan konuma geçmekte ve etkinliğini yitirmektedir (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

1.9.3.6. Perasetik Asit Ve Hidrojen Peroksit

Bu iki kimyasal sterilan madde 0.08 perasetik asit + %1'lik hidrojen peroksit içermektedir. Bu kimyasalın bakterisidal özelliği bulunmaktadır. Araştırmacılar, bu ürünün sporsuz olan tüm mikroorganizmaları 20 dakika içerisinde etkisiz hale getirdiğini ortaya koymuşlardır (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

1.10. Dezenfektanların Seçim Kriterleri

Dezenfektanlar genellikle “sidal” etkili olup, potansiyel patojenik ajanları öldürme yetenekleri bulunan maddelerdir. Bir dezenfektanın seçiminde en önemli kriterlerden biri her zaman kullanılan bir dezenfektanı değil, sizin istediğiniz etkiye yönelik cevabı alabileceğiniz dezenfektanın kullanılmasıdır. En ideal dezenfektan, geniş spektrumlu (bakterilerin, virusların, protozoaların, mantar ve sporların eliminasyonunu sağlayabilen) olmalı, irrite etmemeli, toksik etkisi bulunmamalı, koroziv olmamalı ve pahalı olmamalıdır. Yine dezenfektanın seçimine karar vermede, potansiyel patojenik ajana karşı etkili olması, insan sağlığına zararlı olmaması, çevre ve alet-ekipmana etkili olabilmesi gerekmektedir. Bunlar:

- 1) Kontaminasyona neden olan mikroorganizmanın tipi: Her dezenfektanın mutlaka antimikrobiyal bir etkisi bulunmalıdır.
- 2) Kontaminasyonun derecesi: Bu belirleyiciler dezenfektanın kalitesi ve etki etme zamanı ile doğru orantılıdır.
- 3) Protein içeren maddelerin varlığı: Yüksek protein içeren materyaller bazı kimyasal dezenfektanları nötralize ve absorbe edebilmektedir.
- 4) Organik ve sabun gibi dezenfektanları nötralize edici maddelerin bulunması.
- 5) Dezenfektanların kimyasal yapıları: Bu uygun dezenfektanın seçiminde etkinliğinin anlaşılması açısından önem taşımaktadır.
- 6) Dezenfektanın kalite ve konsantrasyonu: Uygulama alanında en iyi etki edebilecek dezenfektanın seçimi açısından önem taşımaktadır.
- 7) Etki zamanı ve sıcaklık: Yeterli süre ve uygun sıcaklık, dezenfektanın etkinliği açısından önemlidir ve bu durum kontaminasyon derecesine de bağlıdır.
- 8) Spesifik alanlar için kalıcı etkinliği ve aktivitesi önemlidir.
- 9) Uygulama ısısı, pH ve diğer maddeler ile olan etkileşimleri mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır.

- 10) Çevreye karşı toksik etkili olmamalı ve insan sağlığını tehdit etmemelidir.
- 11) Ayrıca ekonomik olmalıdır (Petric ve ark., 2003; Dvorak, 2008; Rutala ve Weber, 2008).

1.11. Dezenfektanlara Karşı Direnç

Kanatlı ve domuz etleri, insanların gıda zinciri içerisinde yer almaktadır. Bu gıdalar *Salmonella enterica* yönünden yaygın bir rezervuar görevi görmektedir. Ayrıca, gıda kökenli patojenlerin en başında gelen bu etken aynı zamanda çoklu antibiyotik direncinden de sorumludur (Chuanchuen ve ark., 2007).

Kuarternier amonyum bileşiklerine karşı bulunan direnç genleri iki aile içerisinde bulunmaktadır. *qacA/B* genleri çoklu antibiyotik direnç plazmidleri üzerinde yer almakta ve sadece *Staphylococlar*'da bulunan ailedir. Diğer direnç genleri ise daha küçük çoklu antibiyotik direnç ailesini ve *smr* olarak bilinen *qacC/D*, *qacE*, *qacEΔ1*, *qacF*, *qacG*, *qacH* ve *qacJ* meydana getirmektedir. Antibiyotik ve QAC direnç genleri, *qacE* gibi, sınıf I integronlar üzerinde yer almaktadır (Gaze ve ark., 2005).

Kuarternier amonyum bileşiklerini içeren dezenfektanlar genellikle çiftlik çevrelerinde kullanılmaktadır. Burada en çok dikkat edilmesi gereken konu tekrarlı kullanımları olan dezenfektanlara karşı bakterilerin şekillendirmiş oldukları direnç mekanizmalarıdır (Chuanchuen ve ark., 2007).

Çiftliklerde yaygın olarak; benzalkonyum klorid katyonikleri ve yüzey aktif olan kuarterner amonyum bileşikleri kullanılmaktadır. Bugüne kadar, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus* spp.'lerin, (kuarterner amonyum bileşiklerinden) benzalkonyum klorür'e karşı direnç geliştirdikleri belirlenmiştir. Bunu belirlemede faydalanan ana genler *qacE* ve *qacEΔ1*'dir. Bunlar, kuarterner amonyum bileşiklerine ve etidyum bromid gibi boyalara karşı şekillenen direnç genleridir. Mutant türü *qacE* olan *qacEΔ1*, Gram negatif bakterilerde özellikle çoklu antibiyotik direncini de içeren sınıf I integronlar üzerinde yer almaktadır (Chuanchuen ve ark., 2007).

İntegronlar, en iyi ve detaylı şekilde *Enterobacteriaceae* familyasında ve dikkat çekici olarak da *S. Typhimurium* tanımlayıcı tip (DT) 104 ile çalışılmıştır. *S. Enteritidis* izolatları ise daha kısıtlıdır. *S. Enteritidis* infeksiyonlarının insidensi birçok ülkede giderek artmakta ve insan infeksiyonları arasında en yaygın izolat olarak karşımıza çıkmaktadır. Artış 1970'lerin ortalarından itibaren meydana gelmiş ve 1990'larda primer infeksiyon kaynağı olarak *S. Typhimurium*'un yerini *S. Enteritidis* almıştır (Lindstedt ve ark., 2003).

İntegronlar genel olarak, integras (*intI1*) genini ve antibiyotik direnç gen kasetlerini barındıran, integrasyon kaset alanlarını (*attI*) içeren ve açık okuma kapıları (ORF) ile birleşerek onları fonksiyonel hale getiren genler olarak tanımlanmaktadır. İntegronların tek başına horizontal gen transferi yapmaları mümkün değildir. Ancak, konjugatif plazmidler, transpozonlar ve bakteriyofajlar aracılığı ile bir bakteriden diğerine aktarılabilme özellikleri bulunmaktadır. Bu da direnç profilinin gelişmesinde büyük rol oynamaktadır (Lapierre ve ark., 2008). Gram negatif bakterilerde dört sınıf kromozomal ve plazmid ilişkili integron tespit edilmiştir (Bass ve ark., 1999).

Sınıf I integronlar, *qacEΔ1*; kuarterner amonyum bileşiklerine karşı direnç genini ve *sul1*; sülfonamid direnç genini içermektedir. Bu genetik elementler, mikrobiyal genomların içerisinde bulunan antimikrobiyal direncin geniş bir alanda yer alan çoklu lokuslarından antibiyotik direnç genlerine bağlanmasından sorumludur. Sınıf I integronlar, geniş bir konakçı aralığı olan plazmidler içerisinde ya da Tn21- Tn21 benzeri transpozon içerisinde yer alan, tamamlanmış ya da kesilmiş Tn402 transpozonunu içermektedir. İdentifiye edilmiş bakteriyel kültürlerde bulunan sınıf I integronlarda bütün bir Tn402-benzeri transpozon modülleri de bulunmakta ve ağır metal dirençliliğinin yanı sıra antibiyotik dirençliliğini de bir arada içeren özellikler sergilemektedir (Nemergut ve ark., 2008; Roswarne ve ark., 2010).

Bu çalışmanın amacı, *Salmonella* serotiplerinin çeşitli dezenfektanlara karşı direncinin saptanarak bu dirençler arasındaki olası ilişkinin belirlenmesidir.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Mikroorganizmalar

Çalışmada kanatlılardan izole edilen ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonunda yer alan *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Infantis, *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium ve *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis serotipleri kullanıldı. Serotiplerin özellikleri serolojik testlerle incelenerek teyit edildi. İzole edilip serotiplendirilmiş suşların saklanması amacıyla da %20 Gliserin (Merck) ilave edilmiş Trypticase Soy Broth (TSB, Oxoid)'dan yararlanıldı (Arda, 2006).

2.2. Dezenfektanlar

Deneyisel çalışmada kullanılacak dezenfektanlar ticari bir dezenfektan firmasından hammadde olarak sağlandı. Çalışmada kullanılan dezenfektanlar ve karakteristik özellikleri aşağıda belirtilmiştir;

Benzalkonyum Klorür (Kuarterner Amonyum Bileşikleri): Çalışmada kuarterner amonyum bileşiklerinden benzalkonyum klorür'ün beyaz renkte ve sıvı formdaki % 100'lük konsantrasyonu kullanıldı.

Glutaraldehit: Çalışmada glutaraldehid'in renksiz ve sıvı formdaki % 100'lük konsantrasyonu kullanıldı.

Hidrojen Peroksit: Çalışmada hidrojen peroksit'in renksiz ve sıvı formdaki % 100'lük konsantrasyonu kullanıldı.

İyot: Çalışmada iyot'un koyu mor renkte ve sıvı formdaki % 100'lük konsantrasyonu kullanıldı.

2.3. Besiyerleri

Nutrient Broth (NB) (Oxoid): Şuşların üretilmesi, sulandırılması ve saklanması aşamalarında kullanıldı.

Nutrient Agar (NA) (Merck): Suşların üretilmesi ve bakteri sayımlarının yapılması için kullanıldı.

2.4. Tampon Solüsyonlar

Fizyolojik Tuzlu Su (FTS) (Oxoid): Distile su içine % 0,9 sodyum klorür (NaCl) katılarak hazırlandı ve otoklavda sterilize edildi.

Durdurucu Solüsyon: Dezenfektanlar ile mikroorganizmalar arasındaki tepkimeyi durdurmak için kullanılan bu solüsyon, Sorensen fosfat buffer (1,25 mM) (Sodyum fosfat, dibazik ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ve Potasyum Fosfat, monobazik (KH_2PO_4)) içerisine aşağıda içeriği belirtilen maddeler eklenerek hazırlandı (Wirtanen ve ark., 2001).

Lesithin	% 0,6 w/v
Tween 80	% 6,0 w/v
Sodyum thiosulfat	% 0,8 w/v
L-histidine hidroklorid	% 0,5 w/v
Sığır serum albümini	% 0,72 w/v

Bu solüsyon 0,22 mikrometrelik filtreden geçirilerek sterilize edildi.

2.5. Organik Maddeler

Skim milk (Oxoid): Distile su içine %10 skim milk katılarak hazırlandı ve otoklavda sterilize edildi.

2.6. Mikroorganizmaların Aktivasyonu

Besiyerlerinde $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan suşlardan *Salmonella* Infantis, *Salmonella* Typhimurium ve *Salmonella* Enteriditis Nutrient agar'a ekilerek $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de aerobik koşullarda 24-48 saat inkubasyona bırakılarak aktive edildi. Bu

süre sonunda, üreyen bakteri kolonilerinden öze ile Nutrient broth'a ekimleri yapıldı. 24-48 saat 37 °C'de inkubasyona bırakılarak kültürler hazırlandı. Bu kültürlerden tekrar Nutrient broth içerisinde üreyen bakteriler suşlarına ait kültürlerin yoğunluğu steril fizyolojik su ile uygun sulandırmalarla 0,5 McFarland standardına göre ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) subkültürleri hazırlandı.

2.7. Bakteri Sayımları

Çalışmada, test inokulumlarındaki bakteri konsantrasyonunu hesaplamak için ve testler sonrası dezenfektanların etkisini belirlemek için bakteri sayımları yapıldı. Miles ve Misra (1938)'nin yöntemi modifiye edilerek uygulandı. İnokulumlardaki bakteri konsantrasyonunu hesaplamak için yapılan sayımda; her bir bakterinin Nutrient broth içindeki logaritmik faz subkültürlerden, fizyolojik tuzlu su içerisine 10 katlı sulandırmalar yapıldı. 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} 'lık sulandırma örneklerinden 0,1 ml alınarak Nutrient agar'a üç seri yayma tarzında ekim yapıldı. Dezenfektanlarla temastan sonra bakteri sayısını belirlemek için yapılan sayımda; test ortamından 0,1 ml alınarak Nutrient agar'a üç seri yayma tarzında ekim yapıldı. Ekim yapılan tüm besiyerleri 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı ve orijinal süspansiyonun 1 ml'indeki ortalama bakteri sayısı Arda (1997)'nin bildirdiği yöntemle göre hesaplandı.

