


## Yumurtacı Tavuklarda *Salmonella* İzolatlarının Tanısı ve Tiplendirilmesi <sup>[1][2]</sup>

Serpil KAHYA <sup>1</sup>  Burcu KESİN TUĞ <sup>1</sup> Seran TEMELLİ <sup>2</sup>  
K. Tayfun ÇARLI <sup>1</sup> Ayşegül EYİĞÖR <sup>2</sup>

<sup>[1]</sup> Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından [KUAP(V)-2013/8] desteklenmektedir

<sup>[2]</sup> Bu çalışmanın bazı bölümleri 7. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi (5-8 Haziran 2012, Ankara) ve X. Ulusal Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi'nde (24-27 Eylül 2012, Aydın) sunulmuştur

<sup>1</sup> Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TR-16059 Görükle, Bursa - TÜRKİYE

<sup>2</sup> Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, TR-16059 Görükle, Bursa - TÜRKİYE

Article Code: KVFD-2014-11425 Received: 18.04.2014 Accepted: 12.06.2014 Published Online: 06.08.2014

### Özet

Çalışmada, farklı yetiştirme dönemlerindeki yumurtacı tavuklarda *Salmonella* aranmasında farklı metotların değerlendirilmesi, elde edilen izolatların serotiplendirilmesi, ribotiplendirilmesi ve antibiyotiplendirilmesi ile *Salmonella* yaygınlığının belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla, 58 adet ticari yumurtacı tavuk kümesinden yetiştirilen 15., 25. ve 40. haftalık dönemlerinde alınan toplam 174 adet drag svap örneği, *Salmonella* varlığı açısından standart kültür metodu olan ISO (ISO 6579:2002/Amd 1:2007 - ISO) ve 2 farklı gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (rPCR) sistemi (Light Cycler SYBR Green I rPCR - LCSGlrPCR ve DuPont BAX Q7 rPCR - BAXrPCR) kullanılarak analiz edildi. İncelenen 58 kümesin 17 adedi (%29.31), 174 adet drag svap örneğinin 15. ve 25. haftalık dönemlerde 6'şar (%3.44 ve %3.44), 40. haftada ise 10 adedi (%5.74) olmak üzere toplam 22'si (%12.62) her 3 metotla *Salmonella* yönünden pozitif olarak bulundu. Elde edilen 22 adet *Salmonella* izolatının 20'sinin (%90.90) *Salmonella enterica* subsp. *enterica* olup 9'unun Enteritidis (SE) (%40.9), 7'sinin Infantis (SI) (%31.8), 1'inin Hadar (%4.5), 1'inin Montevideo (%4.5), 1'inin Colombo (%4.5) ve 1'inin de Spartel (%4.5) serovarı olduğu, 2'sinin (%9.10) ise *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* ile *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* alt türlerine ait olduğu belirlendi. Ayrıca izolatların test edilen 24 antibiyotiğin 23'üne karşı direnç oluşturduğu, en yüksek direnç oranının Ampicillin (%100), Neomycin (%100), Penicillin G (%100) ve Erythromycin'e (%95.45) karşı olduğu saptandı. Çalışmanın sonucunda, yumurtacı tavuklarda *Salmonella*'nın hızlı deteksiyonunda LCSGlrPCR ve BAXrPCR sistemlerinin ISO metodunu destekleyici olarak kullanılabilmesi, incelenen tüm yetiştirme dönemlerinde *Salmonella enterica* subsp. *enterica* varlığının yüksek olduğu belirlendi.

**Anahtar sözcükler:** *Salmonella*, Yumurtacı tavuk, Drag svap, ISO, Real-time PCR, Serotiplendirme, Ribotiplendirme, Antibiyotiplendirme

