

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KIRKLARELİ, EDİRNE VE TEKİRDAĞ İLLERİNDEKİ YUMURTACI
TAVUK ALTЛИKLARINDAN ELDE EDİLEN *SALMONELLA*
İZOLATLARININ SEROTİPLENDİRİLMESİ, BAZI DEZENFEKTANLARA,
ANTİBİYOTİKLERE VE KAMFOR YÜKLÜ KİTOSAN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİNE DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

İbrahim POLAT

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Burhan ŞEN

EDİRNE-2024

İbrahim POLAT'ın hazırladığı “**KIRKLARELİ, EDİRNE VE TEKİRDAĞ İLLERİNDEKİ YUMURTACI TAVUK ALTLIKLARINDAN ELDE EDİLEN SALMONELLA İZOLATLARININ SEROTİPLENDİRİLMESİ, BAZI DEZENFEKTANLARA, ANTİBİYOTİKLERE VE KAMFOR YÜKLÜ KİTOSAN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNE DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**” başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir **Doktora tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Nükhet Nilüfer Demirel ZORBA

.....

Prof. Dr. Nüzhet Cenk SESAL

.....

Prof. Dr. Ahmet ASAN

.....

Prof. Dr. Suzan ÖKTEN

.....

Prof. Dr. Burhan ŞEN (Tez Danışmanı)

.....

Tez Savunma Tarihi: 05/07/2024

Bu tezin Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Prof. Dr. Burhan ŞEN

Tez Danışmanı

.....

Prof. Dr. Fatma KAYNAK ONURDAĞ

İkinci Tez Danışmanı

.....

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

.....

Prof. Dr. Muharrem Tolga SAKALLI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

05 / 07 / 2024

İbrahim POLAT

İmza

Doktora Tezi

Kırklareli, Edirne ve Tekirdağ İllerindeki Yumurtacı Tavuk Altlıklarından Elde Edilen *Salmonella* İzolatlarının Serotiplendirilmesi, Bazı Dezenfektanlara, Antibiyotiklere ve Kamfor Yüklü Kitosan Gümüş Nanopartiküllerine Duyarlılıklarının Belirlenmesi

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye'nin Avrupa yakasında bulunan üç farklı il (Kırklareli, Edirne ve Tekirdağ) üzerindeki yumurtacı tavukların taze dışkılarından toplam 323 adet drag swab örneği alınmıştır. ISO 6579:2002 yöntemine göre örneklerin %17,3'ünde *Salmonella* tespit edilmiştir. Elde edilen 56 *Salmonella* izolatı, Kauffmann-White-Le Minor Şeması'na göre antiserum kullanılarak lam aglütinasyonu serotiplendirilmiştir. *S. Typhimurium* (%28,6), *S. Kentucky* (%17,9), *S. Abony* (%16,1), *S. Infantis* (%8,9), *S. Enteritidis* (%5,4), *S. Anatum* (%3,6), *S. Saintpaul* (%3,6), *S. Szentes* (%1,8), *S. Dibra* (%1,8), *S. Fallowfield* (%1,8), *S. Kimuenza* (%1,8), *S. Escanaba* (%1,8), *S. Nagoya* (%1,8), *S. Mbandaka* (%1,8), *S. Agona* (%1,8) ve *Salmonella* II 17: e, n, x, z₁₅: 1,6 (%1,8) olmak üzere 16 *Salmonella* serotipi belirlenmiştir. *S. Kimuenza*, *S. Escanaba* ve *S. Nagoya*'nın yumurtacı tavuklarından izolasyonu Türkiye'de ilk kez rapor edilmiştir. *S. Dibra*, *S. Fallowfield*, *S. Szentes* ve *Salmonella* II 17: e, n, x, z₁₅: 1,6'nın yumurtacı tavuklarından izolasyonu dünyada ilk rapordur. Toplam 56 *Salmonella* izolatının amoksisilin-klavulanik asit, sefepim, azitromisin, kloramfenikol, ofloksasin, sefoksitin ve trimetoprim/sülfametoksazol'e olan duyarlılıkları disk difüzyon metoduyla test edilmiştir. *S. Kentucky* izolatlarının %10'u ofloksasine, *S. Kimuenza* ise sadece kloramfenikole dirençli bulunmuştur.

Kitosan ile stabilize edilmiş gümüş nanopartikülü (CS@AgNP), CS'nin otoklavda hem indirgeyici madde hem de stabilizatör olarak görev yaptığı bir çözeltide yeşil prosese dayalı olarak sentezlenmiştir. Elde edilen nanomateryal, doğal bir bileşik olan kamforla

kaplanmıştır. Bu şekilde ilk kez kamfor yüklü kitosan gümüş nanopartikülü (C-CS@AgNP) sentezlenmiştir. Nanokompozitin 100 µg/mL konsantrasyonunda *Salmonella* serotiplerine karşı maksimum antibakteriyel aktivite (8,9-11,6 mm) gözlenmiştir. Çalışmamızda C-CS@AgNP'nin yanı sıra kanatlı dezenfeksiyonunda kullanılan farklı etken maddeli 5 dezenfektanın serotipler üzerindeki etkileri kalitatif süspansiyon testine göre değerlendirilmiştir. Kuaterner amonyum bileşiği (%16) dışındaki tüm dezenfektanlar, 1 dakikalık temas süresi sonunda serotiplerin üremesini engellemiştir. Serotipler üzerinde etkili olan dezenfektanlar, hidrojen peroksit (%26), perasetik asit (%6) > potasyum peroksimonosülfat (%21,41), sodyum klorit (%1,5) > C-CS@AgNP > glutaraldehit (%15), kuaterner amonyum bileşiği (%10) > glutaraldehit (%50) şeklindedir.

Yıl : 2024

Sayfa Sayısı : 124

Anahtar Kelimeler : *Salmonella* serotipi, yumurtacı tavuk, çoklu ilaç direnci, kitosan, kamfor, gümüş nitrat, nanopartikül, dezenfektan, kalitatif süspansiyon testi

PhD Thesis

Serotyping of *Salmonella* Isolates Obtained from Layer Hen Litters in Kırklareli, Edirne and Tekirdağ Provinces, and Determination of Their Sensitivity to Some Disinfectants, Antibiotics and Camphor Loaded Chitosan Silver Nanoparticles

Trakya University Institute of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

ABSTRACT

In this study, a total of 323 drag swab samples were taken from laying hen fresh feces from 3 different provinces (Kırklareli, Edirne, and Tekirdağ), which are located in the European part of Türkiye. According to the ISO 6579: 2002 method, 17,3% of the samples were found positive for *Salmonella*. Obtained 56 *Salmonella* isolates were serotyped by slide agglutination using antisera according to Kauffmann White Le Minor Scheme. Sixteen serotypes of *Salmonella* were identified as *S. Typhimurium* (%28,6), *S. Kentucky* (%17,9), *S. Abony* (%16,1), *S. Infantis* (%8,9), *S. Enteritidis* (%5,4), *S. Anatum* (%3,6), *S. Saintpaul* (%3,6), *S. Szentes* (%1,8), *S. Dibra* (%1,8), *S. Fallowfield* (%1,8), *S. Kimuenza* (%1,8), *S. Escanaba* (%1,8), *S. Nagoya* (%1,8), *S. Mbandaka* (%1,8), *S. Agona* (%1,8), and *Salmonella* II 17: e, n, x, z₁₅: 1,6 (%1,8). Isolations of *S. Kimuenza*, *S. Escanaba*, and *S. Nagoya* from laying hens are reported for the first time in Türkiye. The isolations of *S. Dibra*, *S. Fallowfield*, *S. Szentes*, and *Salmonella* II 17: e, n, x, z₁₅: 1,6 from laying hens are the first report in the world. A total of 56 *Salmonella* isolates were tested for susceptibility to amoxicillin-clavulanic acid, cefepime, azithromycin, chloramphenicol, ofloxacin, cefoxitin, and trimethoprim/sulfamethoxazole by the disk diffusion method. While 10% of *S. Kentucky* isolates were resistant to ofloxacin, and *S. Kimuenza* was only resistant to chloramphenicol.

Chitosan (CS)-stabilized silver nanoparticle (CS@AgNP) was synthesized based on the green process in a solution where CS served as both a reducing agent and stabilizer

in an autoclave. The obtained nanomaterial was coated-with camphor, a natural compound. In this way, camphor-loaded chitosan silver nanoparticle (C-CS@AgNP) was synthesized for the first time. Maximum antibacterial activity against *Salmonella* serotypes was observed at 100 µg/mL concentration of the nanocomposite (8,9-11,6 mm). In our study, in addition to C-CS@AgNP, the effects of 5 disinfectants, with different active ingredients used for poultry disinfection on serotypes, were evaluated according to the qualitative suspension test. All disinfectants, except the quaternary ammonium compound (16%), inhibited the growth of serotypes after 1 minute of contact time. Disinfectants that are effective on serotypes are hydrogen peroxide (26%), peracetic acid (6%) > potassium peroxymonosulfate (21.41%), sodium chlorite (1.5%) > C-CS@AgNP > glutaraldehyde (15%), quaternary ammonium compound (10%) > glutaraldehyde (50%).

Year : 2024

Number of Pages : 124

Keywords : *Salmonella* serotype, laying hen, multidrug resistant, chitosan, camphor, silver nitrate, nanoparticle, disinfectant, qualitative suspension test

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince derin bilgi ve deneyimleriyle bana her türlü konuda destek olan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Burhan ŞEN'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarında karşılaştığım zorluklara farklı açılardan bakabilme becerisini kazandıran 2. tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Fatma KAYNAK ONURDAĞ'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan çok sevdiğim annem Nursel POLAT'a ve babam Esat POLAT'a teşekkürü bir borç bilirim. Umutsuz olduğum zamanlarda bana umut ve güç veren abim Hasan POLAT'a ve birlikte yürüyeceğimiz güzel yarınların habercisi kardeşim Mehmet POLAT'a teşekkür ederim.

Tanıştığımız günden bu yana ve doktora eğitimim boyunca her zaman desteğiyle yanımda olan sevgili eşim Özlem ERENLER POLAT'a teşekkür ederim. Ve doğduğunda hayata birlikte gözlerimizi açtığımız biricik oğlum Hasan Ali POLAT, iyi ki varsın.

Son olarak, bu çalışmaya TÜBAP 2022/56 kodlu proje ile maddi destek sağlayan Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin başta yöneticileri olmak üzere tüm yetkililerine teşekkür ederim.

İbrahim POLAT

Kırklareli, Mayıs, 2024

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
ÖNSÖZ	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xviii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	5
KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. <i>Salmonella</i> 'nın Tarihçesi	5
2.2. <i>Salmonella</i> 'nın Sınıflandırılması ve İsimlendirilmesi	6
2.3. <i>Salmonella</i> Morfolojisi, Kültürü ve Biyokimyasal Özellikleri.....	8
2.4. <i>Salmonella</i> 'nın Antijenik Yapısı.....	9
2.4.1. Somatik (O) Antijenleri.....	9
2.4.2. Hareket (H) Antijenleri	10
2.4.3. Kapsül Vi Antijenleri	10
2.5. <i>Salmonella</i> 'nın Patogenez ve Virülens Faktörleri.....	10
2.5.1. Bağlanma.....	10
2.5.1.1. Fimbrial Adhezinler	11
2.5.1.2. Non-Fimbrial Adhezinler	14
2.5.2. İnvazyon	16
2.5.2.1. SPI-1.....	16
2.5.2.2. SPI-2.....	18
2.5.2.3. SPI-3.....	20
2.5.2.4. SPI-4.....	21

2.5.2.5.	SPI-5.....	21
2.5.2.6.	SPI-6.....	21
2.5.2.7.	SPI-7 ve SPI-8.....	22
2.5.2.8.	SPI-9.....	22
2.5.2.9.	SPI-10.....	22
2.5.2.10.	SPI-11 ve SPI-12.....	22
2.5.2.11.	SPI-13 ve SPI-14.....	23
2.5.2.12.	SPI-15, SPI-16 ve SPI-17.....	23
2.5.2.13.	SGII	23
2.5.3.	Makrofaj Sağkalım ve Replikasyon	23
2.5.4.	Sistemik Yayılma	24
2.5.4.1.	LPS	26
2.5.4.2.	Dış Membran Proteinleri (PagC ve Rck).....	26
2.5.4.3.	Sideroforlar	26
2.6.	<i>Salmonella</i> ADP-ribozilasyon Toksinleri	28
2.6.1.	SpvB	29
2.6.2.	Tifo Toksini / <i>Salmonella</i> Sitoletal Distansiyon Toksini (S-CDT).....	29
2.6.3.	ArtAB	31
2.6.4.	SboC / SeoC	31
2.7.	Antiseptik ve Dezenfektan Maddeler	31
2.7.1.	Alkoller.....	31
2.7.2.	Aldehitler.....	32
2.7.3.	Biguanitler.....	32
2.7.4.	Fenoller.....	33
2.7.5.	Halojenler	33
2.7.6.	Peroksijenler.....	35
2.7.7.	Kuaterner Amonyum Bileşikleri	36
2.8.	Kitosan Nanopartiküllerinin Antibakteriyel Aktivitesi.....	38
2.8.1.	Kitosan	38
2.8.2.	Kitosan Nanopartikülleri	39
2.8.3.	Kitosan Nanopartiküllerinin Antibakteriyel Etki Mekanizması.....	40
2.9.	Kamfor	41

BÖLÜM 3	43
MATERYAL VE YÖNTEM	43
3.1. Örneklerin Toplanması ve Araştırma Bölgesinin Tanımı.....	43
3.2. Kullanılan Besiyerleri ve Standartlar	46
3.3. <i>Salmonella</i> 'nın İzolasyon Aşamaları	51
3.4. Serotiplendirme	53
3.5. Kamfor Yüklü Kitosan Gümüş Nanopartiküllerin (C-CS@AgNP) Sentezi.....	53
3.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi ve Nanokompozitin Antibakteriyel Aktivitesi	55
3.7. Dezenfektan Aktivite Testi	56
BÖLÜM 4	58
BULGULAR.....	58
4.1. İller Arasındaki <i>Salmonella</i> Yüzdeleri ve Serotip Dağılımları.....	58
4.2. <i>Salmonella</i> Serotiplerinin Antibiyotik Duyarlılıkları.....	60
4.3. <i>Salmonella</i> Serotiplerinin Nanokompozit Aktiviteleri.....	62
4.4. <i>Salmonella</i> Serotiplerinin Dezenfektan Aktiviteleri	62
BÖLÜM 5	64
TARTIŞMA	64
5.1. <i>Salmonella</i> Prevalansı	64
5.2. <i>Salmonella</i> Serotipleri.....	65
5.3. Serotiplerin Antibiyotik Duyarlılıkları.....	67
5.4. Nanokompozit Sentezi ve Antibakteriyel Aktivitesi.....	67
5.5. Serotiplerin Dezenfektan Aktiviteleri	69
KAYNAKLAR	72
ÖZGEÇMİŞ	106

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADP	Adenozin difosfat
Ag	Gümüş
AgNO ₃	Gümüş nitrat
AgNP	Gümüş nanopartikülü
AMP	Adenozin monofosfat
ATP	Adenozin trifosfat
AUG	Amoksisilin klavulanik asit
aw	Su aktivitesi
AZM	Azitromisin
Bcf	Bovin kolonizasyon faktörü
BPW	Tamponlanmış peptonlu su
C	Kloramfenikol
°C	Santigrat derece
Ca	Kalsiyum
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
C-CS@AgNP	Kamfor yüklü kitosan gümüş nanopartikülü
CDC	Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezi
CLSI	Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CS	Kitosan

CS@AgNP	Kitosan gümüş nanopartikülü
CS-NP	Kitosan nanopartikülü
Co	Kobalt
Cu	Bakır
°E	Doğu
ECDC	Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
EHEC	Enterohemorajik <i>E.coli</i>
EPEC	Enteropatojenik <i>E.coli</i>
FDA	Gıda ve İlaç İdaresi
Fe	Demir
FEP	Sefepim
Fim	Fimbria
FOX	Sefoksitin
G + C	Guanin + Sitozin
HIO	Hipoyodöz asit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HOCl	Hipokloröz asit
HPA	Sağlık Koruma Ajansı
HPV	Buharlaştırılmış hidrojen peroksit
H ₂ S	Hidrojen sülfür
IO ⁻	Hipoyodit iyonu
km ²	Kilometrekare
KMPS	Potasyum peroksimonosülfat
Lpf	Uzun polar fimbria

LPS	Lipopolisakkarit
Mg	Magnezyum
μg	Mikrogram
MHA	Müeller-Hinton Agar
MKTTn	Muller-Kauffmann tetratiyonat novobiyosin
mL	Mililitre
μL	Mikrolitre
mm	Milimetre
MRD	Çoklu ilaç direnci
$^{\circ}\text{N}$	Kuzey
NaOCI	Sodyum hipoklorit
-NH ₂	Amin grubu
Ni	Nikel
NTS	Non-tifoidal <i>Salmonella</i>
OCl ⁻	Hipoklorit iyonu
OFX	Ofloksasin
-OH	Hidroksil grubu
PAA	Perasetik asit
Pef	Plazmid kodlu fimbria
PO ₃	Fosfit
QAC	Kuaterner amonyum bileşiği
RVS	Rappaport Vassiliadis
Saf	<i>Salmonella</i> atipik fimbria
S-CDT	<i>Salmonella</i> Sitolethal distansiyon toksini
SCV	<i>Salmonella</i> içeren koful

SGI	<i>Salmonella</i> genomik adası
SIFs	<i>Salmonella</i> kaynaklı filamentler
SPI	<i>Salmonella</i> patojenite adası
SS	<i>Salmonella-Shigella</i>
subsp.	subspecies
SXT	Trimetoprim/sülfa-metoksazol
Tafi	İnce agregatif fimbria
TS	Tifoidal <i>Salmonella</i>
TSA	Tryptic Soy Agar
TS EN	Türk Standartları Enstitüsü
TSI	Triple Sugar Iron
T1SS	Tip I Salgılama Sistemi
T3SS	Tip III Salgılama Sistemi
Trx	Tiyoredoksin
Ttr	Tetratiyonat redüktaz
USKP	Ulusal <i>Salmonella</i> Kontrol Programı
VAP	Kofulla ilişkili aksiyon polimerizasyonu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XLD	Ksiloz Lizin Deoksikolat
XLT4	Ksiloz-Lizin-Tergitol 4
Zn	Çinko

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Salmonella'nın sınıflandırılması	6
Şekil 2.2. Salmonella serotiplerinin isimlendirilmesi (Cheng, Eade ve Wiedmann, 2019)	7
Şekil 2.3. Salmonella adhezyon faktörleri ile konakçı proteinleri arasındaki etkileşim (Azimi vd., 2020)	15
Şekil 2.4. Tip III Salgılama Sistemi (T3SS) (Julia ve Aaron, 2020)	17
Şekil 2.5. Salmokelin aracılığıyla Fe ⁺³ 'ün hücre içine alınması (Matthew ve Nels, 2015)	27
Şekil 2.6. TonB-ExbB-ExbD'ye bağlı Fe ⁺³ 'ün hücre içine alınması (Maki-Yonekura vd., 2018)	28
Şekil 2.7. S-CDT'nin alt birimleri (Chong vd., 2017)	29
Şekil 2.8. S-CDT'nin sitotoksik etki aşamaları (Di Domenico vd., 2017)	30
Şekil 2.9. QAC'nin etki mekanizması (Jones ve Joshi, 2021)	37
Şekil 2.10. Kitosanın şematik gösterimi (Chandrasekaran, Kim ve Chun, 2020)	39
Şekil 2.11. Kitosan nanopartiküllerin etki mekanizması (Chandrasekaran, Kim ve Chun, 2020)	40
Şekil 2.12. Kamfor'un şematik gösterimi (Leitão vd., 2018)	41
Şekil 3.1. Havsa – Hasköy'de bir yumurtacı tavuk kümesi	44
Şekil 3.2. Alınan örneklerin harita üzerindeki dağılımı (kırmızı: <i>Salmonella</i> pozitif örnekler)	45
Şekil 3.3. Soğuk zincir ile taşınan drag swap örnekleri	46
Şekil 3.4. İnkübasyonu tamamlanmış RVS besiyerleri.....	51
Şekil 3.5. Salmonella-Shigella (SS) agarda şüpheli Salmonella kolonileri	52
Şekil 3.6. <i>Salmonella</i> şüpheli kolonilerin TSI agardaki görüntüsü.....	53

Şekil 3.7. Nanokompozitin sentez aşamaları, a. otoklav öncesi, b. otoklav sonrası, c. kamfor yükleme sonrası	54
Şekil 3.8. Havanda mekanik etkiyle ince toz haline getirilen C-CS@AgNP	54
Şekil 3.9. Nanokompozitin antibakteriyel aktivitesi (Disk Difüzyon Testi).....	56
Şekil 4.1. Kırklareli, Edirne ve Tekirdağ illerinde yumurtacı tavuklarında görülen <i>Salmonella</i> serovarlarının haritası.....	60
Şekil 5.1. Yüksek sıcaklık ve basınç altında kitosan-Ag nanopartikül sentezi (Wongpreecha vd., 2018).....	68



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>Salmonella</i> bağlanmasına katkıda bulunan ana proteinlerin ve virülens belirleyicilerinin yeri ve işlevi	12
Çizelge 2.2. <i>Salmonella</i> invazyonuna katkıda bulunan ana proteinlerin ve virülens belirleyicilerinin yeri ve işlevi.	19
Çizelge 2.3. <i>Salmonella</i> replikasyonuna katkıda bulunan ana proteinlerin ve virülens belirleyicilerinin yeri ve işlevi	24
Çizelge 2.4. <i>Salmonella</i> 'nın sistemik yayılmasına katkı sağlayan ana proteinlerin ve virülens belirleyicilerinin yeri ve işlevi.....	25
Çizelge 3.1. Zon çapları için CLSI'de belirlenen sınır değerler	55
Çizelge 4.1. İller arasındaki <i>Salmonella</i> yüzdeleri ve serotip dağılımları	59
Çizelge 4.2. Antibiyotiklerin <i>Salmonella</i> serotipleri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları.....	61
Çizelge 4.3. Nanokompozitin <i>Salmonella</i> serotipleri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları.....	62
Çizelge 4.4. Tüm serotipler için üremenin gözlenmediği minimum konsantrasyon değerleri.....	63

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Salmonella enfeksiyonları, dünya genelinde önemini koruyan başlıca halk sağlığı sorunlarından (Humphrey, 2006). *Salmonella* dünya çapında yılda yaklaşık 200 milyon ile 1 milyar enfeksiyondan sorumludur ve hastalıkların %85'i gıdayla ilişkilidir (Chlebicz ve Slizewska, 2018). 2021 veri analizlerine göre salmonelloz, 60.050 vaka ve 71 ölümlle Avrupa Birliği'nde en çok bildirilen ikinci zoonotik hastalıktır (EFSA, 2022). Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl salmonellozun neden olduğu yaklaşık 1,4 milyon hastalık ve 600 ölüm olduğu tahmin edilmektedir (Mead vd., 1999). AB'de kümes hayvanlarında salmonellozun yıllık maliyetinin 3 milyar Euro, ABD'de ise 11,6 milyar dolar'dan fazla olduğu tahmin edilmektedir (Wernicki vd., 2017).

Salmonella vakalarının önemli bir kısmı, çoğunlukla yumurta ve et ürünleri olmak üzere kümes hayvanlarıyla ilişkilidir (EFSA, 2021; Ehuwa vd., 2021). Nitekim, Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezi (CDC), *Salmonella*'nın diğer bakterilere göre daha fazla gıda kaynaklı hastalığa neden olduğunu belirtmektedir (CDC, 2022). Avrupa'da 2013 yılından beri yumurtacı tavuk izolatlarında *Salmonella* insidansında bir artış görülmektedir (De Cesare, 2018). 2021'de Fransa, *Salmonella* Enteritidis enfeksiyonlarının arttığını ve 2022'de vaka sayılarının diğer Avrupa ülkelerine yayıldığını bildirmiştir (ECDC, 2022). Özellikle Romanya'da, *Salmonella* insidansı artan bir eğilim göstermektedir. En son salgın 2021'de kontamine kümes hayvanı organlarının (kalp ve karaciğer) tüketimiyle ilişkilendirilmiştir (Forgaciu vd., 2022). Bu nedenle AB ve ABD dahil olmak üzere devlet kurumları, kümes hayvanları gıda zincirini korumak için *Salmonella* gözetim programları oluşturmuşlardır.

Salmonella enfeksiyonunun en yaygın klinik görünümü, non-tifoidal *Salmonella* (NTS) olarak bilinen 150'den fazla *Salmonella* serotipinin neden olabileceği

gastroenterittir (Park vd., 2015). Bu serotiplerden *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium küresel olarak insan *Salmonella* vakalarının %60'ından fazlasından sorumludur (Hendriksen ve Vierira, 2011). Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığından alınan verilere göre Türkiye'de 2012-2016 yılları arasında en sık izole edilen *Salmonella* serotipi *Salmonella* Enteritidis'tir. Bu serotipi sırasıyla *S. Typhimurium* (%3-8,5), *S. Infantis* (%4,0-6,7), *S. Paratyphi B* (%3,8-3,2) ve *S. Kentucky* (%3,8-2,7) izlemektedir (USKP, 2018). *Salmonella* enfeksiyonlarının doğru ve tam olarak değerlendirilebilmesi için, izole edilen suşların ayrıntılı bir şekilde tanımlanması gerekmektedir (Aksoycan, 1991). *Salmonella*'nın kesin tanısı, selektif katı besiyerinden elde edilen saf kültürlerle biyokimyasal ve serolojik testlerin uygulanmasıyla yapılır (Canpolat, 2007).

Kümeslerin temizlik ve dezenfeksiyonu, çiftlik hijyeni yönetiminin en kritik aşamalarından biridir. Bu aşama, hayvan hastalıklarının ve zoonozların kontrolü ve önlenmesi açısından önem taşır. Özellikle gelişmiş ülkelerde artan yoğun hayvan yetiştiriciliğinde yönetim uygulamalarının bir parçası olan dezenfeksiyona verilen önem giderek artmaktadır. Buna ek olarak temizlik ve enfeksiyon süreçlerinin hem işletme hem de ülke ekonomisi açısından önemli etkileri olduğu bilinmektedir (Taylor vd., 2016).

Günümüzde kanatlı patojenlerine karşı temizlik ve dezenfeksiyonun ana noktalarının daha da geliştirilmesi yanında, daha ekonomik, çevreye daha duyarlı ve hatta spesifik mikroorganizmalara karşı etkili yeni dezenfektanların üretimine odaklanılmaktadır. Çiftlik bazındaki değerlendirmeler ve birçok temizlik protokolünün karşılaştırılması, üreticilere en uygun temizlik ajanlarının verilmesine, zoonoz hastalıkların engellenmesine ve patojen mikroorganizmalarının eliminasyonuna katkı sağlamaktadır (Doyle ve Erickson, 2006).

Dezenfektanlar arasında AgNP'ler, hayvancılıkta yüzey dezenfektanı, su dezenfektanı ve tedavi edici malzeme olarak kullanılmaktadır. Bu kullanım alanları arasında kümes hayvanları, besi hayvanları ve su endüstrisi bulunmaktadır. Bakteriler, virüsler, funguslar ve diğer tek hücreli mikroorganizmaların neden olduğu çeşitli hastalıklar, AgNP'ler kullanılarak etkin bir şekilde kontrol edilebilir. Enfeksiyonlara, kötü kokuya, kaşıntıya ve yaralara neden olan bakteri ve mantarların üremesini engeller (Deshmukha vd., 2019). AgNP'lerin verimli, etkili, koku giderici, toksik olmayan, tolere edilebilir, hidrofilik ve dolayısıyla bakteriyel direnç için çok etkili olduğu bulunmuştur.

Bu nedenle, AgNP'ler hayvancılıkta dezenfeksiyon ve hastalıkların önlenmesi amacıyla dezenfektan olarak kullanılmaktadır (Nia, 2007). Yumurta, tavuk vb. gibi kümes hayvanı yetiştiriciliğinin tüm ürünleri, esas olarak potansiyel enfeksiyon ve dolayısıyla kümes hayvanı hastalıkları kaynağı olan biyolojik materyale dayanmaktadır. Bulaşıcı hastalıkların çeşitli mikroorganizmalar ve bunların endotoksinleri tarafından yayıldığı bilinmektedir. Bu mikroorganizmalar, biyoaerosoller olarak adlandırılan organik tozlar yoluyla çevreye yayılmaktadır. Bu organik tozlar, olduğu yerden yaklaşık üç kilometre uzaklığa ulaşır ve ciddi solunum yolu enfeksiyonlarına yol açar (Tymczynna, Chmielowiec-Korzeniowska ve Drabik, 2007). Bu tür enfeksiyonların, insan sağlığına zarar vermeden, çevre dostu yöntemlerle üstesinden gelmek için birçok çaba sarfedilmiştir.

Antibiyotikler sadece klinik olarak hasta tavukları tedavi etmek için değil aynı zamanda büyümeyi teşvik etmek ve profilaktik amaçlar için de kullanılmaktadır (Rousham vd., 2021). Aşırı antibiyotik kullanımı, özellikle kümes hayvanı ürünlerinde çoklu ilaca dirençli (MDR) *Salmonella* prevalansını artırmaktadır (Feiyang vd., 2021). Bu, yakın gelecekte önemsiz enfeksiyonların bile yaşamı tehdit edebilecek duruma gelmesine yol açabilir. Nitekim, 21. yüzyılda, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) antibiyotik direncini en önemli üç halk sağlığı sorunundan biri olarak kabul etmektedir (Mishra vd., 2022).

Günümüzde çoklu ilaca direnç gösteren mikroorganizmaların ortaya çıkması ve piyasada yeni antimikrobiyal ilaçların bulunmaması, daha güçlü antimikrobiyal bileşiklerin keşfedilmesini ve geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır (Mahmoudi ve Serpooshan, 2012). Gümüş (Ag), altın (Au), bakır (Cu) ve çinko (Zn) gibi birçok metal nanopartikül, doğal antibakteriyel aktiviteleri nedeniyle nanobilimde önemli rol oynamaktadır (Velusamy vd., 2016). Gümüş nanopartiküller kozmetik, ev aletleri, elektronik, teşhis, ilaç taşıma, tekstil ve gıda ürünlerinde kullanılmaktadır (Youssef vd., 2015). Doğal aktif biyopolimerler ve daha az toksik biyomoleküller kullanılarak nanopartiküllerin sentezlenmesi, güvenilir, ucuz ve çevre dostu olması nedeniyle gelecek vaat etmektedir. Nitekim terapötik ajanın, özellikle kitosan gibi polimerik bir matrise dahil edilmesi, biyolojik olarak aktif bileşiğin bozulmasını önleyebilmesi, ilaç taşımayı kontrol edebilmesi, emilimi artırabilmesi ve sonuç olarak ilaç verme sıklığını düşürebilmesi açısından önemlidir (Ahmed ve Aljaeid, 2016). Bundan dolayı

nanopartiküllerle birlikte kitosanın alternatif yeni nesil antimikrobiyal ajanlar olarak geliştirilmesi, pek çok bakteride görülen ilaç direnci sorununu gidermek için cazip ve uygun maliyetli bir yaklaşım olabilir (Onbaşlı vd., 2018).

Kümes ortamlarının mikrobiyolojik gözetimi, *Salmonella* serotiplerinin yumurtacı sürülere bulaşması, kolonizasyonu ve sofralık yumurtaların kontaminasyonu hakkında faydalı bilgiler sağlamaktadır. Bu çalışma, Kırklareli, Edirne ve Tekirdağ illerindeki yumurtacı tavuklardan elde edilen *Salmonella* izolatlarının konvansiyonel serotiplendirme yöntemiyle hem kanatlı hem de insan sağlığı açısından önemli olan serotiplerin çeşitliliğini, tanımlanan serotiplerin de bazı antibiyotiklere, dezenfektanlara ve ilk kez sentezlenen kamfor yüklü kitosan gümüş nanopartiküllerine olan aktivitelerini belirlemeyi amaçlamaktadır.

