

**T.C  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ERZİNCAN GARNİZONUNDA TÜKETİME SUNULAN  
TAVUK VE HİNDİ ETLERİNDEN KONVANSİYONEL  
KÜLTÜR VE MOLEKÜLER (PZR) METODLA  
*SALMONELLA* SPP.'NİN TEŞHİSİ**

**Tezi Hazırlayan  
B. Tolga TANOĞLU**

**Tezi Yöneten  
Yrd. Doç. Dr. K. Semih GÜMÜŞSOY**

**Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Temmuz 2008  
KAYSERİ**

**T.C  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ERZİNCAN GARNİZONUNDA TÜKETİME SUNULAN  
TAVUK VE HİNDİ ETLERİNDEN KONVANSİYONEL  
KÜLTÜR VE MOLEKÜLER (PZR) METODLA  
*SALMONELLA* SPP.'NİN TEŞHİSİ**

**Tezi Hazırlayan  
B. Tolga TANOĞLU**

**Tezi Yöneten  
Yrd. Doç. Dr. K. Semih GÜMÜŞSOY**

**Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBT-07-19 no'lu  
proje ile desteklenmiştir.**

**Temmuz 2008  
KAYSERİ**

Yrd. Doç. Dr. K. Semih GÜMÜŞSOY danışmanlığında **B. Tolga TANOĞLU** tarafından hazırlanan “**Erzincan Garnizonunda Tüketime Sunulan Tavuk ve Hindi Etlerinden Konvansiyonel Kültür ve Moleküler (PZR) Metodla *Salmonella* spp.’nin Teşhisi**” konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

24 / 07 / 2008

**JÜRİ :**

Başkan : Prof. Dr. Fuat AYDIN

Üye : Doç. Dr. Zafer GÖNÜLALAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. K. Semih GÜMÜŞSOY (Danışman)

İmza

**ONAY**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 25/07/2008 tarih ve 411 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

24 / 11 / 2008

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

**TEŞEKKÜR**

Bu çalıŐmayı gerçekleŐtirmemde bana yol gösteren ve her konuda destek olan Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı BaŐkanı Sayın Prof. Dr. Fuat AYDIN'a, danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. K. Semih GÜMÜŞSOY'a, Yrd. Doç. Dr. Tuba İA'ya, AraÇ. Gör. Okan DOĞAN'a ve ÖĞr. Gör. Seçil ABAY'a ayrıca çalıŐmamda yardım ve katkılarını esirgemeyen Sayın Vet. Hekim Bnb. Mehmet EFE, Sayın Vet. Hekim Yzb. Devrim SARIGZEL ve Sayın Vet. Hekim Yzb. Murat ŐEVİKTRK'e ve her konuda olduğu gibi bu çalıŐmamda da destek ve yardımlarını esirgemeyen sevgili eŐim Gökben'e can oğlum Eray'a teŐekkürlerimi sunarım.

**ERZİNCAN GARNİZONUNDA TÜKETİME SUNULAN TAVUK VE HİNDİ ETLERİNDEN  
KONVANSİYONEL KÜLTÜR VE MOLEKÜLER (PZR) METODLA  
SALMONELLA SPP.'NİN TEŞHİSİ**

**ÖZET**

Bu çalışmada, Erzincan Garnizonu'ndaki birliklerin ihtiyacı için alımı yapılan -18 0C'de dondurulmuş-poşetlenmiş tavuk ve hindi etlerinin but, deri ve göğüs kısımlarının Salmonella spp. yönünden kontaminasyon düzeyleri konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle araştırıldı.

Araştırmada, askeri birliğin soğuk hava deposuna donmuş olarak teslim edilen tavuk ve hindi etlerinden, 200 adedi 2-8 0C'de çözündürüldü. Karkasların but, deri ve göğüs kısımları selektif ve selektif olmayan ön zenginleştirmeye tabi tutuldu. Etkenin izolasyonu amacıyla konvansiyonel kültür metodu kullanıldı. İzole edilen etkenler biyokimyasal testler ve Salmonella hızlı test yöntemi ile identifiye edildi. Ayrıca, selektif zenginleştirme aşamasında Rappaport Vassiliadis Broth (RVB)'dan alınan her bir numuneye ait süspansiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)'na tabi tutuldu.

Kültürel yoklamalarda analiz edilen tavuk deri, but ve göğüs numunelerinden sırasıyla % 16, % 7,5 ve % 5,5'inde Salmonella spp. saptandı. Hindi but, deri ve göğüs numunelerinin hiçbirinde Salmonella spp. tespit edilemedi. Polimeraz zincir reaksiyonu ile yapılan analizler sonucu numunelerin hiçbirinden Salmonella spp. saptanamadı.

Sonuç olarak, Erzincan Garnizonunda tüketime sunulan tavuk ve hindi etlerinin üretiminde ve işlenmesinde teknolojik ve hijyenik kurallara belirgin bir şekilde uyulduğu kanaatine varıldı.

**Anahtar kelimeler:** İzolasyon, PZR, *Salmonella* spp., Tavuk-Hindi eti

**DIAGNOSIS OF *SALMONELLA* SPP. WITH CONVENTIONAL CULTURE AND MOLECULAR (PCR) METHODS FROM CHICKEN AND TURKEY'S MEAT SERVED FOR CONSUMPTION IN ERZINCAN BASE**

**ABSTRACT**

In this study, the drum stick, skin and chest samples of frozen-packed, at -18 °C, chicken and turkey's meat that had been purchased for the need of military units in Erzincan Base were investigated for the contamination levels with *Salmonella Spp.* by conventional and molecular methods.

In the present study, 200 samples collected from the chicken and turkey carcasses that had been delivered to and kept as frozen in the military units were thawed at 2-8 °C. The drum stick, skin and chest samples taken from the carcasses were underwent selective and unselective pre-enrichment. Conventional culture method was used for isolation of the agent. The isolated agents were identified by biochemical tests and Salmonella rapid test. Furthermore, Polymerase Chain Reaction (PCR) was applied to the suspension of every sample taken from the Rappaport Vassiliadis Broth (RVB) at the selective enrichment step.

In the cultural examinations, *Salmonella spp.* was isolated in 16 %, 7,5 % and 5,5 % of the chicken's skin, drum stick and chest samples respectively. *Salmonella spp.* was not isolated in any of the culture of turkey's drum stick, skin and chest samples. *Salmonella spp.* could not be detected in any of the samples by polymerase chain reaction.

In conclusion, the technological and hygienic rules were strictly obeyed during the production and processing stages of the chicken and turkey's meats that were served for the consumption in the Erzincan Base.

**Key words:** Isolation, PCR, *Salmonella spp.*, Chicken-Turkey's meat

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇ KAPAK .....	I
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
KISALTMALAR.....	VIII
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. KANATLI ETİNİN BESİN DEĞERİ.....	6
2.2. KANATLI HAYVANLARIN KESİMİ VE MUAYENESİ.....	8
2.2.1. Kanatlı Kesimleri.....	8
2.2.2. Antemortem ve Postmortem Muayene.....	9
2.3. <i>SALMONELLA</i> 'LARIN GIDALARA BULAŞMA ZİNCİRİ.....	12
2.4. HAYVANSAL GIDALARDAN KAYNAKLANAN <i>SALMONELLA</i> ENFEKSİYONLARI.....	13
2.5. KANATLILARDA <i>SALMONELLA</i> ENFEKSİYONLARI.....	16
2.5.1. Tavuk ve Hindi Hastalıkları.....	16
2.5.1.1. Pullorum Hastalığı.....	16
2.5.1.2. Kanatlı Tifosu.....	17
2.5.1.3. Paratifo Enfeksiyonları.....	17
2.6. GIDALARDAN <i>SALMONELLA</i> 'LARIN SAPTANMASINDA POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR) TEKNİKLERİNİN KULLANILMASI.....	18
2.6.1. PZR Tekniğinin Prensipleri.....	18
2.6.2. PZR Temel Bileşenleri ve Gerekli Konsantrasyonları.....	20
2.6.2.1. Hedef DNA ve Ekstaksiyonu.....	22
2.6.2.2. Primer.....	22
2.6.2.3. Termostabil DNA-Polimerazı.....	24
2.6.2.4. Deoxynucleotid-Triphosphate (dNTPs) Karışım.....	25
2.6.2.5. Reaksiyon Solüsyonu (Tampon).....	25

2.6.3. Reaksiyon Koşulları.....	25
2.6.4. Reaksiyon Ürünlerinin Saptanması ve Analizi.....	25
2.6.4.1. Direkt ve İmmuno Manyetik PCR ile Gıdalardan <i>Salmonella</i> 'ların Saptanması.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. GEREÇ.....	28
3.1.1. Numuneler.....	28
3.1.2. Kontrol Suş.....	29
3.2. YÖNTEM.....	29
3.2.1. Donmuş Tavuk ve Hindi Karkaslarının Mikrobiyolojik Muayeneye Hazırlanması.....	29
3.2.2. Donmuş Tavuk ve Hindi Karkaslarının Laboratuvar Analizleri.....	29
3.2.2.1. Konvansiyonel Metod.....	29
3.2.2.1.1. Selektif Olmayan Zenginleştirme.....	29
3.2.2.1.2. Selektif Zenginleştirme.....	29
3.2.2.1.3. İzolasyon.....	29
3.2.2.1.4. Biyokimyasal Testler.....	30
3.2.2.1.4.1. Triple Sugar Iron Agar (TSIA) Testi.....	30
3.2.2.1.4.2. Lysine Iron Agar (LIA) Testi.....	30
3.2.2.1.4.3. Methyl Red-Voges Proskauer Broth (MR-VP) Testi.....	30
3.2.2.1.4.4. İndol Testi	30
3.2.2.1.4.5. Üre Testi.....	31
3.2.2.1.4.6. $\beta$ - Galaktosidaz Testi.....	31
3.2.2.1.5. <i>Salmonella</i> Hızlı Test Yöntemi.....	31
3.2.2.2. Moleküler Metot.....	31
3.2.2.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yöntemi.....	31
4. BULGULAR.....	33
4.1. BAKTERİYOLOJİK ANALİZ SONUÇLARI.....	33
4.1.1. Tavuk ve Hindi But Numunelerinin Analiz Sonuçları.....	33
4.1.2. Tavuk ve Hindi Deri Numunelerinin Analiz Sonuçları.....	34
4.1.3. Tavuk ve Hindi Göğüs Numunelerinin Analiz Sonuçları.....	34
4.2. MOLEKÜLER ANALİZ SONUÇLARI.....	34
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	37
6. KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ	

**KISALTMALAR**

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BGA	: Brilliant-Green Agar
BPLS	: Brilliant-Green Phenol-Red Lactose Sucrose Agar
BSA	: Bismuth Sulphite Agar
BSA	: Bovine Serum Albumin
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoxynucleotid-Triphosphate
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic Acid
Fe	: Demir
IM-PCR	: İmmuno Manyetik - Polymerase Chain Reaction
IU	: International Unit
KKN	: Kritik Kontrol Noktası
LIA	: Lysine Iron Agar
MR-VP	: Methyl Red-Voges Proskauer
Na	: Sodyum
ONPG	: O-Nitrophenyl- $\beta$ -D-Galacto-pyranoside
PAGE	: Poliakrilamid Jel Elektroferezis
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik Asit
RVB	: Rappaport Vassiliadis Broth
SCB	: Selenite Cystine Broth
SS	: <i>Salmonella- Shigella</i>
TBA	: Tiyobarbiturik Asit
TPS	: Tamponlanmış Peptonlu Su
TS	: Türk Standartları
TSIA	: Triple Sugar Iron Agar
TSK	: Türk Silahlı Kuvvetleri
UV	: Ultraviyole
WHO	: World Healty Organization
XLD	: Xylose Lysine Desoxycholate
Zn	: Çinko

## TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

<b>Tablo 2.1.</b>	Hayvansal protein almak için gerekli et ve et ürün miktarı.....	7
<b>Tablo 2.2.</b>	Bazı hayvan türlerinin çiğ ve pişmiş etlerinin kimyasal kompozisyonu.....	8
<b>Tablo.2.3.</b>	Kanatlı eti bileşimi.....	10
<b>Tablo 2.4.</b>	Kanatlı hayvan etlerinin 100 gr'ında bulunabilen vitamin miktarı.....	12
<b>Tablo 2.5.</b>	PZR reaksiyonunun temel bileşenleri ve konsantrasyonları.....	22
<b>Tablo 2.6.</b>	<i>Salmonella</i> 'ların saptanmasında kullanılan bazı primerler.....	23
<b>Tablo 2.7.</b>	PZR tekniği ile gıdalardan <i>Salmonella</i> saptanması.....	27
<b>Tablo 4.1.</b>	But numunelerine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	33
<b>Tablo 4.2.</b>	Deri numunelerine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	34
<b>Tablo 4.3.</b>	Göğüs numunelerine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	34
<b>Şekil 2.1.</b>	<i>Salmonella</i> 'ların gıdalara bulaşma zinciri.....	13
<b>Şekil 2.2.</b>	PZR tekniğinde sıcaklık akım siklusu.....	19
<b>Şekil 2.3.</b>	PZR tekniğinin şematik sunumu.....	21
<b>Şekil 4.1.</b>	XLD agarda <i>Salmonella</i> spp. kolonilerinin morfolojik görünümü.....	35
<b>Şekil 4.2.</b>	XLD agarda <i>Salmonella</i> spp. kolonilerinin morfolojik görünümü.....	35
<b>Şekil 4.3.</b>	<i>Salmonella</i> hızlı test kiti ile <i>Salmonella</i> spp. aranması.....	35
<b>Şekil 4.4.</b>	<i>Salmonella</i> hızlı test kiti ile <i>Salmonella</i> spp. aranması.....	35
<b>Şekil 4.5.</b>	Urea Broth'da <i>Salmonella</i> spp.'lerin değerlendirilmesi.....	36
<b>Şekil 4.6.</b>	Urea Broth'da <i>Salmonella</i> spp.'lerin değerlendirilmesi.....	36
<b>Şekil 4.7.</b>	TSIA'da <i>Salmonella</i> spp. kolonilerinin morfolojik görünümü.....	36
<b>Şekil 4.8.</b>	TSIA'da <i>Salmonella</i> spp. kolonilerinin morfolojik görünümü.....	36

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde dengeli beslenme kavramının gelişmesi ve artan nüfusa paralel olarak hayvansal proteine olan taleplerde büyük bir artış olmuştur. Bununla birlikte hijyenik koşullarda üretilmeyen gıdaların yol açtığı enfeksiyon veya toksikasyonlara da sıklıkla rastlanılmaktadır. Özellikle diyetetik bazı avantajları nedeniyle (bağdokunun azlığı, kolesterol düzeyinin düşük olması, protein miktarının yüksekliği gibi) tavuk ve hindi etine olan istem artmıştır. Başta tavuk olmak üzere hindi eti insan beslenmesinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Bu ürünlerden daha fazla yararlanılabilmesi önemli ölçüde üstün kalite niteliklerine sahip olmalarına bağlıdır. Standartlara uygun ve kaliteli ürün üretimi öncelikle; kullanılan etin kalitesi, üretim teknolojisi, üretimde uygulanan hijyenik şartlar, paketlenme ve muhafaza koşullarına bağlıdır. Bu kuralların yerine getirilmediği durumlarda enfeksiyöz hastalık etkenleri arasında başta *Salmonella*'lar olmak üzere diğer mikroorganizmalar tarafından insanlarda enfeksiyon ve zehirlenmeler meydana gelmektedir. Yapılan çalışmalarda tavuk etlerinin sıklıkla *Salmonella* spp. ile kontamine oldukları saptanmıştır. *Salmonella*'ların büyük bir çoğunluğu hayvanların bağırsağında normal flora etkeni olarak bulunabileceği gibi

hayvanlar bunların portörleri de olabilmektedir. *Salmonella* etkenleri, insanlarda genel enfeksiyon niteliğinde (örneğin; *S. Typhi*, insanlarda tifo etkeni) hastalıklara neden olabildikleri gibi gıda zehirlenmelerinin (örneğin; *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*'a bağlı enteritiser) de sorumlusu olarak da bilinmektedir. Gıda tüketim alışkanlıklarındaki değişim ile toplu gıda üretimi ve uluslararası gıda ticaretinin artmasına bağlı olarak gıda kaynaklı *salmonellosis* olgularında büyük artış meydana gelmiştir. Enfekte evcil ve yabani hayvanlar ile insanların sindirim kanalları *Salmonella*'ların rezervuarıdır. Gıda üretiminde kullanılan enfekte hayvanlar, üretimin değişik aşamalarında gıdaların kontaminasyonuna neden olurlar. Kanatlı hayvan, sığır ve domuz etleri ile bu etlerden yapılan ürünler, yumurta ve yumurta ürünleri gıda kaynaklı *Salmonella* enfeksiyonlarında ana kaynakları oluştururlar. *Salmonella*'ların doğada yaygın olarak bulunmaları ve gıda zincirine geçerek insan sağlığı açısından risk oluşturmaları ile *Salmonella* enfeksiyonlarına ilişkin ekonomik kayıplar dikkate alındığında, gıda üretim zincirinin her aşamasında etkin kontrol önlemlerinin titizlikle uygulanması gerekmektedir. Bu çerçevede; gıdaların *Salmonella*'larla kontaminasyonu ile *Salmonella*'ların gıdalarda gelişme ve üremelerinin önlenmesi ve gıda da bulunabilecek *Salmonella*'ların teknolojik işlemlerle inaktif hale getirilmesi, hayvansal gıdalardan kaynaklanan *Salmonella* enfeksiyonlarının kontrolünde büyük önem taşımaktadır. Klasik kültür teknikleri ile gıdalardan *Salmonella*'ların saptanması; ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif katı besiyerine ekim, biyokimyasal ve serolojik testlerin yapılması esasına dayanmaktadır. Bu şekilde *Salmonella*'ların gıdalardan izolasyonu 5-7 gün gibi uzun bir süreyi almakta aynı zamanda laboratuvar personelinin yoğun çalışması ile fazla miktarda malzemeye gereksinim duyulmaktadır. Taze gıdaların çoğunun oldukça sınırlı raf ömrüne sahip olması nedeniyle, klasik yöntemlerle izolasyon prosedürü sona ermeden bu gıdaların tüketildikleri veya raf ömrünü tamamladıkları görülmektedir. *Salmonella*'ların epidemiyolojik araştırmaları için geliştirilen en son analiz metotlarından biri Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)'dur. Bu metot diğer genetik tip yöntemlerden daha hızlı basit ve ekonomiktir. PZR tekniği ile gıdalardan *Salmonella*'ların saptanmasında selektif sıvı ve katı besiyerlerine ekim ile biyokimyasal ve serolojik testlere ihtiyaç duyulmadığından, saptama süresi de 1-2 güne indirilebilmektedir.