2.8. Antimikrobiale Aktivitenin Saptanması

Sıvı formdaki % 100'lük Kuartern amonyum bileşiklerinden benzalkonyum klorür, gluteraldehit, hidrojen peroksit ve İyot solüsyonlarından, cam tüpler içerisine 7 seri olacak şekilde 1:100'lük, 1:200'lük ve 1:400'lük 8'er ml final solüsyonlar eklendi. Dezenfektan sulandırılmaları steril distile su ile yapıldı. Her seri final solüsyon içerisine, 1'er ml sabit konsantrasyondaki bakteri subkültüründen ve 1'er ml organik madde(skim milk) eklendi. Homojen bir şekilde karışması sağlandı. 5. dakika, 30. dakika, 60. dakika, 6. saat ve 24. saatlerde karışımlardan 1 ml alınarak, 9 ml durdurucu solüsyonunun içerisine eklenildi. 5 dakika durdurma süresinin ardından, bu karışımdan 0,1 ml alınarak üç seri Nutrient agar'a yayma şeklinde ekim yapıldı. Besiyerleri 4°C, 20°C ve 37°C'de 24 saat inkube edildi ve üreyen koloniler sayıldı. Dezenfektanların mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkinliği temas sürelerine göre değerlendirildi. Testler oda sıcaklığında yapıldı.

2.9. PCR'da Kullanılan Maddeler

PCR'da Etanol (%95'lik) (Merck), Tris Borik asit EDTA (TBE) (AppliChem), 10xPCR Buffer (Fermentas), 25 mM MgCl₂ (Fermentas), 10 mM dNTP karışımı (Fermentas), Taq DNA polimeraz (Fermentas), Primerler (Operon), DNA marker (100 bp) (Fermentas), Agarose (Prona), Ethidium Bromide (Fermantas), 6xLoading Dye (Fermentas) kullanıldı.

2.10. PCR’da Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

Bu çalışmada, hassas terazi (Scaltec sbc41), santrifüj (Hettich), steril kabin (laminar flow) (Bioair Instruments, Aura 2000, Mac), vorteks (Fine Vortex), DNA Thermal Cycler (Biometra), Jel elektroforez cihazı ve güç kaynağı (Wealtec elite 3000 plus), UV transillüminatörlü bilgisayarlı görüntüleme sistemi (Gene Genius, Syngene, Bio Imaging System), Termal printer (Sony) kullanıldı.

Ekstraksiyon

DNA ekstraksiyonunda ticari Fermentas GeneJET Genomik DNA Purifikasyon kiti (Fermentas) kullanıldı. Protokol olarak kit prosedürü içerisinde bulunan; Gram negatif bakteriler için DNA purifikasyonu protokolü seçildi. Bu prosedüre göre DNA ekstraksiyonu aşağıda belirtildiği gibi yapıldı.

- Pelet, 180 µl digestion solüsyonu ile süspanse edildi. Daha sonra 20 µl Proteinaz K solüsyonu eklendi ve vortekslendi. Lizis için 56°C’de 30 dakika inkube edildi.
- 20 µl RNase A solüsyonu eklendi ve vorteks yapılarak 10 dakika oda ısısında inkubasyona bırakıldı.
- 200 µl lizis solüsyonu eklendi. Homojen bir karışım elde etmek için 15 saniye vorteks yapıldı.
- 400 µl %50’lik etanol eklendi ve vorteks yapıldı.
- Hazırlanan lizat, spin column tüpüne aktarıldı.
- 6000 g’de 1 dakika santrifüj edildi. Koleksiyon tüpü atılarak yeni 2 ml’lik koleksiyon tüpü takıldı.

- 500 µl etanol eklemesi tamamlanan wash buffer I solüsyonundan eklendi 8000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Koleksiyon tüpü atılarak yeni koleksiyon tüpü takıldı.
- 500 µl etanol eklemesi tamamlanan wash buffer II solüsyonundan eklendi 12000 g'de 3 dakika santrifüj edildi. Koleksiyon tüpü atılarak, spin column 1,5 ml'lik ependorfa takıldı.
- 200 µl elution buffer eklendi ve 2 dakika oda ısısında inkubasyonu takiben 8000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Spin column atılarak 1,5 ml'lik ependorfa içerisinde saf DNA elde edildi.

Ekstraksiyonu yapılan DNA örnekleri amplifikasyon işlemleri yapılana kadar -20°C'de template DNA olarak kullanılmak üzere saklandı.

Primerler

Bu çalışmada, NCBI-BLAST [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>] ve Fast-PCR [<http://primerdigital.com/fastpcr.html>] [<http://insilico.ehu.es/PCR/>] programları kullanılarak; kuarterner amonyum bileşiklerine dirençten sorumlu integron sınıf 1 geni (qacE Δ 1) hedef bölgeleri belirlendi (Chuanchuen ve ark., 2007). Hedef gene yönelik primerler elde edildikten sonra, *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Infantis, *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium ve *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis suşları'ndan DNA ekstraksiyonu yapıldı. Kullanılan primerin baz dizisi, ilgili gen bölgesi, ürün uzunluğu ve kaynak bilgileri Çizelge 2.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Primerin baz dizisi, bağlandığı spesifik gen bölgeleri, PCR ürünü uzunluğu.

Primer Adı	Sekans	Hedef Gen	Ürün uzunluğu
qacEΔ1F qacEΔ1 R	5'- ATCGCAATAGTTGGCGAAGT -3' 5'- CAAGCTTTTGCCCATGAAGC -3'	qacEΔ1	226 bp

Elektroforez

Amplifiye edilen her örnekten 10 µl alınıp 2 µl 6xLoading Dye solüsyonu ile karıştırılarak, 0,75 gr'lık %1,5'luk agoroz (Prona) içeren 50 ml TBE solüsyonu ile hazırlanan jele yüklendi. Jeldeki birinci göze 4 µl DNA Marker (Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus, Fermentas) konularak 90 Volt'ta 45 dakika elektroforez işlemi gerçekleştirildi (Sambrook ve Russell, 2002).

Örneklerin Görüntülenmesi

Biyo-görüntüleme sistemi (Gene Genius, Syngene) kullanılarak jeldeki bantlar görüntülendi.

2.11. Kuarternler Amonyum Bileşikleri (Benzalkonyum Klorür) Dirençliliğinin Belirlenmesi

Kuarternler amonyum bileşikleri ve sınıf I İntegrona ait genotipik dirençlilik profillerinin incelenmesi amacıyla PCR (Polymerase Chain Reaction) için sırasıyla ekstraksiyon, amplifikasyon, elektroforez ve görüntüleme işlemleri gerçekleştirildi. *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Infantis ve *Salmonella* Enteriditis suşları Nutrient agar'da aktive edildi. 1:400'lük kuarternler amonyum bileşiklerinin sulandırılması hazırlandı. Nutrient agar'da saf olarak üreyen *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Infantis ve *Salmonella* Enteriditis'ten üç ayrı subkültür hazırlandı. Her *Salmonella* tüpüne 8'er ml dezenfektan solüsyonu eklendi. Dezenfektan sulandırmaları steril distile su ile yapıldı. Her tüp içerisine, 1'er ml sabit konsantrasyondaki bakteri subkültüründen ve 1'er ml organik madde(skim milk) eklendi. Homojen bir şekilde karışması sağlandıktan sonra karışımdan 1 ml alınarak, 9 ml durdurucu solüsyonunun içerisine eklenildi Nutrient agar'a ekildi. Kuarternler amonyum bileşiklerine maruz kalan *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Infantis ve *Salmonella* Enteriditis suşları Nutrient agar'da üredikten sonra 1,5 ml'lik ependorf tüplerin içerisinde her bakteriden birer koloni konulup DNA ekstraksiyonu yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Bakteri Sayısı

Dezenfektan uygulamadan önce çalıştığımız, *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Infantis, *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium ve *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis serotiplerinin 0,5 McFarland standardına göre ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) sayımı yapıldı. Bakteri sayısı Çizelge 3.1.'de gösterildi.

Çizelge 3.1. Dezenfektan uygulamadan önce bakteri sayısı

S. Enteritidis	$1,3 \times 10^8$ CFU/ml
S. Infantis	$1,6 \times 10^8$ CFU/ml
S. Typhimurium	$1,64 \times 10^8$ CFU/ml

3.2. Antimikrobiale Aktivitenin Sonuçları

Dezenfektanlar *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Infantis, *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium ve *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis serotipleri üzerine uygulandı. Dezenfektan etkinlik bulguları Çizelge 3.2.'de gösterildi.

Çizelge 3.2. Dezenfektan etkinlik bulguları

Dezenfektan	Sülandırma	Ortam	Bakteri									
			S. Enteritidis					S. Infantis				
			5. Dakika	30. Dakika	60. Dakika	6. Saat	24. Saat	5. Dakika	30. Dakika	60. Dakika	6. Saat	24. Saat
Sülfonamid	1/100	4 °C										
		20 °C										
		37 °C										
Benzalkonyum klorür	1/200	4 °C										
		20 °C										
		37 °C										
Benzalkonyum klorür	1/400	4 °C										
		20 °C										
		37 °C										
iyot	1/100	4 °C										
		20 °C										
		37 °C										
Gluteraldehit	1/400	4 °C										
		20 °C										
		37 °C										
Gluteraldehit	1/100	4 °C										
		20 °C										
		37 °C										
Hidrojen peroksit	1/100	4 °C										
		20 °C										
		37 °C										
Hidrojen peroksit	1/200	4 °C										
		20 °C										
		37 °C										
Hidrojen peroksit	1/400	4 °C										
		20 °C										
		37 °C										

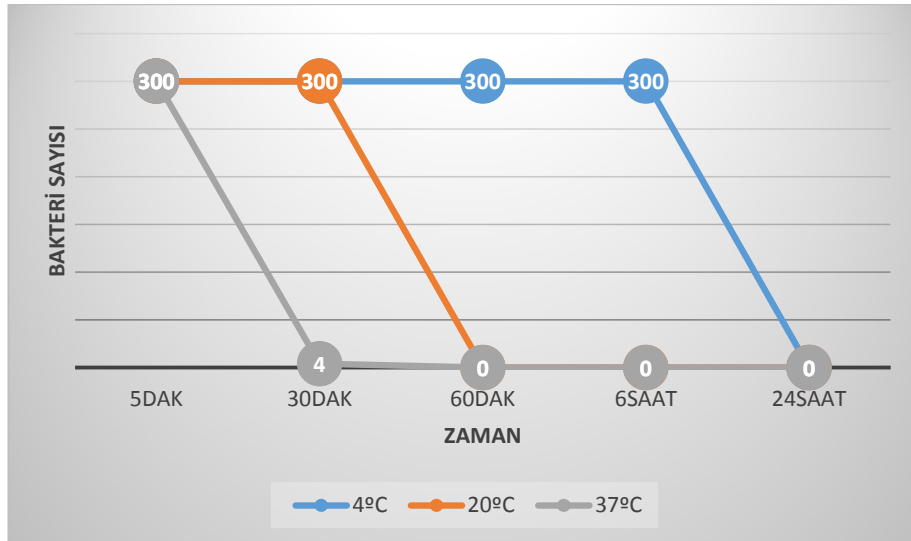
* Koloni sayısı 300'den fazla ise '∞' ile gösterilmektedir.

3.2.1. Benzalkonyum Klorür (Kuarterner Amonyum Bileşikleri)

Farklı sulandırma oranlarındaki % 100'lük kuarterner amonyum bileşiklerinden benzalkonyum klorür'ün 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saat temas sürelerindeki etkisi çeşitli *Salmonella*'lar üzerinde incelendi.