BÖLÜM 2

KAYNAK ARAŞTIRMASI

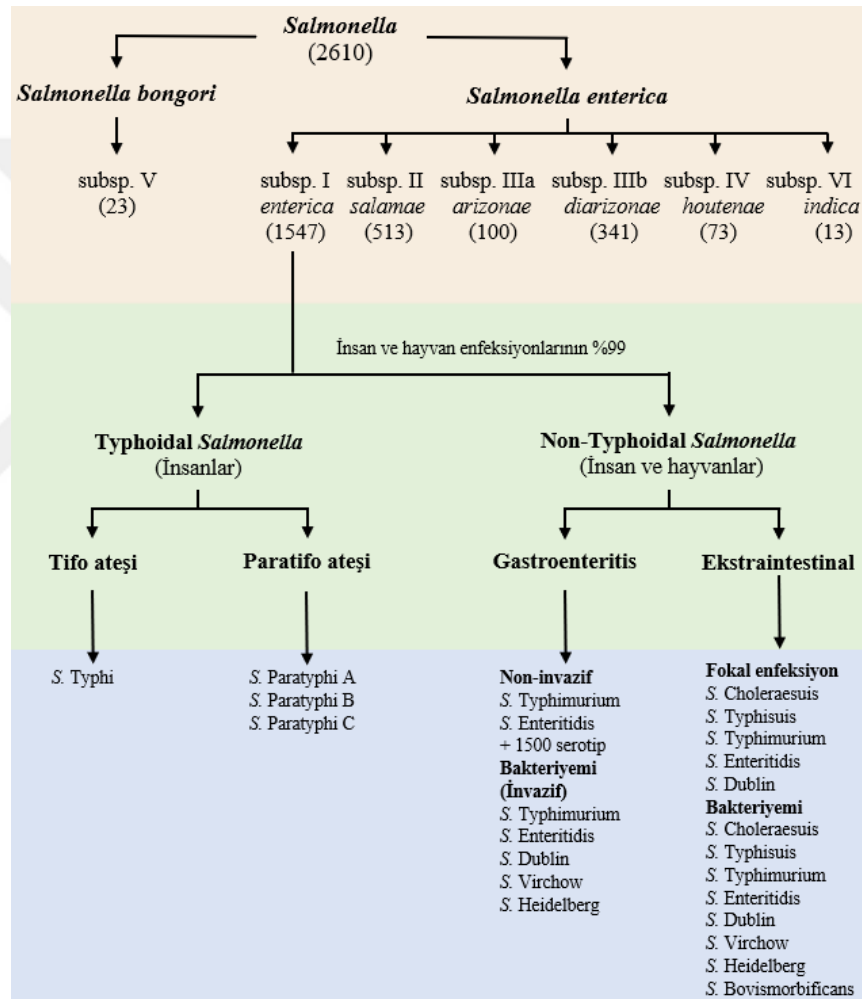
2.1. Tarihçe

Salmonella ilk olarak 1839 yılında Soholerin tarafından bulunmuştur (Myruvik, Pearsall ve Weiser, 1976). 1880 yılında Eberth tarafından tifodan ölen bir kişinin mezenterik lenf düğümlerinden ve dalağında izole edilmiştir. *Salmonella*, 1888'de Salmon ve Smith tarafından domuz kolerasından ölen domuzlardan kültüre edilmiştir (Merchant ve Packer, 1977). Aynı yıl Gartner tarafından hasta bir ineğin etini yiyen genç bir adamın ölümcül bir gastroenterit vakasından da izole edilmiştir (Bryan ve Fanelli, 1979). Daha sonra *S. Typhimurium*, 1892'de Loeffler tarafından enfekte bir fareden izole edilmiştir (Burrows, 1973). 1896'da Achard ve Bensaude, *Bacillus paratyphique* adını verdikleri bir organizmayı izole etmişler ancak bu organizma Boycott'a (1911) göre *S. schottmulleri* olarak adlandırılmıştır (Ali, 1985).

Pullorum hastalığının (*S. Pullorum*) etiyolojik ajanı 1899 yılında Rettger tarafından tanımlanmış ve hastalığa civcivlerin ölümcül septisemisi adı verilmiştir (Cudjoe vd., 1994). 1900'de Schottmuller, 2 farklı paratifo basil tipinin olduğunu göstermiştir. Bunlar daha sonra *S. Paratyphi A* ve *B* olarak yeniden adlandırılmıştır (Dewberry, 1959). *Salmonella* ismi, 1900'de Lignieres tarafından Amerikalı veteriner Daniel E. Salmon'un onuruna cins ismi olarak önerilmiş, 1934'te resmi hale gelmiştir (Gast, 2003). *S. Panama*, Panama Kanalı'nda Amerikan askerleri arasında çıkan bir salgın sırasında Ürdün'de izole edilmiştir (Ali, 1985). 1936'da Hormaeche ve Peluffo, *S. Montevideo*'nun Uruguay'daki bir maymundan izole edildiğini bildirmiştir (Dewberry, 1959). 1939'da Arizona'da kertenkele karkasından Gram-negatif bir bakteri izole edilmiş ve geçici olarak *S. var arizona* olarak tanımlanmıştır (Cappuccino ve Sherman, 2007).

2.2. *Salmonella*'nın Sınıflandırılması ve İsimlendirilmesi

Salmonella cinsi, Proteobacteria şubesinin Gama Proteobacteria sınıfı, *Enteriobacteriales* takımındaki *Enterobacteriaceae* ailesine aittir (Guthrie 1991). Bu cins, *S. enterica* ve *S. bongori* olmak üzere iki türe ayrılmaktadır (Brenner vd., 2000). *S. bongori*'nin alt türü bulunmamaktadır (Grimont ve Weill, 2007). *S. enterica*'nın ise biyokimyasal özellikleri dikkate alındığında 6 alt türü bulunmaktadır: *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) ve *indica* (VI) (Şekil 2.1).

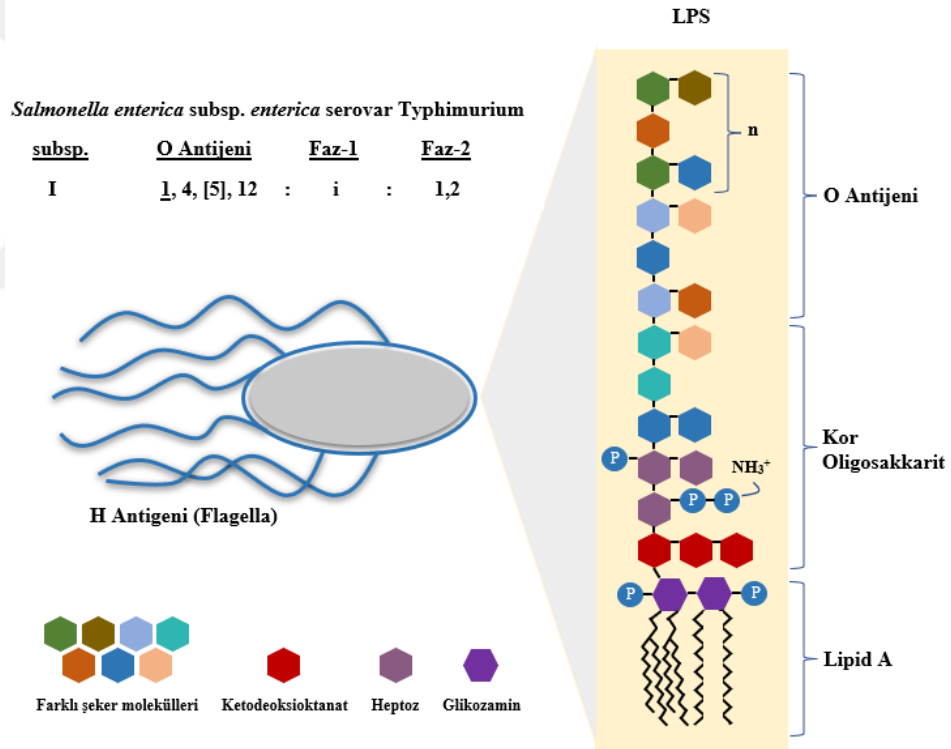


Şekil 2.1. *Salmonella*'nın sınıflandırılması

Salmonella cinsi oldukça polimorfiktir ve birçok serotip içerir. Tanımlanan serotiplerin yaklaşık %60'ı, çoğunlukla sıcak kanlı hayvanlarda bulunan *S. enterica* subsp. *enterica*'ya aittir. *S. bongori* ve diğer *S. enterica* alt türlerindeki serovarlar soğukkanlı hayvanlarda bulunur. *S. enterica* subsp. *enterica* ise insan enfeksiyonlarının

%99'unu oluşturur ve hastalık sendromuna göre Tifoidal *Salmonella* (TS) ve Non-tifoidal *Salmonella* (NTS) olmak üzere iki gruba ayrılır (Achtman vd., 2012). Genel olarak, NTS her yerde bulunur ve geniş bir konakçı aralığında hastalığa neden olurken, TS kısıtlı bir konakçıya sahiptir (Gal-Mor, Boyle ve Grassl, 2014).

2600'ün üzerinde *Salmonella* serovarı, Kauffman-White şemasına göre serotiplendirilir (Grimont ve Weill, 2007). Bu şemada antijenik formüllerle belirlenen serotip adları şu şekilde ifade edilmektedir: (i) alt tür ismi (I ila VI), (ii) O (somatik) antijenleri ardından iki nokta üst üste, (iii) H (flagellar) antijenleri (faz 1) ardından iki nokta üst üste, (iv) H antijenleri (varsa faz 2, yok ise tire - işareti) (Brenner vd., 2000) (Şekil 2.2). Örneğin; *Salmonella* serotip IV 45:g,z₅₁:-. *S. bongori*'deki serotip formülleri, V tek biçimde kullanılmaktadır. Örneğin; *Salmonella* V 61:z₃₅:-.



Şekil 2.2. Salmonella serotiplerinin isimlendirilmesi (Cheng, Eade ve Wiedmann, 2019)

Serotip isminin büyük harfle başlaması, ancak italik yazılmaması kabul görmektedir. Bakterinin cins ismi, türü, alt türü, serovar/serotip veya ser. yazıldıktan sonra serovar adının baş harfi büyük yazılır. Örneğin; *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotip Typhi gibi. Bu şekildeki adlandırma yerine sadece cins ve serotip adları kullanılarak da (*Salmonella* Typhi) yazım yapılabilmektedir (Procop vd., 2017).

Salmonella enterica subsp. *enterica* dışındaki alt türlere ait bakteriler özel bir isimle değil Roma rakamlarıyla alt tür, sonra serovar ve formül ile belirtilir. Örneğin; *Salmonella* II 6,7,14:a:1,5 (alt tür olarak II ve antijenik formül 6,7,14:a:1,5) (Guibourdenche vd., 2010).

2.3. *Salmonella* Morfolojisi, Kültürü ve Biyokimyasal Özellikleri

Salmonella cinsinin üyeleri Gram negatif, kısa ve küçük çomak şeklindedir (Izgur, 2006). Çoğunlukla boyalı preparatlarda tek tek görülen *Salmonella*'lar, spor oluşturmeyen ve kapsülsüz bakterilerdir ve *Salmonella* Gallinarum ve *Salmonella* Pullorum hariç hepsi hareketlidir (Barrow ve Freitas Neto, 2011). XLD agarda 37 °C'de 24-48 saat içinde siyah merkezli kırmızı renkli koloniler oluştururlar.

Salmonella'lar fakültatif anaerobtur. Besinleri hem solunum hem de fermantasyon yoluyla metabolize etme yeteneğine sahip kemoorganotrof organizmalardır (Popoff ve Le Minor, 2005). Optimum üreme sıcaklıkları 35 – 37°C aralığındadır ancak bazıları 2-54°C'de üreyebilir (Gray ve Fedorka-Cray, 2002). *Salmonella*, optimum 6,5-7,5 olmak üzere 4-9 pH aralığında ürer. Üremek için yüksek su aktivitesine ($a_w > 0.94$) ihtiyaç duyarlar, ancak kuru gıdalarda olduğu gibi $a_w < 0.2$ 'de hayatta kalabilirler (D'Aoust and Maurer, 2007).

Neredeyse tüm *Salmonella* serovaryları indol negatiftir, üre hidrolizi ve fenilalanin deaminasyonu yapmazlar. Hidrojen sülfür (H₂S), çoğu *Salmonella* tarafından üretilir, ancak *Salmonella* Paratyphi A ve *Salmonella* Choleraesuis gibi birkaç serovar H₂S üretmez. *Salmonella* 'ların çoğu arojeniktir; ancak *Salmonella* Typhi gaz oluşturmaz. Bu cinsin üyeleri, %50-53 G+C içeriğine sahiptir. Üreaz ve Voges-Proskauer negatif, sitrat pozitifdir (Montville ve Matthews, 2008). Çoğu *Salmonella*, laktozu fermente etmez. Bu özellik, *Salmonella* spp.'nin kültürü ve tanımlanması için birçok seçici ve diferansiyel besiyerinin geliştirilmesini sağlamıştır. Serovaryların çoğu nitratı kolayca nitrite indirger ve çoğu çeşitli karbonhidratları asit üretimiyle fermente eder. Bu cinsin diğer öne çıkan özellikleri arasında, birkaç istisna dışında çoğu serovaryın hidrojen sülfür (H₂S) ve dekarboksilat lizin, arginin ve ornitin üretme yeteneği bulunmaktadır (Popoff ve Le Minor, 2005). Çoğu *Salmonella*; *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A ve birkaç *Salmonella* Choleraesuis serovaryı dışında sitrat kullanmaktadır. Dulcitol genellikle *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* (IIIa) ve *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*

(IIIb) dışındaki tüm serovarlar tarafından kullanılır (Popoff ve Le Minor, 2005). Laktoz, çoğu *Salmonella* serovarının kullanmadığı, ancak tüm *Salmonella* türlerinin %1'den daha azının laktozu fermente ettiği bildirilmiştir (Ewing, 1986).

2.4. *Salmonella*'nın Antijenik Yapısı

2.4.1. Somatik (O) Antijenleri

O antijeni, hücre duvarında bulunan lipopolisakarit tabakası ile ilişkilidir. Lipopolisakarit, Gram negatif bakterilerin dış membranının önemli bir bileşenidir. Lipit A, kor oligosakarit ve O antijeni olmak üzere üç bölgeden oluşur (Raetz ve Whitfield, 2002) (Şekil 2.2). O antijeni ise polisakarit (%60), lipid (%20 ila 30) ve hesomione (%3,5-4,5) içerir (Nwabor, Dickson ve Ajibo, 2015). Terminal gruplarının doğası ve polisakarit zincirlerinin tekrarlayan dalları, çok sayıda O antijene özgüllük sağlar (Gedikoğlu, 2013).

Isıya dayanıklı O antijeni, hücre yüzeyinde görülen lipopolisakarit-protein zincirinden oluşur ve majör ve minör antijenler olarak sınıflandırılır (Nwabor vd., 2015). Majör antijenler, spesifik belirleyicilere sahip olan antijenlerdir. Örneğin; O grubu B için O:4; O grubu E için O:3 gibi. Buna karşılık, minör antijenler, farklı serogruplarda bulunabileceğinden ayırıcı nitelikte değildir. Örneğin; O:12, O grubu A, B ve D'de bulunur (Threlfall, 2005).

O-antijeninin özgül yapısı, faj aracılığıyla oluşan lizojenik konversiyonla farklılaşabilir. Bakteri, faj ile enfekte olduktan sonra yeni antijenik yapılar kazanabilir. Kauffman-White şemasında, O antijenlerinin faj konversiyonu ile sentezlendiği altı çizilerek belirtilir. Serovarin bazı suşlarında bulunmayabilen antijenler ise köşeli parantez [] ile gösterilir. Örneğin; *Salmonella* Typhimurium'da (1,4,[5],12:i:1,2) O:1 ve O:5 antijenleri bulunabilir de bulunmayabilir de. Eğer O:5 antijeni bulunmuyorsa bunun faj konversiyonu ile ilgisi yoktur (EFSA, 2010).

2.4.2. Hareket (H) Antijenleri

H antijenleri hareketli *Salmonella*'larda bulunur ve ısıya duyarlıdır. Flagella güçlü antijenik özellik sahiptir (Yousef ve Carlstrom, 2003). Amino asit içeriği ve bu asitlerin flagellinlerdeki dizilişi, farklı H antijenlerinin oluşmasını sağlar. Flagellar aglütinasyon çok hızlı gerçekleşir ve oluşan agregatlar sıkı olmayıp topak görünümündedir (Raetz ve Whitfield, 2002).

Salmonella serovarları genellikle iki fazlıdır, bazıları ise tek fazlıdır. Faz 1 H-antijenleri spesifiktir ve belirli serovarların immünolojik kimliği ile ilişkilidir. Oysa faz 2 antijenleri, birçok serovar tarafından paylaşılabilen ve dolayısıyla spesifik olmayan antijenlerdir. Faz 1 H-antijenleri küçük harflerle ve faz 2 H-antijenleri Arap rakamlarıyla veya bazı durumlarda e veya z serisinin bileşenleriyle gösterilir (Örneğin, 6,8:z10:e,n,x) (Grimont ve Weill, 2007).

2.4.3. Kapsül Vi Antijenleri

Bakterinin hücre duvarının dışında bulunan antijenik yapılardır. Kapsül antijenleri *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Dublin ve *Salmonella* Paratyphi A'da bulunur. Vi antijeni kimyasal yöntemle saflaştırılabilir (Nwabor vd., 2015). Kapsül antijenlerinin termal çözünürlüğü, kapsül antijenleri içeren serotiplerin immünolojik tanısı için gereklidir (Fluit, 2005).

İnsanlarda enfeksiyonlara neden olan *Salmonella* suşlarının %99'dan fazlası *Salmonella enterica* subsp. *enterica*'ya aittir. Yaygın olmamakla birlikte *Salmonella*'nın O antijenleri ile *Enterobacteriaceae*'nin diğer cinsleri arasında çapraz reaktivite meydana gelebilir. Bu nedenle, serotiplerin daha ileri sınıflandırması, *Salmonella* için oldukça spesifik olan flagellar H antijenlerine göre yapılır (Scherer ve Miller, 2001).

2.5. *Salmonella*'nın Patogenez ve Virülens Faktörleri

Salmonella'nın patogenezi; bağlanma, invazyon, makrofaj sağkalım / replikasyon ve sistemik yayılma olarak dört ana başlıkta ele alınmaktadır.

2.5.1. Bağlanma

Salmonella, konakçının bağırsak mukozasını kaplayan epitel hücrelerine girmeden önce, hücreye bağlanması gerekmektedir. NTS'de bağlanma; fimbrialar, oto taşıyıcıların non-fimbrial faktörleri ve dış zar proteinleri tarafından sağlanır. Şimdiye

kadar 20 adhezyon proteini tanımlanmış ve *S. enterica* serotip Typhimurium'un tüm adhezomları belirlenmiştir (Hansmeier vd., 2017).

2.5.1.1. Fimbrial Adheziner

Pili olarak da bilinen fimbrialar, bakteri yüzeyinde çıkıntı yapan ince, filamentli uzantılardır ve fimbrin proteininin küçük moleküler ağırlıklı monomerlerinin polimerize edilmiş kümelerinden oluşur (Collinson vd., 1996). Karakteristik olarak fimbrialar, Gram negatif bakterilerin konak hücrelere ve yüzeylere bağlanmasını sağlar (Berne vd., 2015). *Salmonella*'da ilk temas, nispeten zayıf yapışma ile sonuçlanır ve bakterilerin bağırsak epiteline geçmesini sağlar. Kısa süre sonra bağlanmanın gücü ve yakınlığı *de novo* bakteriyel protein senteziyle artırılır (Wagner ve Hensel, 2011). Bu sürece Tip 3 Salgılaşma Sistemi'nin (T3SS) konak hücrelere bağlanması eşlik eder (Coburn, Sekirov ve Finlay, 2007). *S. Typhimurium*'un kromozomu, *afg (csg)*, *bcf*, *fim*, *lpf*, *pef*, *saf*, *stb*, *stc*, *std*, *stf*, *sth*, *sti* ve *stj* olmak üzere 13 fimbrial operon içerir (Yue vd., 2012). Deneysel olarak araştırılan sekiz fimbria tipi aşağıda özetlenmiştir (Fabrega ve Vila, 2013).

2.5.1.1.1. Mannoza Duyarlı Tip I Fimbria

Mannoza duyarlı Tip I fimbrialar (Fim), *fim ACDHIFZYW* operonu tarafından kodlanır. Tip I fimbrialar, ekstraselüler matrisin glikoprotein bileşeni olan laminin ile konak hücre yüzeyi üzerindeki D-mannoz içeren reseptörlere bağlanır (Zeiner, Dwyer ve Clegg, 2012). Bu fimbrialar, tavuk, fare, sıçan ve domuzda bağırsak mukozasının kolonizasyonunu kolaylaştırır ve HEp-2 ve HeLa hücrelerinin invazyonunu sağlayarak bakterilerin epitelyal hücrelere bağlanmasını sağlar (Horiuchi vd., 1992). Öte yandan, saflaştırılmış Fim proteini kullanılarak yumurtacı tavuklara yapılan deri altı aşılamanın, kontamine yumurta sayısını azalttığı ve bakterilerin üreme organlarına yayılmasını engellediği bildirilmektedir (De Buck vd., 2005). Tip 1 fimbriaların *S. Typhimurium* üzerinde oluşması için FimA, FimF ve FimH gereklidir (Zeiner vd., 2012). Majör yapısal alt birim olan FimA, tip 1 fimbriaların sap kısmını oluşturur (Guo vd., 2009). Fimbriaların uç kısmını temsil eden FimH, konak hücreye göre değişebilen bağlanma özelliklerinden sorumludur. Örneğin *E. coli*'nin FimH'si tercihen mesane epitel hücrelerine bağlanırken, *Salmonella*'nın FimH'si enterositlere bağlanır (Thankavel vd., 1999).

2.5.1.1.2. Plazmid Kodlu Fimbria (Pef)

Plazmit kodlu fimbrialar (Pef), *Escherichia coli* ve *Vibrio cholerae* fimbriaları ile yapılan gözlemlere benzer şekilde yeni doğan farelerde sıvı üretimi için gereklidir (Baumler vd., 1996). Pef adhezinlerinin oral enfeksiyondan sonra farelerde bağırsak kolonizasyonunu ve sistemik virülens arttırıcı etkileri bulunmaktadır (van der Velden vd., 1998). *pef* geninin ifadesi, DNA metilasyonu ile düzenlenir (Nicholson ve Low, 2000). Saflaştırılmış Pef, insan eritrositlerinin yüzeyinde, deri epitelinde ve mukozal yüzeylerde baskın olan trisakkarit Gal β 1-4(Fuc α 1-3) GlcNAc'e (aynı zamanda Lewis X kan grubu antijeni veya Le^x olarak da bilinir) bağlanır (Chessa vd., 2008).

2.5.1.1.3. Uzun Polar Fimbria (Lpf)

lpfABCDE fimbrial operon tarafından kodlanan uzun polar fimbria (Lpf), farelerde *Salmonella* için giriş kapısı olan M hücrelerine yapışarak Peyser kanallarında kolonizasyona neden olur (Baumler vd., 1996). Fimbrial dış membran proteinini (usher) kodlayan *lpfC* geninin mutasyonu, doğal fenotiplerle karşılaştırıldığında test hayvanlarının %50'sini öldürmek için gereken bakteri sayısını 5 kat arttırmaktadır. Lpf ayrıca konak epitel hücrelerinde biyofilm oluşumunun ön basamağında görev alır ve bağırsakta kalıcılığı sağlar (Ledebøer vd., 2006). Lpf sentezi, konakçının immün yanıtından kurtulmak için faz varyasyonu ile düzenlenir (Norris, Kingsley ve Bumler, 1998).

Çizelge 2.1. *Salmonella* bağlanmasına katkıda bulunan ana proteinlerin ve virülens belirleyicilerinin yeri ve işlevi (Gao, Wang ve Ogunremi, 2020)

Virülens genler	Lokasyon	Fonksiyonlar
<i>BcfABCDEFGH</i>	Kromozom	Bağırsakta uzun süreli kalıcılık ve bovine kolonizasyonu
<i>csgABCDEFG</i>	Kromozom	Curli üretiminde taşıyıcı ve birleştirici bileşenler ile DNA-bağlayıcı transkripsiyonel regülatörler
<i>fimCDFHIWYZ</i>	Kromozom	Epitel hücrelerine adhezyon ve biyofilm oluşumu
<i>hofBC</i>	Kromozom	Tip IV pilin biyogenez proteini
<i>lpfABCDE</i>	Kromozom	Biyofilm oluşumu, bağırsakta uzun süreli kalıcılık
<i>misL</i>	SPI-3*	İntestinal kolonizasyonla ilişkili ekstraselüler matriks adhezyonu
<i>pefA</i>	Plazmid	Epitel hücrelerine adhezyon; proinflamatuvar yanıtın indüklenmesi

<i>ppdD</i>	Kromozom	Pilin alt birimi
<i>SafC</i>	Kromozom	<i>Salmonella</i> atipik fimbria dış zar proteini (usher)
<i>ShdA</i>	CS54*	Dış membran
<i>StdB</i>	Kromozom	Bağırsakta uzun süreli kalıcılık
<i>stfACDEFG</i>	Kromozom	Fare bağırsağında uzun süreli kalıcılık için gerekli değildir.
<i>sthABD</i>	Kromozom	Dış membran fimbrial proteini (usher), fimbrial alt birimi, şaperon proteini
<i>StiABC</i>	Kromozom	Fimbrial alt birimi, usher, şaperon
<i>STM0551</i>	Kromozom	Fimbria proteinin ekspresyonunu azaltır ve virülensin negatif düzenleyicisi olarak işlev görür
<i>STM4595</i>	Kromozom	Bilinmiyor

*SPI-3 ve CS54, *Salmonella* kromozomu üzerindeki genomik adalar

2.5.1.1.4. İnce Agregatif Fimbria (Tafi)

Agf/Csg olarak adlandırılan, curli olarak da bilinen ince agregatif fimbrialar, *agf/csgBAC* gen kümesi tarafından kodlanır (Sukupolvi vd., 1997). Tafi, *Salmonella*'nın biyofilm oluşumunu, çeşitli yüzeylere yapışmasını ve oto-agregasyonunu sağlar (Collinson vd., 1993). Sırasıyla *E. coli* ve *S. Typhimurium*'un majör agregatif alt birimi olan CsgA ve AgfA'nın polipeptit sekanslarının %86 oranında birbirine benzediği bilinmektedir (Collinson vd., 1996). Tafi, fibronektin veya laminin gibi farklı hücre dışı matriks proteinleri ile etkileşime girerek yaralarda bakteriyel kolonizasyona neden olur (Olsen vd. 1993).

2.5.1.1.5. Bovin Kolonizasyon Faktörü (Bcf)

Bovin kolonizasyon faktörü (Bcf), *bcf* gen kümesi tarafından kodlanır. *bcfC* tarafından kodlanan fimbrial usher proteini, sığır, buzağı ve farelerin oral enfeksiyon modellerinde Peyter kanallarının kolonizasyonu için gereklidir (Tsolis vd., 1999). Genetik olarak dirençli farelerde, *Typhimurium*'un bağırsakta uzun süre kalabilmesi için *bcf* geninin yanı sıra diğer beş fimbrial operona (*lpf*, *stb*, *stc*, *std* ve *sth*) ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Weening vd., 2005).

2.5.1.1.6. *Salmonella* Atipik Fimbria (Saf)

Salmonella atipik fimbriaları (Saf), kromozomal *safABD* operonu tarafından kodlanır. Poliyapışkan ve kendiliğinden birleşme özelliğe sahiptir. Bu özellikler, biyofilm formasyonu ile konak hücrenin tanınmasına katkı sağlamaktadır (Zeng vd., 2017).

2.5.1.1.7. *Typhimurium* Fimbria *std* ve *stf* Operonları

Std operon, insan kalın bağırsağının epitel hücrelerine yapışmayı sağlar. Aynı zamanda α (1, 2) fukoz içeren çekum mukoza reseptörlerine bağlanarak farede çekal kolonizasyonu için gereklidir (Chessa vd., 2009). *Stf* fimbria, *Proteus mirabilis*'in MR/P ve *E. coli*'in Pap fimbrialarıyla homoloji gösterir (Morrow, Graham ve Curtiss, 1999). *StfA* ekspresyonu, sığır ileal loop enfeksiyonu sırasında indüklenir (Humphries vd., 2003).

2.5.1.1.8. *Enteritidis* fimbrial SEF14

Enteritidis fimbrial SEF14, tavukların bağırsak, karaciğer, dalak ve üreme organlarında kolonizasyonunu sağlar (Thiagarajan, Thacker ve Saeed, 1996). *Sef* operonu, SEF14 fimbrialarının translokasyonu ve biyogenezi için gereken dört yapısal geni (*sefABCD*) içerir. SEF14'ün majör alt ünitesi olan *sefA*, *S. Enteritidis*'in virülensi için gerekli değildir. Ancak *Enteritidis*'in makrofajlarda hayatta kalabilmesi için *sefD*'ye ihtiyaç vardır (Edwards, Schifferli ve Maloy, 2000). Fare modelinde, yumurta sarısından türetilen anti-SEF14 antikoları pasif koruma sağlamaktadır (Peralta vd., 1994).

2.5.1.1.9. Tip IV Pili

Tip IV pili sadece insana uyum sağlamış *Salmonella* Typhi serovarında tespit edilmiştir. Tip IV pilusun oluşturulması için gereken 11 gen, pil operonunda kodlanır ve *Salmonella*'nın insan bağırsak hücrelerine adhezyonu ve invazyonu için gereklidir (Zhang vd., 2000). Kayma hareketinin yanı sıra, tip IV pilinin immün kaçış, DNA alımı, biyofilm, mikro koloni oluşumu ve adhezyon dahil birçok patojenik süreç için gerekli olduğu gösterilmiştir (Craig ve Li, 2008).

2.5.1.2. Non-Fimbrial Adhezinler

Dört farklı non-fimbrial bağırsak kolonizasyon faktörü bulunmaktadır.

2.5.1.2.1. MisL

MisL, SPI3 tarafından kodlanan fibronektine bağlanabilen bir membran insersiyon ve salgılama proteindir. Bu bağlanma, *Salmonella*'nın epitel hücrelerini işgal etmesine ve bağırsakta kalıcılığını sağlamasına yardımcı olur (Dorsey vd., 2005).

2.5.1.2.2. ShdA

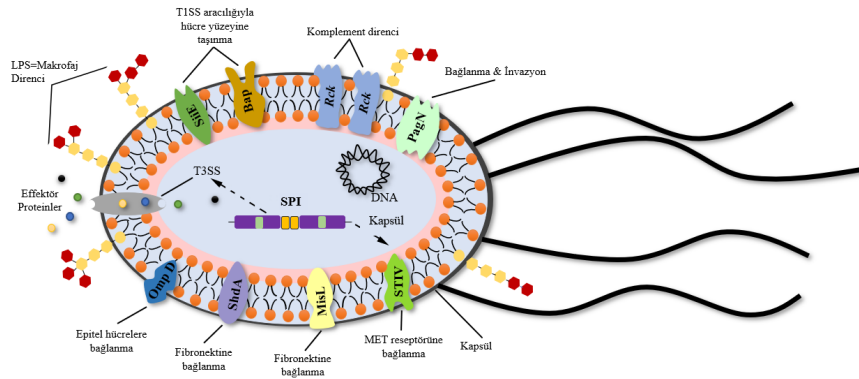
ShdA geni, yalnızca *S. enterica* subspecies *enterica*'da bulunan CS54 adlı patojenite adasında bulunur (Kingsley vd., 2000). ShdA, fare çekumunda *in vivo* olarak indüklenen fibronektin/kolajen I bağlayıcı dış zar proteindir (Kingsley vd., 2004). Fare çekumunda ve terminal ileumda Typhimurium kolonizasyonu için gereklidir (Kingsley vd., 2003).

2.5.1.2.3. BapA

BapA, biofilm oluşumu için gereken geniş bir hücre yüzey proteindir ve T1SS yoluyla salgılanır (Nunez vd., 2005). *Salmonella* biyofilm oluşumu, BapA eksikliğinde aşırı curly üretimiyle telafi edilebilir (Latasa vd., 2005).

2.5.1.2.4. SiiE

SiiE, epitel hücrelere bağlanabilen *Salmonella*'nın non-fimbrial adhezin proteindir (Kiss, Morgan ve Nagy, 2007). Bu efektör protein, SPI-4 tarafından kodlanarak Tip 1 Salgılama Sistemi (T1SS) aracılığıyla taşınır. T1SS üç alt birimden oluşur. Bunlar, ATPaz ve iç membran proteini SiiF, transmembran proteini SiiD ve dış membran proteini SiiC'dir (Wagner vd., 2011). SiiE, sadece polarize hücreyi istila eder (Gerlach vd., 2008) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Salmonella adhezyon faktörleri ile konakçı proteinleri arasındaki etkileşim (Azimi vd., 2020)

2.5.2. İnvazyon

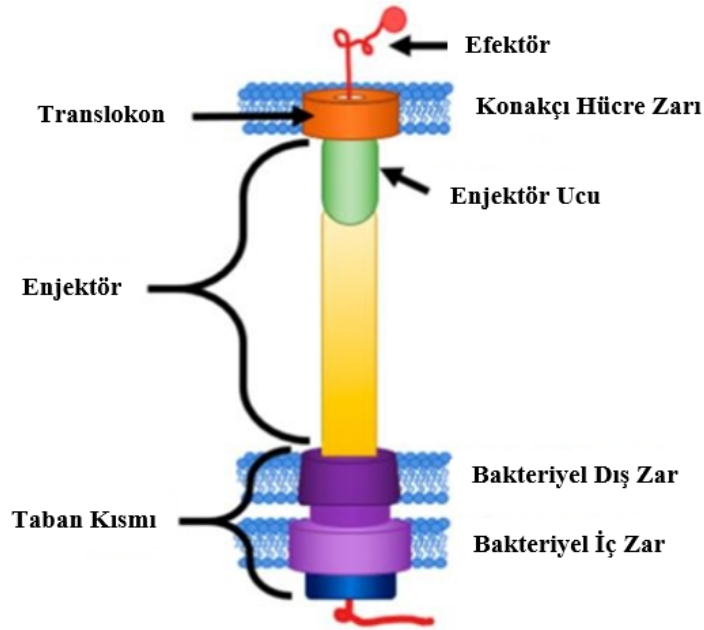
Adhezyondan kısa bir süre sonra, konak hücre sinyal yolları aktive olur. Hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesiyle *Salmonella* invazyonu başlar (Finlay, Ruschkowski ve Dedhar, 1991). Normal epitel hücrelerinin fırçamsı kenarları bozulur. Makropinositoz yoluyla *Salmonella* konak hücre tarafından yutulur. Böylece *Salmonella*'nın hayatta kaldığı ve çoğaldığı tek intraselüler bölme olan *Salmonella* içeren koful (SCV) meydana gelir (Garcia-del Portillo ve Finlay, 1994). Eş zamanlı bağırsak epitelinde oluşan salgı yanıtı, fagositlerin submukozal boşluktan bağırsak lümenine alınmasını sağlar. Alternatif olarak, *Salmonella* hücreleri doğrudan submukozadaki dendritik hücreler tarafından yutulabilir. SCV olgunlaşması sırasında *Salmonella*, koful etrafında F-aktin ağ örgüsünün oluşmasını sağlar. Bu süreç koful ile ilişkili aksiyon polimerizasyonu (VAP) olarak adlandırılır. Bu, koful membranının bütünlüğünün korunması için önemlidir (Meresse vd., 2001). Ayrıca, intraselüler *Salmonella*, uzun filamentli membran yapısının oluşumuna neden olabilir. *Salmonella* kaynaklı filamentler (SIFs) olarak adlandırılan bu yapı, SCV içindeki besinlerin artmasına neden olabilir (Rajashekar vd., 2008). SCV'lerin bir kısmı bazolateral membrana transitoz yapar. Bağırsak epitelini geçtikten sonra, *Salmonella* fagositler tarafından yutulur (Ohl ve Miller, 2001). Patojenik bakteri, bu aşamada konak savunma mekanizmalarından kaçmak için birçok virülens strateji kullanmak zorundadır.

