



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**TAVUK ORİJİNLİ SALMONELLA ENTERİTİDİS SUŞLARINDA
SİPROFLOKSASİN DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI**

BETÜL KÜÇÜK

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. H. Kaan MÜŞTAK**

ANKARA

2020

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Tavuk Orijinli Salmonella Enteritidis Suşlarında Siprofloksasin Direncinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma ve araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Betül KÜÇÜK

Tarih: 12.05.2020

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalında

Betül KÜÇÜK tarafından hazırlanan “Tavuk Orijinli Salmonella Enteritidis Suşlarında siprofloksasin Direncinin Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 04.06.2020

Prof.Dr. Mehmet AKAN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof.Dr. Murat YILDIRIM
Kırıkkale Üniversitesi
Üye

Doç.Dr.Hamit Kaan MÜŞTAK
Ankara Üniversitesi
Raportör

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof.Dr.Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Çizelgeler	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tarihçe ve İsimlendirilmesi	2
1.2. Bakteriyolojik Özellikleri ve Serotipleri	3
1.3. Patogenez ve Epidemiyolojisi	6
1.4. <i>Salmonella</i> Enteritidis Enfeksiyonlarının Önemi	10
1.5. <i>Salmonella</i> ile Mücadele ve Kontrol Programları	12
1.6. Antibiyotik Keşfi ve Antimikrobiyal Direnç	17
1.6.1. <i>Salmonella</i> 'larda Siprofloksasin Direnci	22
2. GEREÇ VE YÖNTEM	25
2.1. Gereç	25
2.1.1. <i>Salmonella</i> İzolatları	25
2.1.2. Besiyerleri	25
2.1.3. Antibiyotik Diski	25
2.2. Yöntem	26
2.1. Suşların Aktive Edilmesi	26
2.2. İdentifikasyon	26
2.3. Serotiplendirme	27
2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi	28
3. BULGULAR	29
3.1. İdentifikasyon ve Serotiplendirme Bulguları	29
4. TARTIŞMA	30
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	33
ÖZET	34
SUMMARY	35
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	41

ÖNSÖZ

Tüm dünyada gıda kaynaklı enfeksiyonlar halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Özellikle hareketli *Salmonella* serotiplerinin neden olduğu enfeksiyonlar, bu vakaların çoğunluğunu oluşturmaktadır. *S. Enteritidis*, insanlarda en sık rastlanan gıda kaynaklı patojenlerin başında gelmektedir. En önemli bulaşma kaynağını yumurta gibi tavuk kaynaklı ürünler oluşturmaktadır. *Salmonella* prevalansı ve insanlarda oluşturduğu enfeksiyonların takibi birçok ülkede kontrol programları dahilinde yürütülmektedir. Mücadelede en önemli husus olarak; farklı yetiştiricilik tiplerinde *Salmonella* sıklığının azaltılması hedeflenmektedir.

En sık antibiyotik direnci rastlanan bakteri grupları arasında *Salmonella* serotipleri yer almaktadır. *S. Enteritidis* enfeksiyonlarının sıklığı ve aynı zamanda insanlarda Salmonellozis tedavisinde öncelikle siprofloksasinin tercih edilmesi; *S. Enteritidis* suşlarında siprofloksasin direncinin izlenmesini önemli kılmaktadır. Bu çalışmada tavuk orijinli *S. Enteritidis* suşlarının, insan sağlığı açısından önem arz eden siprofloksasine karşı direncinin tespit edilmesi hedeflenmiştir.

Bu tez çalışmasının konusunun belirlenmesinde, çalışmaların yürütülmesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. H. Kaan MÜŞTAK başta olmak üzere, Sayın Prof. Dr. Mehmet AKAN'a, Sayın Prof. Dr. Hakan YARDIMCI'ya, Sayın Prof. Dr. Barış SAREYYÜPOĞLU'na ve çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen Uzm. Vet. Hek. Merve ÖZDAL SALAR'a teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AHL	Asil- homoserin laktonu
BGA	Brillant Green Agar
CDC	Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi
CFU	Colony Forming Unit
CLSI	Clinical and Laboratory Standarts Institue
ECDC	Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FSIS	The Food Safety and Inspection Service
FTS	Fizyolojik tuzlu su
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
LDC	Lizin dekarboksilaz
MDR	Çoklu İlaç Direnci
MH	Mueller-Hinton Agar
NA	Nutrient Agar
NaCl	Sodyum Klorür
ODC	Ornitin dekarboksilaz
SS	Shigella Agar
TDA	Triptofan Deaminaz
TSI	Triple Sugar Iron
USKP	Ulusal Salmonella Kontrol Programı
VP	Voges Proskauer
WHO	World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)
XLD	Ksiloz Lisin Deoksikolat Agar

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Biyokimyasal test sonuçları

Çizelge 3.1. Disk difüzyon çapları



1. GİRİŞ

Gıda kaynaklı enfeksiyonlar, başta gelişmiş ülkeler olmak üzere tüm dünyada önemli bir problemdir. Gıda kaynaklı enfeksiyonlar arasında hareketli *Salmonella* serotipleri, hem yaygınlık hem de insanlarda oluşturduğu hastalıklar bakımından birçok ülkede ulusal programlar kapsamında izlenmektedir. Türkiye başta olmak üzere Avrupa Birliği ülkelerinde en sık rastlanan gıda kaynaklı enfeksiyonlar arasında, *Salmonella* Enteritidis nedenli enfeksiyonlar gelmektedir. *S. Enteritidis* nedenli enfeksiyonların bulaşma kaynağı araştırıldığında, hem hayvansal kaynaklı hem de diğer gıdaların rol aldığı görülmektedir. Hayvansal gıdalar arasında başta yumurta ve yumurtalı ürünler olmak üzere tavuk ürünleri ön plana çıkmaktadır. Bu nedenle kanatlı yetiştiriciliğinde üretim aşamasında *Salmonella* sıklığının azaltılmasına ve kontrolüne yönelik ulusal düzeyde programlar uzun yıllardan beri uygulanmaktadır. Ülkemizde de Ulusal Salmonella Kontrol programı 2018 yılında başlatılmıştır.

İnsan sağlığı açısından bir diğer önemli problem, bakterilerdeki antibiyotik direncidir. Bu nedenle son yıllarda hem insan sağlığı hem de hayvan sağlığında ortak kullanılan antibiyotiklerle ilgili bazı düzenlemeler yapılmıştır. Antibiyotik direncinin en sık rastlandığı bakteri grupları arasında, *Salmonella* serotipleri gelmektedir. Bu kapsamda, *S. Enteritidis* serotipinin hem hastalıklardaki sıklığı hem de antibiyotiklere direncinin araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Siprofloksasin, insan sağlığında kullanılan ve özellikle *Salmonella* enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilen antibiyotikler arasında gelmektedir. Bu nedenle *Salmonella* serotiplerinde siprofloksasin direncinin sıklığı oldukça önemlidir ve izlenmesi insan sağlığı bakımından önem arz etmektedir.

Bu tez çalışmasında insan sağlığı için önemli olan *S. Enteritidis* suşlarında, siprofloksasine direnç düzeyinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla tavuk orijinli *S. Enteritidis* suşlarında siprofloksasin direnci, disk difüzyon tekniği kullanılarak belirlenmiştir.

1.1. Tarihçe ve İsimlendirilmesi

Salmonella, ilk olarak 1880 yılında Ebert tarafından gözlenmiş, 1884 yılında ise Gaffky tarafından kültüre edilmiştir. 1885 yılında ise Theobald Smith bir domuzdan *S. Choleraesuis* izolasyonunu gerçekleştirmiştir ve bakteriyel tür ismi birlikte çalıştığı bakteriyolog Dr. Daniel Elmer Salmon tarafından verilmiştir (Eng ve ark., 2015; Jajere, 2019).

Salmonella'nın isimlendirilmesi Kauffman'nın ortaya koymuş olduğu, K (kapsüler) antijeni, lipopolisakkarit yapıdaki O (somatik) ve protein yapıdaki H (flagellar) antijenlerinin serolojik tayini ile yapılmaya başlanmıştır. Antijenik yönden identifiye edilen serotipler, Kauffmann-White şemasına eklenmiştir. İlk tablo 20 serotip içermekteydi, ancak yeni identifiye edilen *Salmonella* serotipleri ile bu tablo "WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*" tarafından güncellenmektedir (Brenner ve ark., 2000; WHO, 2007).

Devam eden çalışmalar ile Crosa ve arkadaşları 1973 yılında, DNA-DNA hibridizasyonu ile *Salmonella*'nın serotipleri arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir. Le Minor ve Popoff 1987 yılında, *Salmonella*'nın 7 alt türünün, alt cinsler olarak adlandırılmasını önermiştir. Alt tür III, genomik yapısı ve biyokimyasal özellikleri sebebiyle IIIa ve IIIb şeklinde ikiye bölünmüştür. Sonuç olarak IIIa monofazik serotipleri içerirken, IIIb ise difazik serotipleri içermektedir (Brenner ve ark., 2015).

Salmonella'nın isimlendirilmesi, dünyada çapındaki *Salmonella* referans laboratuvarları dâhil olmak üzere birçok merkezde Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nın sistematğine göre yapılmaktadır. Belirli bir *Salmonella* serotipinin isimlendirilmesinde genellikle alt türler kullanılmaz. Örneğin literatürde; *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotip Typhi, kısaltılmış olarak *Salmonella* ser. Typhi veya *S. Typhi* şeklinde yazılabilir (Eng ve ark., 2015; Jajere, 2019).

1.2. Bakteriyolojik Özellikleri ve Serotipleri

Gram negatif ve çomak yapıda olmakla birlikte, Enterobacteriaceae familyasına aittir. Boyutları ortalama 0,2-1,5 x 2,5 µm'dir ve fakültatif anaerobtur. Kapsül bulundurmazlar ve sporsuzlardır. *Salmonella* cinsi temelde filogenetik yönüyle incelenirse; 16S rRNA sekans analizine göre, *Salmonella enterica* ve *Salmonella bongori* isimli iki geniş alt türe ayrılmaktadır. Bununla birlikte antijenik yapılarının çok farklı olması sebebiyle bu türlere ait 2600'den fazla serotipi bulunmaktadır (Eng ve ark., 2015; Jajere, 2019 ve Pui ve ark., 2011). Hücre duvarının yapısında lipid, protein, lipoprotein ve polisakkarit bulunmaktadır. Endotoksin, sitotoksin ve enterotoksin sentezleyebilmektedirler (Wagner ve Hensel, 2011).

Salmonella'nın hücre duvarında yer almakta olan somatik (O) antijeni ısıya dayanıklı olmakla birlikte, birden fazla O antijeni spesifik bir *Salmonella* serotipini belirtebilmektedir. Bu serotipler belirli bir serogrup içerisinde A, B, C, ... ,Z gibi alfabetik harflerle belirtilmiş bir şekilde yer almaktadırlar. Bir serotip tespit edilirken öncelikle 1, 2, 3 gibi sayılarla ifade edilen O antijenleri belirlenir. Kullanılan bu O antiserumları toplamda 60 adettir (İzgür, 2006; Jajere, 2019).

Bakteriyel flagellanın yapısında bulunan H antijeni ise ısıya dayanıksızdır ve konak immun yanıtında aktif olarak rol oynar. Çoğunlukla *Salmonella*'nın flagellar proteinlerini kodlayan iki gen mevcuttur. Bu nedenle bu bakteriler difazik (faz I ve faz II) olabilmektedir. Faz I antijenleri a, b, c, ... ,z şeklinde isimlendirilmektedir ve bakterinin immunolojik özelliğinden sorumlu olmakla birlikte sadece bazı serotiplerde bulunmaktadır. Faz II antijenleri ise 1, 2, 3, ... olarak isimlendirilmektedir. Ayrıca spesifik değildir ve farklı serotiplerde bulunabilmektedir. Son olarak bakterinin kapsüler yüzeyinde yer alan ısıya duyarlı K antijenleri bazı serotiplerde nadiren de olsa bulunmaktadır. K antijeninin sahip olduğu bir alt tür olan V_i (virülans antijeni) ise sadece Paratyphi C, Typhi, Dublin serotiplerinde yer almaktadır (Eng ve ark., 2015; Jajere, 2019).