Türk Silahlı Kuvvetleri (TSK) bünyesinde yer alan Gıda Kontrol Müfrezelerinin çoğu, Veteriner Hekim Subayların uzmanlık eğitimlerini almalarını takiben sergiledikleri

üstün performans ile askeri birliklerde gıda kontrol hizmetlerinin verilmesinde önemli bir düzeye ulaşmış bulunmaktadır. Ancak orduda stratejik öneme sahip gıdaların başta *Salmonella* olmak üzere patojen mikroorganizmaların varlığı yönünden test edilmelerinde hız, duyarlılık, spesifite ve otomasyon gibi önemli üstünlükleri bulunan PZR ve diğer amplifikasyon tekniklerinin seçilecek belli laboratuvarlarda kullanılmaları gıda güvenliğinin sağlanması bakımından büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada TSK bünyesindeki Erzincan Garnizon'u Birliklerinde tüketime sunulan tavuk ve hindi etlerinde konvansiyonel kültür ve moleküler yöntem ile *Salmonella* spp.'lerin ortaya konulması amaçlanmıştır. Araştırmadan elde edilecek sonuçların ışığı altında tüketime sunulan kanatlı ürünlerindeki *Salmonella* spp. varlığının durumu belirlenirken direkt teşhis amacıyla kullanılacak PZR yönteminin konvansiyonel yöntemle göre duyarlılığı da değerlendirilecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Kanatlı eti denilince başta tavuk eti olmak üzere hindi, ördek, kaz, devekuşu ve bıldırcın eti akla gelir. Önemli bir hayvansal besin kaynağı olan tavuk 6 hafta veya daha kısa sürede kesim aşamasına gelmektedir. Özellikle etçi broilerler, hızlı gelişmelerinden ve hastalıklara karşı dirençli olmalarından ötürü kanatlı et ihtiyacının karşılanmasında büyük öneme sahiptirler. Bunların dişileri 36-38., erkekleri de 40-42. günlerde kesilmektedir. Kanatlı hayvan etlerinin rengi, vücut bölgelerine ve yaşlarına göre değişir. Fiziksel olarak fazla aktif olan kaslar yüksek oranda miyogloblin içerdikleri için daha koyu renklidir. Bu nedenle but ve boyun etleri daha koyu, kanat etleri açık, göğüs etleri ise daha açık renklidir. Ayrıca, tavuk ve hindi etleri diğer kanatlı etlerine göre açık renklidir. Kanatlı etlerinin lezzeti, kokusu, rengi ve kıvamı ırka, cinsiyete, yaşa ve alınan rasyona göre değişir. Özellikle yaş daha etkili olduğundan et kalitesinin tespiti de büyük önem taşır. Gıda enfeksiyonu etkenleri arasında en önemlilerden biri olan *Salmonella*'lar, başta kanatlı eti, yumurta, kırmızı et ve süt ile bunlardan yapılan ürünler olmak üzere, hayvansal gıdalarda sıklıkla bulunarak gıda kaynaklı salmonellozise neden olurlar. Gıda tüketim alışkanlıklarındaki değişim ile toplu gıda üretimi ve uluslararası gıda ticaretinin artmasına bağlı olarak değişik *Salmonella*

serotiplerinden kaynaklanan gıda enfeksiyonlarının sayısı da, dünyanın hemen her bölgesinde özellikle son yıllarda büyük artış göstermiştir. Buna bağlı olarak gıda kaynaklı *Salmonella* enfeksiyonları, ABD, Almanya, Fransa, İspanya, Polonya ve İsveç'te tüm gıda enfeksiyon ve intoksikasyonları içerisinde ilk sırayı alırken, İngiltere, Galler ve Hollanda'da *Campylobacter* ile birlikte yine ilk sırayı paylaşmaktadır (1). Ayrıca, gıda kaynaklı salmonellozis enfeksiyonlarına bağlı tedavi ve iş gücü masraflarına ilişkin ekonomik kayıpların ABD'de yıllık yaklaşık 3.4 milyar dolar, Kanada'da ise 1 milyar dolar olduğu bildirilmektedir (2, 3).

*Salmonella*'lardan kaynaklanan gıda zehirlenmesi sonucu insanlarda diare, abdominal kramplar, kusma, dehidrasyon ve baş ağrısı görülür. Salmonelloziste mortalite birçok faktöre bağlı olarak % 0,1-0,2 arasında değişmektedir. Salmonellozis vakalarından en çok etkilenenler bebekler, yaşlılar ve immun sistemi baskılanmış insanların oluşturduğu gruplardır. Tifo ve paratifo hastalıklarına neden olan *S. Typhi* ve *S. Paratyphi* yalnızca insanlarda hastalık yapar. İnce bağırsağa yerleşen hücreler epitel dokudan geçerek vücudun değişik bölgelerine yerleşir. Yüksek ateş, göğüs ve bedende pembe lekeler ve kanlı ishal ile karakterize olur. Salmonelloziste inkubasyon periyodu 5-72 saat arasında değişmekle birlikte genellikle 12-36 saat olup hastalığın seyri de 1-4 gün arasındadır. Gıdaların pişirilmesi esnasında en soğuk noktanın en az 71,1 °C'ye ulaşması *Salmonella* hücrelerinin öldürülmesi için yeterli bir işlemdir (4, 5).

Yiyecek kaynaklı hastalıklar; gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde insanlar için hayatı tehdit edicidir ve önemli ekonomik sonuçlara neden olur. *Salmonella*; en sık rastlanan patojendir ve tüm dünyada yiyecek kaynaklı hastalıkların ana sebebidir (6-8). Kontamine kümes hayvan eti ürünleri; insanlarda yiyecek kaynaklı hastalık nedeni olan *Salmonella*'ların ana kaynağı olarak tanımlanmıştır (9-11). İnsanlarda yiyecek kaynaklı hastalıkların sağlık ve ekonomik etkilerini azaltmak için doğal kontamine yiyeceklerin tespitinde standardize, hızlı, spesifik ve sensitif testler gereklidir (12-14).

*Salmonella* spp.'nin tespitinde konvansiyonel kültür yöntemleri; zaman ve işgücü kaybettirici olmakla birlikte minimum 4-6 gün gerektirmektedir (15, 16). D'Aoust (17), düşük miktarlarda kontaminasyona uğramış örneklerden hazırlanan kültür yöntemlerinden kesin sonuçlar alınmadığını tespit etmiştir. Birçok örnekte yapılan çalışmalar, bakteri izolasyonunda en hızlı ve umut verici mikrobiyolojik yöntemin PZR olduğunu göstermiştir (14, 18-25). Laboratuvar ve çevre araştırmalarında PZR, kültür

yöntemlerine göre hassas duyarlılığı ve spesifitesiyle ilk başvurulacak alternatif haline gelmiştir (26). *Salmonella* tespitinde PZR kullanımını kısıtlayan en önemli sebep; doğal kontamine örneklerde *Salmonella* tespitinde PZR yönteminin spesifite ve sensitivitesini gösteren yeterli çalışmanın olmamasıdır (18, 19, 23). Soumet ve ark. (23), doğal kontamine örneklerde *Salmonella* tespitinde PZR yönteminin spesifite ve sensitivitesini göstermişlerdir. Diğer *Salmonella* tespit çalışmalarında ise yapay yolla oluşturulan kontaminasyon ile teşhise gidilmiştir (20-22, 24, 25). Bununla birlikte doğal kontamine ile yapay kontamine örnekler arasında bakterinin yaşayabilirliği üzerine transport, depolama ve süreç gibi birçok faktörün etkili olabileceği bildirilmiştir (19, 25).

PZR tekniği ile gıdalardan *Salmonella*'ların saptanmasında selektif sıvı ve katı besi yerlerine ekim ile biyokimyasal ve serolojik testlere ihtiyaç duyulmadığından, saptama süresi de 1-2 güne indirilebilmektedir. Ayrıca, gıda üretiminin değişik aşamalarında uygulanan teknolojik işlemlere (soğutma, dondurma, ısı işlemi uygulanması, dumanlama, konserve edici ve katkı maddelerinin ilavesi gibi) bağlı olarak şekillenen stres faktörlerinin etkisi ile *Salmonella*'ların klasik kültür teknikleri ile gıdalardan izolasyonu her zaman mümkün olamamaktadır. Bu bağlamda gıdalarda canlı olarak bulunan ancak klasik yöntemlerle kültürü yapılamayan bakteriler de, spesifikliğı yüksek olan in vitro DNA amplifikasyonu ile daha güvenli saptanarak, "hatalı negatif" sonuçların çıkmasına bağlı olarak potansiyel sağlık riskleri de önlenmektedir (12). Kullanılan araçlar, ayıraçlar, zenginleştirme ve laboratuvar uygulamalarında yetersiz standardizasyon olması nedeniyle PZR tekniğinin uygulanması zorlaşmaktadır. Yapılan çalışmalar, PZR tekniğinde yanlış negatif sonuçların çıkmasını önlemek için standardizasyon oluşturulması gerekliliğini göstermiştir (27, 28). Bununla birlikte; gıdalarda doğal olarak kontaminasyona yol açan *Salmonella* izolatlarının PZR ile teşhisinde protokollerdeki standartlar yeni ortaya konulmuştur (29).

## **2.1. KANATLI ETİNİN BESİN DEĞERİ**

Kanatlı eti, ince lifli, bağdoku ve yağ oranı daha az, daha gevrek, kolay çiğnenebilir ve sindirilebilir nitelikte, düşük kalorili, B gurubu vitaminleri, esansiyel aminoasit ve doymamış yağ asitleri bakımından zengin bir besindir. İçermiş olduğu kreatin, kreatinin ve anserin gibi et bazları nedeniyle iştah açıcı ve sindirimi kolaylaştırıcı bir özelliğe sahiptir. Bu özelliklerden dolayı kanatlı eti hipertansiyonlu, atherosklerozlu, fazla kilolu ve sindirim rahatsızlıkları olan her yaştaki insanlar için uygun bir besindir.

Kanatlı etlerinin kırmızı etten daha üstün olmasının nedeni bağ dokudaki toplam azot miktarının az oluşundan kaynaklanır. Kırmızı ette bağ doku toplam azot oranı % 2-25 arasında değişirken, kanatlı etlerinde yaklaşık % 1,5 dolayındadır. Etin kalitesini etkileyen bağ doku oranı kanatlı türleri arasında da farklılık göstermektedir. Hayvansal protein almak için gerekli olan et ve et ürünü miktarı Tablo 2.1.'de gösterilmiştir (30).

**Tablo 2.1.** Hayvansal protein almak için gerekli et ve et ürün miktarı (30).

Gıda	Gram
Tavuk eti	67
Dana eti	74
Sığır karaciğeri	77
Kuzu eti	90
Domuz eti	90
Som balığı	100
Yumurta	160
Frankfurter	160

Kanatlı etlerinin kimyasal bileşimleri ırk, tür, yaş, beslenme şekli ve vücut bölgelerine göre değişmektedir (Tablo 2.2.) (30). Yağlı ördek ve kazlar hariç kanatlı etleri sığır etine oranla daha az yağlıdır. Bunun nedeni intramusküler yağ dokunun çok düşük oranlarda bulunmasıdır. Göğüs etinin lezzetinin düşük oluşu yağ oranının azlığından kaynaklanmaktadır. Buna karşın yüksek oranda yağ içeren but etleri daha gevrek ve lezzetlidir. Yağın deri altında ve butlarda fazla bulunması tavuklara iyi bir lezzet kazandırır (30). Broiler eti % 71, tavuk eti % 56, orta yağlı hindi eti % 58 oranında su içermektedir. Genç hayvan eti yaşlılara göre daha fazla su içerir (Tablo 2.3.).

Tavuk eti kırmızı ete göre daha yüksek oranda protein içerir. Protein oranı vücut bölgelerine göre de değişir (Tablo 2.3.). Örneğin göğüs eti daha yüksek oranda protein ve bütün esansiyel aminoasitleri yeterli ve dengeli oranda içerirler. Sindirilebilme yeteneği yüksek olup, biyolojik değerliliği bakımından süt ve yumurtadan sonra gelir. Yağ oranı; yaş, cinsiyet, türe ve vücut bölgelerine göre değişir (Tablo 2.3.). Deri altında kaslar arasına göre daha yüksek oranda yağ bulunur. Yağın % 70'nin doymamış yağ asitlerinden oluştuğu ve kırmızı ete göre daha yüksek oranda linoleik asit içerdiği belirtilmektedir. Ayrıca kolesterol bakımından fakirdir. Kalp damar hastaları ve yaşlılar için deri altı yağı ve iç yağı alınmış tavuk eti iyi bir besin kaynağıdır.

**Tablo 2.2.** Bazı hayvan türlerinin çiğ ve pişmiş etlerinin kimyasal kompozisyonu (30).

Hayvan türü	Protein	Rutubet	Yağ	Kül	Kalori (100 g)
<b>Sığır</b>					
Çiğ	20,94	71,60	6,33	1,03	147
Pişmiş	30,42	57,75	10,24	1,21	222
<b>Kanatlı beyaz et</b>					
Çiğ	23,20	74,86	1,65	0,98	114
Pişmiş	30,91	64,76	4,51	1,02	173
<b>Kanatlı kırmızı et</b>					
Çiğ	20,08	75,99	4,31	0,94	125
Pişmiş	27,37	63,06	9,73	1,02	205
<b>Kuzu</b>					
Çiğ	19,5	71,5	7,0	1,5	145
Pişmiş	27,0	61,5	8,5	2,0	200
<b>Dana</b>					
Çiğ	20,0	75,0	3,5	1,0	130
Pişmiş	29,0	63,0	5,5	1,6	175

Tavuk eti B grubu vitaminleri bakımından iyi bir kaynaktır. Kırmızı ete göre daha yüksek oranda B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> ve niasin içerir (Tablo 2.4.). Ayrıca yağlı etler A, D, E ve K vitaminleri bakımından zengindir. Göğüs eti K, P, but eti Fe, Zn ve Na bakımından daha zengindir. Kırmızı ete göre daha düşük oranda Na içerir. Hipertansiyonlu kişiler için iyi bir kaynaktır. Kırmızı ete göre daha düşük kalorilidir. Her 100 g broiler eti 155, kızartmalık piliçler 200 ve tavuklar 302 kalori içerir (Tablo 2.3.). Bu bakımdan fazla kilolu ve fiziksel aktivite göstermeyen, nekahat ve yaşlı kişiler için iyi bir besindir (30).

## 2.2. KANATLI HAYVANLARIN KESİMİ VE MUAYENESİ

### 2.2.1. Kanatlı Kesimleri

Tavuk yetiştirme ayrı bir uygulama ve özen gerektiren bir husustur. Tavukların yetiştirilmesi esnasında sağlıklı olmaları ve üretimden tüketime kadar hijyenik koşullarda işleme tabi tutulmaları hem ekonomik açıdan ve hem de insan sağlığı açısından çok önemlidir. İnsan sağlığı açısından tehlike taşımayan ürünün tüketime sunulması için tavukların kesim ve işleme aşamaları göz önüne alınarak belirlenen

Kritik Kontrol Nokta (KKN)'ları mikrobiyolojik kontaminasyon yönünden sürekli olarak kontrol altında tutulması gerekmektedir (31).

Bunların ayrıntılarını aşağıdaki şekilde sıralanabilir (31).

- ✓ Kesime getirilen tavukların bu aşamada temiz olması gerekmektedir. Kirli hayvanlardan kesim ve işleme esnasında karkasa bazı patojen ve apatojen organizmaların bulaşması çok kolay olabilecek bir husustur. Tavuklarda da aynen diğer mezbaha hayvanlarında olduğu gibi deriden herhangi bir abseden, üst solunum yolları salgılarından, gaitadan, kandan, safra kesesi içeriğinden vs karkasa doğrudan bulaşma olur. Gözle görülebilen veya et muayenesinde ortaya çıkan bu tür karkasların diğerlerinden ayrılması veya doğrudan imha edilmesi zorunludur.
- ✓ Kesim işleminde çalışan personelin hijyenik kurallara uymaması veya doğrudan bir enfeksiyon taşıması tavuk etlerinin kontaminasyonu açısından başka bir KKN'dir.
- ✓ Bu aşamada personel sağlığı, daha açık bir ifade ile *Staphylococcus* taşıyan, abseli olan, salgılarında herhangi bir enfeksiyon etkeni bulunan işçiler önemli bir bulaşma odağıdır. Diğer etlere oranla çok daha çabuk bozulabilen tavuk etlerinin bu risklerden uzak tutulması için, işçilerin sağlık kontrolleri, temizlikleri (el, tırnak, saç vb) ve giysilerinin temiz olması zorunludur.
- ✓ Uygulanan teknolojik prosesde de KKN olması açısından dikkat edilmesi gerekli noktalar vardır. Bunun başında kesim esnasında kontamine karkasların birbiri ile teması, özellikle akıtılan kanın diğer hayvanlara bulaşması büyük risktir. Diğer taraftan karkasların soğutma işlemi uygulanmadan veya yeterli soğutma uygulanmadan paketlenmesi mikroorganizmaların hızla üremesine neden olan hususlardır. Yine kesim esnasında kullanılan eldiven, araç-gereç, taşıma aletleri direk kontaminasyon kaynağı olduğu için bunların mutlak temiz olması lazımdır.
- ✓ Kullanılan su, işlemlerin yapıldığı yerdeki hava da diğer bir kontaminasyon kaynağı olduğu için, bunların kontrolleri aralıksız yapılmalıdır.

### **2.2.2. Antemortem ve Postmortem Muayene**

Bu muayeneler Kanatlı Hayvan Eti ve Et Ürünleri Üretim Tesislerinin Kuruluş, Açılış, Çalışma ve Denetleme Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliğin 10. ve 11. maddelerine göre yapılmalıdır. Antemortem muayene hastalık ve besi durumlarını saptamak amacıyla genellikle kanatlıların yetiştirildiği kümeslerde yapılmaktadır. Şayet muayene

kesimhanede yapılacaksa kesimhanede muayenenin yapılacağı kısımlar bulunmalıdır. Muayene sonunda şüpheli olanların kesimi yapılmaz veya tedavi amacıyla özel bölümlere alınır.