## Detection of *Salmonella* from Layer Flocks and Typing of the Isolates

### Abstract

This study aimed to evaluate different detection methods in determining *Salmonella* prevalence in layers of various rearing periods, and to serotype, ribotype and antibiotype the isolates. For this, 174 drag swab samples taken from 58 commercial layer flocks of 15, 25, and 40 week age were analyzed for *Salmonella* by ISO standard culture method (ISO 6579:2002/Amd 1:2007 - ISO) and by 2 real time polymerase chain reaction (rPCR) systems (Light Cycler SYBR Green I rPCR - LCSGlrPCR and DuPont BAX Q7 rPCR - BAXrPCR). Seventeen out of 58 (29.31%) flock samples, and 6 of the 15<sup>th</sup> and 25<sup>th</sup> weeks' (3.44% and 3.44%), and 10 (5.74%) of the 40<sup>th</sup> week's drag swab samples were *Salmonella* positive by all 3 methods. Twenty out of 22 *Salmonella* isolates (90.90%) were *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, including serovars of 9 Enteritidis (SE) (40.9%), 7 Infantis (SI) (31.8%), 1 Hadar (4.5%), 1 Montevideo (4.5%), 1 Colombo (4.5%), 1 Spartel (4.5%), and 2 subspecies (9.10%) as *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* and *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*. Also isolates showed resistance to 23 of 24 antibiotics, with the highest resistances to Ampicillin (100%), Neomycin (100%), Penicillin G (100%) and Erythromycin (95.45%). Results indicate that both LCSGlrPCR and BAXrPCR systems can be used to complement ISO method in rapid detection of *Salmonella* from layer chickens, and that there is high prevalence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in all rearing periods examined.

**Keywords:** *Salmonella*, Layer chicken, Drag swab, ISO, Real-time PCR, Serotyping, Ribotyping, Antibiotyping



İletişim (Correspondence)



+90 224 2940854



serpilkahya@uludag.edu.tr

## GİRİŞ

Ülkemizde ve dünyada kanatlı endüstrisinde önemli bakteriyel zoonoz hastalıklardan biri olan salmonellozis, yumurtacı tavuk yetiştiriciliğinde de hem ekonomik kayıplara neden olarak hem de kontamine ürün tüketimine bağlı oluşabilecek gıda zehirlenmeleri ile insan sağlığını olumsuz etkileyerek problem olmaya devam etmektedir [1].

*Salmonella* varlığının standart kültür metotları ile tespiti 5-11 gün sürmekte [2] bu nedenle etkenin özellikle yetiştirme dönemlerinde erken belirlenebilmesi ve gerekli önlemlerin alınabilmesi için daha kısa sürede sonuç veren hızlı ve ekonomik farklı deteksiyon sistemleri de kullanılmaktadır [3,4]. Kanatlı hayvanlara ait farklı örnek tiplerinde *Salmonella* aranması çalışmalarında, LightCycler SYBR Green I gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (LCSGlrPCR) sisteminin birçok kez güvenli olarak kullanıldığı bildirilmektedir [4-6]. *Salmonella* teşhisinde bir diğer gerçek zamanlı PCR sistemi olarak DNA'ya bağlanan boyalara alternatif bir sistem ile kullanıma hazır hedef-spesifik problu tabletleri içeren DuPont BAX *Salmonella* sisteminin (BAXrPCR) de çeşitli gıda, su, çevresel örnekler ve fekal örneklerde başarıyla kullanıldığı rapor edilmektedir [7-12].

Salmonellaların tiplendirilmesi, epidemiyolojik yönden kontrol önlemlerinin alınabilmesi açısından önem taşımaktadır. Klasik serotiplendirme, uygun laboratuvar şartları, uzmanlık, malzeme ve zaman gerektirdiği için sadece referans laboratuvarlarda gerçekleştirilebilmektedir. Ribotiplendirme bazı çalışmalarda, genotiplendirmede altın standart yöntem olarak kabul edilen Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) testi kadar duyarlı bulunamasa da, PFGE testinden çok daha kısa sürede sonuç vermesi, uzman personel ve laboratuvar şartlarına gereksinim göstermeyen kapalı otomotize bir sistem olması ile bir defada birçok örneğin çalışılmasını gerektiren epidemiyolojik çalışmalarda alternatif olması yönünden yaygın kullanım alanı bulmaktadır [13,14]. *Salmonella* tiplendirilmesinde kullanılan antibiyotiplendirme ile ilgili olarak son yıllarda yapılan çalışmalarda özellikle hayvan ve insan sağlığı açısından önem taşıyan antibiyotiklere karşı etkenin çoklu direnç geliştirdiği bildirilmektedir [15-17].

