



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KANATLI ORİJİNLİ *SALMONELLA* INFANTIS
SUŞLARINDA VİRULENS GENLERİNİN
MOLEKÜLER ANALİZİ**

Nurdan KARACAN SEVER

**MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet AKAN

2017-ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ**

**KANATLI ORİJİNLİ *SALMONELLA* INFANTIS
SUŞLARINDA VİRULENS GENLERİNİN
MOLEKÜLER ANALİZİ**

Nurdan KARACAN SEVER

**MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet AKAN

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün 16L0239006
proje numarası ile desteklenmiştir.**

2017-ANKARA

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Etiyoloji	1
1.2. Epidemiyoloji	2
1.2.1. S. Infantis Enfeksiyonları	3
1.3. Patogenez	5
1.3.1. Konağa Giriş	5
1.3.2. Konak Hücreye Adhezyon ve İnvazyon	6
1.3.3. İmmun Yanıt	7
1.3.4. Dendritik Hücre ve Makrofajlarda Yaşama	8
1.4. Patogenezde Rol Oynayan Virulens Faktörleri	9
1.4.1. <i>Salmonella</i> Patojenite Adaları	9
1.4.1.1. <i>Salmonella</i> Patojenite Adası-1	10
1.4.1.2. <i>Salmonella</i> Patojenite Adası-2	12
1.4.1.3. <i>Salmonella</i> Patojenite Adası-3	13
1.4.1.4. <i>Salmonella</i> Patojenite Adası-4	13
1.4.1.5. <i>Salmonella</i> Patojenite Adası-5	14
1.4.3. Demir (Fe) Kazanım Mekanizması	14
1.4.4. Virulens Plazmidleri	15
1.4.5. Adhezin (Fimbria)	16
2. GEREÇ ve YÖNTEM	17
2.1. Gereç	17
2.1.1. Materyal	17
2.1.2. Bakteri Suşları	17
2.1.3. <i>Salmonella</i> İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri, Ayıraç ve Antiserumlar	18
2.1.4. Moleküler Analizde Kullanılan Cihaz, Kimyasal ve Tampon Solüsyonlar	18
2.2. Yöntem	19
2.2.1. <i>Salmonella</i> İzolasyon ve İdentifikasyon	19
2.2.2. Virulens Genlerinin Moleküler Analizi	20
3. BULGULAR	23
3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları	23
3.2. PCR Bulguları	23
4. TARTIŞMA	39
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	49
ÖZET	51

SUMMARY	53
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	63



ÖNSÖZ

Gıda kaynaklı infeksiyonlarda bulaşma kaynakları arasında hayvansal orijinli gıdalar özellikle de kanatlı orijinli gıdalar önemli rol oynamaktadır. Hayvansal orijinli gıda patojenleri arasında ise *Salmonella*'lar ilk sıralarda yer almaktadır. İnsan Salmonellozis vakalarında en yaygın *Salmonella* serotiplerinden 4.'sünün *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Infantis (*S. Infantis*) olduğu ve tavuklarda en yaygın olarak görülen 3 serotip arasında da *S. Infantis*'in ilk sırada yer aldığı bilinmektedir.

Gıda kaynaklı infeksiyonların azaltılmasında, kontrol işlemlerinin, üretim aşamasından başlatılması gerekmektedir. Bu sebeple kanatlı hayvanların sindirim sistemine yerleşen *S. Infantis* suşlarının virulens özelliklerinin araştırılması, üretim aşamasında kontrol için bir gerekliliktir.

Bu tez çalışmasında, Türkiye'de kanatlılardan yaygın olarak izole edilen *S. Infantis* suşlarının virulens genlerinin varlığı araştırıldı. Ayrıca *S. Infantis* ile *S. Infantis* dışındaki diğer yaygın serotiplerin sahip olduğu virulens genlerinin de karşılaştırması yapıldı.

Doktora öğrenimim süresince desteğini gördüğüm danışman hocam Prof. Dr. Mehmet Akan'a, tez aşamasındaki katkılarından dolayı Prof. Dr. Barış Sareyyüpoğlu'na, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Hakan Yardımcı'ya, başta Prof. Dr. K. Serdar Diker olmak üzere Prof. Dr. Müjgan İzgür ve Doç. Dr. H. Kaan Müştak'a, Tez İzleme Komitesi üyesi Prof. Dr. Aykut Özkul'a, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm çalışma arkadaşlarıma ve babam Nazif Karacan, annem Gönül Karacan ile değerli eşim Işın Sever'e yanımda oldukları ve desteklerini esirgemedikleri için çok teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
bp	Base pair
CDC42	Cell division control protein
CXC	Cysteine-X-Cysteine
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
EFSA	European Food Safety Authority
IL	İnterlöykin
ISO	International Organization for Standardization
kb	Kilobase
LPS	Lipopolisakkarit
MgCl ₂	Magnezyum klorür
SCV	<i>Salmonella</i> içeren vakuol
SIFs	<i>Salmonella</i> ile ilgili filament
sn	Saniye
SPA	<i>Salmonella</i> patojenite adası
Spv	<i>Salmonella</i> virulens plazmidi
T3SS	Tip 3 sekresyon sistemi
TBE	Tris Borik asit EDTA
TLR	Toll benzeri reseptör
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. <i>Salmonella</i> T3SS-1 ve T3SS-2	12
Şekil 3.1. <i>S. Infantis</i> suşlarının taşıdığı <i>sipA</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	24
Şekil 3.2. <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Kentucky</i> ve <i>S. Hadar</i> suşlarının taşıdığı <i>sipA</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	24
Şekil 3.3. <i>S. Infantis</i> suşlarının taşıdığı <i>sipD</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	25
Şekil 3.4. <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Kentucky</i> ve <i>S. Hadar</i> suşlarının taşıdığı <i>sipD</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	25
Şekil 3.5. <i>S. Infantis</i> suşlarının taşıdığı <i>sopD</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	26
Şekil 3.6. <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Kentucky</i> ve <i>S. Hadar</i> suşlarının taşıdığı <i>sopD</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	26
Şekil 3.7. <i>S. Infantis</i> suşlarının taşıdığı <i>sopB</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	27
Şekil 3.8. <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Kentucky</i> ve <i>S. Hadar</i> suşlarının taşıdığı <i>sopB</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	27
Şekil 3.9. <i>S. Infantis</i> suşlarının taşıdığı <i>sopE</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	28

Şekil 3.10. <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Kentucky</i> ve <i>S. Hadar</i> suşlarının taşıdığı <i>sopE</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	28
Şekil 3.11. <i>S. Infantis</i> suşlarının taşıdığı <i>sopE2</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	29
Şekil 3.12. <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Kentucky</i> ve <i>S. Hadar</i> suşlarının taşıdığı <i>sopE2</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	29
Şekil 3.13. <i>S. Infantis</i> suşlarının taşıdığı <i>sitC</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	30
Şekil 3.14. <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Kentucky</i> ve <i>S. Hadar</i> suşlarının taşıdığı <i>sitC</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	30
Şekil 3.15. <i>S. Infantis</i> suşlarının taşıdığı <i>ssaR</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	31
Şekil 3.16. <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Kentucky</i> ve <i>S. Hadar</i> suşlarının taşıdığı <i>ssaR</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	31
Şekil 3.17. <i>S. Infantis</i> suşlarının taşıdığı <i>sifA</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	32
Şekil 3.18. <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Kentucky</i> ve <i>S. Hadar</i> suşlarının taşıdığı <i>sifA</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	32
Şekil 3.19. <i>S. Infantis</i> suşlarının taşıdığı <i>spvC</i> genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü	33

Şekil 3.20. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *spvC* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü 33

Şekil 3.21. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *pefA* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü 34

Şekil 3.22. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *pefA* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü 34



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Broyler tavuk ve broyler tavuk etlerinden izole edilen <i>Salmonella</i> serotiplerinin dağılımı	5
Çizelge 1.2. <i>Salmonella</i> patojenite adaları	10
Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan <i>Salmonella</i> serotiplerinin orijinleri	18
Çizelge 2.2. Virulensle ilişkili gen bölgelerinin bulunduğu yerler, bağlandıkları spesifik gen bölgeleri, primerlerin baz dizini, primer adı, PCR ürünlerinin uzunlukları (bp) ve primerlerin alındığı kaynaklar	21
Çizelge 2.3. Primerlerin farklı bağlanma sıcaklıkları	21
Çizelge 3.1. Broiler, damızlık, yumurtacı, karkas ve hindi kümeslerinden izole edilen <i>S. Infantis</i> suşlarında virulens genlerinin bulunma sıklığı	35
Çizelge 3.2. <i>S. Infantis</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Kentucky</i> ve <i>S. Hadar</i> suşlarında virulens genlerinin bulunma sıklığı	35
Çizelge 3.5. Virulens genlerinin dağılımı (paternler)	48

1. GİRİŞ

Son yıllarda insanlarda gıda kaynaklı infeksiyonlarda bir artış söz konusudur ve bu durum öncelikli araştırma konulara arasındadır. Bu infeksiyonlarda bulaşma kaynakları arasında hayvansal orijinli gıdalar özellikle de kanatlı orijinli gıdalar önemli rol oynamaktadır. Hayvansal orijinli gıda patojenleri arasında ise, *Salmonella*'lar ilk sıralarda yer almaktadır.

Hayvansal orijinli gıdalardaki patojenlerin azaltılması için kontrol işlemlerinin üretim aşamasından başlatılması gerekmektedir. Bu nedenle hayvanların sindirim sistemine yerleşen *Salmonella* serotiplerinin virulens özelliklerinin araştırılması; üretim aşamasında kontrol için bir gerekliliktir. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Infantis (*S. Infantis*); hem ülkemizde hem de dünyada, kanatlıların sindirim sisteminden ve kanatlı ürünlerinden izole edilmekte ve *Salmonella* serotipleri arasında artış eğilimi göstermektedir.

1.1. Etiyoloji

Salmonella; *Enterobacteriaceae* familyasından, Gram negatif, fakültatif intraselüler, katalaz enzim sistemine sahip, sporsuz, çomak morfolojisinde (0.7-1.5 X 2-5 µm) ve genellikle peritrik flagella ile hareket edebilen (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum biovars Gallinarum ve Pullorum hariç) bir bakteridir. *Salmonella* cinsi üyelerinin optimum üreme sıcaklığı 35°C-37°C arasındadır (İzgür, 2006).

Salmonella'nın, *Salmonella bongori* ve *Salmonella enterica* olmak üzere iki türü bulunmaktadır. *Salmonella enterica*; subsp. *enterica*, subsp. *salamae*, subsp. *arizonae*, subsp. *diarizonae*, subsp. *houtenae* ve subsp. *indica* olmak üzere altı alt türe ayrılmaktadır (İzgür, 2006; Karasova ve ark., 2009). *Salmonella* cinsine ait üyeler, White-Kauffmann-Le Minor şemasına göre, sahip oldukları somatik 'O'

antijenlerinin (lipopolisakkarit yapıda) farklılıklarına göre serogruplara, flagellar ‘H’ antigenlerinin (protein yapıda) farklılıklarına göre ise serotiplere ayrılmaktadırlar (İzgür, 2006; Sabbagh ve ark., 2010). White-Kauffmann-Le Minor şemasının 2010’da yayınlanan raporunda *S. bongori* de dahil olmak üzere *Salmonella* cinsine ait 2610 serotip olduğu bildirilmiştir (Guibourdenche ve ark., 2010).

1.2. Epidemiyoloji

S. enterica subsp. *enterica*’ya ait serotipler; insan ve hayvanlarda, *Salmonella* infeksiyonlarının (sistemik infeksiyonlar ve enterit) yaklaşık %99’unu oluşturmaktadır. Bu serotiplerin küçük bir kısmı; dar bir aralığa sahip hayvan türü ve insanlarda, tifoid salmonellozis olarak da adlandırılan sistemik infeksiyona sebep olmaktadır. Örneğin; *S. enterica* serovar Typhi, *S. enterica* serovar Paratyphi A, bazı *S. enterica* serovar Paratyphi B serotipleri insanlarda tifo ve paratifoya, *S. Gallinarum* kanatlılarda kanatlı tifosuna, *S. Choleraesuis* de domuzlarda septisemiye neden olmaktadır (Akan, 2008; Barrow ve ark., 2010). Sistemik infeksiyona sebep olan bir diğer grup ise; gebe hayvanların ya da yumurtacı tavukların üreme sistemine yerleşmekte ve çok genç hayvanlarda ciddi düzeyde sistemik çoğalma ve enterite sebep olmaktadır. Bu gruba; *S. enterica* subspecies *enterica* serotype Dublin, *S. enterica* serotype Abortusovis, *S. enterica* serotype Abortusequi ve *S. Pullorum* örnek verilebilmektedir (Akan, 2008; Barrow ve ark., 2010; Karasova ve ark., 2009). Geriye kalan *S. enterica* subspecies *enterica* serotype Infantis, *S. Derby* ya da *S. enterica* subspecies *enterica* serotype Hadar gibi paratifoid serotipler ise; geniş bir konak spektrumuna sahip olup, konağın bağırsağına yerleşmekte ve ya akut enterit ya da subklinik infeksiyona yol açabilen ve zoonotik öneme sahip olan serotiplerdir (Akan, 2008; Barrow ve ark., 2010; Karasova ve ark., 2009).

Paratifoid Salmonellozis epidemiyolojisi; etkenlerinin konak spesifik olmaması, asemptomatik özellik göstermesi ve dışkıyla saçılmasından dolayı tifoid Salmonellozis’e göre daha karmaşıktır (İzgür, 2002). *Salmonella* etkenlerinin kanatlı ürünlerine bulaşması; kanatlı etlerinde, kesimhanelerde dışkı-karkas ve

yumurtalarda, dışkı-kabuk yoluyla olmaktadır. İnsanlara bulaşmada özellikle bulaşık yumurta ve tavuk eti önemli rol oynamaktadır (Akan, 2008). *Salmonella* 'nın kanatlı bağırsağına kolonizasyonu ve yüksek düzeyde dışkıyla saçılımı; özellikle hayvansal gıdaların tüketilmesiyle birlikte insan gıda zincirine girmekte ve insanlarda gastroenteritlere sebep olmaktadır (Barrow ve ark., 2010).

1.2.1. S. Infantis İnfeksiyonları

İnsanlarda Salmonellozise sebep olan en yaygın serotipler *S. enterica* subsp. *enterica* serotype Enteritidis ve *S. enterica* subsp. *enterica* serotype Typhimurium iken; son yıllarda *S. Infantis* sıklığının arttığı bildirilmiştir (Miller ve ark., 2010). İlk *S. Infantis* kökenli salgın 1971 yılında Finlandiya'da meydana gelmiş ve bu salgının kaynağının broiler üretimi olduğu saptanmıştır. Danimarka'da 1993 yılında, *S. Infantis* kökenli insan Salmonellosis salgını meydana gelmiş ve salgında 500 kişi tedavi görmüştür. Bu salgın üzerinde yürütülen epidemiyolojik çalışmalarda, salgının domuz etlerinden kaynaklandığı saptanmıştır (Jacoby ve ark., 2006; Wegener ve Baggesen, 1996). *S. Infantis*, 1970'lerden beri Arjantin, Avustralya, Brezilya, Hollanda, Finlandiya, Kanada, Macaristan, Japonya, Yeni Zelanda ve Rusya gibi Dünya'nın pek çok ülkesinde rapor edilmiştir (Miller ve ark., 2010). Japonya'da 2001 ve 2006 yıllarında (güney ve batı kesimlerinde) yapılan çalışmalarda broilerlerdeki baskın serotipin *S. Infantis* olduğu, 2010'da Japonya'daki 203 yumurtacı işletmeden alınan çevresel toz örneklerinde en yaygın serotipin %11.1 ile *S. Infantis* olduğu bildirilmiştir. Japonya'nın üç farklı bölgesinden toplanan tavuk eti örneklerinden yapılan çalışmada *S. Infantis*'in %17.9 ile en baskın serotip olduğu ortaya konmuştur (Iwabuchi ve ark., 2010; Iwabuchi ve ark., 2011; Kudaka ve ark., 2006; Murakami ve ark., 2001). İzlanda'da 2007'de yapılan bir çalışmada kesimhane ve kesimhane öncesinde alınan örneklerden tespit edilen *S. Infantis*; %50 pozitiflik ile predominant suş olarak belirlenmiştir (Thorsteinsdottir ve ark., 2007). Macaristan'da farklı broiler kümeslerinde 2008 yılında yapılan çalışmada %20-100 oranında *S. Infantis* pozitifliği saptanmıştır (Nógrády ve ark., 2008). Hollanda'da 2008 yılında broilerlerde tespit edilen *S. Infantis*'in baskın iki serotipten biri olduğu

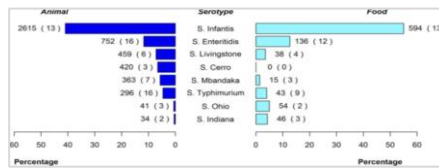
bildirilmiştir (Pieskus ve ark., 2008). Güney Avustralya Bölgesi'nde 2008'de yapılan bir çalışmada tavuk etinde bulunan *S. Infantis*'in en çok identifiye edilen iki serotipten biri olduğu rapor edilmiştir (Fearnley ve ark., 2011). Brezilya'da 2014 yılında, broiler kümeslerinden yapılan bir çalışmada *S. Infantis*'in %14.63 oranıyla en sık karşılaşılan serotipler arasında yer aldığı rapor edilmiştir (Voss-Rech ve ark., 2015). Polonya'da 2014'te sığır, domuz ve kanatlı et ürünleri toplanmış ve *S. Infantis*'in %18.5 ile kanatlı etlerinde, %14.2 ile de sığır, domuz ve kanatlı et ürünlerinin toplamında en yaygın 3 serotip arasında bulunduğu bildirilmiştir (Maka ve ark., 2014). Çin'de 2014 yılında yapılan bir çalışmada marketlerden toplanan 395 adet tavuk karkasından izole edilen 3 predominant serotip arasında *S. Infantis*'in de olduğu tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2014). Romanya'da 2014 yılında yapılan bir çalışmada üretim tesisleri ve marketlerden 650 adet domuz ve tavuk eti örnekleri toplanmış ve bu örneklerde *S. Infantis*'in %70.87 ile predominant 3 serotip arasında ilk sırada yer aldığı, 2015 yılında yapılan başka bir çalışmada kesimhane ve marketlerden toplanan karkas ve tavuk eti örneklerinden %42.8 *S. Infantis* pozitifliğinin olduğu bildirilmiştir (Mihaiu ve ark., 2014; Tirziu ve ark., 2015). İsrail'de 2012 yılında yapılan bir çalışmada, 1999-2009 yılları arasında insan *Salmonella* izolatları incelenmiş ve 2008'e kadar en yaygın serotipin *S. Enteritidis* iken, 2009'da *S. Infantis* olduğu bildirilmiştir (Bassal ve ark., 2012). Ayrıca Japonya (2010), Almanya (2012) ve Brezilya'da (2013) yapılan çalışmalarda kanatlı etlerinin, insanlar için *S. Infantis*'in bulaşma kaynağı olduğu rapor edilmiştir (Almeida ve ark., 2013; Hauser ve ark., 2012; Noda ve ark., 2010).