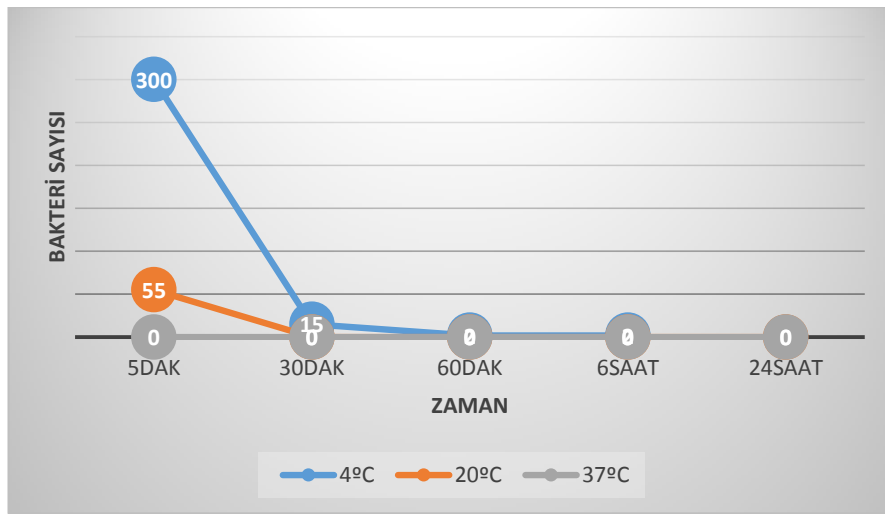
***Salmonella Enteritidis*:** Kuarterner amonyum bileşiklerinden Benzalkonyum klorür'ün 1:100'lük konsantrasyonunun ve 1:200'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı. 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika ve 6 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında ise bakteri varlığı tespit edildi.

Şekil 3.2.1. Benzalkonyum klorür'ün 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella Enteritidis* üzerine etkisi.

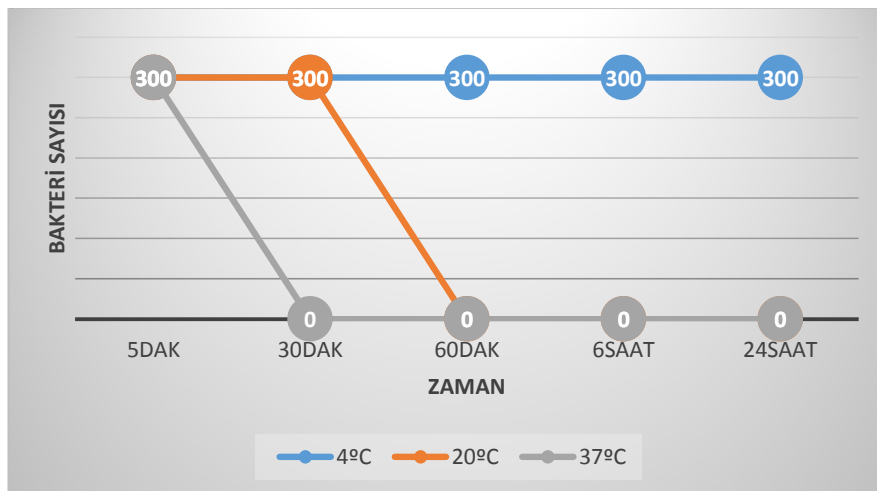


Salmonella Infantis: Kuarterner amonyum bileşiklerinden Benzalkonyum klorür'ün 1:100'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı. 1:200'lük konsantrasyonunun ve 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında ise bakteri varlığı tespit edildi.

Şekil 3.2.2. Benzalkonyum klorür'ün 1:200'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella Infantis* üzerine etkisi

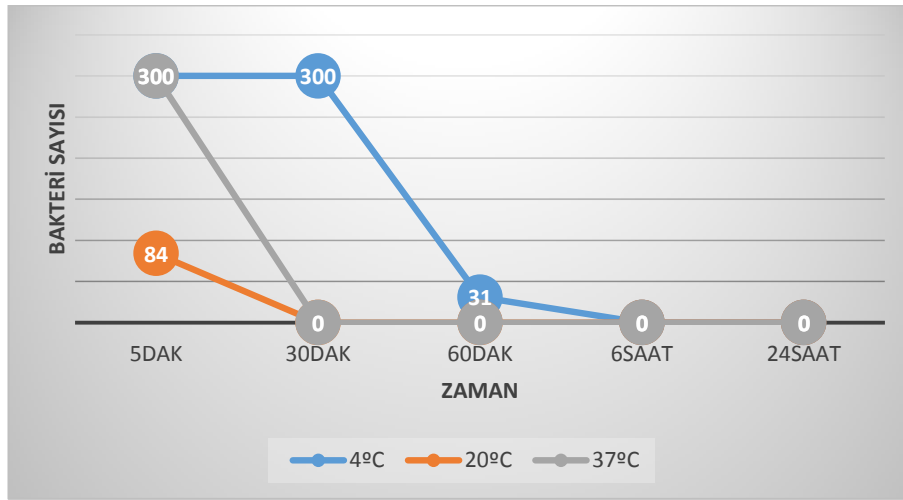


Şekil 3.2.3. Benzalkonyum klorür'ün 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella Infantis* üzerine etkisi

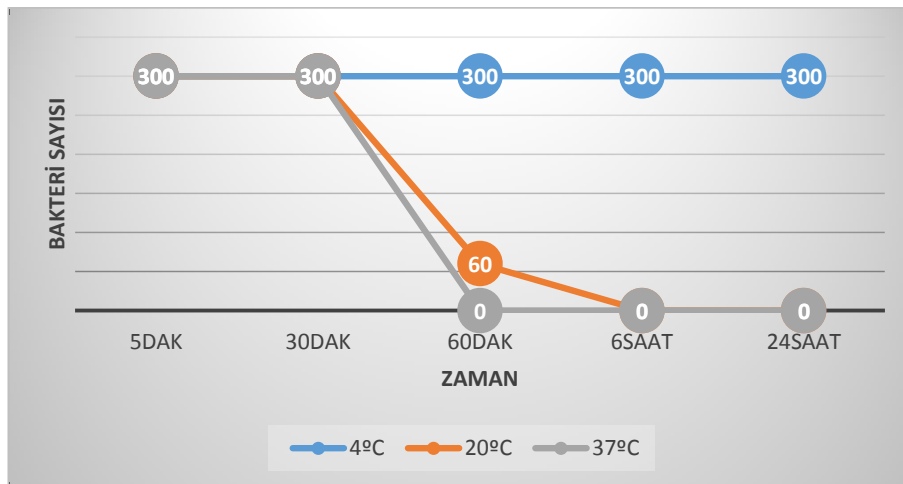


Salmonella Typhimurium: Kuarterner amonyum bileşiklerinden Benzalkonyum klorür'ün 1:100'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı. 1:200'lük konsantrasyonunun ve 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında ise bakteri varlığı tespit edildi.

Şekil 3.2.4. Benzalkonyum klorür'ün 1:200'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella Typhimurium* üzerine etkisi



Şekil 3.2.5. Benzalkonyum klorür'ün 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella Typhimurium* üzerine etkisi

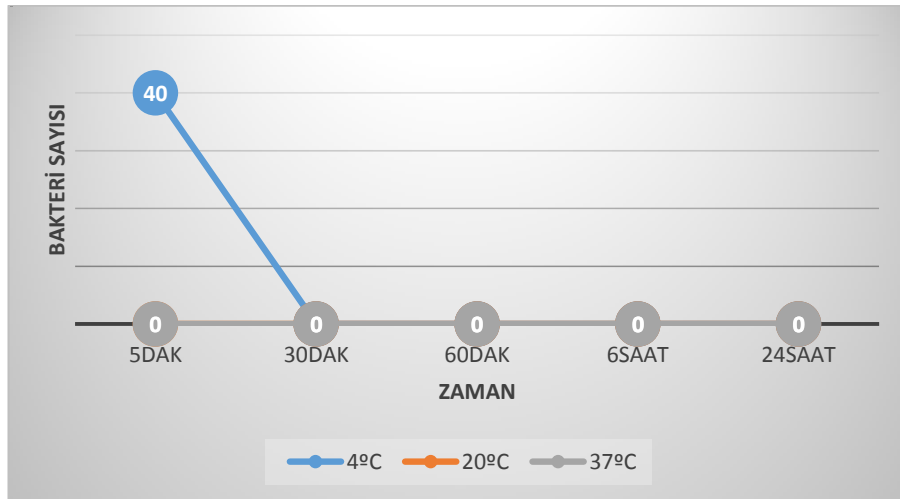


3.2.2. Glutaraldehit

Farklı sulandırma oranlarındaki % 100'lük Glutaraldehid'in 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saat temas sürelerindeki etkisi çeşitli *Salmonella*'lar üzerinde incelendi.

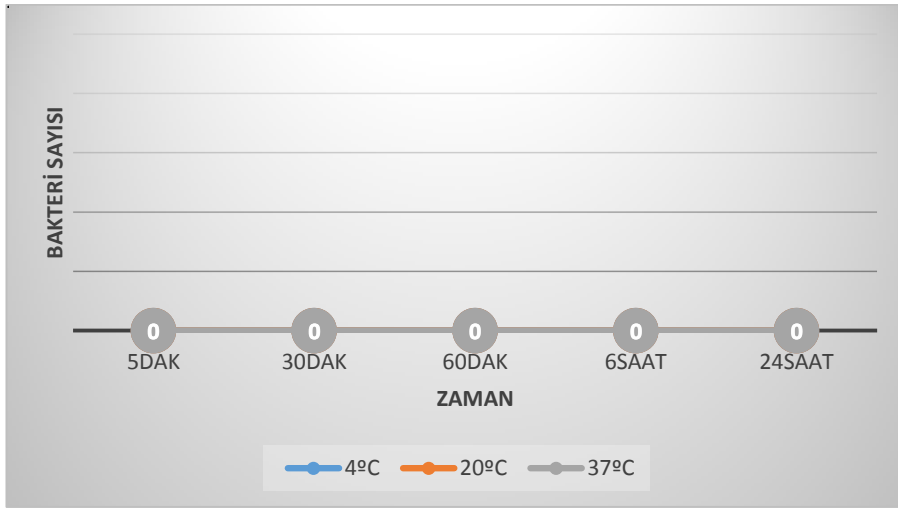
***Salmonella Enteritidis*:** Glutaraldehid'in 1:100'lük konsantrasyonunun ve 1:200'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı. 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakikadaki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında ise bakteri varlığı tespit edildi.

Şekil 3.2.6. Glutaraldehid'in 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella Enteritidis* üzerine etkisi



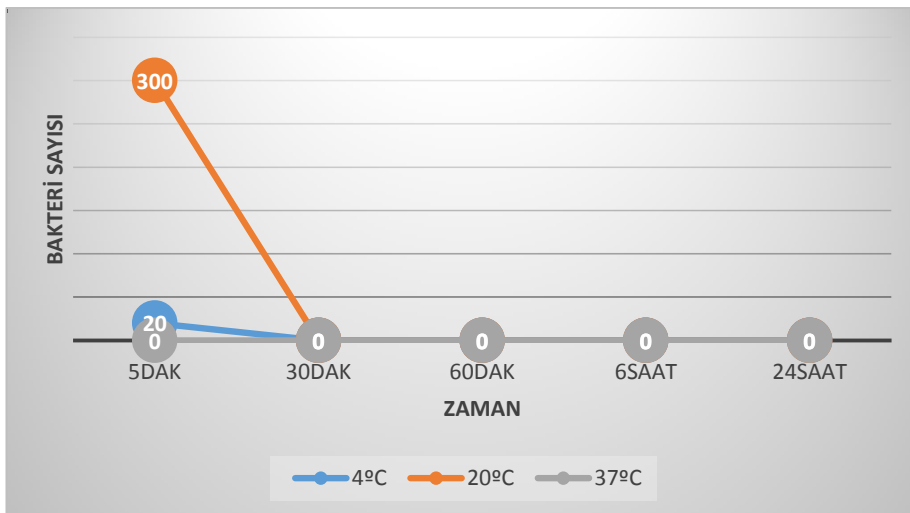
***Salmonella Infantis*:** Glutaraldehid'in 1:100'lük konsantrasyonunun, 1:200'lük konsantrasyonunun ve 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı.