Bu çalışmayla, farklı yetiştirme dönemlerinde yumurtacı tavuklara ait drag svap örneklerinde *Salmonella* aranmasında ISO metodu ile LCSGlrPCR ve BAXrPCR sistemleri değerlendirilecek, elde edilen izolatların serotiplendirilmesi, ribotiplendirilmesi ve antibiyotiplendirilmesi ile yetiştiriciliğin yoğun olarak yapıldığı bölgelerde sağlıklı görünen yumurtacı tavuklardaki *Salmonella* yaygınlığı belirlenecektir.

## MATERYAL ve METOT

Çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu onayı (Karar No: 2011-02/04) ile gerçekleştirildi.

### *Salmonella* Standart Suşları

Antibiyotiplendirme dışında tüm analizlerde *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis 64K (M.Y. Popoff, Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, 75015 Paris Cedex 15, France) ve *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium NCTC 12416 (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara) pozitif kontrol olarak kullanıldı.

### Örnek

2013-2014 yılları arasında, Afyon, Balıkesir, Bursa, İzmir, Karaman, Konya, Manisa illerinde bulunan 58 farklı işletmeye ait (klinik semptom gözlenmeyen) yumurtacı tavuk kümeslerinden yetiştirmenin 3 farklı döneminde (15., 25. ve 40. haftalarda) 2'şer adet olmak üzere toplam 348 adet drag svap örneği alınıp soğuk zincir koşullarında laboratuvara getirilerek 2 saat içerisinde analize alındı [18].

### Kültür

Herbir kümese ait 2 drag svap örneği (ortalama 300 g) öncelikle steril polietilen bir poşet içerisinde dışarıdan elle masaj yapılarak homojenize edildi. Homojenize edilen bu örnekten steril olarak 25 g alındı ve ön zenginleştirme amacı ile içerisinde 225 ml Buffered Peptone Water ISO (BPW-ISO, Oxoid, CM1049B) bulunan steril polietilen poşette 37°C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda rPCR çalışmalarında kullanılmak üzere 1 ml örnek alınarak -20°C'de saklandı. Ön zenginleştirme aşamasındaki tüm izolasyon işlemleri ISO metoduna göre uygulandı [19]. Biyokimyasal identifikasyon ise API 20E (bioMerieux, Marcy L'Etoile 20120, France) kullanılarak gerçekleştirildi.

### Serotiplendirme ve Ribotiplendirme

O- ve H- grup antijen reaksiyonları temel alınarak, White-Kauffmann-Le Minor Şeması [20] ve Guibourdenche ve ark.'na göre [21] ticari antiserumlar (Becton Dickinson, USA) kullanılarak gerçekleştirildi. Ribotiplendirme otomatize Riboprinter sistemi (Dupont Qualicon, Wilmington, DE, USA) ile kullanım kılavuzunda belirtildiği şekilde uygulandı [22].

### Antibiyotiplendirme

*Salmonella* izolatlarının antibiyotik direnç profilleri disk agar difüzyon metodu ile belirlenerek Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)'a göre değerlendirildi [23]. Test edilen 24 antibiyotik ve konsantrasyonları: Amikacin (AK, 30 µg, Oxoid CT0107B), Amoxycillin (AML, 10 µg, Oxoid CT0161B), Ampicillin (AMP, 10 µg, Oxoid CT0003B), Azithromycin (AZM, 15 µg, Oxoid CT0906B), Cefoxitin (FOX, 30 µg, Oxoid CT0119B), Ceftriaxone (CRO, 30 µg, Oxoid CT0417B), Cephazolin (KZ, 30 µg, Oxoid CT0011B), Chloramphenicol (C, 30 µg, Oxoid CT0013B), Ciprofloxacin (CIP, 5 µg, Oxoid CT0425B), Colistin (CT, 10 µg, Oxoid CT0017B), Doxycycline hydrochloride (DO, 30 µg, Oxoid CT0018B), Enrofloxacin (ENR, 5 µg, Oxoid