European Food Safety Authority (EFSA) 2016 yılı raporuna göre; 229,213 insan vakasıyla *Kampilobakteriyozis*, gıda kaynaklı infeksiyon vakalarında ilk sırada yer almaktadır. Bunu 94,625 insan vakasıyla *Salmonellozis* izlemektedir. EFSA'nın önceki raporlarında da olduğu gibi en sık karşılaşılan insan *Salmonella* serotipleri sırasıyla; *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, monofazik *S. Typhimurium* 1,4,[5],12:i:- ve *S. Infantis*'tir. EFSA 2016 yılı raporunda, *Salmonellozis*'in en sık görüldüğü Avrupa ülkeleri, 2015 yılı raporunda olduğu gibi Çek Cumhuriyeti ve Slovakya olarak bildirilmiştir. *Salmonella* vakalarının en az görüldüğü ülkeler ise Portekiz ve Yunanistan olarak belirtilmiştir. *Salmonellozis* bildiriminde en büyük artışın

Bulgaristan ve Fransa’da olduğu belirlenmiştir. EFSA’nın 2015 ve 2016 yılı raporlarında, önceki yıllardaki raporlara kıyasla, *S. Infantis*’in sebep olduğu insan vaka sayısında azalış tespit edildiği ancak *S. Infantis*’in halen, 4. en yaygın serotip olarak önemini koruduğu bildirilmiştir. Ayrıca 2016 yılı raporuna göre; *S. Infantis*’in bazı suşları yüksek seviyede çoklu ilaç direnciyle ilişkilendirilmiştir. Son zamanlarda *S. Infantis*’in farklı çevresel kaynaklardan artan izolasyon oranı, bu serotipin önemli düzeyde adaptasyon yeteneğine sahip olduğuna işaret etmektedir. Bu durumda *S. Infantis*’in halk sağlığı açısından yarattığı endişenin devam ettiği düşünülmektedir (Anon, 2016).

EFSA’nın 2016 yılı raporuna göre; tavuklarda en yaygın olarak görülen 3 serotip; *S. Infantis* (%33,6), *S. Enteritidis* (%15,8) ve *S. enterica* subsp. *enterica* serotype Mbandaka (%6,7)’dir. *S. Infantis*’in 2013 yılından beri tavuklardan izole edilen en yaygın serotip olduğu bildirilmiştir. En sık görüldüğü Avrupa Ülkeleri İtalya, Romanya, Slovenya, Hırvatistan ve Avusturya olarak belirlenmiştir. Broiler tavuk ve broiler tavuk etlerinden en çok izole edilen *Salmonella* serotiplerinin başında yine *S. Infantis*’in geldiği bildirilmiştir (Çizelge 1.1) (Anon, 2016).

Çizelge 1.1. Broiler tavuk ve broiler tavuk etlerinden izole edilen *Salmonella* serotiplerinin dağılımı (Anon, 2016).



1.3. Patogenez

1.3.1. Konağa Giriş

İnsan ve hayvanlarda etkenin temel bulaşma yolu dışkı-ağız bulaşmasıdır. Genellikle *Salmonella* serotipleri ile kontamine yiyecekler ağız yoluyla alındığında,

midenin asit ortamında canlı kalarak ince bağırsak ve sekuma ulaşmaktadırlar. Bağırsağın epitel ve immun sistem hücre hattı *Salmonella* serotiplerine karşı ilk koruyucu bariyeri oluşturmaktadır. *Salmonella* serotipleri burada enterosit ya da M hücrelerine bağlanıp bağırsağa kolonize olmak için bağırsak mikrobiotası ile yarışmaktadır (Barrow ve ark., 2010; Foley ve ark., 2013).

1.3.2. Konak Hücreye Adhezyon ve İnvazyon

Salmonella serotiplerinin gastrointestinal sisteme kolonize olması için, enterosit ya da M hücrelerine adheze olması gerekmektedir (Foley ve ark., 2013). Fimbrial adhezinlerin yanı sıra Tip Üç Sekresyon Sistemi (T3SS)-1'in de invazyonun başlangıç basamağı olan konak hücreye tutunma aşamasına katkı sağladığı bilinmektedir (Gerlach ve Hensel, 2007; Hanes, 2003; Wagner ve Hensel, 2011).

Bağırsak epiteline tutunan *Salmonella* serotipleri, T3SS-1'i eksprese etmektedirler. *Salmonella* serotiplerinin konak hücreyle kontakt kurmasıyla aktive olan T3SS-1, bakteri sitoplazması ile konak hücre membranı arasında moleküler bir kanal gibi işlev görmektedir. Bu kanal vasıtasıyla konak hücreye bakteri toksinleri, SipA/B/C/D, SopA/B/D/E/E2 gibi efektör proteinler ve 20'den fazla yapısal ve regülatör protein transfer edilmektedir. Bu proteinler, konak hücre sinyallerini değiştirip hücre yapısında değişikliklere sebep olarak bakterinin hücre içine alınmasına ve konak hücrede gen ekspresyonunun değişmesine sebep olmaktadır (Kim ve ark., 2010; Lee ve Schneewind, 1999; Ramos-Morales, 2012; Santos ve ark., 2003).

İnvazyon, hücrenin yeniden yapılanmasında rol oynayan efektör proteinler aracılığıyla olmaktadır. T3SS-1 tarafından transloke olan proteinler, aktin polimerizasyonunu direkt ya da indirekt yollarla aktive etmektedirler. SipA efektör proteini, konak hücreye direkt olarak bağlanıp aktini (hücreye esneklik ve şekil veren mikrofamentleri oluşturan protein) polimerize etmekte; SopE, SopE2 ve SopB ise, hidrolaz enzimini (Rho GTPase) aktive ederek polimerizasyonu uyarmaktadır. SipA,

SipC ve SopB gibi efektör proteinler ise konak hücre membranının dışı doğru genişlemesini sağlamaktadırlar (Kim ve ark., 2010; Lee ve Schneewind, 1999; Ramos-Morales, 2012).

İnvazyon ayrıca, epidermal üreme faktör reseptörü aracılığıyla araşidonik asit metabolizmasını aktive etmektedir. 5-lipoksijenaz enzimi lökotrienlerde araşidonik aside dönüşmekte ve bu da membran permeabilitesini artırarak diyareyle sonuçlanan sıvı birikimine sebep olmaktadır. Lökotrienler, Ca^{2+} kanallarını da kontrol ederek hücre içi Ca^{2+} birikimine sebep olmakta ve bu da aktin polimerizasyonunu uyararak, bakterinin internalizasyonuna ve *Salmonella* içeren vakuollerin (SCV) oluşmasına sebep olmaktadır (Bhunia, 2008).

Olgunlaşan SCV'ler bağırsak lümen hattından bazal membrana göç ederek fagolizozomal yıkımdan kaçmakta ve SCV'ler, makrofaj ve bağırsak hücrelerindeki *Salmonella* serotiplerinin yaşamasında ve çoğalmasında kilit rol oynamaktadırlar. *Salmonella* serotipleri konak hücre içerisine alındığında, intraselüler patogeneze ve sistemik infeksiyonda kritik rol oynayan ikinci bir T3SS eksprese etmektedirler. SPA-2'den eksprese edilen T3SS-2, SCV'de efektör protein sekresyonundan sorumludur. Bu efektör proteinler, *Salmonella* ile ilgili filament (SIFs) oluşumuyla sonlanan motor protein ve hücre yapısıyla etkileşime girmektedir. SIF'ler, SCV'ler ile hücre içindeki diğer veziküllerin birleşmesine olanak tanıyarak *Salmonella* serotiplerinin çoğalmasında rol oynamaktadırlar (Bueno ve ark., 2012; Figueira ve Holden, 2012; Foley ve ark., 2013; Ramos-Morales, 2012).

1.3.3. İmmun Yanıt

Salmonella serotipleri; hücre duvarlarında bulunan lipopolisakkarit (LPS)'in temel immunostimülatör komponenti olan lipit A ile konak hücrenin toll-benzeri reseptör (TLR)-4'ünü, flagellinleri ile de TLR-5'ini stimüle etmektedirler. Bakteri ile etkileşime giren TLR; inflamatuvar proteinler, sistein X sistein (CXC) üyeleri, interlöykin (IL)-6 ve IL-1'i içeren kemokin ve sitokinlerin indüklenmesiyle konak immun yanıtını uyarmaktadır (Ashida ve ark., 2012; Barrow ve ark., 2010; Bueno ve

ark., 2012). Epitel hücre, fibroblast, B hücreleri, makrofajlar ve heterofilleri içeren çok geniş bir aralığa sahip hücre tipleri; *Salmonella* serotiplerine ya da onun LPS, flagellin gibi komponentlerine karşı kuvvetli bir immun yanıt geliştirmektedirler (Smith ve ark., 2013).

Salmonella Patojenite Adası (SPA)-1'den kodlanan sipA'nın bağırsak epitel hücrelerinde transepitelyal nötrofil göçünü başlatmak için yeterli olduğu, sopA'nın da transepitelyal nötrofil göçünün başlamasında rol oynadığı belirlenmiştir. Bu proteinler sayesinde kemotaktik maddelerin ekspresyonu artmakta ve lamina propriaya nötrofil göçü başlamaktadır. *Salmonella* serotipleri, infeksiyondan yaklaşık 1 saat sonra bazal membrana ulaşmakta ve nötrofil ve makrofajlar tarafından fagosit edilmektedirler. *Salmonella* serotipleri, sipB efektör protein ve caspase-1 aktivasyonu ile makrofaj hücre ölümünü başlatmakta ve sonrasında IL-1b salgılanmasıyla yangısal reaksiyon artmaktadır. Yangısal reaksiyonun ilerlemesiyle nötrofiller, yangısal hücre kümeleriyle beraber epitel yüzeye göç ederek intestinal lümene çıkmaktadırlar. Yoğun yangısal reaksiyon yoğun transepitelyal nötrofil göçüne sebep olarak, bazal membrandan epitelin ayrılması, intestinal lümene sıvı sekresyonu ve diyareyle sonuçlanmaktadır (Gerlach ve Hensel, 2007; Santos ve ark., 2003).

1.3.4. Dendritik Hücre ve Makrofajlarda Yaşama

Az sayıda olguda *Salmonella* serotipleri konak hücre içinde çoğalmakta ve immun yanıtı kaçarak invaziv ve sistemik bir infeksiyon yapabilmektedir. Bu durum; *Salmonella* serotiplerinin, makrofaj ya da dendritik hücrelere (gezici fagosit) invaze olması durumunda gerçekleşmektedir (Foley ve ark., 2013). Bakteriler, makrofajlar tarafından fagosit edilmelerine karşı öldürülmemekte, hücre içinde üremeye devam ederek vücuda bu hücreler vasıtasıyla yayılmaktadırlar. Hücre içindeki sayıları artınca makrofaj parçalanmakta ve serbest kalan bakteriler başka konak hücreleri infekte etmektedirler (Diker, 2005). *Salmonella* serotiplerinin makrofajlarda yaşama yeteneği; mikroorganizmanın,

bağırsak submukozasından retiküloendotelyal sisteme ulaşarak iç organlara yayılmasına olanak sağlamaktadır. *PhoP/phoQ* virulens regülatör lokusu ve SPA-2’de bulunan genler, *Salmonella* serotiplerinin makrofajlarda hayatta kalmasında oldukça önemli bir role sahiptir (Erhardt ve Dersch, 2015; Kuhle ve Hensel, 2004; Lee ve Schneewind, 1999).

Dendritik hücreler, lenfoid ve lenfoid olmayan dokularda yaygın şekilde bulunduğundan, *Salmonella* serotiplerinin konak vücuduna hızlı şekilde yayılmalarına olanak sağlamaktadır. T3SS-2’nin, dendritik hücrelerde antijen sunumunu baskıladığı ortaya konmuş, bunun da, konak immun yanıtının infekte hücrelere etkisini sınırladığı bildirilmiştir (Bueno ve ark., 2012; Figueira ve Holden, 2012; Foley ve ark., 2013; Kuhle ve Hensel, 2004).

1.4. Patogeneizde Rol Oynayan Virulens Faktörleri

Bakterilerin konakta infeksiyon oluşturabilme yetenekleri patojenite, patojenitenin derecesi ise virulens olarak tanımlanmaktadır (Wang, 2007). *Salmonella* serotiplerinin hayvan ve insanlarda infeksiyon yapabilmesi; konak savunmasını nötralize eden ve konak savunmasından kaçabilmeyi sağlayan virulens genlerinin kodlama ve eksprese edilmesine bağlıdır. Bunlar da patojenite adaları, demir kazanım mekanizması, virulens plazmidleri ve adhezinler (fimbria) gibi virulens faktörleri ile ilişkilidir (Foley ve ark., 2013; Van Asten ve Van Dijk, 2005).

1.4.1. *Salmonella* Patojenite Adaları (SPA)

Patojenite adaları, virulensten sorumlu olan genleri kodlayan kromozomun stabil olmayan bir bölgesidir. Patojen etkenler, virulensle ilişkili olan bu genleri, horizontal gen transferi yoluyla elde etmektedirler. Bu genomik bölgeler, horizontal gen transferi yoluyla patojen olmayan türlere aktarıldığı zaman, transfer olduğu

bakteriye de virulens özellikler kazandırmaktadır (Gerlach ve Hensel, 2007; Ohl ve Miller, 2001).

Virulens gen bölgeleri, virulent *Salmonella* serotiplerinde 21 SPA içinde yer almaktadır. *Salmonella* virulensi için gerekli olan yaklaşık 200 gen, çoğunlukla beş patojenite adası (SPA-1 - SPA-5) üzerinde bulunmaktadır (Çizelge 1.2) (Gyles ve Boerlin, 2014; Hensel, 2004).

Çizelge 1.2. *Salmonella* patojenite adaları (Barrow, 2010; Sabbagh ve ark., 2010).

Patojenite Adası	Büyüklik (kb)	Fonksiyon
SPA-1	40	invazyon, T3SS-1, demir alımı
SPA-2	40	invazyon, sistemik infeksiyon, T3SS-2, epitel hücrelerde ve makrofajlarda sağ kalım
SPA-3	16.6	Mg transportu
SPA-4	25	T1SS'ni kodlayan genler
SPA-5	7.6	T3SS efektör proteinleri üretimi
SPA-6	59	<i>saf</i> ve diğer gen kümeleri, fimbriya
SPA-7	134	Vi antijeni
SPA-8	6.8	bakteriyosin sentezi
SPA-9	16	T1SS'ni kodlayan genler ve RTX benzeri direnç
SPA-10	32.8	<i>Sef</i> fimbriya gen kümesi, bakteriyofaj
SPA-11	14	makrofajlarda sağ kalım
SPA-12	15.8	sistemik infeksiyon, T3SS, <i>sspH2</i> efektör proteini,
SPA-13	25	sistemik infeksiyon
SPA-14	9	makrofajlarda sağ kalım
SPA-15	6.5	5 hipotetik protein
SPA-16	4.5	LPS modifikasyonu
SPA-17	5	LPS modifikasyonu
SPA-18	2.3	<i>clyAve taiA</i> invazyonile ilişkili genler
SPA-19	14.1	T6SS
SPA-20	34	T6SS
SPA-21	55	T6SS
SGA-1	43	çoklu antibiyotik direnci
YPA	-	septisemi, demir alımı

1.4.1.1. *Salmonella* Patojenite Adası-1

S. enterica ve *S. bongori* 'nin tüm serotiplerinde bulunmakta ve *Salmonella* infeksiyonlarının intestinal fazı için önemli olduğu bilinmektedir. İntestinal Salmonelloziste kademeli inflamatuvar yanıtın yanı sıra; oral infeksiyonu takiben *Salmonella* serotiplerinin fagositoz yapmayan epitel hücrelere invazyonun başlangıç basamağında önemli role sahip olduğu ortaya konmuştur (Valdez ve ark., 2009).

Bu lokus, fagositoz yapmayan hücrelerin invazyonundan sorumlu olan 31 gen ve T3SS-1 için gerekli olan regülatör proteinler ile salgısal efektör proteinler gibi çeşitli komponentleri kodlayan çok sayıda geni taşımaktadır (Marlovits ve Stebbins, 2010; Zhou ve ark., 1999b).

SPA-1 genlerinin çoğu; intestinal çevreye benzeyen bir ortam oluştuğunda eksprese edilmekte ve *Salmonella* serotipleri hücre içerisine girdiğinde baskılanmaktadır. Bu genler; SPA-1'den kodlanan 5 regülatör gen tarafından kontrol edilmektedir. SPA-1 regülatörleri aynı zamanda SPA-2 genlerini de düzenlemektedirler. İki komponent sistem *PhoP/Q*, SPA-1 ve SPA-2'nin regülasyonunda önemli rol oynamaktadır (Valdez ve ark., 2009).

Tip III sekresyon sistemi-1 (T3SS-1); konak hücre sitoplazmasına bakteriyel virulens proteinlerinin direkt aktarılmasını sağlayan, konak hücre fonksiyonunu modifiye etmek için geliştirilmiş, özelleşmiş bir virulens aracıdır. 'Enjektör' olarak da adlandırılan bu sekresyon sistemi, en az 20 proteinin etkinliği sonucu oluşan iğne, dış halka, boyun ve iç halkadan oluşmaktadır (Worrall ve ark., 2011) (Şekil 1.1). Aktarılan bakteriyel proteinler; sitokin gen ekspresyonu, konak hücre yapısı ve sinyal aktarımı gibi temel hücre fonksiyonlarını değiştirmektedir. T3SS, hayvan ve bitki patojenlerinin çoğunda korunmuş olmasına rağmen, aktarılan efektör proteinler her bir patojen için tektir. Bu durum, her bir patojenin virulens fenotipini ayırmaya katkı sağlamaktadır (Ohl ve Miller, 2001; Wisner ve ark, 2012).