Virülens faktörlerinin çoğu, kromozom üzerinde yüksek oranda korunmuş SPI'ler içinde bulunurken, diğerleri ya bir virülens plazmidi (pSLT) üzerinde ya da kromozomun herhangi bir yerinde bulunur. Bugüne kadar, *Salmonella*'da 21 SPI tanımlanmıştır. Bu SPI'lerin 11'i *S. Typhimurium* ve invazif *S. Typhi* genomları için ortaktır. Bunlar SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4, SPI-5, SPI-6, SPI-9, SPI-11, SPI-12, SPI-13 ve SPI-16'dır. SPI-8 ve SPI-10 ilk olarak *S. Typhi*'de bulunmuştur ve *S. Typhimurium* kromozomunda karşılıkları yoktur. SPI-7, SPI-15, SPI-17 ve SPI-18 *S. Typhi*'ye özgünken, SPI-14 *S. Typhimurium*'a özgüdür. SPI-19, SPI-20 ve SPI-21 her ikisinde de yoktur (Sabbagh vd., 2010).

2.5.2.1. SPI-1

SPI-1'in boyutu yaklaşık 40 kilobazdır. SPI-1, aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi ve epitel hücrelerin invazyonu için gereken efektör proteinlerini kodlar. En az altı efektör protein (SipA, SipC, SopB, SopE, SopE2, SptP), aktin hücre iskeletinin

yeniden şekillenmesine neden olur (Misselwitz vd., 2012). SipA ve SipC, aktine doğrudan bağlanır ve bakteriyel yapışma bölgesinde aktin filamentlerinin oluşumunu destekler (McGhie, Hayward ve Koronakis, 2001). SopE, sitokin üretimini tetikleyen sinyal dizilerini uyarır (Hardt vd., 1998). Bu efektörler, Tip III Salgı Sistemi (T3SS-1) vasıtasıyla konak hücreye taşınır (Salmond ve Reeves, 1993). Tip III salgılama sistemleri, enjektör kompleksi, enjektör ucu ve taban kısımlarından oluşur (Hu vd., 2017). Bakterilerde protein enjeksiyon mekanizması, enjektör ucunun konak hücre zarına temasıyla başlar (Barta vd., 2012). Konak hücre teması, efektör proteinlerin geçişine aracılık eden henüz tam olarak anlaşılamamış bir protein kanalının oluşmasını sağlar. T3SS'nin kendine özgü bir özelliği, aktivitelerinin konak hücre zarına temasıyla başlamasıdır (Zierler ve Galan, 1995). Bu etkileşim, salgılanmanın uyarılmasını ve protein translokazlarının konak hücre zarını açmasını sağlar.



Şekil 2.4. Tip III Salgılama Sistemi (T3SS) (Julia ve Aaron, 2020)

T3SS-1, *inv*, *spa*, *prg* ve *org* gibi SPI-1 tarafından kodlanan proteinlerden oluşur (Nieto vd., 2016). *inv*, *spa* ve *hil* gibi DNA segmentlerinden yoksun *Salmonella* mutantlarının kültürlenmiş epitel hücrelerine giriş yeteneklerinin olmadığı bildirilmiştir (Ginocchio vd., 1997). T3SS-1'in işlevini bozan mutasyonlar, *S. Typhimurium*'un oral yoldan uygulanmasını takiben farelerde ölümcül dozun 50 kat artmasına neden olmuştur (Penheiter vd., 1997). *Prg/org* ve *inv/spa* operonları enjektör kompleksini, *sic/sip*

operonları efektör proteinleri ve translokonu (SipBCD) kodlar. Translokon, konak hücre zarına gömülen ve efektörleri konakçının sitozolüne ileten gözenekli bir yapıdır. Ek olarak, birkaç şaperon da SPI-1 içinde kodlanmıştır. Şaperonlar, proteinlerin katlanarak üç boyutlu hâle gelmesinde görevli refakatçi proteinlerdir. Örneğin *Salmonella* efektör proteini SlrP, substrat olarak tiyoredoksin (Trx) kullanabilen E3 ubiquitin ligazıdır. SlrP'nin Trx ile etkileşimi, tiyoredoksin aktivitesini düşürerek konak hücrenin ölümüne neden olur (Bernal-Bayard ve Ramos-Morales, 2009).

Genel olarak, SPI-1 genlerinin ekspresyonu, *Salmonella* tarafından konak istilası ve gastroenterit indüksiyonu için gereken HilA, iagB ve InvF gibi yerel regülatörler tarafından kontrol edilir (Lim vd., 2016). Örneğin, *prgHIJK*, *invA*, *invJ* ve *orgA*, öncelikle HilA tarafından düzenlenir. Ek olarak, iki önemli küresel düzenleyici ağ, SirA/BarA ve PhoP/PhoQ, HilA tarafından invazyonla ilişkili genlerin ifadesini dolaylı olarak düzenler (Teplitski, Goodier ve Ahmer, 2003).

2.5.2.2. SPI-2

SPI-2, yaklaşık 40 kilobaz boyutundadır ve 2 farklı bölgeden oluşur (Kuhle ve Hensel, 2004). Küçük olan kısım, anaerobik solunumla ilişkili tetrasyonat redüktazı (Ttr) kodlayan *ttrRSBCA* operonunu içerir. Bu genlerin ifadesi, mikrobiyota üzerinde üreme avantajı sağlayabilir (Winter vd., 2010). Büyük olan kısım ise sadece *S. enterica*'da bulunur. Bu kısım *Salmonella*'nın konak hücrelerde (hem epitel hem de makrofajlar) SCV içinde hayatta kalabilmesi ve replikasyonu için gereklidir (Shea vd., 1996). Nitekim, fonksiyonel olmayan SPI-2 mutasyonları, farelerin bağırsak bariyerini geçmelerine rağmen, onların iç organlarını kolonize edemezler (Cirillo vd., 1998). Bu mutasyonların farelere oral veya intraperitoneal olarak aşılması, doğal fenotiplerine göre virülenslerinin en az 5 kat azalmasına neden olmuştur (Shea vd., 1996). SPI-2, farelerde *Salmonella*'nın makrofajlarda hayatta kalabilmesi için gereken ikinci bir T3SS'yi kodlar (Hensel vd., 1998). Toplam 17 efektörün SCV membranı üzerinden konak hücre sitoplazmasına geçtiği kabul edilmektedir ve bunların çoğu SPI-2 lokusunun dışındadır (Kuhle ve Hensel, 2004). Genel olarak, SPI-2 dört tip virülens geni içerir; *ssa* T3SS-2 aparatlarını, *ssr* regülatörleri, *ssc* şaperonları ve *sse* efektörleri kodlar (Çizelge 2.2.) (Kuhle ve Hensel, 2004).

Çizelge 2.2. *Salmonella* invazyonuna katkıda bulunan ana proteinlerin ve virülens belirleyicilerinin yeri ve işlevi (Gao vd., 2020)

Virülens genler	Lokasyon	Fonksiyonlar
<i>Crp</i>	Kromozom	cAMP düzenleyici proteini
<i>hilACD</i>	SPI-1	<i>hilA</i> geninin ekspresyonunu aktive eder
<i>Hnr</i>	SPI-2	SPI-2 düzenleyicisi (transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası)
<i>HtrA</i>		Periplazmik strese karşı direnç
<i>IacP</i>	SPI-1	Translasyon sonrası modifikasyon
<i>iagB</i>	SPI-1	İnvazyon
<i>invABCEFGIJ</i>	SPI-1	Sekresyon, şaperon
<i>msgA</i>	Kromozom	Bilinmiyor
<i>ompR/envZ</i>	SPI-2	<i>ssrAB</i> ekspresyonunu düzenler
<i>orgABC</i>	SPI-1	Patogenez, sekresyon
<i>phoR/Q</i>	SPI-2	<i>ssrAB</i> ekspresyonunu düzenler
<i>pagACDP</i>	SPI-11	AMP'ye direnç, makrofaj sitotoksitesisi
<i>pipABB2CD</i> <i>pipC</i> <i>(sigE)</i>	SPI-5	Patogenez, efektör proteini, SIF'in uzaması, SCV'un olgunlaşması ve konumlandırılması
<i>prgHIJK</i>	SPI-1	Sekresyon
<i>Prc</i>		Periplazmik strese karşı direnç
<i>rpoES rpoS (katF)</i>	SPI-2	SPI-2 düzenleyicisi (transkripsiyon ve transkripsiyon sonrası, <i>spvR</i> geninin transkripsiyon kontrolü; <i>rpoS</i> 'nin ifadesi, <i>Salmonella</i> 'nın makrofaj ve epitel hücrelerine girdikten sonra indüklenir.
<i>rtsA</i>	Kromozom	<i>hilA</i> geninin ifadesini aktive eder
<i>sapABCDF</i>		AMP'ye direnç, makrofaj sitotoksitesisi
<i>sifA</i>	SPI-2	Epitel hücrelerinde SIF oluşumu ve SCV membran bütünlüğünün korunması
<i>siiCDEF</i>	SPI-4	Translokasyon, polarize epitel hücrelerin apikal tarafında adhezyon, T3SS-1'e bağlı invazyon
<i>sicAP</i>	SPI-1	<i>sipBC</i> için şaperon

<i>sipA (sspA)</i>	SPI-1	İnvazyon boyunca aktin filamentlerinin stabilizasyonu ve lokalizasyonu, VAP'nin stabilizasyonu, SifA ve PipB2'nin doğru lokalizasyonu, SCV'nin perinükleer göçü ve morfolojisi, inflamatuvar yanıt ve sıvı sekresyonu
<i>sipBCD (sspBCD)</i>	SPI-1	Epitel hücrelerinde adhezyon, erken makrofaj piroptozu, makrofaj otofajisi
<i>SpaSRQPO</i>	SPI-1	T3SS'nin enjektör uç proteini
<i>sptP</i>	SPI-1	Aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi
<i>sirA</i>	SPI-1	SPI-1 dışında kodlanan SirA/BarA, HilA'yı etkinleştirir
<i>slrP</i>	Kromozom	Epitel hücrelerde adhezyon
<i>slyA</i>	SPI-2	Oksidatif strese karşı direnci düzenler
<i>sspH1H2</i>	Faj	Memeli nükleusuna lokalizasyon, SCV'nin olgunlaşması ve konumlanması
<i>sodABD</i>		Oksidatif strese karşı direnç
<i>SopABDD2EE2 sopB (sigD)</i>	SPI-5	Klorür sekresyonu, aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi, invazyon ve epitel hücrelerinin apoptozunun inhibisyonu, sıvı sekresyon ve antiinflamatuvar yanıtın indüklenmesi, SCV'nin olgunlaşması ve konumlanması, makrofajlar içerisinde replikasyon, SIF oluşumu
<i>spaOPQRS</i>	SPI-1	Sekresyon
<i>SprB</i>	SPI-1	Transkripsiyonun düzenlenmesi
<i>spvABCD</i>	Plazmit	Aktini modifiye eder, enfekte hücrelerin hücre iskeletini destabilize eder, SCV'nin olgunlaşması ve konumlanması
<i>SsJ</i>		Oksidatif strese karşı direnç
<i>STM2231</i>	SPI-2	SPI-2 düzenleyicisi (transkripsiyon ve transkripsiyon sonrası)
<i>YejABEF</i>	Kromozom	AMP'ye direnç, makrofaj sitotoksitesisi
<i>ymdA</i>	Kromozom	Stres yanıtı

*SPI-5, *Salmonella* kromozomu üzerindeki genomik adalar

2.5.2.3. SPI-3

SPI-3 lokusu 17 kilobaz boyutundadır. SPI-1 ve SPI-2'den farklı olarak SPI-3, magnezyum taşıma sistemi ile *Salmonella*'nın makrofajlarda replikasyonu için gereklidir. Hidrofobik membran proteinini kodlayan *mgtC* geni, *Salmonella*'nın kısıtlı Mg^{+2} ortamında gelişmesi, makrofaj sağkalımı ve sistemik virülensinden sorumludur

(Moncrief ve Maguire, 1998). Düşük Mg^{+2} konsantrasyonlarına yanıt olarak *mgtC* geninin transkripsiyonu, *phoP-phoQ* tarafından düzenlenen genlerin aktivasyonuna neden olur (Blanc-Potard ve Groisman, 1997).

2.5.2.4. SPI-4

SPI-4'ün boyutu yaklaşık 27 kilobazdır. SPI-4, civcivlerin olmasa da sığırların bağırsaklarında *Salmonella* kolonizasyonuna neden olur (Morgan vd., 2004). SPI-4 kaybı, farelerde Typhimurium ve Enteritidis serovarlarının oral virülensini zayıflatır, ancak intraperitoneal virülensini etkilemez (Weening vd., 2005). *siiC*, *siiD* ve *siiF* adlı üç gen, tip 1 salgılama sistemini (T1SS) oluşturan proteinleri üretir. *siiE* geni, T1SS tarafından salgılanan non-fimbrial adhezin proteinini kodlar. Bu büyük protein, polarize epitel hücrelerinin adhezyonundan sorumludur (Gerlach vd., 2008). Buna karşılık, SiiA ve SiiB proteinleri, T1SS tarafından salgılanmaz, ancak sitoplazmik zar proteinlerini temsil eder (Kingsley vd., 2003; Morgan vd., 2007). Bakteri yüzeyindeki SiiE miktarı, çevre koşullarına bağlı olarak SiiA ve SiiB tarafından kontrol edilir.

2.5.2.5. SPI-5

SPI-5 lokusunun boyutu yaklaşık olarak 7,6 kilobazdır. Buzağılarda Dublin serovarının neden olduğu enfeksiyonlarda SPI-5 lokusu daha iyi tanımlanmıştır. Sığırlara uyum sağlamış bu serovar, insanlarda gastroenteritten ziyade bakteriyemiye neden olur. SPI-5, hem SPI-1 hem de SPI-2 tarafından kodlanan T3SS'nin efektör proteinlerini kodlar. PipA ve PipB'nin SPI-5 lokusu tarafından kodlandığı bilinmektedir. PipA, sistemik enfeksiyonun gelişiminde rol oynar. PipB, sığır enteropatogenezinde salgı ve inflamatuvar yanıtta katkı sağlasa da farelerde sistemik enfeksiyonun gelişmesinde önemli bir etkisi yoktur (Knodler vd., 2002).

2.5.2.6. SPI-6

SPI-6 lokusunun boyutu yaklaşık 59 kilobazdır. Bu lokusta fimbria için kodlanan *saf* geni ile invazyon proteini için kodlanan *pagN* geni yer alır (Knodler vd., 2002). SPI-6 delesyonunun sistemik patogenez üzerinde hiçbir etkisi yoktur, ancak kültürlenmiş doku hücrelerinde bakterilerin invazyonunu düşürdüğü bilinmektedir. SPI-6'nın *S. enterica* serovarları arasında korunduğu belirlenmiştir. SPI-6'nın bazı kısımları, IIIb, IV ve VII alt türlerinde de tanımlanmıştır. Ayrıca SPI-6, *P. aeruginosa* ve *Y. pestis*'in genomuyla homoloji göstermektedir (Hensel, 2004).

2.5.2.7. SPI-7 ve SPI-8

SPI-7 ve SPI-8 lokuslarının boyutu sırasıyla 133 ve 6.8 kilobazdır. Majör Patojenite Adası olarak da adlandırılan SPI-7, *S. Typhi*, *S. Dublin* ve *S. Paratyphi*'ye özgüdür. Vi antijenini kodlar ve virülens faktörleri kodlayan pil gen kümesini oluşturur (Zhang ve Ying, 2018). Genetik organizasyonu çok karmaşıktır ve yatay olarak elde edilen birkaç öğeden oluşur. Bu lokusun stabil olmadığı söylenmekte ve *S. Typhi* izolatlarında kapsül kaybı görülebilmektedir. Ek olarak, SPI-7 tip IV fimbria adhezin proteinini kodlar. Ayrıca, SPI-7 *Xanthomonas axonopodis* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın genomuyla homoloji göstermektedir (Pickard vd., 2003).

SPI-8, *Salmonella Typhi*'de tanımlanmıştır ve burada bulunan genler potansiyel virülens faktörlerini kodlamaktadır (Kombade ve Kaur, 2021).

2.5.2.8. SPI-9

SPI-9 lokusunun boyutu yaklaşık 16.281 baz çiftidir. Bu lokus, *Salmonella Typhi*'de işlevseldir ve tip I salgı sisteminin virülens faktörlerini kodlar. SPI-9, *Salmonella Typhi*'nin düşük pH ve yüksek osmotik basınç altında epitelyal hücrelere yapışmasını sağlar, ancak biyofilm oluşumuyla ilişkili değildir (Velásquez vd., 2016).

2.5.2.9. SPI-10

SPI-10 lokusunun boyutu 32,8 kilobazdır ve *tRNA leuX* geninde insersiyon olarak tanımlanır. Bu lokus, farklı DNA fragmanları için bir insersiyon noktasıdır ve hiper değişken izlenimi uyandırır. Fimbrial adhezyonları kodlayan *sef* ve *pef* gen kümeleri, *S. Enteritidis*'te saptanmıştır. *S. Typhi* ve *S. Paratyphi A*'da bu lokusta kriptik bakteriyofaj da görülmüştür. Öte yandan, *S. Typhimurium* tamamen farklı gen içeriğine sahiptir. Bu bulgular nedeniyle *leuX* lokusu, hareket edebilen genetik elementlerin insersiyonu için sıcak bir noktayı temsil etmektedir (Bishop vd., 2005).

2.5.2.10. SPI-11 ve SPI-12

SPI-11 ve SPI-12, *Salmonella Choleraesuis*'te tanımlanmıştır. Bu adaların her ikisi de bakteriyofaj genomları ve tRNA genleri ile ilişkilidir. Bu DNA segmentleri genom ortalamasının dışında bir G + C yüzdesine sahiptir. (Chiu vd., 2005). *S. Typhi* serotipine özgü *CtdB* geni, SPI-11 üzerinden kodlanır. Bu gen, sadece *S. Typhi*'nin SCV içinde veya makrofajlarda bulunduğu ifade edilir (Johnson, Mylona ve Frankel 2018). Sitoletal

Distansiyon Toksini (CDT), konak hücrenin apoptozis süreci için gereklidir (Ben Hassena vd., 2021). SPI-12 lokusu ise *Salmonella*'nın hücre içinde hayatta kalabilmesi için gereken profaj kalıntılarında oluşur (Tomljenovic-Berube vd., 2013).

2.5.2.11. SPI-13 ve SPI-14

SPI-13 ve SPI-14, ilk kez kanatlı tifosu olarak adlandırılan *S. Gallinarum*'da tanımlanmıştır. SPI-13, *tRNA pheV* genine yakındır. Bu adaların her ikisi de *S. Typhi* ve *S. Paratyphi A*'da bulunmaz, ancak *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis*'te görülür (Shah vd., 2005). SPI-13, *S. Enteritidis*'in insan makrofajlarında olmasa da fare makrofajlarında hayatta kalması için gereklidir (Espinoza vd., 2017). SPI-14 delesyonunun oral enfeksiyondan sonra farelerde *S. Typhimurium*'un virülensini ciddi şekilde azalttığı bildirilmiştir (Jiang, Feng ve Yang, 2017).

2.5.2.12. SPI-15, SPI-16 ve SPI-17

S. Typhi'de biyoinformatik yaklaşım kullanılarak SPI-15, SPI-16 ve SPI-17 tanımlanmıştır. Bunların hepsi, tRNA genleri ile ilişkilidir. SPI-16 ve SPI-17, LPS modifikasyonundan sorumlu olan genleri kodlar. SPI-16 ve SPI-17, *S. Typhi* ve diğer birçok *S. enterica* genom dizisinde bulunur (Vernikos ve Parkhill, 2006).

2.5.2.13. SGII

Çoklu antibiyotiğe direnç gösteren suşlar, patojenik bakterilerde görülen yaygın bir olgudur ve genellikle *S. enterica*'da gözlenir. Dirençli *Salmonella* izolatları değişken ölçülerde direnç plazmitlerine sahiptir. “*Salmonella* genomik adası 1” *S. Typhimurium* DT104'te tanımlanmıştır ve diğer suşlarda da bulunabilir. SGII, ampisilin, kloramfenikol, streptomisin, sülfonamid ve tetrasiklin gibi antibiyotiklere dirençten sorumludur (Gerlach ve Hensel, 2007).

2.5.3. Makrofaj Sağkalım ve Replikasyon

Bağırsak invazyonundan sonra, bakteriler makrofajlar tarafından yutulur. Yutulma tamamlandıktan sonra *Salmonella* hücreleri SCV'de lokalize olur. SCV, membran bütünlüğünün korunması, *Salmonella* replikasyonunun intrasellüler nişler içinde gerçekleşmesinde çok önemli bir rol oynar. Bu prosedürler, T3SS-2 ve onun translokon mekanizması, yani SseBCD kompleksi tarafından düzenlenir (Hensel vd., 1998). Bu nedenle SPI-2 tarafından kodlanan efektörler, *Salmonella*'nın makrofajlar

içinde hayatta kalmasını kolaylaştırır. SPI-2 gen ekspresyonu, durgun büyüme fazı, düşük ozmolarite (Lee, Detweiler ve Falkow, 2000), düşük Mg^{+2} , Ca^{+2} , PO_3 konsantrasyonu (Deiwick ve Hensel, 1999) ve düşük pH (Cirillo vd., 1998) da dahil SCV'nin koful ortamını taklit eden bir dizi çevresel sinyale yanıt olarak tetiklenir. SPI-2 genlerinin ekspresyonu hem transkripsiyonel hem de post-transkripsiyonel seviyelerde koordineli olarak düzenlenir. SPI-2 genlerinin transkripsiyonu sırasında, SsrA-SsrB, OmpR-EnvZ ve PhoP-PhoQ'a ek olarak SlyA ve RNA polimeraz RpoE'nin alternatif sigma faktörü gibi transkripsiyonel düzenleyiciler de yer alır. Post-transkripsiyonel olarak hareket eden ana düzenleyici proteinler, Hfq, CsrA ve SmpB dahil RNA şaperonlarıdır. SPI-3'te bulunan *mgtC* geninin makrofajlarda replikasyona katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bahsedilen tüm virülens belirleyiciler Çizelge 2.3'te gösterilmektedir.

Çizelge 2.3. *Salmonella* replikasyonuna katkıda bulunan ana proteinlerin ve virülens belirleyicilerinin yeri ve işlevi (Gao vd., 2020)

Virülens genler	Lokasyon	Fonksiyonlar
<i>CsrA</i>		RNA şaperonları
<i>Hfq</i>	SPI-2	SPI-2 düzenleyicisi (transkripsiyon ve transkripsiyon sonrası), RNA şaperonları
<i>mgtABCD</i>	SPI-3	Hidrofobik membran proteini; Mg^{+2} taşıyan ATPaz
<i>SsaABCDEFGHIJKLMNQRSTU</i> <i>ssaB (spiC)</i> <i>ssaC (spiA)</i> <i>ssaD (spiB)</i> <i>ssaR (yrcR)</i>	SPI-2	Translokon proteinlerin sekresyonunu düzenler, intraselüler bakteri üremesi, sekresyon
<i>sscAB</i>	Kromozom	T3SS şaperon proteini veya patojenite adası efektör proteini
<i>sseABCFGJIL</i>	SPI-2	Translokasyon, epitel hücrelerinde SIF oluşumu, SCV'nin olgunlaşması ve konumlanması, SCV membran dinamikleri
<i>ssrAB (ssrA/SpiR)</i>	SPI-2	SPI-2 gen ifadesini düzenler

2.5.4. Sistemik Yayılma

Salmonella'nın SCV tarafından yutulması, dalak ve karaciğer gibi diğer hedef organlar yoluyla sistemik yayılmasına neden olur. Yayılma, bakteri hücrelerinin doğal bağışıklık sisteminden kaçması için bir ön koşuldur. Bu süreç sırasında, serum direnci,

sistemik salmonelloz gelişimi için önemli bir virülens faktörüdür. Bu virülens faktörleri LPS, dış zar proteinleri (PagC ve Rck) ve sideroforlar olmak üzere üç ana faktör içerir (Çizelge 2.4.).

Çizelge 2.4. *Salmonella*'nın sistemik yayılmasına katkı sağlayan ana proteinlerin ve virülens belirleyicilerinin yeri ve işlevi (Gao vd., 2020).

Virülens genler	Lokasyon	Fonksiyonlar
<i>cirA</i>	Kromozom	Kolisin I reseptörü
<i>entABCDE</i>	Kromozom	Enterobaktin sentaz
<i>fepABCDEG</i>	Kromozom	Dış membran reseptörü, demir-enterobaktin taşıyıcı bağlayıcı proteini
<i>Fes</i>	Kromozom	Salmokelin sekresyonu/parçalanması
<i>FhuABCDE</i>	Kromozom	Enterobaktin/ferrik enterobaktin esteraz
<i>foxA</i>	Kromozom	Ferrioksamin B reseptörü
<i>FruR</i>	SPI-2	DNA bağlayıcı transkripsiyon düzenleyicisi
<i>FUR</i>	Kromozom	Ferrik alım düzenleyicisi
<i>iroBCDE</i>	Kromozom	Salmokelin glikozilasyonu, taşınması ve yapımı
<i>MsbA</i>	Kromozom	Lipid taşıyıcı ATP bağlayıcı/permeaz proteini
<i>rfaBCDFGHIJKLPQYZ</i>	Kromozom	LPS kor biyosentez proteini; transkripsiyon aktivatörü; O-antijen ligazı
<i>rfbBDFGHIJKMNOPUVX</i>	Kromozom	Glikoz biyosentez yolu, glikozil transferaz, O-antijen taşıyıcısı
<i>rfc</i>	Kromozom	O-antijen polimeraz
<i>STM0719</i>	Kromozom	Bilinmiyor
<i>wzxCE</i>	Kromozom	LPS biyosentez proteini
<i>wzzBE</i>	Kromozom	LPS zincir uzunluğu düzenleyicisi
<i>yibR</i>	Kromozom	Bilinmiyor
<i>ybdAB</i>	Kromozom	Enterobaktin dışa aktarım pompası, EntS proteini

2.5.4.1. LPS

Gram negatif bakterilerin önemli bir bileşeni olan LPS, kimyasal ve fiziksel olarak hücre için koruyucu bir bariyerdir. LPS, bağırsak kolonizasyonunda, makrofaj direncinde ve humoral immün yanıtın oluşmasında önemli bir role sahiptir (Kong vd., 2011). LPS, makrolidler gibi lipofilik antibiyotiklerin penetrasyonunu inhibe eder (Vaara, 1993). LPS, hidrofobik lipid A, kor oligosakkarit ve O yan zinciri olarak adlandırılan polisakkaritlerden oluşur (Raetz ve Whitfield, 2002). Bu haliyle LPS, *Salmonella*'ya *smooth* (S) fenotip kazandıran uzun O-antijeni ile karakterize edilir. Bununla birlikte, O-antijeni serum direnci ile ilişkili ana bileşendir. O-antijenden yoksun LPS, düşük virülensli *rough* (R) fenotipe yol açar. Doğal olarak oluşan enfeksiyonlara, komplement dirençliliğine sahip S-fenotipi *Salmonella* neden olur. O-antijeninin miktarı, yapısı ve zincir uzunluğu ile virülens arasında bir korelasyon bulunmaktadır (Lerouge ve Vanderleyden, 2002). O antijeni, çok uzun ya da konakçı hücreyi taklit eden moleküllerle modifiye edilmişse, siyalik asit gibi bağışıklık sistemini modüle edebilir (Pawlak vd., 2017). O antijeninin uzamasını etkileyen faktörler arasında sıcaklık ve demir bulunur. Ortamdaki demir sınırlamasının LPS'lerin uzamasında etkili olduğu bildirilmiştir. Sıcaklıktaki düşüş, *Salmonella*'yı bakteriyofajdan koruyan LPS yapısındaki fosfat ve aminleri değiştirebilir (Delgado, Mouslim ve Groisman, 2006). Nitekim *S. Paratyphi A*, O:2 antijeni olarak adlandırılan çok uzun bir O antijeni zincirine sahiptir ve bu antikor bağlanmasını önler (McClelland, Sanderson ve Clifton, 2004).

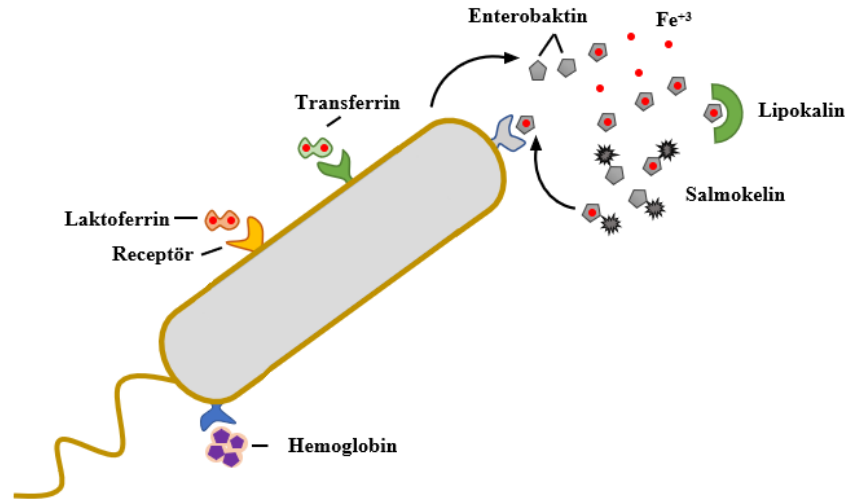
2.5.4.2. Dış Membran Proteinleri (PagC ve Rck)

LPS'ye ek olarak, PagC ve Rck, kompleman aracılı bakterisidal aktiviteye yüksek düzeyde direnç sağlar (Nishio vd., 2005). Bu iki protein, *Yersinia* virülensi ile ilişkili dış membran proteini Ail ile homoloji gösterir ve bakteriyel yüzeylerde kompleman membran atak kompleksinin oluşumunu bloke eder. Benzer şekilde, Rck'nin aracılık ettiği kompleman direnci, polimerize edilmiş tübüler membran atak komplekslerinin oluşamamasıyla ilişkilidir (Heffernan vd., 1992).

2.5.4.3. Sideroforlar

Demir, çeşitli metabolik ve düzenleyici işlemlere dahil olması nedeniyle çoğu bakterinin üremesi için gereken bir elementtir (Miethke ve Marahiel, 2007). DNA sentezi ve onarım enzimleri, demir ile bağlantılı olarak kofaktör olarak görev yapar (Andrews,

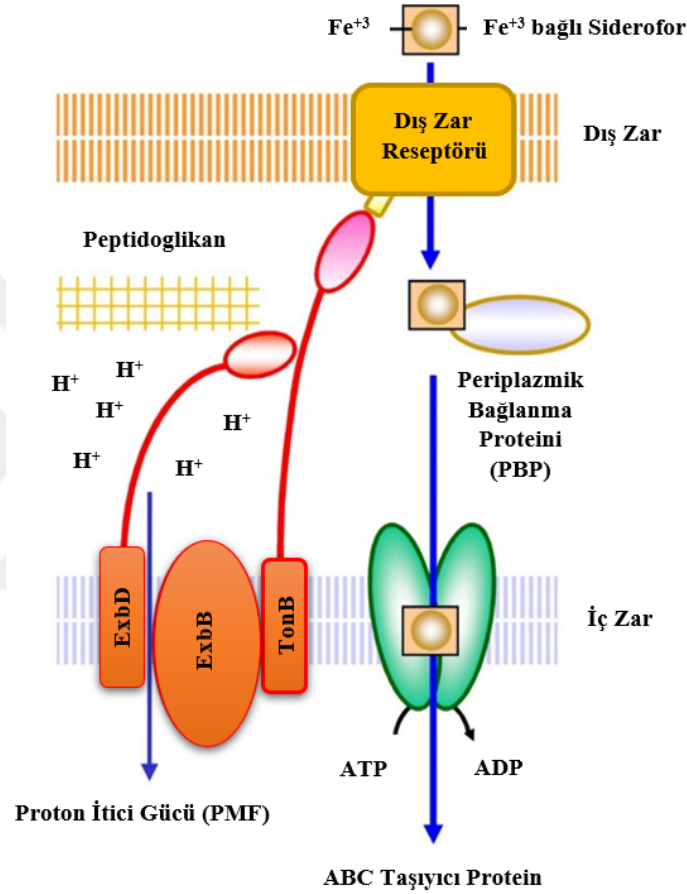
Robinson ve Rodríguez-Quiñones, 2003). Demir, geçişli yapısı nedeniyle fizyolojik pH (7,2)'de Fe^{+2} (ferroz) veya Fe^{+3} (ferrik) formunda olabilir. Demiri bağlayan ve taşıyan bakteriyel moleküller olan sideroforlar, *Salmonella*'nın sistemik enfeksiyonunun ekstrasellüler aşamasında, bakteri üremesi için serumda önemlidir. *Salmonella*, iki ana tipte siderofor üretir: salmokelin ve enterobaktinden oluşan yüksek afiniteli katekolat (enterochelin olarak da bilinir) ve demirin kısıtlı koşullar altında ifade edildiği aerobaktin olarak bilinen düşük afiniteli hidroksamat (Fischbach vd., 2006). Enterobaktin bazı konağa özgü spesifik *Salmonella* serovarları dışında, tavukla ilişkili tüm *Salmonella* serovarlarında bulunur (Langridge vd., 2015). Glikoz moleküllerinin enterobaktine bağlanmasıyla daha hidrofilik olan salmokelin molekülü oluşturulur. Glikolizasyon, IroB adlı glikozil transferaz enzimi tarafından gerçekleştirilir (Hantke vd., 2003). Salmokelin, enterobaktinden daha iyi bir demir süpürücüdür. Bunun nedeni Lipokalin (Lcn-2)'nin salmokeline bağlanamamasıdır (Fischbach vd., 2006). Lcn-2, inflamatuvar yanıt sırasında fagositik hücreler (makrofajlar, nötrofiller) ve epitel hücreleri tarafından salgılanır (Flo vd., 2004). Lcn-2, bakterilerin enterobaktine bağlı demir süpürme yeteneğini engeller (Lin vd., 2005). Enterobaktinin glikolizasyonu, Lcn-2'nin bağlanma kapasitesini sterik olarak engeller, bu nedenle salmokelin "gizli" bir siderofordur.