Salmonella serovarlarının çoğunluğu sahip oldukları peritrik flagellalarının sayesinde hareketlidirler. İstisnayı yaratan *Salmonella* Gallinarum ve *Salmonella* Pullorum'dur. İkisinin de flagellasının olamaması sebebiyle hareket kabiliyetleri yoktur (Jajere, 2019).

Salmonella, konak dışında ve farklı çevresel koşullarda (%0,4-4 NaCl varlığı gibi) kolaylıkla çoğalabilen bir bakteridir. Birçok serotipi 5-47°C sıcaklık aralığında gelişebilmektedir. Ancak optimum sıcaklık değerlerini 32-35°C aralığı oluşturmaktadır. Çok nadir olsa da bazı serotipleri 2-4°C veya 54°C'ye kadar olan sıcaklıklarda gelişim gösterebilmektedirler. Bununla birlikte 70°C ve üzeri sıcaklıkta ısıya duyarlıdırlar (Pui ve ark., 2011).

Kemoorganotrofik olarak isimlendirilmekte olan, solunum ve fermentatif yollar ile *Salmonella* bakterileri besinlerini metabolize edebilmektedir. Biyokimyasal aktiviteleri oldukça yüksek olan *Salmonella* etkenlerinin en önemli özellikleri H₂S (Hidrojen Sülfür) üretebilmeleri ve laktozu fermente edememeleridir. *Salmonella* Paratyphi A, *Salmonella* Choleraesuis gibi birkaç serotip haricinde çoğu H₂S üretebilmektedir. Ayrıca serotiplerinin çoğunun laktozu fermente edememesi sayesinde, *Salmonella*'nın identifikasyonu için XLD (Ksiloz Lisin Deoksikolat Agar), SS (Shigella Agar), BGA (Brillant Green Agar), TSI(Triple Sugar Iron) gibi selektif diferansiyel kültür ve izolasyon ortamları geliştirilmiştir. XLD agarda siyah merkezli, çevresi şeffaf hareli kırmızı, BGA agarda ise pembe koloniler oluşturmaktadır (Akan, 2008; Rambach, 1990 ve Jajere, 2019).

Üremeleri esnasında üreyi hidrolize ederler, indol üretmezler ve VP (Voges Proskauer) reaksiyonları negatiftir. TSI (Triple Sugar Iron) besi yerinde glikozu fermente ettikleri gözlenir. Ornitin dekarboksilaz (ODC), Lizin dekarboksilaz (LDC) ve Metil red testi pozitifdir. Ancak *Salmonella* Paratyphi A' nın LDC, *Salmonella* Gallinarum'un ise ODC reaksiyonu negatiftir (Jajere, 2019; Wray ve Wray,2000).

Gelişim sağlayabilmeleri için pH aralığı 4 ile 9 arasında değişmekte olup, optimum aralığı pH 6.5-7.5 oluşturmaktadır. Ek olarak *Salmonella* su aktivitesi 0,2'nin altında olan kurutulmuş gıdalarda hayatta kalabilse de, sürdürülebilirliği için 0,94 ile 0,99 aralığında su aktivitesine ihtiyaç duymaktadır. Kısacası *Salmonella*'nın inaktivasyonu için pH'nın 3.8'in, su aktivitesinin 0,94'ün, sıcaklığın da 7°C altında olması yeterlidir (Pui ve ark., 2011).

Genel besi yerinde kolay üreyebilen, fakültatif anaerobik *Salmonella* etkenleri buyyonda homojenik bir şekilde üremektedir. Katı besi yerinde ise 37°C'de yaklaşık 24 saatte yuvarlak ve küçük S tipli koloniler oluşturmaktadırlar. Ancak teşhiste kullanılan örnek yem, altlık gibi bir materyal ise izolasyon için yeterli *Salmonella* etkeni içermemesi nedeniyle ön zenginleştirmeye tabi tutulur. Zenginleştirme basamağının da ardından selektif zenginleştirme için XLD ya da BGA agara ekim yapılır. Şüpheli kolonilerden NA (Nutrient Agar)'a tek koloni olacak şekilde yayma ekim yapılır ve bakteriyoskopik muayenede Gram negatif çomaklar görülür. NA'daki üremenin ardından ayırıcı biyokimyasal testler ile *Salmonella* olduğu kesinleşir ve izolasyon gerçekleşir (Akan, 2008 ve İzgür, 2002).

Yapılan son klasifikasyonlara göre *Salmonella* cinsine ait; *S. enterica* ve *S. bongori* isimli iki türü vardır. Bunlardan *S. enterica*, ise altı alt türe ayrılmıştır (WHO, 2007).

- *S. enterica* subsp. *enterica* (I)
- *S. enterica* subsp. *salamae* (II)
- *S. enterica* subsp. *arizonae* (III-a)
- *S. enterica* subsp. *diarizonae* (III-b)
- *S. enterica* subsp. *houtenae* (IV)
- *S. enterica* subsp. *indica* (VI)

Salmonella enterica subsp. *enterica*'nın içermekte olduğu O antijeninin sahip olduğu serolojik grupları A, B, C1, C2, D, E'dir. Bu serogruplarda yer alan suşlar

insanlarda ve sıcakkanlı hayvanlardaki Salmonellozis vakalarının %99'unu oluşturmaktadır (Brenner ve ark., 2000).

1.3. Patogenez ve Epidemiyolojisi

Birçok hayvanın gastrointestinal sisteminde flora bakterisi olarak bulunmasına rağmen, dünya genelinde en çok bildirilen gıda kaynaklı salgın hastalıklardan biri *Salmonella*'dır. Özellikle gelişmekte olan Hindistan, Afrika gibi ülkelerde prevalansı daha da artmaktadır. Ayrıca son zamanlardaki teknolojik gelişmeler, küreselleşme ile artan seyahat, ticaret vs. nedenleri ile gıda kaynakları patojenlerin hızla yayılımına sebep olmuştur. Salmonellozisin bu kadar büyük tehlike oluşturmada yüksek endemik seyir, kontrol ve önlemlerinin zorluğu ve morbiditesinin yüksekliği önem taşımaktadır (İzgür, 2006; Jajere, 2019 ve Wagner ve Hensel, 2011).

Vakaların çoğunda asemptomatik bağırsak kolonizasyonu ve dışkı ile saçılım görülmektedir. Cıvcıvlerde erken dönemde görülen bazı vakalar ise sarı kesesi enfeksiyonu, karaciğer ve dalakta büyüme, poliserozitis tabloları ile seyretmektedir ve mortalite oranı %10-80 arasında değişmektedir (Akan, 2008).

Birçok hayvanda ve insanda enfeksiyon yapabilen en önemli serotipler *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium*, *S. Infantis* ve *S. Hadar*'dır. Kanatlılarda *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum*, domuzlarda *S. Choleraesuis*, atlarda *S. Abortus equi*, sığırlarda *S. Dublin*, koyunlarda *S. Abortus ovis*, insanlarda ise *S. Typhi* konaklarına özel enfeksiyon oluşturabilmeleri ile konak spesifik serotiplere örnek teşkil etmektedirler. Epidemiyolojik yönden konak spesifik serotipler, spesifik olmayanlara göre daha komplekstir. Konak spesifik olmayan serotipler, konak canlıda hiçbir semptoma neden olmadan sindirim yolu ile dışarı saçılım gösterebilirler (Sırıken ve Türk, 2013; Wagner ve Hensel, 2011 ve Yavari, 2012).

Salmonella enfeksiyonunda bakteriye bağlı olan serovar, gelişim kabiliyeti gibi etkenler ve konağa bağlı olan enfeksiyona yatkınlık, yaş, immun sistem

yetersizlikleri gibi etkenlerle birlikte minimum enfektif dozu belirlenir. Bu değişkenler sebebiyle *Salmonella*'nın enfektif dozu 1 ile 109 cfu/g arasında değişim göstermektedir. Konağın mukozal hücrelerine ve Peyer plaklarına affinite göstermekte ve çoğunlukla buraya yerleşmektedir (Pui ve ark., 2011 ve Wagner ve Hensel, 2011).

Hücrelerarası iletişim olarak bilinen "Quorum Sensing" isimli mekanizmanın da antibiyotik direnci kazanımında rolü önemlidir. Bu mekanizmada mikroorganizmalar, sinyal moleküller ile iletişim kurmaktadır. Öncelikle bakteri autoinducer adı verilen molekülleri salgılar. Sinyal molekülü belli bir seviyeye ulaştığı takdirde bakterinin yüzey reseptörüne bağlanıp, hücre içine alınır. Hücre içerisinde de regülatör proteine bağlanarak DNA'daki spesifik operon bölgesine yerleşir. Böylelikle autoinducer ve regülatör protein üretimi artmasıyla bakteri de çevresindeki popülasyonun yoğunluğunu ölçebilmektedir. Kritik eşik konsantrasyonunu aşan *Salmonella* Typhimurium'un plastik kesme tahtası üzerinde biyofilm oluşturabilmesi bu mekanizmaya örnektir. Quorum sensing türler arası olabildiğı gibi âlemler arası dahi olabilmektedir. Bu sayede de bakteriler arasında antibiyotik direnci, biyofilm oluşumu, konjugasyon, sporulasyon gibi birçok fonksiyonun düzenlenmesinde iletişim sağlanmış olmaktadır (Miller ve Bassler, 2001 ve Pui ve ark., 2011).

Tifoidal olmayan *Salmonella* enfeksiyonları sınırlı hastalıklara neden olmakla birlikte tüm dünyada yaygındır. Ancak buna karşılık tifoidal *Salmonella* etkenlerinin neden olduğı enfeksiyonlar enterik ateş, yüksek morbidite ve mortalite oranları ile ilişkili olup, az gelişmiş ülkelerde görülmesiyle sınırlıdır. Genellikle bir haftadan küçük civcivlerde yüksek oranda mortalite, ergin tavuklarda ise büyüme gelişmede bozukluklar ve verim düşüklüğü ile sonuçlanmaktadır. Tedavi edilmeyen *Salmonella* enfeksiyonlarının %8'inde bağırsak bariyerini aşan bakteriler, bakteriyemiye neden olur (Canpolat, 2007; Eng ve ark., 2015 ve Pui ve ark., 2011).

Konak spesifik hastalıklar halk sağlığı açısından çok büyük bir önem arz etmemektedir. Örnek vermek gerekirse *Salmonella* Gallinarum oldukça konak spesifiktir; insandan izole edilen 450,000'nin üzerindeki *Salmonella* izolatından

yalnızca 8 tanesi *Salmonella* Gallinarum olarak identifiye edilmiştir (Sırıken ve Türk, 2013). Ancak kümes hayvanlarında *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum* varsa büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Akan, 2008).

Salmonella'nın enfeksiyon oluşturabilmesi için adezyonu ve ardından invazyonunun gerçekleşmesi gerekmektedir. Adezyon için fimbrial ve non-fimbrial adezinleri kullanmaktadır. Konak hücrelerine invazyonu sırasında, fagositik olmayan konak hücrelerine erişebilmek için kendi fagositozunu tetikler. Bu sıra dışı özellik *Salmonella* patojenite Ada 1'de (*Spis*), geniş kromozomal DNA bölgesi ve invazyon sırasında rol alan yapıları kodlayan gen kümelerinde bulunmaktadır. *Spis*' in düzenleyicisi *hilA* genidir. Bu gen yapılan bir çalışma ile tavuk bağırsağındaki kolonizasyonu ve uzun dönem saçılım ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Bu bakteriler gıda yolu ile vücuda girdikleri zaman bağırsak duvarını kaplayan epitel hücrelerine penetre olma eğilimi göstermektedirler. *Spis*; *Salmonella*'nın etkilerini bağırsak epitellerinin sitoplazmasına yerleştirmelerini sağlayan çok kanallı proteinleri, tip III salgılama sistemleri kodlamaktadır. Bakteriyel efektörlerin sinyal transdüksiyon yolunu aktive etmesi ile konak hücrenin aktin hücre iskeletini yeniden yapılandırmasını tetikler. Sonrasında ise bu durum bakteriyi içine çekmek için epitel hücre membranının dışa doğru uzaması veya kıvrılması ile sonuçlanır. Membranın kıvrılması işlemi, fagositoz sürecine benzer (Bohez ve ark., 2006; Canpolat, 2007; Eng ve ark., 2015 ve Wagner ve Hensel, 2011).