CT0639B), Erythromycin (E, 15 µg, Oxoid CT0020B), Forfenicol (FFC, 30 µg, Oxoid CT1754B), Gentamicin (CN, 10 µg, Oxoid CT0024B), Nalidixic acid (NA, 30 µg, Oxoid CT0031B), Neomycin (N, 30 µg, Oxoid CT0033B), Ofloxacin (OFX, 5 µg, Oxoid CT0446B), Oxytetracycline (OT, 30 µg, Oxoid CT0041B), Penicillin G (P, 10 units, Oxoid CT0043B), Streptomycin (S, 10 µg, Oxoid CT0047B), Sulphamethoxazole/Trimethoprim 19:1 (SXT, 25 µg, Oxoid CT0052B), Sulphonamides Compound (S3, 300 µg, Oxoid CT0059B), Tetracycline (TE, 10 µg, Oxoid CT0053B). Kontrol amaçlı olarak CLSI'da belirtilen *E. coli* (ATCC 25922) ve *S. aureus* (ATCC 25923) standart suşları kullanıldı [23].

### Primerler

LCSGIrPCR'da *Salmonella invA*-spesifik primerler [4,24], BAXrPCR'da ise DuPont BAX System PCR Assay for *Salmonella* 2 kiti (Part D14368501, DuPont, USA) PCR reagent tabletleri içeriğindeki primerler kullanıldı.

### Templeyt Hazırlama ve rPCR

LCSGIrPCR'da kaynatma metoduyla [4] hazırlanan templeyt DNA, BAXrPCR'da ise DuPont BAX System PCR Assay for *Salmonella* 2 kitinde (Part D14368501, DuPont, USA) belirtilen şekilde elde edilen DNA kullanıldı. LCSGIrPCR parametrelerinin uygulanması ve sonuç değerlendirilmesi Temelli ve ark.'na göre [4], BAXrPCR parametrelerinin uygulanması ve sonuç değerlendirmesi ise DuPont BAX System PCR Assay for *Salmonella* 2 kit (Part D14368501, DuPont, USA) bilgileri ile BAX sistem kullanım kılavuzunda belirtilen şekilde yapıldı.

### İstatistik

SPSS Windows (SPSS Inc. USA)'un 20.0 versiyonu [25] kullanılarak yapıldı. Farklı yetiştirme dönemlerine ait örneklerin *Salmonella* pozitiflik oranları üzerindeki etkisini belirlemek için Ki-Kare testi uygulandı. Değerler arasındaki olası farklılığın önem derecesi  $P < 0.05$  düzeyinde incelendi.

## BULGULAR

### Kültür

İncelenen toplam 58 kümesin 17 adedinin (%29.31), farklı yetiştirme dönemlerinde alınan 174 adet örneğin 15. ve 25. haftalık dönemlerde 6'şar adedi (%3.44 ve %3.44), 40. haftada ise 10 adedi (%5.74) olmak üzere toplam 22 adedi (%12.62) *Salmonella* yönünden pozitif olarak bulundu (Tablo 1).

### Serotiplendirme ve Ribotiplendirme

Yirmi iki adet *Salmonella* izolatının serotiplendirilmesi ve ribotiplendirilmesi sonrasında 20'sinin (%90.90) *Salmonella enterica* subsp. *enterica* olup 9'unun Enteritidis (SE) (%40.9), 7'sinin Infantis (SI) (%31.8), 1'inin Hadar

(%4.5), 1'inin Montevideo (%4.5), 1'inin Colombo (%4.5) ve 1'inin de Spatel (%4.5) serovarı olduğu, 2'sinin (%9.10) ise *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* ile *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* alttürlerine ait olduğu belirlendi (Tablo 1).

### Antibiyotiplendirme

İzolatların tümünde test edilen 24 antibiyotikten Amikacin haricinde 23'üne karşı direnç bulundu. En yüksek direnç oranının Ampicillin (%100), Neomycin (%100), Penicillin G (%100) ve Erythromycin'e (%95.45) karşı olduğu, test edilen diğer antibiyotiklerde bulunan direnç oranlarının ise azalan sırayla OT (%72.72), DO, CN, NA (%50), TE (%45.45), S3 (%40.90), ENR, FFC, S, SXT (%36.36), AZM, C (%31.81), FOX, KZ, CT (%22.72), CRO, CIP, OFX (%9.09) olduğu saptandı. Çoklu direnç (MDR) yönünden 22 izolattan 2'si en az 4 (AMP/E/N/P), 1'i en çok 18 adet antibiyotiğe karşı dirençli bulundu (Tablo 1).