Şekil 2.5. Salmokelin aracılığıyla Fe^{+3} 'ün hücre içine alınması (Matthew ve Nels, 2015)

Fe^{+3} -siderofor kompleksini dış membrandan geçirmek için gereken enerji, TonB-ExbB-ExbD tarafından sağlanır. TonB-ExbB-ExbD kompleksi, enerjiyi sitoplazmik zarın

elektrokimyasal yük gradyanından sağlar. Bu enerji, dış zar reseptörüne aktarılır ve aktif taşıma ile Fe³⁺-siderofor kompleksi periplazmaya taşınır (Philpott, Edgeworth ve Sansonetti, 2000). Periplazmaya taşınan Fe³⁺-siderofor kompleksi periplazmik bağlayıcı proteine bağlanır ve stoplazmaya iletilmek üzere ABC tipi taşıyıcı proteine aktarılır (Krewulak, 2004). Daha sonra demir indirgeme yöntemiyle siderofordan çıkarılır (Andrews vd., 2003).



Şekil 2.6. TonB-ExbB-ExbD'ye bağlı Fe³⁺'ün hücre içine alınması (Maki-Yonekura vd., 2018)

2.6. *Salmonella* ADP-ribozilasyon Toksinleri

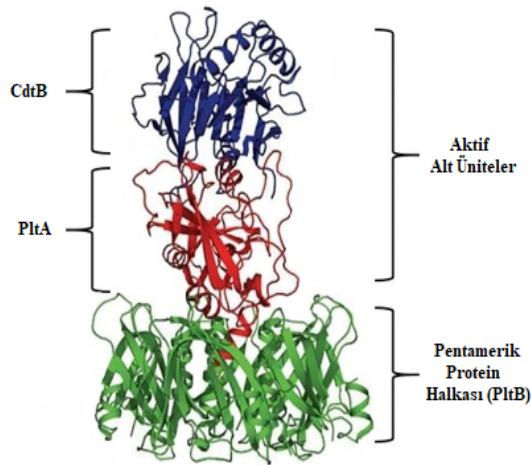
Ortak bir aktiviteye sahip olan *Salmonella* ADP-ribozilasyon toksinleri konakçı hücrenin proteinlerini hedefler. Bu nedenle hücre iskeletinin modülasyonundan konakçı hücrenin ölümüne kadar çeşitli sitotoksik etkilere neden olur.

2.6.1. SpvB

SpvB, T3SS yoluyla doğrudan konakçı hücrenin sitoplazmasına salgılanan tek zincirli alt ünitesi olmayan bir toksindir (Jennings, Thurston ve Holden, 2017). SpvB, konakçı hücrenin aktin monomerlerinin ADP-ribozilasyonunu katalizleyerek ADP-ribozil transferazı olarak işlev görür (Lesnick vd., 2001). SpvB ayrıca SCV zarının korunmasında önemli rol oynayan koful ile ilişkili aktin polimerizasyonunu (VAP) da inhibe eder. Haliyle bu, SpvB aracılığıyla gerçekleşen aktin depolimerizasyonunun, SCV zarının parçalanması ve *Salmonella*'nın konakçı sitoplazmasına geçişiyle ilişkili olduğunu akla getirmektedir (Miao vd., 2003). Bu anlayış, *Salmonella*'nın SCV ortamında çoğaldığı ve ikamet ettiği şeklindeki anlayışa ters düşmektedir (Steele-Mortimer, 2008). Bunun yerine SpvB'nin, daha çok *Listeria monocytogenes*, *Shigella* spp. ve *Rickettsia* spp. gibi diğer patojenlerin intra-sitozolik bir *Salmonella* yaşam tarzına aracılık ettiğini ortaya koymaktadır (Du vd., 2016).

2.6.2. Tifo Toksini / *Salmonella* Sitoletal Distansiyon Toksini (S-CDT)

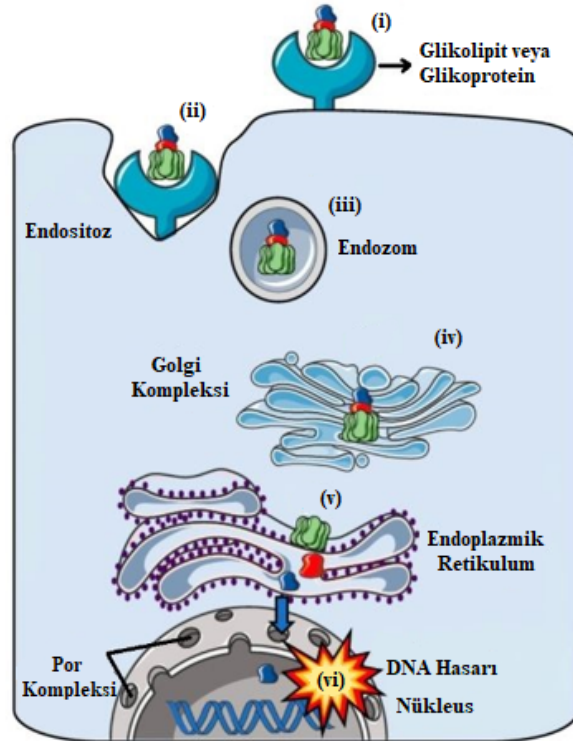
Tifo toksini, başlangıçta *S. Typhi*'de tanımlandığı için bu şekilde adlandırılmıştır (Spanò, Ugalde ve Galán, 2008). Sonraki çalışmalarda bu toksinin en az 48 non-tifoidal serotipte olduğu tespit edilmiştir (Tamamura, Tanaka ve Uchida, 2017). S-CDT, A2B5 toksinidir. A2B5 toksini, CdtB (nükleaz toksini), PltA (ADP-ribozil transferaz toksini) ve PltB (alt birimlerin birbirine bağlanmasıyla oluşan pentamerik halka toksinleri) alt birimlerinden oluşur (Spanò vd., 2008). CdtB ve PltA toksinin aktif alt birimleridir.



Şekil 2.7. S-CDT'nin alt birimleri (Chong vd., 2017)

S-CDT'nin sitotoksik etkisi birkaç aşamada gerçekleşir:

- (i) S-CDT'nin PltB alt birimleri, konakçı hücre yüzeyindeki glikoprotein ve glikolipitler üzerindeki şeker gruplarına bağlanır (Paton, 2010).
- (ii) S-CDT, endositoz yoluyla hücre içine alınır.
- (iii) S-CDT, endozomdan Golgi kompleksine hareket eder.
- (iv) S-CDT, ters yönde Örtücü Protein 1 (COPI) vezikülüyle Golgi kompleksine transfer edilir.
- (v) S-CDT, endoplazmik retikuluma ulaşır (DiRienzo, 2014). Endoplazmik retikulumdaki konakçı redüktazlar, PltA ve CdtB alt birimlerine kovalent olarak bağlı olan disülfid bağlarını parçalayarak CdtB'nin holotoksinden ayrılmasını sağlar.
- (vi) CdtB, çekirdek por kompleksinden geçerek çekirdek içine girer (DiRienzo, 2014). CdtB çekirdeğe girdikten sonra nükleaz görevi görür ve konakçı hücrenin DNA'sını parçalar (Guidi vd., 2013).



Şekil 2.8. S-CDT'nin sitotoksik etki aşamaları (Di Domenico vd., 2017)

2.6.3. ArtAB

ArtAB, ilk olarak *S. Typhimurium* DT104'te tanımlanan bir ADP-ribozil transferaz toksindir (Saitoh vd., 2005). PltA / PltB gibi, ArtAB toksini de AB5 tipi toksin ailesinin bir üyesidir ve ArtA, PltA ile yaklaşık %60, ArtB, PltB ile yaklaşık %30 oranında benzerlik gösterir (Gao vd., 2017). ArtA, boğmaca toksinine benzer şekilde, konakçı hücrenin G-proteinlerini hedefler (Tamamura vd., 2017). En az 45 farklı *Salmonella* serotipinde ArtAB toksini bulunur ve bunların 39'unun (%87) tifo toksin genlerini de kodladığı bilinmektedir (Cheng ve Wiedmann, 2019).

2.6.4. SboC / SeoC

S. bongori'nin genom dizisi analizleri, *S. enterica* subsp. *enterica* suşlarında bulunmayan yeni SPI-1 kodlu genlerin tanımlanmasını sağlamıştır (Fookes vd., 2011). Bu genlerden *SboC* ve *SeoC*, sırasıyla enteropatojenik *E. coli* (EPEC) ve enterohemorajik *E. coli* (EHEC)'de bulunan EspJ ile homoloji gösterir (Pollard vd., 2016). EspJ, EPEC suşlarının tip III salgılama efektörüdür ve kriptik profaj CP-933U üzerinde kodlanır (Dahan vd., 2005). EPEC EspJ, fagositoz için gereken Fcy-reseptör-IIa'nın (FcyRIIa) fosforilasyonunu önler ve memeli tirozin kinazı hedef alan bakteriyel ADP-ribozil transferazın ilk örneğidir (Young vd., 2014).

2.7. Antiseptik ve Dezenfektan Maddeler

Antiseptik ve dezenfektan maddeler, *Salmonella*'nın enfeksiyon zincirini kırmak ve çapraz bulaşmayı engellemek amacıyla oldukça önemlidir (Moretro, 2012). Antiseptikler, özellikle vücudun yüzeysel dokularını (deri, mukoza vb.) ve lezyonlarını mikroorganizmalardan arındırmak için kullanılır. Dezenfektanlar, cansız nesnelere ve yüzeylerde bulunan bakteri sporları dışındaki patojen mikroorganizmaları yok eden aktif kimyasal maddelerdir (Tünger, Çavuşoğlu ve Korkmaz, 2005).

2.7.1. Alkoller

Alkoller, bakterilere (mikobakteriler dahil), virüslere ve funguslara karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite gösterir ancak sporlar üzerinde etkili değildir (Dvorak, 2005). Antimikrobiyal aktivitelerini protein denatürasyonuna neden olarak gösterir (Gilbert ve McBain, 2003). Su, alkolik dezenfektanın formülasyonunda önemlidir çünkü proteinler su olmadan alkollerle kolayca denatüre edilemez. Bu nedenle, %70'lik bir alkol

çözültüsü, saf halinden (%99) çok daha etkili bir dezenfektandır. Ancak, alkol konsantrasyonu %50'nin altına düştüğünde, antimikrobiyal aktivite kaybolur (Salvage vd., 2014).

Mikrobisidal özellik gösteren alkoller arasında yaygın olarak etil alkol (etanol), izopropil alkol (izopropanol, propan-2-ol) ve n-propanol kullanılır. Genel olarak, %70 etil alkolün izopropil alkolden daha etkili olduğu kabul edilir (WHO, 2014).

2.7.2. Aldehitler

Aldehitler bakterilere, funguslara, virüslere, mikobakterilere ve sporlara karşı geniş bir etki spektrumuna sahiptir (Özgen, 2005). Yaygın olarak kullanılan aldehitler arasında glutaraldehit ve formaldehit yer alır (Dvorak, 2005).

Glutaraldehit, proteinler için güçlü bir çapraz bağlanma reaktifidir. Özellikle organizmaların dış katmanlarında bulunan azot gruplarına bağlanarak hücre yüzeyinde bakterisidal etkiye yol açan reaktif bölgeler oluşturur. Bu şekilde elde edilen çapraz bağlar, hücrenin temel işlevlerini yerine getirmesini engeller (Bruck, 1991).

Formaldehit hem sıvı hem de gaz olarak kullanılabilen bir dezenfektandır. Protein, DNA ve RNA ile *in vitro* olarak etkileşime girebilen son derece reaktif bir kimyasaldır (Power, 1995). Karboksil, sülfhidril ve hidroksil gruplarını alkilleyerek mikroorganizmaları etkisiz hale getirir. Bakteri sporlarının içine nüfuz edebildiği için sporosidal olarak kullanılır. Organik madde varlığında, glutaraldehyde oranla antibakteriyel etkisi daha düşüktür (Quinn ve Markey, 2001).

2.7.3. Biguanitler

Biguanitler, mikobakteriler hariç olmak üzere geniş bir antibakteriyel etkiye sahiptir, ancak virüslere ve bakteri sporlarına karşı etkisizdir (Dvorak, 2005; Purohit, Saluja ve Kakranı, 2003). Üzerinde en çok çalışma yapılanlardan biri klorheksidindir (Ranganthan, 1996).

Kloroheksidinin antimikrobiyal etkisi, konsantrasyonu ve pH değeri arasında bir ilişkiye bağlıdır (Gorman ve Scott, 2004; Dvorak, 2005; Purohit vd., 2003). Bakteri ve maya hücreleri tarafından alınma süreleri oldukça hızlıdır (Hiom vd., 1992). Başlangıçta mikroorganizmaların dış hücre katmanlarına zarar verir. Daha sonra pasif difüzyonla hücre duvarından geçer, ardından sitoplazma zarına saldırır. Hassas yarı geçirgen zar

meydana gelen hasarı, hücre içi bileşenlerin sızıntısı takip eder. Bu sızıntı tek başına hücrel inaktivasyondan sorumlu değildir, ancak hücre ölümünün bir sonucudur (Russell ve Hugo, 1988). Yüksek konsantrasyonlarda klorheksidin, hücre içi bileşenlerin pıhtılaşmasına neden olur ve buna bağlı olarak sızıntıda bir azalma görülür, böylece membran geçirgenliği üzerinde iki yönlü bir etkiye sahiptir.

Kloroheksidin, organik madde varlığında aktivitesini kaybeder. Sabunlar ve anyonik deterjanlar onların etkisiz hale gelmesine neden olur (Gorman ve Scott, 2004). Toksik ve aşındırıcı etkileri düşüktür. Mukoz membran ve cilt için antiseptik olarak kullanılır (Gorman ve Scott, 2004; Purohit vd., 2003).

2.7.4. Fenoller

Fenoller, bakterilere, funguslara ve virüslere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Ancak sporosidal olarak kullanılmaz (Gorman ve Scott, 2004; Dvorak, 2005). Aside dirençli bakterilere karşı çok etkili değildir. Biyolojik aktivitelerini membrana bağlı enzimleri denatüre ederek gösterir. Hücre geçirgenliğini bozarak K⁺ iyonlarının ve hücre içi bileşenlerin hücre dışına çıkmasına neden olur. Bu nedenle protoplazmik zehir olarak adlandırılır (Denyer, 1995).

2.7.5. Halojenler

Sodyum hipoklorit (NaOCI), insanlar için düşük toksisite ve maliyetle karakterize edilir. Yaygın olarak klor salan bir maddedir, ancak tahriş edici ve aşındırıcı gibi dezavantajları da vardır. Spesifik olarak sodyum hipoklorit, bakterisidal, virüsidal, fungusidal, mikobakterisidal ve sporisidal etkilere sahiptir. Bu nedenle, sağlık tesisleri ve tıbbi ekipmanların yüzey dezenfeksiyonunda önemli bir rol oynar (Rutala ve Weber, 1997).

Evsel amaçlar için kullanılan sodyum hipokloritin konsantrasyonu %5 ila %6 arasındadır, pH değeri ise yaklaşık olarak 11'dir ve tahriş edicidir. %10 ila %15 arasındaki konsantrasyonlar, pH değerini 13'e çıkarabilir. Bu durumda yanıcı ve aşındırıcıdır.

Sodyum hipoklorit, suda çözüldüğünde oksidasyon yoluyla dezenfeksiyona neden olan iki bileşik oluşturur (denklem 2.1 ve 2.3.). Bu bileşikler, hipoklorit iyonu

(OCI⁻) ile hipokloröz asit (HOCl)'tir. Bu iki bileşiğin yüzdesini ise suyun pH'sı belirler (Artasensi, Mazzotta ve Fumagalli, 2021)



Aslında hipokloröz asit, elektrik yükü olmadığından mikroorganizmanın hücre duvarına veya herhangi bir koruyucu katmanına daha iyi nüfuz eder ve proteinlerin amino asitlerinin yan zincirlerini oksitleyerek onları etkili bir şekilde öldürür (Winter vd., 2008).

Klor bileşiklerinin konsantrasyonunu serbest klor (FAC) cinsinden ifade etmek daha yaygındır. FAC terimi, 0 veya -1 oksidasyon durumunda bir klor atomuna sahip olan, amonyak veya organik nitrojen ile birleşmeyen oksitleyici klor formlarının karışımını ifade eder. Sodyum hipokloritin stabilitesi çok düşüktür, bu nedenle FAC değeri çok önemli değildir. Günde 0,75 g aktif klor buharlaşır. Bu, sadece sodyum hipokloritin ısındığında değil, aynı zamanda asitlerle, güneş ışığıyla, belirli metallere, toksik ve aşındırıcı gazlarla (klor dahil) temas ettiğinde de meydana gelir (White, 1999).

Sodyum hipoklorit çözeltisi yanıcı, zayıf bir baz olduğundan kullanımı ve depolanması sırasında bu özelliklerinin dikkate alınması gerekir. Bu nedenlerden dolayı, formülasyon ve uygulama koşulları, yan ürünlerin ve hatta kloraminlerin oluşumunu en aza indirmelidir (Heseltine, 2002). Bozulmanın genel stokiyometrisi denklem 2.3.'de gösterilmiştir.

Klordan daha az reaktif olmasına rağmen, iyot çözeltisi bakterilere, funguslara, protozoalara ve hatta bakteri sporlarına bile etkilidir (Dufrêne ve Persat, 2020). Ancak, virüslere karşı etkili değildir. Birçok araştırma, elementel iyot (I₂) ve hipoyodöz asitin (HIO), iyot türleri arasında en güçlü iki antimikrobiyal madde olduğunu göstermiştir (Artasensi vd., 2021).



Hipoyodik asitin ayrışma sabiti $4,5 \times 10^{-13}$ 'tür ve bu, sulu bir çözeltide hipoyodit iyonunun (IO^-) oluşumunun önemsiz olduğunu göstermektedir. Bileşiklerin yüzdeleri (denklem 2.4 ve 2.6.), çözeltinin pH seviyesiyle ve sıcaklıkla doğrudan ilişkilidir (Artasensi vd., 2021).

İyot solüsyonları özellikle sağlık profesyonelleri tarafından cilt ve dokuda antiseptik olarak kullanılır. Sulu çözeltileri stabil değildir. Bu nedenle, iyot kombinasyonu ile formüle edilirler ve çözündürücü veya taşıyıcıdan oluşurlar. İyodofor olarak adlandırılan bu kombinasyonlar, hem antiseptik hem de dezenfektan olarak kullanılmıştır ve iyotun antiseptik etkinliğini korur. İyodoforlar daha stabil ve nispeten toksisite ve tahrişten arındırılmıştır (Heseltine, 2002)

2.7.6. Peroksijenler

Ticari olarak %3 ila %90 arasında değişen çeşitli konsantrasyonlarda temin edilebilen berrak, renksiz bir sıvıdır. H_2O_2 hızla su ve oksijene dönüşebildiği için düşük ekotoksositeye sahiptir (Martin vd., 2015). H_2O_2 , virüslere, bakterilere, mayalara ve bakteri sporlarına karşı geniş spektrumlu etkinlik gösterir (Absalan vd., 2012). H_2O_2 'nin antibakteriyel etkisi, serbest oksijen radikallerinin (hidroksil radikali) salınmasına atfedilir. Bu radikaller, bakteriyel biyomoleküllerle hızlı bir şekilde reaksiyona girerek hücrel ölümle sonuçlanan yapısal değişikliklere neden olabilir (Steinberg vd., 1999).

Hidrojen peroksidin en çok sıvı ve gaz formları tercih edilir. Hidrojen peroksit sıvı formülasyonları sterilizasyon ve dezenfeksiyon işlemlerinde yaygın olarak kullanılır. Genellikle laboratuvar yüzey temizliği için %6'lık sulu hidrojen peroksit çözeltisi kullanılır, ancak maruz kalma süresinin kısa olması nedeniyle bakterisidal ve sporisidal etkinliği daha düşüktür (McDonnell, 2014).

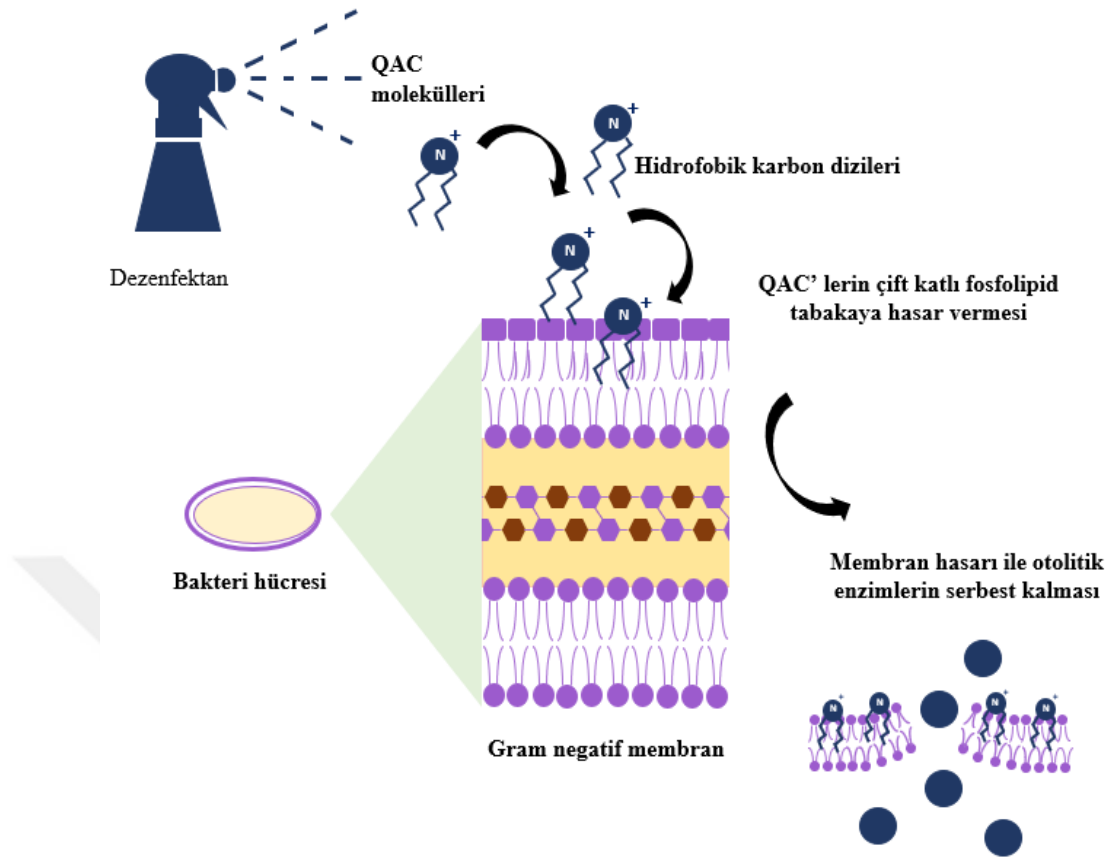
Birçok çalışma, hidrojen peroksidin buharlaştırılmış formunun (HPV) yüzey dezenfeksiyonu için etkili olduğunu göstermiştir (Totaro vd., 2020). Bu sistem, hastane yüzeylerinde bulunan zarfsız virüsleri, mikobakterileri ve bazı çoklu ilaca dirençli mikroorganizmaları etkisiz hale getirerek kontamine gözenekli ve gözeneksiz yüzeylerin sayısını %5'in altına düşürmüştür (Weber vd., 2016). Özellikle HPV'nin, adenovirüs tip 5, çocuk felci virüsü Sabin 1, rotavirüs SA11 dahil enterik ve solunum yolu patojenlerine, ayrıca *Mycobacterium tuberculosis* ve *C. difficile* sporlarına karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Tuladhar vd., 2012). Ek olarak, HPV sıklıkla gümüş iyonları gibi ağır

metallerle kombinasyon halinde bulunur, ki bu da hastane ortamlarında yüzey dezenfeksiyonu için yararlı bir ajan olarak ortaya çıkar (Absalan vd., 2012, Martin vd., 2015). Nebülizasyon sistemlerinde hidrojen peroksit çözeltisi yüzey dezenfeksiyonu açısından değerlendirilmiştir. HPV, dikey yüzeylerde yatay yüzeylere göre daha iyi bir mikrobiyal kontaminasyon azalışı sağlamıştır. Ancak aerosol formunun kullanımı hasta odaları, yoğun bakım üniteleri ve diğer alanlar hariç hastanenin boş alanlarıyla sınırlıdır (Orlando vd., 2008).

Perasetik asit (PAA), düşük konsantrasyonlarda mikobakterilere, virüslere, sporlara ve küflere karşı aktiviteye sahip bir organik peroksittir. PAA, H₂O₂'den daha güçlü bir antimikrobiyal ajandır (Cutts vd., 2021). PAA, asetik asit ve hidrojen peroksit gibi zararsız yan ürünlere ayrışabilen güçlü bir oksitleyici maddedir. Genellikle yüzey dezenfeksiyonu ve tıbbi cihaz sterilizasyonunda kullanılır (Mcdonnell, ve Russell, 1999).

2.7.7. Kuaterner Amonyum Bileşikleri

Kuaterner amonyum bileşikleri (QAC'ler), funguslar, bakteriler (mikobakteriler hariç), parazitler ve zarflı virüsler üzerinde bakterisit etkiye sahiptir (Jiao vd., 2017). Gram pozitif bakterilere, Gram negatif bakterilere göre daha etkilidir. Ancak sporosidal olarak kullanılmaz (Dvorak, 2005). Hedef mikroorganizmaların hücre zarını ve enzimlerini kararsız hale getirerek hücre lizisine neden olur (Kwasniewska, Chen ve Wieczorek, 2020).



Şekil 2.9. QAC'nin etki mekanizması (Jones ve Joshi, 2021)

Kuaterner amonyum bileşiklerinin hidrofofik alt zincirleri, çift katlı fosfolipid tabakası ile etkileşime girer. Hücre hasarı, zar geçirgenliğini artırır ve otolitik enzimlerin salınımını indükler, böylece hücre lizisi meydana gelir (Alkhalifa vd., 2019).

Hidrojen peroksit gibi oksitleyici biyositlerin aksine, QAC'ler serbest radikal üretmez; bu nedenle kanserojen veya genotoksik değildir. Bu nedenle ev temizliğinde biyositler olarak faydalıdır: setilpiridinyum klorür, dodesil dimetil benzil amonyum klorür ve benzalkonyum klorür (zefiran) bakterilere karşı aktif oldukları için temizleme sıvılarında bulunur (Özbakkaloğlu, 2003).

QAC'ler, nötral ve hafif alkali pH'larda mikroorganizmalar üzerinde oldukça etkilidir. pH 3,5'un altında aktiviteleri kaybolur (Gorman ve Scott, 2004; Dvorak, 2005; Purohit vd., 2003). Deriye ve mukoza zarlarına uygulandığında toksik değildir.

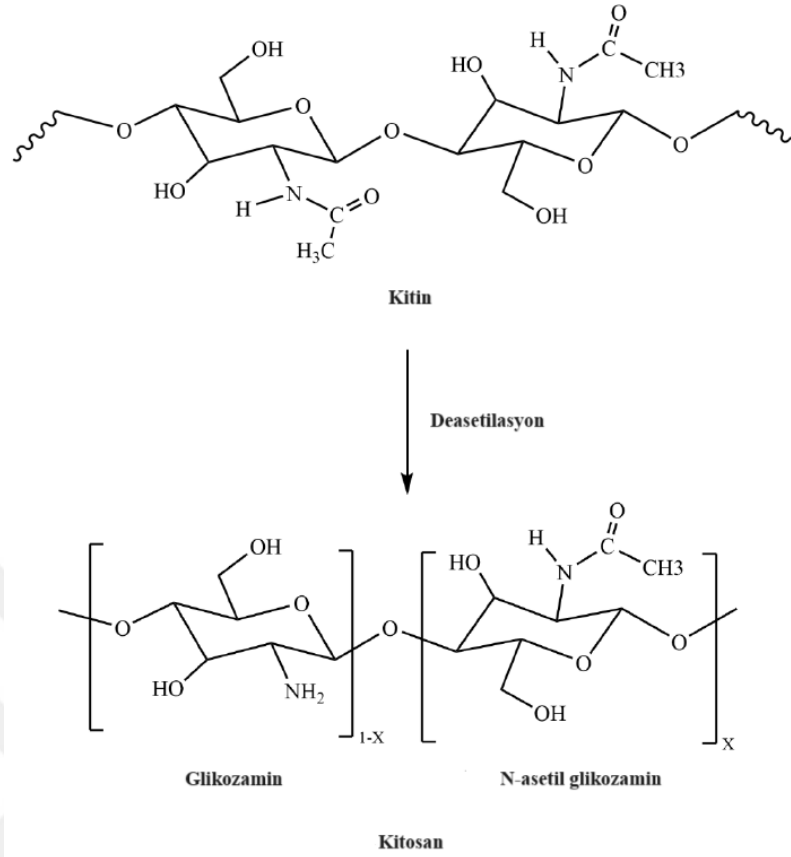
2.8. Kitosan Nanopartiküllerinin Antibakteriyel Aktivitesi

Kitosan, N-asetil D-glukozamin ve D-glukozamin birimlerinden oluşan doğal katyonik bir biyopolimerdir (Kong vd., 2010). Bu birimler β -1,4 glikozit bağlarıyla birbirlerine bağlanır. Kitosan antibakteriyel etkiye sahiptir ve bu etkiyi artırmak için farklı kitosan türevleri sentezlenmiştir (Li vd., 2008; Vinsová ve Vavříková, 2011). Kitosan ayrıca biyoyumluluk, biyoçözünürlük ve toksik olmama gibi önemli biyolojik özelliklere sahiptir. Bu özellikler sayesinde kitosan tıp, gıda, tarım, tekstil ve kozmetik alanlarında kullanılmaktadır (Kammoun vd., 2013).

Kitosan nanopartikülleri (CS-NP), benzersiz fizikokimyasal özelliklere sahip olan kitosanın bir türevidir (Rozman vd., 2019). Çeşitli malzemeler ve kompozitler kullanılarak hazırlanan nanopartiküllerin, farklı bakteri türlerine karşı antibakteriyel etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Ahmed ve Aljaeid, 2016; Vishwakarma vd., 2019). Antimikrobiyal aktivitesinin yanı sıra CS-NP'ler, gelişmiş biyolojik aktivitelere sahip olan antikanser, antiinflamatuvar ve antioksidan aktivitelere sahiptir (Perinelli vd., 2018; Kravanja vd., 2019).

2.8.1. Kitosan

Kitosan, kitinden demineralizasyon yoluyla elde edilen çeşitli tıbbi ve tarımsal uygulamalarda kullanılan doğrusal bir polisakarittir (Maluin ve Hussein, 2020). Kitosan amino gruplarının (NH_2) varlığı nedeniyle katyonik özellik gösteren bir biyopolimerdir (Younes ve Rinaudo, 2015). Ayrıca, kitosanın NH_2 ve hidroksil (OH) grupları çözeltide bulunan çözünen maddelerle reaksiyona girer. Ancak adsorpsiyon açısından NH_2 grupları OH gruplarından daha önemlidir ve bu biyopolimerin kalitesini yalnızca NH_2 grupları belirler.



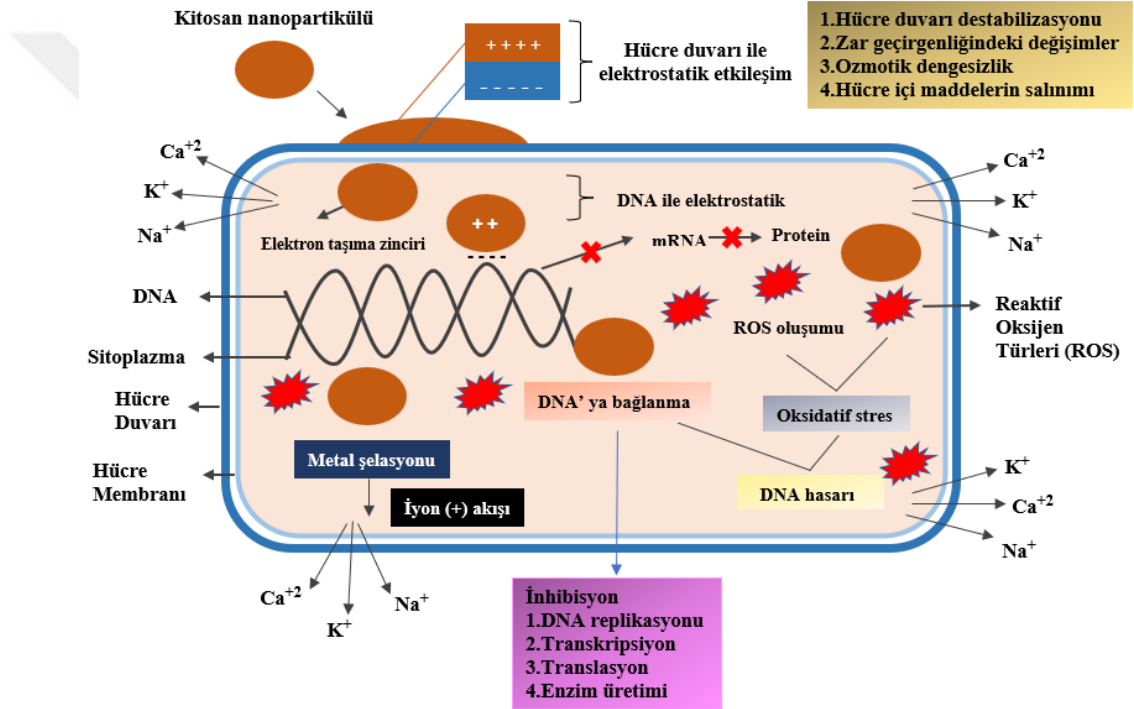
Şekil 2.10. Kitosanın şematik gösterimi (Chandrasekaran, Kim ve Chun, 2020)

2.8.2. Kitosan Nanopartikülleri

Kitosan nanopartikülleri, kitosanın özelliklerini gösterir. Ancak, yapısındaki nanopartiküller, onun yüzey alanını artırarak boyutunu etkiler. Antimikrobiyal aktiviteyi güçlendirmek için kitosan, farklı tipteki metal nanopartiküllerle birleştirilebilir (Badawy, Lotfy ve Shawir, 2019). Nitekim, gümüş (Ag), altın (Au), bakır (Cu) ve çinko (Zn) gibi birçok metal nanopartikül, doğal antibakteriyel aktiviteleri nedeniyle nanobilimde önemli bir rol oynamaktadır (Velusamy vd., 2016). Ayrıca, antimikrobiyal etkinlik arayışına protamin, oleik asit, uçucu yağ ve kurkumin içeren hibrit kitosan nanopartikülleri de dahil edilmiştir (Tamara vd., 2018; Wu vd., 2017; Huang vd., 2009; Sotelo-Boyás vd., 2017; Ali vd., 2014). Dolayısıyla daha fazla yüzey yüküne sahip polikasyonik CS-NP'lerin sentezlenmesi, tek başına kitosana göre bakterilere karşı daha etkilidir (Avadi vd., 2004).