T3SS-1, bakteri ile konak hücre yüzeyi bağlantıya geçtiğinde aktive olmaktadır. Non-fimbriyal adhezinleri kodlayan *invH* geni, intestinal yüzeyin tanınmasını sağlayarak *Salmonella*'nın konağa adaptasyonunu kolaylaştırmaktadır. SipABC proteinlerinin, konak hücre yapısında değişiklik yaparak bakterinin içeri alınmasını sağladığı ve *Salmonella* serotiplerinde korunduğu tespit edilmiştir. T3SS-1; konak hücreye invazyona ek olarak, inflamatuvar yanıt ve intestinal salgının başlatılmasında da büyük rol oynamaktadır. SopB ve SopE1/E2 efektör proteinleri; Rho GTPase, hücre bölünmesi kontrol proteini (CDC) 42 ve Rac1'i (ras-related C3

Tip III sekresyon sistemi-2 (T3SS-2); SPA-2'nin 25-kb'lık kısmı yalnızca *S. enterica*'ya ait alt türlerde bulunmakta ve intrasellüler bakteri tarafından aktive edilen T3SS-2'yi kodlamaktadır. T3SS-2; makrofajlarda canlı kalma ve çoğalmayı sağlama gibi özelliklerin yanı sıra, SCV oluşumunu sağlayarak bakteriyi, konak bağışıklık sistemine karşı da korumaktadır. T3SS-2 ile aktarılan efektör proteinler; SCV'ler ile endositik yolun birleşmesini ve fagozomal membranda oksiradikal formasyonu engellemektedir (Kuhle ve Hensel, 2004; Morgan, 2007; Wigley ve ark., 2002; Wisner ve ark., 2012).

T3SS-2; farelerde *S. Typhimurium*, ineklerde *S. Dublin* ve tavuklarda *S. Gallinarum*'un sebep olduğu, tifoid benzeri sistemik infeksiyonun gelişmesinde önemli rol oynamaktadır (Wigley ve ark., 2002). T3SS-2 regülatörü olan *ssrA*'nın inaktivasyonun, *S. enterica*'nın kanatlı yumurta kanalına kolonizasyonunda başarısızlığa sebep olduğu ortaya konmuştur (Li ve ark., 2009). *ssaU* geninde mutasyon olan bir *S. Typhimurium* suşu, 1 günlük civcivlere verilmiş ve sonuçta SPA-2'deki bir mutasyonun sistemik bakteri sayısında ve patolojide azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir (Jones ve ark., 2007).

1.4.1.3. *Salmonella* Patojenite Adası-3

S. bongori ve *S. enterica*'ya ait alt türlerde bulunmaktadır. SPA-3'ten kodlanan yüksek affiniteli Mg^{2+} alım sistemi (MgtCB), *Salmonella* serotiplerinin hem hücre içinde hem de makrofajlarda canlı kalabilmesini sağlamaktadır (Gerlach ve Hensel, 2007; Gyles ve Boerlin, 2014; Hensel, 2004).

1.4.1.4. *Salmonella* Patojenite Adası-4

Üzerinde 18 gen taşımaktadır. Bu lokustan eksprese edilen non-fimbrial adhezinlerin *S. enterica*'nın intestinal fazında rol oynadığı bildirilmiştir (Kaur ve Jain, 2012; Rychlik ve ark., 2009; Sabbagh ve ark., 2010). Ayrıca *Salmonella* serotiplerinin sitokin sekresyonunda, hücrede apoptozis meydana gelmesinde ve

etkenin makrofajlarda canlı kalmasında da rolü olduğu tespit edilmiştir (Gerlach ve Hensel, 2007; Marcus ve ark., 2000; Sabbagh ve ark., 2010).

1.4.1.5. *Salmonella* Patojenite Adası-5

S. bongori ile *S. enterica* 'ya ait alt türlerde bulunmaktadır. T3SS-1 ile aktarılan ve diyareye sebep olan *sopB* efektör proteini ile T3SS-2 ile aktarılan *pipB* ve *sigD* gibi efektör proteinlerini kodlayan genler bu lokusta yer almaktadır. *SopB*, inositol fosfataz aktivitesinde görev alarak epitel hücrelerde sıvı sekresyonunu ile elektrolit kaybını uyararak diyareye neden olmakta ancak invazyonda görev almamaktadır (Gyles ve Boerlin, 2014; Hansen-Wester ve Hensel, 2001; Santos ve ark., 2003). Çoğunlukla *sop* efektör proteinlerini kodlayan genleri barındıran SPA-5'in enteropatogenez ile ilişkili olduğu ve inflamasyon ile infeksiyonun enterik fazındaki klorid sekresyonu için gerekli olduğu bildirilmiştir (Santos ve ark., 2003; Schmidt ve Hensel, 2004; Wood ve ark., 1998).

1.4.2. Demir (Fe) Kazanım Mekanizması

Demir, birçok bakteri türünün üreme ve hayatta kalmasında dolayısıyla infeksiyonun devam ettirilmesinde kritik öneme sahip bir elementtir. *Salmonella*'larda çok sayıda demir kazanım mekanizması tanımlanmıştır. Bunlar, enterobaktin ve aerobaktin gibi sideroforları içeren ve özelleşmiş yapıda demir transport sistemleridir. Bu sistemlerde demir kazanımı, çoğunlukla bakteri hücre dışı membran proteini olan TonB vasıtasıyla olmaktadır. Tanımlanmış bir diğer demir alım mekanizması ise bakteri iç membranındaki porinlerden diffüzyon yoluyla olmaktadır. Bu mekanizmada demir çözünebilir durumda olduğundan siderofor sentezine ihtiyaç duyulmamaktadır (Zhou ve ark., 1999a).

Zhou ve ark. (1999a), *S. Typhimurium*'da yeni bir demir kazanım sistemi tanımladıklarını bildirmişlerdir. Bu sistem, bakteri adhezyonunda çok önemli bir rolü bulunan SPA-1'in *sitABCD* operonudur. Janakiraman ve Slauch (2000), farelerde *S.*

S. Typhimurium *sitA* mutant suşu ile yaptıkları çalışmada, *sitABCD* lokusunun *S. Typhimurium* virulensi için tamamen gerekli olduğu ve *in vivo* koşullarda demir alımı için öncelikli sistem olabileceğini bildirmişlerdir.

1.4.3. Virulens Plazmidleri

Bakterilere ait virulens faktörlerinin bir kısmı kromozomlarda kodlanırken bir kısmı da plazmidlerden kodlanmaktadır. Plazmidler, 50-110 kb moleküler ağırlıkta, ekstrakromozomal DNA molekülleridir. Kendi kendilerine replike olabilmekte ve bakteri bölünmesi sırasında yeni hücreye aktarılmaktadır. Virulens plazmidleri, *Salmonella* cinsine ait tüm alttürlerde bulunmamakta ve büyüklükleri serotipten serotipe farklılık göstermektedir. Plazmidlerin beş gen içeren '*spvRABCD*' olarak adlandırılan 8 kb'lık bölgesi; bu plazmidi taşıyan *Salmonella* serotiplerinde, makrofajlarda hayatta kalma, üreme, adaptasyon, antibiyotik direnci ve diğer virulens faktörleri gibi çok sayıda fonksiyon için gerekli genleri kodlamaktadır. Bu bölgeye *Salmonella* virulens plazmidi (*spv*) de denmektedir (Gyles ve Boerlin, 2014; Marcus ve ark., 2000; Rychlik ve ark., 2006).

Virulens plazmidlerinin infeksiyonun bağırsak fazındaki rolü net olarak açıklanamamış olsa da, sistemik infeksiyonun başlatılmasında gerekli olduğu bildirilmiştir. *Spv*, retiküloendoteliyal sistemde bakteriyel üreme için gerekmektedir. Ancak fimbriyal operon (*pef*), konjugal transfer geni (*traT*) ve *rck* ile *rsk* gibi diğer plazmid lokusları; fimbriya biyosentezi ve serum direnci gibi infeksiyon sürecinin diğer aşamalarında da rol oynayabilmektedir. Virulens plazmidleri; *Salmonella enterica* subspecies I'e ait bazı serotiplerde bulunmakta ve serotip spesifik plazmid olarak da isimlendirilmektedir (Rotger ve Casadesus, 1999).

spvB ve *spvC*, *S. Typhimurium*'un plazmid aracılı virulensi için gerekli temel faktörleri kodlamaktadır. *spvB* proteinleri, T3SS-1 aracılığıyla konak hücreye transloke olurken aktin polimerizasyonuna da katılmaktadır. *spvC* proteinleri ise

T3SS-1 ve T3SS-2 aracılığıyla konak hücreye transloke olmakta ve antiinflamatuvar etki yaratmaktadır (Ibarra ve Steele-Mortimer, 2009; Fierer ve Guiney, 2001).

1.4.4. Adhezin (Fimbria)

Adhezin; bakterinin hücreye tutunmasını sağlayan, bakteri yüzeyinde bulunan yapılardır. Adheziv yapılar, fimbrial ve non-fimbrial adhezinler olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. *Salmonella* adhezinlerinin büyük kısmını fimbrial adhezinler grubu oluşturmaktadır. Fimbrial adhezinlerin fonksiyonu öncelikle, konak hücredeki spesifik reseptörlere bağlanarak kolonizasyon ve biofilm oluşumunda görev almaktır (Jong ve ark., 2012; Wagner ve Hensel, 2011). Non-fimbrial adhezinler ise; T1SS'den sekrete edilen adhezinler ve T5SS olarak da adlandırılan adhezinlerdir (Wagner ve Hensel, 2011). Fimbrialar aracılığıyla bağırsak dokusundaki farklı hücre tiplerine tutunan bakteriler daha sonra Peyer plaklarındaki epitel hücrelerini ve M hücrelerini invaze ederek infeksiyon oluşturabilmektedirler (Baumler ve ark., 1997).

Her bir *Salmonella* serotipi tek bir fimbrial operon kombinasyonunu barındırmaktadır (Jong ve ark., 2012). Her bir fimbrial operon çoklu genler içermekte (8-11) ve bu genler fimbrini (fimbria proteini) kodlamaktadırlar (Foley ve ark., 2013). *S. Typhimurium*'da bulunan *lpf* ve *pef* operonlarının; farelerde, *S. Typhimurium*'un peyer plaklarına kolonizasyonu ve sistemik virulensi için önemli olduğu bildirilmiştir (Foster, 1991; Velge ve ark., 2012). *S. Enteritidis* PT4'ün 13 büyük fimbriyal alt ünitesinin, kanatlı bağırsağına adhezyon ve kolonizasyonunda önemli rol oynadığı bilinmektedir (Foley ve ark., 2013).

Bu tez çalışmasında Türkiye'de, kanatlılardan yaygın olarak izole edilen *S. Infantis*'in patojenite adaları (*sipA*, *sipD*, *sopD*, *ssaR*, *sopB*, *sopE*, *sopE2*, *sifA*) virulens plazmidleri (*spvC*), adhezin (*pefA*) ve demir kazanımı (*sitC*) ile ilgili virulens genlerinin varlığının araştırılması amaçlandı. Ayrıca *S. Infantis* ile *S. Infantis* dışındaki diğer yaygın serotiplerin sahip olduğu virulens genlerinin karşılaştırması hedeflendi.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1.GEREÇ

2.1.1. Materyal

Çalışmada kullanılan *S. Infantis* suşları, farklı yetiştirme tipine sahip kanatlı kümeslerinden altlık, toz, çevresel kaynaklardan, kemirici istasyonlarından ve kesimhane karkas örneklerinden izole edildi.

2.1.2. Bakteri Suşları

Teşhis amacıyla Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kanatlı Teşhis Laboratuvarına gönderilen broiler, damızlık, yumurtacı kümeslere ait altlık, toz, çevresel kaynaklardan ve kemirici istasyonlarından alınan materyaller ile karkas örneklerinden izole ve identifiye edilen 200 adet *S. Infantis* suşu ile hindi kümeslerinden gönderilen altlık, toz, çevresel, kemirici örneklerinden izole ve identifiye edilen 24 adet *S. Infantis* suşu kullanıldı. Bununla birlikte *S. Infantis* suşlarıyla karşılaştırma yapmak amacıyla, kanatlı orijinli *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarından 10'ar adet, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonundan temin edildi. Suşlar 2012 yılından itibaren izole edilmiş suşları kapsamaktadır.

Toplamda 224 adet kanatlı orijinli *S. Infantis* suşu ile *S. Infantis* dışındaki diğer yaygın serotiplerden 40 adet olmak üzere toplam 264 suş kullanıldı (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan *Salmonella* serotiplerinin orijinleri.

Serotip	Hayvan Türü	Yetiştirme Yönu	Suş Sayısı	Toplam
<i>S. Infantis</i>	Tavuk	Broiler	138	224
		Damızlık	6	
		Yumurtacı	6	
		Karkas	50	
	Hindi	-	24	
<i>S. Typhimurium</i>	-	-	10	40
<i>S. Enteritidis</i>	-	-	10	
<i>S. Kentucky</i>	-	-	10	
<i>S. Hadar</i>	-	-	10	
Toplam Suş Sayısı			264	

2.1.3. *Salmonella* İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri, Ayıraç ve Antiserumlar

Salmonella serotiplerinin izolasyon ve identifikasyonu amacıyla ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme ve selektif besiyerlerine ekim aşamaları için kullanılan seçici ve diferansiyel besiyerleri aşağıda yer almaktadır.

ISO 6579 2010: Appendix D izolasyon besiyerleri: tamponlanmış peptonlu su, modifiye Rappaport Vassiliadis yarı katı besiyeri, Müller-Kauffmann tetrasyonat-novobiyosin buyyon, ksiloz lizin desoksikolat agar, ksiloz lizin tergitol-4 agar.

Biyokimyasal test besiyerleri ve ayıraçları: triple sugar iron agar (TSI), üre agar, L-lizin dekarboksilaz besiyeri, β -galaktosidaz test besiyeri, nutrient buyyon, indol test besiyeri, kovaks, Voges Proskauer besiyeri, kreatin solüsyonu (n-amidinosarcosine), naftol etanol solüsyonu.

Serotiplendirmede kullanılan besiyerleri ve antiserumlar: nutrient agar, swarm agar. Statens Serum Institute (Danimarka), Denka Seiken (Japonya).

2.1.4. Moleküler Analizde Kullanılan Cihaz, Kimyasal ve Tampon Solüsyonlar

Serotiplendirmesi yapılan *Salmonella* suşlarının DNA ekstraksiyonu ve virulens gen analizi için kullanılan malzeme ve cihazlar aşağıda yer almaktadır.

Kimyasal ve tampon solüsyonlar: DNA izolasyon kiti (Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit, #K0721, #K0722), etanol (%95' lik), 10xPCR buffer (EP0402, Thermo Scientific, USA), 25 mM MgCl₂ (EP0402, Thermo Scientific, USA), dNTP mix (10 mM each) (R0193, Thermo Scientific, USA), Taq DNA polimeraz (EP0402, Thermo Scientific, USA), primerler, agaroz (Agarose, Biomax), tris borik asit EDTA (TBE) (B52, Thermo Scientific, USA), boyama solüsyonu (G108, SafeView™ Classic, Applied Biological Materials Inc., Canada), 6xLoading Dye (SM032, Thermo Scientific, USA), GeneRuler 100 bp Plus DNA ladder (SM0321, Thermo Scientific, USA).

Cihazlar: hassas terazi (Scaltec, SBC41), santrifüj (micro CL21, Thermo Scientific, USA), steril kabin (laminar flow) (Class II, Safety Cabinet Thermo Scientific, USA), spektrofotometre ND-1000 (NanoDrop) (Thermo Scientific, USA), vorteks (Thermo Scientific, USA), DNA thermal cycler (Thermo Scientific, USA), (Biometra, Gottiengen), jel elektroforez ünitesi (cihaz ve güç kaynağı) (Blu POWER 500), UV transillüminatörlü bilgisayarlı görüntüleme sistemi (Gene Genius, Syngene, Bio Imaging System, USA), vorteks (Thermo Scientific, USA).

2.2. YÖNTEM

2.2.1. *Salmonella* İzolasyon ve İdentifikasyonu

Bu çalışmada *Salmonella* izolasyon ve identifikasyonu için standart bir yöntem olan ISO 6579 prosedürü uygulandı (ISO 6579, 2002; WHO, 2010). Suşların yüzey (LPS, O-antijenleri) ve flagella antijenlerinin (protein, H-antijenleri) tespiti için serotiplendirme yapıldı ve antijenik kombinasyonlar Kauffmann-White Şemasına göre değerlendirildi. Serotiplendirmesi tamamlanan *Salmonella* suşları daha sonra

kullanılmak amacıyla %20 gliserinli tryptic soy broth (TSB)'ta süspansiyon edilerek -20 ve -80°C'de saklandı.

2.2.2. Virulens Genlerinin Moleküler Analizi

DNA Ekstraksiyonu: Rastgele seçilen 10 adet suşun kaynatma yöntemi ve ticari kit (plasmid DNA ve genomik DNA) ile DNA ekstraksiyonu yapıldı. Spektrofotometre ile yapılan ölçümlerde en temiz DNA ekstraktının genomik DNA kiti ile elde edildiği tespit edildi. Bu sebeple tüm suşların DNA ekstraksiyonu için ticari Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kiti kullanıldı. Protokol olarak kit prosedürü içerisinde bulunan Gram negatif bakteriler için DNA saflaştırma protokolü uygulandı. Ekstraksiyonu yapılan DNA örnekleri işlemleri yapılana kadar -20°C'de saklandı (Sambrook ve Russell, 2002).

Polimeraz Zincir reaksiyonu (PCR): Kanatlı orijinli *S. Infantis* suşlarının virulens genlerinin ortaya konması için PCR işlemi, DNA ekstraksiyonunu takiben amplifikasyon, elektroforez ve görüntüleme olmak üzere üç aşamada gerçekleştirildi (Sambrook ve Russell, 2002). Çalışmada konvansiyonel PCR yöntemi kullanıldı. DNA ekstraksiyonu yapılan 224 adet *S. Infantis* ve diğer serotiplere ait 40 adet suşa ait DNA konsantrasyonları spektrofotometre ile ölçüldü. Çalışmada analiz edilen virulens genleri; daha önce *S. Typhimurim* ve *S. Enteritidis* suşlarında en çok çalışılmış ve suşlar arasında farklılıklar bulunan genler arasından seçildi. Kullanılan primerlerin baz dizileri, ilgili gen bölgeleri, ürün uzunlukları ve alındığı kaynaklar Çizelge 2.3'de gösterilmiştir.

PCR karışımı her bir örnek için; 14,8 µl nuclease free water, 2,5 µl 10 x PCR tampon çözeltisi, 3 µl MgCl₂ (25 mM), 0,5 µl dNTP (10 mM), 1 µl forward primer (10 pmol), 1 µl reverse primer (10 pmol), 0,2 µl Taq DNA polymerase ve final hacim 25 µl olacak şekilde hazırlandı.