**Tablo 2.3.** Kanatlı eti bileşimi (30).

	Su	Protein	Yağ	Kül	Kcal	Karbonhidrat
Tavuk eti	72,2	21,3	4,5	1,15	129,6-302	< 0,1
Tavuk eti (yağlı)	56	17-21	5-25	-	145-290	
But	73,28	20	5,53	1,22	-	
Göğüs	74,37	23,29	1,22	1,12	-	
Hindi (yağlı)	55,5-58,0	20,6	22,9	1	297,4	-
Hindi (yağsız)	-	18-23	5-23	-	150-280	0,1-0,5
Kaz (yağlı)	40,9	14,2	44,3	0,66	469,8	< 0,1
Kaz (yağsız)	-	14-16	26-32	-	510-565	-
Ördek (yağsız)	70,8	22,6	3,1	1,1	121,7	0,2-0,4
Ördek (yağlı)	-	16-21	6-29	-	150-525	
Kızarma Piliç Eti	75,4	18,8	5,1	0,7	126-200	-
Broiler (erkek)	71,8	19,3	6,4	2,8	155	-
Broiler (dişi)	69,9	18,6	9,3	2,6	-	
13 haftalık broiler (erkek)	74,8	18,2	6,2	0,8	-	
13 haftalık broiler (dişi)	73,4	17,7	8	0,8	-	-
Piliç (açık renkli et)	70,6	23,3	5,6	-	129	-
Piliç (koyu renkli et)	69,3	18,4	11,4	-	143	
Tavuk beyaz et (fırında pişmiş)	68	31,5	1,3	-	621	-
Koyu et	67	25,4	7,3	-	754	-
Hindi beyaz et (fırında pişmiş)	58	34,3	7,5	-	923	-
Koyu et	57	30,5	11,6	-	1022	-
Japon bildircını (but eti)	75,1-75,4	21,1-21,3	2,5-3,2	1,1	-	-
Japon bildircını (göğüs eti)	73,6-74,3	22,5-23,4	1,4-2,7	1,4-1,5	-	-
Bıldircın (Bobwhite)	74,1	22,1	3	-	-	-
Broiler piliç (pişmiş) derili et	-	27,1	14,7	-	248	-
Derisiz et	-	29,5	6,3	-	183	-
Erkek broiler (beyaz et)	66,2	20,8	10,4	-	-	-
Erkek broiler (koyu et)	64,5	17,8	14,1	-	-	-

**Tablo 2.3.** Kanatlı eti bileşimi (**Devamı**) (30).

	<b>Su</b>	<b>Protein</b>	<b>Yağ</b>	<b>Kül</b>	<b>Kcal</b>	<b>Karbonhidrat</b>
Hindi (kemiksiz)	70	16	13	-	-	-
Hindi (kemiksiz ve derisiz)	72	18	9	-	-	-
59 günlük broiler (erkek)	63,2	19,3	14,3	-	-	-
59 günlük broiler (dişi)	60,4	19	17,4	-	-	-
Piştirilmiş yağsız deve kuşu eti	-	26,9	2,8	-	142	-
Piştirilmiş yağsız tavuk eti	-	28,8	7,4	-	190	-
Piştirilmiş yağsız hindi eti	-	29,3	5	-	170	-
Hindi göğüs eti (derisiz)	-	22-23,2	1,2-1,8	-	-	-
Tavuk eti (beyaz)	-	20,1	5,7-9,2	-	-	-
<b>Tavuk kızarmalık dokular</b>						
Derisiz beyaz et	-	23	-	-	-	-
Derisiz kırmızı et	-	20	-	-	-	-
Deri	-	13	-	-	-	-
Et ve deri	-	15	16-20	-	-	-

Hasta hayvanların kesimi ise, sağlıklı hayvanların kesiminden sonra yapılır ve postmortem muayenelerinde daha özen gösterilmelidir. Kesim işlemi tamamlandıktan sonra kesimhane dezenfekte edilmelidir. Fazla sayıda kanatlı yetiştirilen çiftliklere iyi bir diyalog kurulmalı, hangi tür ilaçlar kullandıkları öğrenilmeli ve bu ilaçların organizmadan atılma süreleri dikkate alınarak hayvanların kesimi ona göre yapılmalıdır. Kesim sırasında sindirim sistemi içeriğinin neden olduğu kontaminasyonları ve kesim randımanındaki kayıpları önlemek için hayvanlar kesime alınmadan önce belli bir süre aç bırakılmalıdır. Kesilecek kanatlılar, taşınmaya başlanmadan 1-4 saat önce önündeki yemlik ve suluklar kaldırılmalıdır.

Hayvanların taşınmasından kesime kadar geçen sürenin 9-12 saat, ortalama 10 saat olması gerekir. Kanatlılar 6 saat veya daha az süre aç bırakıldıkları zaman kursaklarında önemli miktarda yem kalmakta, bu da randımanın düşmesine ve karkasta mikrobiyel bulaşmaya neden olmaktadır. Antemortem ve postmortem muayenelerde

kesin tanının konulmadığı durumlarda, bakteriyolojik (kültür, mikroskopik, vb), hayvan deneyleri ve serolojik muayenelerin yapılması gerekir (30).

**Tablo 2.4.** Kanatlı hayvan etlerinin 100 gr'ında bulunabilen vitamin miktarı (30).

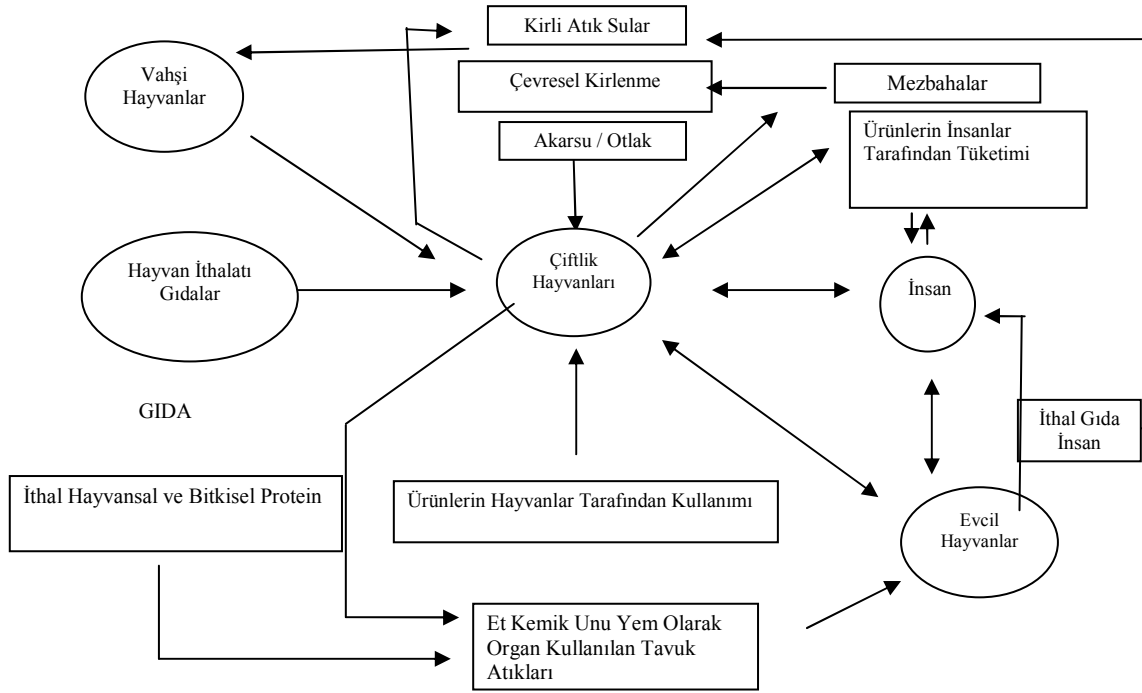
	Vit. A IU	Tiamin (B <sub>1</sub> ) mg	Riborflavin (B <sub>2</sub> ) mg	Pridoksin (B <sub>6</sub> ) mg	Vit. B <sub>12</sub>	Niasin mg	Pantotenik asit mg	Askorbik asit mg	Folik asit	Biotin
Tavuk eti	290	0,008	0,16	0,5	0,5 IU	6,8	-	5	0,03 mg	-
Kaz eti	189	0,12	0,26	0,58	-	6,4	-	7,5	-	-
Ördek eti	-	0,3	0,2	-	-	3,5	-	-	-	-
Hindi eti	eseri	0,13	0,14	0,75	-	8	-	0	0,01 mg	-
Kızarmalık et, deri ve yenilebilir iç organlar	730	0,07	0,38	-	-	5,6	-	-	-	-
Piliç eti (koyu renkli)	-	-	-	0,32	0,0004 mg	-	1	-	2,8 µg	10µg
Piliç eti (açık renkli)	-	-	-	0,68	0,0045 mg	-	0,80	-	3 µg	11,3 µg
Piliç eti göğüs	eseri	0,1	0,07	1	-	10	0,7	eseri	-	-
bacak	eseri	-	0,25	-	-	5	1	-	-	-
Japon bildirimi	-	0,150	0,499	0,523	-	6	1,101	-	-	-
Bildirimi (Bobwhite)	-	0,101	0,162	0,661	-	9,610	0,664	-	-	-

### 2.3. SALMONELLA'LARIN GIDALARA BULAŞMA ZİNCİRİ

*S. Typhi* ve diğer birkaç serotip dışındaki *Salmonella* serotiplerinin çoğuna doğal olarak hayvanların gastrointestinal sistemlerinde rastlanır (32). Bu çerçevede *Salmonella*'lar, gıda üretimi amacıyla yetiştirilen sığır, koyun, keçi, domuz, piliç, hindi ve ördeklerin yanı sıra kedi, köpek gibi evcil hayvanların bağırsaklarında da bulunur. *Salmonella*'lar hemen her tür yabani hayvanlar ile fare, rat ve insektlerde de bulunarak çevresel kontaminasyona neden olmak suretiyle gıda üretim zincirinde kontrolü zorlaştırır. Evcil

hayvanların % 1-3'ü değişik *Salmonella* türleri ile enfektidir. Evcil hayvanların sürüler halinde olması, yemlerin, yem katkı maddelerinin ve meraların kontamine olması, kontamine ve atık sular, mezbaha atıkları, enfekte yabani hayvanlar, kuşlar, fareler, rodentler ve insektler enfeksiyonun yayılımını kolaylaştırır (Şekil 2.1.) (33).

Gıda üretiminde kullanılan hayvanların primer kontaminasyonu yanı sıra özellikle kanatlı hayvanların kesim prosesi sonucu meydana gelen çapraz kontaminasyona bağlı olarak da *Salmonella* ile bulaşma düzeyi bazen % 50'den daha fazla olmaktadır. Uluslararası düzeyde canlı hayvan, yem, yem katkı maddeleri ve gıdaların ticaretinin yaygınlaşmasına bağlı olarak da değişik *Salmonella* serotiplerinin dünyanın hemen her bölgesine taşınarak insanlarda enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmektedir (34).



Şekil 2.1. *Salmonella*'ların gıdalara bulaşma zinciri (33).

#### 2.4. HAYVANSAL GIDALARDAN KAYNAKLANAN *SALMONELLA* ENFEKSİYONLARI

Hayvansal gıdalar içerisinde; başta broilerler olmak üzere kontamine kanatlı hayvan etleri ve bunlardan yapılan ürünler, et ve et ürünleri, yumurta, yumurtadan yapılan ürünler, pastacılık ürünleri, kontamine süt, krema, dondurma ve soslar ile kabuklu deniz ürünleri, çoğu insan enfeksiyonlarına neden olan en önemli kaynakları oluştururlar (35-37). Bununla birlikte insanlarda *Salmonella* enfeksiyonlarına en çok kantin, yurt,

yemekhane, hastane, restoran gibi toplu yemek yapılan yerlerde rastlanmaktadır (38, 39). Epidemiyolojik çalışmalar, değişik *Salmonella* serotiplerine bağlı gıda zehirlenmesi olgularının meydana gelmesinde; primer kontaminasyondan daha çok, gıdaların elde edilmesi, ürünlerine işlenmesi, paketlenmesi, nakli ve muhafazası ile mutfaklarda hazırlanması aşamalarında oluşan sekonder ve özellikle çapraz kontaminasyonlar ile soğuk zincirin kırılmasının en önemli nedenleri oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, *Salmonella*'ya bağlı enterit olgularında iyileşme dönemlerindeki hastalar ile asemptomatik enfeksiyon geçiren kişiler de haftalarca ve hatta aylarca dışkılarıyla *Salmonella* etkenlerini yaymak yoluyla enfeksiyon kaynağını oluşturur. Dünyada *Salmonella* bağırsak enfeksiyonları ile ilgili epidemiyolojik kayıtlar en önemli kaynağın tavuk ve kırmızı et olduğunu göstermektedir. ABD'nde 1963-1977 yılları arasında *Salmonella* bağırsak enfeksiyonlarından sorumlu gıdaların % 21'i tavuk eti, % 15'i kırmızı et ve % 11'de yumurta olduğu tespit edilmiştir (40, 41).

Türleri içinde sadece insan ve hayvanlarda hastalık etkeni olanlar bulunduğu gibi, hem insan hem de hayvanlarda hastalık etkeni olan *Salmonella*'lar *Enterobacteriaceae* ailesindedir. Çok değişik türleri bulunan *Salmonella*'lar bağırsak içeriği ve gaitadan en çok izole edilen mikroorganizmalar arasındadır. Sağlıklı görünen veya değişik semptomlarla kendini belli eden insan ve hayvanlardan izole edilebilir. *Salmonella* cinsi içinde ilk izole edilen *Salmonella* türü, *Salmonella chlorae suis*'dir. Salmon tarafından 1886 yılında izole edilen bu cinse daha sonra *Salmonella* adı verilmiştir. *Salmonella* cinsinin günümüze kadar yaklaşık 2500 civarında serotipi tanımlanmıştır. *Salmonella*'ların neden olduğu enfeksiyonlara salmonellozis adı verilir. Salmonellozis'in meydana gelmesi için genel olarak belirli sayıda bakterinin mide ve bağırsağa ulaşması gerekir. Salmonellozis'e neden olan mikroorganizma sayısı türlere göre farklılık göstermesine rağmen en düşük kontaminasyon dozunun  $10^5$  ile  $10^6$  adet/gr olduğu ifade edilmektedir (31). Serotipe bağlı olarak ve kişi direnci söz konusu olduğunda  $10^0$ - $10^2$  kob/g kadar düşebilir (42-44). *Salmonella*'lar kontaminasyon kaynağı nedeniyle ağırlıklı olarak hayvansal gıdalarda bulunur. *Salmonella*'lar bakterinin serotipine, suşun virulens derecesine ve organizmanın savunma reaksiyonuna bağlı olarak çeşitli tip enfeksiyonlara neden olur. Bu enfeksiyonlar;

- Genel enfeksiyonlar,
- Enterokolitler (gıda zehirlenmeleri),
- Sepsis ve lokalize organ hastalıkları şeklindedir.

Genel enfeksiyon tipi hastalıklarda enfeksiyon kaynağı yaygın olarak insanlardır. Hastalar ve daha önemlisi hastalık belirtisi göstermeksizin taşıyıcı durumunda olanlar bakterileri dışkıları ile dışarı atmaktadır. Bakteriler hastaların idrar, kan, diğer sekret ve eksekretlerinde de bulunabilir. Bu yolla atılan bakteriler doğrudan doğruya veya indirek olarak ağız yoluyla sağlam insanlara bulaşır. Ancak enfeksiyona yakalanmanın en yoğun şekli tüketilen gıda maddelerinde enfeksiyona neden olacak miktarda etkenin bulunması ile olur. Hayvansal gıdalarda *Salmonella*'lar düşük oda sıcaklığında dahi özellikle et, süt ve yumurta gibi hayvansal gıdalarda hızla ürer (31).

Enterit ve enterokolit niteliğindeki *Salmonella*'lara gelince, bunlardan insanlarda bulunan *S. Scholtmülleri*, *S. Hirschfeldü* ile hayvanlarda bulunan *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Oranienburg*, *S. Suipetisfer*, *S. Montevideo*, *S. Anatum*, *S. Newport* et, yumurta, süt, krema ve bunlardan yapılan çeşitli gıda maddelerine bulaşarak enfeksiyona neden olur. Hayvansal gıdaların dışında *Salmonella*'ların yoğun rastlandığı gıda maddeleri sos, salata vb. gibi gıda maddeleridir (31).

*Salmonella* bakterileri, çomak şeklinde, periferik flagellaları ile hareketli (*S. Gallinanum* ve *S. Pullorum* hariç), 2-4 mm çapında koloniler oluşturan, fakültatif anaerob, optimal gelişme sıcaklığı 37 °C, en uygun gelişme pH'ı 7.4 olan mikroorganizmalardır. Genelde  $\beta$  – galaktosidaz enzimleri olmadığından laktozu fermente edemez. Ancak bazı suşlar laktoz pozitif özellik gösterir. Enteritlere neden olan suşların inkubasyon süresi 12-36 saattir. *Salmonella*'lar pH 4,5, su aktivitesi 0,95 ve depolama ısısı 5 °C'nin altında üreyemez. *Salmonella*'ların tehlikeli olan bir özelliği de, bazen et ürünlerinin 1 gramında  $10^8$  kob/g miktarında bulunmasına rağmen ürünün görünüşünde ve kokusunda bir değişiklik oluşturmamasıdır (45, 46). *Salmonella*'lar, tüketilen gıda maddelerinde enfeksiyona neden olacak miktarda mevcut ise, sepsisemi, ateş ve enteritis görülür. *Salmonella*'ların neden olduğu enfeksiyonlarda ayrıca somatik antijenlerin etkisiyle kusma ve şiddetli ishale neden olan akut toksikasyon görülür (31).

Yapılan çalışmalarda Türkiye'de de hayvansal gıdaların değişik *Salmonella* serotipleri ile önemli düzeylerde kontamine olduğu ve gıda kaynaklı salmonellozis olgularının meydana geldiği bildirilmiştir. Bu çerçevede broiler karkasları % 31,5 (47), kıymalar % 3,3 (48), küçük işletmelerde üretilen dondurmalar % 2 (49) ve tüketime hazır bazı soğuk gıdalar % 15 oranında (48) başta *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* olmak üzere değişik *Salmonella* serotipleri ile kontamine oldukları bildirilmiştir.

## 2.5. KANATLILARDA *SALMONELLA* ENFEKSİYONLARI

### 2.5.1. Tavuk ve Hindi Hastalıkları

#### 2.5.1.1 Pullorum

Genç tavuklarda genellikle septisemik ve öldürücü; erginlerde kronik ve lokalize formlarla seyreden bulaşıcı enfeksiyöz bir hastalıktır. Genç ve dişi hayvanlar daha duyarlıdır. Etken *Salmonella Pullorum*'dur. Gram (-), sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüzdür. Genellikle çomakçıklar, bazen de uzun filamentler halinde görülür. Bütün kanatlılar hastalığa duyarlı olmakla birlikte tavuklar horozlardan daha duyarlıdır. Etkenler insan, fare, tavşan, mink ve kedilerden de izole edilmiştir.