Şekil 3.2.7. Glutaraldehid'in 1:100'lük, 1:200'lük ve 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Infantis üzerine etkisi

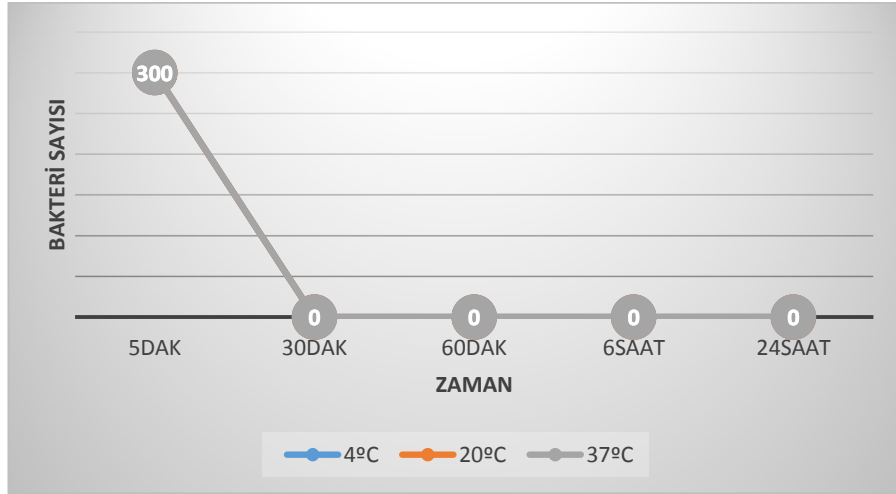


***Salmonella* Typhimurium:** Glutaraldehid'in 1:100'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı. 1:200'lük konsantrasyonunun ve 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakikadaki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında ise bakteri varlığı tespit edildi.

Şekil 3.2.8. Glutaraldehid'in 1:200'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Typhimurium üzerine etkisi



Şekil 3.2.9. Glutaraldehid'in 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Typhimurium üzerine etkisi



3.2.3. Hidrojen Peroksit

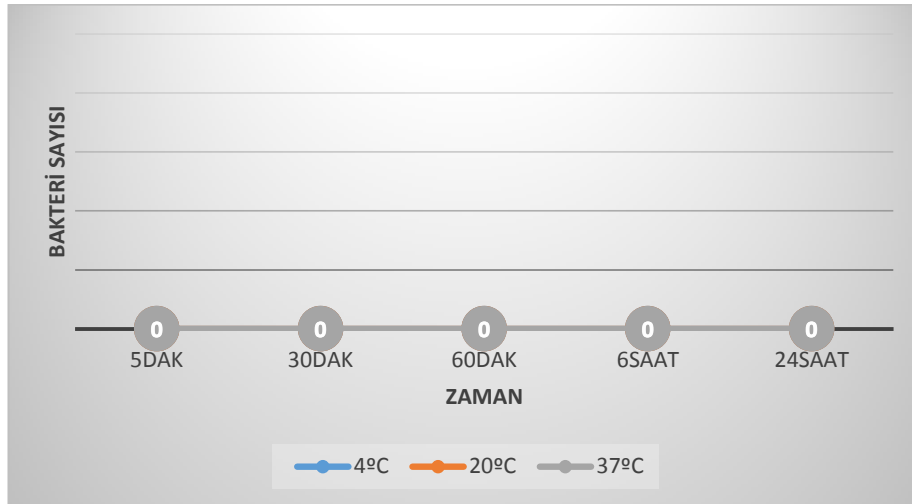
Farklı sulandırma oranlarındaki % 100'lük hidrojen peroksit'in 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saat temas sürelerindeki etkisi çeşitli *Salmonella*'lar üzerinde incelendi.

***Salmonella* Enteritidis:** Hidrojen peroksit'in 1:100'lük konsantrasyonunun, 1:200'lük konsantrasyonunun ve 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı.

***Salmonella* Infantis:** Hidrojen peroksit'in 1:100'lük konsantrasyonunun, 1:200'lük konsantrasyonunun ve 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı.

Salmonella Typhimurium: Hidrojen peroksid'in 1:100'lük konsantrasyonunun, 1:200'lük konsantrasyonunun ve 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı.

Şekil 3.2.10. Hidrojen peroksid'in 1:100'lük, 1:200'lük ve 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Infantis* ve *Salmonella Enteritidis* üzerine etkisi



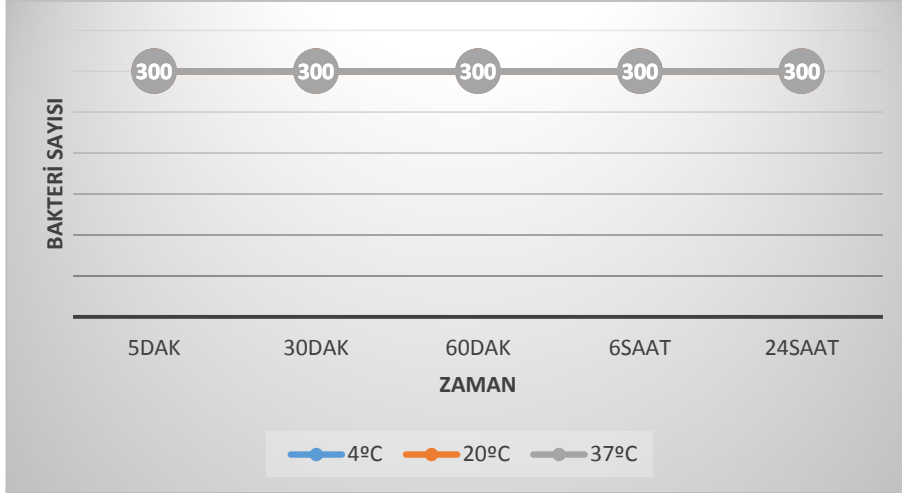
3.2.4. İyot

Farklı sulandırma oranlarındaki % 100'lük iyod'un 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saat temas sürelerindeki etkisi çeşitli *Salmonella*'lar üzerinde incelendi.

Salmonella Enteritidis: İyod'un 1:100'lük konsantrasyonunun ve 1:200'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı. 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24

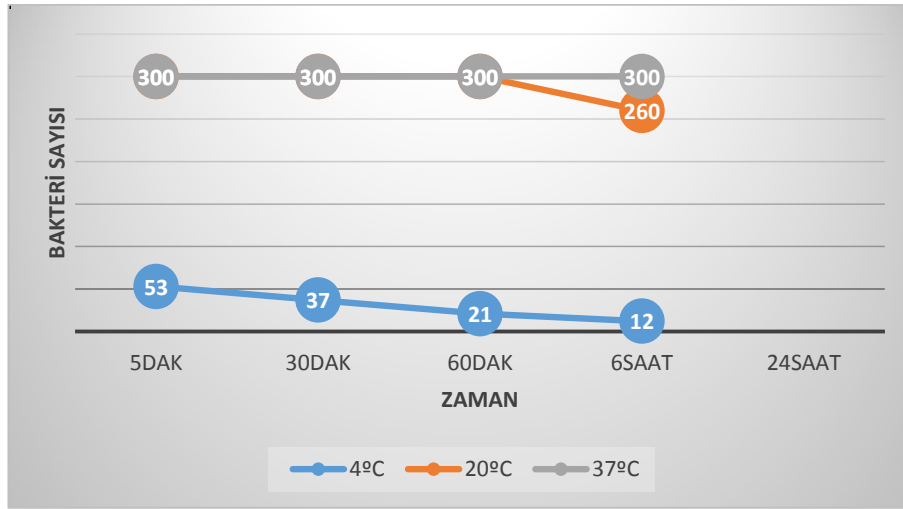
saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında ise bakteri varlığı tespit edildi.

Şekil 3.2.11. İyod'un 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Enteriditis üzerine etkisi



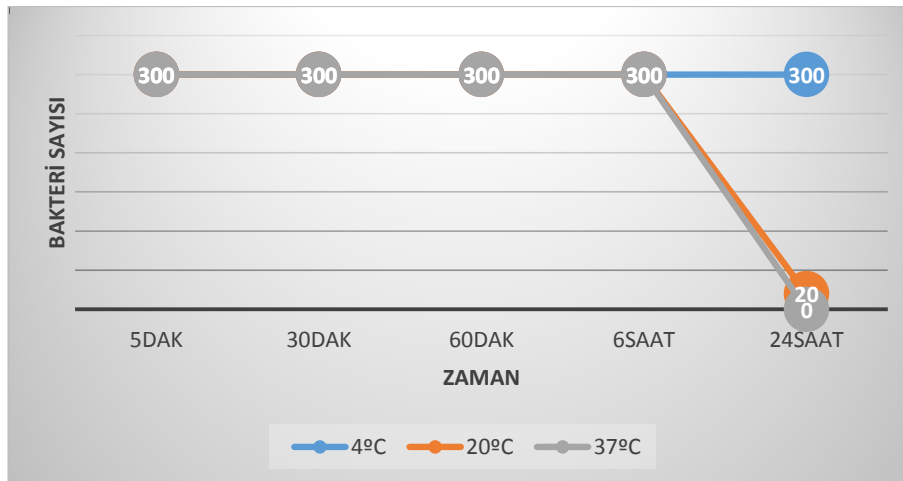
***Salmonella* Infantis:** İyod'un 1:100'lük konsantrasyonunun ve 1:200'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı. 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında ise bakteri varlığı tespit edildi.

Şekil 3.2.12. İyod'un 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Infantis üzerine etkisi



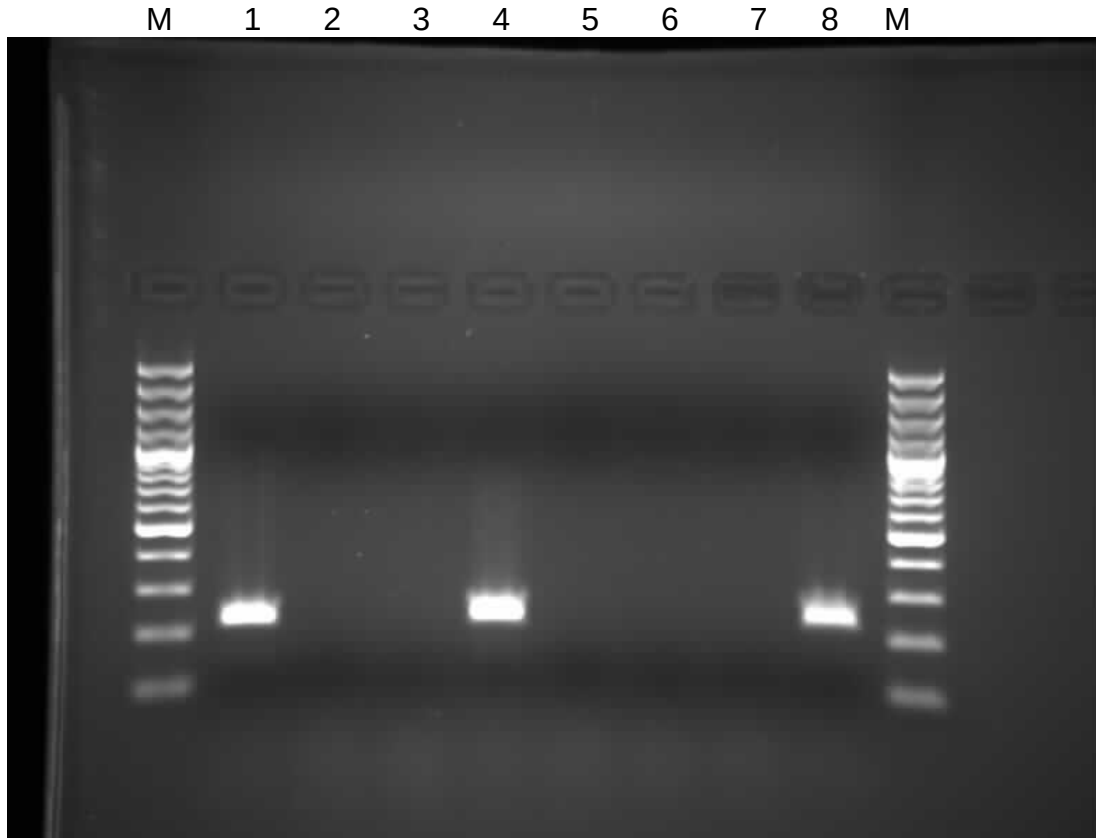
***Salmonella* Typhimurium:** İyod'un 1:100'lük konsantrasyonunun ve 1:200'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında bakteri varlığı saptanmadı. 1:400'lük konsantrasyonunun 5 dakika, 30 dakika, 60 dakika, 6 saat ve 24 saatteki temas sürelerinde yapılan bakteri sayımlarında ise bakteri varlığı tespit edildi.