### rPCR

LCSGIrPCR ve BAXrPCR sistemlerinin sonuçlarının kültür metodunda elde edilen sonuçlar ile aynı olduğu belirlendi (Tablo 1).

### İstatistiksel Bulgular

Farklı yetiştirme dönemlerine ait *Salmonella* pozitif bulunan örnekler arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı saptandı ( $P > 0.05$ ).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, yumurta tavukçuluğunun yoğun olduğu bölgelerde sağlıklı görünen sürülerde farklı metot ve sistemler ile *Salmonella* yaygınlığı değerlendirilerek elde edilen *Salmonella* izolatlarının alttür/serotipleri ile antibiyotik direnç profilleri belirlenmiştir.

İncelenmiş olan kümeslerin %29.31'inde *Salmonella* tespit edilmiş olup bu sonuç yumurtacı tavuk kümeslerinde *Salmonella* varlığını araştıran Eyigör ve ark.'nın [26] sonucu (%27.7) ile uyumlu iken Ata ve Aydın'ın [27] sonucundan (%12) yüksek bulunmuştur. Alınan drag svap örneklerindeki %12.62'lik *Salmonella* oranının ise benzer örnek tipi kullanılan çalışmalardan Eyigör ve ark.'nın [26] (%11.1) ile Pitesky ve ark.'nın [28] (%11.9) bulgularına paralel, Eyigör ve ark.'nın [6] bir diğer çalışmalarında elde ettikleri bulgudan (%4) yüksek, Zhang ve ark.'nın [29] sonucundan (%18) düşük olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda, 3 farklı yetiştirme döneminde uygulanan drag svap örneklemelelerinde 15. ve 25. haftalık dönemlerde daha düşük (%3.44), 40. haftada ise daha yüksek (%5.74) oranda *Salmonella* tespit edilmiş olmasına rağmen yapılan istatistiksel analiz sonrasında bu farkın önemli olmadığı saptanmıştır ( $P > 0.05$ ). Bulgularımıza benzer bir şekilde, Mahmud ve ark.'nın [17] tarafından *Salmonella* prevalansının yetiştirmenin 20-25. haftalarına



göre 40. ve sonrasındaki haftalarda daha yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı rapor edilmiştir. Pitesky ve ark.<sup>[28]</sup>, *Salmonella* insidansında yumurta tavuklarında ilerleyen haftalarda artış olduğunu ve dönemler arasındaki bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise Li ve ark.<sup>[15]</sup> yetiştirilen erken dönemlerinde (18. hafta) en yüksek oranda *Salmonella* prevalansı elde ettiklerini ancak bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını belirtmişlerdir. Bulgularımız ile diğer çalışmaların sonuçları arasındaki farklılıkların (1) örnekleme stratejisi (sadece rastgele örnekleme, programlı rastgele örnekleme ile belirlenen periyot/yaştaki tavuklardan belirli sıklıkla ve sayıda yapılan örnekleme), (2) örnekleme yapılan bölge(ler) ve mevsim, (3) tavuk ırkı, yetiştirme ve kümes özellikleri, (4) örnek tipi (drag swap, kloakal swap, barsak örneği, çevre örneği), (5) kullanılan test metodu (metot/sistem farklılıkları ile bunların duyarlılık, özgünlük, örneğe uyumluluğu) gibi değişkenlerin tekil ve/veya combine etkileşimlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmada kullanılan iki farklı hızlı deteksiyon sisteminin (LCSGIrPCR ve BAXrPCR) standart kültür metodu (ISO)'na paralel olarak, 174 örneğin 22 (%12.62)'sinde *Salmonella* pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Yumurtacı tavuklarda drag swap örneklerinde *Salmonella*'nın hızlı deteksiyonunda standart kültürü destekleyici olarak LCSGIrPCR'in test edildiği ve sonuç olarak bu sistemin kültür ile bire bir uyumlu olduğunu bildiren çalışmalar<sup>[6,26]</sup> bulgularımızı destekleyici niteliktedir. Bunun yanında çalışmamızla benzerlik gösteren Sommer ve ark.<sup>[12]</sup> tarafından rPCR ve BAXrPCR sistemleri ile ISO standart kültür metodunun kullanımlarının değerlendirildiği bir çalışmada, yumurtacı kümeslerden alınan bot swap örneklerinden aynı oranda, yüksek duyarlılık ve özgünlük ile *Salmonella* tespit edildiği bildirilmiştir. Ayrıca, Eriksson ve Aspan<sup>[3]</sup> çalışmalarının sonucunda, fekal örneklerden *Salmonella* tespitinde BAXrPCR'in ISO kültür metodundan sonra ikinci en iyi performansı gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda elde edilen izolatların tiplendirilmesi sonrasında, en yüksek oranda SE (%40.9) ve SI (%31.8) olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde ve dünyada SE'in en dominant serovar olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır<sup>[4,6,26,29,30]</sup>. 2012 yılında Lapuz ve ark.'nın<sup>[31]</sup> yumurtacı tavuklarda SE'i ve SI'i sırasıyla en yüksek (%7.14) ve ikinci en yüksek (%1.07) serovar olarak belirttikleri çalışma bulgularımıza paralellik gösterirken, S. serovar Kentucky'nin %62 oranında dominant serovar olarak rapor edildiği<sup>[15]</sup> ve S. serovar Infantis'in %11.1 ile en dominant serovar olarak bildirildiği<sup>[32]</sup> farklı çalışmalar da bulunmaktadır. Bulgularımız SE'in uygulanan aşılama programlarına rağmen ülkemizde halen yumurtacı tavuk kümeslerinde var olan en dominant serovar olduğunu göstermesi yönünden önem arz etmektedir.