Hastalık genellikle etkenle bulaşık yem, gıda, kan, et-kemik unu ve kontamine suların alınması ile oluşur. Enfeksiyonun çıkış, bulaşma ve yayılmasında portörler, latent ve kronik hastalar, rezervuarlar, enfekte yem, su ve yumurtalar, hayvan bakıcıları, ziyaretçiler, kümes malzemeleri, yem depoları, yemlikler, suluklar, yem ve suluklara kadar ulaşabilen yabanî kuşlar, insektler, fareler, hatalı aşılar, ana ve kuluçka makineleri, hayvanların birbirilerini gagalamaları rol oynar. Hasta ve portörler % 3-35 oranında yumurtalarıyla etkeni çıkarırlar (vertikal bulaşma) (30).

**Semptomlar:** Enfeksiyonun kuluçka süresi hayvanın yaşına, ırkına, etkenin virulensine ve çevresel koşullara göre değişir. Cıvıvlar genel semptomlarla birlikte kısa bir süre içinde septisemiden ölürlür. Uzun süre yaşayabilenlerde beyazımsı yeşil bir ishal ve kloakanın etrafının beyaz bir ishal ile kirlendiği, dehidrasyon, çok su içme, kanatlarda düşme, nadiren körlük, eklem yangılan ve topallık gözlenebilir. Kuluçka süresi gençlerde 4-6 gün, erişkinlerde 16-21 gün arasında değişir. Ergin hayvanlarda klinik bulgular çok az veya görülmez. Hasta hayvanların bazılarında ishal, durgunluk, zayıf tüylenme, susama, ibiklerde solgunluk ve yumurta veriminde azalma görülür (30).

**Et Muayene Bulguları:** Yumurta folliküllerinin koyu sarı-kahve renkli olmaları, perikarditis, myokarditis, kalp, karaciğer, dalakta ve diğer organlarda küçük gri renkli nekrotik odaklar ve bu organlarda büyüme gözlenir. Kalp, karaciğer ve böbrekler gevrek bir yapıdadırlar ve hava ile temasa geldiklerinde yeşilimsi bir renk alırlar. Deri altı ve yumurta folliküllerindeki damarlar belirginleşir. Üreterlerde urat kristalleri, sekumda peynirimsi kitle, akciğerlerde apseler görülebilir. Karın boşluğunda fibröz bir

eksudatın toplanması, tibiotarsal eklemlerde şişkinlik, erkek hayvanlarda testislerde atrofi görülebilir. Hindilerde de benzer tablo gözlenir (30).

**Etler Hakkında Karar:** Hastalığa yakalanmış kanatlıların etleri tüketime sunulmaz. Şüpheli gövdeler ise sterilize edildikten sonra tüketilmesine izin verilir (30).

#### 2.5.1.2. Kanatlı Tifosu (Fowl Typhoid, Hühner Typhus, Typhosa Aviaire)

Etken *Salmonella Gallinarum*'dur. Gram (-), hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz çomaklar şeklindedir. Başta tavuklar olmak üzere diğer kanatlıların perakut, akut, subakut ve kronik seyirli bulaşıcı, öldürücü bir hastalığıdır. Genellikle erişkinlerde görülür. Etken genellikle sindirim yoluyla alınır. Etkenler gaita ve yumurta ile dışarı atılır (30).

**Semptomlar:** İnkubasyon süresi 4-15 gündür. Enfeksiyon çabuk seyrettiği zaman ölümler % 50-80'lere ulaşabilir. Hayvanlar klinik belirti göstermeden ölü bulunabilir. Akut ve subakut olgularda iştahsızlık, fazla susama, ibik ve sakalların morarması, tüylerin kabarması, sarımsı-yeşil bir ishal ile solunum sıklığı dikkati çeker (30).

**Et Muayene Bulguları:** Akut ve subakut olgularda akciğer, karaciğer, dalak ve böbrekler büyümüş ve kanlı bir görünümündedir. Karaciğer yeşilimsi renkte ve kolayca parçalanabilir bir kıvamda olup üzerinde küçük gri-beyaz nekrotik odaklar bulunur ve gövde solgundur. Dalak kolay parçalanır. Kronik olgularda myokartta kanamalara ve nekrotik odaklara rastlanır. Safra kesesi genişlemiş ve içerisi koyu kıvamda bir safra ile dolmuştur. Yumurtalıklar normal parlak sarı rengini kaybetmiş; kirli sarı ve kahverengi bir renk almıştır. Olguların çoğunda kataral bir enterit tablosuna rastlanır (30).

**Etler Hakkında Karar:** Kesim sonrası hastalık saptanan karkaslar imha edilir.

#### 2.5.1.3. Paratifo Enfeksiyonları (Paratyphoid Infectosa, Salmonellosis)

*S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* dışında kalan diğer hareketli *Salmonella* türlerinden ileri gelmektedir. Bu türler arasında *S. Enteritidis*, *S. Anatum*, *S. Typhimurium*, *S. Bareilly*, *S. Derby*, *S. Montevideo*, *Salmonella Newport* ve diğerleri bulunur. Enfeksiyonun çıkış, bulaşma ve yayılışı pullorum ve tavuk tifosunda bildirildiği gibidir (30).

**Semptomlar:** Tüylerin kabarması, durgunluk, iştahsızlık, ishal, kanatlarda düşme, kaslarda inkoordinasyon, titreme, topallık ve göz kapaklarında şişkinlik görülür (30).

**Et Muayene Bulguları:** Perakut (septisemik) olgularda semptomlar görülmeden hayvanlar ölürlür. Ölüm oranı 5-8 gün içinde yüksek düzeye ulaşır ve % 20'ye varan bir

mortalite görülür. Bazı tavuklarda da körlük, bacak ve eklem yangılan bulunabilir. Akut durumlarda karaciğer ve dalak büyümüş üzerinde küçük nekrotik odaklar bulunur Perikarditis, hava kesesi yangısı ve hemorajik enteritis, bağırsaklarda mantarımı üremeler, karın boşluğunda absorbe edilemeyen yumurta sarısı gözlenebilir (30).

**Etlar Hakkında Karar:** Kesimi yasak hastalıktır. Kesim sonrası tespit edilen veya şüpheli karkasların tüketilmesine izin verilmez. Gövde, iç organ ve tüm artıklar imha edilmelidir. Gıda zehirlenmesine neden olabilir (30).

## **2.6. GIDALARDAN *SALMONELLA*'LARIN SAPTANMASINDA POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR) TEKNİKLERİNİN KULLANILMASI**

Klasik kültür teknikleri ile gıdalardan *Salmonella*'ların saptanması; ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif katı besi yerine ekim, biyokimyasal ve serolojik testlerin yapılması esasına dayanmaktadır. *Salmonella*'ların gıdalardan izolasyonu 5-7 gün gibi uzun bir süreyi almakta, laboratuvar personelinin yoğun çalışması ile fazla miktarda malzemeye gereksinim duyulmaktadır. Taze gıdaların çoğunun oldukça sınırlı raf ömrüne sahip olması nedeniyle, klasik yöntemlerle izolasyon prosedürü sona ermeden bu gıdaların tüketildikleri veya raf ömrünü tamamladıkları görülmektedir.

### **2.6.1. PZR Tekniğinin Prensibi**

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PZR) tekniği ilk kez Saiki ve ark. (50) tarafından bir anemi geninin saptanmasında ortaya konulmuştur. PZR; DNA'nın belirli bir bölümünün in vitro yöntemle hızlı ve çok sayıda çoğaltılmasına yönelik bir tekniktir. Moleküler klonlama, DNA'nın in vitro mutagenesi, parmak izi (finger printing), mikroorganizmaların saptanması, genetik hastalıkların teşhisi ve değişik hayvanlara ait proteinlerin saptanmasında başarıyla kullanılmaktadır.

PZR tekniğinin tıp ve diğer bilim dallarında anahtar teknik olmasında; ısıya dirençli DNA polimerazı (Taq-DNA-polimeraz) ve PZR otomatlarının (Thermocycler) kullanılması önemli rol oynamıştır. Taq-DNA polimerazın kullanılması ile her denatürasyon işleminden sonra yeniden enzim ilave edilmesi zorunluluğu ortadan kalkmış, software programları ile istenilen şekilde programlanabilen thermocycler'ların kullanımı ile de hedef DNA amplifikasyonunda otomasyon sağlanmıştır.

PZR tekniği ile DNA amplifikasyonunun prensibi Şekil 2.2. ve 2.3.'de görüldüğü gibi;

a) Çift sarmallı kalıp DNA'nın ısı ile **denatürasyonu (denaturation)**,

b) Tek sarmallı DNA'lara **primerlerin bağlanması** (*primer annealing*),

c) Polimeraz enzimi ile **primer uzatılması** (*primer extention, primer elongation*) aşamalarından oluşmakta ve 3 aşama 1 siklusu oluşturmaktadır (12, 51-53).

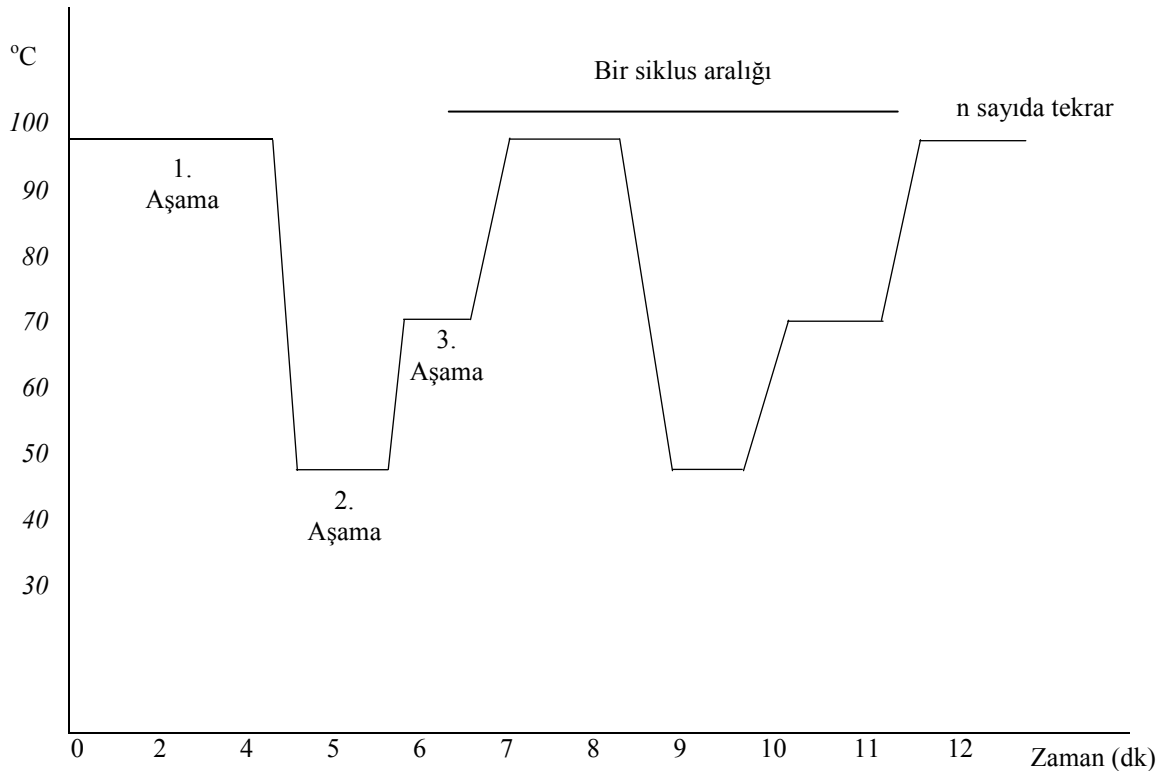
1. *aşama*: Çift sarmallı DNA'nın, ısı etkisi (93-100 °C) ile denatüre edilmesi.

2. *aşama*: Sıcaklığın 37-65 °C'ye düşürülmesi ile primerlerin denatüre edilen DNA matrisine bağlanması.

3. *aşama*: Isıya dirençli DNA polimeraz enzimi ile 72 °C'de primer uzamasının sağlanması.

PZR işleminin ilk aşamasında amplifiye edilecek matris DNA 95-100 °C'ye ısıtılır. DNA'nın zarar görmesi durumunda PZR'da yanlış yapılı nükleotidler oluşacağından, denatürasyon aşamasında çok yüksek ısı uygulamalarından sakınılmalıdır.

DNA polimerazı, reaksiyon için uygun sıcaklığa (72 °C) ulaşılması ve dNTP karışımının varlığında primeri, denatüre edilmiş tek sarmallı DNA matrisi boyunca uzatır ve bu şekilde yeni DNA sarmalları sentezlenir.



Şekil 2.2. PZR tekniğinde sıcaklık akım siklusu (12, 51-53).

Sentezleme işleminin başlangıcında polimeraz, primerin 3'-sonundaki 3' hidroksil grubu ile komplementer olan deoksिनükleotidlerin 5'-fosfat grupları arasında fosfatdiester bağı oluşturur. Bu şekilde 5'-32 yönünde DNA sentezi meydana

gelir. PZR tekniğinde, her biri karşısındaki bir DNA-bölümünün sarmalı ile birleşme özelliğine sahip iki primer ile primer uzatılması (*primer extension*) prensibi uygulanır. Primerlerin yönlendirilmesi öyle seçilmelidir ki, primer A'nın primer uzatılması işlemi primer B'nin matrisi için ve tersi şeklinde olmalıdır. Sentezleme işleminin tekrarı için çift sarmallı DNA'nın ısı ile tekrar denatüre edilmesi ve soğutulması sonunda primerlerin bağlanmasının sağlanması gerekmektedir. Her yeni sarmal sentezi yeni bir çoğalma anlamına gelmektedir. Bunun yanısıra yeni sentezlenmiş DNA sarmalları da matris olarak fonksiyon görmekte ve bu şekilde her bir siklus ile çoğaltılan kalıp DNA sarmal konsantrasyonu da artmaktadır. Şekil 2.3.'de görüldüğü gibi önce orijinal matris boyunca yeni DNA sarmalı oluşturulur. Bu DNA sarmalının belirli bir uzunluğu yoktur, zira DNA sentezler, 2. siklusda negatif kopyanın uzunluğu henüz tam olarak belirgin değildir. Ancak 3. sikludan itibaren aranan uzunlukta yeni ürünler oluşur, 4. siklustan itibaren bu kalıp- sequens eksponensiyel çoğalır.

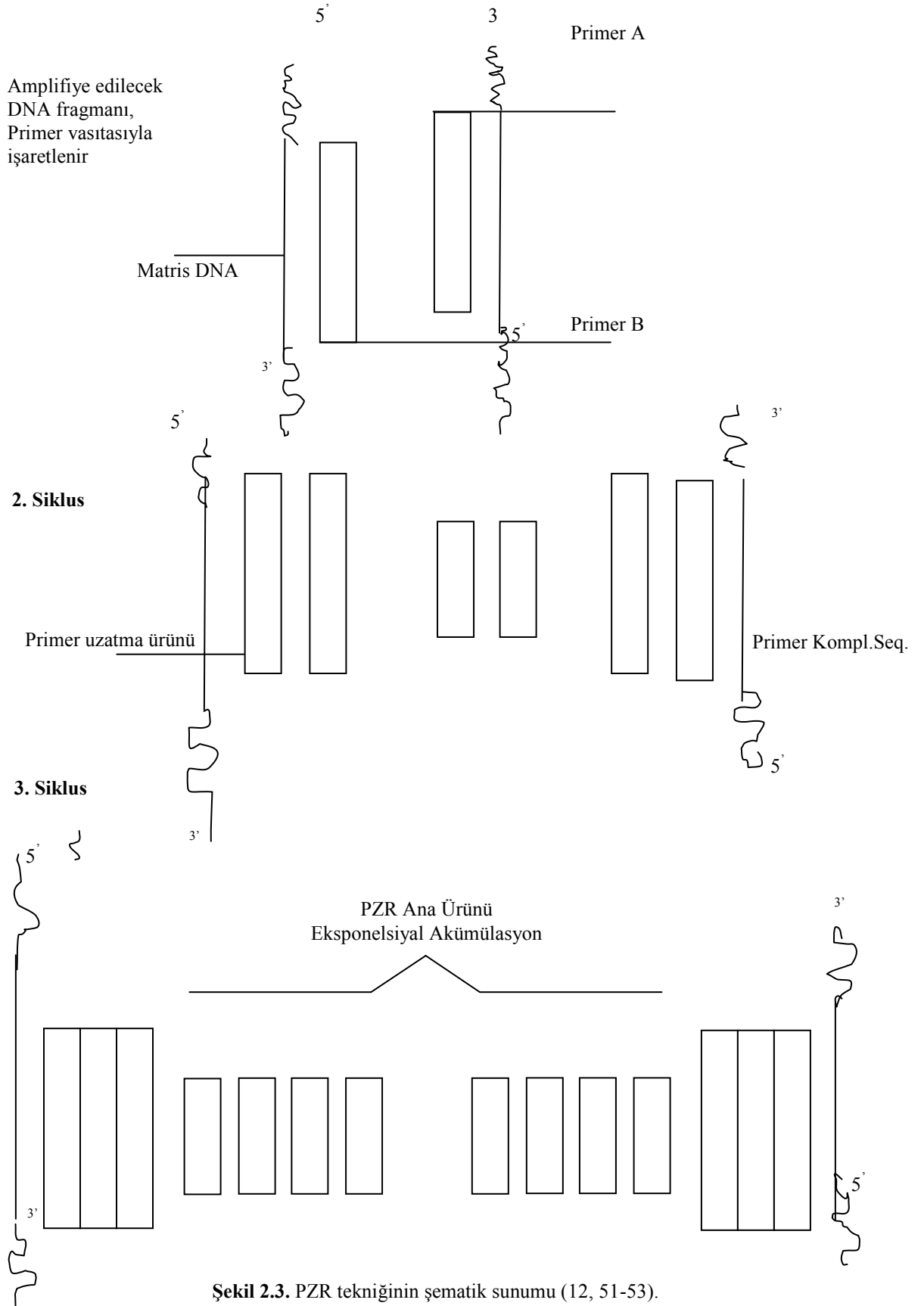
Bu siklusun (*denatürasyon-primer bağlanması-primer uzatılması*) 20-40 kez tekrarı ile iki primer arasında DNA-fragmanın binlerce kez üremesi sağlanmış olur. Primer uzatılması normalde 72 °C'de gerçekleşir ve çoğunlukla 1-2 dakika bu reaksiyon için yeterlidir. Son siklusta sentezleme işlemi (72 °C'de) 10 dakikaya kadar uzatılır, bu şekilde polimeraz bütün sarmalları doldurabilir (çift sarmallar oluşur). Genelde 25-35 siklus sayısı 100 ng - 1 µg DNA'nın 50 ng genomik DNA'dan sentezlenmesi için yeterlidir. Gıdaların *Salmonella* ve diğer mikroorganizmaların PZR tekniği ile saptanmaları da genel prensibi yukarıda açıklandığı üzere mikroorganizmaların nükleik asitlerinin amplifikasyonuna dayanır ve 3 aşamada gerçekleştirilir:

- Hedef nükleik asitlerin ekstaksiyonu
- Hedef nükleik asitlerin çoğaltılması
- Amplifikasyon ürünlerinin analizi

### **2.6.2. PZR'ın Temel Bileşenleri ve Gerekli Konsantrasyonları**

Bir PZR reaksiyonu için gerekli olan maddeler, aşağıda açıklaması yapılan; hedef DNA, primerler, DNA- polimerazı, deoksिनükleotidler ve nükleosidler (dNTP karışımı) ile magnezyum içeren tampon çözeltiden oluşmaktadır. PZR'ın temel bileşenleri ile konsantrasyonları Tablo 2.5.'de verilmiştir (53).