Şekil 3.2.13. İyod'un 1:400'lük sulandırmasının farklı temas sürelerinde *Salmonella* Typhimurium üzerine etkisi



3.3. Kuarterner Amonyum Bileşiklerinin Dirençliliğinde Rol Oynayan Sınıf I İntegrona Ait Genotipik Bulgular

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonunda yer alan ve daha önce Anabilim Dalımızda kanatlılardan izole edilen *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Infantis, *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium ve *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis serotiplerinin kromozomal DNA'sında sınıf I İntegron varlığı genotipik olarak araştırıldı. Tasarlanan qacE Δ 1 primer çifti kullanıldı. Elde edilen sonuçlara göre



Şekil 3.2.14. PCR'da qacE Δ 1 pozitif örnek görüntü. M: Marker (100 bp); 7.- kontrol, 8. + kontrol, 1. VE 4. kuarterner amonyum bileşiklerin varlığında pozitiflik saptanan örnek.

3.4. Kuarternler Amonyum Bileşikleri Dirençlilik Testlerine Ait Genotipik Bulgular

Salmonella enterica subspecies *enterica* serovar Infantis, *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium ve *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis serotiplerinin DNA'sı; qacE Δ 1 geninin varlığı yönünden kuarternler amonyum bileşikleri uygulanarak ve PCR ile incelendi. Sırası ile dirençlilikte rol oynayan qacE Δ 1 geninin varlığı Çizelge 3.3'de gösterildi.

Çizelge 3.3. PCR sonucunda hedef gene göre pozitif çıkan kuarternler amonyum bileşikleri dirençli suşlar

Bakteriler	<i>Salmonella</i> Infantis	<i>Salmonella</i> Enteritidis	<i>Salmonella</i> Typhimurium
Kuarternler amonyum bileşikleri varlığında	qacE Δ 1 geni negatif	qacE Δ 1 geni negatif	qacE Δ 1 geni pozitif

4. TARTIŞMA

Salmonella genusunda yer alan bakteriler, kanatlılarda çeşitli akut ve kronik hastalıklara yol açmaktadır. Bu hastalıklar dünya çapında süreklilik arz etmekte ve önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. İnfekte olan kanatlı sürüleri *Salmonella* için önemli bir rezervuardır ve gıda zinciri vasıtasıyla da insanlara bulaşmaktadır. Kanatlı endüstrisinde yer alan modern tesisler giderek artmakta ve *Salmonella*'nın yayılmasındaki fırsatları daha kompleks ve zor hale getirmektedir. Dezenfeksiyon, *Salmonella*'nın infeksiyon zincirini kırmak ve kros-kontaminasyonları engellemek amacıyla oldukça büyük öneme sahiptir. *Salmonella* etkenlerine spesifik olan dezenfektanların kullanılması ile cansız ortamlarda bulunan tüm mikroorganizmaların uzaklaştırılması ve gıda maddelerine bulaşmalarını engellemek amacıyla dezenfeksiyon işlemleri yapılmaktadır. Bu çalışmada dezenfektanların *Salmonella* organizması üzerine olan etkilerinin zaman, ısı ve konsantrasyon düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonundan toplam 3 adet olmak üzere; *S. Enteritidis*, *S. Infantis* ve *S. Typhimurium* suşu ile çalışılmıştır.

Salmonella gibi enterik mikroorganizmalarda gözlenen, özellikle çoklu antibiyotik direnci ve diğer direnç mekanizmaları integronlar ile de ilişkilidir. İntegronlar genel olarak, integras (intI1) genini ve antibiyotik direnç gen kasetlerini barındıran, integrasyon kaset alanlarını (attI) içeren ve açık okuma kapıları (ORF) ile birleşerek onları fonksiyonel hale getiren genler olarak tanımlanmaktadır. İntegronlar aynı zamanda dezenfektanlar (*qacE Delta1*) ve sülfonamidlere (*sul1*) karşı şekillenen direnç genlerini de barındırmaktadır (Maguire ve ark., 2001).

Lindstedt ve ark., (2003), Norwegian hastahanesi'nden elde ettikleri ve zoonotik karakterli olan *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'a ait olan 156 adet izolat ile çalışmışlardır. Bu suşlardan 66 adet *S. Typhimurium*'un 64'ünde (%97); 90 adet *S. Enteritidis*'in 20'sinde (%22.2) integronların varlığı tespit edilmiştir. Chuanchuen ve ark., (2007), kanatlı ve domuzlardan elde ettikleri toplam 122 adet *Salmonella enterica* izolatında klinik olarak önem taşıyan antibiyotiklere ve kuarterner amonyum bileşiklerinden benzalkonyum klorür'e karşı olan duyarlılığı araştırmışlardır. Tüm izolatlar *qacE*, *qacEΔ1* ve *intI1* (sınıf 1 integraz) genlerinin varlığı açısından incelenmişlerdir. *qacEΔ1* gen varlığı %27 izolatta tespit edilmiş, *qacE* ise elde edilememiştir. *intI1* geni ise 23 adet izolatta tespit edilmiştir. Daly ve Fanning (2000), rastgele olarak topladıkları *Salmonella enterica* serotype Typhimurium izolatlarında dezenfektanlara karşı direnci (*qacEΔ1*) ve sülfonamid dirençliliğini (*sul1*) içeren genleri barındıran integron ilişkili gen kasetlerinin varlığını araştırmışlardır. Toplam 226 serotip Typhimurium'un 133 adedi insanlardan, 32 adedi sığırlardan, 18 adedi domuzlardan, 5 adedi koyunlardan, 2 adedi kanatlılardan, 4 adedi atlardan, 6 adedi kedi-köpekten ve 3 adet izolatta sonradan eklenmiştir, 23 izolat ise gıda kaynaklı olduğu bildirilmiştir. 223 izolatın 183'ünün (%81'i) sınıf I integronları içerdiğini ortaya koymuşlardır. İntegronlar aynı zamanda dezenfektanlara karşı *qacEΔ1* direnç genini bulundurmaları açısından incelenmiş ve yine aynı düzeyde pozitiflik saptanmıştır.

Bu çalışmada 3 adet olmak üzere; *S. Enteritidis*, *S. Infantis* ve *S. Typhimurium* izolatlarının kuarterner amonyum bileşiklerinin varlığında ve yokluğunda üretilmelerinden sonra kromozomal DNA'larında *qacEΔ1* geninin varlığı PCR ile araştırıldı. Kuarterner amonyum dezenfektanının varlığında *S. Enteritidis*, ve *S. Infantis* *qacEΔ1* genini bulundurması yönünden negatif olarak, *S. Typhimurium* ise pozitif olarak saptandı. Kuarterner amonyum dezenfektanının yokluğunda *S. Enteritidis*, ve *S. Infantis* *qacEΔ1* genini bulundurması yönünden negatif olarak, *S. Typhimurium* ise pozitif olarak

saptandı. Chuanchuen ve ark., (2007), Daly ve Fanning (2000)'in dezenfektanların yokluğunda yaptıkları araştırma sonuçları incelendiğinde; *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* izolatlarının *qacEΔ1* genini içermeleri açısından benzer sonuçlar elde edildi. Dezenfektanların yokluğunda *qacE* geni araştırılmadığı için sonuçlar açısından karşılaştırılma yapılamadı.

Kanatlı üretim alanlarında etkili sanitasyon programlarının geliştirilmesi, tüketiciler için halk sağlığı açısından önem taşımaktadır. Dezenfektanların uzun süreli kullanımları sonucunda kanatlı kümeslerinde bu etken maddelere karşı direnç şekillenmektedir. Gehan ve ark., (2009), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus fumigatus* ve *Fusarium spp.*, Newcastle Hastalığı Virusu Lasota suşuna karşı; Perasan®(%5 Perasetik asit, %20 H₂O₂, %10 asetik asit), H₂O₂®(%50 H₂O₂ + 100 ppm Dihydroxybenzole), Aldekol®(kuarternar amonyum+ glutraldehit bileşikleri), Quatovet®(kuarterner amonyum bileşikleri) ve Vircon-S®(potasyum peroksimonosülfat ve sodyum klorür) gibi ticari olarak kullanılan beş adet dezenfektan ile temas süreleri 10, 30 ve 60 dakika olarak çalışmışlardır. *Salmonella* için ilk 10 dakikalık temasta Aldekol® hariç, organik madde varlığında mikrobiyal üreme gözlenirken, 30 ve 60 dakikalık temaslarda Quatovet® ve Vircon-S® hariç üreme gözlenmemiş ve dezenfektanlar etkili olarak çalışmışlardır. Yani 10, 30 ve 60 dakikalık temaslarda kuarterner amonyum + glutraldehit bileşikleri beraber olarak etkili çalışmışken 30 ve 60 dakikalık temaslarda H₂O₂ etkili çalışmış ve 10, 30 ve 60 dakikalık temaslarda kuarterner amonyum bileşikleri etkili olarak çalışmamıştır. Sander ve ark., 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada kanatlı kümeslerinden elde ettikleri 6 adedi *Salmonella*'ya ait olan 17 adet bakteriyel izolatın H₂O₂, Biosentry, Advantage 256 ve Poul-Phene dezenfektanlarını 5, 10 ve 15 dakikalık sürelerle çalışarak mikroorganizmalar üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak; *Salmonella* türlerinde H₂O₂'nin 5-10 dakikada, Biosentry'nin 5 dakikada, Advantage 256 ve Poul-Phene'in 5–15 dakikada

üremeleri baskıladıklarını ve farklı cins ve türe ait bakterilerin aynı dezenfektanlara karşı farklı duyarlılığa sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Weber ve ark., (2007), gluteraldehid'in özellikle yüksek yağlı preparatları 20-45 dakikalık sürelerde, *Mycobacteria* spp., *Methylobacterium* spp., *Trichosporon*, fungal askosporlar ve *Cryptosporidium* spp.'nin gluteraldehid'e karşı dirençli olduklarını bildirmişlerdir. McLaren ve ark., (2011), *Salmonella* Typhimurium ve *Salmonella* Enteritidis'ten elde ettikleri üç adet izolat ile ıslak model ve kuru modelde yapılan dezenfeksiyon çalışmasında 30 dakika, 2 saat ve 4 saat boyunca gluteraldehit, iyot ve hidrojen peroksit içeren dezenfektan maddeler ile çalışmışlar ve en etkili sürenin 30 dakikalık süre içerisinde olduğunu tespit etmişlerdir. Gehan ve ark., (2009)'nın 30. ve 60. dakikada elde ettikleri hidrojen peroksit sonucu ile uyumlu bulundu. Sander ve ark., (2001)'nin hidrojen peroksit'e karşı yaptıkları incelemede 5-10 dakikalık temas sürelerinde benzer sonuçlar elde edildi. McLaren ve ark., (2011)'nin gluteraldehit, iyot ve hidrojen peroksit ile yaptıkları incelemede 30 dakikalık temas sürelerinde benzer sonuçlar elde edildi. Çalışmalarda kullanılan diğer dezenfektan etken maddeleri benzer olmadığı için gerekli karşılaştırma yapılamadı.

McLaren ve ark., (2011), tavuk ve hindi kümeslerinden elde ettikleri 3 adet *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* izolatları üzerinde gluteraldehit, hidrojen peroksit ve iyot bileşikleriyle 0,5x, 1x, 2x konsantrasyonlarda 37°C'de; 30 dakika, 2 ve 4 saat temas süresi ile çalışmışlardır. 37°C'de gluteraldehit etken maddesi içeren dezenfektanda bu temas süresi ve derecesinde üreme gözlememişlerdir. Ancak iyot ve hidrojen peroksit etken madde içeren dezenfektanda 37°C'de, 30 dakikalık temas süresinde üreme gözlenirken, 2 ve 4 saatlik temas sürelerinde üreme gözlememişlerdir.