Kullanılan primerler ile bağlanma sıcaklıklarının farklılık göstermesi sebebiyle ilk olarak gradient PCR yapıldı. Gradient PCR ile 54-67°C arasında çalışıldı ve optimum bağlanma sıcaklıkları seçilerek çalışma boyunca kullanıldı (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.2. Virulensle ilişkili gen bölgelerinin bulunduğu yerler, bağlandıkları spesifik gen bölgeleri, primerlerin baz dizini, primer adı, PCR ürünlerinin uzunlukları (bp) ve primerlerin alındığı kaynaklar.

Bulunduğu yer	Hedef gen	(5'-3') Primer dizini	Primer	PCR ürünü	Kaynak
SPA-1	sipA	F-ATGGTTACAAGTGTAAGGACTCAG	sipA	2055	Shah ve ark. 2011
		R-ACGCTGCATGTGCAAGCCATC			
	sipD	F-ATGCTTAATATTCAAAATTATTCCG	sipD	1029	Shah ve ark. 2011
		R-TCCTTGCAGGAAGCTTTTG			
	sopD	F-GAGCTCACGACCATTGCGGCG	sopD	1291	Raffatelli ve ark. 2005
		R-GAGCTCCGAGACACGCTTCTTCG			
SPA-1, SPA-5	sopB	F-GCTCTAGACCTCAAGACTCAAGATG	SopB	1987	Raffatelli ve ark. 2005
		R-GCGGCCGCTACGCAGGAGTAAATCGGTG			
SPA-1, kriptik profaj	sopE	F-ATTGTTGTGGCGTTGGCATCGT	sopE	376*	Zou ve ark. 2011
		R-AATGCGAGTAAAGATCCGGCCT			
SPA-1	sopE2	F-TAC TAC CAT CAG GAG G	sopE2	995	Raffatelli ve ark. 2005
		R-GAA TGT TTT ATG TGA CGC AG			
	sitC	F-CAGTATATGCTCAACGCGATGTGGGTCTCC	sitC	768	Skyberg ve ark. 2006
		R-CGGGGCGAAAATAAAGGCTGTGATGAAC			
SPA-2	ssaR	F-GTTCCGATTTCATTGCTTCGG	ssaR	1628	Hu ve ark. 2008
		R-TCTCCAGTGACTAACCCTAACCAA			
	sifA	F-ATG CCG ATT ACT ATA GGC AAT GG	sifA	1011	Hu ve ark. 2008
		R-TTA TAA AAA ACA ACA TAA ACA GCCG			
SPV	spvC	F-ACTCCTTGACACAACCAAATGCGGA	spvC	571*	Chiu ve ark. 2006
		R-TGTCTCTGCATTTCGCCACCATCA			
	pefA	F-GCGCCGCTCAGCCGAACCAG	pefA	157	Skyberg ve ark. 2006
		R-GCAGCAGAAGCCCAGGAAACAGTG			

*Yapılan *in-silico* analiz sonucunda spvC ve pefA primerlerinin 571 ve 376 bp'lik gen bölgelerini çoğalttığı tespit edildi.

Çizelge 2.3. Primerlerin farklı bağlanma sıcaklıkları.

Primer	sipA	sipD	sopD	ssaR	sopB	spvC	sopE	sopE2	sifA	sitC
°C	61	54	61	54	61	51	65	54	61	61

PCR karışımından her bir tüpe 23 µl dağıtıldı ve her birine 2 µl örnek DNA eklendi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Dalı'na ait suş koleksiyonundan alınan standart *S. Enteritidis* (*spvC* için), *S. Typhimurium* (*pefA* için) ve Refik Saydam Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonu'ndan alınan *S. Infantis* suşu (diğer genler için) pozitif kontrol olarak tüm testlerde kullanıldı. Negatif kontrol olarak da aynı miktarda nuclease free water kullanılarak önceden programlanan thermal cycler cihazına yerleştirildi. Amplifikasyon koşulları; 94°C'de 3 dk ön denatürasyonu takip eden 30 siklus, 94°C'de 1 dk denatürasyon, 54°C'de (Çizelge 2.3) 1 dk bağlanma, 72°C'de 1 dk uzama ve 72°C'de 7 dk son uzama aşaması olarak uygulandı.

pefA geni ile yapılan PCR denemelerinde kullanılan primer çiftinin birden fazla sayıda gen bölgesini çoğalttığı tespit edildi. Yapılan literatür taramasına göre bu primer çifti farklı PCR karışımı ve amplifikasyon koşullarında denendi. Skyberg ve ark. (2006)'nın yaptığı çalışmada kullanılan amplifikasyon koşulları kullanılarak en ideal elektroforez görüntüsü elde edildi ve bu koşullar çalışma boyunca kullanıldı. Buna göre; 95°C'de 5 dk ön denatürasyonu takip eden 25 siklus, 94°C'de 30 sn denatürasyon, 66,5°C'de 30 sn bağlanma, 72°C'de 2 dk uzama ve 72°C'de 10 dk son uzama aşaması olarak uygulandı.

Elektroforez ve Görüntüleme: Amplifikasyon ürünlerinin her birinden 5 µl alınıp 2 µl 6xLoading Dye solüsyonu ile karıştırılarak, 20 cm'lik % 1,5 agaroz içeren jele yüklendi. Jeldeki birinci göze 5 µl DNA marker konularak 180 voltta 60 dk elektroforez işlemine tabii tutuldu (Sambrook ve Russell, 2002). Biyo-görüntüleme sistemi (Syngene) kullanılarak jeldeki örnekler görüntülendi.

3. BULGULAR

3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

Tez çalışması kapsamında broiler, damızlık, yumurtacı kümeslere ait altlık, toz, çevresel kaynaklar, kemirici istasyonlarından ve kesimhane karkas örneklerinden *Salmonella* spp. izolasyonu ve izole edilen suşların biyokimyasal analiz ve serotiplendirmesi yapıldı. Broiler kümeslere ait 138, yumurtacı kümeslere ait 6, damızlık kümeslere ait 6 suş ile 24 adet hindi izolatu ve 50 adet karkas izolatu olmak üzere toplam 224 adet *S. Infantis* suşu kullanıldı. Ayrıca *S. Infantis* suşları ile karşılaştırma yapmak amacıyla 10'ar adet *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşu kullanıldı. Toplamda 224 adet kanatlı orijinli *S. Infantis* suşu ile 40 adet *S. Infantis* dışındaki diğer yaygın serotiplere ait suşlar olmak üzere 264 adet suşun virulens genleri analiz edildi.

3.2. PCR Bulguları

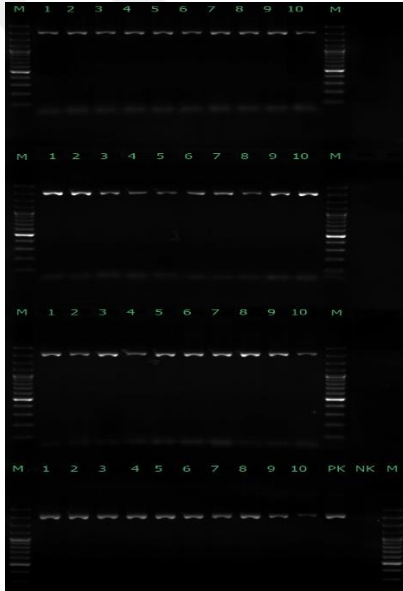
Çalışmada 224 adet *S. Infantis* ve diğer serotiplere ait 40 adet suşta (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky*, *S. Hadar*) *sipA*, *sipD*, *sopD*, *sopB*, *sopE*, *sopE2*, *sitC*, *ssaR*, *sifA*, *spvC* ve *pefA* virulens genlerinin varlığı konvansiyonel PCR yöntemi ile belirlendi.

sipA geni; 224 adet *S. Infantis* suşunun 209'unda (%93,3) pozitif bulunurken incelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky*, *S. Hadar* suşlarının tamamının bu geni taşıdığı tespit edildi. Yetiştirme yönü açısından bakıldığında broiler kümeslere ait 138 adet *S. Infantis* suşunun 125'inde (%90,57), damızlık kümeslere ait 6 adet *S. Infantis* suşunun 6'sında (%100) ve yumurtacı kümeslere ait 6 adet *S. Infantis* suşunun 5'inde (%83,33) *sipA* geni tespit edildi. Karkastan izole edilen 50 adet *S. Infantis* suşunun 49'unda (%98) ve hindiye ait materyallerden izole

edilen 24 adet *S. Infantis* suşunun tamamında (%100) *sipA* geninin pozitif olduğu tespit edildi (Şekil 3.1, Şekil 3.2).



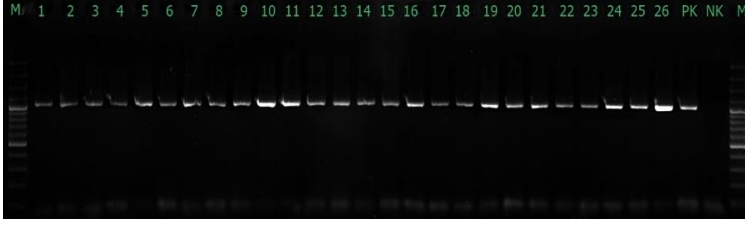
Şekil 3.1. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *sipA* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü



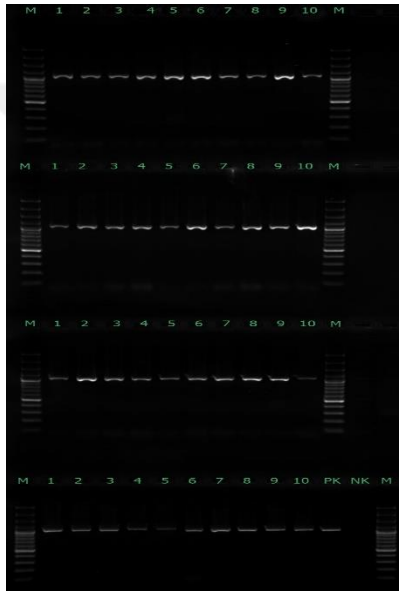
Şekil 3.2. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *sipA* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

sipD geni; *S. Infantis* suşlarının 208'inde (%92,85) pozitif bulunurken, incelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky*, *S. Hadar* suşlarının tamamının bu geni taşıdığı tespit edildi. Broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 125'inde (%90,57), damızlık kümeslere *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100), yumurtacı kümeslere *S. Infantis* suşlarının 5'inde (%83,33) *sipD* geni pozitif olarak tespit edildi. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının 48'inde (%96) ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) *sipD* geninin

pozitif olduğu tespit edildi (Şekil 3.3, Şekil 3.4).



Şekil 3.3. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *sipD* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

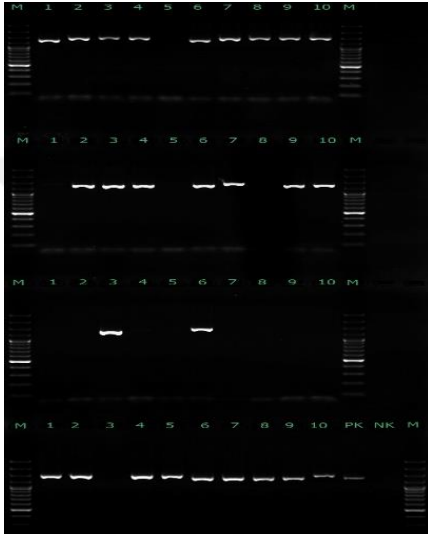


Şekil 3.4. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *sipD* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

sopD geni; analiz edilen *S. Infantis* suşlarının (224 adet) 198'inde (%88,39), 10'ar adet *S. Typhimurium* ile *S. Hadar* suşunun 9'unda (%90), *S. Enteritidis* suşlarının 8'inde (%80) ve *S. Kentucky* suşlarının 4'ünde (%40) pozitif olarak tespit edildi. Yetiştirme yönü açısından bakıldığında broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 125'inde (%90,57), damızlık kümeslere *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) ve yumurtacı kümeslere *S. Infantis* suşlarının 3'ünde (%50) *sopD* geninin olduğu belirlendi. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının 44'ünde (%88) ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının 20'sinde (%83,33) *sopD* geninin pozitif olduğu saptandı (Şekil 3.5, Şekil 3.6).



Şekil 3.5. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *sopD* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

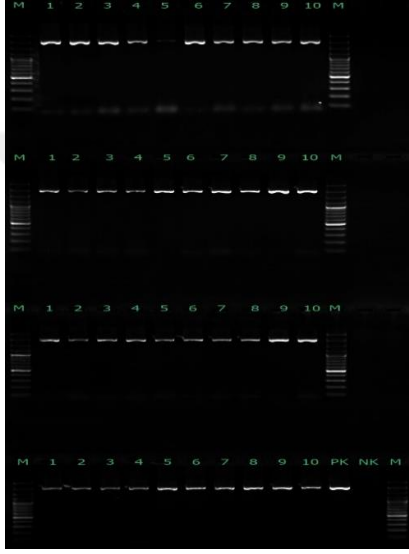


Şekil 3.6. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *sopD* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

sopB geni; *S. Infantis* suşlarının 207'sinde (%92,41) pozitif bulunurken incelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky*, *S. Hadar* suşlarının tamamı bu gen yönünden pozitif bulundu. Broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 125'inde (%90,57), damızlık ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) *sopB* geni pozitif bulundu. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının 46'sının (%92) *sopB* genini taşıdığı tespit edilirken hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) *sopB* geni pozitif bulundu. (Şekil 3.9, Şekil 3.10).

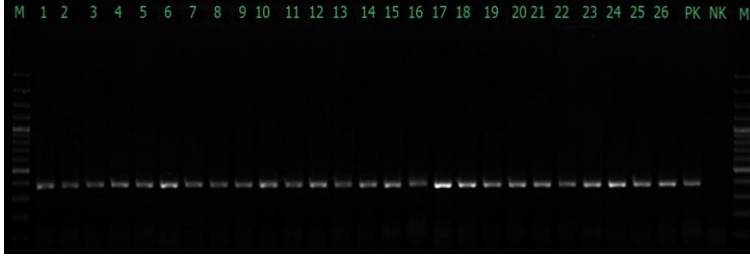


Şekil 3.7. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *sopB* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

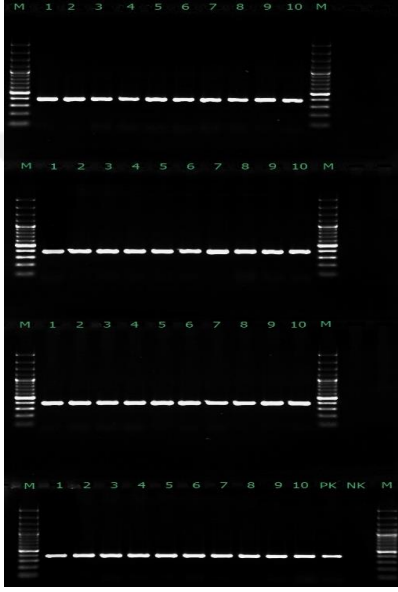


Şekil 3.8. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *sopB* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

sopE geni; *S. Infantis* suşlarının 209'unda (%93,3) pozitif bulunurken incelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky*, *S. Hadar* suşlarının tamamının bu geni taşıdığı tespit edildi. Yetiştirme yönü açısından bakıldığında broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 125'inde (%90,57), damızlık kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 4'ünde (%66,6) *sopE* geni tespit edildi. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşları ile hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) *sopE* geninin pozitif olduğu tespit edildi (Şekil 3.11, Şekil 3.12).



Şekil 3.9. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *sopE* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

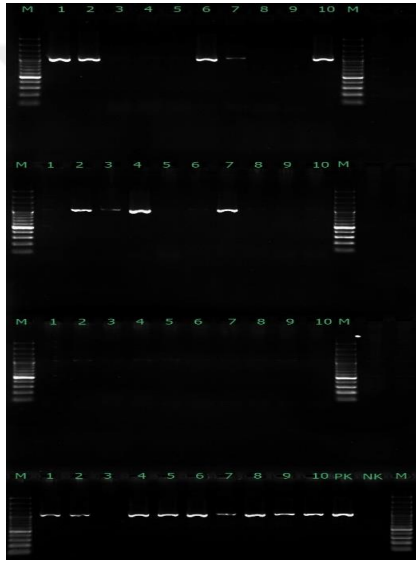


Şekil 3.10. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *sopE* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

sopE2 geni; *S. Infantis* suşlarının 166'sında (%74,1), *S. Typhimurium* suşlarının 5'inde (%50), *S. Enteritidis* suşlarının 7'sinde (%70), *S. Kentucky* suşlarının 4'ünde (%40) ve *S. Hadar* suşlarının 9'unda (%90) tespit edildi. Yetiştirme yönü açısından bakıldığında broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 97'inde (%90,57), damızlık kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 4'ünde (%66,6) *sopE2* geni pozitif olarak bulundu. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının 38'inde (%76) ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşunun 21'inde (%87,5) *sopE2* geninin pozitif olduğu tespit edildi (Şekil 3.13, Şekil 3.14).



Şekil 3.11. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *sopE2* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

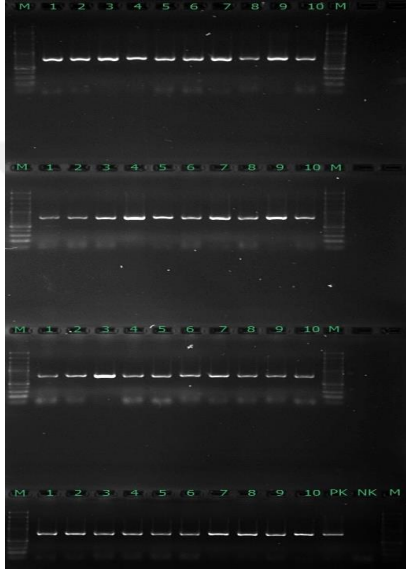


Şekil 3.12. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *sopE2* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

sitC geni, *S. Infantis* suşlarının 206'sında (%91,96) pozitif bulunurken; incelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının tamamının bu geni taşıdığı tespit edildi. Yetiştirme yönü açısından bakıldığında broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 121'inde (%87,68), damızlık kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 5'inde (%83,33) *sitC* geni pozitif bulundu. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşları ile hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamının (%100) *sitC* genini taşıdığı belirlendi (Şekil 3.17, Şekil 3.18).