Salmonella serotipi eğer virulent değil ise konak hücrelerinde kalması patogenezi için önemlidir. Konak hücrelerine bağlanmasının ardından, konak hücre zarından oluşan ve vakuol adı verilen bir zar bölmesiyle çevrelenir. Normal şartlarda bakteride yabancı cisim varlığından dolayı hücrenin immun yanıtı uyarılıp, lizozomların füzyonu ve hücre içi bakterileri parçalaması için sindirim enzimlerinin salgılanması ile sonuçlanır. Ancak *Salmonella*, bakterinin bu bölümünün yapısının değişimine sebep olacak diğer efektör proteinleri vakuole yerleştirmek için tip III sekresyon sistemini kullanmaktadır. Yeniden modellenen vakuol, lizozomların füzyonunu bloke ederek; hücre içindeki bakterilerin hayatta kalmasına ve çoğalmasına izin verir. Bakteri bu kabiliyeti ile bakterinin makrofajlar içerisinde

hayatta kalmasına ve retiküloendotelial sisteme taşınmasına izin verir (Eng ve ark., 2015).

Salmonella, nemli veya kuru ortamlarda fark etmeksizin uzun süre yaşamını sürdürebilmektedir. *Salmonella enterica* serovarları sahip olduğu farklı konakçı ve rezervuarları ile insanlar ve hayvanlar için hastalık tehdidi oluşturmaktadır (Pope ve ark., 1992). Genellikle salmonellozis vakaları kümes hayvanları ve onların ürünleri ile ilişkili bulunması nedeniyle, enfeksiyonun birincil kaynağı kümes hayvanları olarak görülmektedir (Saravanan ve ark., 2015).

Genel olarak konakladığı insan ya da hayvan vücudunda sindirim sistemini hedef alır. İnsan enfeksiyonlarında dört farklı klinik seyir görülmektedir. Bunlar enterik ateş, gastroenteritidis, bakteriyemi ile diğer ekstra intestinal komplikasyonlar ve kronik taşıyıcı olma durumudur. Birçok enteropatojenik bakteri gibi virülans faktörlerini kullanarak, konağın gastrointestinal sisteminin savunmasını geçerek kolonize olur. Virülans faktörler arasında yer alan flagella, kapsül, plazmidler, adezyon sistemleri, *Spi-1*, *Spi-2* ve diğer *Spi*'lerde kodlanmış T3SS *Salmonella* enfeksiyonlarında kritik öneme sahiptir (Eng ve ark., 2015 ve Jajere, 2019).

Salmonellozis vakaları sonucunda da fekal kontaminasyon sonucu çevreye yayılım gerçekleşir. Tifoidal olmayan salmonellozis vakalarının yalnızca %0,1'inde 1 yıl kadar dışkıda saçıcılık bulunmaktadır. Tifoidal *Salmonella* enfeksiyonları tedavi edilmediği takdirde %2-5 oranında kronik taşıyıcı bir hal alır (Jajere, 2019 ve Pui ve ark., 2011). Çiftlik hayvanlarında da asemptomatik seyreder ve taşıyıcılık yaparlar. Ancak bakım besleme koşulları, iklim, transport, yaş, beslenme gibi stres faktörleri ile hastalık klinik belirti gösterebilir. Klinik belirti göstermeyen taşıyıcı hayvanlarda yem, suluk, kuru dışkı, ürünler vs. ile çevreye ciddi yayılım olmaktadır (Zamora-Sanabria ve Alvarado, 2017).

Tifoidal olmayan *Salmonella* enfeksiyonlarının neden olduğu gastroenteritislerin dünya çapındaki etkisi çok büyüktür; yılda yaklaşık 94 milyon

tifoidal olmayan *Salmonella* gastroenteritidis vakası görülmekte ve bunların da 155,000 adedi ölümle sonuçlanmaktadır (Jajere, 2019). Aynı zamanda yapılan bir çalışma ile dünyadaki Salmonellozis vakalarının büyük çoğunluğunun sebebi *Salmonella enterica* olduğu ve bu vakaların yaklaşık %85'inin gıda kaynaklı olduğu ortaya çıkmıştır (Majowicz ve ark., 2010 ve Jajere, 2019).

İnvaziv tifoidal olmayan *Salmonella* enfeksiyonları, özellikle az gelişmiş ülkelerde 3 yaş altı çocuklarda ve HIV ile enfekte hastalarda mortalite %25'i bulmaktadır (Eng ve ark, 2015).

1.4. *Salmonella* Enteritidis Enfeksiyonlarının Önemi

Kanatlı yetiştiriciliğinde *Salmonella*, en önemli zoonotik patojenlerden birisidir. Aynı zamanda Dünya Sağlık Örgütü'ne göre insan popülasyonu üzerinde en büyük etkiye sahip patojenlerin arasında *Salmonella* yer almaktadır. Tifoidal olmayan *Salmonella* etkenleri, gıda kaynaklı salgın veya sporadik olgulara sebep olabilmektedir (EFSA ve ECDC, 2018 ve Saravanan ve ark., 2015).

Türkiye Sağlık Bakanlığı'nın verilerine göre 2005 yılında insanlarda 5,168 adet olan *Salmonella* pozitif vaka sayısı, 2018 yılında 3'e düşmüştür (Anonim, 2018b). Kanatlılarda 2012-2016 yılları arasında %57,3-74,1 oranla *Salmonella*'nın en fazla izole edilen serotipi *S. Enteritidis*'tir. Türkiye'de Ulusal Salmonella Kontrol Programı (USKP) dâhilinde ise kanatlı yetiştiriciliği tipine göre *S. Enteritidis* sıklık oranı; broiler tavuklarda %1,5, yumurtacı tavuklarda %0,4, hindi yetiştiriciliğinde ise %2,3'tür (Anonim, 2018b).

WHO tarafından desteklenen, gıda kaynaklı hastalık izleme ağı olan SalmSurv, verilerine göre 2001-2005 yılları arasında dünya genelinde tifoidal olmayan *Salmonella* enfeksiyonlarından sorumlu olan en yaygın serotip %65 oranıyla *S. Enteritidis*'tir. Asya, Latin Amerika ve Avrupa'da da sırasıyla %38, %31 ve %87

oranlarıyla en çok izole edilen klinik izolat olmuştur. *S. Enteritidis* konakçı spesifik olmaması nedeniyle; enfeksiyonun yayılması da daha kolay olmaktadır (Eng ve ark., 2015).

Amerika’da 2014 yılında FSIS tarafından yapılan bir çalışmada broyler sürülerinden %3,7 oranında *Salmonella* spp. izole edilmiştir ve bu izolatların %13,6’sını *S. Enteritidis* oluşturmaktadır (Anonim, 2014).

Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu (EFSA) ve Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC)’nin 2019 raporuna göre; *Salmonella* pozitif bulunan kümeslerin %26,4’ü insan sağlığı açısından önemli bulunan beş hedef serovar (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Infantis*, *S. Hadar*) yönünden pozitifdir. Hedef serovarların prevalansı 2017’de %0,57 iken, 2018 yılında %0,54’e gerilemiştir. Tespit edilen en yaygın serotip %0,25 oranla *S. Enteritidis* olmuştur. Tüm kümes hayvanlarının içinde olduğu; yumurtalardan ve kümes ortamından alınan örneklerde *Salmonella* pozitiflerin oranını sırasıyla %58 ve %24,5’lik oranla *S. Enteritidis* oluşturmaktadır (EFSA ve ECDC, 2019).

Hijyen ve sanitasyondaki gelişmelere rağmen tifoidal olmayan *Salmonella* enfeksiyonlarının giderek artması, endüstrileşmiş ve az gelişmiş ülkelerde büyük bir yük oluşturmaktadır (Eng ve ark., 2015).

Salmonella’nın bulaşması ve yayılması kolay olmakla birlikte, horizontal ve vertikal yolları seyreder. Horizontal bulaşmada fekal-oral yol ve solunum yolu etkindir. *Salmonella* *Enteritidis* insanlarda yumurta kaynaklı *Salmonellozis* vakalarında baskın serotiptir. Ancak vertikal bulaşma *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Gallinarum*, *S. Infantis* ile enfekte olan kümes hayvanlarında kritik düzeyde öneme sahiptir. Çünkü ovaryumlarında lokalize olarak, persiste enfeksiyona neden olmaktadır. Sonrasında oviduktta gelişmekte olan yumurta, transovarian yolla enfekte olur. Aynı zamanda *S. Enteritidis* kloakadan üreme organlarına geçerek yumurtalara erişip, enfeksiyona neden olabilmektedir. Bu şekilde süregelen persiste

enfeksiyonların devamı halinde hastalık sürüden eradike edilemez ve kontamine yumurtalar, enfekte hayvanlar halk sağlığını tehdit eder (Oregon ve ark., 2010 ve Zamora-Sanabria ve Alvarado, 2017).

Bir ülkedeki laboratuvar verileri, halkın bir kesiminin sonuçlarını göstermektedir. Hatta bu sonuçlarla bazı ülkelerde popülasyon için ileriye dönük çalışmalar da yapılabilmektedir. Ancak küresel tahminlerin doğru hesaplanması neredeyse imkânsızdır. Çünkü gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere birçoğu yetersiz gözlem verisine sahiptir (Majowicz ve ark., 2010).

S. Enteritidis ile mücadelede canlı attenüe ve cansız aşılar tavuklara uygulanmaktadır. Kümeslerde yapılan aşılama ile *S. Enteritidis* tarafından enfekte olan tavuk sayısını ve yumurta bulaşma oranını önemli ölçüde azalttığı kanıtlanmıştır (Zamora-Sanabria ve Alvarado, 2017).

1.5. *Salmonella* ile Mücadele ve Kontrol Programları

İşletmelerde bulunan *Salmonella* oranının tespit edilmesi, düzenli aralıklarla kontrolünün yapılması; uygulanacak *Salmonella* kontrol programlarında önem arz etmektedir. Ayrıca işletmenin yetiştiricilik tipi (yumurtacı, broiler vs.), işletmenin laboratuvarı mevcut ise altyapısı veya hizmet alınacak laboratuvarın seçilmesi, işletmedeki bulaşma kaynaklarının belirlenmesi ve tüm bunların analizinin yapılması; değerlendirilmesi kontrol programında önemli yer tutmaktadır. Entegrasyonun *Salmonella* pozitiflik oranı %40'ın üzerindeyse yüksek, %10-40 ise orta, %10'un altında ise düşük kabul edilip; kontrol programı belirlenir. Böylelikle işletmelerdeki son ürünlerdeki *Salmonella* pozitifliği azalır; daha fazla sağlıklı son ürün elde edilecektir (Akan, 2008).

Ülkemizde Tarım ve Orman Bakanlığı'nın 2018 yılında başlatmış olduğu, Ulusal *Salmonella* Kontrol Programı (USKP) dâhilinde ülke çapında halk sağlığını tehdit eden *Salmonella* serotiplerinin tespit edilmesi, sıklığının taranması ve oranının

düşürülmesi amaçlanmıştır. USKP, *Salmonella* ve Belirlenmiş Diğer Gıda Kaynaklı Zoonotik Etkenlerin Kontrol Altına Alınması Yönetmeliği'nce; Türkiye'de gıda amaçlı üretilen yumurtacı ve broiler tavuklar, damızlık kanatlılar ve hindileri kapsamaktadır. Halk sağlığı açısından önem arz eden *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* sıklığının %1'in altına düşürülmesi hedeflenmektedir (Anonim, 2018a).

USKP projesi *Salmonella* sıklığının düşürülmesi ve iyi çiftlik uygulamaları için; çiftliklerde hijyen ve dezenfeksiyona önem verilmesi, rutin kontrollerin olması, enfeksiyonları önlemeye yönelik tedbirlerin alınması, hayvan nakillerinde hijyenin korunması ve haşere kontrolünün yapılması gibi tedbirleri önermektedir (Anonim, 2018a).