2.8.3. Kitosan Nanopartiküllerinin Antibakteriyel Etki Mekanizması

CS-NP'lerin antibakteriyel etki mekanizması, bakteri hücre duvarı veya bakteri hücre zarı ile etkileşimine dayanır. Bu mekanizmayı aydınlatmak için farklı hipotezler öne sürülmüştür. Antimikrobiyal etkinin yaygın şekilde tanınan modeli, glukozaminin amino grupları (pozitif yüklü) ile bakterilerin hücre zarları (negatif yüklü) arasındaki elektrostatik etkileşimdir (Tsai ve Su, 1999). Bu etkileşim, hücrenin yüzeyinde yaygın varyasyonları başlatarak, zar geçirgenliğinde bir değişikliğe yol açar. Zar geçirgenliğindeki değişim, hücre ölümüyle sonuçlanan intrasellüler madde akışıyla ozmotik dengesizliğe neden olur (Raafat vd., 2008).



Şekil 2.11. Kitosan nanopartiküllerin etki mekanizması (Chandrasekaran, Kim ve Chun, 2020)

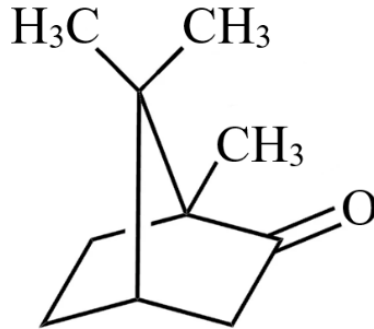
CS ve bakteri hücre duvarı arasındaki elektrostatik kuvvet, CS-NP'lerin bakteri hücre duvarından sızan yüklü moleküllerle daha yakın bir etkileşime girmesini sağlar (Cava vd., 2010). Sonuç olarak, etkileşim yerinde CS-NP'lerin birikme olasılığı artar. Ayrıca CS-NP'ler, bakterilerin elektron taşıma zincirini değiştirme yeteneğine sahiptir (Birsoy vd., 2015). CS'nin antibakteriyel aktivitesi, zarın geçirgenliğini değiştiren elektrostatik etkileşime dayanır. Daha sonra DNA'ya bağlanan kitosan, DNA replikasyonunu bozarak bakteriyel hücre ölümüne yol açar. Ek olarak, daha düşük

molekül ağırlığına sahip kitosan moleküllerinin hücreye girebileceği ve DNA'ya bağlanabileceği, böylece replikasyon mekanizmasını inhibe edebileceği gösterilmiştir (Birsoy vd., 2015). Elektronegatif elementlerin hücredeki CS ile kümelenişi, bakterilerin fizyolojik aktivitelerini bozar ve bakteriyel hücre ölümüne yol açar (Eltahlawy vd., 2005).

Bir başka olası mekanizma, CS'nin toksin üretimini uyaran ve bakteriyel canlılığı engelleyen metal iyonlarına karşı şelatlama kapasitesidir. CS, asit koşullarında çeşitli metal iyonları (Fe^{+2} , Mg^{+2} , Ni^{+2} , Co^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} dahil) için daha büyük şelatlama aktivitesine sahiptir. Bakteri hücre duvarıyla ilişkili metal iyonları, hücre için hayati öneme sahiptir. Bu nedenle metal iyonlarının CS aracılığıyla şelatlanması antibakteriyel etki mekanizması olarak kabul edilmektedir. Böylece kitosan molekülleri, metal komplekslerinin etrafını çevreler ve hayati besin akışını engelleyerek hücrenin ölümüne neden olur (Joshi, Ali ve Purwar, 2009).

2.9. Kamfor

Kamfor, *Lauraceae* familyasından doğal olarak elde edilen bir monoterpenoid bileşiktir (Tian vd., 2022). Ayrıca, böcek kovucu, kas gevşetici ve anestezi olarak çok eski uygulamalara sahiptir (Chen, Vermaak ve Viljoen, 2013). Şu anda Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından belirlenen koşullara göre öksürük baskılayıcı ve dekonjestan olarak kullanılmaktadır. Rijit moleküler yapısıyla bu madde, sentetik olarak yararlı türevlere dönüşebilir ve aynı zamanda antiinflamatuar, antiviral, antimikrobiyal ve antitüsif özellikler de sergiler. (Sokolova vd., 2017).



Şekil 2.12. Kamfor'un şematik gösterimi (Leitão vd., 2018)

Doğal malzemelerin çeşitli reaktiflerle kimyasal olarak işlenmesi, yeni aktif bileşiklerin hazırlanmasında seçkin bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Kitosan ve kamfor doğal maddelerdir ve yüksek bakteri ve fungus inhibisyonuna sahiptir (Rabea ve

Badawy, 2014). Kitosandaki amino ve hidroksil grupları kimyasal reaksiyonlarda katalitik aktiviteye sahiptir. Bu nedenle kitosan, kamfor gibi aktif karbonil grupları (keton ve aldehitler gibi) içeren çeşitli reaktif maddelerle etkileşime girdiğinde kararlı kovalent bağlar oluşturur (Rafiee ve Rezaee, 2021). Dolayısıyla, iki reaktanın faydalı özelliklerini içeren yeni bir kitosan-kamfor polimeri oluşturmak mümkündür (Heravi, Janati ve Zadsirjan, 2020).



BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması ve Araştırma Bölgesinin Tanımı

Örnekler, 2022 yılının Ağustos ve Kasım ayları arasında Türkiye'nin Kırklareli (41.7355 °N, 27.2244 °E, yaklaşık 6650 km²), Edirne (41.6771 °N, 26.5557 °E, yaklaşık 6279 km²) ve Tekirdağ (40.9781 °N, 27.5117 °E, yaklaşık 6339 km²) illerindeki yumurtacı tavuk altlıklarından toplandı.

Kırklareli'nin Merkez ilçesinden; Kadıköy, Kızılcıkdere, Üsküp, Erenler, Kavaklı, Karahıdır, Pınar Mahallesi, Asılbeyli, Karakaş, Ürünlü, Dereköy, Armağan, Düzorman, Eriklice, Koyunbaba, İnce, Babaeski ilçesinden; Yeni Mahalle, Demirköy ilçesinden; Limanköy, İğneada, Beğendik, Yeni Mahalle, Sivrililer, Patanlar, Balaban, Hamdibey, Kofçaz ilçesinden; Merkez, Terzidere, Topçular, Tastepe, Tatlıpınar, Malkoçlar, Pınarhisar ilçesinden; Yenice, İslambeyli, Tozaklı, Cevizköy, Sütlüce, Lüleburgaz ilçesinden; Ahmetbey, Vize ilçesinden; Merkez, Akıncılar, Çövenli, Topçuköy, Hasbuğa, Kömürköy, Kırıkköy, Aksicim, Balkaya ve Sergen'e gidildi. Kırklareli'ne ait 47 ayrı bölge, toplamda 104 kümeden numune toplandı.

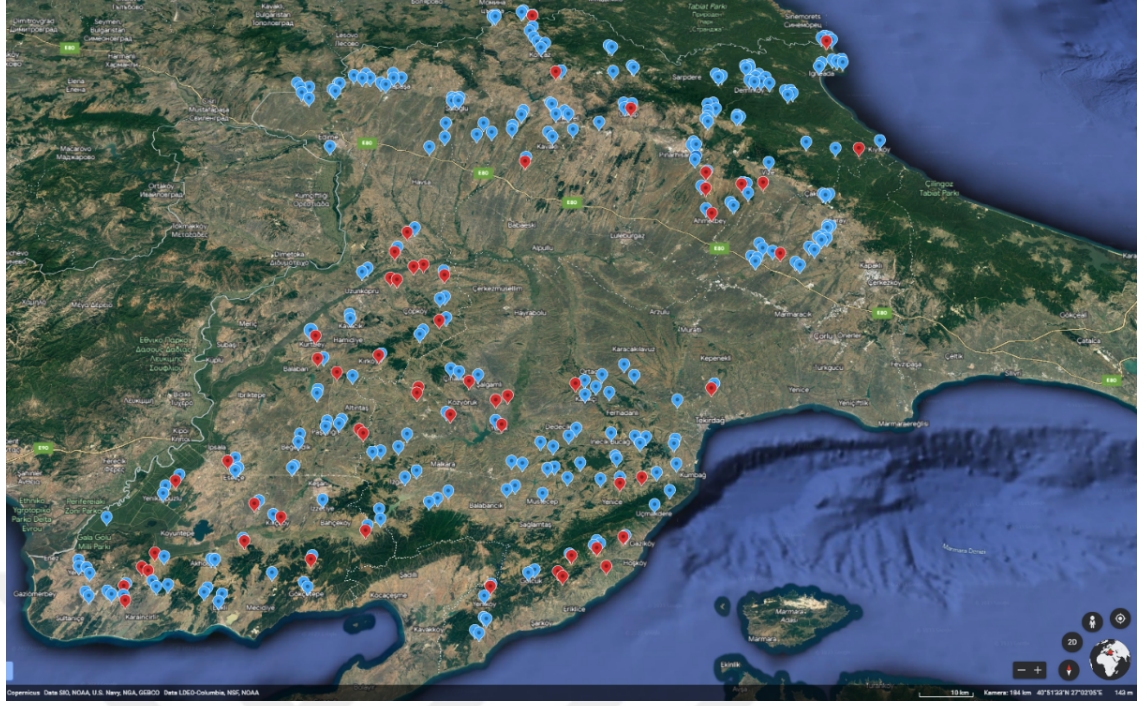
Edirne'nin Merkez ilçesinden; Bosnaköy, Hatipler, Yolüstü, Sarayakpınar, Büyükismailce, Havsa ilçesinden; Hasköy, Arpaç; Süloğlu ilçesinin Merkez, Lalapaşa ilçesinden; Merkez, Çömlekköy, Sinanköy, Çömlekakpınar, İpsala ilçesinden; Esetçe, Sarpdere, Paşaköy, Yenikarpuzlu, Enez ilçesinden; Çeribaşı, Küçükevren, Büyükevren, Çavuşköy, Yeniceköy, Hasköy, Şehitler, Abdurrahim, Gala Gölü, Sütçüler, Kocaali, Işıklı, Keşan ilçesinden; Erikli, Çeltik, Gökçetepe, Pınar, Kadıköy, Küçükdoğanca, Kılıçköy, Mahmutköy, Koruklu, Beğendik, Çobançeşmesi, İzzetiye, Paşayığit, Yeniceçiftlik, Türkmen, Kozköy, Kızkapan, Barağı, Uzunköprü ilçesinden; Türkobası,

Harmanlı, Sipahi, Karapürçek, Malkoç, Yeniköy, Bıldır, Demirtaş, Elmalı, Bayramlı, Kırçasalılı, Kadiağılı, Alıçköy, Kurtbey, Kavacık'a gidildi. Edirne'ye ait 61 ayrı bölge, toplamda 117 kümeden numune toplandı.

Tekirdağ'ın Şarköy ilçesinden; Kızılcaterzi, Işıklar, Yörgüç, Çengelli, Güzelköy, Gölcük, Sofuköy, Mursallı, Kocaali, Uçmakedere, Malkara ilçesinden; Çınaraltı, Şahin, Vakıfıdemir, Yaylagöne, Kiremitlik, Müstecep, Hasköy, Gözsüz, Yaylaköy, Ballı, Ballısülü, Evrenbey, Kadıköy, Karacagür, Hacısungur, Yenice, Ahievren, Allıışık, Kapaklı ilçesinden; Karlı, Uzunhacı, Ergene ilçesinden; Karamehmet, Ahimehmet, Saray ilçesinden; Kavacık, Çaylaköy, Göçerler, Beyazköy, Süleymanpaşa ilçesinden; Kazandere, Yağcı, Ahmedikli, Ahmetçe, Karaçalı, Seymenli, Kayı, Yukarıkılıçlı, Banarlı, Kaşıkçı, Mahramlı, Araphacı, Doğruk Karacamurat, İncik, Yazır, Mermer, Naipköy, Çınarlı ve Yeniköy'e gidildi. Tekirdağ'a ait 56 ayrı bölge, toplamda 102 kümeden numune alındı.



Şekil 3.1. Havsa – Hasköy'de bir yumurtacı tavuk kümesi



Şekil 3.2. Alınan örneklerin harita üzerindeki dağılımı (kırmızı: *Salmonella* pozitif örnekler)

Pamuklu gazlı bezler (Kurtsan Medikal, K8699592820787, İstanbul, Türkiye) 2 (10 x 10 cm) uzunlukta kesildi ve her iki parça da 250 mL'lik polipropilen şişelere (Fıratmed, 8870000077, Ankara, Türkiye) yerleştirildi. *Salmonella*'nın izlenmesinde en hassas sonucu verdiği için taze dışkı örnekleri drag swap ile alındı (Soria vd., 2017). Drag swaplar otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle steril edildi. Kümeslere girmeden önce, beyaz tek kullanımlık tulumlar (Galossan, TT20, İstanbul, Türkiye) ve diz boyu uzun galoşlar (Galossan, CZ120, İstanbul, Türkiye) giyildi. Örnekleri almadan önce, drag swaplar, steril tamponlu peptonlu su (BPW) (77187, Millipore) ile nemlendirildi. Gazlı bezlerden biri (10 x 10 cm) aseptik olarak galoşun etrafına sarıldı. Daha sonra kümesin bir ucundan diğerine yavaş adımlarla dolaşıldı. Diğer gazlı bez (10 x 10 cm), dışkı örneklerinin manuel olarak alınmasında kullanıldı. Bu iki swap, tek bir drag swap örneği olarak birleştirildi (n = 2 drag swap). Daha sonra polipropilen şişeler soğuk zincirle laboratuvara getirildi ve örnekler alındıktan sonra en geç 24 saat içinde işleme alındı. Kırklareli, Edirne ve Tekirdağ illerinin farklı bölgelerinden toplam 323 drag swap örneği toplandı. Bu örneklerin 321'i, açık havada koşu yapan salma sürülerden elde edildi. Diğer örnekler ise çevreden nispeten izole edilmiş kapalı sistemlerden toplandı.



Şekil 3.3. Soğuk zincir ile taşınan drag swap örnekleri

3.2. Kullanılan Besiyerleri ve Standartlar

Buffered Peptone Water (BPW, 77187, Millipore)

Sodyum klorit.....	5 g
Disodyum hidrojen fosfat.....	3,5 g
Potasyum dihidrojen fosfat.....	1,5 g
Pepton.....	10 g

20 g besiyeri, 1 mL distile su ile karıştırılarak hazırlandı ve daha sonra şişelere 225 mL paylaştırılarak 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi.

Muller-Kauffmann tetrasyonat novobiyosin (MKTTn, 105878, Merck)

Et ekstraktı.....	4,3 g
Kazeinin enzimatik sindirimi.....	8,6 g
NaCl.....	2,6 g
CaCO ₃	38,7 g

Sodyum Tiyosülfat x 5 H ₂ O.....	47,8 g
Brilliant Green.....	0,0096 g
Öküz safrası.....	4,78 g
Novobiocin Sodyum Tuzu.....	0,04 g

89,5 gram besiyeri, 1 L distile su ile karıştırılarak hazırlandı. Besiyeri kaynama noktasına kadar ısıtıldı. Bir beher içinde, 20 mL distile suya 5 gram potasyum iyodür ve 4 gram iyot eritildi. Katkı olarak, 20 mL iyot-potasyum iyodür çözeltisi besiyerine eklendi ve ardından tüplere 10 mL gelecek şekilde dağıtıldı.

Rappaport Vassiliadis broth (RVS, NCM0136A, Neogen)

Soya Peptonu.....	4,5 g
Sodyum klorit.....	7,2 g
Potasyum dihidrojen fosfat.....	1,26 g
Dipotasyum Hidrojen Fosfat.....	0,18 g
Magnezyum Klorür.....	13,4 g
Malahit yeşili.....	0,036 g

26,58 gram besiyeri, 1 L distile su ile karıştırılarak hazırlandı ve daha sonra tüplere 10 mL gelecek şekilde dağıtıldı. Tüpler 115°C'de 15 dakika otoklava tabi tutuldu.

Salmonella-Shigella Agar (107667, Merck)

Pepton.....	10 g
Laktoz.....	10 g
Öküz safrası.....	8,5 g
Sodyum sitrat.....	10 g
Sodyum Tiyosülfat.....	8,5 g

Amonyum Demir (III) Sitrat.....	1 g
Brilliant Green.....	0,0003 g
Nötral kırmızısı.....	0,025 g
Agar-agar.....	12 g

60 gram besiyeri, 1 L distile su ile karıştırılarak hazırlandı. Besiyeri kaynama noktasına kadar ısıtıldı. Daha sonra su banyosunda 48°C'ye kadar soğutulup, 90 mm çapındaki her bir steril petri kabına 20 mL gelecek şekilde döküldü.

Triple Sugar Iron (TSI, 103915, Merck)

Pepton (Kazeinden).....	15 g
Pepton (Etten).....	5 g
Et özü.....	3 g
Maya özü.....	3 g
NaCl.....	5 g
Laktoz.....	10 g
Sükroz.....	10 g
D (+) glikoz.....	1 g
Amonyum demir (III) sitrat.....	0,5 g
Sodyum tiyosülfat.....	0,5 g
Fenol kırmızısı.....	0,024 g
Agar-agar.....	12 g

65 gram besiyeri, 1 L distile su ile karıştırılarak hazırlandı. Besiyeri henüz sıvı haldeyken, standart 16 X 160 mm tüplere 7'şer mL olarak dağıtıldı ve tüpler 121°C'da 15 dakika sterilize edildi. Otoklav çıkışında besiyeri henüz sıvıyken tüpler 1-1,5 cm

yükseklğinde bir çubuğa yatırılarak (tüpün dibinde 2-2,5 cm yüksekliğinde bir besiyeri kalınlığı olacak şekilde) besiyerinin katılması sağlandı.

Ksiloz-Lizin-Tergitol 4 (XLT4, 113919, Merck)

Proteoz pepton No. 3.....	1,6 g
Maya özü.....	3 g
L-lizin.....	5 g
Ksiloz.....	3,75 g
Laktoz.....	7,5 g
Sükroz.....	7,5 g
Amonyum demir (III) sitrat.....	0,8 g
Sodyum tiyosülfat.....	6,8 g
Sodyum klorit.....	5 g
Fenol kırmızısı.....	0,08 g
Agar-agar.....	18 g

59 gram besiyeri, 1 L distile su ile karıştırılarak hazırlandı. Besiyeri kaynama noktasına kadar ısıtıldı. Daha sonra su banyosunda 48°C'ye kadar soğutulup, 4,6 mL XLT4 Agar katkı maddesi eklenerek 90 mm çapındaki her bir steril petri kabına 20 mL gelecek şekilde döküldü.

Triptik Soya Agar (TSA, 105458, Merck)

Kazeinin pankreas sindirimi.....	15 g
Soya fasulyesinin papaik sindirimi.....	5 g
Sodyum klorit.....	5 g
Agar-agar.....	15 g

40 gram besiyeri, 1 L distile su ile karıştırılarak hazırlandı. Besiyeri, 121°C’de 15 dakika otoklava tabi tutuldu. Daha sonra su banyosunda 48°C’ye kadar soğutulup, 90 mm çapındaki her bir steril petri kabına 20 mL gelecek şekilde döküldü

Müeller-Hinron Agar (MHA, 103872, Merck)

Et özü.....	2 g
Kazein hidrolizatı.....	17,5 g
Nişasta.....	1,5 g
Agar-agar.....	13 g

34 gram besiyeri, 1 L distile su ile karıştırılarak hazırlandı. Besiyeri, 121°C’de 15 dakika otoklava tabi tutuldu. Daha sonra su banyosunda 48°C’ye kadar soğutulup, 90 mm çapındaki her bir steril petri kabına 20 mL gelecek şekilde döküldü.

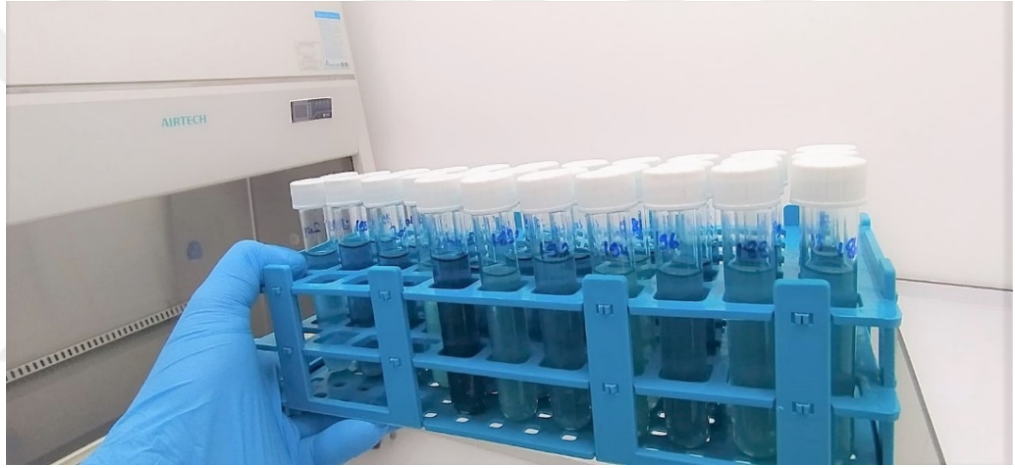
D/E (Dey/Engley) Neutralizing Broth (281910, BD)

BD Bacto™ Tripton.....	5 g
BD Bacto Maya Özü.....	2,5 g
Glikoz.....	10 g
Sodyum Tiyoglikolat.....	1 g
Sodyum Tiyosülfat.....	6 g
Sodyum bisülfat.....	2,5 g
Polisorbat 80.....	5 g
Lesitin.....	7 g
Brom krezol moru.....	0,02 g

39 gram besiyeri, 1 L distile su ile karıştırılarak hazırlandı ve daha sonra tüplere 9 mL gelecek şekilde dağıtıldı. Tüpler, 121°C’de 15 dakika otoklava tabi tutuldu.

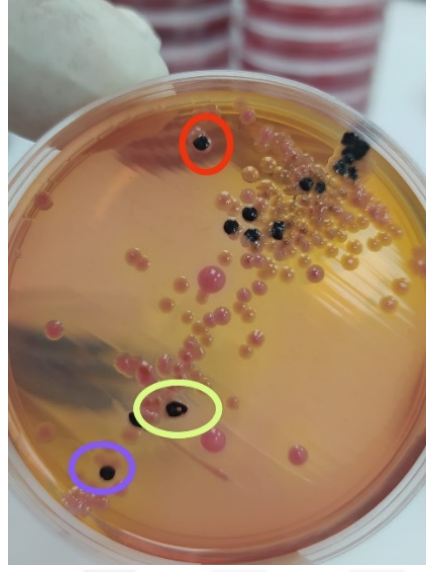
3.3. *Salmonella*'nın İzolasyon Aşamaları

Salmonella izolasyonu, Uluslararası Standardizasyon Örgütü'nün önerdiği ISO 6579: 2002 yöntemine göre gerçekleştirildi. Her örnekten yaklaşık 25 g tartıldı ve üzerine 225 mL BPW (77187, Millipore) eklenildi. Örnekler $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 18 ± 2 saat inkübe edildi. Muller-Kauffmann tetrasyonat novobiyosin (MKTTn) broth (105878, Merck) ve Rappaport Vassiliadis broth (RVS) (NCM0136A, Neogen) tüm örneklerin seçici zenginleştirilmesi için kullanıldı. İnkübasyonu tamamlanan broth çözeltilerinden 1 mL ve 100 μL alındı ve sırasıyla 10'ar mL MKTTn ve RVS besiyerlerine eklenerek inoküle edildi. MKTTn besiyeri $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de, RVS besiyeri ise $41,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat boyunca inkübe edildi.



Şekil 3.4. İnkübasyonu tamamlanmış RVS besiyerleri

İnkübasyon sonrasında her bir seçici-zenginleştirme sıvısından bir öze dolusu inokulum alındı. Sırasıyla *Salmonella-Shigella* (107667, Merck) ve XLT4 (113919, Merck) agar besiyerlerine çizgi ekim yapıldı. Seçici agar besiyerleri, $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 18-24 saat inkübe edildi.



Şekil 3.5. Salmonella-Shigella (SS) agarda şüpheli Salmonella kolonileri

Katı besiyerleri üzerinde görünen şüpheli siyah koloniler öze yardımı ile TSI agara (103915, Merck) alındı. TSI yatık agarda dipte sarı, yüzeyde kırmızı ve H₂S oluşumunu gösteren siyah renkli tüpler *Salmonella* şüpheli olarak değerlendirildi. *Salmonella*'nın cins bazında tanımlanması, *Salmonella* poly-O antiserumu (222641, Difco) kullanılarak lam aglütinasyonu yapıldı.



Şekil 3.6. *Salmonella* şüpheli kolonilerin TSI agardaki görüntüsü

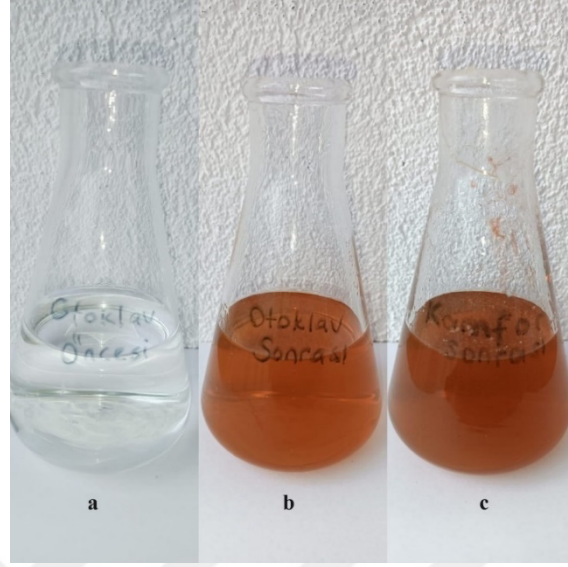
3.4. Serotiplendirme

Serotiplendirme için, yumurtacı tavuk altlıklarından izole edilen 56 *Salmonella* izolatı TSA besiyerine (105458, Merck) alınarak 37 °C’de 1 gece inkübe edildi. Serotiplendirme, Kauffmann White Le Minor Şeması’na göre monovalent ve polivalent antiserumlar kullanılarak (Microgen, UK) lam aglütinasyon yöntemiyle gerçekleştirildi (Grimont ve Weill, 2007). Bu izolatların 17’si, Ulusal *Salmonella* Kontrol Laboratuvarı’nda serotiplendirildi ve sonraki uygulamalar için eppendorf içerisinde -80 °C’ de saklandı.

3.5. Kamfor Yüklü Kitosan Gümüş Nanopartiküllerin (C-CS@AgNP) Sentezi

Nanopartikül sentezi için öncelikle 1 gram kitosan (448869, Sigma Aldrich) tartıldı ve 100 mL %2 asetik asit (100056, Merck) içeren çözeltide çözüldü. Ardından 1 gram gümüş nitrat (AgNO₃) (101512, Merck) tartıldı, 100 mL distile suda çözüldü. Her iki çözelti 300 mL’lik erlenmayerlere alınarak homojen olarak karıştırıldı. %1 asetik asit içeren son karışım, 120°C’de 60 dakika otoklavlandıktan sonra kitosan-gümüş nanopartikül çözeltisi elde edildi. Otoklav işleminden sonra oda sıcaklığına gelen kahverengi çözeltiliye 1 gram kamfor (148075, Sigma Aldrich) eklendi. Son karışım daha sonra 37°C’de 2 saat ultrasonik su banyosunda bekletildi. Bu şekilde kamfor yüklü

kitosan gümüş nanopartikülleri sentezlendi (Şekil 3.7.) (Manukumar, Umesha ve Naveen Kumar, 2017).



Şekil 3.7. Nanokompozitin sentez aşamaları, a. otoklav öncesi, b. otoklav sonrası, c. kamfor yükleme sonrası

Elde edilen sıvı süspansiyon 90°C’de etüvde kurumaya bırakıldı. Havanda ince toz haline getirilen materyal, -20°C’de amber renkli cam şişeler içinde ileri çalışmalar için saklandı.



Şekil 3.8. Havanda mekanik etkiyle ince toz haline getirilen C-CS@AgNP

3.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi ve Nanokompozitin Antibakteriyel Aktivitesi

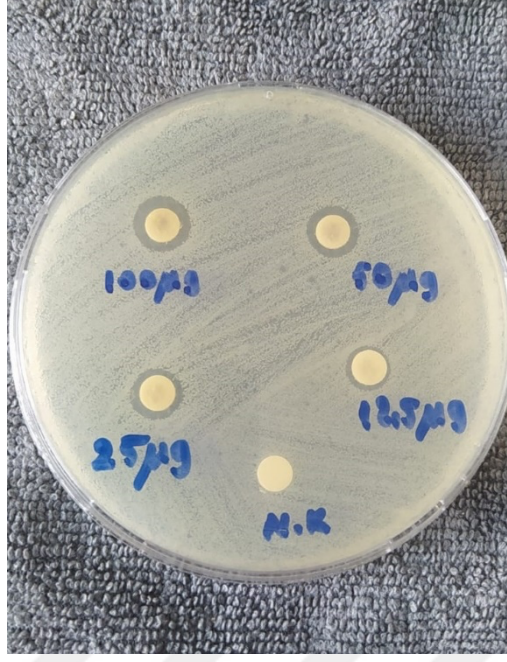
Suşların antibiyotik duyarlılıkları ve C-CS@AgNP'lerin *in vitro* antibakteriyel aktivitesi, Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI) önerilerine uygun olarak modifiye Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle belirlendi (CLSI, 2018, 2021). Testte kullanılan *Salmonella* serotiplerine ait stok kültürleri öncelikle Müeller-Hinton Agar (MHA) (103872, Merck) besiyerinde 37°C'de 18-24 saat inkübe edilerek canlandırıldı. Oluşan taze kültürlerle serum fizyolojik içinde 0.5 McFarland bulanıklığında bakteriyel süspansiyonlar elde edildi. Bakteriler, steril bir inokülat yardımıyla MHA besiyerine yayma ekim yöntemiyle aktarıldı. Antimikrobiyal olarak amoksisilin klavulanik asit (AUG, 30 µg), sefoksitin (FOX, 30 µg), azitromisin (AZM, 15 µg), kloramfenikol (C, 30 µg), ofloksasin (OFX, 5 µg), sefepim (FEP, 30 µg) ve trimetoprim / sülfametoksazol (SXT, 25 µg) antibiyotiklerinin ticari diskleri kullanıldı (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, IT). Sonuçlar CLSI'de belirtilen sınır değerlere göre değerlendirildi (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Zon çapları için CLSI'de belirlenen sınır değerler (CLSI, 2021)

Kısaltmalar: S, Duyarlı; SSD, Doza Bağlı Duyarlı; I, Orta Duyarlı; R, Dirençli

Antimikrobiyal Ajan	Disk İçeriği	Sınır değerler (mm)			
		S	SSD	I	R
Amoksisilin klavunat (AUG)	20 / 10 µg	≥18	-	14-17	≤13
Sefepim (FEP)	30 µg	≥25	19-24	-	≤18
Azitromisin (AZM)	15 µg	≥13	-	-	≤12
Kloramfenikol (C)	30 µg	≥18	-	13-17	≤12
Ofloksasin (OFX)	5 µg	≥16	-	13-15	≤12
Sefoksitin (FOX)	30 µg	≥18	-	15-17	≤14
Trimetoprim / sülfametoksazol (SXT)	1,25 / 23,75 µg	≥16	-	11-15	≤10

Diğer taraftan nanokompozitin *in vitro* antibakteriyel aktivitesini tespit etmek amacıyla, 10 µL C-CS@AgNP'ler 6 mm çaplı steril diskler üzerine emdirildi. C-CS@AgNP'lerin (5 µg, 10 µg, 25 µg, 50 µg ve 100 µg) konsantrasyonları kullanıldı. Bakteri inoküle edilmiş MHA yüzeyine steril pens ile yerleştirilen diskler 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Negatif kontrol olarak 10 µL disklerle emdirilmiş distile su kullanıldı. Disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonu çapları mm cinsinden dijital kumpas ile ölçüldü. Analizler üç kez tekrar edildi.