Şekil 3.13. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *sitC* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

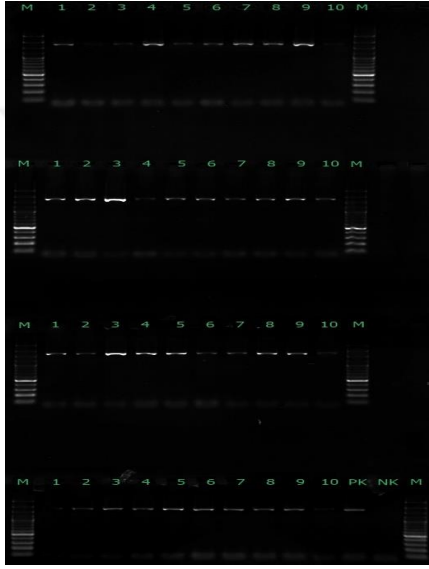


Şekil 3.14. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *sitC* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

ssaR geni; *S. Infantis* suşlarının 209'unda (%93,3) ve incelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ile *S. Hadar* suşlarının tamamında pozitif bulundu. Ayrıca broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 125'i (%90,57), damızlık kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının tamamı (%100) ile yumurtacı kümeslere *S. Infantis* suşlarının 5'i (%83,33) *ssaR* geni yönünden pozitif bulundu. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının 49'u (%98) ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamı (%100) *ssaR* geni yönünden pozitif olarak tespit edildi (Şekil 3.7, Şekil 3.8).



Şekil 3.15. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *ssaR* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

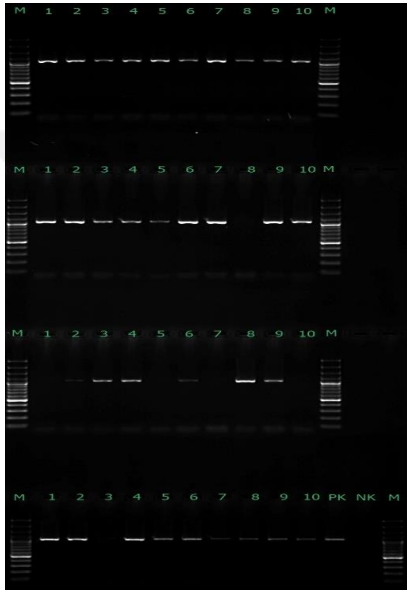


Şekil 3.16. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *ssaR* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

sifA geni; *S. Infantis* suşlarının 203'ünde (%90,62), *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Hadar* suşlarının tamamında (%100) ve *S. Kentucky* suşlarının 6'sında (%60) tespit edildi. Broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 123'ünde (%89,13), damızlık kümeslere *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 3'ünde (%50) *sifA* geni pozitif bulundu. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının 21'inde (%87,5) *sifA* geninin pozitif olduğu tespit edildi (Şekil 3.15, Şekil 3.16).

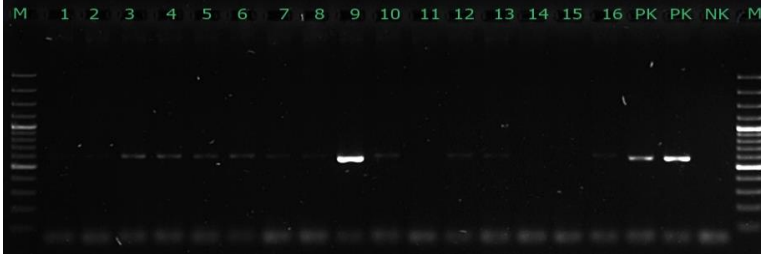


Şekil 3.17. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *sifA* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

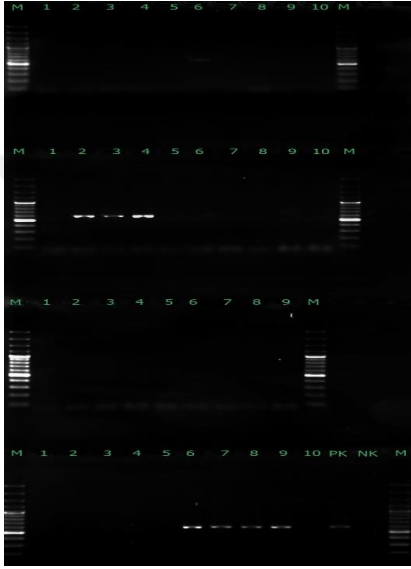


Şekil 3.18. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *sifA* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

spvC geni; *S. Infantis* suşlarının 20'sinde (%8,92), *S. Typhimurium* suşlarının 9'unda (%90), *S. Enteritidis* ve *S. Hadar* suşlarının 4'ünde (%40) pozitif bulundu. İncelenen *S. Kentucky* suşlarının hiçbirinde *spvC* genine rastlanmadı. Yetiştirme yönü açısından bakıldığında broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 2'sinde (%1,44), damızlık kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 3'ünde (%50) *spvC* geni tespit edildi. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının hiçbirinde *spvC* genine rastlanmadı. Hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının 9'unda (%37,5) *spvC* geninin pozitif olduğu tespit edildi (Şekil 3.19, Şekil 3.20).



Şekil 3.19. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *spvC* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

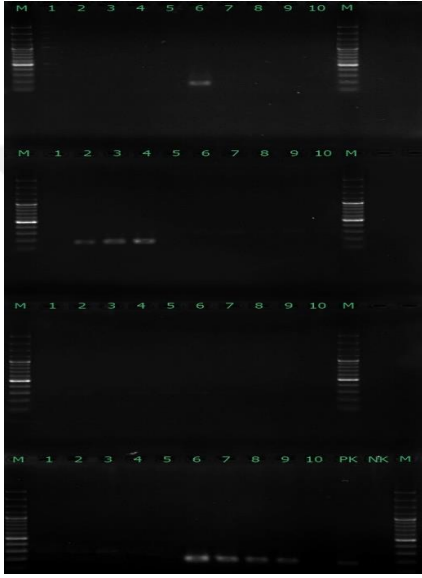


Şekil 3.20. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *spvC* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

pefA geni; *S. Infantis* suşlarının yalnız birinde (%0,44) pozitif olarak tespit edildi. *S. Typhimurium* suşlarının 9'unda (%90), *S. Enteritidis* suşlarının 3'ünde (%30), ve *S. Hadar* suşlarının 4'ünde (%40) pozitif bulundu. İncelenen *S. Kentucky* suşlarının hiçbirinde *pefA* genine rastlanmadı. Broiler ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının hiçbirinde *pefA* geni tespit edilmedi. Yalnızca damızlık kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının bir tanesi (%16,66) *pefA* geni yönünden pozitif bulundu. Karkas ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının hiçbirinde *pefA* genine rastlanmadı (Şekil 3.21, Şekil 3.22).



Şekil 3.21. *S. Infantis* suşlarının taşıdığı *pefA* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü



Şekil 3.22. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının taşıdığı *pefA* genlerine ait PCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü

İncelenen *S. Infantis* suşlarında 11 adet virulens geninin hepsini taşıyan bir adet (%0,44) suş tespit edildi. Bu suş damızlık kümeslere ait materyallerden izole edilmişti. Hiçbir virulens genini taşımayan 13 adet suşun (%5,80) broiler kümeslerine ait olduğu belirlendi. *S. Infantis* dışındaki diğer yaygın serotiplere bakıldığında tüm virulens genlerini taşıyan bir adet (%10) *S. Typhimurium*, üç adet (%30) *S. Enteritidis* ve dört adet (%40) *S. Hadar* suşu olduğu tespit edildi.

İncelenen *S. Infantis* suşlarının 209'unun (%93,3) *sipA*, *ssaR* ve *sopE*, 208'inin (%92,85) *sipD*, 207'sinin (%92,41) *sopB*, 206'sının (%91,96) *sitC*, 203'ünün (%90,62) *sifA*, 198'inin (%88,39) *sopD*, 166'sının *sopE2* (%74,1), 20'sinin (%8,92)

spvC ve *1*'inin (0,44) *pefA* virulens genlerini taşıdığı belirlendi (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Broiler, damızlık, yumurtacı, karkas ve hindi kümeslerinden izole edilen *S. Infantis* suşlarında virulens genlerinin bulunma sıklığı.

Gen	Bulunma Sıklığı (%)					Toplam
	Broiler	Damızlık	Yumurtacı	Karkas	Hindi	
<i>sipA</i>	125 (90,57)	6 (100)	5 (83,33)	49 (98)	24 (100)	209 (93,30)
<i>sipD</i>	125 (90,57)	6 (100)	5 (83,33)	48 (96)	24 (100)	208 (92,85)
<i>sopD</i>	125 (90,57)	6 (100)	3 (50)	44 (88)	20 (83,33)	198 (88,39)
<i>ssaR</i>	125 (90,57)	6 (100)	5 (83,33)	49 (98)	24 (100)	209 (93,30)
<i>sopB</i>	125 (90,57)	6 (100)	6 (100)	46 (92)	24 (100)	207 (92,41)
<i>sopE</i>	125 (90,57)	6 (100)	4 (66,6)	50 (100)	24 (100)	209 (93,30)
<i>sopE2</i>	97 (70,28)	6 (100)	4 (66,6)	38 (76)	21 (87,5)	166 (74,10)
<i>sifA</i>	123 (89,13)	6 (100)	3 (50)	50 (100)	21 (87,5)	203 (90,62)
<i>sitC</i>	121 (87,68)	6 (100)	5 (83,33)	50 (100)	24 (100)	206 (91,96)
<i>spvC</i>	2 (1,44)	6 (100)	3 (50)	0	9 (37,5)	20 (8,82)
<i>pefA</i>	0	1 (16,66)	0	0	0	1 (0,44)

Çizelge 3.2. *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarında virulens genlerinin bulunma sıklığı.

Gen	Bulunma Sıklığı (%)				
	<i>S. Infantis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Kentucky</i>	<i>S. Hadar</i>
<i>sipA</i>	209 (93,3)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)
<i>sipD</i>	208 (92,85)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)
<i>sopD</i>	198 (88,39)	9 (90)	8 (80)	4 (40)	9 (90)
<i>ssaR</i>	209 (93,3)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)
<i>sopB</i>	207 (92,41)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)
<i>sopE</i>	209 (93,3)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)
<i>sopE2</i>	166 (74,1)	5 (50)	7 (70)	4 (40)	9 (90)
<i>sifA</i>	203 (90,62)	10 (100)	10 (100)	6 (60)	10 (100)
<i>sitC</i>	206 (91,96)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)
<i>spvC</i>	20 (8,92)	9 (90)	4 (40)	0 (0)	4 (40)
<i>pefA</i>	1 (0,44)	10 (90)	3 (30)	1 (0)	5 (40)

İncelenen virulens genlerinin varlığına bağlı olarak; *S. Infantis* suşları arasında 19, diğer *Salmonella* serotipleri arasında ise 8 farklı gen paterni olduğu tespit edildi. Diğer *Salmonella* serotiplerinin, *S. Infantis* suşları ile ortak olarak 1, 2, 5, 8, 10 ve 16; farklı olarak ise 20 ve 21 no'lu paternler arasında dağılım gösterdiği belirlendi. *S. Infantis* suşlarında 20 ve 21 no'lu gen paternine sahip suş olmadığı tespit edildi (Çizelge 3.3).

Kanatlı orijinli 264 adet *Salmonella* suşunun toplam 21 adet gen paterni gösterdiği belirlendi. *S. Infantis* suşlarının %74,55'inin (167/224) 1 ve 2 no'lu gen paternlerinde dağılım gösterdiği tespit edildi. Broiler kümesleri ve karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının büyük bir bölümünün bu baskın gen paternlerinde yer aldığı; damızlık ve yumurtacı kümeslerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının hiçbirinin bu paternlerde yer almadığı belirlendi. Bu durum, *S. Infantis*'in broiler kümeslere damızlık kümesler dışındaki başka çevresel faktörler aracılığıyla girdiğini göstermiştir. Broiler, damızlık ve yumurtacı kümeslerden izole edilen *S. Infantis* suşlarından 9'nun, ortak olarak yalnızca gen paterni 5'te yer aldığı belirlendi. Bu durum, az sayıda suşun damızlık kümeslerden broiler kümeslere geçmiş olabileceğini göstermiştir (Çizelge 3.3).

sopE2, *spvC* ve *pefA* genlerini taşımayan ancak diğer genleri taşıyan 27 broiler, 8 karkas ve 3 hindi orijinli olmak üzere toplam 38 *S. Infantis* suşunun (%16,96) 1 no'lu gen paterninde yer aldığı saptandı. Damızlık ve yumurtacı kümeslerde bu gen paternine dahil olan *S. Infantis* suşu olmadığı belirlendi.

spvC ve *pefA* genleri dışında, incelenen tüm virulens genlerini taşıyan 90 broiler, 31 karkas ve 8 hindi orijinli olmak üzere 129 *S. Infantis* suşunun (%57,58) 2 no'lu gen paterninde yer aldığı belirlenirken; damızlık ve yumurtacı kümeslerden 2 no'lu paterne dahil olan *S. Infantis* suşu olmadığı belirlendi. 4 *S. Typhimurium*, 2 *S. Enteritidis*, 2 *S. Kentucky* ve 5 *S. Hadar* suşunun da yalnızca *spvC* ve *pefA* virulens genlerini taşımadığı ve aynı gen paterninde yer aldığı tespit edildi.

pefA virulens geni dışında tüm genleri taşıyan 2 broiler, 5 damızlık, 2 yumurtacı ve 8 hindi orijinli toplam 17 *S. Infantis* suşunun 5 no'lu paternde yer aldığı belirlendi. Karkas izolatlarının ise hiç birinin bu paterne dahil olmadığı tespit edildi.

Broiler kümeslere ait 138 suşun 13'ünün, incelenen 11 virulens geninin hiçbirini taşımadığı ve bu virulens paterninde (7 no'lu patern) damızlık, yumurtacı, karkas ve hindi orijinli *S. Infantis* suşlarının hiçbirinin yer almadığı belirlendi.



Çizelge 3.3. Virulens genlerinin dağılımı (paternler)

Virulens gen kombinasyonu												S. Infantis					Diğer serotipler			
Patern	<i>sipA</i>	<i>sipD</i>	<i>sopD</i>	<i>ssaR</i>	<i>sopB</i>	<i>sopE</i>	<i>sopE2</i>	<i>sifA</i>	<i>sitC</i>	<i>spvC</i>	<i>pefA</i>	Broyler	Damızlık	Yumurtacı	Karkas	Hindi	S. Typhimurium	S. Enteritidis	S. Kentucky	S. Hadar
1	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	27(19,5)	0	0	8(16)	3(12,5)	4(40)	2(20)	0	0
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	90(65,2)	0	0	31(62)	8(33,3)	4(40)	2(20)	2(20)	5(50)
3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	3(2,1)	0	0	0	0	0	0	0	0
4	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	2(1,4)	0	0	0	1(4,1)	0	0	0	0
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	2(1,4)	5(83,3)	2(33,3)	0	8(33,3)	0	1(10)	0	0
6	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	1(0,7)	0	0	0	0	0	0	0	0
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13(34,2)	0	0	0	0	0	0	0	0
8	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	0	0	0	3(6)	0	1(10)	1(10)	1(10)	1(10)
9	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	0	0	0	1(2)	0	0	0	0	0
10	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	0	0	0	2(4)	2(8,3)	0	1(10)	2(20)	0
11	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	0	0	0	4(8)	0	0	0	0	0
12	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	0	0	0	1(2)	0	0	0	0	0
13	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	0	0	0	0	2(8,3)	0	1(10)	0	0
14	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	0	0	0	0	1(4,1)	0	0	0	0
15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	1(16,6)	0	0	0	1(10)	3(30)	0	4(40)
16	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	0	0	1(16,6)	0	0	0	0	0	0
17	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	0	0	1(16,6)	0	0	0	0	0	0
18	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	0	0	1(16,6)	0	0	0	0	0	0
19	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	0	0	1(16,6)	0	0	0	0	0	0
20	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	0	0	0	0	0	0	0	3(30)	0
21	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	0	0	0	0	0	0	0	1(10)	0
Toplam suş sayısı												138	6	6	50	24	10	10	10	10

4. TARTIŞMA

Salmonella 'lar; yüzyılı aşkın bir süredir, hayvanlara ve insanlara bulaşan, gıda kaynaklı bir patojen olarak gösterilmiştir. İnsanlarda gıda kaynaklı infeksiyonlara sebep olmasının yanı sıra tıbbi ve ekonomik, büyük masraflara yol açan önemli bir patojen olarak kabul edilmiştir (Raseta ve ark., 2015). EFSA'nın 2015 ve 2016 yılı raporlarında, önceki yıllardaki raporlara kıyasla, *S. Infantis*'in sebep olduğu insan vaka sayısında azalış tespit edildiği ancak *S. Infantis*'in halen, 4. en yaygın serotip olarak önemini koruduğu bildirilmiştir (Anon, 2016).

Almeida ve ark. (2013), Brezilya'da yaptıkları çalışmada; 35 *S. Infantis* izolatında 11 adet virulens genini araştırmışlardır. Kanatlı izolatlarının tamamında *sipA*, *sipD* ve *sopD* genleri pozitif (%100) bulurken; 35 izolatın, bu 3 virulens geni yönünden pozitifliği %97,1 (34/35) olarak bildirilmiştir. Figueiredo ve ark. (2015), Portekiz'de 106 *Salmonella* spp. suşunda 105 virulens genini araştırmışlardır. Bu suşlardan, 1 kanatlı ve 5 domuz orijinli olmak üzere 6 adet *S. Infantis* suşunda *sipA*, *sipD* ve *sopD* virulens genlerini araştırmışlardır. Kanatlı izolatı bu 3 gen yönünden pozitif (%100) olarak tespit edilirken, domuz izolatlarında *sipA* ve *sipD* pozitifliği %80; *sopD* pozitifliği ise %100 olarak bildirilmiştir.

Bu tez çalışmasında *sipA* geni; *S. Infantis* suşlarının 209'unda (%93,3) pozitif bulundu. Yetiştirme yönü açısından bakıldığında broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 125'inde (%90,57), damızlık kümeslere *S. Infantis* suşlarının 6'sında (%100) ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 5'inde (%83,33) *sipA* geni tespit edildi. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının 49'unda (%98) ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) *sipA* geninin pozitif olduğu belirlendi. İncelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky*, *S. Hadar* suşlarının tamamında (%100) ise *sipA* geni pozitif bulundu.

sipD geni; *S. Infantis* suşlarının 208'inde (%92,85) pozitif bulundu. Broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 125'inde (%90,57), damızlık kümeslere ait *S.*

Infantis suşlarının tamamında (%100), yumurtacı kümeslere ait 6 *S. Infantis* suşlarının 5'inde (%83,33) *sipD* geni pozitif olarak tespit edildi. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının 48'inde (%96) ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) *sipD* geninin pozitif olduğu tespit edildi. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky*, *S. Hadar* suşlarının tamamının (%100) *sipD* genini taşıdığı tespit edildi.

sopD geni; analiz edilen *S. Infantis* suşlarının 198'inde (%88,39) pozitif olarak tespit edildi. Broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 125'inin (%90,57), damızlık kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının tamamının (%100) ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 3'ünün (%50) *sopD* genini taşıdığı belirlendi. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının 44'ünün (%88) ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının 20'sinin (%83,33) *sopD* genini taşıdığı saptandı. *sopD* virulens geni; 10'ar adet *S. Typhimurium* ile *S. Hadar* suşunun 9'unda (%90), 10 *S. Enteritidis* suşunun 8'inde (%80) ve 10 adet *S. Kentucky* suşunun 4'ünde (%40) pozitif olarak tespit edildi.