EFSA ve ECDC'nin 2019 yılında açıkladığı raporda; Campylobacteriosis'ten sonra ikinci en yaygın zoonoz hastalık Salmonellozis'tir. 2018 yılında Avrupa'da 91,857 Salmonellozis vakası bildirilmiş olup; 2017 yılında da benzer seviyede olduğu saptanmıştır. *Salmonella* salgınlarının büyük çoğunluğunu *S. Enteritidis*'in neden olduğu; 2013'te keskin bir düşüş (21,721 vaka) görüldükten sonra 2018 yılında en yüksek düzeyde (32,727 vaka) olduğu belirtilmiştir. 2018 yılında bir önceki yıla kıyasla *S. Enteritidis* vakalarının %36,3 artış gösterdiğini belirtilmiştir. Bu salgınların başlıca kaynağını yumurta ve yumurta ürünleri ile unlu mamuller oluşturmaktadır. Gıdalarda en yüksek *Salmonella* pozitiflik oranı, kanatlı etlerinde pişirme öncesi tespit edilmiştir. Raporda 2014 yılından 2018 yılına kadar *Salmonella* pozitif tespit edilen kanatlı hayvan sayısı artışa geçmekle birlikte, son ürünlerinde (et, süt vb.) tespit edilen pozitiflik azalmıştır (EFSA ve ECDC, 2019).

Avrupa ülkelerinde *Salmonella* izlenmesi çiftlik hayvanları, yemlerini vb. kapsayan gıda zinciri boyunca, kesimhane ve kesimhane sonrasını kapsamaktadır. Avrupa Birliği (AB), *Salmonella* oranını azaltma amaçlı kanatlı hayvanlarda *Salmonella* Ulusal Kontrol Programları (NCP) düzenlemektedir. Bu programlarla *S. Enteritidis*, *S. Infantis* gibi hedef serovarların azaltılmasına yönelik çalışma yürütülmektedir (EFSA ve ECDC, 2019).

Avrupa Birliği'nde 18 ülkede insanlardan izole edilen *S. Enteritidis* izolatları siprofloksasine karşı orta ve yüksek düzeyde dirence sahip olduğu tespit edilmiştir. 2018 yılı süresince insanlardan izole edilmiş olan *Salmonella* spp. ve *S. Enteritidis* izolatlarının siprofloksasin direnci sırasıyla %12,5 ve %13,1 oranındadır. *Salmonella* spp. izolatları %4,6'lık oranla yüksek düzey siprofloksasin direnci göstermiştir (EFSA, 2020).

Yapılan araştırmalar ile dünya genelinde 2010 yılında 93,800.000 Salmonellozis vakasının görülmesi ile birlikte bu vakaların 155,000'i ölümle sonuçlanmıştır (Sırıken ve Türk, 2013). Halk Sağlığı Uzmanları Derneği'nin 2012 yılı raporunda Türkiye'deki 2002 yılında görülen 24,390 vakanın, 2011 yılında ise 26'ya düştüğünü belirtmişlerdir. Bunun sebebinin bildirim sisteminin değişmesi ve uygulanan projelere bağlı olduğu vurgulanmıştır (Anonim, 2012).

2007-2010 yılları arasında Ulusal Kontrol Programlarının başlamasıyla birlikte *Salmonella* pozitif sürülerin dağılımı yavaş artma eğiliminde olduğu görülmektedir. Bu durum farklı yetiştiricilik kategorilerinde değişiklik göstermektedir; örneğin hindi yetiştiriciliğinde bu artış daha belirgindir. Ancak 2007-2018 yılları arasında hedef *Salmonella* serovarlarının prevalansında azalma eğilimi görülmektedir, bu eğilim hindi yetiştiriciliğinde son beş yıldır dengelenmiştir (Anonim, 2018a).

Gıda çeşitliliği açısından değerlendirilecek olursa en çok *Salmonella* izolasyonu broyler sürülerinden gerçekleştirilmektedir (Sırıken ve Türk, 2013). Yapay tatlı su sistemlerinde en az 56 gün hayatta kalabilmelerinin yanında, broyler kümeslerinde ise *Salmonella* etkenleri en az 1 yıl varlığını sürdürebilirler (Zamora-Sanabria ve Alvarado, 2017).

Kanatlı üretiminde *Salmonella* aşılamaalarının gerekliliği ve öneminin belirtildiği çalışmada maternal antikor varlığında broyler ve yumurtacı civcivlerde ilk 3 haftalarında *S. Enteritidis* enfeksiyonuna yakalanmadıkları gözlenmiştir. Aynı

zamanda *S. Enteritidis*'in ihbarı mecburi kanatlı hayvan hastalıklarına dâhil edilip; eradikasyon programına alınması gerekliliği savunulmuştur (Türkyılmaz ve ark., 2007).

Salmonella'nın standart laboratuvar teşhisinin zaman alıcı olması izolasyonunu zorlaştırmaktadır (Zahrei Salehi ve ark., 2007). *Salmonella* cinsine özgü bir sekansa sahip, önemli bir virülans geni olan *invA* geni; *Salmonella*'nın teşhisinde PCR metodu için uygun bir hedef haline getirmektedir. Bu sebeple klinik ve subklinik enfeksiyonlarda PCR metodu ile teşhisi gerçekleştirilebilmektedir. Bahsedilen *invA* geninin virülanstaki rolünü sağlayan görevi konak epitel hücrelerine invazyonu sağlayan proteini kodlamaktır (Ghoddusi ve ark., 2019).

Kemirgenler, sinekler, hamamböcekleri tesisler arasında hastalık etkeninin taşınmasında büyük rol oynar. Çiftliklerde çoğunlukla sineklerden *Musca Domestica* görülmekte ve zoonoz etkenlerle ilişkilendirilmektedir. Sineklerin kilometrelerce uçabilmesi ile etken büyük alanlarda yayılım gösterebilmektedir. Yazlık sinekler *S. Typhimurium*'u 10 güne kadar taşıyabilmektedir (Zamora-Sanabria ve Alavarado, 2017).

Kemirgenler *Salmonella*'yı herhangi bir belirti göstermeden intestinal sistemlerinde bulundurabilirler. Ayrıca yüksek orandaki üreme kabiliyetleri ve kümesler arası dolaşmaları sebebiyle enfeksiyonu kolaylıkla yayabilmektedirler. Yoğun kemirgen popülasyonuna sahip kümeslerde az olanlara göre daha fazla *S. Enteritidis* ve *S. Infantis* izole edilmektedir. Kemirgenler dışkıları ile 3 aya kadar etkeni çevrelerine saçabilirler. Bu durum; 3 haftalık civcivlerin, 5 ay önce yapay olarak *S. Enteritidis* ile kontamine edilmiş farelerden enfekte olabilmesi ile ispatlanmıştır (Zamora-Sanabria ve Alavarado, 2017).

Aynı zamanda çiftliğe gelen ziyaretçi sayısı ile enfeksiyon sıklığı arasında pozitif bir ilişki kurulmuştur. Çünkü insanlar kıyafet, ayakkabı, burun, farinks veya sindirim sistemlerinde *Salmonella* patojenlerini taşıyabilmektedirler. Bu nedenle

kümeslerin, yıkama alanlarına ve tuvaletlere erişiminin kısıtlanması koruyucu bir önlemdir (Jajere, 2019 ve Zamora-Sanabria ve Alavarado, 2017).

Salmonella'nın morbiditesinin ciddiyeti yapılan bir çalışma ile *Salmonella* insidensi %5 olan bir tavuk sürüsü, başka bir sürü ile bir araya getirildiğinde 3 hafta içinde yeni sürünün *Salmonella* insidensinin %72-95'i bulması ile saptanmıştır (Byrd ve ark., 1998).

Hayvan yemleri kümeslere, çiftliklere girip, hayvanlara gıda yoluyla geçip ardından tüketiciye kadar ulaşabilen *Salmonella* enfeksiyonları için bir araç görevi görebilir. Dünyanın birçok ülkesinde yemlerde *Salmonella* kontrolüne dair programlar yürütülmektedir. Örneğin Costa Rica'da bitmiş yemler ve tüm yem bileşenleri kayıt altına alınmaktadır. Ayrıca Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından *Salmonella* yönünden denetlenmektedir; yemlerde hiçbir *Salmonella* serovarının bulunmaması gerekmektedir. Bunların tersine Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'nin hayvan gıdalarında *Salmonella*'nın kontrolü için yem alacak hayvan türünde hastalık yapan serovardan arı olması yeterlidir. Örneğin kanatlı yemlerinde *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis ve *S. Gallinarum* bulunmaması gerekmektedir (Zamora-Sanabria ve Alavarado, 2017).

Günümüzde enterik ateşle mücadelede önleyici tedbirlerde temiz, güvenli gıda ve suya erişim, uygun sanitasyon ve tifo aşılı önceliği korumaktadır. Bu nedenle içme ve kullanma suyunun hijyeninin sağlanması *Salmonella*'nın bulaşma yollarının kaldırılmasında ana hedeftir. Suyu ek olarak *Salmonella* etkenlerinin süt ürünleri, yumurta gibi hayvansal gıdalarda bulunması sebebiyle; yiyeceklerin uygun şekilde işlenmesi, pişirilmesi önemle önerilen önlemlerdendir. Ayrıca gıda ışınlaması, gıda kontaminasyonu riskini azaltmada konusundaki efektif etkileri nedeniyle birçok ülkede teşvik edilmektedir. Ancak gıda ışınlama teknolojisi, WHO ve CDC dâhil olmak üzere halk sağlığı kuruluşları tarafından onaylanmasına rağmen; radyoaktivite riski nedeniyle Avrupa ve ABD'deki bazı bölgelerde kısmen kullanılmaktadır (EFSA ve ECDC, 2019 ve Eng ve ark., 2015).

Uygulanan aşılamlar *Salmonella*'ya karşı spesifik bir önlemdir ve enfeksiyona karşı direnci artırır, sorunları ortadan kaldırmaya yetmez. Ancak biyogüvenlik prosedürleri, sürüye *Salmonella*'dan arı hayvanların eklenmesi ile birlikte yapılan aşılamlar anlamlı sonuç verebilmektedir (Zamora-Sanabria ve Alavarado, 2017).

Kanatlı hayvan tesislerinde kümesler, yüzeyler ve kontamine çiftliklerde *Salmonella* etkenleri seviyelerini aylarca koruyabilmesi sebebiyle dezenfeksiyon ve temizlik çok önemlidir. Kümeslerde tavanlar, kafesler, yumurta taşıma bantları, gübre bantları, yem olukları, hava girişleri, fanlar ve erişimi zor olan alanlar düzenli olarak temizlenmeli. Ayrıca sıkça kullanılan holler, yumurta paketlenme odaları, yumurta depolama odaları, ofisler, tuvaletlerin de kontamine olabileceği göz ardı edilmemelidir (Martínez-Martínez, 2016 ve Zamora-Sanabria ve Alavarado, 2017).

Yıkama işleminden sonra dezenfektanların yüksek basınçlı sprey, köpük veya fumigasyon ile uygulanması çevresel kontaminasyonun büyük ölçüde önüne geçer. *Salmonella*'ya karşı uygun bir dezenfektan seçilmeli, organik madde varlığında kalıntı bırakmama özelliklerine dikkat edilmelidir. Ayrıca dezenfektan uygulamalarının hemen sonrasında, *Salmonella* çoğalmasına izin veren su aktivitesini azaltmak için kümeslerin kurutulması büyük önem taşımaktadır. Dezenfektan olarak sodyum hipoklorit ve dörtlü amonyum bileşikleri kullanılabildiği gibi; potasyum permanganat, etanol, klorheksidin diglukonat da gösterdikleri yüksek etkinlik sebebiyle tercih edilebilir (Zamora-Sanabria ve Alavarado, 2017).