Şekil 3.9. Nanokompozitin antibakteriyel aktivitesi (Disk Difüzyon Testi)

3.7. Dezenfektan Aktivite Testi

Nanokompozit ve dezenfektanların aktiviteleri, Türk Standartları Enstitüsü TS EN 1040/1999 önerilerine uygun olarak, kalitatif süspansiyon yöntemiyle saptandı²¹. Testte kullanılacak *Salmonella* serotiplerine ait stok kültürleri, Müeller-Hinton Agar (MHA) (103872, Merck) besiyerlerinde 37°C’de 18-24 saat inkübe edilerek canlandırıldı. Nanokompozitin ve dezenfektanların üç farklı konsantrasyonda solüsyonları hazırlandı. Bu solüsyonların tamamı, serotipler üzerinde farklı sürelerde test edildi. Yöntem, besiyerine nötralizan eklenmesi yerine ticari olarak hazır satılan nötralizanlı D/E Neutralizing Broth (281910, BD) kullanılarak modifiye edildi. Ayrıca malzeme ve zaman kaybını önlemek için, yöntem, 24 kuyucuklu steril mikropalaklar (122.11.024, İsolab) kullanılarak Kawamura-Sato vd. tarafından bildirildiği şekilde yürütüldü. Deney öncesinde kullanılacak bütün malzemeler su banyosunda 20±1°C’de tutuldu ve test bu sıcaklıkta uygulandı. Bakteri inokulumu McFarland 0.5 yoğunluğunda (1,5-5 x 10⁸ CFU/mL) ayarlandı. Nanokompozit ve dezenfektan solüsyonlarının hazırlanması için saf su kullanıldı. Uygulamalar, temas sıcaklığı olarak 21°C’de gerçekleştirildi. Mikroplağın her kuyucuğuna 1 mL nanokompozit veya dezenfektan solüsyonu eklendi. Dezenfektan solüsyonuna McFarland 0.5 yoğunluğundaki bakteri süspansiyonundan 100 µL eklenerek hemen kronometre çalıştırıldı. Seçilen temas süreleri sonunda 100 µL alınarak

dezenfektan aktivitesini sonlandırmak amacıyla nötralizan içeren D/E Neutralizing Broth' a ekim yapıldı. 37°C'de $\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24 saat boyunca inkübe edilerek bakteri üremesi kontrol edildi. Besiyerinin renginin mordan sarıya dönmesi üreme olarak değerlendirildi. Eğer üreme varsa; dezenfektan, denenen konsantrasyonda ve sürede bakteriye etkisiz olarak, eğer üreme yoksa; dezenfektan denenen konsantrasyon ve sürede bakteriye etkili olarak değerlendirildi. Testte, 6 farklı etken maddeli dezenfektan kullanıldı:

A dezenfektanı- hidrojen peroksit (%26), perasetik asit (%6)

B dezenfektanı- potasyum peroksimonosülfat (21,41%), sodyum klorit (1,5%)

C dezenfektanı- C-CS@AgNP

D dezenfektanı- glutaraldehit (15%), kuarternar amonyum bileşiği (10%)

E dezenfektanı- glutaraldehit (%50)

F dezenfektanı- kuarternar amonyum bileşiği (16%).

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. İller Arasındaki *Salmonella* Yüzdeleri ve Serotip Dağılımları

2022 yılının Kasım ve Ağustos ayları arasında Türkiye'nin Kırklareli, Edirne ve Tekirdağ illerinden yumurtacı tavuk altlıklarından toplamda 323 drag swap örneği toplandı. ISO 6579:2002 yöntemine göre bu örneklerin 56'sında *Salmonella* sp. izole edildi. Serotiplendirme, Kauffmann White Le Minor Şeması'na göre monovalent ve polivalent antiserumlar kullanılarak lam aglütinasyon yöntemiyle gerçekleştirildi. *Salmonella* suşlarının 17'si, Ulusal *Salmonella* Kontrol Laboratuvarı'nda serotiplendirildi. İller arasındaki *Salmonella* yüzdeleri ve serotip dağılımları Çizelge 4.1.'de bölgenin serotip haritası da Şekil 4.1.'de gösterildi.

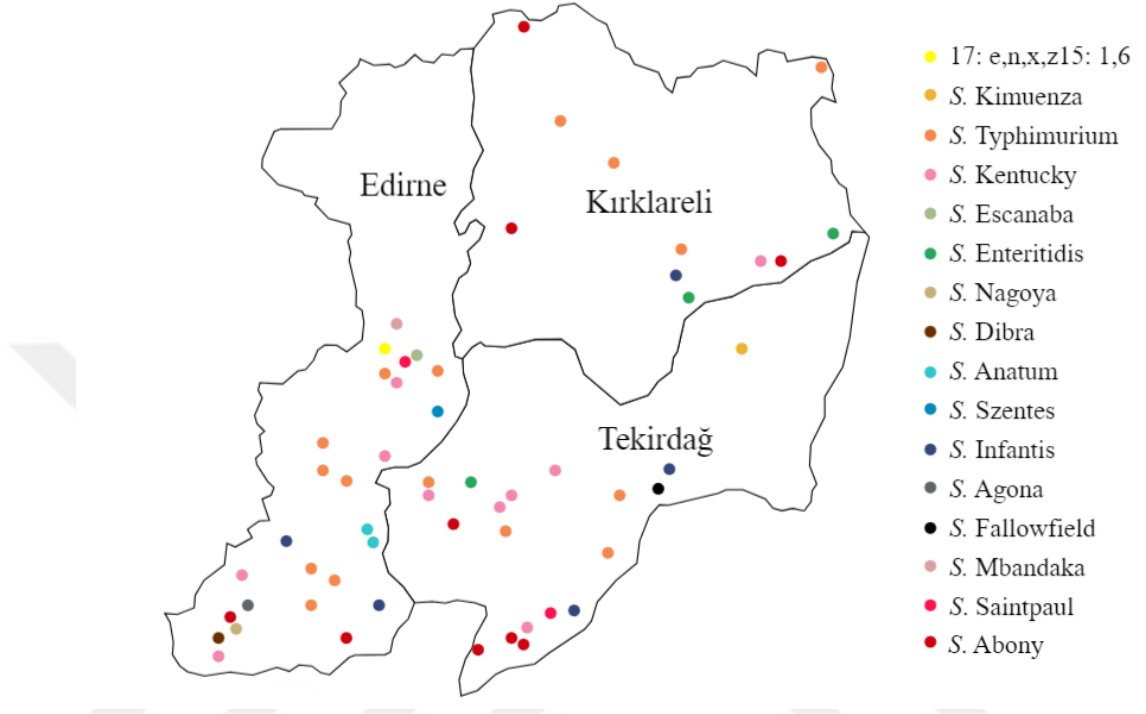
Çizelge 4.1. İller arasındaki *Salmonella* yüzdeleri ve serotip dağılımları

İller	Örnek Sayısı	<i>Salmonella</i> izolatlarının Sayısı (%)	<i>Salmonella</i> Serotiplerinin Sayısı (%)															
			ST	SKE	SAB	SI	SE	SAN	SSA	SS	SD	SF	SKI	SES	SN	SM	SAG	17: e, n, x, z15: 1,6
Kırklareli	104	11 (10,6)	4 (36,4)	1 (9,1)	3 (27,3)	1 (9,1)	2 (18,2)											
Edirne	117	26 (22,2)	8 (30,8)	4 (15,4)	2 (7,7)	2 (7,7)		2 (7,7)	1 (3,8)	1 (3,8)	1 (3,8)			1 (3,8)	1 (3,8)	1 (3,8)	1 (3,8)	1 (3,8)
Tekirdağ	102	19 (18,6)	4 (21,1)	5 (26,3)	4 (21,1)	2 (10,5)	1 (5,3)		1 (5,3)				1 (5,3)	1 (5,3)				
Total	323	56 (17,3)	16 (28,6)	10 (17,9)	9 (16,1)	5 (8,9)	3 (5,4)	2 (3,6)	2 (3,6)	1 (1,8)	1 (1,8)	1 (1,8)	1 (1,8)	1 (1,8)	1 (1,8)	1 (1,8)	1 (1,8)	1 (1,8)

Kısaltmalar: SE, *Salmonella* Enteritidis; SI, *Salmonella* Infantis; SAN, *Salmonella* Anatum; SKI, *Salmonella* Kimuenza; SS, *Salmonella* Szentés; SD, *Salmonella* Dibra; SF, *Salmonella* Fallowfield; ST, *Salmonella* Typhimurium; SKE, *Salmonella* Kentucky; SES, *Salmonella* Escanaba; SN, *Salmonella* Nagoya; SM, *Salmonella* Mbandaka; SSA, *Salmonella* Saintpaul; SAG, *Salmonella* Agona; SAB, *Salmonella* Abony



TÜRKİYE



Şekil 4.1. Kırklareli, Edirne ve Tekirdağ illerinde yumurtacı tavuklarında görülen *Salmonella* serovarlarının haritası

4.2. *Salmonella* Serotiplerinin Antibiyotik Duyarlılıkları

Suşların antibiyotik duyarlılıkları, Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda modifiye Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile tespit edildi. Antibiyotik olarak amoksisilin klavulanik asit (AUG, 30 µg), sefoksitin (FOX, 30 µg), azitromisin (AZM, 15 µg), kloramfenikol (C, 30 µg), ofloksasin (OFX, 5 µg), sefepim (FEP, 30 µg) ve trimetoprim / sülfametoksazol (SXT, 25 µg) kullanıldı. Serotipler üzerinde oluşan inhibisyon zonları Çizelge 4.2.'de gösterildi.

Çizelge 4.2. Antibiyotiklerin *Salmonella* serotipleri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları

Serotipler	Antibiyotiklere bağlı zon çapları (mm)						
	AUG	FEP	AZM	C	OFX	FOX	SXT
<i>S. Typhimurium</i> (n=16)	25,7 – 28,1	32,1 – 35,2	17,5 – 19,5	24,4 – 27,2	18,8 – 29,5	24,9 – 28,2	28,8 – 31,5
<i>S. Kentucky</i> (n=10)	26,4 – 30,0	32,7 – 36,4	17,2 – 19,0	24,6 – 27,5	7,1 – 31,3	24,4 – 27,6	28,8 – 31,7
<i>S. Abony</i> (n=9)	25,7 – 28,5	33,0 – 35,6	16,4 – 20,2	24,4 – 26,5	27,1 – 29,4	23,6 – 28,3	28,5 – 32,9
<i>S. Infantis</i> (n=5)	26,4 – 28,8	32,6 – 35,0	16,3 – 19,5	21,9 – 25,7	16,0 – 28,2	20,5 – 27,9	19,1 – 31,5
<i>S. Enteritidis</i> (n=3)	27,0 – 28,5	33,0 – 36,0	18,8 – 19,2	25,6 – 27,1	17,8 – 29,8	26,7 – 28,4	29,3 – 31,6
<i>S. Saintpaul</i> (n=2)	27,5 – 27,5	33,7 – 35,6	18,2 – 18,9	25,9 – 26,8	18,4 – 28,6	26,6 – 26,9	29,7 – 30,1
<i>S. Anatum</i> (n=2)	26,8 – 27,2	33,2 – 34,4	18,4 – 19,3	24,4 – 25,4	28,4 – 29,4	23,8 – 24,2	29,5 – 29,9
<i>S. Fallowfield</i> (n=1)	27,4	33,3	18,9	25,4	27,6	25,5	24,1
<i>S. Dibra</i> (n=1)	25,6	32,4	18,1	24,9	27,1	23,5	27,7
<i>S. Nagoya</i> (n=1)	29,4	36,7	17,4	28,0	29,5	29,7	28,7
<i>S. Agona</i> (n=1)	28,1	36,0	19,8	25,6	29,0	26,0	32,7
<i>S. Mbandaka</i> (n=1)	27,4	33,2	18,2	25,1	28,8	23,8	31,2
17: e,n,x,z15: 1,6 (n=1)	28,4	33,6	18,7	26,7	31,8	27,2	27,4
<i>S. Szentes</i> (n=1)	28,9	34,4	18,0	25,4	28,4	27,6	27,3
<i>S. Escanaba</i> (n=1)	29,9	36,5	19,1	25,3	27,9	28,4	31,9
<i>S. Kimuenza</i> (n=1)	17,9	33,8	19,0	7,8	27,9	27,1	28,6

4.3. *Salmonella* Serotiplerinin Nanokompozit Aktiviteleri

SuŖların nanokompozit (C-CS@AgNP) aktiviteleri, Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine uygun olarak modifiye Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle belirlendi. Bu amaçla 6 mm steril boş diskler üzerine 5 µg, 10 µg, 25 µg, 50 µg ve 100 µg nanokompozit gelecek şekilde 5 farklı konsantrasyon hazırlandı. Serotipler üzerinde oluşan inhibisyon zonları Çizelge 4.3.'de gösterildi.

Çizelge 4.3. Nanokompozitin *Salmonella* serotipleri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları

Serotipler	Nanokompozite bağlı zon çapları (mm)				
	5 µg	10 µg	25 µg	50 µg	100 µg
<i>S. Typhimurium</i> (n=16)	7,0 – 7,9	7,4 – 8,8	8,3 – 9,9	8,9 – 10,3	9,8 – 10,7
<i>S. Kentucky</i> (n=10)	7,1 – 8,6	7,5 – 9,3	8,3 – 10,5	9,0 – 10,8	9,9 – 11,4
<i>S. Abony</i> (n=9)	7,0 – 8,9	7,6 – 9,7	8,3 – 10,4	9,0 – 10,8	9,6 – 11,4
<i>S. Infantis</i> (n=5)	7,1 – 8,9	7,8 – 9,8	9,0 – 10,6	9,5 – 10,9	10,2 – 11,6
<i>S. Enteritidis</i> (n=3)	7,2 – 7,6	7,4 – 8,6	8,9 – 9,7	9,6 – 10,0	10,1 – 10,9
<i>S. Saintpaul</i> (n=2)	7,2 – 7,9	8,4 – 8,8	9,5 – 9,6	10,0 – 10,1	10,3 – 10,4
<i>S. Anatum</i> (n=2)	7,2 – 7,4	7,9 – 8,8	9,4 – 9,7	9,7 – 10,2	10,3 – 10,7
<i>S. Fallowfield</i> (n=1)	7,9	9,1	9,7	10,3	10,7
<i>S. Dibra</i> (n=1)	6,9	7,3	7,8	8,6	9,1
<i>S. Nagoya</i> (n=1)	7,8	9,1	9,7	10,2	10,5
<i>S. Agona</i> (n=1)	7,6	8,9	9,8	10,2	10,8
<i>S. Mbandaka</i> (n=1)	7,6	8,9	9,8	10,2	10,7
17: e,n,x,z ₁₅ : 1,6 (n=1)	7,6	9,0	9,9	10,3	10,9
<i>S. Szentes</i> (n=1)	7,8	9,3	10,2	10,6	11,2
<i>S. Escanaba</i> (n=1)	8,1	9,8	10,5	10,8	11,2
<i>S. Kimuenza</i> (n=1)	7,1	7,7	8,0	8,3	8,9

4.4. *Salmonella* Serotiplerinin Dezenfektan Aktiviteleri

Sentezlenen nanokompozite ek olarak dezenfektan aktivite testinde toplamda 6 farklı dezenfektan kullanıldı. Dezenfektanlar, tüm *Salmonella* serotipleri üzerinde test edildi. Belirli sürelerde serotipler üzerinde üremenin olmadığı dezenfektanların minimum konsantrasyonları belirlendi (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Tüm serotipler için üremenin gözlenmediği minimum konsantrasyon değerleri

Dezenfektanlar	Aktif İçerik	Konsantrasyon (%)	Süre (dk.)
A	Hidrojen Peroksit (26%), perasetik asit (6%)	0,04	1
B	Potasyum peroksimonosülfat (21,41%), sodyum klorit (1,5%)	0,05	1
C	C-CS@AgNP	0,4	1
D	Glutaraldehit (15%), kuarterner amonyum bileşiği (10%)	0,5	1
E	Glutaraldehit (%50)	4	1
F	Kuarterner amonyum bileşiği (16%)	16	>30

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Bu bölüm, *Salmonella* prevalansı, *Salmonella* serotipleri, serotiplerin antibiyotik duyarlılıkları, nanokompozit sentezi ve antibakteriyel aktivitesi ile serotiplerin dezenfektan aktiviteleri olmak üzere 5 alt başlıkta tartışılmıştır.

5.1. *Salmonella* Prevalansı

İllere göre yumurtacı tavuklarda *Salmonella* prevalansı Çizelge 4.1'de özetlenmiştir. Genel olarak *Salmonella* izolasyon oranı en yüksek olan il Edirne (%22,2)'dir. Onu Tekirdağ (%18,6) takip etmektedir ve en düşük oran ise Kırklareli (%10,6)'nde görülmüştür. 323 örnekten (%17,3) toplam 56 *Salmonella* izolatu elde edildi. Bu sonuçlar, ülkemizde %0 ila %17 arasında bildirilen *Salmonella* tespit oranlarına benzerdir (Kalender ve Muz, 1999; Eyigor vd., 2002, 2005; Eyigor ve Carlı, 2003; Ata ve Aydın, 2008; Kahya vd., 2013; Çokal vd., 2020). Öte yandan, Türkiye'de *Salmonella* prevalansının yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin, Temelli vd. (2010), rPCR ve ISO kültürüyle genel *Salmonella* görülme sıklığının sırasıyla %61 ve %55,6 olduğunu bildirmiştir. Üstelik, Im vd. (2015), *Salmonella* kontaminasyonunun çiftliklerde %59,3, sürülerde ise %50,7 olduğunu belirlemiştir. EFSA (2007) raporuna göre yumurtacı tavuklarda *Salmonella* prevalansı %30,8'dir. Bu rapor aynı zamanda Üye Devletlerde gözlenen *Salmonella* sürü prevalansının minimum %0 (Lüksemburg ve İsveç) ile maksimum %79,5 (Portekiz) arasında değiştiğini de göstermiştir.

Çeşitli risk faktörleri, yumurtacı çiftliklerde *Salmonella* prevalansını etkileyebilir. Örneğin, sürü büyüklüğünün yumurtacı tavuklarda *Salmonella* prevalansını etkilediği rapor edilmiştir (Mollenhorst vd., 2005; Snow vd., 2007; Huneau-salaün vd., 2009; Im vd., 2015). Çalışmamızda, *Salmonella* kontaminasyonunun iller arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuç, yarka, hava, yem, su, sinekler, kemirgenler ve

insanlar gibi birçok faktörden kaynaklanabilir (Marin, Hernandiz ve Lainez, 2009). Ancak, en muhtemel faktör il ile sürü büyüklüğü arasındaki ilişkidir. Edirne ve Tekirdağ illeri, Kırklareli'ne göre nüfus yoğunluğunun daha fazla olduğu bölgelerdir. Bu illerdeki yüksek yumurta arzı, yumurtacı tavuk sürüsü büyüklüğünün Kırklareli'ne göre daha büyük olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, kümes tipi, sürü yaşı ve sürü büyüklüğü gibi risk faktörlerinin *Salmonella* kontaminasyonu üzerindeki etkileri araştırılmalıdır.

5.2. *Salmonella* Serotipleri

İşlenmiş dışkı örneklerinde toplam 16 farklı serotip tespit edilmiştir (Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.): *Salmonella* Typhimurium (28,6%), Kentucky (17,9%), Abony (16,1%), Infantis (8,9%), Enteritidis (5,4%), Anatum (3,6%), Saintpaul (3,6%), Szentes (1,8%), Dibra (1,8%), Fallowfield (1,8%), Kimuenza (1,8%), Escanaba (1,8%), Nagoya (1,8%), Mbandaka (1,8%), Agona (1,8%) ve 17: e, n, x, z₁₅: 1,6 (1,8%). Bu araştırmadaki gözlemler, Hodagari vd. (2020) ile benzer şekilde, yumurtacı tavuklarda en yaygın serotipin *S. Typhimurium* olduğunu göstermektedir. Aksine Türkiye (Carlı vd., 2001; Eyigor vd., 2005; Temelli vd., 2010) ve diğer bazı ülkelerde (Snow vd., 2007; Huneau-salaün vd., 2009; Hulaj vd., 2016; Velasquez vd., 2018) yapılan çalışmalar, en yaygın serovarin *S. Enteritidis* olduğunu göstermektedir.

Günümüze kadar *Salmonella* Typhimurium ve *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* kontrolünün odak noktası olmuştur. Çünkü bu iki serotip, Avrupa ve Kuzey Amerika'daki insan salmonelloz vakalarından önemli ölçüde sorumludur (CDC, 2007; EFSA, 2009). HPA (2010) tarafından hazırlanan raporlar, *S. Enteritidis* enfeksiyonunun mevcut eğiliminin azalmaya devam ettiğini ve yeni *S. Typhimurium* invazif suşlarının ortaya çıkması durumunda yumurtalardaki *S. Typhimurium* kontaminasyonunun daha önemli hale gelebileceğini öne sürmektedir. Rabsch vd. (2002) tarafından belirtildiği gibi, *S. Typhimurium* diğer serovarlarla karşılaştırıldığında geniş bir konakçı yelpazesinde patojenik etkiye sahip olabilir. Ayrıca bu iki serotip arasında epidemiyoloji açısından da bazı farklılıklar bulunmaktadır. *S. Typhimurium* vahşi doğada sığır ve domuzlarda çok daha yaygındır. Bu nedenle, serbest dolaşan yumurtacı sürülerde *S. Typhimurium* kontaminasyon riski diğer üretim türlerine göre daha yüksektir (Carrique-Mas ve Davies,

2008). Aslında bu araştırmada toplanan örneklerin neredeyse tamamı açık havada koşu yapan sürülere aitti (323 örnekten 321'i).

Ülkeler arasında, hatta aynı ülkenin farklı bölgelerinde bile *Salmonella* serovarları arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır (Carlı vd., 2001). Nitekim Diker vd. (2020), Türkiye'nin 9 farklı ilini kapsayan yumurtacı tavuklardan alınan örneklerde *S. Kentucky*'nin en yaygın serotip olduğunu göstermişlerdir, ancak örneklerin hiçbirinde *S. Typhimurium*'a rastlanmamıştır. Benzer şekilde, Li vd. (2007) ile Çokal vd. (2020), yumurtacı dışkı örneklerinde baskın serotipin *S. Kentucky* olduğunu belirlemiştir. Ancak çalışmamızda *S. Kentucky* en sık görülen ikinci serotip olarak öne çıkmaktadır.

Salmonella Kentucky sıklıkla hem kümes hayvanlarından hem de insanlardan izole edilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki tavuklarda tanımlanan başlıca serovar budur. Aynı zamanda sağlıklı sığırlardan da izole edilmiştir, ancak nadiren insanlarda hastalığa neden olduğu bulunmuştur (Rauch vd., 2018; Vosik vd., 2018; Gast vd., 2020). Ve yıllar geçtikçe küresel bir zoonotik patojen olarak ortaya çıkmıştır (Xiong vd., 2020). Dolayısıyla, dünya çapında kanatlı hayvanlarda en sık görülen 12 *Salmonella* serotipi arasında yer aldığı ve yumurtacı tavuklarda son yıllarda artan eğilimi göz ardı edilemez (Shah vd.,2017; Alessiani vd., 2022).

Çalışmamızda izole edilen serovarların bir kısmı Türkiye'de broiler üretiminde de görülmektedir (Şahan vd., 2016; Yapıcıer ve Sareyyüpoğlu, 2022). Örneğin, Şık vd. (2022), kümes hayvanları ve diğer kuşlarda en yaygın üç serovarin sırasıyla *S. Infantis* (%43,1), *S. Enteritidis* (%13,5) ve *S. Abony* (%4,6) olduğunu belirlemiştir. Biz ise çalışmamızda *S. Abony*'nin *S. Infantis*'e göre daha baskın olduğunu tespit ettik. Ayrıca, *S. Infantis*'in sadece broiler piliçlerde değil, aynı zamanda yumurtacı tavuklarda da yüksek yaygınlığına ilişkin raporlar bulunmaktadır. Nitekim, Iwabuchi vd. (2010), Japonya genelinde yaptıkları bir araştırmada, *S. Infantis*'in yumurtacı çiftliklerinde en yaygın serovar olduğunu göstermiştir. Ayrıca, Kahya vd. (2014), yumurtacı sürülerde *S. Enteritidis*'ten sonra en yaygın serovarin *S. Infantis* olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak, *S. Abony* düşük bir görülme oranıyla ilişkilendirilse de, yumurtacı tavuklarda *S. Infantis* ve *S. Enteritidis*'in ortaya çıkması, tavuklarda yetersiz koruma/kontrol ve biyogüvenlik önlemlerinin olduğunu göstermektedir (Lapuz vd., 2012; EFSA BIOHAZ Panel, 2019).

Çalışmamız dünyada ilk kez yumurtacı tavuklarında daha önce tanımlanmayan *S. Dibra*, *S. Fallowfield*, *S. Szentes* ve *Salmonella* II 17: e, n, x, z₁₅: 1,6 gibi *S. enterica* serotiplerinin varlığını göstermektedir. Ayrıca, *S. Kimuenza*, *S. Escanaba* ve *S. Nagoya* Türkiye'de ilk kez tavuk sürülerinden izole edilen serotiplerdir (Şekil 4.1.). *S. Anatum*, *S. Agona*, *S. Mbandaka* ve *S. Saintpaul* Türkiye ve diğer ülkelerdeki tavuklardan baskın olmayan serotipler olarak izole edilmiştir (Shah vd., 2017; Velasquez vd., 2018; Çokal vd., 2020; Diker vd., 2020; Rajae vd., 2022).

5.3. Serotiplerin Antibiyotik Duyarlılıkları

Çalışmamızda izole edilen 56 suştan 54'ü antimikrobiyal maddelerin tamamına duyarlı bulunmuştur. *Salmonella* izolatları amoksisilin-klavulanik asit, sefepim, azitromisin, sefoksitin ve trimetoprim/sülfametoksazol'e dirençli değildi. *S. Kentucky* izolatlarının %10'u ofloksasine dirençli iken, *S. Kimuenza* sadece kloramfenikole dirençliydi.

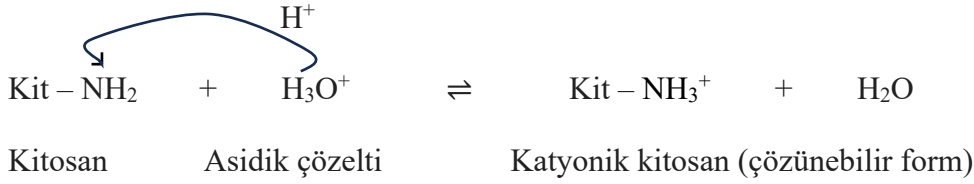
Salmonella'nın çoklu ilaca dirençli (MDR) direnç oranı, Türkiye'deki ticari yumurtacı sürülerde gözlemlenenden daha düşüktü (Kahya vd., 2013; Çokal vd., 2020). Ayrıca, genel olarak etlik piliçlerden izole edilen *Salmonella*, yumurtacı tavuklardan izole edilenlere göre daha fazla çoklu ilaç direnci göstermektedir (Şahan vd., 2016; İnce ve Akan, 2023). *Salmonella* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılığı veya direnci, sürülerin antibiyotiklere farklı düzeylerde maruz kalmasından kaynaklanabilir. Çoğu izolat, çalışmamızda test edilen antimikrobiyal ajanlara karşı neredeyse tamamen duyarlılık gösterirken, çoklu ilaca dirençli *Salmonella* salgınları olasılığı, antimikrobiyal duyarlılık testini zorunlu kılmaktadır.

5.4. Nanokompozit Sentezi ve Antibakteriyel Aktivitesi

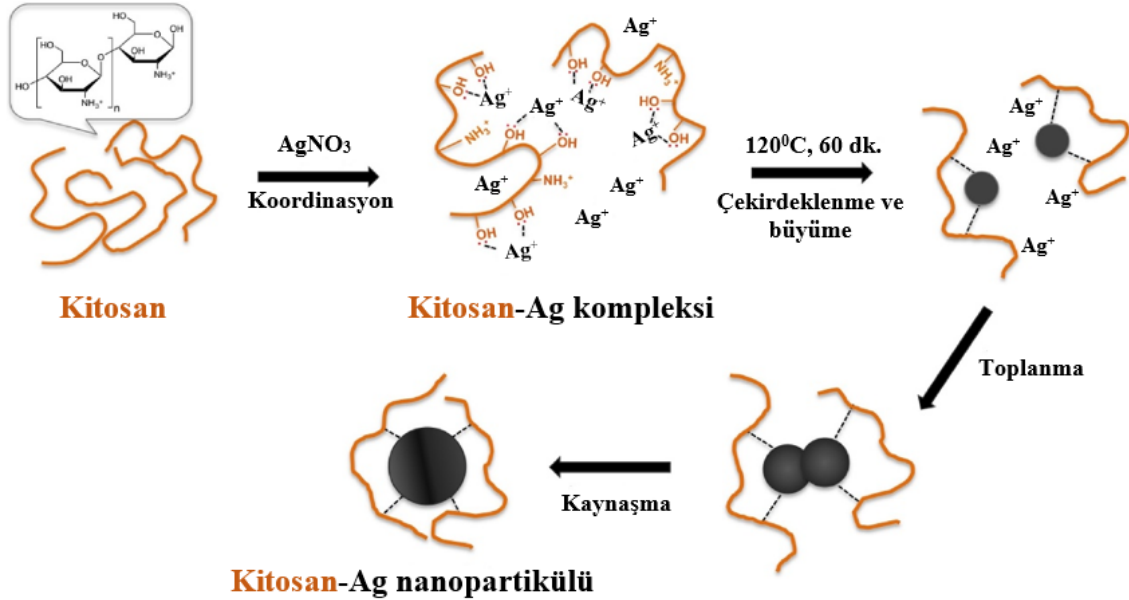
Kitosan gümüş nanopartikülleri, otoklavda kitosan (CS)'nin indirgeyici ve stabilizör olarak görev yaptığı yeşil prosese dayalı olarak sentezlenmiştir. Kamfor, çalışmamızda kaplayıcı ajan olarak kullanılmıştır. Proses sonrasında, çözeltide gözlenen renk değişimi, kamfor yüklü kitosan gümüş nanopartiküllerin sentezlendiğini göstermektedir. AgNO₃, CS çözeltisiyle kısa süreliğine oda sıcaklığında karıştırıldığında, pH'a bağlı olarak Ag⁺ ile CS omurgası üzerindeki azot veya oksijenin ortaklanmamış elektron çiftleri arasında bir koordinasyon meydana gelebilir (Şekil 5.1) (Chudobova vd., 2013). Aminlerdeki nitrojen atomu oksitlenmiş formunu oluşturmak için

bir elektronunu kaybeder ve Ag^+ iyonu, Ag^0 haline gelmek için bu elektronu alır (Murugadoss ve Chattopadhyay, 2007). Çalışmamızda kitosan başlangıçta %2 asetik asit çözeltisinde hazırlandığı için (pH: 3,23) amin kısımları protonlanmış formdadır ($-NH_3^+$). Bu nedenle, elektrostatik etkileşim yalnızca CS'nin oksijen atomuyla Ag^+ arasındaki komplekse hakimdir ve reaksiyonun ana itici gücüdür.

Düşük pH koşullarında \rightarrow Amin grupları protonlanır



Yüksek sıcaklık ve basınç, CS'deki ortaklanmamış oksijen çifti tarafından Ag^+ nın Ag^0 'a indirgenmesi için katalizör görevi görür ve Ag çekirdeklerinin (tek kristal) oluşmasını sağlar. Bunu takiben Ag atomları bir araya gelerek dimerler ve küçük kümeler oluşturur. Bu kümeler, partiküller kararlı hale gelene kadar büyümeye devam eder (poli kristal). CS zincirleri, daha sonra ortaya çıkan kompozitlere sterik ve elektrostatik stabilizasyon sağlar (Wongpreecha vd., 2018).



Şekil 5.1. Yüksek sıcaklık ve basınç altında kitosan-Ag nanopartikül sentezi (Wongpreecha vd., 2018)

Disk difüzyon yöntemi, belirli dozlarda nanokompozit (C-CS@AgNP) emdirilmiş disklerin *Salmonella* serotipleri içeren petrilere yerleştirilmesiyle test edilmiştir. Negatif

kontrolle karşılaştırıldığında, diskler etrafında doza bağlı olarak bakteriyel inhibisyon gözlenmiştir (Şekil 3.9.). İlk kez sentezlediğimiz bu nanokompozit, *Salmonella* serotiplerine karşı maksimum antibakteriyel aktivitesini 100 µg/mL’de göstermiştir (8,9-11,6 mm) (Çizelge 4.3.). Benzer şekilde, Manukumar vd. (2017), *S. Typhimurium*’a karşı ilk kez sentezledikleri timol yüklü kitosan gümüş nanopartiküllerinin (T-C@AgNP) maksimum antibakteriyel aktivitesini 100 µg/mL’de belirlemişlerdir (9,28 mm). Ek olarak, Karthik ve diğerleri (2018), *S. Typhimurium*'a karşı 100 µg/mL konsantrasyonda ilk sentezledikleri benzodioksan piperazinle yüklenmiş kitosan gümüş nanopartiküllerinin inhibisyon zon çapını 8,28 mm olarak bildirmişlerdir. Bu nedenle AgNP'lerin ve bunların oksitlenmiş türleri (Ag⁺)'nin mikroplara karşı biyosidal etkisi vardır (Biao vd., 2017).