### 1. Siklus



Şekil 2.3. PZR tekniğinin şematik sunumu (12, 51-53).

**Tablo 2.5.** PZR reaksiyonunun temel bileşenleri ve konsantrasyonları (53).

Hedef DNA	1,5 µg -1 pg ( $10^2$ - $10^5$ Molekül)
Spesifik Oligonükleotid Primer 1 ve 2	1 µM ( $6 \times 10^{13}$ Molekül)
Deoksiribonükleosit Trifosfat (dNTPs)	0,5 mM ( $3 \times 10^{16}$ Molekül)
<i>Taq</i> DNA Polimeraz	2,5 U
MgCl <sub>2</sub>	1-10 mM

### 2.6.2.1. Hedef DNA ve Ekstraksiyonu

Başarılı bir amplifikasyon için gerekli olan hedef DNA değişik gıdalardan sağlanabilir. Hedef DNA'nın ekstraksiyonunda önemli olan nokta amplifiye edilecek mikroorganizma DNA'sının fonksiyonel özellikte olmasıdır. Bu nedenle hazırlık aşamasında DNA bütünlüğünün bozulmamasına özen gösterilmelidir. Aynı şekilde DNA - polimer inhibitörlerinin de (EDTA, fenol, vb) DNA'nın hazırlanması sırasında ortamda bulunmamasına dikkat edilmelidir. Genel olarak kaynatmayla veya bazen deterjan ilave edilerek kaynatma yoluyla başarılı bir DNA ekstraksiyonu yapılabilmektedir. Ancak, değişik gıda ve çevresel örneklerden *Salmonella* ve diğer mikroorganizmada DNA'ların ekstraksiyonunda durum çok farklıdır. Çünkü bu örneklerde *Salmonella*'larda olduğu üzere hedef mikroorganizmalarda, değişik mikroorganizma türlerinin yüksek sayıda temsil edildiği mikroflora içerisinde çok az sayıda bulunması veya doku örnekleri içerisinde yüksek düzeyde konakçı DNA'sının bulunması, hedef DNA ekstraksiyonunu güçleştirmektedir (12).

### 2.6.2.2. Primer

DNA'yı PZR tekniğiyle amplifiye edebilmek için, başlatıcı-yardımcı oligonükleotid primerlere (*amplimer*) gereksinim duyulur. Bu anlamda söz konusu olan, kısa, tek sarmallı DNA molekülleri olup, bu moleküller, DNA matrisinin belirli bir bölümünün sonu ile komplementer yapıya sahiptirler. PZR için gerekli oligonükleotidler genelde 20-33 baza sahiptirler. PZR için herbirinden 1 µmol/ml son konsantrasyonundaki primerler ilave edilir. Tablo 2.6.'da *Salmonella*'ların deteksiyonunda sıklıkla kullanılan primerlerden bazıları ile hedef DNA bölgeleri verilmiştir.

**Tablo 2.6.** *Salmonella*'ların saptanmasında kullanılan bazı primerler.

Spesifite	Hedef DNA	Ürün Büyüklüğü	Primer sequens	Kaynak
<i>Salmonella</i> Genus	Orijin replikasyon	163 bp	P1: TTATTAGGATCGCGCCAGGC P2: AAAGAATAACCGTTGTTTAC	54
<i>Salmonella</i> Genus	<i>invA</i>	284 bp	139: GTGAAATTATCGCCACGTTCTGGGCAA 141: TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	55
<i>Salmonella</i> Genus	Genom fragmanı	429 bp	ST 11: AGCCAACCATTGCTAAATTGGCGCA ST 15: GGTAGAAATTTCCAGCGGGTACT	21
Motil <i>Salmonella</i> 'lar	Flagellin gen	236 ve 173 bp	Hin 1750-L: TAGTGCAAATTGTGACCGCA 1751-R: CCCATCGCGCTACTGGTATC H-li 1789-R: CCGCAGCAAGAGTCACCTCA 1789-R: CCGCAGCAAGAGTCACCTCA	56
<i>Salmonella</i> Genus	<i>rfb-gen</i>	D: 720 bp C <sub>2</sub> : 820 bp B: 882 bp	1-rfbJ (B): AGAATATGTAATTGTCAG 2-rfbJ (B): TAACCGTTTCAGTAGTTC 3-rfbJ (C2): ATGCTTGATGTGAATAAG 4-rfbJ (C2): CTAATCGAGTCA\GAAAG 5-rfbS (D): TCACGACTTACATCCTAC 6-rfbS (D): CTGCTATATCAGCACAAAC	57
<i>Salmonella</i> Genus	His operon	496 bp	ACTGGCGTTATCCCTTCTCTGGTG ATCTTGTCCTGCCCTGGTAAGAGA	58
Spv <i>Salmonella</i>	<i>spvR</i>	500 ve 406 bp	spvR1: ACAGGTTCTTCAGTATCGC spvR2: CTGTTGATATCAGGTTT spvR3: TCTGAAATAACCCTGCTCAG	59

Yüksek konsantrasyonlarda kullanılan primerler, özellikle primer dimer adı verilen spesifik olmayan bantların oluşmasına yol açar. Primer dimerler küçük DNA ürünleri olup primerlerin birbirine bağlanması ya da DNA polimeraz enziminin spesifik olmayan nükleotidleri kullanılmayan primerlerin uçlarına bağlanması neticesinde oluşan bantlardır. Bunlar, hedef DNA üzerinde kendine komplementer olan baz sıralarını kullanarak bağlanır. Primerlerin 5'-ucu, hedef DNA'nın 3'-ucu ile birleşerek, polimerizasyon için 5' → 3' yönünde uygun bir ortam yaratmaktadır. Yeni bazlar, primerin 3'-terminusuna, kalıp DNA örnek alınarak seçilir ve ilave edilir. Primerler

sürekli olarak 5' ucundan 3' ye doğru sentezlenmeli ve yazılmalıdır. Primerler o tarzda seçilmeli veya hazırlanmalıdırlar ki, kendilerinde bulunan baz sıraları, sadece hedef DNA üzerinde bir bölgede bulunmalı başka yerlerde veya hedef DNA sekanslarında bulunmamalıdır. Diğer önemli bir noktada, hedef DNA baz sıralarının çok iyi bilinmesi ve bunlar üzerindeki spesifik bölgelerin seçilmesi ve başka bir ajanda bulunmamasına gayret gösterilmelidir. Böyle yanlışlıkları önlemek için, primerlerin spesifikiteleri, rutin muayenelerle denenmeli uygun bulunanlar testte kullanılmalıdır (60).

### 2.6.2.3. Termostabil DNA-Polimeraz

Isıya dirençli DNA polimerazlarının kullanılması PZR için büyük teknolojik adım anlamına gelmekte olup, tekniğin gıda, klinik ve araştırma alanında rutin olarak uygulanabilirliğini mümkün kılmıştır. En sık kullanılan DNA - polimeraz enzimi, Taq-polimerazdır. Bu enzim *Thermus aquaticus*'tan izole edilmiştir. Yüksek sıcaklığa dirençli olan bu enzimin optimal etkiye sıcaklığı 72 °C'dir. Taq-polimeraz enziminin, sıcaklığa duyarlı enzimlere karşı 2 önemli üstünlüğü vardır: Birincisi her denatürasyon siklusunu takiben yeni enzim ilavesine gerek kalmaması, ikincisi primerlerin hedef DNA'ya bağlanmasının yüksek sıcaklıklarda daha spesifik ve DNA sentezinin de daha hızlı olmasıdır (61). *T. aquaticus* polimerazı dışında *Thermus thermophilus* DNA-polimeraz, *Bacillus stearothermophilus* DNA-polimeraz, *Thermus brockianus* DNA-polimeraz ve çok yüksek termofilik özellikteki *Thermococcus litoralis* DNA-polimerazı ticari olarak bulunmaktadır. Taq-polimeraz aktivitesi pH 8,2-9,0 üzerinde 10 mM tris içerisinde optimal etkiye sahip olup, daha yüksek ve daha düşük pH değerleri enzimin aktivitesini düşürmektedir (52, 53, 55, 57, 59, 61-65).

Normalde 100 µl'lik bir PZR reaksiyonu için optimal enzim konsantrasyonu 1-2,5 ünite'dir. Bir reaksiyonun optimizasyonu için enzim konsantrasyonu 0,5-5 ünite / 100 µl arasında değişebilir. Çok yüksek enzim konsantrasyonunun olması halinde yan ürünlerin oluşumu kuvvetlenebilir (52, 53, 55, 57, 59, 61-65).

Son yıllarda, bir çok termostabil polimeraz enzimi izole, identifiye, pürifiye edilmiş ve denenmiştir. Bunlar arasında, *Thermococcus litoralis*'den izole edilen Vent polimeraz, *Thermus thermophilus*'dan Tth polimeraz ve *Pyrococcus furiosus*'dan da Pfu polimeraz enzimleri elde edilmiştir. Bu 3 termostabil enziminin birbirinden ve Taq polimerazdan bazı üstünlükleri bulunmaktadır. Örn., Taq polimerazın 3' → 5' ekzonükleaz aktivitesi bulunmamaktadır. Bu durum, DNA'nın amplifikasyonu sırasında yanlış bazların sıraya

girmesi halinde (her 1000 bazda bir baz) bunları tanıyarak çıkaramamakta, böylece sentezi sürdürmekte ve uygun olmayan bir polimerizasyona yol açmaktadır (60).

#### **2.6.2.4. Deoxynucleotid - Triphosphate (dNTPs) Karışımı**

Yeni DNA sarmallarının sentezi için; dATP, dTTP, dGTP, dCTP; hepsi dNTPs olarak adlandırılan 4 farklı deoksिनुकлеотид trifosfata gereksinim vardır. dNTP karışımı liyofilize formda veya sulu çözelti halinde bulunmaktadır. dNTP karışımı 20 °C'de birkaç ay stabil özelliğe sahiptir (52, 53, 55, 57, 59, 61-65).

#### **2.6.2.5. Reaksiyon Solüsyonu (Tampon)**

Günümüzde bir seri reaksiyon solüsyonu (tampon) bulunmakta ise de, reaksiyon solüsyonu son konsantrasyonu; 10 mM tris (pH 8,4), 50 mM KCL, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, % 0,01 jelatin (BSA; bovine serum albumin olabilir veya tamamen çıkarılabilir), % 0,01 NP40 ve % 0,01 Tween 20 şeklindedir (55, 57, 59, 61-65).

#### **2.6.3. Reaksiyon Koşulları**

Amplifikasyon amacıyla seçilen sıcaklık ve siklus sayısı ile süreleri esasen hangi DNA'nın hangi primer ile amplifiye edileceğine bağlıdır. PZR'da 10-100 µl reaksiyon hacimleri kullanılır. Küçük hacimlerin seçilmesi fazla sayıda numune işlenen yerlerde masrafların azaltılması yönünden önemlidir (55, 57, 59, 61-65).

#### **2.6.4. Reaksiyon Ürünlerinin Saptanması ve Analizi**

Bir PZR ürünü, belli uzunluktaki bir yada daha fazla DNA fragmanından oluşmaktadır. Bir DNA ürünü uzunluğunun ve PZR'nun kalitesinin basit ve temel saptama yöntemi, reaksiyon ürününün bir miktarı ile uygun DNA-markerinin {DNA-ladder) pozitif ve negatif kontrol ile birlikte ethidium bromid ile boyanmış % 0,8-4'lük agaroz jelde yürütülmesi esasına dayanır. DNA fragmanının agaroz jel içerisinde yürütmesinden sonra UV-Transilluminator altında ethidium bromid ile görünmesi sağlanır. Bu şekilde DNA fragmanının büyüklüğü DNA işaretleyicisi (marker) ile karşılaştırılarak belirlenir (49, 51-60). Meydana gelen bantlar, bilinen kontrol bantlarla karşılaştırılarak bir değerlendirme yapılır. Çok basit ve aynı zamanda kolay olmasına karşın bu tekniğin bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bunlardan biri, boyama tekniğinin sekans spesitesi zayıftır. Çünkü istenmeyen veya ilgisi olmayan DNA'lar da amplifiye olabileceğinden bunlar bant analizleri ile belirlenememektedirler. Kontrol setler kullanılsa dahi sorunlar ortaya çıkmaktadır (60).

Aynı büyüklükteki spesifik olmayan amplifikasyon ürünlerine bağlı olarak yanlış pozitif sonuçlar da oluşabilir. Dot-blot veya Southern blot teknikleri hibridizasyon ile kombine edildiğinde (radyoaktif veya radyoaktif olmayan prob kullanımı ile) spesifite ve duyarlılık önemli düzeyde yükseltilir (52, 53, 55, 57, 59, 61-65).

**Southern Blot Analizi:** Amplifiye olmuş ürünler, aynen yukarıdaki teknikte olduğu gibi, agaroz jel elektroforezis (veya PAGE) tabii tutularak molekül ağırlıklarına göre bir separasyona tabii tutulur. Bu aşamadan sonra, agaroz jelden katı ortama (nitroselüloz filtre veya naylona) transfer edilirler (elektro transfer). Bu katı ortam üzerinde denatüre ve fikre edildikten sonra, işaretli (biotin vs) spesifik problarla hibridizasyona tabii tutulur ve sonuçlar otoradyografi veya biotin kullanılmış ise renk indeksine göre değerlendirilirler. Film üzerinde siyah lekelerin (bantlar) bulunması hedef DNA'nın amplifiye olduğunu ortaya koyar. Southern blotting tekniğinin sensitivitesi ve spesifitesi daha yüksektir. Ancak, bu teknoloji de zaman alıcı ve fazla iş gerektirir (66).

**Solüsyon Hibridizasyon Tekniği:** Bu teknikte, amplifiye edilmiş DNA ürünleri, işaretli problar uygun NaCl yoğunluğuna sahip bir hibridizasyon solüsyonu içinde bir araya getirilirler. Karışım 95 °C'de denatüre edilerek, DNA iplikçikleri birbirlerinden ayrılırlar. Solüsyon, 50-60 °C'ye kadar ılıklaştırılarak spesifik probların sekanslara bağlanması sağlanır. Bu karışım, poliakrilamid jel elektroforezis (PAGE) tabii tutularak separe edilir. Jel içerisinde DNA x DNA hibrid molekülleri büyük olduğundan ve yavaş harekete sahip olacaklarından, başlangıçta yer alırken, küçük moleküller (birleşmemiş problar, tek iplikçik DNA, vs) daha hızlı hareket ederek karşı uçta lokalize olurlar. Sonraki işlemler aynen Southern blot'da olduğu gibi yürütülür ve değerlendirilir (60).

#### **2.6.4.1. Direkt ve İmmüno Manyetik PZR ile Gıdalardan *Salmonella*'ların Saptanması**

Gerek deneysel çalışmalar gerekse saha çalışmalarına ilişkin sonuçlar direkt ve/veya IM-PZR tekniklerinin kullanılması ile gıdalarda bulunan *Salmonella*'ların hızlı ve yüksek duyarlılıkta saptanabildiğini ortaya koymuştur (50, 61-64).

Tablo 2.7.'de görüldüğü üzere, değişik hayvansal ürünlerde bulunan *Salmonella*'ların, farklı gen bölgeleri kullanılarak amplifiye edildiği ve zenginleştirme öncesi 10-25 gram gıda örneğinde 1-4 *Salmonella* bulunması halinde dahi başarıyla amplifiye edilerek saptanabildiği gösterilmiştir (19, 64, 67-71).

**Tablo 2.7.** PZR tekniği ile gıdalardan *Salmonella* saptanması.

<i>Salmonella</i>	Örnek	Gen Bölgesi	Saptama Sistemi	Saptama limiti	Kaynak
<i>S. Typhi</i>	Tavuk eti, biftek ile deniz ürünleri salatası	5S – 23S spacer regino	Jel	400 hücre / PZR	68
<i>Salmonella</i>	Tavuk	ST11 / ST15 primer	Jel	-	69
<i>S. Gallinarum</i> , <i>S. Typhimurium</i>	Deneysel enfekte tavuk organı	<i>invA</i> gen	Jel	10 <sup>3</sup> kob / ml organı homojenatı	70
<i>Salmonella</i>	Tavuk file	ST11 / ST15 primer	Jel	1 hücre / 25g 10 h zenginleştirme	19
<i>Salmonella</i>	Tavuk deri	Multiplex PZR:1 oriC 2: virulans plasmid spesifik gen	Jel	10 K kob / PZR 18 h zenginleştirme	64
<i>Salmonella</i> spp.	Domuz, sığır, tavuk eti	IS 200 (25 kopya / genom)	Mikroplaklarda fluoresan deteksiyonu	1-10 kob / assay	71
<i>Salmonella</i> serogrup AE	Tavuk eti	<i>Ori C</i> primer	Jel, Southern blot, Dig. İşaretli prob	1 kob / g 24 h zenginleştirme	67

## **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **3.1. GEREÇ**

#### **3.1.1. Numuneler**

Erzincan Garnizonu'nda TSK'nin ihtiyacı için alımı yapılan -18 °C'de dondurulmuş-poşetlenmiş tavuk ve hindilere ait deri, but ve göğüs etlerinden oluşan numuneler araştırma materyali olarak kullanıldı. Çalışma kapsamında 2006 yılının Aralık ve 2007 yılının Ocak – Şubat – Mart – Nisan-Mayıs aylarında haftada ortalama 3 kez ekim yapmak suretiyle toplam 200 adet tavuk ve 200 adet hindi numunesi incelendi. Bu çalışma için numuneler Erzincan Garnizonu'ndaki birliklere ait soğuk hava depolarından alınarak aynı Garnizondaki 3. Ordu B tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı Laboratuvarı'na getirildi ve mikrobiyolojik incelemeye tabi tutuldu.