Tez çalışmasında incelenen kanatlı orijinli *S. Infantis* suşlarındaki *sipA*, *sipD* ve *sopD* genlerinin yüksek pozitifliği, Almeida ve ark. (2013) ile Figueiredo ve ark. (2015)'nin bulgularıyla benzerlik göstermektedir. *Salmonella* adhezyon ve invazyonunda görevli olan en önemli yapılardan olan T3SS-1'den transloke edilen efektör proteinleri kodlayan diğer genler gibi *sipA*, *sipD* ve *sopD* genleri de, konak hücrede 'membran ruffling' oluşumu ve aktin yapısının bozularak bakterinin konak hücreye girişini kolaylaştırmaktadır. Bu üç virulens geni ile ilgili bulgular, bu genlerin *Salmonellosis* virulensinde önemli rol oynadığını bildiren Zhou ve ark. (1999b)'nin bulgularını destekler niteliktedir.

Almeida ve ark. (2013), 35 adet *S. Infantis* izolatında *sopB* ve *sifA* virulens genlerini araştırmışlardır. *S. Infantis* suşlarının tamamı *sopB* ve *sifA* genleri yönünden pozitif (%100) bulunmuştur. Figueiredo ve ark. (2015), 106 adet *Salmonella* spp. suşu içerisinde, 1 kanatlı ve 5 domuz orijinli olmak üzere 6 adet *S. Infantis* suşunun tamamının *sopB* ve *sifA* genlerini taşıdığını (%100) tespit

etmişlerdir. Gole ve ark. (2013) Avustralya’da, 31 yumurtacı kümeden sağlanan 1860 yumurta örneğinden (yumurta kabuğu yüzeyi, yumurta kabuğu ve yumurta içeriği) izole ettikleri 12 adet *S. Infantis* suşunun tamamının (%100) *sifA* ve *sopB* virulens genlerini taşıdığını bildirmişlerdir. Skyberg ve ark. (2006), Amerika’da, 2 adet *S. Infantis* dahil olmak üzere 158 adet *Salmonella* spp. suşunda *sopB* ve *sifA* virulens genlerini araştırmışlardır. Salmonellozis belirtisi gösteren kümeslerden izole ettikleri suşların (78 adet suş) tamamının (%100), *sopB* genini (1 *S. Infantis* suşu dahil) taşıdığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, klinik olarak sağlıklı görünen kümeslerden izole edilen 80 suştan, yalnızca bir suşun *sopB* genini taşımadığı ve bu izolatlarda *sopB* gen pozitifliğinin %98,75 olduğunu bildirmişlerdir. *sifA* gen pozitifliğini, sağlıklı görünen kümeslerde %90, Salmonellozis belirtisi gösteren kümeslerde ise %83,33 olarak belirtmişlerdir.

Krawiec ve ark. (2015), Polonya’da 36 farklı yırtıcı kuş türünden bir adet *S. Infantis* olmak üzere 64 adet *Salmonella* spp. izolasyonu yapmışlardır. Serotiplendirdikleri tüm *Salmonella* suşlarında *sopB* ve *sifA* dahil 17 adet virulens genini araştırmışlar ve *S. Infantis* suşunun *sopB* ve *sifA* genlerini taşıdığını bildirmişlerdir. Huehn ve ark. (2010), 9 Avrupa ülkesinde halk sağlığı ve veteriner enstitülerini de içeren birçok kaynaktan elde edilmiş 523 *Salmonella* spp. suşunda virulens tiplendirmesi yapmışlar ve kanatlı, insan, domuz ve koyun orijinli olan 82 *S. Infantis* suşunun 81’inin (%98,78) *sopB* genini taşıdığını bildirmişlerdir.

sopB geni; tez çalışmasında incelenen *S. Infantis* suşlarının 207’sinde (%92,41) pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu genin broiler kümeslerdeki durumuna bakıldığında, *S. Infantis* suşlarının 125’inde (%90,57), damızlık ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının ise tamamında (%100) *sopB* geni pozitif bulunmuştur. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının 46’sının (%92) *sopB* genini taşıdığı tespit edilirken hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) *sopB* geni pozitif olarak belirlenmiştir. İncelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky*, *S. Hadar* suşlarının ise tamamı (%100) bu gen yönünden pozitif bulunmuştur.

Bu çalışmada araştırılan *sifA* genini, *S. Infantis* suşlarının 203'ünün (%90,62) taşıdığı belirlenmiştir. Broiler kümeslerde *S. Infantis* suşlarının 123'ünün (%89,13), damızlık kümeslerde *S. Infantis* suşlarının tamamının (%100) ve yumurtacı kümeslerde *S. Infantis* suşlarının 3'ünün (%50) *sifA* genini taşıdığı tespit edilmiştir. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamının (%100) ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının 21'inin (%87,5) *sifA* geni yönünden pozitif olduğu belirlenmiştir. İncelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Hadar* suşlarının tamamında (%100) ve *S. Kentucky* suşlarının 6'sında (%60) *sifA* geninin varlığı ortaya konmuştur.

Tez çalışmasında incelenen kanatlı orijinli *S. Infantis* suşlarındaki *sopB* ve *sifA* genlerinin yüksek pozitifliği, Almeida ve ark. (2013), Figueiredo ve ark. (2015), Gole ve ark. (2013), Skyberg ve ark. (2006), Krawiec ve ark. (2015) ve Huehn ve ark. (2010)'nın bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Bakterinin konak hücre içine alınması aşamasında görev alan *sopB* ve SCV ile diğer hücrelerin birleşerek bakteriyel yayılımın sağlanmasında rol oynayan *sifA* efektörleri proteinlerinin, Salmonellozis'te önemli fonksiyonları olan virulens faktörlerinden olduğu bildirilmiştir (Gole ve ark., 2013).

Karasova ve ark. (2009), Çek Cumhuriyeti'nde farklı *Salmonella* serotipleri ile yaptıkları deneysel çalışmada 5 adet *S. Infantis* suşunda *sopE* virulens genini araştırmışlar ve *S. Infantis* suşlarından 4'ünün (%80) *sopE* genini taşıdığını tespit etmişlerdir. Hopkins ve Threlfall (2004), İngiltere ile Galler'deki *S. enterica* 'ya ait en yaygın 10 alt türde *sopE* gen sıklığı ve polimorfizmini araştırmışlar ve insan orijinli bir *S. Infantis* suşunun (%100) *sopE* genini taşıdığını bildirmişlerdir.

sopE geni; bu çalışmada incelenen *S. Infantis* suşlarının 209'unda (%93,3) pozitif tespit edilmiştir. Yetiştirme yönü açısından bakıldığında broiler kümeslerde, *S. Infantis* suşlarının 125'inin (%90,57), damızlık kümeslerde, *S. Infantis* suşlarının tamamının (%100) ve yumurtacı kümeslerde *S. Infantis* suşlarının 4'ünün (%66,6) *sopE* genini taşıdığı belirlenmiştir. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşları ile hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) *sopE*

geninin pozitif olduğu tespit edilmiştir. İncelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky*, *S. Hadar* suşlarının tamamının (%100) bu geni taşıdığı saptanmıştır.

Çalışmamızda incelenen kanatlı orijinli *S. Infantis* suşlarındaki *sopE* geninin yüksek pozitifliği, Karasova ve ark. (2009) ile Hopkins ve Threlfall (2004)'ın yaptığı çalışmalarda elde ettikleri yüksek pozitiflik değerleriyle benzerlik göstermektedir. Hopkins ve Threlfall (2004), *sopE* 'nin aktin hücre yapısında değişikliklere yol açarak konak hücreye invazyonda gerekli bir protein olmasının yanı sıra *sopE* genini taşıyan bakteriyofajın lizojenisi yoluyla elde edilen *sopE* geninin; yeni epidemik suşların ortaya çıkışında ve *sopE* geni taşıyan suşların epidemik başarısına katkıda bulunabileceğinden, bu yönüyle önemli bir faktör olabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada, karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarındaki %100 *sopE* gen pozitifliği, insan sağlığı açısından önemli bulunmuştur.

Hur ve ark. (2011), Kore'de 42 *S. Typhimurium* suşundan *sopE2* dahil olmak üzere 9 virulens genini araştırılmıştır. 42 izolatin 41'inde (%97,61) *sopE2* geni pozitif bulunmuştur. Ioannidis ve ark. (2013), Yunanistan'da gastroenteritli çocuk hastalardan izole edilen 144 adet *S. Enteritidis* suşunun 136'sının (%94,44) ve 27 adet *S. Typhimurium* suşunun 4'ünün (%14,81) *sopE2* geni yönünden pozitif olduğu bildirmişlerdir.

sopE2 geni; bu çalışmada *S. Infantis* suşlarının 166'sında (%74,1) pozitif bulunmuştur. Broiler kümeslerinde, *S. Infantis* suşlarının 97'sinin (%90,57), damızlık kümeslerinde *S. Infantis* suşlarının tamamının (%100) ve yumurtacı kümeslerde *S. Infantis* suşlarının 4'ünün (%66,6) *sopE2* genini taşıdığı tespit edilmiştir. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının 38'inde (%76) ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının 21'inde (%87,5) *sopE2* geninin pozitif olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda incelenen *S. Typhimurium* suşlarının 5'inin (%50), *S. Enteritidis* suşlarının 7'sinin (%70), *S. Kentucky* suşlarının 4'ünün (%40) ve *S. Hadar* suşlarının 9'unun (%90) *sopE2* geni taşıdığı tespit edilmiştir.

sopE2; T3SS-1'den transloke edilen birçok efektör proteinde olduğu gibi, bağırsak epitel hücrelerinde salgısal yanıtı uyararak bağırsak lumeninde sıvı toplanması ve bölgeye nötrofil göçünü başlatarak enterit fenotipine katkıda bulunmaktadır (Raffatellu ve ark., 2005). Yapılan literatür taramasında *S. Infantis* suşlarında *sopE2* geninin araştırıldığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu açıdan çalışmamız ilk olma özelliği taşımaktadır. Ayrıca *sopE2* virulens geninin %74,1 pozitiflik oranı ve insan sağlığı açısından önemli olan *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* serotiplerinde yüksek düzeyde bulunması (%50-70), insanlar için potansiyel bir virulens faktörü olarak değerlendirilebilir.

Gole ve ark. (2013), 12 adet *S. Infantis* suşunda *sitC* virulens geninin varlığını araştırmışlar ve 12 suşun tamamının (%100) *sitC* genini taşıdığını tespit etmişlerdir. Skyberg ve ark. (2006), 2 adet *S. Infantis* suşunda *sitC* geninin pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Krawiec ve ark., (2015), bir *S. Infantis* suşunun *sitC* genini taşıdığını bildirmişlerdir.

sitC geni, bu çalışmada incelediğimiz *S. Infantis* suşlarının 206'sında (%91,96) pozitif bulunmuştur. Yetiştirme yönü açısından bakıldığında broiler kümeslerde, *S. Infantis* suşlarının 121'inde (%87,68), damızlık kümeslerde *S. Infantis* suşlarının tamamında (%100) ve yumurtacı kümeslerde *S. Infantis* suşlarının 5'inde (%83,33) *sitC* geni pozitif olarak tespit edilmiştir. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşları ile hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamının (%100) *sitC* genini taşıdığı belirlenmiştir. İncelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının tamamının (%100) bu geni taşıdığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda incelenen kanatlı orijinli *S. Infantis* suşlarındaki *sitC* geninin yüksek pozitifliği, Gole ve ark., (2013), Skyberg ve ark., (2006), Krawiec ve ark., (2015)'nin yaptığı çalışmalarda elde ettikleri yüksek pozitiflik değerleriyle benzerlik göstermektedir. Zhou ve ark. (1999a), SPA-1'de yer alan *sitABCD* operonundan eksprese edilen *sitC* geninin; demirin yetersiz olduğu çevresel koşullarda bakterinin hayatta kalması ve çoğalması için gerekli olan demir ihtiyacını, bu efektör protein sayesinde karşıladığını bildirmişlerdir. *S. Infantis* suşlarındaki *sitC* geni yüksek

pozitiflik oranı, Zhou ve ark. (1999a)'nın *sitC*'nin önemli bir virulens faktörü olduğu bulgusunu destekler niteliktedir.

Almeida ve ark. (2013), Brezilya'da 35 adet *S. Infantis* suşunda *ssaR* virulens genini araştırmışlardır. 3 kanatlı orijinli *S. Infantis* suşunun üçünün de (%100) *ssaR* genini taşıdığını; 35 izolattan ise 33'ünün (%94,28), bu gen yönünden pozitif olduğunu tespit etmişlerdir.

ssaR geni; çalışmada incelenen *S. Infantis* suşlarının 209'unda (%93,3) tespit edildi. Ayrıca broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 125'i (%90,57), damızlık kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının tamamı (%100) ile yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 5'i (%83,33) *ssaR* geni yönünden pozitif bulundu. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının 49'u (%98) ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının tamamı (%100) *ssaR* geni yönünden pozitif olarak tespit edildi. *ssaR* geni; incelenen *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ile *S. Hadar* suşlarının tamamında (%100) pozitif bulundu.

Tez çalışmasında incelenen kanatlı orijinli *S. Infantis* suşlarındaki *ssaR* geninin yüksek pozitifliği, Almeida ve ark. (2013)'nın bulgularıyla benzerlik göstermektedir. *ssaR* geni tarafından kodlanan *ssaR* efektör proteini, T3SS-2'nin oluşumunda yer alan, temel yapısal proteindir. Çoğunlukla bakteri internalizasyonu, hücre içi çoğalma ve hayatta kalma gibi bakterinin invazyon sürecinde yer alacak olan efektör proteinler T3SS-2 aracılığıyla konak hücreye transloke olmaktadır (Hu ve ark., 2008). Bu açıdan *ssaR* geninin, *Salmonella* infeksiyonlarının patogeneğinde önemli bir yere sahip olduğu bulgusu kuvvetlendirilmiştir.

Figueiredo ve ark. (2015); kanatlı, domuz, sığır ve işlenmiş etlerden izole edilen bir kanatlı ve beş domuz orijinli olmak üzere 6 adet *S. Infantis* suşunun *spvC* genini taşımadığını tespit etmişlerdir. Huehn ve ark. (2010); kanatlı, insan, domuz ve koyun orijinli olan 82 adet *S. Infantis* suşunun hiçbirinin *spvC* genini taşımadığını bildirmişlerdir. Krzyzanowski ve ark. (2014), 54 lağım suyu örneğinden 6'sı *S. Infantis* olmak üzere 35 adet *Salmonella* spp. suşunda *spvC* virulens genini

araştırmışlar ve *S. Infantis* suşlarının hiçbirinin bu geni taşımadığını tespit etmişlerdir.

spvC geni; çalışmada incelenen *S. Infantis* suşlarının 20'sinde (%8,92) pozitif olarak tespit edilmiştir. Yetiştirme yönü açısından bakıldığında broiler kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 2'sinin (%1,44), damızlık kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının tamamının (%100) ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının 3'ünün (%50) *spvC* geni taşıdığı tespit edildi. Karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının hiçbirinde *spvC* genine rastlanmadı. Hindiyeye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının 9'unda (%37,5) *spvC* geninin pozitif olduğu belirlendi. İncelenen *S. Typhimurium* suşlarının 9'unda (%90), *S. Enteritidis* ve *S. Hadar* suşlarının 4'ünde (%40) *spvC* geni pozitif bulundu. *S. Kentucky* suşlarının hiçbirinde *spvC* genine rastlanmadı.

Spv genleri, *Salmonella* serotiplerinin retikulo-endotelial sistemde çoğalma ve sistemik infeksiyon oluşturmada rol oynayan önemli virulens faktörleri arasında değerlendirilmektedir (Figueiredo ve ark., 2015). Krzyzanowski ve ark. (2014), Huehn ve ark. (2010) ve Figueiredo ve ark. (2015)'nin yaptıkları çalışmalarda aldıkları sonuçlar ile bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar kıyaslandığında, *spvC* geni yönünden farklılık olduğu görülmüştür. *spvC* geni, çalışmada incelenen *S. Infantis* suşlarında, düşük oranda da olsa, pozitif bulunmuştur. Bu farklılığın, diğer çalışmalara kıyasla daha fazla örnekle çalışılmış olmasının yanı sıra virulens plazmidlerinin serotip spesifik olmasından da kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Skyberg ve ark. (2006), *Salmonella* serotiplerinde *pefA* virulens gen pozitifliğini; salmonellozis belirtisi gösteren kümeslerde %10,26 ve sağlıklı görünen kümeslerde %3,75 olarak bildirmişlerdir. Krawiec ve ark. (2015), yırtıcı kuşlardan izole ettikleri bir adet *S. Infantis* suşunun *pefA* virulens genini taşımadığını bildirmişlerdir. Figueiredo ve ark. (2015); kanatlı, domuz, sığır ve işlenmiş etlerden izole edilen 6 adet *S. Infantis* suşunun *pefA* virulen genini taşımadığını tespit etmişlerdir.

pefA geni; bu çalışmada incelenen *S. Infantis* suşlarının yalnızca birinde (%0,44) pozitif olarak tespit edildi. Broiler ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının hiçbirinde *pefA* geni tespit edilemedi. Yalnızca damızlık kümeslere ait *S. Infantis* suşlarının bir tanesi (%16,66) *pefA* geni yönünden pozitif bulundu. Karkas ve hindiye ait materyallerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının hiçbirinde *pefA* genine rastlanmadı. *S. Typhimurium* suşlarının 9'unda (%90), *S. Enteritidis* suşlarının 3'ünde (%30), ve *S. Hadar* suşlarının 4'ünde (%40) pozitif bulundu. İncelenen *S. Kentucky* suşlarının hiçbirinde *pefA* genine rastlanmadı.

İnvazyonun başlangıç basamağı olan konak hücreye tutunma aşamasında adhezinler çok büyük önem taşımaktadır. *pefA* tarafından kodlanan fimbria da bu aşamada yer alan önemli bir virulens faktörüdür (Figueiredo ve ark., 2015). Tez çalışmamızdaki *pefA* geni araştırması sonuçlarımıza göre, *S. Infantis* suşlarında çok düşük oranda da olsa *pefA* pozitifliği bulunması, konuyla ilgili yukarıda özetlenen çalışmalardan farklı bir durum ortaya koymaktadır. *pefA*, *spvC* gibi plazmid üzerinde taşınan genlerdir ve virulens plazmidlerinin serotip spesifik olduğu bilinmektedir (Skyberg ve ark. 2006). Kromozomal genlerle kıyaslandığında plazmid aracılı genlerin düşük pozitifliğinin bundan kaynaklanabileceği düşünüldü.