İzole ettiğimiz salmonellaların tümünün Ampicillin

(%100), Neomycin (%100), Penicillin G (%100) ve Erythromycin'e (%95.45) karşı dirençli olduğu bulunmuştur. Salmonellaların antibiyotik dirençliliği ile ilgili kanatlı hayvanlarda yapılmış birçok çalışma bulunmakla birlikte özellikle çalışmamızda kullanılan örnek tipi temel alınarak bir değerlendirme yapıldığında, 2012 yılında Temelli ve ark.<sup>[16]</sup> tarafından yumurtacı tavuklardan elde edilen *Salmonella* izolatlarının Neomycin, Penicillin G ve Erythromycin'e karşı olan direnç bakımından bulgularımıza paralel ancak Ampicillin dirençliliği açısından bulgularımızdan farklı olarak düşük bulunduğu rapor edilmiştir. Aynı yılda Mahmud ve ark.'nın<sup>[17]</sup> yumurtacı tavuk kökenli *Salmonella* izolatlarında yaptıkları antibiyotiplendirme sonrasında, sırasıyla Penicillin G'ye ve Ampicillin'e karşı buldukları %100 ve %99'luk direnç oranları da bulgularımıza paralellik göstermektedir.

Çalışmada test edilen 24 antibiyotikten Amikacin haricinde 23'üne karşı izolatların tümünde direnç olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Temelli ve ark.<sup>[16]</sup> tarafından yapılan bir çalışmada Amikacin'e karşı düşük (%7.6) oranda bir direnç gözlemlendiğini rapor edilmiştir. Çoklu direnç yönünden 22 izolatın 2'si en az 4 (AMP/E/N/P), 1'i en çok 18 adet antibiyotiğe karşı dirençli bulunmuş olup bu antibiyotiklerin (aminoglikozid grubundan Neomycin, makrolid grubundan Erythromycin, penicillin grubundan Ampicillin ve Penicillin G) yapılan diğer çalışmalarda<sup>[16,17]</sup> da MDR profillerinde temel olarak yer aldığı tespit edilmiştir. Bu durumun, adı geçen bu antibiyotiklerin insan ve hayvan hekimliğinde bakteriyel infeksiyonlarda primer tedavi amacıyla sıklıkla ve yanlış olarak uygulanması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Çalışmanın sonucunda, yumurta tavukçuluğunun yoğun olduğu bölgelerde *Salmonella*'nın hızlı deteksiyonunda LCSGIrPCR ve BAXrPCR sistemlerinin ISO metodunu destekleyici olarak kullanılabileceği, tüm yetiştirme dönemlerinde *Salmonella* varlığının yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *Salmonella* izolatlarının büyük bir kısmının SE olduğu ve tamamına yakınının çoklu antibiyotik dirençliliği gösterdiği ortaya konulmuştur.