### 3.1.2. Kontrol Suş

Konvansiyonel ve moleküler analizlerde pozitif kontrol suş olarak Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi (Ankara)'nden temin edilen *Salmonella* Enteritidis (Koch Enst.) ve *Salmonella* Typhimurium (NCTC 12416) suşları kullanıldı.

## 3.2. YÖNTEM

### 3.2.1. Donmuş Tavuk ve Hindi Karkaslarının Mikrobiyolojik Muayeneye Hazırlanması

Termoslu kaplarla aseptik koşullarda laboratuvara getirilen numuneler buzdolabı ortamında 2 - 8 °C'de 18 saatte çözündürüldü (72). Çözünmeyi müteakip daha önce ultraviole sistem ile steril hale getirilen ekim odasında, iki bek alevi arasında her bir numunenin ambalajı steril pens ve bisturi yardımıyla açıldı (73).

### 3.2.2. Donmuş Tavuk ve Hindi Karkaslarının Laboratuvar Analizleri

#### 3.2.2.1. Konvansiyonel Metod

##### 3.2.2.1.1. Selektif Olmayan Zenginleştirme

Numuneden 25 gr alınarak 225 ml % 0,1'lik tamponlanmış peptonlu su (TPS) (Merck 107228) içinde homojenize hale getirilerek, 37 °C'de 16 - 20 saat (~18 saat) inkübe edildi (74).

##### 3.2.2.1.2. Selektif Zenginleştirme

Ön zenginleştirme ortamından 10'ar ml alınarak 100 ml Selenite Cystine Broth (SCB) (Merck 107709) ve 100 ml Rappaport Vassiliadis Broth (RVB)'a (Merck 107700) pipet ile inokule edilerek, besi yerleri sırasıyla 37 ve 42 °C'de 18 - 24 saat süreyle inkübe edildi (74).

##### 3.2.2.1.3. İzolasyon

Selektif zenginleştirme sonucu SCB ve RVB'dan Brilliant-Green Phenol-Red Lactose Sucrose Agar (BPLSA) (Merck 110747), Bismuth Sulphite Agar (BSA) (Merck

105418) ve Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar (Oxoid CM469) olmak üzere her üç besiyerine ekim yapıldı ve besiyerleri 37 °C'de 18 - 24 saat inkübe edildi (74).

#### **3.2.2.1.4. Biyokimyasal Testler**

İnkubasyondan sonra BPLSA, BSA ve XLD agar'dan *Salmonella* şüpheli olarak değerlendirilen tipik kolonilerden BPLS'de etrafı parlak kırmızı zon ile çevrili pembe-kırmızı renkli koloniler, BSA'da kahverengi, gri veya siyah koloniler ve XLD agar'da siyah kolonilerden beşer tanesi alınarak taze kültürlerin kullanılması amacı ile Nutrient Agar (Merck 105450)'a ekim yapılarak, 37 °C'de 18 - 24 saat inkübe edildi. Takiben identifikasyon amacı ile aşağıda belirtilen biyokimyasal testler yapıldı (42).

##### **3.2.2.1.4.1. Triple Sugar Iron Agar (TSIA) Testi**

TSIA (Merck 103915)'a yüzeye sürme ve dibe daldırma suretiyle ekim yapılarak, 37 °C'de 18 - 24 saat inkübe edildi. Dip kısmı sarı, yatık kısmı kırmızı olan tüpler pozitif olarak değerlendirildi (42).

##### **3.2.2.1.4.2. Lysine Iron Agar (LIA) Testi**

LIA (Merck 111640)'a yüzeye sürme ve dibe daldırma suretiyle ekim yapılarak, 37 °C'de 18 - 24 saat inkübe edildi. Yatık agarın dibinde rengin değişmemesi (menekşe rengi) ve siyahlaşma olması pozitif olarak değerlendirildi (42).

##### **3.2.2.1.4.3. Methyl Red-Voges Proskauer Broth (MR-VP) Testi**

MR-VP Broth (Merck 105712)'a ekim yapılarak 37 °C'de 18 - 24 saat inkübe edildi. Ayıraçların ilavesi ile kırmızı renk meydana gelmemesi negatif olarak değerlendirildi (42).

##### **3.2.2.1.4.4. İndol Testi**

Nutrient Broth (Merck 105443)'a ekim yapılarak, 37 °C'de 18 - 24 saat inkübe edildi. İndol testinde Kovacs ayıracağı (Merck 109293) ile reaksiyonda menekşe renginde halka oluşmaması negatif olarak değerlendirildi (42).

#### **3.2.2.1.4.5. Üre Testi**

Urea Broth (Merck 108483)'a ekim yapılarak, 37 °C'de 6 - 24 saat inkübe edildi. Test tüpünde siklamen pembe renk oluşması negatif, değişiklik olmaması pozitif olarak değerlendirildi (42).

#### **3.2.2.1.4.6. $\beta$ - Galaktosidaz Testi**

Nutrient agar'a ekim yapılarak, 37 °C'de 18 - 24 saat inkübe edildi. Üreyen kolonilere O-nitrophenyl- $\beta$ -D-galacto-pyranoside (ONPG) diskleri (Oxoid DD0013) kullanılarak  $\beta$ - galaktosidaz testi uygulandı. Oluşan sarı renk değişikliği pozitif, renk oluşmaması ise negatif olarak değerlendirildi (42).

#### **3.2.2.1.5. *Salmonella* Hızlı Test Yöntemi**

Bu yöntemde *Salmonella* izolasyonu için; % 2'lik TPS ile ön zenginleştirilmesi tamamlanmış olan numunelere The Oxoid *Salmonella* Rapid Test Oxoid Folio 481'de belirtilen referans metot uygulandı. Takiben pozitif reaksiyon gösteren tüpler Oxoid *Salmonella* Latex Test (FT 203 A) kullanılarak 2 dakika içinde doğrulandı. Test latex'inde aglütinasyon, kontrol latex'inde negatif sonuç veren kültür *Salmonella* spp. şüpheli olarak değerlendirildi (75, 76).

#### **3.2.2.2. Moleküler Metot**

##### **3.2.2.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yöntemi**

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) Myint ve ark. (29)'nın bildirdiği yönteme göre yapıldı. Bu amaçla selektif zenginleştirme aşamasında 42 °C'de 18 - 24 saat süreyle inkubasyona bırakılan RVB'dan 1 ml alınarak 1000 g 2 dk süspansiyon içindeki partiküllerin çökmesi için santrifüj edildi. Süpernatant kısmı 13,800 g 10 dk süre ile santrifüj edildikten sonra ve süpernant kısım tekrar uzaklaştırıldı. Pelet kısım tamponlanmış steril fizyolojik tuzlu su solüsyonu ile iki kez santrifüjlenerek (13,800 g 10 dk) yıkandı. Pelet 100  $\mu$ l steril distile deiyonize süspanse edildi ve 95 °C 10 dk kaynatıldı. Hücre lizati test edilmeden önce buz üzerine konuldu. DNA içeren ekstraksiyon ürününden 2  $\mu$ l alınarak 48  $\mu$ l reaksiyon karışımı içine ilave edildi.

Reaksiyon karışımı 0,25 µl Taq polimeraz enzimi, 5 µl 10x Taq buffer, 4 µl dNTP mixture, 1 µl primer 1 (ST - 11) (AGC CAA CCA TTG CTA AAT TGG CGC A), 1 µl primer 2 (ST 15) (GGT AGA AAT TCC CAG CGG GTA CTG) ve 36,75 µl steril distile sudan oluşturuldu. Amplifikasyon işlemi thermalcycler'da gerçekleştirildi. Numuneler 94 °C'de 2 dk denatüre edildi; amplifikasyon 35 siklusta 95 °C'de 30 sn, 60 °C'de 30 sn ve 72 °C'de 30 sn'de gerçekleştirildi. Reaksiyon son olarak 72 °C'de 10 dk ile tamamlandı. Amplifikasyon ürünleri 0,5 x TBE buffer içeren % 0,5'lik agaroz jel üzerinde 100 V'da 25 dk yürütüldü ve ethidium bromide ile boyandı. UV-transilluminatör altında incelendi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. BAKTERİYOLOJİK ANALİZ SONUÇLARI

#### 4.1.1. TAVUK ve HİNDİ BUT NUMUNELERİNİN ANALİZ SONUÇLARI

Analiz edilen 200 tavuk but numunesinin 15 (% 7,5)'inden *Salmonella* spp. izole edildi (Şekil 4.1.-Şekil 4.2.). İzole edilen suşlar biyokimyasal testler ve *Salmonella* hızlı test yöntemi ile incelenmeleri sonucu *Salmonella* spp. olarak tanımlanmışlardır (Şekil 4.3.-4.8.). Analize alınan 200 hindi but numunesinden ise *Salmonella* spp. izole edilemedi (Tablo 4.1.).

**Tablo 4.1.** But numunelerine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları

Kanatlı Türü	n	Pozitif Numune Sayısı (%)
Tavuk	200	15 (7,5)
Hindi	200	0 (0)

#### 4.1.2. TAVUK ve HİNDİ DERİ NUMUNELERİNİN ANALİZ SONUÇLARI

Analiz edilen 200 tavuk deri numunesinden 32 numunede (% 16) *Salmonella* spp. izole edildi (Şekil 4.1.-Şekil 4.2.). İzole edilen suşlar biyokimyasal testler ve *Salmonella* hızlı test yöntemi ile incelenmeleri sonucu *Salmonella* spp. olarak tanımlanmışlardır (Şekil 4.3.-4.8.). Analize alınan 200 hindi but numunesinden ise *Salmonella* spp. izole edilemedi (Tablo 4.2.).

**Tablo 4.2.** Deri numunelerine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları

Kanatlı Türü	n	Pozitif Numune Sayısı (%)
Tavuk	200	32 (16)
Hindi	200	0 (0)

#### 4.1.3. TAVUK ve HİNDİ GÖĞÜS NUMUNELERİNİN ANALİZ SONUÇLARI

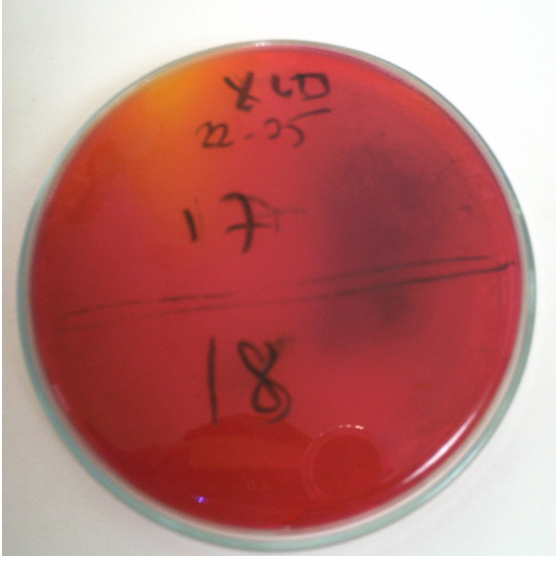
Analiz edilen 200 tavuk göğüs numunesinin 11 (% 5,5)'inden *Salmonella* spp. izole edildi (Şekil 4.1.-Şekil 4.2.). İzole edilen suşlar biyokimyasal testler ve *Salmonella* hızlı test yöntemi ile incelenmeleri sonucu *Salmonella* spp. olarak tanımlanmışlardır (Şekil 4.3.-4.8.). Analize alınan 200 hindi but numunesinden ise *Salmonella* spp. izole edilemedi (Tablo 4.3.).

**Tablo 4.3.** Göğüs numunelerine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları

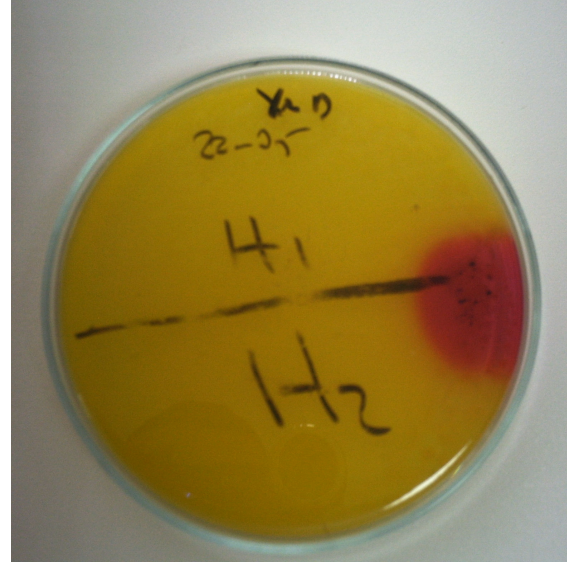
Kanatlı Türü	n	Pozitif Numune Sayısı (%)
Tavuk	200	11 (5,5)
Hindi	200	0 (0)

#### 4.2. MOLEKÜLER ANALİZ SONUÇLARI

Selektif zenginleştirme aşamasında PZR analizine tabi tutulan 200 adet tavuk ve hindi but, deri ve göğüs numunelerinin hiçbirinden *Salmonella* spp. izole edilemedi.



Şekil 4.1. XLD agarda *Salmonella* spp. kolonilerinin morfolojik görünümü.



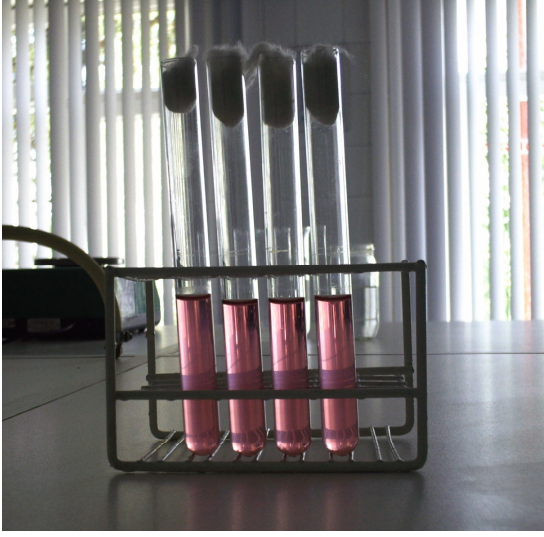
Şekil 4.2. XLD agarda *Salmonella* spp. kolonilerinin morfolojik görünümü.



Şekil 4.3. *Salmonella* hızlı test kiti ile *Salmonella* spp. aranması.



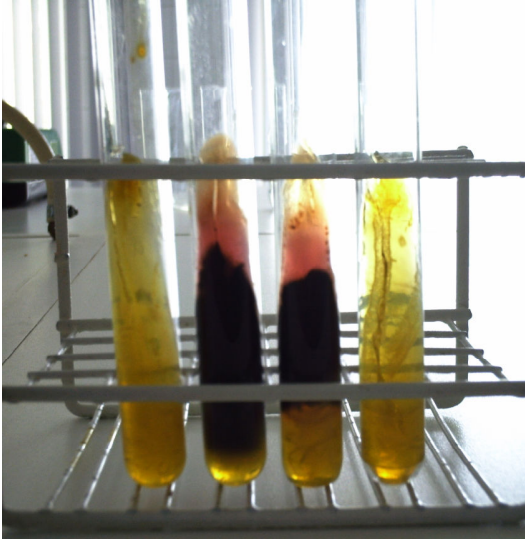
Şekil 4.4. *Salmonella* hızlı test kiti ile *Salmonella* spp. aranması.



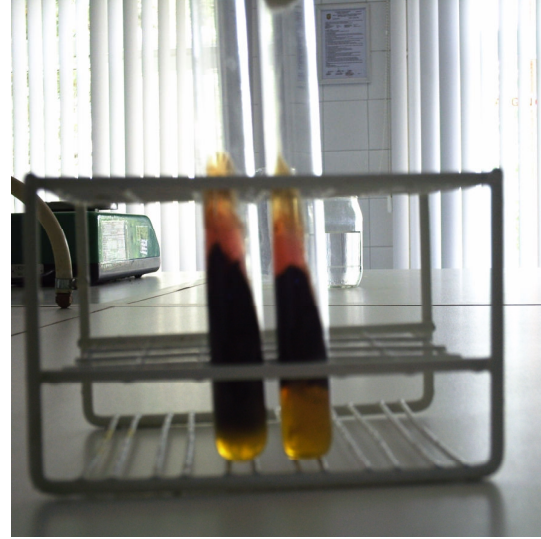
Şekil 4.5. Urea Broth'da *Salmonella* spp.'lerin değerlendirilmesi.



Şekil 4.6. Urea Broth'da *Salmonella* spp.'lerin değerlendirilmesi.



Şekil 4.7. TSIA kolonilerinin morfolojik görünümü.



Şekil 4.8. TSIA kolonilerinin morfolojik görünümü.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde insan nüfusunun artışına paralel olarak, temel gıda maddelerinden olan tavuk etinin tüketiminde de artış meydana gelmiştir. Tavuk eti tüketimine bağlı olarak mikroorganizmalardan kaynaklanan gastroenterit olgularının da artması, araştırmacıları bu iki olay arasındaki ilişkiyi tanımlamak üzere harekete geçirmiştir. Yapılan çalışmalar, tavuk etinin mezbahalarda kesim işlemleri, nakliye ve depolama sırasında kontamine olduğunu göstermiştir. Son yıllarda üretim / kesim teknolojisi ile mikrobiyoloji alanındaki gelişmeler sayesinde, hammadde kalitesinde artış ve tüketimden kaynaklanan gastroenterit olgularında da azalış meydana gelmiştir (77).

Ulusal ve uluslararası düzeyde; yem, canlı hayvan ve hayvansal ürün ticaretinin artmasına ve turizmin hızla yaygınlaşmasına bağlı olarak, hayvansal gıdalardan kaynaklanan *Salmonella* enfeksiyonlarının sayısı da tüm dünyada önemli bir artış göstererek ciddi halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Kaldı ki günümüzde gelişmiş ülkelerde dahi rapor edilen gıda kaynaklı salmonellozis olgularının sayısının gerçek olgu sayısının çok altında olduğu ve bu konuda Türkiye’de sağlıklı veri tabanının da

bulunmadığı bilinen bir gerçektir. Enterik ateş dışında çoğu *Salmonella* enfeksiyonlarının çocuklar ve yaşlı insanlar dışında nispeten hafif seyretmesi, bu hastalığa verilmesi gereken önemi azaltmamalı ve yine her yıl *Salmonella* enfeksiyonlarından kaynaklanan işgücü ve tedavi masraflarına ilişkin büyük ekonomik kayıplar da gözardı edilmemelidir (47).