Huehn ve ark. (2010); *sopE*, *spvC* ya da *pefA* gibi faj ya da plazmid bağlantılı virulens genlerinin, bu genleri taşımayan serotip ya da suşlar tarafından kazanılmasının, *Salmonella*'nın farklı çevresel koşullara adapte olmasını ve serotipe özgü ekolojiye sahip yerlerde yeni nişlerin ele geçirilmesini sağlayabileceğini bildirmişlerdir.

Sunulan tez çalışmasında, *S. Infantis* suşlarının %74,55'inin (167/224) pattern 1 ve 2 de bulunduğu belirlendi. Broiler kümeslerinden izole edilen *S. Infantis* suşlarının %84,78'nin (117/138) ve karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının da %78'nin (39/50) aynı paternlerde yer aldığı görüldü. Bu durum, broiler kümeslerden ve karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının büyük bir benzerlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Broiler kümeslerinden izole edilen suşların büyük kısmının yer aldığı baskın gen paternlerinde, damızlık kümeslerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının yer

almaması, *S. Infantis*'in broiler kümeslere damızlık kümesler dışındaki başka kaynaklardan bulaştığını göstermektedir. Broiler, damızlık ve yumurtacı kümeslerden izole edilen *S. Infantis* suşlarından 9'nun, ortak olarak yalnızca gen paterni 5'te yer aldığı belirlendi. Bu durum, az sayıda suşun damızlık kümeslerden broiler kümeslere bulaştığını ortaya koymaktadır.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, Türkiye’de kanatlılardan yaygın olarak izole edilen *S. Infantis* suşlarının virulens genlerinin varlığı araştırıldı. Ayrıca *S. Infantis* ile *S. Infantis* dışındaki diğer yaygın serotiplerin sahip olduğu virulens genlerinin de karşılaştırması yapıldı.

Çalışmada araştırılan virulens genleri analiz edildiğinde, *S. Infantis*’in moleküler epidemiyolojisi açısından önemli veriler edildi. Bu çalışmada *sopE2* virulens geni, *S. Infantis* suşlarında ilk kez araştırıldı.

S. Typhimurium ve *S. Enteritidis* suşlarıyla karşılaştırıldığında, *S. Infantis* suşlarındaki *sipA*, *sipD*, *sopD*, *ssaR*, *sopB*, *sopE*, *sifA* ve *sitC* genlerinin varlığı benzer bulunurken; *sopE2*, *spvC* ve *pefA* gen varlığında önemli farklılıklar tespit edildi. *sopE2* geni *S. Infantis* suşlarında %74,1 oranında pozitif olarak belirlenirken *S. Typhimurium* suşlarında gen pozitifliği %50 olarak belirlendi. *spvC* ve *pefA* geni *S. Infantis* suşlarının %8,92 ve %0,44’ünde pozitif iken; *S. Typhimurium* suşlarındaki pozitiflik oranı sırasıyla, %90 ve %90; *S. Enteritidis* suşlarında ise %40 ve %30 olarak belirlendi.

S. Infantis suşlarının %74,55’inin baskın gen paternlerinde (patern 1 ve 2) yer aldığı; damızlık ve yumurtacı kümeslerden izole edilen *S. Infantis* suşlarının ise hiçbirinin bu paternlerde yer almadığı belirlendi. Bu durum, *S. Infantis*’in broiler kümeslere damızlık kümesler dışındaki başka çevresel faktörlerle girdiğini gösterdi. Broiler, damızlık ve yumurtacı kümeslerden izole edilen *S. Infantis* suşlarından 9’nun, ortak olarak yalnızca gen paterni 5’te yer alması, az sayıda suşun damızlık kümeslerden broiler kümeslere bulaşmış olabileceğini gösterdi.

İnsan sağlığı açısından önemli olduğu bilinen *sopE* geninin, karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarındaki %100 pozitifliği, halk sağlığı açısından önemli bulundu. Ayrıca *sopE2* virulens geninin %74,1 pozitiflik oranı ve insan sağlığı

açısından önemli olan *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* serotiplerinde yüksek düzeyde bulunması (%50-70), insanlar için potansiyel bir virulens faktörü olarak değerlendirilebilir.

Kanatlı hayvanlarda Salmonellozis patogenezinin virulens genleri ile olan ilişkisinin daha detaylı şekilde ortaya konması, hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı açısından önem arz etmektedir.

Gıda kaynaklı infeksiyonların azaltılmasında, kontrol işlemlerinin, üretim aşamasından başlatılması gerekmektedir. Bu sebeple kanatlı hayvanların sindirim sistemine yerleşen *S. Infantis* suşlarının özellikle de baskın gen paternlerinde yer alan suşların; kanatlı kümeslerine girişinin önlenmesi, üretim aşamasında, kontrol için bir gerekliliktir.

İnsanlardan izole edilen *S. Infantis* suşlarında virulens gen varlığı araştırılarak, kanatlı orijinli *S. Infantis* izolatlarının, insan sağlığı açısından potansiyeli ortaya konmalıdır.

Son yıllarda insan Salmonellozis'ine sebep olan *Salmonella* serotipleri arasında *S. Infantis* sıklığının artışının sebepleri araştırılarak, detaylı bir şekilde ortaya konmalıdır.

ÖZET

Kanatlı Orijinli *Salmonella* Infantis Suşlarında Virulens Genlerinin Moleküler Analizi

Bu tez çalışmasında, Türkiye’de kanatlılardan yaygın olarak izole edilen *S. Infantis* suşlarının virulens genlerinin varlığı araştırıldı. Ayrıca *S. Infantis* ile *S. Infantis* dışındaki diğer yaygın serotiplerin sahip olduğu virulens genlerinin de karşılaştırması yapıldı.

Çalışmada, farklı yetiştirme tipine sahip kümeslerin (broiler, damızlık, yumurtacı) altlık, toz, çevresel ve kemirici örnekleri ile kesimhane karkas örneklerinden izole edilen 200 adet *S. Infantis* suşu ile hindi kümeslerinden gönderilen altlık, toz, çevresel ve kemirici örneklerinden izole ve identifiye edilen 24 adet *S. Infantis* suşu incelendi. Ayrıca, *S. Infantis* suşlarıyla karşılaştırma yapmak amacıyla, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* ve *S. Hadar* suşlarının (kanatlı orijinli) her birinden 10’ar adet suş kültür koleksiyonundan temin edildi. Kanatlı orijinli 224 adet *S. Infantis* suşu ile *S. Infantis* dışındaki diğer yaygın serotiplerden 40 adet olmak üzere toplam 264 suшта virulens genleri araştırıldı.

sipA, *sipD*, *sopD*, *sopB*, *sopE*, *sopE2*, *sitC*, *ssaR*, *sifA*, *spvC* ve *pefA* olmak üzere 11 adet virulens geni, 264 adet *S. Infantis* suşunda, konvansiyonel PCR yöntemi ile araştırıldı.

İncelenen *S. Infantis* suşlarının 209’unun (%93,3) *sipA*, *ssaR* ve *sopE*, 208’inin (%92,85) *sipD*, 207’sinin (%92,41) *sopB*, 206’sının (%91,96) *sitC*, 203’ünün (%90,62) *sifA*, 198’inin (%88,39) *sopD*, 166’sının *sopE2* (%74,1), 20’sinin (%8,92) *spvC* ve 1’inin (0,44) *pefA* virulens genlerini taşıdığı belirlendi. *S. Infantis* suşlarının %74.55’inin 1 ve 2 no’lu gen paternlerinde dağılım gösterdiği tespit edildi.

Bu çalışmada *sopE2* virulens geni, *S. Infantis* suşlarında ilk kez araştırıldı. Broiler kümesleri ve karkastan izole edilen *S. Infantis* suşlarının baskın gen paternlerinde yer alması, damızlık ve yumurtacı kümeslere ait *S. Infantis* suşlarından hiçbirinin bu paternlerde yer almaması; *S. Infantis*'in broiler kümeslere damızlık kümesler dışındaki başka çevresel faktörler aracılığıyla girdiğini gösterdi. *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* suşlarıyla karşılaştırıldığında, *S. Infantis* suşlarındaki *sipA*, *sipD*, *sopD*, *ssaR*, *sopB*, *sopE*, *sifA* ve *sitC* genlerinin varlığı benzer bulunurken; *sopE2*, *spvC* ve *pefA* gen varlığında önemli farklılıklar tespit edildi.

S. Infantis suşlarında virulensle ilişkili genlerin araştırıldığı bu çalışma; tavuklarda Salmonellozis patogenezi üzerine yapılacak araştırmalara detaylı epidemiyolojik veri sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: *S. Infantis*, virulens, patogenez.

SUMMARY

Molecular Analysis of Virulence Genes of *Salmonella* Infantis Isolated from Poultry

In this thesis study, virulence genes of *S. Infantis* strains, which are commonly isolated from poultry in Turkey, were analyzed. In addition to this, virulence genes of *S. Infantis* and other common serotypes except to *S. Infantis* were compared.

In this study, 200 *S. Infantis* strains isolated from litter, powder, environmental, rodent samples and carcasses in poultry slaughterhouse obtained from poultry (broiler, breeder, laying) and 24 *S. Infantis* strains isolated and identified from litter, powder, environmental and rodent samples obtained from turkey were analyzed. 10 strains of *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Kentucky* and *S. Hadar* strains (poultry origin) were also selected from the collection of strains in order to compare with *S. Infantis* strains. Virulence genes of 264 strains which consist of 224 *S. Infantis* strains and 40 strains from the other common serotypes except to *S. Infantis* were analyzed. 11 genes associated with the virulence (*sipA*, *sipD*, *sopD*, *sopB*, *sopE*, *sopE2*, *sitC*, *ssaR*, *sifA*, *spvC* ve *pefA*) were analyzed by conventional PCR in these strains.

It was determined that in the 209 of *S. Infantis* strains (%93,3) were found *sipA*, *ssaR* and *sopE*, 208 of (%92,85) *sipD*, 207 of (%92,41) *sopB*, 206 of (%91,96) *sitC*, 203 of (%90,62) *sifA*, 198 of (%88,39) *sopD*, 166 of (%74,1) *sopE2*, 20 of (%8,92) *spvC* and 1 of (%0,44) *pefA* virulence genes. It was found that 74.55% of *S. Infantis* strains were distributed in gene patterns 1 and 2. In this study, *sopE2* virulens gene in *S. Infantis* strains was investigated the first time. Involvement of dominant gene patterns of *S. Infantis* strains isolated from broiler and carcass and none of *S. Infantis* strains belonging to breeder and laying hens are included in these patterns indicated that *S. Infantis* entered to broiler through other environmental factors except to the breeder. The presence of *sipA*, *sipD*, *sopD*, *ssaR*, *sopB*, *sopE*, *sifA* and *sitC* virulence

genes in *S. Infantis* strains were found to be similar, but significant differences were found compared with *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* strains in the presence of *sopE2*, *spvC* and *pefA* virulence genes.

This study which examined virulence genes of *S. Infantis* strains indicates detailed epidemiological data on studies on salmonellosis pathogenesis in chickens.

Key words: *S. Infantis*, virulence, pathogenesis.



KAYNAKLAR

- AKAN M (2008). Kanatlılarda *Salmonella* infeksiyonları ve kontrolünde temel prensipler. *Mektup Ankara*, **6**: 3-5.
- ALMEIDA F., PITONDO-SILVA A., OLIVEIRA MA., FALCAO JP (2013). Molecular epidemiology and virulence markers of *Salmonella* Infantis isolated over 25 years in Sao Paulo State, Brazil. *Infect, Genet Evol*, **19**: 145-151.
- ANON (2016). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2015. *Efsa Journal*, **14**: 4634.
- ASHIDA H., OGAWA M., KIM M., MIMURO H., SASAKAWA C (2012). Bacteria and host interactions in the gut epithelial barrier. *Nat Chem Biol*, **8**: 36-45.
- BARROW PA., JONES MA., THOMSON N (2010). *Salmonella*. Pathogenesis of bacterial infections in animals. Ed: Gyles C. L., Presscott J. F., Songer G., Thoen C. O. Iowa. Usa. Pp: 231-265.
- BASSAL R., REISFELD A., ANDORN N., YISHAI R., NISSAN I., AGMON V., PELED N., BLOCK C., KELLER N., KENES Y., TARAN D., SCHEMBERG B., KENDROR S., ROUACH T., CITRON B., BERMAN E., GREEN M. S., SHOHAT T., COHEN D (2012). Recent trends in the epidemiology of non-typhoidal *Salmonella* in Israel. *Epidemiol infect*, **140**: 1446-1453.
- BÄUMLER AJ., TSOLIS RM., HEFFRON F (1997). Fimbrial adhesins of *Salmonella typhimurium*. In *Mechanisms in the pathogenesis of enteric diseases*. Pp: 149-158, Springer US.
- BHUNIA AK (2008). *Salmonella enterica*. Foodborne microbial pathogens, mechanisms and pathogenesis. New York. Usa.
- BUENO SM., RIQUELME S., RIEDEL CA., KALERGIS AM (2012). Mechanisms used by virulent *Salmonella* to impair dendritic cell function and evade adaptive immunity. *Immunology*, **137**: 28-36.
- CHIU CH., SU LH., CHU CH., WANG MH., YEH CM., WEILL FX., CHU C (2006). Detection of multidrug-resistant *Salmonella* enterica serovar Typhimurium phage types DT102, DT104, and U302 by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol*, **44**: 2354-2358.
- DİKER KS (2005). Bakterilere karşı bağışıklık. In: İmmunoloji. Ankara, **s**: 187-199.
- ERHARDT M., DERSCH P (2015). Regulatory principles governing *Salmonella* and *Yersinia* virulence. *Front Microbiol*, **6**: 949.

- FEARNLEY E., RAUPACH J., LAGALA F., CAMERON S (2011). *Salmonella* in chicken meat, eggs and humans; Adelaide, South Australia, 2008. *Int J Food Microbiol*, **146**: 219-227.
- FIERER J., GUINEY DG (2001). Diverse virulence traits underlying different clinical outcomes of *Salmonella* infection. *J. Clin. Invest*, **107**: 775-780.
- FIGUEIREDO R., CARD R., NUNES C., ABUOUN M., BAGNALL MC., NUNEZ J., MENDONCA N., ANJUM MF., DA SILVA GJ (2015). Virulence characterization of *Salmonella enterica* by a new microarray: detection and evaluation of the cytolethal distending toxin gene activity in the unusual host *S. Typhimurium*. *PloS one*, **10**: e0135010.
- FIGUEIRA R., HOLDEN DW (2012). Functions of the *Salmonella* pathogenicity island 2 (Sp1-2) Type III secretion system effectors. *Microbiology*, **158**: 1147–1161.
- FOLEY SL., JOHNSON TJ., RICKE SC., NAYAK R., DANZEISEN J (2013). *Salmonella* pathogenicity and host adaptation in chicken-associated serovars. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*, **77**: 582-607.
- FOSTER JW (1991). *Salmonella* acid shock proteins are required for the adaptive acid tolerance response. *J. Bacteriol*, **173**: 6896-6902.
- GERLACH RG., HENSEL M (2007). *Salmonella* pathogenicity islands in host specificity, host pathogen-interactions and antibiotics resistance of *Salmonella enterica*. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, **120**: 317-27.
- GOLE VC., CHOUSALKAR KK., ROBERTS JR (2013). Survey of *Enterobacteriaceae* contamination of table eggs collected from layer flocks in Australia. *Int J Food Microbiol*, **164**: 161-165.
- GUIBOURDENCHE M., ROGGENTIN P., MIKOLEIT M., FIELDS PI., BOCKEMUHL J., GRIMONT PA., WEILL FX (2010). Supplement 2003–2007 (No. 47) to the white-Kauffmann-Le minor scheme, *Res Microbio*, **161**: 26-29.
- GYLES C., BOERLIN P (2014). Horizontally transferred genetic elements and their role in pathogenesis of bacterial disease. *Vet. Pathol*, **51**: 328-340.
- HANES D (2003). Foodborne bacteria: established bacterial pathogens, nontyphoid *Salmonella*. Chapter 5. In: International handbook of foodborne pathogens. Ed: Miliotis M. D., Bier J. W. New York. USA.
- HANSEN-WESTER I., HENSEL M (2001). *Salmonella* pathogenicity islands encoding type III secretion systems, *Microbes Infect*, **3**: 549-559.
- HAUSER E., TIETZE E., HELMUTH R., JUNKER E., PRAGER R., SCHROETER A., RABSCH W., FRUTH A., TOBOLDT A., MALORNY B (2012). Clonal

- dissemination of *Salmonella enterica* serovar Infantis in Germany. *Foodborne Pathog Dis*, **9**: 352-360.
- HENSEL M. (2004). Evolution of pathogenicity islands of *Salmonella enterica*. *Int. J. Med. Microbiol*, **294**: 95-102.
- HOPKINS KL., THRELFALL EJ (2004). Frequency and polymorphism of *sopE* in isolates of *Salmonella enterica* belonging to the ten most prevalent serotypes in England and Wales. *J. Med. Microbio*, **53**: 539-543.
- HU Q., COBURN B., DENG W., LI Y., SHI X., LAN Q., WANG B., COOMBES BK., FINLAY BB (2008). *Salmonella enterica* serovar Senftenberg human clinical isolates lacking SPI-1. *J. Clin. Microbiol*, **46**: 1330-1336.
- HUEHN S., LA RAGIONE RM., ANJUM M., SAUNDERS M., WOODWARD MJ., BUNGE C., HELMUTH R., HAUSER E., GUERRA B., BEUTLICH J., BRISABOIS A., PETERS T., SVENSSON L., MADAJCZAK G., LITRUP E., IMRE A., HERRERA-LEON S., MEVIUS D., NEWELL DG., MALORNY B (2010). Virulotyping and antimicrobial resistance typing of *Salmonella enterica* serovars relevant to human health in Europe. *Foodborne pathog dis*, **7**: 523-535.
- HUR J., CHOI YY., PARK JH., JEON BW., LEE HS., KIM AR., LEE, JH (2011). Antimicrobial resistance, virulence-associated genes, and pulsed-field gel electrophoresis profiles of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium isolated from piglets with diarrhea in Korea. *Can. J. Vet. Res*, **75**: 49-56.
- IBARRA JA., STEELE-MORTIMER O (2009). *Salmonella*–the ultimate insider. *Salmonella* virulence factors that modulate intracellular survival, *Cell. Microbiol*, **11**: 1579-1586.
- IOANNIDIS A., PAPAVALASILEIOU K., PAPAVALASILEIOU E., BERSIMIS S., CHATZIPANAGIOTOU S (2013). Distribution of six effector protein virulence genes among *Salmonella enterica* *enterica* serovars isolated from children and their correlation with biofilm formation and antimicrobial resistance. *Mol. Diag Ther*, **17**: 311-317.
- ISO-6579: 2002 (E) 4th Ed. Microbiology- General Guidance on Methods for the detection of *Salmonella*, *International Organisation for Standardization*, Geneve, Switzerland.
- IWABUCHI E., MARUYAMA N., HARA A., NISHIMURA M., MURAMATSU M., OCHIAI T., HIRAI K (2010). Nation survey of *Salmonella* prevalence in environmental dust from layer farms in Japan. (2010). *J Food Prot*, **73**: 1993-2000.
- IWABUCHI E., YAMAMOTO S., ENDO Y., OCHIAI T., HIRAI K (2011). Prevalence of *Salmonella* isolates and antimicrobial resistance patterns in chicken meat throughout Japan. *J Food Prot*, **74**: 270-273.
- İZGÜR M (2002). Bakteriyel İnfeksiyonlar, *Salmonella* İnfeksiyonları. In: Kanatlı Hayvan Hastalıkları, Ankara, Medisan Yayınevi, Bölüm: 4.