## KAYNAKLAR

1. CDC (Center of Diseases Control): Multistate outbreak of human *Salmonella* Enteritidis infections associated with shell eggs (Final Update). <http://www.cdc.gov/salmonella/enteritidis/index.html>, Accessed: 05.04.2014.
2. Saif YM, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE: *Salmonella* infection. In, Gast RK (Ed): Diseases of Poultry. 12<sup>th</sup> ed., 619-665, Blackwell Publishing, Iowa, 2008.
3. Eriksson E, Aspan A: Comparison of culture, ELISA and PCR techniques for *Salmonella* detection in faecal samples for cattle, pig and poultry. *BMC Vet Res*, 3, 1-19, 2007.
4. Temelli S, Kahya S, Eyigor A, Carli KT: Incidence of *Salmonella* Enteritidis in chicken layer flocks in Turkey: Results by real-time polymerase chain reaction and International Organization for Standardization culture methods. *Poultry Sci*, 89, 1406-1410, 2010.
5. Medici DD, Croci L, Delibato E, Pasquale SD, Filetici E, Toti L:

Evaluation of DNA extraction methods for use in combination with SYBR Green I Real-Time PCR to detect *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in poultry. *Appl Environ Microbiol*, 69, 3456-3461, 2003.

**6. Eyigor A, Goncagul G, Gunaydin E, Carli KT:** *Salmonella* profile in chickens determined by real-time polymerase chain reaction and bacteriology from years 2000-2003 in Turkey. *Avian Pathol*, 34, 101-105, 2005.

**7. Tomazelli IB, Freitas JB, Fabbri LM, Filipini TA, Silva CM, Bedin JM, Duarte DAM, Santos A, Baccarin A, Higa LRH, Yano DMY, Baccarin A, Higa LRG, Yano DMY, Killner M, Frezza ALC, Abecia ECG, Tronco VM, Junior OT, Junior WB:** Comparison of the BAX system PCR method to Brazil's official method for the detection of *Salmonella* in food, water and environmental samples. *J Food Prot*, 71, 2442-2447, 2008.

**8. Tice G, Andaloro B, Fallon D, Wallace FM:** Dupont qualicon BAX system polymerase chain reaction assay performance tested method 100201. *J AOAC Int*, 92, 1902-1905, 2009.

**9. Tice G, Andaloro B, White HK, Bolton L, Wang S, Davis E, Wallace M:** In-house validation study of the Dupont qualicon BAX system Q7 instrument with the BAX System PCR assay for *Salmonella* (Modification of AOAC Official Method 2003.09 and AOAC Research Institute Performance-Tested method 100201. *Vet Drug Res*, 92, 989-994, 2009.

**10. Löfström C, Kravse M, Josefsen MH, Hansen F, Hoorfar J:** Validation of a same-day real-time PCR method for screening of meat and carcasses swabs for *Salmonella*. *BMC Microbiol*, 9, 1-9, 2009.

**11. Franchin P, Ogliari PJ, Andrade DF, Chiapinoto M, Silva IGD, Batista CRV:** Comparison of the BAX system with an in house MRSV method for the detection of *Salmonella* in chicken carcasses and pork meat. *Braz J Microbiol*, 37, 521-526, 2006.

**12. Sommer D, Enderlein D, Antakli A, Schönenbrücher H, Slaghuis J, Redmann T, Lier M:** *Salmonella* detection in poultry samples. Comparison of two commercial real-time PCR systems with culture methods for the detection of *Salmonella* spp. in environmental and fecal samples of poultry. *Tierartl Prax*, 40, 383-389, 2012.

**13. Hollis RJ, Bruce L, Fritschel SJ, Pfaller MA:** Comparative evaluation of an automated ribotyping instrument versus Pulsed-field gel electrophoresis for epidemiological investigation of clinical isolates of bacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 34, 263-268, 1999.

**14. De Cesare A, Manfreda G, Dambaugh TR, Guerzoni ME, Franchini A:** Automated ribotyping and random amplified polymorphic DNA analysis for molecular typing of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* strains isolated in Italy. *J Appl Microbiol*, 91, 780-785, 2001.

**15. Li X, Payne JB, Santos FB, Levine JF, Anderson KE, Sheldon BW:** *Salmonella* populations and prevalence in layer feces from commercial high-rise houses and characterization of the *Salmonella* isolates by serotyping, antibiotic resistance analysis and pulsed field gel electrophoresis. *Poult Sci*, 86, 591-597, 2007.