1.6. Antibiyotiğin Keşfi ve Antimikrobiyal Direnç

Bakteri, mantar, aktinomisetler gibi mikroorganizmalar tarafından üretilen veya sentetik olarak da hazırlanan, bakterilerin gelişmesini engelleyen veya onları öldüren maddelere “antibiyotik” denir. Antibiyotiğin kullanımı ile modern tedavi yöntemleri dönemi, Alexander Fleming'in 1928 yılında penisilinin keşfiyle başlamıştır. Antibiyotikler doğal, sentetik ve yarı sentetik olabilir ve istenmeyen bakteri gelişimini önleme amaçlı, bakteriyel hastalıkların tedavisinde

kullanılmaktadır. Etki şekline göre de bakterileri öldürenler (bakterisid) ve bakteri üreme gelişmesini durduranlar (bakteriyostatik) olarak ikiye ayrılmaktadır. İlk grupta β -laktamlar, nitrofuran, polimiksinler, sülfonamid-trimetoprim gibi antibiyotikler bulunurken; ikinci grupta fenikoller, linkozamidler, tetrasiklinler, makrolidler bulunmaktadır. Tedavide kullanımlarının yanı sıra; hayvanlarda profilaktik, büyüme ve gelişmeyi destekleme amaçlı yem katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır (Cansızoglu ve Toprak, 2017; Ghoddusi ve ark.,2019; Jajere, 2019; Kaya, 2014 ve Ventola, 2015).

Antimikrobiyal direnç; mikroorganizmaların maddelerin etkilerini, farklı mekanizmalar ile inhibe etmelerini önleme yeteneğidir. İlk antimikrobiyal direnç belirtisini Abraham ve Chain isimli bilim insanları, penisilinin keşfinden kısa bir zaman sonra bir *Escherichia coli* suşunun penisilinaz üreterek penisilini inaktive ettiğinin tespit edilmesi ile ortaya çıkmıştır (Lobanovska ve Pilla, 2017).

Bakterilerde antibiyotiklerin mekanizmasını engellemeye yönelik direnç geliştirme eğilimi vardır. Direnç gelişim süreci ise basamak basamak, gen mutasyonları yoluyla oluşmaktadır. Antibiyotikler selektif baskıyı indükler ve genler oluşan bu selektif baskı ile birlikte hareket eder. Antibiyotiklerin, bakteri gelişimini etkili bir şekilde inhibe edememesiyle bakterilerin antibiyotik direnci oluşur. Antibiyotik direnci geliştiren bakteriler, terapötik seviyede ilaç varlığında da çoğalmaya devam eder. Antibiyotiklere karşı direnç, antibiyotiklerin gen hedeflerini değiştiren mutasyonlar yoluyla bir bakteri tarafından edinilebilir. Böylece antibiyotik etkileri hedefine ulaşamaz. Direnç, antibiyotiğin hücreye girmesini sınırlamak, antibiyotiği hücrenin içine girdikten sonra çıkarmak veya antibiyotiği etkisiz hale getirmek için bakteriyel edinim yoluyla da elde edilebilir. Bakterilerin, genetik materyallerini plazmidler aracılığı ile direkt aktarabilme yetenekleri vardır. Bu yetenekleri ile de doğal seleksiyonun direncin geliştiği tek mekanizma olmadığını kanıtlamaktadırlar (Hershberg, 2017; Laxminarayan ve Brown, 2001; Levy, 1993 ve Lowy, 2003).

Antibiyotiklerin yanlış ve bilinçsiz kullanımı sonucu oluşan direnç nedeniyle tedavi başarısızlıkları, tedavi süresinin uzaması, cerrahi müdahale ve kemoterapide başarı şansının düşmesi, artan mortalite oranları gibi ciddi şekilde halk sağlığını tehdit edici unsurlar oluşmuştur. Bakteriler bir ya da daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli olabilmektedir. Antimikrobiyal direnç ile ilgili yapılan bazı çalışmalar ile 400 farklı bakteride yaklaşık 20,000 direnç geni bulunduğu gösterilmiştir (Founou ve ark., 2016; García-Feliz ve ark., 2008; Ghoddusi ve ark., 2019 ve Yavari, 2012).

Antimikrobiyal direnç birçok yolla oluşmaktadır, ancak bunları doğal ve edinsel olmak üzere iki ana mekanizma ile sınıflandırılabilir. Doğal direnç, bakterinin sahip olduğu mekanizmaları kapsamaktadır; permeabilitesi değişmiş hücrenin dış zarı, yüksek aktiviteye sahip efluks pompaları gibi. Edinsel direnç ise horizontal gen transferi, biyofilm oluşumu gibi mekanizmalar ile gerçekleşmektedir. Plazmid, transpozon, integron gibi yapılarla gerçekleşen yatay gen transferi ile de kazanılmış olan antibiyotik direnci kolaylıkla ve hızla yayılmaktadır (Bhagirath ve ark., 2019 ve White ve ark., 2001). *Salmonella*'nın biyofilm oluşturmaları; dezenfektanlara, antibiyotiklere ve diğer dış etkenlere karşı direncinin olmasını sağlar. Örneğin içme sularında mevcut bulunması ile de içenlerde ve borularda da biyofilm oluşumuna rastlamak mümkündür (Zamora-Sanabria ve Alvarado, 2017).

Salmonella'da quorum sensing, LuxS/ AI-2 sistemini içeren; hücre iletişim sistemlerinden en önemlisi olarak kabul edilen asil- homoserin laktonu (AHL)'na sahiptir. *Salmonella*, AHL üretmemekle birlikte; LuxR'nin homoloğu ve düzenleyici bir protein olan *SdiA*'yı içermektedir. *SdiA*, insan komplementlerine karşı direnç gösteren bazı genleri düzenler ve *Spi-1* genlerini ve virülansta rol alan diğer genleri aktive ederek antibiyotik dirençliliğinde rol oynamaktadır (Pui ve ark., 2011).

Salmonella serovarları arasında antimikrobiyal direnç etkenlerinin aktarılması ve yayılmasında hareketli DNA öğelerinin rolü büyüktür. Bu öğeler *Salmonella*'nın antimikrobiyal direnç genlerini taşır ve bunları konjugasyon yolu ile aktarabilmektedir (Saravanan ve ark., 2015).

Antibiyotik kullanımının başlaması 1940'lı yıllarda ciddi bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde büyük ilerlemeler kaydetti. Ancak, yaklaşık on yıllık kullanım sonunda penisiline karşı oluşmaya başlayan direnç problem yarattı. Kısa bir süre sonra beta-laktam antibiyotiklerin keşfi ve kullanıma sunulması ile antibiyotik kullanımı tekrardan artmaya başladı (Ventola, 2015).

Antibiyotiklerin profilaktik ve büyüme gelişmeyi artırıcı olarak kullanılması 50 yılı aşkın süredir vardır. Bunun sonucunda da 1970'li yıllarda *Salmonella* prevalansı %0,6 iken 1996 yılında bu oran %34'e ulaşmıştır. *Salmonella*'nın ilk antimikrobiyal direnci 1960'larda, kloramfenikole karşı olduğu bildirilmiştir. Sonrasında devam eden antibiyotiklerin yanlış kullanımı, kolay erişilebilirliği ile dirençli *Salmonella* serotipleri giderek artmıştır. Ülkeden ülkeye direnç prevalansı, eğilimi vs. değişiklik gösterse de Amerika Birleşik Devletleri'nde *Salmonella*'nın yaklaşık 100,000 antibiyotik dirençli enfeksiyona neden olduğunun bilinmesi durumun ciddiyetini göstermektedir (Jajere, 2019; Singh ve ark., 2013 ve Tuncer, 2007).

Profilaktik ve büyüme gelişmeyi destekleyici olarak kullanılan antibiyotiklerin sınırlandırılması için ilk olarak 1969 yılında İsveç'te adım atılmıştır. Kullanımı sınırlandırılmış olan antibiyotikler çiftlik hayvanlarında ilk kez İsveç'te 1986 yılında tamamen yasaklanmıştır. Ardından 1970'de Avrupa Birliği geçici sınırlandırmalar başlatmıştır; İngiltere'de ise tetrasiklin ve penisilin yasaklanmıştır. 1998 yılında Danimarka ve İsviçre'de antibiyotik büyüme faktörlerinin tümünü yasaklamıştır. Avrupa Birliği'nde ise 1 Ocak 2006 itibarıyla antibiyotik büyüme faktörleri tümüyle yasaklanmıştır. Bu karar ülkemizde ise 21 Ocak 2006 tarihinde verilmiştir. FDA'nın yeni antimikrobiyal ilaçların güvenilirliğinin değerlendirilmesi amacıyla hazırladığı bir rehberde, 1 Ocak 2006 tarihinden sonra dünya genelinde üretilen kanatlı yemlerinin %80'inden fazlasının antibiyotik büyüme faktörü içereceğini belirtmiştir. Bu açıklamanın sebebi ise ABD, Tayland, Brezilya gibi dünyada kanatlı üreticiliğinin büyük bir kısmını oluşturan ülkelerde antibiyotiklerin yem katkısı olarak kullanımı konusunda resmi bir yasaklamanın bulunmamasıdır (Tuncer, 2007).

Salmonella serotiplerinin antimikrobiyal ilaçlara karşı sahip olduğu direnç, birinci basamak olarak kullanılmakta olan kloramfenikol, ampisilin, trimetoprim-sülfametoksazol gibi antibiyotiklerdir. Tifoidal olmayan *Salmonella* serotiplerinin dünya çapında birinci ve ikinci basamak antibiyotiklere karşı çoklu ilaç direnci (MDR) vardır. MDR'ye sahip *Salmonella* serovarlarına 2000'li yıllar itibarıyla rastlanmaya başlamıştır. MDR *Salmonella* suşlarının hayvan dışkıyla kontamine yiyecek veya su alımı, direkt temas ve enfekte hayvanların tüketilmesi ile hayvanlardan insanlara geçerek yüksek bir zoonotik hastalık riski oluşturmaktadır. İnsanlara transferi bu şekilde kolay olması nedeniyle de oranı küresel olarak artış göstermektedir (Eng ve ark., 2015 ve Jajere, 2019). Ata ve ark. (2015), yaptıkları çalışma ile izole ettikleri *Salmonella* izolatlarında %46,4'lük MDR oranı ile bu artışı ispatlamaktadır.

Araştırmalar göstermektedir ki, MDR fenotipini gösteren *Salmonella* serotiplerinin, farklı hibrit plazmit türleri üretme kabiliyetleri vardır. Bu plazmitlerin içerisindeki gen kasetleri, kloramfenikol, tetrasiklin, ampisilin gibi geleneksel antibiyotiklere karşı direnç sağlayan genlerden oluşmaktadır. *gryA* geninin kinolon direncini belirleyen bölgelerinde kromozomal mutasyon sonucu düşük duyarlılığa sahip *Salmonella* serotipleri ortaya çıkmıştır (Eng ve ark., 2015).

Salmonellozis vakalarında uygulanan antimikrobiyal tedavilerde florokinolonlar, örneğin siprofloksasin veya üçüncü nesil geniş spektrumlu sefalosporinler reçete edilmektedir. Ancak antimikrobiyal dirençli izolatlarda tedavi bakteriyemi veya tedavi başarısızlığı gibi sonuçlar getirebilmektedir. Florokinolonlara ve sefalosporinlere karşı giderek artan direnç sebebiyle son zamanlarda *Salmonella* enfeksiyonlarının tedavisinde azitromisin kullanımı artmıştır. Ancak CLSI, tifoidal olmayan *Salmonella* enfeksiyonlarının tedavisi için azitromisinin bir kırılma noktası olduğuna dair bir açıklaması bulunmamaktadır (Angelo ve ark., 2016).

MDR'ye sahip *Salmonella* serotiplerinin giderek artması hayvanlarda ve insanlarda bakteriyel enfeksiyonların şiddetini artırmıştır. Epidemiyolojik çalışmalar

da göstermektedir ki, bu serotipler duyarlı serotiplerden daha ciddi ve uzun süren hastalık tablosuna neden olmakta; ayrıca duyarlı serotiplere göre virölansları da yüksektir (Eng ve ark., 2015).

Salmonellozis olgularında minimal enfeksiyon dozu, bireyin immun sistemine, suşun virölansına ve gıda yapısına bağlı olarak farklılıklar gösterse de genel olarak 10^6 kob olarak bildirilmiştir (Sırıken ve Türk, 2013).