Stringfellow ve ark., (2009), ticari tavuk kümeslerinde en sık karşılaşılan bakteriler olan *S. aureus* ve *S. Typhimurium*'a karşı kullanılabilecek olan en uygun dezenfektan seçimi için uygulama zamanı, ısı ve organik maddeler üzerine çalışmışlardır. 4, 20, 32 ve 43°C'de ve 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24 ve 30 hafta boyunca belirli konsantrasyonları denemişlerdir. Kvarterner amonyum bileşikleri, klorheksidin, fenol ve amonyum bileşiklerini içeren solüsyonlar kullanılmıştır. Fenol bileşikleri *Salmonella Typhimurium*'a karşı 6 hafta süresince yüksek ısıda (43°C) ve 16 hafta boyunca yüksek ısıda (32°C'de) en etkili dezenfeksiyonu sağladığını bildirmişlerdir. *S. aureus* içinse önemli olanın ısı derecesi olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada belirli konsantrasyonların denendiği, üreme olmayan ısı dereceleri Stringfellow ve ark., (2009)'nın çalışmasında üreme olmayan ısı dereceleri ile benzerlik gösterdi. Ancak, kullanılan dezenfektan etken maddelerinde benzerlik göstermedi. McLaren ve ark., (2011)'nin çalışmasında üreme olmayan ısı dereceleri glutraldehit açısından benzerlik gösterirken, iyot ve hidrojen peroksit'te benzerlik göstermemektedir. Weber ve ark., (2007)'nin çalışmasında kullanılan izolatların farklı olması nedeni ile gerekli karşılaştırma yapılamamıştır.

Moretro ve ark., 2009, gıda endüstrisine yönelik yapmış oldukları bir çalışmada 2'si *Salmonella Agona*, 1'si *Salmonella Montevideo*, 2'si *Salmonella Senftenberg* ve 2'si *Salmonella Typhimurium*'a ait olan toplam 7 adet *Salmonella* etkenine karşı farklı tiplerde dezenfektanlar kullanarak, bu etkene yönelik aktif olarak en çok işe yarayan dezenfektanı araştırmışlardır. Bu amaçla dokuz adet dezenfektan ile çalışmışlardır. Tüm dezenfektanlardan hazırlanan süspansiyonlar *Salmonella*'ya karşı etkili olmuştur. Tensid-tabanlı dezenfektanlar ve hipokloridin düşük bakterisidal aktivite gösterdikleri ortaya konulurken aynı zamanda dezenfektan konsantrasyonunda şekillenen azalmanın da etkinliği azalttığı ortaya koymuşlardır. %70-80 etanol konsantrasyonunun *Salmonella*'ya karşı etkili olduğunu ve Virkon S kullanılan alanlarda %70'lik etanol'ün bakterisidal aktiviteyi arttırdığını bildirmişlerdir.

McLaren ve ark., (2011), tavuk ve hindi kümeslerinden elde ettikleri 3 adet *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* izolatları üzerinde gluteraldehit, iyot ve peroksit etken maddelerini içeren dezenfektanlar ile bakterisidal aktivite araştırması yapmışlardır. Sonuçta en etkili dezenfektan etken maddesinin gluteraldehit olduğunu tespit etmişlerdir. Sander ve ark., 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada kanatlı kümeslerinden elde ettikleri 6 adedi *Salmonella*'ya ait olan 17 adet bakteriyel izolatın H₂O₂, Biosentry, Advantage 256 ve Poul-Phene dezenfektanlarını kullanmışlar ve en etkili olan dezenfektanın Biosentry olduğu sonucuna varmışlardır. Wales ve ark., (2006), 12 adet *Salmonella* etkeni identifiye edilen yumurtacı kümesleri ve *S. Enteritidis*'in kontaminasyon kaynağı olan alanlarında kalitatif ve kantitatif kültür teknikleri vasıtasıyla kontaminasyonu gidermeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla sadece kuru temizlik, ıslak temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerini uygulamışlardır. Bu amaçla kuarterner amonyum bileşikleri, formaldehit ve peroksijen kullanmışlardır. Sonuç olarak uygulanan kuru temizlik ardından dezenfektan kullanımının çok düşük düzeyli bir dezenfeksiyon sağladığı, ıslak temizlik ve ardından uygulanan dezenfektanların orta düzeyde dezenfeksiyon sağladığı ve kuru temizlik ile beraber uygulanan dezenfektanların en yüksek düzeyde dezenfeksiyon yaptıklarını ortaya koymuşlardır. Layton, 2006'da *Salmonella* bakterisine karşı en etkili dezenfektanın hangisi olduğunu araştırmıştır. Clorox, Lysol ve Safeway olmak üzere üç dezenfektanlı sprey ve üç dezenfektan kağıdı ile çalışmıştır. Bu amaçla, petride üretilen *Salmonella* bakterisine karşı petri üzerine dezenfektanlar eklenerek ve 24-48 saatlik inkubasyona tabii tutularak çalışılmıştır. Inkubasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zonları ölçülerek dezenfektanın etkinliğine karar verilmiştir. ANOVA ve Tukey istatistiksel testleri yapılarak data sonuçları karşılaştırılmış ve en etkili dezenfektanın Clorox olduğu ortaya konulmuştur.

Gehan ve ark., (2009), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus fumigatus* ve

Fusarium spp., Newcastle Hastalığı Virusu, Lasota suşu'na karşı; Perasan®, H₂O₂®, Aldekol®, Quatovet® ve Vircon-S® gibi ticari olarak kullanılan beş adet dezenfektan kullanmışlar ve H₂O₂®'nin en etkili dezenfektan olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada en etkili dezenfektan hidrojen peroksit olarak tespit edildi. Bu sonuç; Gehan ve ark., (2009)'nın sonucu ile benzer bulunurken, McLaren ve ark., (2011) ve Sander ve ark., (2001)'nin sonucu ile uyumlu bulunmadı. Layton (2006), Wales ve ark., (2006), Moretro ve ark., (2009)'nin çalışmalarında kullanılan dezenfektanların benzer etken madde içermemeleri nedeni ile uygun karşılaştırma yapılamadı.

McLaren ve ark., (2011), *Salmonella*'nın neden olduğu çiftlik kontaminasyonlarına karşı genel olarak kullanılan dezenfektanların koruyuculuğunu araştırmıştır. Yumurtacı tavuklardan elde edilen 2 adet *Salmonella* Enteritidis PT4 suşu ve hindi kümesinden elde edilen 1 adet *Salmonella* Typhimurium DT104 suşuna karşı kuru ve ıslak olmak üzere iki farklı şekilde dezenfektan uygulamalarını araştırmıştır. Kuru model için 10 dakika boyunca; *Salmonella* inokule edilmiş yüzey ve ekipmanlara adherent ve kalıcı organik materyaller ile dezenfektan uygulaması yapılmış, ıslak modelde ise etkenlerin 10 katlı seri dilüsyonlar yapılarak 0.5, 2 ve 4. saatlerde dezenfektanlar dilüsyonlara eklenmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Dezenfektanlar İngiltere'nin izin verdiği miktarlarda bakteriyel patojenlerin genel kontrolü amacı ile 0.5x, 1x ve 2x konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Klorkresol tabanlı dezenfektanlar yüksek oranda kullanıldığında kuru ve ıslak model için *Salmonella*'ların tamamen ölmesine neden olmuştur. Formaldehit ve gluteraldehit içeren dezenfektanlar ise kuru uygulamalarda oldukça yüksek oranda etkili olurken ıslak modelde daha az etkinlik göstermişlerdir. Test edilen diğer dezenfektanlar (kuarterner amonyum bileşikler, amfoterik sürfaktanlar, iyodin içerikli preparatlar, peroksijenler ve doymuş fenol bileşikler) orta derecede etkili olarak tespit edilmişlerdir.

Huberman ve Terzolo, 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada, kanatlı Tifo'suna karşı kullanılan ve tavukların içme sularına katılan N-alkil dimetil benzil amonyum klorid dezenfektanının uygun dozajının ne kadar olduğunu araştırmışlardır. Bu amaçla, 21 günlük *Salmonella*'dan ari olan tavuklar ile çalışmışlar ve her bir grupta 10'ar tavuk bulunan 6 grup oluşturmuşlardır. 15 gün boyunca her gün içme sularına 0, 200, 400, 800, 1600 ve 3200 ppm olmak üzere dezenfektan eklenmiştir ve bu düzeylerde koruyucu olduğu tespit edilmiştir. Sonrasında her birinde 65 adet tavuk bulunan 6 grup oluşturulmuş ve 9 gün boyunca 0, 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm olarak dezenfektan uygulaması yapılmış olup aynı zamanda 10 cfu *Salmonella Gallinarum* INTA91 suşu oral olarak inokule edilmiştir. Her bir gruptan elde edilmiş 35 adet kontrol tavuğu uygulama yapılan tavuklarla birlikte aynı kafes içerisinde yer almışlardır. Hayatta kalan tüm hayvanlar 8 gün sonra sakrifiye edilmişlerdir. Bu gruplardan *Salmonella Gallinarum* araştırması yapılmıştır. Bunların; 3 adet kontrol grubunda etken identifikasyonu yapılırken, grupların 3'ünde kontroller dahil olmak üzere etken identifikasyonu gözlenmemiştir. Ancak inokulasyon yapılan grupların her birinde *Salmonella Gallinarum* identifiye edilmiştir. 50 ppm dezenfektan uygulaması yapılan grupta, uygulama yapılmayan gruplara kıyasla %30 gibi önemli bir düzeyde mortalite azalması dikkat çekmiştir. İki grup arasında önemli bir mortalite farklılığı gözlenmemiştir (%45). Yüksek dozajda dezenfektan uygulamasının yapıldığı gruplar arasında ise %70-%85 oranında yüksek mortalite gözlenmiştir. Dezenfektan dozajındaki artış nedeni ile gözlenen ölümlerin normal bağırsak florasını baskıladığı nedeni ile koruyuculuğunu kaybettiği düşünülmüştür. Bu nedenle yapılan çalışma sonucunda oral dozajın 25-50 ppm değerlerinde olmasının horizontal enfeksiyona karşı azalmaya neden olduğunu belirtmişler ve yüksek dozajların horizontal bulaşmaya ve mortalite artışına neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada; kullanılan etken maddelerin her biri için ayrı ayrı hazırlanan sulandırma konsantrasyonları, McLaren ve ark., (2011), Huberman ve Terzolo (2008)'nin çalışmalarından daha yüksek konsantrasyonda hazırlanması nedeni ile gerekli karşılaştırma yapılamadı.

McLaren ve ark., (2011)'nin yaptığı çalışmada sonuç olarak iyot'ta ve peroksitte orta dereceli, gluteraldehit'te ise iyi dereceli bir dezenfeksiyon elde etmeleri açısından benzerlik gösterdi. Ancak çalışma, McLaren ve ark., (2011)'nin yaptığı çalışmada sonuç olarak iyotta orta dereceli bir dezenfeksiyon elde etmeleri açısından benzerlik gösterdi. Huberman ve Terzolo (2008)'nun kullandığı dezenfektan etken maddeleri benzer olmadığı için gerekli karşılaştırma yapılamadı.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonundan elde edilen *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium ve *Salmonella* Infantis ile çalışılarak, dezenfektanların etkinliğinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada aşağıda belirtilen sonuçlara varıldı.

İncelenen suşlar üzerinde, farklı etken madde içeren dezenfektanların, farklı ısı derecesi, temas süresi ve sulandırma oranlarında direnç ve duyarlılık profilleri saptandı. Buna göre en etkili olan dezenfektanın hidrojen peroksit olduğu sonucuna ulaşıldı.

Suşların dezenfektanlara karşı direnç profilleri hem konvansiyonel bir yöntem olan Cfu (koloni sayım yöntemi) ile fenotipik olarak, hem de bu direnci kodlayan hedef gen bölgesine ait primer çifti vasıtasıyla moleküler bir yöntem olan PCR ile genotipik olarak incelendi.

Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan *Salmonella* Infantis'in *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium'a göre dezenfektanlara duyarlılık bakımından daha az dirençli olduğu ortaya konuldu. Kuarterner amonyum bileşiklerine karşı *Salmonella* serotiplerinde gelişen dirençten sorumlu olan gen'e (qacE Δ 1) yalnızca *Salmonella* Typhimurium'da rastlanıldı.

Bu sonuçlara göre daha fazla *Salmonella* Infantis saha suşu ile farklı dezenfektanlara direncinin test edilmesi, çalışma sonuçlarının geliştirilmesi için uygun bulundu. Ayrıca, kuarterner amonyum bileşiklerine karşı *Salmonella* serotiplerinde gelişen dirençten sorumlu olan genin (qacE Δ 1) *Salmonella* Typhimurium dışındaki önemli *Salmonella* serotiplerinde de araştırılması gerektiği ortaya konuldu.