**16. Temelli S, Kahya S, Eyigor A, Carli KT:** Antibiotic resistance phenotypes of *Salmonella* isolates of chicken meat and chicken origin. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 59, 107-114, 2012.

**17. Mahmud MS, Bari ML, Hossain MA:** Prevalence of *Salmonella* serovars and antimicrobial resistance profiles in poultry of Savar Area, Bangladesh. *Foodborne Path Dis*, 8, 1111-1118, 2011.

**18. Commission Regulation (EC) No 1168/2006:** Implementing Regulation No 2160/2003 as regards a community target for the reduction of the prevalence of certain *Salmonella* serotypes in laying hens of *Gallus gallus* and Amending regulation (EC) No 1003/2005.

**19. ISO:** Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the detection of *Salmonella* (EN ISO 6579:2002/Amd 1:2007). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 2007.

**20. Grimont PAD, Weill F, 2007:** Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars: White-Kauffmann-Le Minor Scheme. 9<sup>th</sup> ed. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. <http://www.pasteur.fr/ip/portal/action/WebdriveActionEvent/oid/01s-000036-089>. Accessed: 05.04.2014.

**21. Guibourdenche M, Roggent P, Mikoleit M, Fields PI, Bockemühl J, Grimont PA, Weill FX:** Supplement 2003-2007 (No.47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Res Microbiol*, 161, 26-29, 2010.

**22. Riboprinter Kullanım Kılavuzu:** [http://www2.dupont.com/Qualicon/en\\_US/products/RiboPrinter\\_System/](http://www2.dupont.com/Qualicon/en_US/products/RiboPrinter_System/) Erişim tarihi: 05.04.2014.

**23. CLSI:** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twentieth informational supplement, CLSI document M100-S20, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, 2010.

**24. Rahn K, De Grandis A, Clarke RC, McEwen SA, Galan JE, Ginocchio C, Curtiss R, Gyles CL:** Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella* Typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Mol Cell Probe*, 6, 271-279, 1992.

**25. SPSS:** Windows (SPSS Inc. USA) Version 20.0.

**26. Eyigor A, Carli KT, Unal CB:** Implementation of real-time PCR to tetrathionate broth enrichment step of *Salmonella* detection in poultry. *Lett Appl Microbiol*, 34, 37-41, 2002.

**27. Ata Z, Aydın N:** Ankara bölgesindeki tavukçuluk işletmelerinden *Salmonella* spp. izolasyonu. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 55, 161-166, 2008.

**28. Pitesky M, Charlton B, Bland M, Rolfe D:** Surveillance of *Salmonella enteritidis* in layer houses: A retrospective comparison of the food and drug administration's egg safety rule (2010-2011) and the California egg quality assurance program (2007-2011). *Avian Dis*, 57, 51-56, 2013.

**29. Zhang L, Yan Z, Ryser ET:** Comparison of the reveal test, the U. S. Food and Drug Administration culture method, and selective media for recovery of *Salmonella enteritidis* from commercial egg layer flock environments. *J Food Prot*, 69, 2766-2769, 2006.

**30. Van Hoorebeke S, Van Immerseel F, Schulz J, Hartung J, Harisberger M, Barco L, Ricci A, Theodoropoulos G, Xylouri E, De Vylder J, Ducatelle R, Haesebrouck F, Pasmans F, De Kruif A, Dewulf J:** Determination of the within and between and flock prevalence and identification of risk factors for *Salmonella* infections in laying hen flocks housed in conventional and alternative systems. *Prev Vet Med*, 94, 94-100, 2010.

**31. Lapuz RR, Umali DV, Suzuki T, Shiota K, Katoh H:** Comparison of the prevalence of *Salmonella* infection in layer hens from commercial layer farms with high and low rodent densities. *Avian Dis*, 56, 29-34, 2012.

**32. Iwabuchi E, Noriko M, Ayumi H, Masaaki N, Masatake M, Tameichi O, Katsuya H:** Nationwide survey of *Salmonella* prevalence in Environmental dust from layer farms in Japan. *J Food Prot*, 11, 1962-2140, 2010.