Giderek artan ve durdurulması gittikçe zorlaşan antimikrobiyal direncin kontrol altına alınmasında etkili bir mekanizma bulunması için *Salmonella* serovarlarının epidemiyolojileri ile insan ve hayvanlardaki antimikrobiyal direnç seviyelerinin araştırılması gereklidir (Ghoddusi ve ark., 2019).

Antimikrobiyal dirence sahip bakteriler ile mücadelede Avrupa Birliği ülkeleri birçok plan ve eylemde bulunmuştur. Antimikrobiyal ajanların hayvancılıkta büyüme gelişmeyi destekleyici olarak kullanımının yasaklanması, belirlenen zoonotik patojenlerin AMR'sinin takibine yönelik mevzuat hazırlanması gibi çalışmalar bunlardan bazılarıdır (Tuncer, 2007).

1.6.1. *Salmonella*'larda Sipprofloksasin Direnci

Sipprofloksasinler, ofloksasin, nalidiksik asit gibi antibiyotikler ile birlikte kinolon grubunda yer almaktadır. Bu gruptaki bazı önemli türler flor içerdiği için florokinolonlar olarak da isimlendirilmektedir (Kaya, 2014).

Salmonella enfeksiyonlarının tedavisinde öncelikli olarak florokinolon grubuna dâhil olan sipprofloksasinler tercih edilmektedir (Çilli ve ark., 2006). Sipprofloksasinin sahip olduğu hızlı bakterisid etkisi, klinik olarak etkili ve iyi tolere edilebilir olması ciddi *Salmonella* enfeksiyonlarında tercih edilmesinin başlıca sebepleridir. Bu

nedenle de şiddetli gastroenteritislerin ilk belirtisinde öncelikle uygulanması tercih edilen gruptur (Pers ve ark., 1996 ve Pui ve ark., 2011).

Siprofloksasinlerde iki tip direnç mekanizması vardır. Bunlardan biri; topoizomeraaz IV'ün alt biriminde bulunan *gyrA* ve *gyrB*'nin kinolon direncini belirleyen bölgedeki hedef mutasyonlar ile oluşur. Diğer mekanizma ise sistem regülatörlerini kontrol eden genlerdeki mutasyonlar boyunca AcrAB-TolC akış sisteminin aşırı ekspresyonu ile kinolonlara duyarlılıklarında azalma olmaktadır (Baucheron ve ark., 2004; Cloeckert ve Chaslus-Dancla, 2001 ve Olliver ve ark., 2005). Genel olarak siprofloksasin gibi florokinolonların bakteriyel direnç gelişimine hedef gen mutasyonları aracılık etmektedir; *gyrA* genindeki çift mutasyonlara ve *Salmonella*'daki *parC* genindeki tek mutasyona bağlanmasıyla direnç gelişir (Chen ve ark., 2019).

Antibiyotiklerin hedef genlerindeki mutasyonlar ve çoklu ilaç direncine sahip efluks pompalarının aşırı aktivasyonu, antibiyotik etkisi olmadığında dirençli serovarların düşük büyüme oranları ve virulansı ile ilişkilendirilmiştir. Bunlara ek olarak mevcut direnç seviyesini düşürmemek için telafi edici mutasyonlar ile de gerçekleştirilebilir (O'regan ve ark., 2010).

Tifoidal olmayan *Salmonella* vakalarında görülen siprofloksasinin azalmış duyarlılığı tedavisi için problem yaratmaktadır. Azalan duyarlılığı tedavi esnasında gelişebildiği gibi, mevcut sınırı tedavide göz ardı edildiğinde eşik değeri kırılabilir. Bu mekanizmaların gerçekleştiği invaziv enfeksiyonlarda siprofloksasin tedavisi olumsuz sonuçlanmaktadır (O'regan ve ark., 2010).

S. Enteritidis'in yüksek seviyedeki siprofloksasin direnci ile ilişkili olan düşük büyüme oranı, azalan hareketlilik, pH ve ozmotik basınç gibi çevresel streslere karşı artan duyarlılık gibi etkenler intestinal sisteme kolonizasyonunu olumsuz etkileme ihtimalini yükseltir. Bu sebeple de dirençli klonların yayılımını sınırlandırabilir (O'regan ve ark., 2010). Ancak insan ve hayvanlarda antimikrobiyallerin kullanımı

ile dirençli klonların yayılması ve klon içerisinde direnç genleri oluşması bu selektif direnç gelişiminin şiddetini artırabilir (EFSA, 2020).

Bu çalışmanın amacı insan sağlığını olumsuz etkileyen siprofloksasin direncinin, tavuk orijinli *S. Enteritidis* suşlarındaki oranının saptanmasıdır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. *Salmonella* İzolatları

Bu tez çalışmasında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan sağlanan 200 adet kanatlı orijinli *Salmonella* Enteritidis suşu kullanıldı. Suşlar çalışmaya kadar -80°C’de saklandı. Standart suş olarak *Salmonella enterica* ATCC 13076 suşu kullanıldı.

2.1.2. Besiyerleri

Ksiloz Lisin Deoksikolat Agar (XLD), etken için selektif katı besiyeri olarak kullanıldı (Oxoid, CM0469). İdentifikasyon aşamasında genel besiyeri olarak Nutrient Agar (NA) kullanıldı (Oxoid, CM0003). Biyokimyasal testler; H₂S, glukoz, laktoz, sukroz, indol, gaz oluşumu, VP, lizin dekarboksilaz, β- galaktosidaz (ONPG), üre hidrolizi yönünden değerlendirilmesi, Microgen™ GnA+B-ID System test kitleri ile yapıldı. Uygulanacak biyokimyasal testlerde, bakteriyi süspanse etme amacıyla Phosphate Buffered Saline (Oxoid, BR0014G) kullanıldı. Antibiyogram testleri için Mueller-Hinton Agar (MH) kullanıldı (Oxoid, CM0337).

2.1.3. Antibiyotik Diski: Antibiyotik duyarlılık testlerinde CLSI’nın önerdiği konsantrasyonda siprofloksasin diski (CIP; 5µg) Oxoid marka kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.1. Suşların Aktive Edilmesi

Dondurulmuş suşlar, eritildikten sonra birer öze dolusu alınarak; XLD agara ekimi yapıldı. Etüvde 24 saat 37°C’de inkubasyon sonunda; siyah merkezli, şeffaf çevreli parlak kolonilerden birer tane seçilerek NA’a biyokimyasal testler ve serolojik doğrulamalar için pasajı yapıldı. Tekrar 37°C’de 24 saatlik inkubasyona kaldırıldı.

2.2. İdentifikasyon

Elde edilen saf kültürler biyokimyasal analizleri için ISO 6579-1 standardında yer alan; glukoz (+), laktoz (-), sukroz (-), gaz (+), H₂S (+), üre hidrolizi (-), indol oluşumu (-), VP (-), lizin dekarboksilaz (+), β- galaktosidaz(ONPG) (-) testleri uygulandı. Bu amaçla Microgen™ GnA+B-ID System test kitleri kullanıldı. Biyokimyasal testler için NA’daki saf kültürden alınan koloniler, 3 ml steril %0.85’ lik FTS içinde süspanse edildi. Süspansiyondan test kitinin her bir kuyucuğuna 100 µL damlatıldı. Ayrıca 1, 2, 3, 9 numaralı kuyucuklara 3-4 damla steril mineral yağ damlatıldı. Sonrasında testin üzeri kitin içerisinden çıkan bir şerit ile örtülerek, 37°C’de 24±2 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyonun sonunda şerit çıkarılarak; 8. kuyucuğa kovaks ayracı, 10. kuyucuğa önce VP I ayracı ardından da VP II ayracı damlatılıp, son olarak da 12 numaralı kuyucuğa ise TDA ayracı damlatıldı. Ayraçların eklenmesi tamamlandıktan sonra oluşan renk değişiklikleri, renk skalasına göre değerlendirildi. Renk şeması yardımıyla tüm pozitif ve negatif sonuçlar GnA+B-ID rapor formuna kaydedildi.

Çizelge 2.1: Biyokimyasal test sonuçları (ISO6579-1:2017)

Biyokimyasal Test	Test Sonucu
İndol oluşumu	-
Lizin dekarboksilaz	+
ONPG	-

Üre hidrolizi	-
H ₂ S	+
Glukoz	+
Laktoz	-
Sukroz	-

2.3. Serotiplendirme

Salmonella serotiplendirmesi, biyokimyasal testleri sonucu pozitif çıkan izolatların antijenik yapısı incelenerek White-Kauffmann- Le Minor şemasına göre gerçekleştirildi.

Salmonella pozitif olarak tespit edilen suşlar, *Salmonella* polivalan O antiserumu ile tek tek lam aglütinasyon testine tabii tutuldu. Aglütinasyon veren suşlara, polivalan O serumunun içerdiği grupların serumları ile tekrardan lam aglütinasyon testi uygulandı. Bunun sonucunda ise suşun serolojik grubu tayin edildi.

Serolojik grubu tespit edilen suşların, tip tayini için flagella antijeninin kuvvetlendirilmesi amacı ile Cragie tüpündeki %0,2'lik besi yerine inokule edilip; 37°C' de 18-24 saat inkubasyon sonucunda tüpteki üremenin görülmesi beklendi. Ardından taze olarak hazırlanan %0,2'lik agar 30 ml olarak petri kutularına döküldü. Cragie tüpündeki kültürün dış yüzeyinden bir damla kültür alınıp, soğumuş olan besiyerinin tam ortasına ekildi ve 37°C'de 18-24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda, üreyerek petriyi kaplayan kültürün en dış kenarından bir damla alınıp 1/100 oranında serum fizyolojik ile sulandırılmış H antiserumu ile lam aglütinasyon testi uygulandı. Test sonucunda aglütinasyon verdiği antiserum ya da antiserumlarına göre suşun tipi tespit edildi.

2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Antibiyotik direncinin belirlenmesi için, izolasyonu yapılan *S. Enteritidis* suşları CLSI'nın önerdiği Disk Difüzyon metoduna uygun yapıldı. Buna göre suşlar, steril FTS içerisinde McFarland Tüp No:0,5 esas alınarak seyreltildi. Sonrasında taze kültürden Mueller Hinton Agar'a 0,1 ml yayma tarzında ekimleri yapıldı. Ekimi yapılan suşların agar yüzeyine tam olarak nüfuz etmesi için 5-10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Ardından her bir agarın ortasına siprofloksasin (CIP; 5µg) antibiyotik diski yerleştirildi.

İşlemleri tamamlanan besi yerleri 24 saat boyunca 37°C'lik etüvde inkube edildi. İnkubasyon sonrası ise antibiyotik disklerinin zon çapları ölçüldü ve CLSI standartlarına göre değerlendirildi.

CLSI standartlarına göre *Salmonella* suşlarının siprofloksasin (CIP; 5µg) duyarlılık zon çapı (mm) aşağıdaki şekilde değerlendirildi (CLSI, 2013):

Dirençli (R)= ≤ 15

Orta derece duyarlı (I)= 16-20

Duyarlı (S)= ≥ 21

3. BULGULAR

3.1. İdentifikasyon ve Serotiplendirme Bulguları

Türkiye’deki tavuk kümes ve çevresel numunelerden izole edilen 200 adet *S. Enteritidis* suşları kullanıldı.

CLSI standardına uygun olarak yapılan disk difüzyon antibiyogram değerlendirmeleri sonucunda elde edilen *S. Enteritidis* suşlarının 160 adedi (%80) siprofloksasine karşı dirençli bulunurken, 40 adedi (%20) ise orta duyarlı olduğu saptandı.