Bu çalışmada, Erzincan Garnizonu'nda TSK'nin ihtiyacı için alımı yapılan - 18 °C'de dondurulmuş-poşetlenmiş bütün tavuk ve hindi etlerinden 200'er adet numune alınarak bu numunelerin deri, but ve göğüs kısımlarının konvansiyonel kültür ve moleküler (PZR) metotla *Salmonella* spp. yönünden kontaminasyon düzeyleri belirlenmiştir.

Kundakçı ve ark. (78), 0 °C'de depoladıkları piliç karkaslarında 0. günde ve depolamanın 4., 8., 12. ve 16. günlerinde tüm örneklerde *Salmonella* aramışlardır. Çalışma sonucunda örneklerin *Salmonella* cinsi bakterilerle bulaşık olmadığını tespit etmişlerdir. Guang-Hua ve Xiao-Ling (79), donmuş ve taze et numunelerinde yaptıkları *Salmonella* araştırmasında, donmuş etlerden alınan 49 numuneden 10'unda (% 20), taze etlerden alınan 56 numunenin ise 6'sında (% 11) *Salmonella*'ya rastlamışlardır. Yine aynı araştırmacılar tarafından tavuk eti ürünleri üzerinde de ayrı bir çalışma yapılmış ve bu ürünlerde *Salmonella*'ya rastlanmamıştır. Lammerding ve ark. (80), Kanada'da 1983-1986 yılları arasında kasaplık hayvanlar ve tavuklarda *Salmonella* bulunması ve yaygınlığı ile ilgili geniş kapsamlı ulusal bir araştırma yapmışlardır. Hindi karkaslarının % 69,1'inden, tavuk karkaslarının % 60,9'undan, domuz etinin % 17,5'inden ve sığır etinin % 2,6'sından *Salmonella* izole etmişlerdir. *S. Typhimurium* serotipinin izole edilenler arasında en sık rastlanıldığı ve özellikle de broiler tavuklarda dominant olduğu görülmüştür. *S. Brandenburg* domuz etinde, *S. Schwarzengrund* ise hindi karkaslarından izole edilen dominant serotipler olarak bulunmuştur. Araştırmacılar *Salmonella* kontaminasyonunun mezbahadan ve temizleme işlemlerinden olabileceğini tespit etmişlerdir. Yurtyeri (81), paketlenmiş piliçlerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yapmış olduğu çalışmada 100 adet numunenin hiçbirinden *Salmonella* tespit edememiştir. Mutluer ve ark. (47), Ankara'da tüketilen paketlenmiş piliçlerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada % 27,5 oranında *Salmonella* ile kontamine olduklarını tespit etmişlerdir. Lillard (82), tavuk işleme fabrikasından soğutma işleminden sonra aldığı 40 adet numunenin % 37,5'inin *Salmonella* ile kontamine olduğunu bildirmiştir. Elazığ bölgesindeki tavuk kesimhanesinde kesilen

365 ve Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsüne hastalık şüphesiyle getirilen 162 tavuk salmonellozis yönünden incelenmiştir. İzole edilen *Salmonella* suşlarının bakteriyolojik ve serolojik olarak identifikasyonları yapılmıştır. İncelenen toplam 527 tavuğun 57 (% 10,81)'sinden *Salmonella* suşu izole edilmiştir (83). James ve ark. (84), marketlerde satılan kanatlı karkaslarındaki mikrobiyolojik ve çapraz kontaminasyonun belirlenmesi amacıyla 160 adet numune üzerinde yaptıkları incelemede numunelerin soğutma öncesi % 48'inin, soğutma sonrası ise % 72'sinin *Salmonella* ile kontamine olduğunu saptamışlardır. Efe (77), Ankara'da tüketilen dondurulmuş - poşetlenmiş bütün tavuk etlerinden 50 adet numunenin mikrobiyolojik kalitesi üzerine yapmış olduğu çalışmada; deri, but ve göğüs kısımlarında sırasıyla % 26, % 18 ve % 16'sında *Salmonella* spp. tespit etmiştir. Goncagül ve ark. (85), sekiz şirketten toplam 315 adet tavuk kanadı toplamışlardır. 315 adet tavuk karkasının kanat bölgesi derilerinin 27'sinden (% 8.57) serogrup D'de yer alan *Salmonella* Enteritidis'i saptamışlardır. Myint ve ark. (29), 90 adet taze piliç etini (derisiz - kemiksiz göğüs eti, derili - kemikli göğüs eti) *Salmonella* spp. yönünden kültürel metot ve PZR ile incelemiştir. Kültürel metotta; TPS ile ön zenginleştirme ve RV ile zenginleştirme sonrasında % 22'sinde *Salmonella* spp. tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda; tavuk deri, but ve göğüs numunelerinde klasik kültür metotlarını kullanarak sırasıyla % 16, % 7,5 ve % 5,5' unda *Salmonella* spp. tespit edilmiştir. Hindi deri, but ve göğüs numunelerinde ise *Salmonella* spp. saptanamamıştır. Açıklanan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla bulgularımız arasında paralellik görülmekle birlikte, tavuklarda *Salmonella* oranı oldukça düşük bulunmuştur. İncelenen numunelerde deride yüksek *Salmonella* spp. çıkması kesim, parçalama, haşlama, paketlenme ve taşıma sırasında tavuğun dış yüzeyinin kontaminasyona uğramasından ileri gelebileceğini göstermektedir. Ayrıca, deri numunelerinde *Salmonella*'nın yüksek oranda gözlenmesi soğutma suyundaki kontaminasyondan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

5179 sayılı "Gıdaların, Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair KHK'nin Değiştirilerek Kabulü Hakkında Kanun" gereği; Tarım ve Köyişleri Bakanlığınca ülke genelinde 81 Tarım Müdürlüğüne 2007 yılında 27 farklı ürün ve risk bazında Denetim ve İzleme Programı uygulanmış olup 364 adet tavuk eti numunesi mikrobiyolojik yönden incelenmiştir. Analiz edilen 364 numunenin 9 adedinde aerobik mezofilik

bakteri, 10 adedinde *Escherichia coli*, 5 adedinde *Staphylococcus aureus* ve 16 adedinde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir. Kümes hayvanlarında *Salmonella* ve diğer zoonoz hastalıkların kontrolüne yönelik tedbirler Avrupa Birliğinde 2160 / 2003 / EC sayılı direktif ile belirlenmekte ve üye ülkelerde *Salmonella* kontrol programları uygulanmaktadır. Bu bağlamda ülkemizdeki kanatlılarda *Salmonella* varlığının tespiti amacıyla Ekim 2007 ayında “Ticari Yumurtacı Kümeslerde *Salmonella* Kontrol Programı Talimatı” ve “Broyler (ticari etlik) kümeslerinde *Salmonella* Kontrol Programı Uygulama Talimatı”nın uygulanması Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğüne uygun görülmüştür. Tarım İl Müdürlüklerince, Ticari Yumurtacı kümeslerdeki programın 31 Mart 2008 tarihine kadar, broiler kümeslerdeki çalışmanın ise 31 Aralık 2008 tarihine kadar bitirilmesi planlanmıştır.

Tavuk etlerindeki kontaminasyon kaynaklarının başında tavuk mezbahalarında çalışan personelin rolünün büyük olduğu bildirilmektedir. Nitekim Sevinç (86), kamu ve özel sektöre ait iki ayrı tavuk mezbahasının parçalama ve paketleme ünitelerinde çalışan toplam 132 personelin ellerini ve eldivenlerini incelemiş, ellerin % 3’ünden *Salmonella*, % 41,7’sinden *S. aureus*, % 67,4’ünden fekal streptokok, % 72’sinden koliform bakteri ve % 67,4’ünden *E. coli* izole etmiştir. Tavuk etinin çabuk bozulabilen bir gıda olması göz önüne alınarak üretim, işleme ve muhafaza sırasında sürekli laboratuvar kontrolleriyle mikrobiyolojik durumlarının ortaya konulması gerektiği bir gerçektir. Böylelikle, hem ekonomik kayıp riski, hem de tüketicinin karşı karşıya kalabileceği sağlık riski bu şekilde en aza indirilebilecektir.

Gıda kaynaklı *Salmonella* enfeksiyonlarından halk sağlığının korunması ve ekonomik kayıpların azaltılması; çevresel bulaşmanın kontrolü, *Salmonella* içermeyen yem ve katkı maddelerinin üretilmesi, sağlıklı hayvanların yetiştirilmesi, hayvansal gıda üretiminde, üretimden tüketime kadar olan her aşamada hijyenik koşulların uygunluğunun öncelikle Tehlike Analizleri ve Kritik Kontrol Noktaları sistemiyle (Hazard Analysis Critical Control Point; HACCP) sağlanması ve tüketicinin bilinçlendirilmesiyle mümkün olabilir (47).

Alımı yapılan tavuk ve hindi etlerindeki yüksek kontaminasyon personelin sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Bu risk kadar önemli diğer bir risk de mutfaktaki personel ve ekipmanın kontaminasyon düzeyidir. Çünkü bu kişiler tavukları ve hindileri hem pişirmeye hazırlarken hem de pişirdikten sonra servis yaparken

kontamine etmektedir (77). Askeri mutfaklarda görevli personel olarak sivil aşçılar bulunmaktadır. Bu kişilerin yanı sıra gelen gıda maddelerinin pişirme öncesi ön hazırlıklarını yapmak, et ürünlerini parçalamak ve mutfakların genel temizliğini sağlamak amacıyla askerler görevlendirilmektedir. Mutfakta görevli askerlere mutfak hijyeni konusunda bilgi verilmektedir. Yalnız bu askerler aşçılık konusunda tam bir bilgiye sahip olmadıkları için gerekli verim alınmamaktadır. Son yıllarda TSK mutfakların işletilmesini ve yemeklerin hazırlanıp pişirilmesi işini sivil yemek firmalarına vermiştir. Bu firmalar, daha önce otellerde ve yemek firmalarında çalışmış deneyimli aşçı ve aşçı yardımcıları ile gıda mühendislerini askeri mutfaklarda görevlendirmişlerdir. Bu firmalardan biri de çalışmasını yaptığımız Erzincan Garnizonu'ndaki mutfakların işletilmesini üstlenmiştir. Elde ettiğimiz bulgulardaki olumlu sonuçlarda sivil firmanın hijyen kurallarına hassasiyetle uymasındaki rolü önemlidir.

Yaptığımız çalışmanın mikrobiyolojik sonuçları ile yukarıda sunulan çalışmaların sonuçları, son yıllardaki teknolojik gelişmelerin paketlenmiş tavuk ve hindi etlerinin mikrobiyolojik kalitelerini önemli bir ölçüde düzelttiğini göstermektedir.

Erzincan Garnizonu'nda tüketime sunulan, değişik firmalara ait dondurulmuş paketli tavuk ve hindi etlerinin artık belirli kriterlere sahip olduğu, eskiye oranla daha fazla hijyene dikkat edildikleri ve kesimhane tesislerinin modernizasyon faaliyetlerine hız verdikleri görülmektedir. AB ile yapılan uyum görüşmeleri sonucunda firmaların kanatlı etlerini yurt dışına pazarlamalarının halihazır durumda zor olduğunu anlamalarının yanı sıra son yıllarda tavuk ve hindi etlerinde ortaya çıkan viral hastalıkların *Salmonella* etkenli düğün, cemiyet vb toplantı ve eğlencilerde görülen toplu zehirlenmelerin etkisi büyüktür.

PZR, genetik materyallerin (DNA veya RNA) in vitro olarak çok kısa sürede (birkaç saat içerisinde) çoğaltılması esasına dayanan bir tekniktir. En önemli özelliği hedef DNA'nın çoğaltılmasıdır (amplifikasyon) (30, 87, 88). Bu teknik Cetus firmasının insan genetiği departmanında çalışan araştırmacı Kary Mullis tarafından 1985'de bulunmuş ve patenti alınmıştır. PZR; ilk defa, aynı yıl R. Saiki, K. Mullis ve arkadaşları tarafından orak hücre anemisinin tanısının konulmasında uygulamaya sokulmuştur. 1993 yılında bu çalışma Kary Mullis'e Nobel ödülünü kazandırmıştır (87). Birçok disiplinde olduğu gibi, insan ve veteriner hekimlikte de çok büyük yararlar

sağlayan PZR'in çalışma prensibi, oldukça basittir. Özet olarak, izole edilen veya patolojik materyallerde bulunan hedef genetik materyallerin (DNA veya RNA), spesifik kısa zincirli oligonükleotid primerler yardımı ile, enzimatik olarak sayısal çoğaltılması (amplifikasyon) olarak tanımlanabilir. Bu hedef genetik materyal çok az sayıda ve hatta, bir çok veya sayısız diğer veya ilgisiz DNA'lar arasında olsa bile çoğaltılabilir ve homojen bir DNA materyali haline getirilebilir ve kolayca da identifiye edilebilir (60).

Cortez ve ark. (88), Brezilya'da 6 tavuk çiftliğinden topladıkları 288 adet temizlenmiş dondurulmuş tavuk karkaslarını PZR metoduyla incelemeye tabi tutmuşlardır. Örneklerin 29 (% 10)'unda *Salmonella* spp. izole etmişlerdir. Tavuk mezbahalarının hijyen standartlarının geliştirilmesi, idarecilerin ve tüketicilerin gıda konusunda eğitilmelerine önem verilmesi sonucuna varmışlardır. Whyte ve ark. (89), 40 ticaret tavuk işletmesinden aldıkları 198 adet boyun derisi üzerinde yaptıkları çalışmada klasik kültür yöntemiyle 32 (% 16)'sinde ve PZR metoduyla 38 (% 19)'inde *Salmonella* spp. saptamışlardır.

Myint ve ark. (29), 90 adet taze piliç etini (derisiz- kemiksiz göğüs eti, derili - kemikli göğüs eti) *Salmonella* spp. yönünden PZR tekniği ile incelemiştir. PZR tekniğinde; zenginleştirilmeyen örneklerde *Salmonella* spp. izole edilememiştir. TPS ile ön zenginleştirme yapıldığında ise % 20, TPS ile ön zenginleştirme ve RVB ile zenginleştirme sonrasında % 22'sinde *Salmonella* spp. tespit etmişlerdir.

Araştırmamızda; tavuk ve hindi eti numunelerinde *Salmonella* spp. tespit edilememiştir. Yaptığımız çalışmada Myint ve ark. (29), uyguladığı metot kullanılmıştır. Bu yöntemde Taq-DNA polimeraz enzimin aktivasyonu için gerekli olan  $Mg^{++}$  miktarı belirtilmemiştir. Aynı zamanda DNA polimeraz enzimi olarak Taq polimeraz kullanılmıştır. Taq polimerazın 3' → 5' ekzonükleaz aktivitesi bulunmamaktadır. Bu durum, DNA'nın amplifikasyonu sırasında yanlış bazların sıraya girmesi halinde (her 1000 bazda bir baz) bunları tanıyarak çıkarmamakta, böylece sentezi sürdürmekte ve uygun olmayan bir polimerizasyona yol açmaktadır (60). PZR'in çok yaygın kullanılmasına karşın, reaksiyon sırasında oluşan bazı hatalar negatif veya pozitif yanlış değerlendirilmelere neden olabilmektedir. Bunların minimal düzeye indirilmesi araştırmacıların ve laboratuvarında çalışan teknik elemanın esas görevleri arasında olmalıdır. PZR'da en fazla görülen hataların başında nonspesifik DNA'ların (non target DNA'lar) amplifiye olması ve sonucu etkilemesidir. Böyle

amplifiye olmuş moleküllerin laboratuvarlarda birikmesi, örnek materyallere, pipetlere, solüsyonlara, kimyasallara, pipet uçlarına, vs bulaşması istenmeyen olguların meydana gelmesine neden olmaktadır. Kontaminasyon problemini minimal düzeye indirebilmek ve bu düzeyde tutabilmek için fiziksel, kimyasal ve enzimatik kontrollere ve özel önlemlere gereksinim vardır. Şöyle ki, reagentler bir defa kullanılmalı, PZR ve diğer işlemler için (amplifikasyon, örneklerin hazırlanması, amplifiye ürünlerin saptanması, elektroforezis, vs) ayrı ayrı odaların bulunması, odalar arası çeşitli materyallerin ve solüsyon nakillerinin çok sınırlandırılması veya hiç yapılmaması, gibi önlemler nonspesifik amplifikasyonları çok azaltmaktadır. Hedef olmayan DNA'ların amplifikasyonunda, iyi seçilmemiş bazlara sahip problemlerin hazırlanmasının ve kullanılmasının da rolü büyük olmaktadır (60).

Bazı olgular için moleküler yöntemlerle duyarlılığın, hızın ve / veya saptamadaki kesinliğin açık üstünlüğü, artmış harcamayı belirli oranda kabul edilebilir gösterebilir. Bununla birlikte, bu yöntemlerin yaygın olarak oldukça fazla miktarda yapılan mikrobiyolojik deneylere (bakteriyel kültür ve identifikasyon) adaptasyonunu kabul edilebilir göstermek çok zordur, çünkü arada çok büyük bir maliyet farkı varken, tanısal kesinlik açısından çok az yararlanım söz konusudur (90).

Moleküler mikrobiyolojik deneyler yapılan laboratuvarlar fiziksel veya kimyasal kontrol yöntemleriyle örnek ve amplifikasyon ürün kontaminasyonunu en aza indirmek zorundadırlar. Bu yeni alanda çalışan tanısal laboratuvarlar için hangi yöntemin seçilmesi gerektiğinin kesin olarak saptanması ve bunun en iyi ne şekilde uygulanacağı bir mücadele konusudur. Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarındaki hızlı teknolojik ilerlemeler laboratuvar düzenlerinde ve yapılacak olan işlemlerde sık gözden geçirmeyi ve mevcut kuralların yenilenmesini gerektirmektedir (90).

Sonuç olarak çalışmamızda tüketime sunulan tavuk etlerinin deri, but ve göğüs numunelerinde klasik kültür metotlarını kullanarak sırasıyla % 16, % 7,5 ve % 5,5'unda *Salmonella* spp. saptanırken hindi etlerinin deri, but ve göğüs numunelerinde ise *Salmonella* spp. tespit edilememiştir. Bu sonuç alım yapılan işletmenin HACCP kurallarına ve genel hijyenik kriterlere önemli ölçüde uymasına bağlanabilir. Ayrıca, tavuk etlerindeki *Salmonella* spp.'nin oranının düşük olması, kanatlı hayvan kesimlerinin ve dondurulmasına ilişkin prosedürlerin iyileştiğini göstermektedir.