ÖZET

Kanatlı *Salmonella*'ları Üzerine Dezenfektanların Etkisinin Karşılaştırmalı Değerlendirilmesi

Bu çalışmanın amacı, *Salmonella* serotiplerinin çeşitli dezenfektanlara karşı direncinin saptanarak bu dirençler arasındaki olası ilişkinin belirlenmesidir.

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonunda yer alan *S. Infantis*, *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* serotipleri kullanıldı. Dezenfektan olarak hidrojen peroksit(H_2O_2), iyot bileşikleri, gluteraldehit bileşikleri ve kuarterner amonyum bileşikleri kullanıldı.

Çalışmada, test inokulumlarındaki bakteri konsantrasyonunu hesaplamak ve testler sonrası dezenfektanların etkisini belirlemek için bakteri sayımları yapıldı. İnokulumlardaki bakteri konsantrasyonunu hesaplamak için yapılan sayımda; her bir bakterinin Nutrient broth içindeki logaritmik faz subkültürlerden, fizyolojik tuzlu su içerisine 10 katlı sulandırma yapıldı. Dezenfektanlarla temastan sonra 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} 'lık sulandırma örneklerinden Nutrient agar'a 0.1 ml ekim yapıldı. Bakteri sayısı hesaplandı. Kuarterner amonyum bileşiklerinden Benzalkonyum klorür, Gluteraldehit, hidrojen peroksit ve iyot'un Sıvı formlarındaki % 100'lük cam tüpler içerisine 7 seri olacak şekilde 1:100'lük, 1:200'lük ve 1:400'lük 8'er ml final solüsyonlar eklendi. Her seri final solüsyon içerisine, 1'er ml sabit konsantrasyondaki bakteri subkültüründen ve 1'er ml organik madde(Skim Milk) eklendi. Nutrient agar'a 5. dakika, 30. dakika, 60. dakika, 6. saat ve 24. saatlerde yayma şeklinde ekim yapıldı. Besiyerleri 4°C, 20°C ve 37°C'de 24 saat inkube edildi

ve üreyen koloniler sayıldı. Dezenfektanların mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkinliği temas sürelerine göre değerlendirildi. Testler oda sıcaklığında yapıldı.

Kuarterner amonyum bileşiklerine karşı *Salmonella* serotiplerinde gelişen dirençten sorumlu olan gen (qacE Δ 1) PCR tekniği ile araştırıldı.

Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan *Salmonella* Infantis'in *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium'a göre dezenfektanlara duyarlılık bakımından daha az dirençli olduğu ortaya konuldu. Kuarterner amonyum bileşiklerine karşı *Salmonella* serotiplerinde gelişen dirençten sorumlu olan gen'e (qacE Δ 1) yalnızca *Salmonella* Typhimurium'da rastlanıldı.

Anahtar Sözcükler: Dezenfektanlar, Direnç, Kanatlı, PCR, *Salmonella*

SUMMARY

The Comparative Evaluation of Effects of Disinfectants on Avian *Salmonellae*

The aim of this study is to determine the resistance of *Salmonella* serotypes to various disinfectants and to determine the potential relation between these resistant serovars.

Salmonella serotypes used in Department of Microbiology of Faculty of Veterinary Medicine of Ankara University and from previously isolated *S. Infantis*, *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* serotypes from poultry. The disinfectants used in this study were hydrogen peroxide (H₂O₂), iodine products, iodine compounds, glutaraldehyde compounds and quaternary ammonium compounds.

In this thesis, to evaluate the efficacy of disinfectants, bacterial count was performed from bacterial concentrations before and after exposing to disinfectants. To calculate the concentration of inoculated bacteria all bacteria were grown separately in nutrient broth until the log phase and ten-fold serial dilutions were made in saline solution. After exposure to the disinfectants, 0.1 mL of diluted bacteria from 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ were evenly inoculated onto three Nutrient agar petri dishes. Seven series of 1:100, 1:200 and 1:400 dilutions from 100 % benzalkonium chloride (quaternary ammonium compounds), glutaraldehyde, and hydrogen peroxide and iodine liquids were added to the final volume of 8 mL. Disinfectant dilutions were made with sterile distilled water. Into every final solution, 1 mL of known bacterial concentration and 1 mL of organic material (Skim Milk) were added

and gently homogenized. After 5 min., 30 min., 60 min., 6 h. and 24 h 0.1 mL of the mixture were evenly inoculated onto three Nutrient agar petri dishes. Plates were incubated at 4°C, 20°C and 37°C for 24 h and the outgrown CFU were counted. Antimicrobial activity of disinfectants on microorganisms were evaluated according to the contact time. Tests were conducted at room temperature.

For the resistance development of *Salmonella* serotypes to quaternary ammonium compounds one of the class 1 integron genes (*qacE* Δ 1) was found to be responsible by PCR.

Eventually it has been stated that *Salmonella* Infantis which used in this study is less resistant in terms of sensitivity to disinfectants than *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium. The gene which is responsible for growing resistance at *Salmonella* serotypes towards quaternary ammonium compounds has only been found in *Salmonella* Typhimurium.

Key words: Disinfectants, PCR, Poultry, Resistance, *Salmonella*

KAYNAKLAR

- AKAN, M. (2008). Kanatlılarda *Salmonella* infeksiyonları ve kontrolünde temel prensipler. *Veteriner Tavukçuluk Derneği*. **6**(2):3-5.
- ARDA, M. (1997). Mikrobiyal üremenin kontrolü. In: *Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayınevi*. Ankara. 1.Baskı. s: 92-99.
- ARDA, M. (2006). Mikrobiyal üremenin kontrolü. In: *Temel Mikrobiyoloji. Medisan yayın serisi*. Ankara. 3. Baskı. p: 80-103.
- BARROW, P.A., JONES, M.A., THOMSON, N. (2010). *Salmonella*. In: *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. Ed: C.L. GYLES, J.F. PRESSCOTT, G. SONGER, THOEN CO. Blackwell Publishing. 4nd Ed. Pp: 231-265.
- BARROW, P.A., FREITAS NETO, O.C. (2011). Pullorum disease and fowl typhoid new thoughts on old diseases: a review. *Avian. Pathol.* **40**(1): 1-13.
- BASS, L., LIEBERT, C.A., LEE, M.D., SUMMERW, A.O., WHITE, D.G., THAYER, S.G., MAUER, J.J. (1999). Incidence and characterization of integrons, genetic elements mediating multiple-drug resistance, in avian *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**(12): 2925-2929.
- BOOTHE, H.W. (1998). Antiseptics and disinfectants. In: *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. Ed: D. Boothe, Philadelphia PA: Harcourt Brace Jovanovich, Inc. 28:2 edition. p: 233-248.
- CERQUETTI, M.C., GHERARDI, M.M. (2000). Vaccination of chickens with a temperature-sensitive mutant of *Salmonella* Enteritidis. *Vaccine*. **18**: 1140–1145.
- CHUANCHUEN, R., KHEMTONG, S., PADUNGTO, P. (2007). Occurrence of *QACE/QACEΔ1* genes and their correlation with class 1 integrons in *Salmonella enterica* isolates from poultry and swine. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health*. **38**(5): 855-862.
- CHUANCHUEN, R., PATHANASOPHON, P., KHEMTONG, S., WANNAPRASAT, W., PADUNGTO, P. (2008). Susceptibilities to antimicrobials and disinfectants in *Salmonella* isolates obtained from poultry and swine in Thailand. *J. Vet. Med. Sci.* **70**(6):595-601.
- CORDS, B.R., DYCHDALA, G.R. (1993). Sanitizers: Halogens, Surface-Active Agents, and Peroxides. In: *Antimicrobials in Foods*. Ed: P.M. Davidson, A.L. Branen. New York, NY: Marcel Dekker, Inc. 2nd edition. p: 469-537.

- COX, J.M., PAVIC, A. (2010). Advances in enteropathogen control in poultry production. *J. Appl. Microbiol.* **108**(3): 745-755.
- DALY, M., FANNİNG, S. (2000). Characterization and chromosomal mapping of antimicrobial resistance genes in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**(11):4842-8.
- DESIN, T.S., KOSTER, W., POTTER, A.A. (2013). *Salmonella* vaccines in poultry: past, present and future. *Expert. Rev. Vaccines.* **12**(1): 87-96.
- DVORAK, G. (2008). Disinfection 101. Center for Food Security and Public Health. Erişim: [<http://www.cfsph.iastate.edu/Disinfection/Assets/Disinfection101.>]. Erişim Tarihi: mayıs 2008.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Disinfectants for use on hard surfaces-Efficacy data requirements. Erişim: [www.epa.gov/oppad001/dis_tss_docs/dis-01]. Erişim Tarihi:19.10.2005.
- ERDEM, B. (2002). *Salmonella* türleri. In: *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Ed: TOPÇU WA, SÖYLETİR G, DOĞANAY M. Cilt 2. 27: 1586-1597.
- EWART, SL. (2001). Disinfectants and control of environmental contamination. In: *Large animal internal medicine: Diseases of horses cattle, sheep and goats*. Ed: B.L. Smith, St Louis: Mosby. 3rd edition. p: 1371-1380.
- EYİĞOR, A., TEMELLİ, S., CARLİ, K.T. (2010). Evaluation of ISO 6579 and FDA-BAM methods to complement real-time polymerase chain reaction for the detection of *Salmonella* in naturally contaminated poultry meat and red meat. *Foodborne. Pathog. Dis.* **7**(8):921-7.
- FEBERWEE, A., HARTMAN, E.G., DE WIT, J.J., DE VRIES, T.S. (2001). The spread of *Salmonella Gallinarum* 9R vaccine strain under field conditions. *Avian. Dis.* **45**(4): 1024–1029.
- FOLEY, S.L., NAYAK, R., HANNİNG, I.B., JOHNSON, T.J., HAN, J., RİCKE S.C. (2011). Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**(13): 4273–4279.
- FREİTAS NETO, O.C., PENHA FİLHO, R.A.C., BARROW, P., BERCHİERİ JUNIOR, A. (2010). Sources of human non-typhoid Salmonellosis: a review. *Braz. J. Poult. Sci.* **12** (1): 01-11.
- GANTOIS, I., DUCATELLE, R., TIMBERMONT, L., BOYEN, F., BOHEZ, L., HAESEBROUCK, F., PASMANS, F., VAN IMMERSEEL, F. (2006). Oral immunisation of laying hens with the live vaccine strains of TAD *Salmonella* vac E and TAD *Salmonella* vac T reduces internal egg contamination with *Salmonella* Enteritidis. *Vaccine.* **24**(37-39): 6250–6255.
- GAST, KR. (2008). Paratyphoid infections. In: *Disease of Poultry*. Ed: SAIF M.Y., FADLY M.A., GLISSON, R.J., MCDOUGALD, R.L., NOLAN K.L., SWAYNE ED. Blackwell publishing. 12.Edition. p: 636-665.

- GAZE, H.W., ABDOUSLAM, N., HAWKEY, M.P., WELLINGTON, HME. (2005). Incidence of class 1 integrons in a Quarter Ammonium Compound-polluted environment. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**(5): 1802-1807.
- GEHAN, Z.M., ANWER, W., AMER, H.M., EL-SABAGH, I.M., REZK, A., BADAWY, E.M.(2009). In vitro efficacy comparisons of disinfectants used in the commercial poultry farms. *Intl. J. Poult. Sci.* **8**(3): 237-241.
- GELINAS, P., GOULET, J., TASTAYRE, G.M., PICARD, G.A. (1991). Effect of temperature and contact time on the activity of eight disinfectants-a classifications. *J. Food Protect.* **47**:841-847.
- GOTTARDI, W. (1991). Iodine and iodine compounds. In: *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Ed: S.S. Block, Lea & Febiger, Philadelphia. 4. Edition. **p**: 152-166.
- GRIMONT, P.A.D., GRIMONT, F., BOUVET, P. (2000). Taxonomy of the genus *Salmonella*. In: *Salmonella in Domestic Animals*. Ed: WRAY, C., WRAY, A. CABI publishing. 1. Edition. **p**: 1-19.
- GUIBOURDENCHE, M., ROGGENTIN, P., MIKOLEIT, M., FIELDS, P.I., BOCKEMUHL, J., GRIMONT, P.A., WEILL, F.X. (2010). Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Res. Microbiol.* **16**(1): 26– 29.
- HOWARD, Z.R., O'BRYAN, C.A., CRANDALL, P.G., RÏCKE, S.C. (2012). *Salmonella* Enteritidis in shell eggs: Current issues and prospects for control. *Food. Res. Int.* **45**:755-764.
- HUBERMAN, Y.D., TERZOLO, H.R. (2008). Fowl typhoid: assessment of a disinfectant oral dose to reduce horizontal spread and mortality. *Avian. Dis.* **52**(2):320-3.
- ISO 6579(2002): Microbiology of food and animal feeding stuff- horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. International Organization for Standardization. Geneva- Switzerland.
- İZGÜR, M. (2002). Bakteriyel İnfeksiyonları. In: *Kanatlı Hayvan Hastalıkları*. Ed.: İZGÜR, M., AKAN, M. Ankara: Medisan Yayın Serisi. **4**: 37-126.
- KOYUNCU, S., HAGGBLOM, P. (2009). A comparative study of cultural methods for the detection of *Salmonella* in feed and feed ingredients. *BMC. Vet. Res.* **5**:6: 1-10.
- LAPIERRE, L., CORNEJO, J., BORIE, C., TORO, C., MARTIN, S. (2008). Genetic characterisation of antibiotic resistance genes linked to class 1 and class 2 integrons in commensal strains of *Escherichia coli* isolated from poultry and swine. *Microb. Drug. Resist.* **14**(4): 265-272.
- LAPUZ, R., TANI, H., SASAI, K., SHIROROTA, K., KATOH, H., BABA, E. (2008). The role of roof rats (*Rattus rattus*) in the spread of *Salmonella* Enteritidis and *S. Infantis* contamination in layer farms in eastern Japan. *Epidemiol. Infect.* **136**(9): 1235–1243.