Test edilen suşlara ait zon çapı ölçüleri ve değerlendirmeleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1: Disk difüzyon çapları

Zon Çapı (mm)	Adedi	Dirençlilik Durumu
0	1	R
2	1	R
5	1	R
7	1	R
8	3	R
9	7	R
10	8	R
11	12	R
12	22	R
13	30	R
14	36	R
15	38	R
16	16	I
17	18	I
18	6	I

4. TARTIŞMA

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı verilerine göre, insan sağlığı için önemli olan *Salmonella* serotipleri arasında *S. Enteritidis* nedenli enfeksiyonların diğer serotiplere göre oldukça yüksek düzeyde olduğu ve ilk sırada olduğu görülmektedir. Siprofloksasin, *Salmonella* enfeksiyonlarının tedavisinde en sık tercih edilen antibiyotiktir. Bu nedenle *S. Enteritidis* suşlarında siprofloksasin direncinin belirlenmesine yönelik çalışmalar önemlidir. Bu tez çalışmasında, tavuk orijinli *S. Enteritidis* izolatlarında siprofloksasin direnci, disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Yapılan tez çalışmasında incelenen tavuk orijinli 200 adet *S. Enteritidis* izolatının 160 adeti (%80), siprofloksasine dirençli olduğu saptanmıştır.

Ülkemizde *Salmonella* serotiplerinin sıklığı ve antibiyotik direnci ile ilgili en önemli bilgi kaynağı, 2018 yılında başlatılan Ulusal Salmonella Kontrol Programı'dır. Bu programın oluşturulması için yürütülen projede elde edilen verilere göre, ülkemizde siprofloksasinin yetiştirme tiplerinde direnç farklılıkları bulunmaktadır. Broyler, yumurtacı ve hindi kümeslerinden izole edilen *Salmonella* izolatlarının siprofloksasin dirençleri sırasıyla %7,1, %31,5 ve %5,3'tür. Fakat bu izolatların içerisindeki *S. Enteritidis* serotiplerine karşı siprofloksasin direnci ayrıca bulunmamaktadır. Bu veriler 2014-2017 yılları arasında USKP için yapılmış survey çalışmasının sonucunu yansıtmaktadır (Anonim, 2018a). Projede elde edilen siprofloksasin direnci ile bu tez çalışmasında elde edilen direnç karşılaştırıldığında belirgin derece farklılık bulunmaktadır. Bu fark, projede farklı üretim birimlerinden toplanan 13,000'den fazla numunedan izole edilen farklı serotiplerde siprofloksasin direncinin saptanmış olması ile açıklanabilir.

EFSA ve ECDC (2020)'nin yayınlamış olduğu 2017-2018 yıllarını kapsayan "İnsanlar, hayvanlar, gıdalardan alınan zoonotik ve indikatör bakterilerin

antimikrobiyal direnci”ni gösteren raporunda *Salmonella* türlerine karşı yüksek siprofloksasin direncine rastladıklarını belirtmişlerdir. En yüksek oranı broyler ve hindi sürülerinde sırasıyla %51,8 ve %42,7 olarak tespit edilmiştir. Broyler ve yumurtacı tavuklardan izole edilen *S. Enteritidis* izolatları sırasıyla %66,7 ve %83,8’lik oranla antibiyotiklere tam duyarlı olduğu gösterilmiştir. Avrupa Birliği ülkelerindeki *S. Enteritidis* suşlarının siprofloksasin direnci, yapılan tez çalışmasındaki elde edilen direnç sonuç ile benzerlik göstermektedir.

Chen ve ark. (2019), tavuk etlerinden *Salmonella* izolasyonu ve direnç araştırması sonucunda; Çin’de *Salmonella*’ya karşı siprofloksasin direnci insidansının son yıllarda %30-40’a ulaşacak kadar keskin bir artışa sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Ancak izolasyonun yapıldığı numunelerin orijinlerinin farklı olması, bu çalışmada elde edilen direnç aradaki farkın en büyük nedeni olduğu düşünülmektedir.

Dekker ve ark. (2019) Almanya’da yaptıkları çalışmada Gana’da tavuk karkaslarından alınan örneklerden izole edilen *Salmonella* spp. izolatlarının %63’ünde siprofloksasin direnci tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen yüksek siprofloksasin direnci ile tez çalışması bulguları birbirine benzerdir.

Lin ve ark. (2015), çalışmada kullandığı 82 *Salmonella* suşunda %39 siprofloksasin direnci tespit etmiştir. Domuzların, tavuklara kıyasla daha fazla siprofloksasin direncine sahip oldukları belirtilmiştir. Ayrıca serotipe göre direnç farklılığı olduğu gözlenmiştir. İzole ettikleri 4 adet *S. Enteritidis* suşunda siprofloksasin direncine rastlanmamıştır. Çalışmada gıda örneklerinden alınan numunelerin antimikrobiyal direnç durumlarının, yapılan çalışma ile örtüşmemesi; farklı hayvan türlerine ait gıda maddelerinden örnekleme yapılması ve kullanılan *S. Enteritidis* suş sayısının ortalama değer yansıtamayacak kadar az olması nedenine bağlandı.

O'regan ve ark. (2009) ABD'de yapılan bir çalışma ile *S. Enteritidis* gibi izolatların siprofloksasine karşı düşük duyarlılığa sahip olduğunu, ancak CLSI standartlarına göre duyarlı aralığında bulunduğu göstermişlerdir. Florokinolonlara karşı artan direncin tedavi başarısını düşürdüğünü; ayrıca Enterobacteriaceae'ya kıyasla *Salmonella* izolatlarında siprofloksasin direncinin daha düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Yukarıda verilen çalışmaların yapıldığı ülkelerde izolatların farklı olması, numune orijinlerinin ve numune türlerinin aynı olmaması nedeniyle direnç farklılığı gözlemlendiği düşünülmüştür.

Türkiye'de yapılan benzer çalışmalarda; Şahan ve ark. (2016) *S. Enteritidis* izolatlarının siprofloksasine direncine rastlanmadığını bildirmişlerdir.

Yener ve ark. (2012) yaptığı çalışma ile özellikle Ankara ve çevresinden aldıkları numunelerden yaptıkları *Salmonella* izolasyonu sonucunda; izolatların %59'unun çoklu antibiyotik direncine sahip olduğu görülmüş ve %49'unda siprofloksasin direnci tespit edilmiştir.

Yapılan bu tez çalışması ile kanatlı orijinli *S. Enteritidis* suşlarında siprofloksasine karşı %80 direnç tespit edilmiştir. Türkiye'de Şahan ve ark. (2016) ve Yener ve ark. (2012) yapılan çalışmalarda bildirilen sonuçlara göre farklılığın nedenleri, numunelerin orijinleri, yetiştirme tipi ve aradaki zaman farkından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca antimikrobiyal direncin araştırılmasında kullanılan yöntem de farklılığın nedeni olabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmasında kanatlı orijinli *S. Enteritidis* suşlarında %80 oranında siprofloksasin direnci tespit edilmiştir. Siprofloksasin direncinin yüksek düzeyde saptanması, insan sağlığı ve insanlarda bu enfeksiyonların tedavisi bakımından önemli bir bulgu niteliği taşımaktadır.

Tez çalışmasıyla saptanan yüksek siprofloksasin direnci sonrasında aşağıdaki öneriler yapılmıştır.

Salmonella Enteritidis başta olmak üzere *Salmonella* serotiplerinde siprofloksasin direncinin, farklı kanatlı yetiştiricilik tiplerine göre izlenmesine yönelik çalışmalar yapılmalıdır.

Siprofloksasin direncinin mekanizmasını belirlemeye yönelik araştırmaların yapılması yararlı olacaktır.

Siprofloksasin direncinin artmasına neden olan faktörlerin araştırılması, bu antibiyotiğe direncin azaltılmasına katkıda bulunacaktır.

İnsanlarda *S. Enteritidis* nedenli enfeksiyonların tedavisinde siprofloksasin tercih edilmesi aşamasında direnç durumu saptanmalıdır.

ÖZET

Tavuk Orijinli Salmonella Enteritidis Suşlarında Siprofloksasin Direncinin Araştırılması

Dünya çapında insan sağlığını olumsuz etkileyen gıda kaynaklı enfeksiyonların büyük çoğunluğunu oluşturan tavuk orijinli *Salmonella* Enteritidis suşlarının, siprofloksasin direncinin saptanması amaçlandı.

Çalışmada, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan alınan 200 adet *S. Enteritidis* suşu konfirmasyon amaçlı identifikasyon ve White-Kauffman- Le Minor şemasına göre serotiplendirme işlemleri uygulandı. *S. Enteritidis* olduğu doğrulanan suşların; CLSI standardına uygun olarak disk difüzyon metodu ile antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı ve değerlendirildi.

Antibiyoqram değerlendirmeleri sonucunda tavuk orijinli *S. Enteritidis* izolatlarının 160 adeti (%80) siprofloksasine karşı dirençli bulunurken, 40 adeti (%20) ise orta duyarlı olduğu saptandı.

Tavuk orijinli *S. Enteritidis* suşlarında saptanan yüksek düzey siprofloksasin direnci; insan sağlığı ve insanlarda görülen *Salmonella* enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir bulgudur. Siprofloksasin direncinin artmasına neden olan faktörlerin ve mekanizmasının araştırılması, yetiştiricilik tiplerine göre *S. Enteritidis* sıklığının ve antibiyotik direncinin izlenmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, *Salmonella* Enteritidis, Tavuk

SUMMARY

Investigation of Ciprofloxacin Resistance in *Salmonella* Enteritidis Strains of Chicken Origin

It was aimed to determine ciprofloxacin resistance of *Salmonella* Enteritidis strains of chicken origin, which constitute the majority of foodborne infections that adversely affect human health worldwide.

In the study, 200 *S. Enteritidis* strains obtained from Ankara University Faculty of Veterinary Medicine Microbiology Department culture collection were confirmed for confirmation and serotyping according to the White-Kauffman-Le Minor scheme. Strains confirmed to be *S. Enteritidis*; Antibiotic susceptibility tests were performed with the disk diffusion method in accordance with the CLSI standard and evaluated.

Antibiogram evaluation result of *S. Enteritidis* isolates of chicken origin, 160 (80%) while resistant to ciprofloxacin, 40 (20%) were found to be sensitive to the medium.

High level of ciprofloxacin resistance detected in *S. Enteritidis* strains of chicken origin; human health and the treatment of *Salmonella* infections in humans is a significant finding. It was concluded that investigating the factors and mechanism causing ciprofloxacin resistance increase, *S. Enteritidis* frequency and antibiotic resistance should be monitored according to the breeding types.

Key Words: Antibiotic resistance, *Salmonella* Enteritidis, Chicken

KAYNAKLAR

- AKAN, M. (2008). Kanatlılarda salmonella infeksiyonları ve kontrolünde temel prensipler. *Mektup Ank.*, **6**, 3-4.
- ANGELO, K. M., REYNOLDS, J., KARP, B. E., HOEKSTRA, R. M., SCHEEL, C. M., FRIEDMAN, C. (2016). Antimicrobial resistance among nontyphoidal *Salmonella* isolated from blood in the United States, 2003–2013. *J Infect Dis.*, **214**, 1565-1570.
- ANONİM (2012). Halk Sağlığı Uzmanları Derneği Türkiye Halk Sağlığı Raporu. Erişim: [http://halksagligiokulu.org/anasayfa/components/com_booklibrary/ebooks/Turkiye_Saglik_Raporu_2012.pdf]. Erişim tarihi:24.04.2020
- ANONİM (2014). USDA-FSIS. Serotypes profile of *Salmonella* isolates from meat and poultry products January 1998 through December 2014.
- ANONİM (2018a). T.C. Gıda Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Ulusal *Salmonella* Kontrol Programı. Erişim:[<https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/Veteriner%20Hizmetleri/USKP.rar>]. Erişim tarihi: 24.04.2020
- ANONİM (2018b). T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Erişim:[<https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/bulasici-hastaliklar/salmonella/salmonella-liste/salmonella-istatistik.html>]. Erişim tarihi: 24.04.2020
- ATA, Z., DİNÇ, G., YIBAR, A., MÜŞTAK, H. K., ŞAHAN, Ö. (2015). Extended spectrum beta-lactamase activity and multidrug resistance of *Salmonella* serovars isolated from chicken carcasses from different regions of Turkey. *Ank Üni Vet Fak Derg.*, **62**, 119-123.
- BAUCHERON, S., CHASLUS-DANCLA, E., CLOECKAERT, A. (2004). Role of TolC and parC mutation in high-level fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT204. *J Antimicrob Chemother.*, **53**, 657-659.
- BHAGIRATH, A. Y., LI, Y., PATIDAR, R., YEREX, K., MA, X., KUMAR, A., DUAN, K. (2019). Two component regulatory systems and antibiotic resistance in Gram-negative pathogens. *Int J Mol Sci*, **20**, 1781.
- BOHEZ, L., DUCATELLE, R., PASMANS, F., BOTTELDOORN, N., HAESEBROUCK, F., VAN IMMERSEEL, F. (2006). *Salmonella enterica* serovar Enteritidis colonization of the chicken caecum requires the HlyA regulatory protein. *Vet Microbiol.*, **116**, 202-210.
- BRENNER, F. W., VILLAR, R. G., ANGULO, F. J., TAUXE, R., SWAMINATHAN, B. (2000). *Salmonella* nomenclature. *J Clin Microbiol.*, **38**, 2465-2467.
- BYRD, J. A., CORRIER, D. E., DELOACH, J. R., NISBET, D. J., STANKER, L. H. (1998). Horizontal transmission of *Salmonella typhimurium* in broiler chicks. *J Appl Poult Res.*, **7**, 75-80.