5.5. Serotiplerin Dezenfektan Aktiviteleri

Salmonella'nın kümeslerden yok edilmesi zordur (Davies ve Breslin, 2003). *Salmonella* gibi belirli organizmaların enfeksiyon baskısını en aza indirmek için ticari olarak yetiştirilen tüm kuşlar aynı anda kümeslere girer ve aynı anda çıkar. Bu nedenle üretim molası sırasında kümesleri rutin olarak dezenfekte etmek gerekmektedir. *Salmonella*'nın ortadan kaldırılması için ticari olarak çeşitli dezenfektanlar mevcuttur. Kümeslerde dezenfektanların uzun süreli kullanımı, bu ürünlerdeki aktif maddelere karşı direnç gelişmesine neden olduğundan, yaygın olarak kullanılan dezenfektanların patojen mikroorganizma üzerindeki etkinliğinin ölçülmesi ve uygulama koşullarının belirlenmesi önemlidir. Çalışmamızda sentezlediğimiz nanokompozit ile birlikte, kümes dezenfeksiyonunda da kullanılan farklı etken maddeli toplam 6 dezenfektanın serotipler üzerindeki etkileri kalitatif süspansiyon testine göre değerlendirilmiştir: A, hidrojen peroksit (%26), perasetik asit (%6); B, potasyum peroksimonosülfat (21,41%), sodyum klorit (1,5%); C, C-CS@AgNP; D, glutaraldehit (15%), kuarterner amonyum bileşiği (10%); E, glutaraldehit (%50); F, kuarterner amonyum bileşiği (16%).

Çalışmamızda tüm serotipler, kuarterner amonyum bileşiği (%16) dışında, belirtilen dezenfektanlara duyarlı bulunmuştur (Çizelge 4.4.). A dezenfektanı (%0,04), serotipler üzerinde en etkili dezenfektandır. Bir dezenfektandaki perasetik aside kıyasla yüksek hidrojen peroksit yüzdesi antibakteriyel özelliğe katkı sağlar. Çünkü ekstra H₂O₂ asetatla reaksiyona girer ve çözeltide daha fazla perasetik asit oluşturarak bakteri spor

katmanlarındaki proteinlerin ayrılmasına neden olur (Li vd., 2020). A dezenfektanı; %26 hidrojen peroksit ve %6 perasetik asit içeriğe sahiptir. Bu konsantrasyonların artırılmasının, ürünün kimyasal stabilitesini arttırmakla kalmadığı, aynı zamanda yüksek H₂O₂ konsantrasyonunun mikrobiyal hücrelerin penetrasyon aktivitesine yardımcı olduğu ve PAA ile sinerjik etkiye girerek hücre öldürücülüğünü arttırdığı bulunmuştur (Leggett vd., 2016). Bu nedenle, Rodgers vd. (2001) ve Thamlikitkul vd. (2001), kümeslerde dezenfektan olarak H₂O₂, perasetik asit ve asetik asit içeren dezenfektanların kullanılmasını önermektedir.

B dezenfektan, suya eklendiğinde aktifleşen geniş spektrumlu granüler bir dezenfektandır. Bir peroksijen bileşiği (21,41%) (potasyum peroksimonosülfat, KMPS) ve sodyum kloritin (1,5%) stabilize edilmiş karışımından oluşur. KMPS aktif bileşiği, proteinleri oksitleyerek bakterilerin fiziksel bütünlüğünü bozar. B dezenfektanın antibakteriyel aktivitesi, KMPS ile sodyum kloritin sinerjistik etkisiyle daha da güçlenir (Montagnin vd., 2022). Sodyum klorit, KMPS ile reaksiyona girer ve başka güçlü bir biyosit olan hipokloröz asit açığa çıkar. Nitekim, Payne vd. (2005) KMPS'nin laboratuvar koşullarında *Salmonella*'ya karşı yüksek bir dezenfektan etkinliğine sahip olduğunu bulmuşlardır. Ek olarak, Sonthipet vd. (2018), KMPS'nin antibakteriyel aktivitesini %0,0312 ila %0,5 aralığında belirlemişlerdir. Çalışmamızda B dezenfektanı (%0,05), serotipler üzerinde en etkili ikinci dezenfektan olmuştur.

Nasr vd. (2018), 1:200 dilüsyonda Synergize® (glutaraldehit %1 ve QAC %23) dezenfektanının 1 dakikalık temas süresi sonunda *E.coli* gelişimini önemli ölçüde azalttığını bulmuşlardır. Çoğu dezenfektan, organik maddelerin yüzeylerde glutaraldehitin hedef organizmaya ulaşmasını engellemesi nedeniyle QAC (kuarterner amonyum bileşiği) ile kombinasyon halindedir. Nitekim, McDonnell ve Russell (2001), glutaraldehit ve QAC kombinasyonunun bakterilere, bakteri sporlarına, fungus ve virüslere karşı büyük bir aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ek olarak, Youseif vd. (2001), Aldekol®'un (gluaradehit ve QAC) *Salmonella* spp. üzerinde çok etkili olduğunu bulmuşlardır. Çalışmamızda, glutaraldehit serotipler üzerinde tek başına %4 konsantrasyonda, QAC ile kombinasyon halinde %0,5 konsantrasyonda bakterisit etki göstermiştir. QAC'nin tek başına *Salmonella*'yı inhibe edebilmesi için daha yüksek konsantrasyon ve temas süresine ihtiyacı vardır (Aksoy, El Kahlout ve Yardimci, 2019).

Dolayısıyla, sinerjistik etki oluşturmaları nedeniyle dezenfektan uygulamasının QAC ve glutaraldehit ile birlikte yapılmasını önermekteyiz.

Çalışmamızda kamfor yüklü kitosan gümüş nanopartikülü %0,4 konsantrasyonda serotipler üzerinde 1 dakikalık temas süresi sonunda etkili olmuştur. Kalitatif süspansiyon testine göre C-CS@AgNP, *Salmonella* serotipleri üzerinde D, E ve F dezenfektanlarından daha etkili bir dezenfektandır. Bu sonuç, iyi biyosidal özelliklere sahip olan AgNP'lerin dezenfektanlar için alternatif olabileceğini ortaya koymaktadır (Konopka, Kowalski ve Wzorek, 2009; Metak ve Ajaal, 2013). Nitekim, AgNP'ler çok çeşitli Gram negatif (*Acinetobacter* sp., *Escherichia* sp., *Pseudomonas* sp., *Salmonella* sp. ve *Vibrio* sp.) ve Gram pozitif (*Bacillus* sp., *Clostridium* sp., *Enterococcus* sp., *Listeria* sp., *Staphylococcus* sp. ve *Streptococcus* sp.) bakterilerin yok edilmesinde etkilidirler (Banach vd., 2016).

Bu çalışma, öncelikle Kırklareli, Edirne ve Tekirdağ illerindeki yumurtacı tavuklarda gözlenen *Salmonella* serotiplerinin haritasını ortaya koyarak epidemiyolojiye katkı sağlamıştır. *S. Kimuenza*, *S. Escanaba* ve *S. Nagoya*'nın yumurtacı tavuklarda izolasyonu Türkiye'de, *S. Dibra*, *S. Fallowfield* ve *S. Szentes* ve *Salmonella* II 17: e, n, x, z₁₅: 1,6'nın dünyada ilk kez rapor edilmiş olmasıyla tamamlayıcı sonuçlar elde edilmiştir. Bu nedenle, çalışmamız *Salmonella* serovarlarının çeşitliliği hakkında yeni bilgiler sağlamış ve özellikle serbest gezen yumurtacı tavuklarda *S. Typhimurium*'un rolünü göstermiştir. Ayrıca, elde ettiğimiz serotiplerin antibiyotiklere olan duyarlılıkları belirlenerek, yumurtacı tavuklarda antimikrobiyal direnç profillerinin izlenmesi sağlanmıştır. İlk kez kamfor yüklü kitosan gümüş nanopartikülü sentezleyerek antimikrobiyal ajan arayışında tatmin edici sonuçlar alınmıştır. Bu nedenle çalışmamız, hayvan sağlığı ve hijyeni için gümüş nanopartikülleri kullanarak zararlılık, aşındırıcılık, toksisite, yüksek maliyet ve bakteriyel direnç gibi çeşitli sorunların üstesinden gelmeyi amaçlayan çalışmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

Absalan, A., Ehrampoush, M., Davoudi, M., Vakili, T., & Ebrahimi, A. (2012). Antibacterial effects of hydrogen peroxide and silver composition on selected pathogenic *Enterobacteriaceae*. *Int. J. Environ. Health Eng.*, *1*, 23.

Achtman, M., Wain, J., Weill, F.X., Nair, S., Zhou, Z., & et al. (2012). Multilocus Sequence Typing as a Replacement for Serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathog.*, *8*, e1002776.

Ahmed, T.A. & Aljaeid, B.M. (2016). Preparation, characterization, and potential application of chitosan, Chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. *Drug Des. Dev. Ther.*, *10*, 483–507.

Aksoy, A., El Kahlout, K.E.M. & Yardimci, H. (2019). Comparative Evaluation of the Effects of Benzalkonium Chloride, Iodine, Gluteraldehyde and Hydrogen Peroxide Disinfectants against Avian Salmonellae Focusing on Genotypic Resistance Pattern of the Salmonellae Serotypes toward Benzalkonium Chloride. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *22*, 1-12.

Aksoycan, N., Erdem, B. & Sađanak, İ. (1991). *Salmonella* Enteritidis ile oluşan besin zehirlenmesi. *Enfeksiyon Derg.*, *5*, 65-6.

Alessiani, A., Goffredo, E., Mancini, M., Occhiochiuso, G., Faleo, S., Didonna, A., Fischetto, R., Suglia, F., De Vito, D., Stallone, A., D'Attoli, L. & Donatiello A. (2022). Evaluation of antimicrobial resistance in *Salmonella* strains isolated from food, animal and human samples between 2017 and 2021 in Southern Italy. *Microorganisms*, *10*, 812.

Ali, M.J., Sharafaldin, A.M., Majid, P., Mahdi, F.R., Kazem, A., Hajar, R., Zuhair, M.H., Mahdi, K.M., & Reza, M. (2014). Curcumin-loaded chitosan tripolyphosphate nanoparticles as a safe, natural and effective antibiotic inhibits the infection of

Staphylococcus aureus and *Pseudomonas aeruginosa* in vivo. *Iran. J. Biotechnol.*, *12*, 1–8.

Ali, K.O. (1985). *Salmonella Serotypes Isolated From Poultry & Poultry Meat*. M.Sc. Thesis, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq.

Alkhalifa, S., Jennings, M.C., Granata, D., Klein, M., Wuest, W.M., Minbiole, K.P.C., & Carnevale, V. (2019). Analysis of the Destabilization of Bacterial Membranes by Quaternary Ammonium Compounds: A Combined Experimental and Computational Study. *ChemBioChem*, *21*, 1510–1516.

Andrews, S.C., Robinson, A.K., & Rodríguez-Quiñones, F. (2003). Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiol. Rev.*, *27*, 215–237.

Artasensi, A., Mazzotta, S., & Fumagalli, L. (2021). Back to Basics: Choosing the Appropriate Surface Disinfectant. *Antibiotics*, *10*, 613.

Ata Z. & Aydın N. (2008). Isolation of *Salmonella* spp. in Ankara region poultry plants. *J. Ankara Univ. Vet. Fac.*, *55*, 161–166.

Avadi, M., Sadeghi, A., Tahzibi, A., Bayati, K., Pouladzadeh, M., Zohuriaan-Mehr, M., & Rafiee-Tehrani, M. (2004). Diethylmethyl chitosan as an antimicrobial agent: Synthesis, characterization and antibacterial effects. *Eur. Polym. J.*, *40*, 1355–1361.

Azimi, T., Zamirnasta, M., Sani, M.A., Mehdi, M., Dallal, S., & Nasser, A. (2020). *Infection and Drug Resistance*, *13*, 11–26.

Badawy, M.E.I., Lotfy, T.M.R., & Shawir, S.M.S. (2019). Preparation and antibacterial activity of chitosan-silver nanoparticles for application in preservation of minced meat. *Bull. Natl. Res. Cent.*, *43*, 83.

Banach, M., Tymczyna, L., Chmielowiec-Korzeniowska, A. & Pulit Prociak, J. (2016). Nanosilver biocidal properties and their application in disinfection of hatchers in poultry processing plants, *Bioinorg. Chem. Appl.*, *2016*, 1–15.

Barrow, P.A. & Freitas Neto O.C. (2011). Pullorum disease and fowl typhoid—new thoughts on old diseases, a review. *Avian Pathol.*, *40*, 1–13.

Barta, M.L., Guragain, M., Adam, P., Dickenson, N.E., Patil, M., Geisbrecht, B.V., Picking, W.L., & Picking, W.D. (2012). Identification of the bile salt binding site on IpaD from *Shigella flexneri* and the influence of ligand binding on IpaD structure. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 80, 935–945

Baumler, A.J., Tsolis, R.M., Bowe, F.A., Kusters, J.G., Hoffmann, S., & Heffron, F. (1996). The pef fimbrial operon of *Salmonella* Typhimurium mediates adhesion to murine small intestine and is necessary for fluid accumulation in the infant mouse. *Infection and Immunity*, 64, 61-68.

Ben Hassena, A. (2021). Virulence and resistance genes profiles and clonal relationships of non-typhoidal food-borne *Salmonella* strains isolated in Tunisia by whole genome sequencing. *International Journal of Food Microbiology*, 337, 108941.

Bernal-Bayard, J. & Ramos-Morales, F. (2009). *Salmonella* type III secretion effector SlrP is an E3 ubiquitin ligase for mammalian thioredoxin. *The Journal of Biological Chemistry*, 284, 27587-27595.

Berne, C., Ducret, A., Hardy, G.G., & Brun, Y.V. (2015) Adhesins involved in attachment to abiotic surfaces by Gram-negative bacteria. *Microbiology Spectrum.*, 3, MB-0018-2015.

Biao, L., Tan, S., Wang, Y., Guo, X., Fu, Y., Xu, F., Zu, Y., & Liu, Z. (2017). Synthesis, characterization and antibacterial study on the chitosan-functionalized Ag nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 76, 73-80.

Birsoy, K., Wang, T.C., Chen, W.W., Freinkman, E., Abu-Remaileh, M., & Sabatini, D.M. (2015). An essential role of the mitochondrial electron transport chain in cell proliferation is to enable aspartate synthesis. *Cell*, 162, 540–551.

Bishop, A. L., Baker S., Jenks S., Fookes M., Gaora P. O., Pickard D., Anjum M., Farrar J., Hien T. T., Ivens A., & Dougan G. (2005). Analysis of the hypervariable region of the *Salmonella enterica* genome associated with tRNA(LeuX). *J. Bacteriol.*, 187, 2469-2482.

Blanc-Potard, A.B. & Groisman, E.A. (1997). The *Salmonella* selC locus contains a pathogenicity island mediating intramacrophage survival. *The EMBO Journal.*, 16, 5376-5385.

Brenner, F.W., Villar, R.G., Angulo, F.J., Tauxe, R., & Swaminathan, B. (2000). *Salmonella* Nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 2465-2467.

Bruck, C. W. (1991). Role of glutaraldehyde and other liquid chemical sterilants in the processing of new medical devices, p. 376–396. In R. F. Morrissey and Y. I. Prokopenko (ed.), *Sterilization of medical products*, vol. V. Polyscience Publications, Morin Heights, Canada.

Bryan, F.L., Fanelli, M.J., & Reimann, H. (1979) "*Salmonella infections. In: Food borne infections & intoxications*". (Eds. Reimann H. & Bryan, F.L.). New York, USA. Academic Press, pp. 73-130.

Burrows, W. (1973). *The enteric bacilli In: Text book of Microbiology*. 20th ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 487-496.

Canpolat S. (2007). Çeşitli Hayvan Dışkılarında *Salmonella* Etkenlerinin Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemlerle Saptanması (Doktora Tezi). Ankara: Ankara Üniversitesi.

Cappuccino, J.G. & Sherman, N. (2007). "*Microbiology, a Laboratory Manual*". 8th ed., Inc. publishing, New York, Sydney, pp. 73, 103, 161-179.

Carlı, K.T., Eyigor, A. Caner, V. (2001). Prevalence of *Salmonella* serovars in chickens in Turkey. *J. Food Prot.*, 64, 1832–1835.

Carrique-Mas, J.J. & Davies, R.H. (2008). *Salmonella* Enteritidis in commercial layer flocks in Europe: legislative background, on-farm sampling and main challenges. *Braz. J. Poult. Sci.*, 10, 1–9.

Cava, F., Lam, H., De Pedro, M.A., & Waldor, M.K. (2010). Emerging knowledge of regulatory roles of d-amino acids in bacteria. *Cell. Mol. Life Sci.*, 68, 817–831.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 2007). Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – 10 states, *MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep.*, 57, 366–370.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 2022). Available online: <https://www.cdc.gov/foodsafety/communication/salmonella-food.html> (accessed on 12 August 2022).

Chandrasekaran, M., Kim, K.D., Chun, S.C. (2020). Antibacterial Activity of Chitosan Nanoparticles: A Review. *Processes*, 8, 1173.

Chen, W., Vermaak, I., & Viljoen, A. (2013). Camphor—A fumigant during the black death and a coveted fragrant wood in ancient Egypt and Babylon—A review. *Molecules*, 18, 5434–5454.

Cheng A.R. & Wiedmann M. (2019). The ADP-Ribosylating Toxins of *Salmonella*. *Toxins*, 11, 416, 1-16.

Cheng, R.A., Eade, C.R. & Wiedmann, M. (2019). Embracing Diversity: Differences in Virulence Mechanisms, Disease Severity, and Host Adaptations Contribute to the Success of Nontyphoidal *Salmonella* as a Foodborne Pathogen. *Front. Microbiol.*, 10, 1368.

Chessa, D., Dorsey, C.W., Winter, M., & Baumler, A.J. (2008). Binding specificity of *Salmonella* plasmid-encoded fimbriae assessed by glycomics. *The Journal of Biological Chemistry*, 283, 8118-8124.

Chessa, D., Winter, M.G., Jakomin, M., Baumler, A.J. (2009). *Salmonella enterica* serotype Typhimurium Std fimbriae bind terminal alpha (1,2) fucose residues in the cecal mucosa. *Molecular Microbiology*, 71, 864-875.

Chiu, C. H., Tang P., Chu C., Hu S., Bao Q., Yu J., Chou Y. Y., Wang H. S., & Lee Y. S. (2005). The genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis, a highly invasive and resistant zoonotic pathogen. *Nucleic Acids Res.*, 33, 1690-1698.

Chlebicz, A. & K. Slizewska. (2018). Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic foodborne diseases: a review. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, 15, 863.

Chong, A., Lee, S., Yang, Y.A., & Song, J. (2017). The Role of Typhoid Toxin in *Salmonella* Typhi Virulence. *Yale J Biol Med.*, 90, 283-290.

Chudobova, D., Nejdil, L., Gumulec, J., Krystofova, O., Rodrigo, M. A. M., Kynicky, J., Ruttkay-Nedecky, B., Kopel, P., Bubula, P., & Adam, V. (2013). Complexes of silver (I) ions and silver phosphate nanoparticles with hyaluronic acid and/or chitosan as promising antimicrobial agents for vascular grafts. *International journal of molecular sciences*, 14, 13592-13614.

Cirillo, D.M., Valdivia, R.H., Monack, D.M., & Falkow, S. (1998). Macrophage-dependent induction of the *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system and its role in intracellular survival. *Molecular Microbiology*, 30, 175-188.

CLSI, (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI, Wayne, PA Supplement M100.

CLSI, (2021). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31st ed. CLSI, Wayne, PA Supplement M100.

Coburn, B., Sekirov, I., & Finlay, B.B. (2007). Type III secretion systems and disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 20, 535-549.

Collinson, S. K., Clouthier, S. C., Doran, J. L., Banser, P. A., & Kay, W. W. (1996) *Salmonella* Enteritidis *agfBAC* operon encoding thin, aggregative fimbriae. *J. Bacteriol.*, 178, 662-667.

Collinson, S. K., Doig, P. C., Doran J. L., Clouthier S., Trust T. J., & Kay W. W. (1993). Thin, aggregative fimbriae mediate binding of *Salmonella* Enteritidis to fibronectin. *J Bacteriol.*, 175, 12-18.

Craig, L. & Li, J. (2008). Type IV pili: paradoxes in form and function. *Curr Opin Struct Biol.*, 18, 267-277.

Cudjoe, K.S., Krona, R., Gron, B., & Olsen, E. (1994). IMS: A new selective enrichment technique for detection of *Salmonella* in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 23, 159-165.

Cutts, T., Kasloff, S., Safronetz, D., & Krishnan, J. (2021). Decontamination of common healthcare facility surfaces contaminated with SARS-CoV-2 using peracetic acid dry fogging. *J. Hosp. Infect.*, 109, 82–87.

Çokal Y., Günaydin E., Goncagül G., Önat K. & Gökmen T.G. (2020). *Salmonella* serovars and antimicrobial resistance profiles in commercial layer flocks. *Isr. J. Vet. Med.*, 75, 23–30.

Dahan, S., Wiles, S., La Ragione, R.M., Best, A., Woodward, M.J., Stevens, M.P., Shaw, R.K., Chong, Y., Knutton, S., Phillips, A. & et al. (2005). EspJ is a prophage-

carried type III effector protein of attaching and effacing pathogens that modulates infection dynamics. *Infect. Immun.*, 73, 679–686.

D'Aoust, J. & Maurer, J. (2007). *Salmonella* species. In *Food microbiology: Fundamentals and Frontiers*, Doyle, M. P. and Beuchat, L. R. (Eds). ASM Press, Washington DC; pp:187-219.

Davies, R.H. & Breslin, M. (2003). Observations on *Salmonella* contamination of commercial laying farms before and after cleaning and disinfection. *Vet. Rec.*, 152, 283-287.

De Buck, J., Van Immerseel, F., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2005). Protection of laying hens against *Salmonella* Enteritidis by immunization with type 1 fimbriae. *Veterinary Microbiology*, 105, 93-101.

De Cesare, A. (2018). *Salmonella* in Foods: A Reemerging Problem. *Adv. Food Nutr. Res.*, 86, 137–179

Deiwick, J. & Hensel, M. (1999). Regulation of virulence genes by environmental signals in *Salmonella* Typhimurium. *Electrophoresis*, 20, 813-817.

Delgado, M.A., Mouslim, C., & Groisman, E.A. (2006). The PmrA/PmrB and RcsC/YojN/RcsB systems control expression of the *Salmonella* O antigen chain length determinant. *Mol Microbiol.*, 60, 39–50.

Denyer, S. P. (1995). Mechanisms of action of antibacterial biocides. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 36, 227–245.

Deshmukha, S.P., Patila, S.M., Mullania, S.B. & Delekara, S.D. (2019). Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Materials Science & Engineering C*, 97, 954–965.

Dewberry, E.B. (1959). *Food Poisoning*. 4th ed., London: Leonard Hill Limited.

Di Domenico, EG, Cavallo, I, Pontone, M, Toma, L, & Ensoli, F. (2017). Biofilm Producing *Salmonella* Typhi: Chronic Colonization and Development of Gallbladder Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1887.

Diker, K.S., Göncüoğlu, M., Şahin, G., Akan, M., Gürcan, İ.S., Müştak, H.K., Ayaz, N.D., Sarıçam, S., Salar, M.Ö., Açıkalın, H.D., Ünal, G., Çöven, F., Dakman, A.,

Gülaçtı, İ. & Uzunboy, E.N. (2020). Base study for the establishment of national *Salmonella* control program in hatching farms and table eggs in Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, *44*, 343–349.

DiRienzo, J.M. (2014). Uptake and processing of the cytolethal distending toxin by mammalian cells. *Toxins*, *6*, 3098-3116.

Dorsey, C.W., Laarakker M.C., Humphries A.D., Weening E.H., & Bäumler A.J. (2005). *Salmonella enterica* serotype Typhimurium MisL is an intestinal colonization factor that binds fibronectin. *Mol Microbiol.*, *57*, 196–211.

Doyle, M.P. & Erickson, M.C. (2006): Reducing the carriage of foodborne pathogens in livestock and poultry. *Poult. Sci.*, *85*, 960–973.

Dufrêne, Y.F. & Persat, A. (2020). Mechanomicrobiology: How bacteria sense and respond to forces. *Nat. Rev. Microbiol.*, *18*, 227–240.

Du, J., Reeves, A.Z., Klein, J.A., Twedt, D.J., Knodler, L.A., & Lesser, C.F. (2016). The type III secretion system apparatus determines the intracellular niche of bacterial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *113*, 4794–4799.

Dvorak, G. (2005). Disinfection Center for Food Security and Public Health, Iowa State University, 1-20.

Edwards RA, Schifferli DM, & Maloy SR. (2000). A role for *Salmonella fimbriae* in intraperitoneal infections. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*, 1258-1262.

Ehuwa, O., Jaiswal, A.K., & Jaiswal, S. (2021). *Salmonella*, Food Safety and Food Handling Practices. *Foods*, *10*, 907.

EFSA & ECDC (European Food Safety Authority and European Centre Prevention and Control), (2022). The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. *EFSA Journal.*, *20*, 7666-273.

EFSA, (2007). Report of the task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline study on the prevalence of *Salmonella* in holdings of laying hen flocks of *Gallus gallus*, *EFSA Journal.*, *2007*, 97.

EFSA, (2009). The Community Summary Report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. *EFSA Journal.*, 223, 21–109.

EFSA, (2010). Scientific Opinion on monitoring and assessment of the public health risk of “*Salmonella* Typhimurium-like” strains. *EFSA Journal*, 8, 1826.

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), (2019). Scientific opinion on the *Salmonella* control in poultry flocks and its public health impact. *EFSA Journal*, 17, 5596-155.

EFSA, (2021). The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA Journal.*, 19, 40–67.

Eltahlawy, K., El-Bendary, M.A., Elhendawy, A., & Hudson, S. (2005). The antimicrobial activity of cotton fabrics treated with different crosslinking agents and chitosan. *Carbohydr. Polym.*, 60, 421–430.

Espinoza R.A., Silva-Valenzuela C.A., Amaya F.A., Urrutia Í.M., Contreras I., & Santiviago C.A. (2017). Differential roles for pathogenicity islands SPI-13 and SPI-8 in the interaction of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhi with murine and human macrophages. *Biol Res.*, 50, 5.

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC, 2022). Rapid Outbreak Assessment: Multi-Country Outbreak of *Salmonella* Enteritidis Sequence Type (ST)11 Infections Linked to Eggs and Egg Products (Europa.Eu). Available online: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/multi-country-outbreak-salmonella-enteritidis-sequence-type-st11-infections> (accessed on 11 August 2022).

Ewing, W. H. (1986). Differentiation of Enterobacteriaceae by biochemical reaction. In *Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae*, 4th (edn). Elsevier Science Publishing Co. Inc., New York.

Eyigor A., Carlı K.T. & Unal C.B. (2002). Implementation of real-time PCR to tetrathionate broth enrichment step of *Salmonella* detection in poultry. *Lett. Appl. Microbiol.*, 34, 37–41.

Eyigor A. & Carlı K.T. (2003). Rapid detection of Salmonella from poultry by real-time polymerase chain reaction with fluorescent hybridization probes. *Avian Dis.*, 47, 380–386.

Eyigor A., Goncagul G., Gunaydin E. & Carlı K.T. (2005). *Salmonella* profile in chickens determined by real-time polymerase chain reaction and bacteriology from years 2000 to 2003 in Turkey. *Avian Pathol.*, 34, 101–105.

Fabrega, A. & Vila, J. (2013). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium skills to succeed in the host: Virulence and regulation. *Clinical Microbiology Reviews*, 26, 308-341.

Feiyang, M.A., Shixin, X.U., Zhaoxin, T., Zekun, L., & Zhang, L. (2021). Use of antimicrobials in food animals and impact of transmission of antimicrobial resistance on humans. *Biosaf. Health*, 3, 32–38.

Finlay, B.B., Ruschkowski, S., & Dedhar, S. (1991). Cytoskeletal rearrangements accompanying *Salmonella* entry into epithelial cells. *Journal of Cell Science*, 99, 283-296.

Fischbach, M.A., Lin, H., Zhou, L., Yu, Y., Abergel, R.J., Liu, D.R., Raymond, K.N., Wanner, B.L., Strong, R.K., Walsh, C.T., Aderem, A., & Smith, K.D. (2006). The pathogen-associated iroA gene cluster mediates bacterial evasion of lipocalin 2. *Proc Natl Acad Sci.*, 103, 16502–16507.

Fischbach, M.A., Lin, H., Liu, D.R., & Walsh, C.T. (2006). How pathogenic bacteria evade mammalian sabotage in the battle for iron. *Nature Chemical Biology.*, 2, 132-138.

Flo, T.H., Smith, K.D., Sato, S., Rodriguez, D.J., Holmes, M.A., Strong, R.K., Akira, S., & Aderem, A. (2004). Lipocalin 2 Mediates an Innate Immune Response to Bacterial Infection by Sequestering Iron. *Nature*, 432, 917–921.

Fluit, A. C. (2005). Towards more virulent and antibiotic-resistant *Salmonella*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 43, 1-11.

Fookes, M., Schroeder, G.N., Langridge, G.C., Blondel, C.J., Mammina, C., Connor, T.R., Seth-Smith, H., Vernikos, G.S., Robinson, K.S., Sanders, M., & et al.

(2011). *Salmonella bongori* provides insights into the evolution of the Salmonellae. *PLoS Pathog.*, 7, e1002191.

Forgaciu, A., Tabaran, A., Colobatiu, L., Mihaiu, R., Dan, S.D., & Mihaiu, M. (2022) Concerning Increase in Antimicrobial Resistance Patterns of Pathogenic Strains of *Salmonella* Isolated in Poultry Meat Products. *Antibiotics*, 11, 1469.

Gal-Mor, O., Boyle, E.C., & Grassl, G.A. (2014). Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ. *Front Microbiol*, 5, 391.

Gao, X., Deng, L., Stack, G., Yu, H., Chen, X., Naito-Matsui, Y., & et al. (2017). Evolution of host adaptation in the *Salmonella* typhoid toxin. *Nat. Microbiol.*, 2, 1592–1599.

Gao, R., Wang, L., & Ogunremi, D. (2020). Virulence Determinants of Non-typhoidal Salmonellae. *IntechOpen*, 1-26.

Garcia-del Portillo, F. & Finlay, B.B. (1994). *Salmonella* invasion of nonphagocytic cells induces formation of macropinosomes in the host cell. *Infection and Immunity*, 62, 4641-4645.

Gast, R.K. (2003) *Paratyphoid Infections In: Diseases of Poultry*. Saif RK, Barnes HJ, Glisson JR, Fady AM, Mcdougald IR & Swayne DE. 11th ed., Iowa State University Press, USA, pp. 583- 613.

Gast, R.K., Jones, D.R., Guraya, R., Anderson, K.E. & Karcher, D.M. (2020). Research note: Horizontal transmission and internal organ colonization by *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Kentucky in experimentally infected laying hens in cage-free housing. *Poult. Sci.*, 99, 6071-6074.

Gedikoğlu, S. (2013). Antijen Yapısı, *Salmonella*, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No.59, 65-72.

Gerlach, R.G., Claudio, N., Rohde, M., Jackel, D., Wagner, C., & Hensel, M. (2008). Cooperation of *Salmonella* pathogenicity islands 1 and 4 is required to breach epithelial barriers. *Cell Microbiol.*, 10, 2364–2376.

Gerlach, R.G. & Hensel, M. (2007). *Salmonella* pathogenicity islands in host specificity, host pathogen-interactions and antibiotics resistance of *Salmonella enterica*. *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift*, 120, 317

Gilbert, P. & McBain, A.J. (2003). Potential impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 16, 189–208.

Ginocchio, C.C., Rahn, K., Clarke, R.C., & Galan, J.E. (1997). Naturally occurring deletions in the centisome 63 pathogenicity island of environmental isolates of *Salmonella* spp. *Infection and Immunity*, 65, 1267-1272.

Gorman, S. & Scott, E. (2004). Chemical disinfectants, antiseptics and preservatives. Denyer, SP., Hodges, NA., Gorman, SP., (Eds.) *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology*, Wiley-Blackwell, Oxford, p.285–305.

Gray J. T. & Fedorka-Cray P.J. (2002). *Salmonella*. In *Foodborne Diseases*, 2nd (edn), Cliver, D. O. and Riemann, H. P. (Eds). Academic Press, San Diego; pp:55-68.

Grimont, P. A. D. & Weill, F. X. (2007). Antigenic Formulae of the *Salmonella* serovars, Ninth Edition. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Institut, Pasteur, Paris, France.

Guibourdenche, M., Roggentin, P., Mikoleit, M., Fields, P.I., Bockemühl, J., & Grimont, P.A.D. (2010). Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Res Microbiol.*, 161, 26–9.

Guidi, R., Levi, L., Rouf, S.F., Puiac, S., Rhen, M., & Frisan, T. (2013). *Salmonella enterica* delivers its genotoxin through outer membrane vesicles secreted from infected cells. *Cell Microbiol.*, 15, 2034–2050.

Guo, A., Cao, S., Tu L., Chen P., Zhang C., Jia A., Yang W., Liu Z., Chen H., & Schifferli D. M. (2009). FimH alleles direct preferential binding of *Salmonella* to distinct mammalian cells or to avian cells. *Microbiology*, 155, 1623-1633.

Guthrie, R. (1991). Taxonomy and Grouping of the *Salmonella*, In *Salmonella*. *CRC press*. p.23-40.

Hansmeier, N., Miskiewicz, K., Elpers, L., Liss, V., Hensel, M., & Sterzenbach, T. (2017). Functional expression of the entire adhesiome of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Scientific Reports.*, 7, 10326

Hantke, K., Nicholson, G., Rabsch W., & Winkelmann, G. (2003). Salmochellins, siderophores of *Salmonella enterica* and uropathogenic *Escherichia coli* strains, are recognized by the outer membrane receptor IroN. *PNAS*, 100, 3677-3682

Hardt, W. D., Chen, L. M., Schuebel, K. E., Bustelo, X. R., & Galán, J. E. (1998). *S. Typhimurium* encodes an activator of Rho GTPases that induces membrane ruffling and nuclear responses in host cells. *Cell*, 93, 815-826.