- İZGÜR M (2006). Enterobakteri infeksiyonları (*Enterobacteriaceae*). In: Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar), Ed: Aydın N, Paracıkoğlu J. Ankara: İlke Emek Yayınları, Bölüm: 11.
- JACOBY GA., WALSH KE., MILLS DM., WALKER VJ., OH H., ROBICSEK A., HOOPER DC (2006). qnrB, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob Agents And Chemother*, **50**: 1178-1182.
- JANAKİRAMAN A., SLAUCH JM (2000). The putative iron transport system *SitABCD* encoded on SPI1 is required for full virulence of *Salmonella typhimurium*. *Mol. Microbiol*, **35**: 1146-1155.
- JONES MA., HULME SD., BARROW PA., WIGLEY P (2007). The *Salmonella* pathogenicity island 1 and *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion systems play a major role in pathogenesis of systemic disease and gastrointestinal tract colonization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the chicken. *Avian Pathol*. **36**: 199-203.
- JONG HK., PARRY CM., VAN DER POLL T., WIERSINGA WJ (2012). Host-pathogen interaction in invasive Salmonellosis. *PLoS Pathog*, **8**: E1002933.
- KARASOVA D., HAVLICKOVA H., SISAK F., RYCHLIK I (2009). Deletion of *sodCI* and *spvBC* in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis reduced its virulence to the natural virulence of serovars Agona, Hadar and Infantis for mice but not for chickens early after infection. *Vet. Mic*, **139**: 304-309.
- KAUR J., JAIN SK (2012). Role of antigens and virulence factors of *Salmonella enterica* serovar Typhi in its pathogenesis. *Microbiol. Res*, **167**: 199-210.
- KIM M., ASHIDA H., OGAWA M., YOSHIKAWA Y., MIMURO H., SASAKAWA C (2010). Bacterial interactions with the host epithelium. *Cell Host Microbe*, **8**: 20-35.
- KRAWIEC M., KUCZKOWSKI M., KRUSZEWICZ AG., WIELICZKO A (2015). Prevalence and genetic characteristics of *Salmonella* in free-living birds in Poland. *BMC Veterinary Research*, **11**: 15.
- KRZYŻANOWSKI F., ZAPPELINI L., MARTONE-ROCHA S., DROPA M., MATTÉ MH., NACACHE F., RAZZOLINI MT (2014). Quantification and characterization of *Salmonella spp.* isolates in sewage sludge with potential usage in agriculture. *BMC Microbiol*, **14**: 263.
- KUDAKA J., ITOKAZU K., TAIRA K., IWAI A., KONDO M., SUSU T., IWANAGA M. (2006). Characterization of *Salmonella* isolated in Okinawa, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis*, **59**: 15-19.
- KUHLE V., HENSEL M (2004). Cellular microbiology of intracellular *Salmonella enterica*: functions of the type III secretion system encoded by *Salmonella* pathogenicity island 2. *Cell. Mol. Life. Sci*, **61**: 2812–2826.

- LEE VT., SCHNEEWIND O (1999). Type III secretion machines and the pathogenesis of enteric infections caused by *Yersinia* and *Salmonella* spp. *Immunol Rev*, **168**: 241-255.
- LI S., ZHANG Z., PACE L., LILLEHOJ H., ZHANG S. (2009). Functions exerted by the virulence-associated type-three secretion systems during *Salmonella enterica* serovar Enteritidis invasion into and survival within chicken oviduct epithelial cells and macrophages. *Avian Pathol.* **38**: 97-106.
- MAKA L., MACKIW E., SCIEZYNSKA H., PAWLOWSKA K., POPOWSKA M (2014). Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* strains isolated from retail meat products in Poland between 2008 and 2012. *Food Control*, **36**: 199-204.
- MARCUS SL., BRUMELL JH., PFEIFER CG., FINLAY BB (2000). *Salmonella* pathogenicity islands: big virulence in small packages. *Microbes Infect*, **2**: 145-156.
- MARLOVITS TC., STEBBINS CE (2010). Type III secretion systems shape up as they ship out. *Curr. Opin. Microbiol*, **13**: 47–52.
- MIHAIU L., LAPUSAN A., TANASUICA R., SOBOLU R., MIHAIU R., ONIGA O., MIHAIU M (2014). First study of *Salmonella* in meat in Romania. *J. Infect. Dev. Ctries*, **8**: 50-58.
- MILLER T., PRAGER R., RABSCH W., FEHLHABER K., VOSS M (2010). Epidemiological relationship between *Salmonella* Infantis isolates of human and broiler origin. *Loh. Inform*, **45**: 27-31.
- MORGAN E (2007). *Salmonella* pathogenicity islands. In: *Salmonella* Molecular Biology and Pathogenesis. Ed: Rhen M., Maskell D., Mastroeni P., Threlfall J. Horizon Bioscience, Norfolk, UK. **Pp**: 67-88.
- MURAKAMI K., HORIKAWA K., ITO T., OTSUKI K (2001). Environmental survey of *Salmonella* and comparison of genotypic character with human isolates in Western Japan. *Epidemiol. Infect*, **126**: 159-171.
- NODA T., MURAKAMI K., ISHIGURO Y., ASAI T (2010). Chicken meat is an infection source of *Salmonella* serovar Infantis for humans in Japan. *Foodborne Pathog Dis*, **7**: 727-735.
- NÓGRÁDY N., KARDOS G., BISTYÁK A., TURCSÁNYI I., MÉSZÁROS J., GALÁNTAI Z., JUHÁSZ A., SAMU P., KASZANYITZKY JE, PÁSZTI J., KISS I (2008). Prevalence and characterization of *Salmonella* Infantis isolates originating from different points of the broiler chicken-human food chain in Hungary. *Int J Food Microbiol*, **127**: 162-167.
- OHL ME., MLLER SI (2001). *Salmonella*: A model for bacterial pathogenesis. *Annu. Rev. Med*, **52**: 259-274.

- PIESKUS J., FRANCIOSINI MP., PROIETTI PC., REICH F., KAZENIAUSKAS E., BUTRIMAITE-AMBROZEVICIENE C., MAURICAS M., BOLDER N (2008). Preliminary investigations on *Salmonella* spp. incidence in meat chicken farms in Italy, Germany, Lithuania and The Netherlands. *Int. J. Poultry Sci*, **8**: 813-817.
- RAFFATELLU M., WILSON RP., CHESSA D., ANDREWS-POLYMENIS H., TRAN QT., LAWHON S., KAHARE S., ADAMS LG., BÄUMLER AJ (2005). SipA, SopA, SopB, SopD, and SopE2 contribute to *Salmonella* enterica serotype Typhimurium invasion of epithelial cells. *Infect. Immun*, **73**: 146-154.
- RAMOS-MORALES F (2012). Impact of *Salmonella* enterica type III secretion system effectors on the eukaryotic host cell. *Cell Biology*, 2012.
- RASETA M., DJORDJEVIC V., VIDANOVIC D. (2015). Contamination Routes of *S. Infantis* in food chain of broiler meat production and it's significance for public health. *Procedia Food Sci*, **5**: 254-257.
- ROTGER R., CASADESÚS J (1999). The virulence plasmids of *Salmonella*. *Int. Microbiol*, **2**: 177–184.
- RYCHLIK I., GREGOROVA D., HRADECKA H (2006). Distribution and function of plasmids in *Salmonella enterica*. *Vet. Microbiol*, **112**: 1-10.
- RYCHLIK I., KARASOVA D., SEBKOVA A., VOLF J., SISAK F., HAVLICKOVA H., KUMMER V., IMRE A., SZMOLKA A., NAGY B (2009). Virulence potential of five major pathogenicity islands (SPI-1 to SPI-5) of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis for chickens. *BMC Microbiol*. **9**: 268.
- SABBAGH SC., FOREST CG., LEPAGE C., LECLERC JM., DAIGLE F (2010). So similar, yet so different: uncovering distinctive features in the genomes of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Typhi, *FEMS Microbiol. Lett*, **305**: 1-13.
- SAMBROOK J., RUSSELL D. W (2002). Molecular cloning: a laboratory manual (3rd Ed.), Cold Spring Harbor Press, New York, NY.
- SANTOS RL., TSOLIS RM., BÄUMLER AJ. ADAMS LG (2003). Pathogenesis of *Salmonella*-induced enteritis. *Braz. J. Med. Biol. Res*. **36**: 3-12.
- SCHMIDT H., HENSEL M (2004). Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. *Clin. Microbiol. Rev*. **17**: 14-56.
- SHAH DH., ZHOU X., ADDWEBI T., DAVIS MA., ORFE L., CALL DR., BESSER TE (2011). Cell invasion of poultry-associated *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolates is associated with pathogenicity, motility and proteins secreted by the type III secretion system. *Microbiology*, **157**:1428-1445.
- SKYBERG JA., LOGUE CM., NOLAN LK. (2006). Virulence genotyping of *Salmonella* spp. with multiplex PCR. *Avian Dis*, **50**: 77-81.

- SMITH AL., POWERS C., BEAL RK (2013). The avian enteric immune system in health and disease. In: Avian immunology, 2nd Ed. Schat KA., Kaspars B., Kaiser P. London. UK. Pp: 227-249.
- THORSTEINSDOTTIR T., KRISTINSSON KG., GUNNARSSON E (2007). Antimicrobial resistance and serotype distribution among *Salmonella* spp. in pigs and poultry in Iceland, 2001-2005. (2007). *Microb Drug Resist*, **13**: 295-299.
- TIRZIU E., LAZAR R., SALA C., NICHITA I., MORAR A., SERES M., IMRE K (2015). *Salmonella* in raw chicken meat from The Romain Seaside: frequency of isolation and antibiotic resistance. *J. Food. Prot*, **78**: 1003-1006.
- VALDEZ Y., FERREIRA RBR., FINLAY BB (2009). Molecular mechanisms of *Salmonella* virulence and host resistance. molecular mechanisms of bacterial infection via gut. Sasakawa C. Berlin. Germany.
- VAN ASTEN AJAM., VAN DIJK JE (2005). Distribution of "classic" virulence factors among *Salmonella* spp. *Fems Immunol. Med. Microbiol*, **44**: 251-259.
- VELGE P., WIEDEMANN A., ROSSELIN M., ABED N., BOUMART Z., CHAUSSE AM., GREPINET O., NAMDARI F., ROCHE SM., ROSSIGNOL A., VIRLOGEUX-PAYANT I (2012). Multiplicity of *Salmonella* entry mechanisms, a new paradigm for *Salmonella* pathogenesis. *Microbiologyopen*, **1**: 243-258.
- VOSS-RECH D., VAZ CSL., ALVES L., COLDEBELLA A., LEO JA., RODRIGUES DP., BACK A (2015). A temporal study of *Salmonella enterica* serotypes from broiler farms in Brazil. *Poult Sci*, **94**: 433-441.
- WAGNER C., HENSEL M (2011). Adhesive mechanisms of *Salmonella enterica*. Bacterial adhesion, chemistry, biology and physics. Linke D., Goldman A. London. Uk. Pp: 17-34.
- WALLIS TS., GALYOV E (2000). Molecular basis of *Salmonella*-induced enteritidis. *Mol Microbiol*. **36**: 997-1005.
- WANG L (2007). Understanding the virulence mechanisms of bacterial phytopathogens: From *Pseudomonas* to *Xanthomonas*, Thesis (PhD), Iowa State University.
- WANG Y., CHEN Q., CUI S., XU X., ZHU J., LUO H., WANG D., LI F (2014). Enumeration and characterization of *Salmonella* isolates from retail chicken carcasses in Beijing, China. *Foodborne Pathog Dis*, **11**: 126-132.
- WEGENER HC., BAGGESEN DL (1996). Investigation of an outbreak of human Salmonellosis caused by *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar *Infantis* by use of pulsed field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol*, **32**: 125-131.
- WHO GLOBAL FOODBORNE INFECTIONS NETWORK (2010). Laboratory Protocol Isolation of *Salmonella* spp. From Food and Animal Faeces. 5th Ed. Available at:

Eriřim: http://www.antimicrobialresistance.dk/data/images/protocols/isolation_of_sal_m_220610.pdf. Eriřim Tarihi: 2017.

- WIGLEY P., JONES MA., BARROW PA. (2002). *Salmonella enterica* serovar Pullorum requires the *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system for virulence and carriage in the chicken. *Avian Pathol.* **31**: 501-506.
- WISNER A., DESIN T., WHITE A., POTTER A., KOSTER W (2012). The *Salmonella* Pathogenicity Island-1 and -2 Encoded Type III Secretion Systems. In: *Salmonella - A Diversified Superbug*. Ed: Kumar Y. Pp: 469-494.
- WORRALL LJ., LAMEIGNERE E., STRYNADKA NCJ (2011). Structural overview of the bacterial injectisome. *Curr. Opin. Microbiol.* **14**: 3-8.
- WOOD MW., JONES MA., WATSON PR., HEDGES S., WALLIS TS., GALYOV EE (1998). Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* enteropathogenicity. *Mol. Microbiol.* **29**: 883-891.
- ZHOU D., HARDT WD., GALÁN JE (1999a). *Salmonella typhimurium* encodes a putative iron transport system within the centisome 63 pathogenicity island. *Infect Immun.* **67**: 1974-1981.
- ZHOU D., MOOSEKER MS., GALÁN JE (1999b). Role of the *S. typhimurium* actin-binding protein SipA in bacterial internalization, *Science*, **283**: 2092-2095.
- ZOU W., AL-KHALDI SF., BRANHAM WS., HAN T., FUSCOE JC., HAN J., FOLEY SL., XU J., FANG H., CERNIGLIA CE., NAYAK R (2011). Microarray analysis of virulence gene profiles in *Salmonella* serovars from food/food animal environment. *J. Infect. Dev. Ctries*, **5**: 94-105.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı	Nurdan
Soyadı	Karacan Sever
Doğum yeri ve tarihi	Kırklareli, 1986
Uyruğu	TC
Medeni durumu	Evli
İletişim adresi ve telefonu	nurdankaracan@hotmail.com 05447399628

II- Eğitimi

2004-2009 İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi
2000-2004 Lüleburgaz Anadolu Lisesi
Yabancı dili İngilizce

III- Ünvanları

Veteriner hekim
Araştırma görevlisi

IV- Mesleki Deneyimi

2006-2007 Gürpınar Hayvan Barınağı, İstanbul, Gönüllü
07-09 2008 İzmir Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü, İzmir, Stajyer
07-09 2009 Migros Gebze Depo, Kocaeli, Kalite Kontrol Uzmanı

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Hekimler Derneği

Ankara Mikrobiyoloji Derneği

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Poster Sunum

1. Karacan N., Torun E., Diker KS. Bir Koyun Sürüsünde Beş Farklı Bakteri ile İlişkili Enfeksiyon Vakaları. XI. Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 21-24 Ekim 2014, Akka Antedon Hotel Kemer/Antalya.
2. Kaya İB., Karacan N., Özdal M., Mete Ş., Diker KS. Veteriner Klinik Örneklerde Direkt 16S rRNA Dizi Analizi İle Bakteriyel Tanı. 8. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, 04-07 Haziran 2014, Swiss Hotel Ankara.
3. Karacan N., Şahan Ö., Akan M. Tavuklardan İzole Edilen *E. coli* Suşlarının Antibiyotik Direnci ve Serotip Dağılımı. XXXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 12-16 Kasım 2014, Kaya Palazzo Kongre Merkezi Belek/Antalya.
4. Kurtde A., Keskin N., Karacan N. Bir Muhabbet Kuşunda (*Melopsittacus Undulatus*) İlginç Bir Tüy Dökülme Analizi. 11. Veteriner İç Hastalıkları Kongresi, 21-24 Mayıs 2015, Anemon Hotel Samsun.
5. Haşcelik G., Altay O., Karacan N., Ozdal Salar M., Mustak HK. Identification of Viridans Group Streptococci in Clinical Isolates: Comparison of Two Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time of Flight Mass Spectrometry Systems and A Conventional Phenotypic Method. 115th General Meeting, American Society For Microbiology, May 30-June 2, New Orleans, Louisiana.
6. Deniz ST., Dede DÖ., Şahin O., Köroğlu A., Karacan N. Denture cleansers'

effect on retention of candida and roughness of denture teeth. 39th Annual Conference of the European Prosthodontic Association. September 3–5, 2015 Prague, Czech Republic.

7. Karacan N., Didinen T., Keskin Y., Izgur M. The effectiveness of different denture disinfection methods on *Candida albicans* biofilm activity. 7th Trends in Medical Mycology, 9-12 Ekim 2015, Lisboa Congress Center, Lizbon/Portekiz.
8. Karacan Sever N., Akan M. Farklı hayvan orijinli stafilokok suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları. XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 16-20 Kasım 2016, Titanic Deluxe Otel, Belek/Antalya.

Yayınları

KÖROĞLU A., ŞAHİN O., DEDE DÖ., DENİZ ŞT., SEVER NK., ÖZKAN S (2016). Efficacy of denture cleaners on the surface roughness and *Candida albicans* adherence of sealant agent coupled denture base materials. *Dental materials journal*, **35**: 810-816.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Projeler

1. Kanatlı orijinli *Salmonella* Infantis suşlarında virulens genlerinin moleküler analizi, BAP 16L0239006, Yardımcı araştırmacı.
2. Farklı kafes tiplerinde yetiştirilen yumurtacı tavuklarda mikrobiyolojik, serolojik ve performans verilerinin karşılaştırılması, BAP 16A0239002, Yardımcı araştırmacı.