- CANPOLAT S. (2007). Çeşitli hayvan dışkılarında *Salmonella* etkenlerinin konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle saptanması. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- CANSIZOGLU, M. F., TOPRAK, E. (2017). Fighting against evolution of antibiotic resistance by utilizing evolvable antimicrobial drugs. *Curr genet.*, **63**, 973-976.
- CHEN, K., DONG, N., CHAN, E. W. C., CHEN, S. (2019). Transmission of ciprofloxacin resistance in *Salmonella* mediated by a novel type of conjugative helper plasmids. *Emerg microbes Infect.*, **8**, 857-865.
- CLOECKAERT, A., CHASLUS-DANCLA, E. (2001). Mechanisms of quinolone resistance in *Salmonella*. *Vet Res.*, **32**, 291-300.
- CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute (2013). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 23rd informational supplement M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, PA
- ÇİLLİ, F., AYDEMİR, Ş., AKINCI, P., TÜNGER, A. (2006). *Salmonella enterica* kökenlerinde azalmış siprofloksasin duyarlılığı ve nalidiksik asit tarama testi. *İnf Derg.*, **20**, 103-6.
- DEKKER, D., EİBACH, D., BOAHEN, K. G., AKENTEN, C. W., PFEİFER, Y., ZAUTNER, A. E., OWUSU-DABO, E. (2019). Fluoroquinolone-resistant *Salmonella enterica*, *Campylobacter* spp., and *Arcobacter butzleri* from local and imported poultry meat in Kumasi, Ghana. *Foodborne Pathog Dis.*, **16**, 352-358.
- EFSA (2020). European Food Safety Authority, & European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017/2018. *EFSA Journal*, **18**, e06007.
- EFSA and ECDC (2018). European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal*, **16**, e05500.
- EFSA and ECDC (2019). European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, **17**, e05926.
- ENG, S. K. , PUSPARAJAH, P., AB MUTALİB, N. S., SER, H. L., CHAN, K. G., LEE, L. H. (2015). *Salmonella*: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Sci.*, **8**, 284-293.
- FOUNOU, L. L., FOUNOU, R. C., ESSACK, S. Y. (2016). Antibiotic resistance in the food chain: a developing country-perspective. *Frontiers in microbiol.*, **7**, 1881.
- GARCÍA-FELIZ, C., COLLAZOS, J. A., CARVAJAL, A., HERRERA, S., ECHEITA, M. A., RUBÍO, P. (2008). Antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolates from apparently healthy and clinically ill finishing pigs in Spain. *Zoonoses Public Health.*, **55**(4), 195-205.

- GHODDUSI, A., NAYERI FASAEI, B., ZAHRAEI SALEHI, T., AKBAREIN, H. (2019). Serotype Distribution and Antimicrobial Resistance of Salmonella Isolates in Human, Chicken, and Cattle in Iran. *Arch Razi Inst.*, **74**, 259-266.
- HERSHBERG, R. (2017). Antibiotic-independent adaptive effects of antibiotic resistance mutations. *Trends Genet.*, **33**, 521-528.
- İZGÜR, M. (2006). *Salmonella* İnfeksiyonları In: *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*, Ed: N. Aydın, J. Paracıkoğlu, Ankara. s:116-121.
- İZGÜR, M. (2002). *Salmonella* İnfeksiyonları In: *Kanatlı Hayvan Hastalıkları*. s: 41-53.
- JAJERE, S. M. (2019). A review of Salmonella enterica with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Vet World.*, **12**(4), 504.
- KAYA, S. (2014). Veteriner Farmakoloji, 6. Baskı, 13. Bölüm s:323-665.
- LAXMINARAYAN, R., BROWN, G. M. (2001). Economics of antibiotic resistance: A theory of optimal use. *Jenviron Econ Manage*, **42**:183–206.
- LEVY, S. B. (1993). The antimicrobial paradox. How miracle drugs are destroying the miracle, *N Eng J Med York Plenum Press.*, **328**:1792.
- LIN, D., CHEN, K., CHAN, E. W. C., CHEN, S. (2015). Increasing prevalence of ciprofloxacin-resistant food-borne Salmonella strains harboring multiple PMQR elements but not target gene mutations. *Sci Rep.*, **5**, 1-8.
- LOBANOVSKA, M., PILLA, G. (2017). Focus: Drug Development: Penicillin's Discovery and Antibiotic Resistance: Lessons for the Future?. *YJBM*, **90**, 135.
- LOWY, F. D. (2003). Antimicrobial resistance: the example of Staphylococcus aureus, *J Clin Invest*, **111**:1265–1273.
- MAJOWICZ, S. E., MUSTO, J., SCALLAN, E., ANGULO, F. J., KIRK, M., O'BRIEN, S. J., International Collaboration on Enteric Disease “Burden of Illness” Studies. (2010). The global burden of nontyphoidal Salmonella gastroenteritis. *Clin Inf Dis.*, **50**, 882-889.
- MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, S., YUBERO-DELGADO, S., RODRÍGUEZ-FERRI, E. F., FRANDOLOSO, R., ÁLVAREZ-ESTRADA, Á., GUTIÉRREZ-MARTÍN, C. B. (2016). In vitro efficacy of several disinfectants against Salmonella enterica serovar Enteritidis and Escherichia coli strains from poultry. *Cièn Rural*, **46**, 1438-1442.
- MILLER, M. B., BASSLER, B. L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol.*, **55**, 165-199.
- OLLIVER, A., VALLÉ, M., CHASLUS-DANCLA, E., CLOECKAERT, A. (2005). Overexpression of the multidrug efflux operon *acrEF* by insertional activation with IS1 or IS10 elements in Salmonella enterica serovar Typhimurium DT204 *acrB* mutants selected with fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother.*, **49**, 289-301.

- O'REGAN, E., QUINN, T., FRYE, J. G., PAGES, J. M., PORWOLLIK, S., FEDORKA-CRAY, P. J., FANNING, S. (2010). Fitness costs and stability of a high-level ciprofloxacin resistance phenotype in *Salmonella enterica* serotype enteritidis: reduced infectivity associated with decreased expression of *Salmonella* pathogenicity island 1 genes. *Antimicrob Agents Chemother.* **54**, 367-374.
- PERS, C., SØGAARD, P., PALLESEN, L. (1996). Selection of multiple resistance in *Salmonella enteritidis* during treatment with ciprofloxacin. *Scand J Infect Dis*, **28**, 529-531.
- POPPE, C., JOHNSON, R. P., FORSBERG, C. M., IRWIN, R. J. (1992). *Salmonella* Enteritidis and other *Salmonella* in laying hens and eggs from flocks with *Salmonella* in their environment. *Canadian J Vet Res.*, **56**, 226.
- PUI, C. F., WONG, W. C., CHAI, L. C., TUNUNG, R., JEYALETCHUMI, P., HIDAYAH, N., SON, R. (2011). *Salmonella*: A foodborne pathogen. *Int Food Res J.*, **18**.
- RAMBACH, A. (1990). New plate medium for facilitated differentiation of *Salmonella* spp. from *Proteus* spp. and other enteric bacteria. *Appl Environ Microbiol.*, **56**, 301-303.
- SAHAN, O., ARAL, E. M., ADEN, M. M. A., AKSOY, A., YILMAZ, Ö., JAHED, R., & AKAN, M. (2016). Türkiye'deki broyler tavuk işletmelerinden izole edilen *Salmonella* serovarlarının antimikrobiyal direnç durumu.
- SARAVANAN, S., PURUSHOTHAMAN, V., MURTHY, T. R. G. K., SUKUMAR, K., SRINIVASAN, P., GOWTHAMAN, V., KUCHIPUDI, S. V. (2015). Molecular epidemiology of Nontyphoidal *Salmonella* in poultry and poultry products in India: implications for human health. *Indian J Microbiol.*, **55**, 319-326.
- SINGH, R., YADAV, A. S., TRİPATHİ, V., SINGH, R. P. (2013). Antimicrobial resistance profile of *Salmonella* present in poultry and poultry environment in north India. *Food Cont.*, **33**, 545-548.
- SIRIKEN, B., TÜRK, H. (2013). Poultry Meat and Salmonellosis. *Animal Health Prod and Hyg.*, **2**: 174-82.
- TUNCER, H. I. (2007). To Banned Usage of Hormones, Antibiotics, Anticoccidials and Drugs in Compound Animal Feed (A Review).
- TÜRKYILMAZ, S., SAVAŞAN, S., KIRKAN, Ş., OSMAN, K. (2007). Tavuklarda *Salmonella* Enteritidis enfeksiyonlarının Bakteriyolojik Ve Serolojik Yöntemlerle Teşhisi. *İst Üni Vet Fak Derg.*, **33**, 23-33.
- VENTOLA, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P.T.*, **40**, 277.
- WAGNER, C., HENSEL, M. (2011). Adhesive mechanisms of *Salmonella enterica*. In *Bacterial adhesion* s:17-34. Springer, Dordrecht.

- WHITE, D. G., ZHAO, S., SUDLER, R., AYERS, S., FRIEDMAN, S., CHEN, S., MENG, J. (2001). The isolation of antibiotic-resistant *Salmonella* from retail ground meats. *N Eng J Med.*, **345**, 1147-1154.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2007). Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars.
- WRAY C., WRAY A. (2000). *Salmonella in domestic animals*. CABI. s:1-2.
- YAVARI, L. (2012). Antibiotic Resistance in *Salmonella enterica* and the Role of Animal and Animal Food Control. *Umea Uni., USA*, **59**.
- YENER, B., AKCELIK, N., SANLIBABA, P., & AKCELIK, M. (2012). Çoklu ilaç dirençli *Salmonella* suşlarının tanısı. *Türk Hij Den Biyol Derg.*, 204.
- ZAHRAEI SALEHI, T., TADJBAKHS, H., ATASHPARVAR, N., NADALIAN, M. G., MAHZOUNIEH, M. R. (2007). Detection and identification of *Salmonella Typhimurium* in bovine diarrhoeic fecal samples by immunomagnetic separation and multiplex PCR assay. *Zoonoses Public Health.*, **54**, 231-236.
- ZAMORA-SANABRIA, R., ALVARADO, A. M. (2017). *Preharvest Salmonella risk contamination and the control strategies* s: 193.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Betül

Soyadı: Küçük

Doğum yeri ve tarihi: İzmir, 28/01/1992

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi: betulguncicekleri@gmail.com

Telefon: 05452893009

II- Eğitimi

2011-2017 Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

2006-2010 Seferihisar Anadolu Lisesi

1999-2006 Vali Kutlu Aktaş İlköğretim Okulu

Yabancı dili: İngilizce

III- Unvanları

Veteriner Hekim

IV- Mesleki Deneyimi

08/2018- Avitek Arge Laboratuvarı Deney Sorumlusu

2015-2018 Petcode Hayvan Hastanesi Veteriner Hekim

06/2014 VTM Hayvan Hastanesi Stajyer

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel Etkinlikleri

Seminer: Antibiyotik Dirençliliğinde Güncel Durum (2018)