- LARSON, EL. (1991) Alchols. In: *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Ed: S.S. Block, Lea & Febiger, Philadelphia. 4. Edition. p: 191-203.
- LAYTON, B.M. (2006). Disinfectants and *Salmonella*: a study showing the effectiveness of disinfectants against the bacteria *Salmonella*. *Biol. J.* **1**: 95-106.
- LINDSTEDT, A.B., HEIR, E., NYGÅRD, I., KAPPERUD, G. (2003). Characterization of class I integrons in clinical strains of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovars Typhimurium and Enteritidis from Norwegian hospitals. *J. Med. Microbiol.* **52**(2): 141-149.
- LUTFUL KABİR, S.M. (2010). Avian colibacillosis and *Salmonellosis*: a closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* **7**(1): 89-114.
- MAGUIRE, A.J., BROWN, D.F.J., GRAY, J.J., DESSELBERGER, U. (2001). Rapid screening technique for class 1 integrons in *enterobacteriaceae* and nonfermenting gram-negative bacteria and its use in molecular epidemiology. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **45**(4):1022-9.
- MATULOVA, M., HAVLICKOVA, H., SISAK, F., RYCHLIK, I. (2012). Vaccination of chickens with *Salmonella* Pathogenicity Island (SPI) 1 and SPI2 defective mutants of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Vaccine.* **30**(12): 2090–2097.
- MCLAREN, I., WALES, A., BRESLİN, M., DAVIES, R. (2011). Evaluation of commonly-used farm disinfectants in wet and dry models of *Salmonella* farm contamination. *Avian. Pathol.* **40**(1): 33-42.
- METHNER, U., BARROW, P.A., BERNDT, A., RYCHLIK, I. (2011). *Salmonella* Enteritidis with double deletion in *phoP*/*fliC* – a potential live *Salmonella* vaccine candidate with novel characteristics for use in chickens. *Vaccine.* **29**(17): 3248–3253.
- MILES, A.A., MISRA, S.S. (1938). The estimation of the bactericidal power of blood. *J. Hyg.* **38**(6): 732-749.
- MORETRO, T., VESTBY, L.K., NESSE, L.L., STORHEIM, S.E., KOTLARZ, K., LANGSRUD, S. (2009). Evaluation of efficacy of disinfectants against *Salmonella* from the feed industry. *J. Appl. Microbiol.* **106**(3):1005-12.
- MORETRO, T., HEIR, E., NESSE, L.L., VESTBY, K.L., LANGSRUD, S. (2012). Control of *Salmonella* in food related environments by chemical disinfection. *Food. Res.* **45**: 532-544.
- NANDRE, R.M., MATSUDA, K., CHAUDHARI, A.A., KIM, B., LEE, J.H. (2012). A genetically engineered derivative of *Salmonella* Enteritidis as a novel live vaccine candidate for salmonellosis in chickens. *Res. Vet. Sci.* **93**(2): 596–603.

- NATARO, J.P., BOPP, C.A., FIELDS, P.I., KAPER, J.B., STROCKBINE, N.A. (Çeviri: LEVENT B.). (2009). *Escherichia, Shigella ve Salmonella*. In: *Klinik Mikrobiyoloji*. Ed: MURRAY, P.R., BARON, E.J., JORGENSEN, J.H., LANDRY, M.L., PFALLER, M.A. (Çeviri ed.: BAŞUSTAOĞLU A). Ankara: Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. Cilt 1, 9. Baskı. p:670-87.
- NEMERGUT, R.D., MARTIN, P.A., SCHMIDT, K.S. (2004). Integron diversity in heavy-metal-contaminated mine tailings and inferences about integron evolution. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**(2): 1160-1168.
- O'CONNOR, D.O., RUBINO, JR. (1991) Phenolic compounds, In: *Disinfection, Sterilization and Preservation*, Ed: S.S. Block, Lea & Febiger, Philadelphia. 4. Edition. p: 204-224.
- PENHA FILHO, R.A., DE PAIVA, J.B., DA SILVA, M.D., DE ALMEIDA, A.M., BERCHIERI, A.J.R. (2010). Control of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Gallinarum in birds by using live vaccine candidate containing attenuated *Salmonella* Gallinarum mutant strain. *Vaccine*. **28**(16): 2853–2859.
- PETRIĆ, M., STEPHENS, G., MCINTYRE, L., FUNG, J. (2003). A guide to selection and use of disinfectants. BC Center for Disease Control. [http://www.bccdc.ca/NR/rdonlyres/EAA94ACF-02A9-4CF0-BE473F5817A25669/0/InfectionControl_GF_DisinfectntSelectnGuidelines_no_v0503.].
- POPPE, C. (2000). *Salmonella* infections in the domestic fowl. In: *Salmonella in Domestic Animals*. Ed: WRAY, C., WRAY, A. CABI publishing. 1. Edition. p: 107-132.
- QUINN, P.J., MARKEY, B.K. (2001). Disinfection and disease prevention in veterinary medicine. In: *Disinfection, Sterilization And Preservation*. Ed: S.S. Block, Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins. 5th edition. p:1069-1103.
- ROSEWARNE, P.C., PETTIGROVE, V., STOKES, W.H., PARSONS, M.Y. (2010). Class1 integrons in benthic bacterial communities: abundance, association with Tn402-like transposition modules and evidence for coselection with heavy-metal resistance. *FEMS. Microbiol. Ecol.* **72**: 35-46.
- RUTALA, W.A., WEBER, D.J. (1997). Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin. Microbiol. Rev.* **10**(4): 597-610.
- RUTALA, W.A., WEBER, D.J., The Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee(HICPAC). (2008). guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities 2008. Erişim: [http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008].
- SAMBROOK, J., RUSSEL, W. (2002). Molecular cloning; a laboratory manual. 3rd edition. Cold Spring Harbor Press, New York.
- SANDER, J.E., HOFACRE, C.L., CHENG, I.H., WYATT, R.D. (2002). Investigation of resistance of bacteria from commercial poultry sources to commercial disinfectants. *Avian. Dis.* **46**(4): 997-1000.

- SHIVAPRASAD, L.H., BARROW, A.P. (2008). Pullorum disease and fowl typhoid. In: *Disease of Poultry*. Ed: M.Y. SAIF, M.A. FADLY, R.J. GLISSON, R.L. MCDOUGALD, K.L. NOLAN, E.D. SWAYNE,. Blackwell publishing. 12. Edition. p: 620-636.
- SIRIKEN, B. (2013). *Salmonella* Patojenite Adaları. *Mikrobiyol. Bul.* **47(1)**: 181- 188.
- STRINGFELLOW, K., ANDERSON, P., CALDWELL, D., LEE, J., BYRD, J., MCREYNOLDS, J., CAREY, J., NISBET, D., FARNELL, M. (2009). Evaluation of disinfectants commonly used by the commercial poultry industry under simulated field conditions. *Poult. Sci.* **88(6)**: 1151-5.
- WALES, A., BRESLIN, M., DAVIES, R. (2006). Assessment of cleaning and disinfection in *Salmonella*-contaminated poultry layer houses using qualitative and semi-quantitative culture techniques. *Vet. Microbiol.* **116(4)**: 283-93.
- WEBER, D.J., RUTALA, W.A., SCİKBERT-BENNETT, E.E. (2007). Outbreaks associated with contaminated antiseptics and disinfectants. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **51(12)**: 4217–4224.
- WEGENER, H.C., HALD, T., LO FO WONG, D., MADSEN, M., KORSGAARD, H., BAGER, F., GERNER-SMİDT, P., MØLBAK, K. (2003). *Salmonella* control programs in Denmark. *Emerg. Infect. Dis.* **9(7)**: 774-780.
- WIRTANEN, G., SALO, S., HELANDER, I.M., MATITLA-SANDHOLM, T. (2001). Microbiological methods for testing disinfectant efficiency on *Pseudomonas* biofilm. *Colloids Surf.B Biointerfaces.* **20**: 37-50
- YILDIRIM, Y. (2010). Antimikrobiyel Duyarlılık Testleri; İlgili Metodlar, Sonuçların Yorumlanması ve Kanatlılarda Bulunan Bazı Bakterilerdeki Dirençlilik. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.* **7(2)**: 117-129.
- ZHANG-BARBER, L., TURNER, A.K., BARROW, P.A. (1999). Vaccination for control of *Salmonella* in poultry. *Vaccine.* **17**: 2538-45.

ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı: Adil

Soyadı: AKSOY

Diğer Adı ve Soyadı: Adel ASHOUR

Doğum Yeri ve Tarihi: Khanyounis- Filistin, 14.10.1976

Uyruğu: T.C. ve FİLİSTİN

Medeni Durumu: Evli

İletişim Adresi ve Telefonu: Kemalettin Sami Paşa Caddesi 18/1

Subayevleri / Ankara

+905546969637

II-Eğitimi

1996 – 2002 Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

1995 – 1996 Ankara Üniversitesi Türkçe Eğitim Merkezi(TÖMER)

1990 – 1994 Filistin, Khanyounis Lisesi

1988 – 1990 Suudi Arabistan, Gara Orta Okulu

1982 –1988 Suudi Arabistan, Gara İlköğretim Okulu

Yabancı Dil: İngilizce ve Arapça

III-Ünvanları

Veteriner Hekim

IV- Mesleki Deneyim

2003 – 2010 Filistin Tarım Bakanlığı Veteriner Hekim

V- Bilimsel İlgili Alanları

Yayınları:

1. YARDIMCI H, **AKSOY A.** (2014). Tavuklarda *Salmonella* infeksiyonlarının kontrolü. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*. **25(2)**: 63-72.
2. ŞAHAN Ö, ARAL E M, MUKTAR ALİ ADEN M, **AKSOY A**, YILMAZ Ö, JAHED R, AKAN M. (2016). Türkiye'deki broyler tavuk işletmelerinden izole edilen *Salmonella* serovarlarının antimikrobiyal direnç durumu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. Cilt: **63** Sayı: 1.

Posterleri:

1. ŞAHAN Ö, YILMAZ Ö, MUKTAR ALİ ADEN M, **ASHOUR A(AKSOY A)**, ARAL EM, JAHED R, AKAN M. (2012). *P024 tavuk orijinli Salmonella izolatlarının serotip dağılımı*. XXXV. TÜRK Mikrobiyoloji Kongresi, Kuşadası/ Aydın.
2. ÖZLEM ŞAHAN, ARAL EM, MUKTAR ALİ ADEN M, **AKSOY A**, AKAN M. (2014). *Tavuklardan izole edilen Salmonella serovarlarının dağılımı ve antibiyotik direnci*. XI. Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi -Uluslararası katılımı, Kemer/ Antalya.

Seminerleri:

1. Kafes Kuşlarının Aşıları ve Aşılama Yöntemleri (2012).
2. Tavuklarda *Salmonella* İnfeksiyonlarının Kontrolü (2012).