Araştırmamızda kültürel yöntemden PZR ile etkenin varlığının araştırılması sonucunda pozitiflik saptanamamıştır. Buradan elden sonuçlar daha sonra yapılacak çalışmalara ışık tutması açısından önemlidir. PZR gelişmiş bir teknolojinin ürünü olmasına rağmen bu çalışma ile teşhis amacıyla kullanılan konvansiyonel yöntemlerin gerek araştırmalarda gerekse rutin çalışmalarda vazgeçilmez olduğu sonucuna varılmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Sinell HJ, Kleer J. Lebensmittel als Infektionsquelle. In: Das *Salmonellen* problem. Selbitz HP, Sinell HJ, Sziegoleit A (eds) Gustav Fisher Verlag, Jena / Stuttgart, 1995: 133-149
2. Todd ECD. Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States, J Food Prot 1989; 52: 595-601
3. Todd ECD. Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the Canada and costs to reduce *salmonellosis*, J Food Prot 1989; 52: 586-594
4. Küplülü Ö. Sığır Karkaslarının *Salmonella* kontaminasyonu ve serotip dağılımı, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1996
5. Demirtaş C. Kayseri Yöresinde Tavukçuluk İşletmelerinde Kullanılan İçme Sularının Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2001

6. Gomez TM, Motarjemi Y, Miyagawa S, Kaferstein FK, Stohr K. Foodborne *Salmonellosis*, World Health Stat Q 1997; 50(1-2): 81-89
7. World Health Organisation (WHO) Food Safety: A resolution of the executive board of the WHO-Resolution EB 105.R16. 2002; 50: 81-89
8. Patrick ME, Adcock PM, Gomez TM, A Hekruse SF, Holland BH et al. *Salmonella* Enteritidis infection, United States, 1985-1999. Emerg Infect Dis 2004; 10(1): 1-7
9. Tietjen M, Fung DYC. *Salmonellae* and food safety. Crit Rev Microbiol 1995; 21(1): 53-83
10. St. Louis ME, Morse DL, Potter ME, DeMelfi TM, Guzewich JJ et al. The emergence of grade A eggs as a major source of *Salmonella enteritidis* infections. New implications for the control of salmonellosis. JAMA 1988; 259(14): 2103 -2107
11. United States Department of Agriculture, Food Safety Inspection Service (USDA-FSIS), 1999. *Salmonella* serotypes isolated from raw meat and poultry January 26, 1998 to January 25, 1999
12. Candrian U. Polymerase chain reaction in food microbiology. J Food Microbiol Methods 1995; 23: 89-103
13. Malorny B, Tassios PT, Radstrom P, Cook N, Wagner M et al. Standardization of diagnostic PCR for the detection of foodborne pathogens. Int J Food Microbiol 2001; 83: 39-48
14. Uyttendaele M, Vanwildemeersch K, Debevere J. Evaluation of real-time PCR vs. automated ELISA and a conventional culture method using a semi-solid medium for detection of *Salmonella* Lett Appl Microbiol 2003; 37: 386-391
15. Mallison ET, Snoeyenbos GH. Salmonellosis. In: Purchase HG, Arp JH, Damermuth CH, Pearson JE (Eds), A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens, third ed. Kendall/Hunt Publishing, Dubuque, IA 1989; 3-11
16. Andrews WH, Hammack TS. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual online. Chapter 5: *Salmonellae*, 2003
17. D'Aoust JY. Commercial diagnostic kits for the detection of foodborne *Salmonellae* In: Congress Report *Salmonella* and Salmonellosis, Plovfragon, France, 1992: 9-19
18. Oliveira SD, Rodenbusch CR, Rocha SLS, Canal CW. Evaluation of selective and non-selective enrichment PCR procedures for *Salmonella* detection. Lett Appl Microbiol 2003; 36: 217-221

19. Soumet C, Ermel G, Fach P, Colin P. Evaluation of different DNA extraction procedures for the detection of *Salmonella* from chicken products by polymerase chain reaction. *Lett Appl Microbiol* 1994; 19: 294-298
20. Wang SJ, Yeh DB. Designing of polymerase chain reaction primers for the detection of *Salmonella* Enteritidis in foods and fecal samples. *Lett Appl Microbiol* 2002; 34: 422-427
21. Aabo S, Ramussen OF, Rossen L, Sorensen PD, Olsen JE. *Salmonella* identification by the polymerase chain reaction. *Mol Cell Probes* 1993; 7(3): 171-178
22. Li Y, Mustapha A. Evaluation of four template preparation methods for polymerase chain reaction based detection of *salmonella* in ground beef and chicken. *Lett Appl Microbiol* 2002; 35: 508-512
23. Soumet C, Ermel G, Salvat G, Colin P. Detection of *Salmonella* spp. in food products by polymerase chain reaction and hybridization assay in microplate format. *Lett Appl Microbiol* 1997; 24(2): 113-116
24. Schrank IS, Mores MA, Costa JL, Frazzon AP, Soncini R et al. Influence of enrichment media and application of a PCR based method to detect *Salmonella* in poultry industry products and clinical samples. *Vet Microbiol* 2001; 82: 45-53
25. Gouws PA, Visser M, Brozel VS. A polymerase chain reaction procedure for the detection of *Salmonella* spp. within 24h. *J Food Prot* 1998; 61: 1039-1042
26. Li X, Boudjellab N, Zhao X, Combined PCR and slot blot assay for detection of *Salmonella* and *Listeria momocytogenes*. *Int J Food Microbiol* 2000; 56: 167-177
27. Malorny B, Hoorfar J, Bunge C, Helmuth R. Multi center validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR towards an international standard. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69(1): 290-296
28. Hoorfar J, Wolfs P, Radstorm P. Diagnostic PCR: validation and sample preparation one two sides of the same coin. *APMIS* 2004; 112: 808-814
29. Myint MS, Johnson YJ, Tablante NL, Heckert RA. The effect of pre-enrichment protocol on the sensitivity and specificity of PCR for detection of naturally contaminated *Salmonella* in raw poultry compared to conventional culture. *Food Microbiol* 2006; 23: 599-604
30. Arslan A. Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi, Medipres Matbaacılık Yayıncılık, Elazığ, 2002: 181-198

31. Türker S. Hayvansal Gıdalarda Kalite Kontrolü, Tamer Matbaacılık, Ankara, 1997: 142-153
32. Bauerver J, Hörmansdorfer S. Salmonellosis in farm animals. Fleischwirtsch 1996; 76: 726-728
33. WHO: Expert Committee *Salmonella* Control The Role of Animal and Product Hygiene, Tech Rep. Ser. No: 774, World Health Organization, Geneva, 1988.
34. D'Aoust JY *Salmonella* and the international food trade. Int J Food Microbiol 1994; 24: 11-31
35. D'Aoust JY. *Salmonella*. In: Foodborne Bacterial Pathogens. Ed. Doyle MP Marcel Dekker Inc. NY and Basel, 1989: 327-445
36. Doyle MP, Cliver DO. *Salmonella*. In: Foodborne Diseases. Ed. Cliver DO, Academic Pres, 1991: 185-205
37. Guthrie RK. Microbiological methods for detection of *Salmonella* contamination. In: *Salmonella*. CRC Press Inc, Boca Raton, 1992: 131-156
38. Hartung, M Vorkommen von *Enteritis-Salmonellen* in Lebensmitteln und bei Nutztieren 1991 Dtsch Tierärztl Wschr 1993; 100: 259-261
39. Johnson RM, Woodward FC. An outbreak of *Salmonella enteritidis* associated with consumption of food at a restaurant in Marquette County Dairy Food Saint, Michigan, 1986; 6: 380-384
40. Ünlütürk A, Turantaş F. Gıda Mikrobiyolojisi. 1. Baskı Mengi Tan Basımevi, Çınarlı/İzmir, 1998: 195-199
41. Erol M. Ankara'da satılan yumurtaların *Salmonella* yönünden araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1994.
42. Bilgehan H. Klinik mikrobiyoloji (9. baskı), Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, İzmir, 1996: 425-504
43. Arda M, Aydın N, Ilgaz A, Mimbay A, Kahraman M ve ark. Özel Mikrobiyoloji (4. Baskı), Medisan Yayınları, Ankara 1997: 39-98
44. Ulutürk O. Gıda enfeksiyonları içerisinde salmonellozisin yeri ve önemi. Seminer, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1991
45. Yıldırım Y. Et Mikrobiyolojisi Hijyen ve Kimyası, Uludağ Üniversitesi Basımevi 3. Baskı , Bursa, 1987: 56-73

46. Gönülalan CS. Kayserideki tavukçuluk işletmelerinde *Salmonella* görülme sıklığı ve izolasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2001
47. Mutluer B, Yargülü B, Hartung M, Erol I. Incidence and serovar distribution of *Salmonella* in market broilers in Turkey . In: Proceedings of 3rd World Congress of Foodborne Infections and Intoxications, Berlin, 1992: 1075-1079
48. Erol İ. Besin Hijyeni, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara, 1999: 47-48
49. Erol İ, Küplülü Ö. Sırrıken B, Çelik TH. Ankara'daki çeşitli pastanelere ait dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. Doğa Türk Vet Hayv Derg 1998; 22: 345-352
50. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT et al. Enzymatic amplification of B-globin genomic sequences restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science 1985; 230: 1350-1354
51. Erol İ, Kleer J, Hildebrandt G, Yurtyeri A, Kopplung von immunomagnetischer Separation und Polymerase-Kettenreaktion zum Schnelldiagnose von *Salmonellen* in Fleischerzeugnissen. Berl Münch Tierarztl Wochenschr 1999; 112(3): 100-103
52. Gassen HG, Sachse GE, Schulte A, PCR. Grundlagen und Anwendungen der Polymerase-Kettenreaktion. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, NY. 1994
53. Newton CR, Graham A. PCR. BIOS Scientific Publishers, Oxford University Press, USA 1994
54. Widjoatmodjo MN, Fluit AC, Torensmo R, Keller BHI, Verhoef J. Evaluation of a magnetic immuno PCR assay for rapid detection of *Salmonella*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1991; 10(11): 935-938
55. Rahn K, De Grandis SA, Clarke RC, McEwen SA, Galan JE et al. Amplification of an InvA gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonellae*. Mol Cell Probes 1992; 6(4): 271-279
56. Way JS, Josephson KL, Pillia SD, Abbaszadegan M, Gerba CR et al. Specific detection of *Salmonella* spp. by multiplex polymerase chain reaction. Appl Environ Microbiol 1993; 59: 1473-1479
57. Luk JM, Kongmuang U, Reeves PR, Lindberg AA. Selective amplification of arabinose and paratose synthase genes (rfb) by polymerase chain reaction for identification of *Salmonella* major serogroups (A, B, C2 and D). J Clin Microbiol 1993; 31: 2118-2123

58. Cohen ND, Neibergs HL, Wallis DE, Simpson BB, Mcgruder ED et al. Genus-specific detection of *Salmonellae* in equine feces by use of the polymerase chain Reaction. Am J Res 1994; 55: 1049-1054
59. Mahon J, Lax AJ. A quantitative polymerase chain reaction method for the detection in avian feces of *Salmonellas* carrying the spvR gene. Epidemiol Infect 1993; 111: 455-464
60. Arda M. Temel Mikrobiyoloji, Medisan Yayınları, Genişletilmiş İkinci Baskı, Ankara, 2000
61. Saiki RK, Gelfont DH, Stoffel S, Scharf J, Higuchi R et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA Polymerase. Science 1988; 239: 487-491
62. Jones DD, Law R, Bej AK. Detection of *Salmonella* spp. In oysters using polymerase chain reaction (PCR) and gene probes. J Food Sci 1993; 58: 1191-1197
63. Lin CK, Tsen HY. Use of two 16S DNA targeted oligonucleotides as PCR primers for the specific detection of *Salmonella* in food. J Appl Bacteriol 1996; 80: 659-666
64. Mahon J, Mlurphy CK, Jones PW, Barow PA Comparison of multiplex PCR and standard bacteriological methods of detecting *Salmonella* on chicken skin. Lett Appl Microbiol 1994; 19: 169-172
65. Scheu PM, Berghof K, Stahl U. Detection of pathogenic and spoilage micro-organisms in food with the polymerase chain reaction. Food Microbiol 1998; 15: 13-31
66. Tekeli A, Ustaçelebi Ş. Moleküler Mikrobiyoloji. Ed. Persing DH, Tenover FC, Versaloviç J, Tang YW, Unger ER et al. Palme Yayıncılık, Ankara, 2006: 61
67. Fluit AC, Widjoatmodjo MN, Box AT, Torensma R, Verhoef J. Rapid detection of salmonellae in poultry with the magnetic immuno-polymerase chain reaction assay. Appl Environ Microbiol 1993; 59(5): 1342-1346
68. Zhu Q, Lim CK, Chan YN, Detection of *Salmonella* Typhi by polymerase chain reaction. J Appl Bacteriol 1996; 80: 244-251
69. Dalsgaard A, Olsen JE. Prevalence of *Salmonella* in dry pelleted chicken manure samples obtained from shrimp farms in a major shrimp production area in Thailand. Aquaculture 1995; 136: 291-295
70. Tuchili LM, Kodama H, Izumoto Y, Mukamoto M, Fukata T et al. Detection of *Salmonella* Gallinarum and *S. Typhimurium* DNA in experimentally infected chicks by polymerase chain reaction. J Vet Med Sci 1995; 57: 59-63

71. Cano RJ, Rasmussen SR, Sanchez FG, Palomares JC. Fluorescent detection-polymerase chain reaction (FD-PCR) assay on microwell plates as a screening test for *Salmonellas* in foods. J Appl Bacteriol 1993; 75: 247-253
72. Anar Ş, Çarlı T, Şen A, Eyigör A. Bursa'da tüketime sunulan piliç butlarından *S. aureus* ve *E. coli* Tip 1 izolasyonu üzerine bir çalışma. UÜ Vet Fak Derg 1992; 2(11): 135-141
73. Fliss I, Simard RE, Ettriki A. Microbiological quality of different fresh meat species in Tunisian slaughterhouses and markets. J Food Protect 1996; 10:773-777
74. Tunail N. Mikrobiyel Enfeksiyonlar ve İnfeksiyonlar. In: Akçalık M, Aydar LY, Ayhan K, Çakır İ, Doğan HB ve ark., Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Armoni Matbaacılık Ltd Şti, Ankara, 1999: 59-90
75. Andrews WH, June GA. Bacterial Analytical Manual, 8<sup>th</sup> ed., Eds.: FDA, Revision A. AOAC International, Washington, D.C. 1998:1-10
76. Harrigan WF. Laboratory Methods in Food Microbiology 3<sup>rd</sup> Edition. Academic Pres, San Diego, 1998: 236-532
77. Efe M. Ankara Garnizonunda Tüketime Sunulan Tavuk Etlerinin Mikrobiyolojik Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kayseri 2005
78. Kundakçı A, Yücel A, Uylaşer U, Konca R, Can S. Soğuk koşullarda depolanan ve satışa sunulan piliç etlerinin mikroflorası ve kalitesi. 2. Uluslararası Gıda Sempozyumu Bildiri Kitabı, ss.191-200, 1991, Uludağ Üniversitesi, Bursa
79. Guanga-Hua W, Xiao-Ling Q. The Incidence of *C. perfringens*, *S. aureus*, *Salmonella* and *L. monocytogenes* in retail and meat products in Beijing. Fleischwirtsch 1994; 74 (3): 288-290
80. Lammerding AM, Garcia MM, Mann ED, Robinson Y, Dorward WJ et al. Prevalence of *Salmonella* and Thermophilic Campylobacter in fresh pork, beef, veal and poultry in Canada. J Food Protect 1988; 51(1): 47-52
81. Yurtyeri A. Paketlenmiş piliçlerin yüzey mikroflorası üzerinde araştırmalar. Vet Hek Dern Derg 1980; 50(1-2): 45-63
82. Lillard HS. The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and cross- contamination of broiler carcasses. J Food Protect 1990; 53(3): 202-204
83. Kalender H, Muz A. Elazığ bölgesindeki tavukların izole edilen *Salmonella* türlerinin tiplendirilmesi. Tr J Vet Anim Sci 1999; 23(2): 297-303

84. James WO, Williams WO, Prucha JC, Johnston R, Christensen W. Profile of selected bacterial counts and Salmonella prevalence on raw poultry in a poultry slaughter establishment. JAVMA 1992; 200(1): 57-59
85. Goncagül G, Günaydın E, Çarlı KT. Tavuk etlerinde Salmonella serogruplarının prevalansı. Tr J Vet Anim Sci 2005; 29: 103-106
86. Sevinç E. Gıda Enfeksiyonları Yönünden Tavuk Mezbahalarında Çalışan Personelin Hijyenik Kontrolü, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1993
87. Arı Ş. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, Nobel Kitabevi, 1999:57-67
88. Cortez AL, Carvalho AC, Bünger KP, Vidal-Martins AM. Identification of Salmonella spp. isolates from chicken abattoirs by multiplex-PCR. Res Vet Sci 2006; 81(3): 340-344
89. Whyte P, Mc Gill K, Collins JD, Gormley E. The prevalence and PCR detection of Salmonella contamination in raw poultry. Vet Microbiol 2002; 89(1): 53-60
90. Cockerill FR. Genetic methods for assessing antimicrobial resistance. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 199-212

## ÖZGEÇMİŞ

B. Tolga TANOĞLU 1973 yılında Erzincan'da doğdu. İlkokulu 1980-1984 yılında Bursa İ. Murat İlkokulu Ortaokulu 1984-1987 yılında Bursa Cumhuriyet Lisesi ve Lise öğrenimini 1987-1990 yılında Bursa Atatürk Lisesinde tamamladı. Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesine 1990 yılında girdi, 1995 yılında mezun oldu. Askerlik görevini Yedek Subay olarak Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkez Komutanlığı Gemlik'te yaptı. 1998 yılında Kara Kuvvetleri Komutanlığı'nın açmış olduğu sınavı kazanarak Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkez Komutanlığı Gemlik'te Veteriner Hekim Teğmen olarak göreve başladı. 2004-2007 yılları arasında 3 ncü Ordu B Tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı Gıda Kontrol ve Hijyen Denetim Subayı olarak görev yaptı. 2007 atamalarında Kıbrıs Türk Barış Kuvvetleri Gıda Kontrol Müfreze K.'lığı/Kıbrıs Gıda Kontrol ve Hijyen Denetim Subaylığı görevine atandı. Halen aynı görevi sürdürmektedir. Evlidir ve bir çocuk babasıdır.