Heffernan, E.J., Reed, S., Hackett, J., Fierer, J., Roudier, C., & Guiney, D. (1992). Mechanism of resistance to complement-mediated killing of bacteria encoded by the *Salmonella Typhimurium* virulence plasmid gene rck. *J. Clin. Invest.*, 90, 953–964.

Hendriksen, R.S. & Vierira, A.R. (2011). Global Monitoring of *Salmonella* Serovar Distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: Results of Quality Assured Laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8, 887-900.

Hensel M. (2004). Evolution of pathogenicity island of *Salmonella enterica*. *International Journal of Medical Microbiology*, 294, 95-102

Hensel M., Shea, J. E., Waterman, S. R., Mundy, R., Nikolaus, T., Banks, G., Vázquez-Torres, A., Gleeson, C., Fang, F. C., & Holden, D. W. (1998). Genes encoding putative effector proteins of the type III secretion system of *Salmonella* pathogenicity island 2 are required for bacterial virulence and proliferation in macrophages. *Mol. Microbiol.*, 30, 163-174.

Heravi, M.M., Janati, F., & Zadsirjan, V. (2020). Applications of Knoevenagel condensation reaction in the total synthesis of natural products, *Monatsh. Chem.*, 151, 439–482.

Heseltine, P. (2002). Disinfection, Sterilization, and Preservation, 5th ed. SS Block, ed.; Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001; 1504 pages. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, 23, 109.

Hiom, S. J., Furr, J. R., Russell, A. D., & Dickinson, J. R. (1992). Effects of chlorhexidine diacetate on *Candida albicans*, *C. glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Appl. Bacteriol.*, 72, 335–340.

Hodagari, H.R, Habib, I., Whiddon, S., Wang P., Mohammed, A.B., Robertson, I. & Goodchild, S. (2020). Occurrence and characterization of *Salmonella* isolated from table egg layer farming environments in Western Australia and insights into biosecurity and egg handling practices, *Pathogens*, 9, 1–15.

Horiuchi, S., Inagaki, Y., Okamura, N., Nakaya, R., & Yamamoto, N. (1992). Type 1 pili enhance the invasion of *Salmonella* Braenderup and *Salmonella* Typhimurium to HeLa cells. *Microbiology and Immunology.*, 36, 593-602.

HPA (Health Protection Agency). (2010). *Salmonella* in humans (excluding *S. Typhi*; *S. Paratyphi*). Faecal and lower gastrointestinal tract isolates reported to the Health Protection Agency Centre for Infections. England and Wales.1990-2008. Accessed November 7, 2023.

Hu, B., Lara-Tejero, M., Kong, Q., Galan, J.E., & Liu, J. (2017). In situ molecular architecture of the *Salmonella* type III secretion machine. *Cell*, 168, 1065-1074.

Huang, L., Cheng, X., Liu, C., Xing, K., Zhang, J., Sun, G., Li, X., & Chen, X. (2009). Preparation, characterization, and antibacterial activity of oleic acid-grafted chitosan oligosaccharide nanoparticles. *Front. Biol. China*, 4, 321–327.

Hulaj, B., Cabeli, P., Goga, I., Taylor, N., Hess, C. ve Hess, M.I. (2016). Survey of the prevalence of *Salmonella* species on laying hen farms in Kosovo. *Poult. Sci.*, 95, 2030–2037.

Huneau-Salaün, A., Marianne, C., Sophie, L.B., Françoise, L., Isabelle, P., Sandra, R., Virginie, M., Philippe, F. & Nicolas, R. (2009). Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* contamination in 519 French laying hen flocks at the end of the laying period. *Prev. Vet. Med.*, 89, 51–58.

Humphrey, T. (2006). Are happy chickens safer chickens? Poultry welfare and disease susceptibility. *Br. Poult. Sci.*, 47, 379–391

Humphries, A.D., Raffatellu, M., Winter, S., Weening, E.H., Kingsley, R.A., Droleskey, R., & et al. (2003). The use of flow cytometry to detect expression of subunits

encoded by 11 *Salmonella enterica* serotype Typhimurium fimbrial operons. *Molecular Microbiology*, 48, 1357-1376.

Im M.C., Jeong S.J., Kwon Y.K., Jeong O.M., Kang M.S. & Lee Y.J. (2015). Prevalence and characteristics of *Salmonella* spp. isolated from commercial layer farms in Korea, *Poult. Sci.*, 94, 1691–1698.

Iwabuchi, E., Maruyama, N., Hara, A., Nishimura, M., Muramatsu, M., Ochiai, T. & Hirai K. (2010). Nationwide survey of *Salmonella* prevalence in environmental dust from layer farms in Japan. *J. Food Prot.*, 73, 1993–2000.

Izgur, M. (2006). *Salmonella* İnfeksiyonları, Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar), *İlke-Emek Yayınları*, Ankara, 116-121.

İnce S.S. & Akan M. (2023). Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in commonly isolated *Salmonella* serovars from chickens. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 47, 19–25.

Jiang L, Feng L, & Yang B. (2017). Signal transduction pathway mediated by the novel regulator LoiA for low oxygen tension induced *Salmonella* Typhimurium invasion. *Plos Pathogens*, 13, e1006429.

Jiao, Y., Niu, L. N., Ma, S., Li, J., Tay, F.R., & Chen, J. H. (2017). Quaternary ammonium-based biomedical materials: State-of-the-art, toxicological aspects and antimicrobial resistance. *Prog. Polym. Sci.*, 71, 53–90.

Jennings, E., Thurston, T.L.M., & Holden, D.W. (2017). *Salmonella* SPI-2 type III secretion system effectors: Molecular mechanisms and physiological consequences. *Cell Host Microbe*, 22, 217–231.

Johnson, R., Mylona, E. & Frankel, G. (2018) ‘Typhoidal *Salmonella*: Distinctive virulence factors and pathogenesis’, *Cellular Microbiology*, 20, 1–14.

Jones, I.A. & Joshi, L.T. (2021). Biocide Use in the Antimicrobial Era: A Review. *Molecules*, 26, 2276.

Joshi, M., Ali, S.W., & Purwar, R. (2009). Ecofriendly antimicrobial finishing of textile using bioactive agents based on natural products. *Indian J. Fibre Text. Res.*, 30, 295–304.

Julia, A.H. & Aaron E.M. (2020). Antibodies Inhibiting the Type III Secretion System of Gram-Negative Pathogenic Bacteria-Review. *Antibodies*, 9, 35.

Kalender H. & Muz A. (1999). Typing of *Salmonella* species isolated from chickens in Elâzığ region, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 23, 297–303.

Kahya S., Eyigor A. & Carlı K.T. (2013). Comparison of different sample types for *Salmonella* detection from chicken layer breeder flocks. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 32, 19–24.

Kahya, S., Tuğ, B.K., Temelli, S., Carlı, K.T. & Eyigor, A. (2014). Detection of *Salmonella* from layer flocks and typing of the isolates. *Kafkas Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 20, 939–944.

Kammoun, M., Haddar, M., Kallel, T.K., Dammak, M., & Sayari, A. (2013). Biological properties and biodegradation studies of chitosan biofilms plasticized with PEG and glycerol. *Int. J. Boil. Macromol.*, 62, 433–438.

Karthik, C.S., Manukumar, H.M., Ananda, A.P., Nagashree, S., Rakesh, K.P., Mallesha, L., Hua-Li Qin, Umeshab, S., Mallu, P. & Krishnamurthy, N.B. (2018). Synthesis of novel benzodioxane midst piperazine moiety decorated chitosan silver nanoparticle against biohazard pathogens and as potential anti-inflammatory candidate: A molecular docking studies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 489–502.

Kawamura-Sato, K., Wachino, J., Kondo, T., Ito, H., & Arakawa Y. (2010). Correlation between reduced susceptibility to disinfectants and multidrug resistance among Clinical isolates of *Acinetobacter* species. *J. Antimicrob. Chemother.*, 65, 1975–1983.

Kingsley, R.A., Humphries, A.D., Weening, E.H., De Zoete, M.R., Winter, S., Papaconstantinopoulou, A., & et al. (2003). Molecular and phenotypic analysis of the CS54 island of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium: Identification of intestinal colonization and persistence determinants. *Infection and Immunity*, 71, 629-640.

Kingsley, R.A, Abi Ghanem, D., Puebla-Osorio, N., Keestra, A.M., Berghman, L., & Baumler, A.J. (2004). Fibronectin binding to the *Salmonella enterica* serotype

Typhimurium ShdA autotransporter protein is inhibited by a monoclonal antibody recognizing the A3 repeat. *Journal of Bacteriology*, 186, 4931-4939.

Kingsley, R.A., van Amsterdam, K., Kramer, N., & Baumler, A.J. (2000). The *shdA* gene is restricted to serotypes of *Salmonella enterica* subspecies I and contributes to efficient and prolonged fecal shedding. *Infection and Immunity*, 68, 2720-2727.

Kiss, T., Morgan, E., & Nagy, G. (2007). Contribution of SPI-4 genes to the virulence of *Salmonella enterica*. *FEMS Microbiol Lett.*, 275, 153–159.

Knodler, L.A., Celli, J., Hardt, W.D., Vallance, B.A., Yip, C., & Finlay, B.B. (2002). *Salmonella* effector within a single pathogenicity island are differently expressed and translocated by separate type III secretion system. *Molecular Microbiology*, 43, 1664-1668.

Kombade S. & Kaur N. (2021). Pathogenicity Island in *Salmonella*, *IntechOpen*, 1-14.

Kong, Q., Yang, J., Liu, Q., Alamuri, P., Roland, K.L., & Curtiss, R. (2011). Effect of deletion of genes involved in lipopolysaccharide core and O-antigen synthesis on virulence and immunogenicity of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Infect. Immun.*, 79, 4227.

Kong, M., Chen, X., Xing, K., & Park, H.J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *Int. J. Food Microbiol.*, 144, 51–63.

Konopka, M., Kowalski, Z., Wzorek, Z. (2009). Disinfection of meat industry equipment and production rooms with the use of liquids containing silver nano-particles. *Arch. Environ. Prot.*, 35, 107–115.

Kravanja, G., Primožic, M., Knez, Ž, & Leitgeb, M. (2019). Chitosan-Based (nano) materials for novel biomedical applications. *Molecules*, 24, 1960.

Krewulak, K.D., Peacock, S., Vogel, H.J., Iron Transp Bact., Crosa J.H., Mey A.R., & Payne, S.M. (Ed.) (2004). ASM Press, Washington D.C., 113-129.

Kuhle, V. & Hensel M. (2004). Cellular microbiology of intracellular *Salmonella enterica*: functions of the type III secretion system encoded by *Salmonella* pathogenicity island 2. *Cell. Mol. Life Sci.*, *61*, 2812-2826.

Kwasniewska, D., Chen, Y. L., & Wieczorek, D. (2020). Biological Activity of Quaternary Ammonium Salts and Their Derivatives. *Pathogens*, *9*, 459.

Langridge, G.C., Fookes, M., Connor, T.R., Feltwell, T., Feasey, N., Parsons, B.N., Seth-Smith, H.M., Barquist L., Stedman A., & Humphrey T. (2015). Patterns of genome evolution that have accompanied host adaptation in *Salmonella*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, *112*, 863–868.

Lapuz, R.R.S.P., Umali, D.V., Suzuki, T., Shirota, K. & Katoh, H. (2012). Comparison of the prevalence of *Salmonella* infection in layer hens from commercial layer farms with high and low rodent densities. *Avian Dis.*, *56*, 29–34.

Latasa, C., Roux A., Toledo-Arana, A., Ghigo, J.M., Gamazo, C., Penades, J.R., & Lasa, I. (2005). BapA, a large secreted protein required for biofilm formation and host colonization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Mol. Microbiol.*, *58*, 1322–1339.

Ledeboer, N.A., Frye, J.G., McClelland, M., & Jones, B.D. (2006). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium requires the Lpf, Pef, and Tafi fimbriae for biofilm formation on HEp-2 tissue culture cells and chicken intestinal epithelium. *Infection and Immunity*, *74*, 3156-3169.

Lee, A.K., Detweiler, C.S., & Falkow, S. (2000). OmpR regulates the two-component system SsrA-ssrB in *Salmonella* pathogenicity island 2. *Journal of Bacteriology*, *182*, 771-781.

Leggett, M.J., Schwarz, J.S., Burke, P.A., McDonnell, G., Denyer, S.P. & Maillard, J.Y. (2016). Mechanism of sporicidal activity for the synergistic combination of peracetic acid and hydrogen peroxide. *Appl. Environ. Microbiol.*, *82*, 1035-1039.

Leitão, J.H., Sousa, S.A., Leite, S.A., Carvalho, M.F.N.N. (2018). Silver Camphor Imine Complexes: Novel Antibacterial Compounds from Old Medicines. *Antibiotics*, *7*, 65.

Lerouge, I. & Vanderleyden, J. (2002). O-antigen structural variation: Mechanisms and possible roles in animal/plant-microbe interactions. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, 17-47.

Lesnick, M.L., Reiner, N.E., Fierer, J., & Guiney, D.G. (2001). The *Salmonella* spvB virulence gene encodes an enzyme that ADP-ribosylates actin and destabilizes the cytoskeleton of eukaryotic cells. *Mol. Microbiol.*, 39, 1464–1470.

Li, X., Payne, J.B., Santos, F.B., Levine, J.F., Anderson, K.E. & Sheldon, B.W. (2007). *Salmonella* populations and prevalence in layer feces from commercial high-rise houses and characterization of the *Salmonella* isolates by serotyping, antibiotic resistance analysis, and pulsed field gel Electrophoresis. *Poult. Sci.*, 86, 591–597.

Li, B., Wang, X., Chen, R., Huangfu, W., & Xie, G. L. (2008). Antibacterial activity of chitosan solution against *Xanthomonas* pathogenic bacteria isolated from *Euphorbia pulcherrima*. *Carbohydr. Polym.*, 72, 287–292.

Li, K., Chiu, Y. C., Jiang, W., Jones, L., Etienne, X. & Shen, C. (2020). Comparing the Efficacy of Two Triple-Wash Procedures With Sodium Hypochlorite, a Lactic–Citric Acid Blend, and a Mix of Peroxyacetic Acid and Hydrogen Peroxide to Inactivate *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, and Surrogate *Enterococcus faecium* on Cucumbers and Tomatoes. *Front. Sustain. Food Syst.* 4, 19.

Lim, S., Choi, J., Kim, D., & Seo, H.S. (2016). Transcriptional analysis of the *iagB* within *Salmonella* pathogenicity island 1 (SPI1). *Journal of Bacteriology and Virology*, 46, 128-134.

Lin, H., Fischbach M.A., Liu, D.R., & Walsh, C.T. (2005). *In vitro* characterization of salmochelin and enterobactin trilactone hydrolases IroD, IroE, and Fes. *J. Am. Chem. Soc.*, 127, 11075–11084.

Mahmoudi, M. & Serpooshan, V. (2012). Silver-coated engineered magnetic nanoparticles are promising for the success in the fight against antibacterial resistance threat, *ACS Nano.*, 6, 2656–2664.

Maki-Yonekura, S., Matsuoka, R., Yamashita, Y., Shimizu, H., Tanaka, M., Iwabuki, F., & Yonekura, K. (2018). Hexameric and pentameric complexes of the ExbBD energizer in the Ton system, *eLife*, 7, e35419.

Maluin, F.N. & Hussein, M. (2020). Chitosan-based agronanochemicals as a sustainable alternative in crop protection. *Molecules*, 25, 1611.

Manukumar, H.M., Umesha, S., & Naveen Kumar, H.N. (2017). Promising biocidal activity of thymol loaded chitosan silver nanoparticles (T-C@AgNPs) as anti-infective agents against perilous pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 1257–1265.

Marin, C., Hernandez A. & Lainez M. (2009). Biofilm development capacity of *Salmonella* strains isolated in poultry, risk factors and their resistance against disinfectants. *Poult. Sci.*, 88, 424–431.

Martin, N.L., Bass, P., & Liss, S.N. (2015). Antibacterial properties and mechanism of activity of a novel silver-stabilized hydrogen peroxide. *PLoS ONE*, 10, e0131345.

Matthew, F.B. & Nels, C.E. (2015). Buried Treasure: Evolutionary Perspectives on Microbial Iron Piracy-Review. *Trends in Genetics*, 31, 627-636.

McDonnell, G. & Russell, A.D. (1999). Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12, 147–179.

McDonnell, G. & Russell, A.D. (2001): Antiseptics and Disinfectants: Activity, action and Resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 14, 227.

McDonnell, G. (2014). The Use of Hydrogen Peroxide for Disinfection and Sterilization Applications. In Patai's Chemistry of Functional Groups; John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, pp. 1–34.

McClelland, M., Sanderson, K.E., & Clifton, S.W. (2004). Comparison of genome degradation in Paratyphi A and Typhi, human-restricted serovars of *Salmonella enterica* that cause typhoid. *Nat Genet.*, 36, 1268.

McGhie, E.J., Hayward, R.D., & Koronakis, V. (2001). Cooperation between actin-binding proteins of invasive *Salmonella*: SipA potentiates SipC nucleation and bundling of actin. *The EMBO Journal*, 20, 2131–2139.

Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. McCaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, & Tauxe, R. V. (1999). Food-related illness and death in the united states. *Emerg. Infect. Dis.*, *5*, 607–625.

Merchant I.A. & Packer R.A. (1977). *Veterinary Bacteriology & Virology*. 7th ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, pp. 286-290.

Meresse, S., Unsworth, K.E., Habermann, A., Griffiths, G., Fang, F., Martinez-Lorenzo, M.J., & et al. (2001). Remodelling of the actin cytoskeleton is essential for replication of intravacuolar *Salmonella*. *Cellular Microbiology*, *3*, 567-577.

Metak, A. & Ajaal, T. (2013). Investigation on polymer based nano-silver as food packaging materials. *International J. Bio. Food.Veter. Agri. Eng.*, *7*, 772–778.

Miao, E.A., Brittnacher, M., Haraga, A., Jeng, R.L., Welch, M.D., & Miller, S.I. (2003). *Salmonella* effectors translocated across the vacuolar membrane interact with the actin cytoskeleton. *Mol. Microbiol.*, *48*, 401–415.

Miethke, M. & Marahiel, M.A. (2007). Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *4*, 413-451.

Mishra, A., Pradhan, D., Halder, J., Biswasroy, P., Kumar, Rai, V., Dubey, D., Kar, B., Ghosh, G., & Rath, G. (2022). Metal nanoparticles against multi-drug-resistance bacteria. *Journal of Inorganic Biochemistry*, *237*, 111938.

Misselwitz, B., Barrett, N., Kreibich, S., Vonaesch, P., & Andritschke, D. (2012). Near surface swimming of *Salmonella* Typhimurium explains target-site selection and cooperative invasion. *PLOS Pathogens*, *8*, e1002810.

Mollenhorst H., Van Woudenberg C.J., Bokkers E.G.M. & De Boer I.J.M. (2005). Risk factors for *Salmonella* Enteritidis infections in laying hens. *Poult. Sci.*, *84*, 1308–1313.

Moncrief, M.B. & Maguire, M.E. (1998). Magnesium and the role of MgtC in growth of *Salmonella* Typhimurium. *Infection and Immunity*, *66*, 3802-3809.

Montagnin, C., Cawthraw, S., Ring, I., Osmaneli, F., Smith, R.P., Davies, R. & Martelli, F. (2022). Efficacy of Five Disinfectant Products Commonly Used in Pig Herds

against a Panel of Bacteria Sensitive and Resistant to Selected Antimicrobials. *Animals*, 12, 2780.

Montville, T. J. & Matthews, K. R. (2008). *Food Microbiology: An Introduction*, 2nd (edn). United States of America: ASM Press, Washington, DC; pp:428.

Moretro, T., Heir, E., Nesse, L.L., Vestby, K.L., & Langsrud, S. (2012). Control of *Salmonella* in Food related environments by chemical disinfection. *Food. Res.*, 45, 532-544.

Morgan, E., Bowen, A.J., Carnell, S.C., Wallis, T.S., & Stevens, M.P. (2007). SiiE is secreted by the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium pathogenicity island 4-encoded secretion system and contributes to intestinal colonization in cattle. *Infection and Immunity*, 75, 1524-1533.

Morgan, E., Campbell, J.D., Rowe, S.C., Bispham, J., Stevens, M.P., Bowen, A.J., & et al. (2004). Identification of host-specific colonization factors of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Molecular Microbiology*, 54, 994-1010.

Morrow, B.J., Graham, J.E., Curtiss, R. 3rd. (1999). Genomic subtractive hybridization and selective capture of transcribed sequences identify a novel *Salmonella* Typhimurium fimbrial operon and putative transcriptional regulator that are absent from the *Salmonella* Typhi genome. *Infection and Immunity*, 67, 5106-5116.

Murugadoss, A., & Chattopadhyay, A. (2007). A 'green' chitosan–silver nanoparticle composites as a heterogeneous as well as micro-heterogeneous catalyst. *Nanotechnology*, 19(1), 1-9.

Myrvik, Q.N., Pearsall, N.N., & Weiser, R.S. (1976). *Salmonella In: Fundamental of Medical Bacteriology & Mycology*. Chapter 18, Henry Kimpton Publisher, London, pp. 245-247.

Nasr, S.A.E., et al., (2018). Effect of some commercially available disinfectants against *E.coli* O126 and *Salmonella* Kentucky strains isolated from Ostrich farm environment. *Journal of the Egyptian Veterinary Medical Association*, 78, 887-896.

Nia, J.R. (2007). Using of Nanosilver in Poultry, Livestock and Aquatics Industry. *Google Patents*.

Nicholson, B. & Low, D. (2000). DNA methylation-dependent regulation of pef expression in *Salmonella* Typhimurium. *Molecular Microbiology*, 35, 728-742.

Nieto, P.A., Pardo-Roa, C., Salazar-Echegarai, F.J., Tobar, H.E., Coronado-Arrazola, I., Riedel, C.A., & et al. (2016). New insights about excisable pathogenicity islands in *Salmonella* and their contribution to virulence. *Microbes and Infection*, 18, 302-309.

Nishio M, Okada N, Miki T, Haneda T, & Danbara H. (2005). Identification of the outer-membrane protein PagC required for the serum resistance phenotype in *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis. *Microbiology.*, 151, 863-873

Norris, T.L., Kingsley, R.A., & Bumler, A.J. (1998). Expression and transcriptional control of the *Salmonella* Typhimurium Ipf fimbrial operon by phase variation. *Molecular Microbiology*, 29, 311-320.

Nunez, M.E., Martin, M.O., Chan, P.H., Duong, L.K., Sindhurakar, A.R., & Spain, E.M. (2005). Atomic force microscopy of bacterial communities. *Methods Enzymol.*, 397, 256-268.

Nwabor, O.F., Dickson I.D., & Ajibo Q.C. (2015). Epidemiology of *Salmonella* and Salmonellosis. *International Letters of Natural Sciences*, 47, 54-73.

Ohl, M.E. & Miller, S.I. (2001). *Salmonella*: A model for bacterial pathogenesis. *Annual Review of Medicine*, 52, 259-274.

Olsen, A., Arnqvist, A., Hammar, M., Sukupolvi, S., & Normark, S. (1993). The RpoS sigma factor relieves H-NS-mediated transcriptional repression of *csgA*, the subunit gene of fibronectin-binding curli in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.*, 7, 523-536.

Onbaşı, D., Yuvalı Çelik, G., Durbilmez, G.D., & Öçsoy, İ. (2018). Kitosan-Gümüş Nanopartikülü ve Kitosan-Gümüş-Grafen Oksit Nanokompozitinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15, 208-215.

Orlando, P., Cristina, M.L., Dallera, M., Ottria, G., Vitale, A., & Badolati, G. (2008). Surface disinfection: Evaluation of the efficacy of a nebulization system spraying hydrogen peroxide. *J. Prev. Med. Hyg.*, 49, 116–119.

Özbakkaloğlu, B. (2003). Hastane Ortamında Kullanılacak Yüzey Dezenfektanları, 3. *Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Kongresi Kitabı*.

Özgen B. (2005). Aldehid İçeren Dezenfektanların Karşılaştırılması: Modifikasyonları Nelerdir? Katkıları Nelerdir? Kullanım İlkeleri Nelerdir? DAS Kongre Kitabı, Bilimsel Tıp Yayınevi, 167-179.

Park, H.K., Rhie, K., Yeom, J.S., Park, J.S., Park, E.S., Seo, J.H., Lim, J.Y., Park, C.H., Woo, H.O., & Youn, H.S. (2015). Differences in Clinical and Laboratory Findings between Group D and Non-Group D Non-Typhoidal *Salmonella* Gastroenteritis in Children. *Pediatr Gastroenterol. Hepatol. Nutr.*, 18, 85–93.

Paton, A.W. & Paton, J.C. (2010). *Escherichia coli* subtilase cytotoxin, *Toxins*, 2, 215–228.

Pawlak, A., Rybka, J., & Dudek, B. (2017). *Salmonella* O48 serum resistance is connected with the elongation of the lipopolysaccharide O-antigen containing sialic acid. *Int. J. Mol. Sci.*, 18.

Payne, J.B., Kroger, E.C. & Watkins, S.E. (2005). Evaluation of disinfectant efficacy when applied to the floor of poultry grow-out facilities. *J. Appl. Poult. Res.*, 14, 322–329.

Penheiter, K.L., Mathur, N., Giles, D., Fahlen, T., & Jones, B.D. (1997). Non-invasive *Salmonella* Typhimurium mutants are avirulent because of an inability to enter and destroy M cells of ileal Peyer's patches. *Molecular Microbiology*, 24, 697-709.

Peralta, R.C., Yokoyama, H., Ikemori, Y., Kuroki, M., & Kodama, Y. (1994). Passive immunisation against experimental salmonellosis in mice by orally administered hen egg-yolk antibodies specific for 14-kDa fimbriae of *Salmonella* Enteritidis. *Journal of Medical Microbiology*, 41, 29-35.

Perinelli, D.R., Fagioli, L., Campana, R., Lam, J.K., Baffone, W., Palmieri, G.F., & Bonacucina, G. (2018). Chitosan-based nanosystems and their exploited anti-microbial activity. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 117, 8–20.

Philpott, D.J., Edgeworth, J.D., & Sansonetti, P.J. (2000). The pathogenesis of *Shigella flexneri* infection: lessons from *in vitro* and *in vivo* studies. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.*, 355, 575–586.

Pickard, D., Wain, J., Baker, S., Line, A., Chohan, S., Fookes, M., Barron, A., Gaora, P.O., Chabalgoity J.A., Thanky N., Scholes, C., Thomson, N., Quail, M., Parkhill, J., & Dougan G. (2003). Composition, acquisition and distribution of vi exoploysaccharide- encoding *Salmonella* pathogenicity island SPI-7. *Journal of Bacteriology*, 185, 505-506.

Pollard, D.J., Young, J.C., Covarelli, V., Herrera-León, S., Connor, T.R., Fookes, M., Walker, D., Echeita, A., Thomson, N.R., Berger, C.N., & et al. (2016). The type III secretion system effector SeoC of *Salmonella enterica* subsp. *salamae* and *S. enterica* subsp. *arizonae* ADP-ribosylates Src and inhibits opsonophagocytosis. *Infect. Immun.*, 84, 3618–3628.

Popoff, M. Y. & Le Minor, L. (2005). *Salmonella*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd (edn), Brenner, D. J., Kreig, N. R. and Staley, J. T. (Eds). Springer, New York, USA; pp:764-799.

Power, E. G. M. (1995). Aldehydes as biocides. *Prog. Med. Chem.*, 34, 149– 201.

Procop, G.W., Church, D.L., Hall, G.S., Janda, W.M., Koneman, E.W., Schreckenberger, P.C & Woods, G.L. (2017). Koneman's Color Atlas & Textbook of Diagnostic Microbiology, 7th ed., Chapter: *Enterobacteriaceae*, 218-67, Wolters Kluwer.

Purohit, S.S., Saluja, A.K., & Kakrani, H.N. (2003). Pharmaceutical Microbiology, Agrobios, India, p.325-334.

Quinn, P.J. & Markey, B.K. (2001). Disinfection and disease prevention in veterinary medicine. In: *Disinfection, Sterilization And Preservation*. Ed: S.S. Block, Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins. 5th edition. p:1069-1103.

Raafat, D., Von Bargen, K., Haas, A., & Sahl, H. G. (2008). Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 3764– 3773.

Rabea, E.I. & Badawy, M.E. (2014). Antimicrobial activity of biopolymer chitosans and monoterpenes against the honeybee pathogens *paenibacillus* larvae and *ascosphaera apis*, *J. Chitin Chitosan Sci.*, 2, 306–310.

Rabsch, W., Andrews, H.L., Kingsley, R.A., Prager, R., Tschape, H., Adams, L. & Baulmer, A. (2002). *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and its host-adapted variants. *Infect. Immun.*, 70, 2249–2255.

Raetz, C.R. & Whitfield C. (2002). Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu. Rev. Biochem.*, 71, 635–700.

Rafiee, F. & Rezaee, M. (2021). Different strategies for the lipase immobilization on the chitosan based supports and their applications, *Int. J. Biol. Macromol.*, 179, 170–195.

Rajae, Z., Scheu, A.K., Abrini, J., Copa-Patiño, J.L., Nadia, A. & Nadia, S.S. (2022). *Salmonella* spp: prevalence, antimicrobial resistance and molecular typing of strains isolated from poultry in Tetouan-Morocco, *LWT*, 153, 112359.

Rajashekar, R., Liebl, D., Seitz, A., & Hensel, M. (2008). Dynamic remodeling of the endosomal system during formation of *Salmonella*-induced filaments by intracellular *Salmonella enterica*. *Traffic*, 9, 2100-2116.

Rauch, H.E., Vosik, D., Kariyawasam, S., M'ikanatha, N. & Shariat N.W. (2018). Prevalence of group I *Salmonella* Kentucky in domestic food animals from Pennsylvania and overlap with human clinical CRISPR sequence types. *Zoon. Pub. Health*, 65, 831–837.

Rodgers, J.D., McCullough, J. J., McNamee, P.T., Smyth, J. A. & Ball, H.J. (2001). An investigation into the efficacy of hatchery disinfectants against strains of *Staphylococcus aureus* associated with poultry industry. *Vet. Microbiology*, 82, 131-140.

Rousham, E.K., M. Asaduzzaman, T.A.U. Mozmader, M.B. Amin, M. Rahman, M.I. Hossain, M.R. Islam, Z.H. Mahmud, L. Unicomb, and M.A. Islam. (2021). Human Colonization with Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing, *E. coli* in Relation to Animal and Environmental Exposures in Bangladesh: An Observational One Health Study. *Environ. Health Perspect.*, 129, 037001.

Rozman, N.A.S., Tong, W.Y., Leong, C.R., Tan, W.N., Hasanolbasori, M.A., & Abdullah, S.Z. (2019). Potential antimicrobial applications of chitosan nanoparticles (ChNP). *J. Microbiol. Biotechnol.*, 29, 1009–1013.

Russell, A. D. & W. B. Hugo. (1988). Perturbation of homeostatic mechanisms in bacteria by pharmaceuticals, p. 206–219. *In* R. Whittenbury, G. W. Gould, J. G. Banks, and R. G. Board (ed.), *Homeostatic mechanisms in microorganisms*. Bath University Press, Bath, England.

Rutala, W.A. & Weber, D.J. (1997). Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev.*, *10*, 597-610.

Sabbagh, S.C., Forest, C.G., Lepage, C., Leclerc, J.M., & Daigle, F. (2010). So similar, yet so different: Uncovering distinctive features in the genomes of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Typhi. *FEMS Microbiology Letters*, *305*, 1-13.

Saitoh, M., Tanaka, K., Nishimori, K., Makino, S. i., Kanno, T., Ishihara, R., Hatama, S., Kitano, R., Kishima, M., & Sameshima, T. (2005). The artAB genes encode a putative ADP-ribosyltransferase toxin homologue associated with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104. *Microbiology.*, *151*, 3089–3096.

Salmond, G.P. & Reeves, P.J. (1993). Membrane traffic wardens and protein secretion in Gram-negative bacteria. *Trends in Biochemical Sciences*, *18*, 7-12.

Salvage, R., Hull, C.M., Kelly, D.E., & Kelly, S.L. (2014). Use of 70% alcohol for the routine removal of microbial hard surface bioburden in life science cleanrooms. *Future Microbiol.*, *9*, 1123–1130.

Scherer, C. A. & Miller, S. I. (2001). Molecular pathogenesis of Salmonellae. *In* *Principles of Bacterial Pathogenesis Principles of Bacterial Pathogenesis*, Groisman, E. A. (Ed). Academic Press, United States of America; pp:265-316.

Shah, D. H., Lee M. J., Park J. H., Lee J. H., Eo S. K., Kwon J. T., & Chae J. S. (2005) Identification of *Salmonella* Gallinarum virulence genes in a chicken infection model using PCR-based signature tagged mutagenesis. *Microbiology.*, *151*, 3957-3968.

Shah, D.H., Paul, N.C., Sisco, W.C., Crespo, R. & Guard J. (2017). Population dynamics and antimicrobial resistance of the most prevalent poultry-associated *Salmonella* serotypes. *Poult. Sci.*, *96*, 687–702.

Shea J. E., Hensel, M., Gleeson, C., & Holden, D. W. (1996). Identification of a virulence locus encoding a second type III secretion system in *Salmonella* Typhimurium. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, *93*, 2593-2597.

Snow L.C., Davies R.H., Christiansen K.H., Carrique J., Wales A., O'Connor J.L., Cook A.J. & Evans S.E. (2007). Survey of the prevalence of *Salmonella* species on commercial laying farms in the United Kingdom. *Vet. Rec.*, *161*, 471–476.

Sokolova, A.S., Yarovaya, O.I., Baev, D.S., Shernyuko, A.V., Shtro, A.A., Zarubaev, V. V., & Salakhutdinov, N.F. (2017). Aliphatic and alicyclic camphor imines as effective inhibitors of influenza virus H1N1, *Eur. J. Med. Chem.*, *127*, 661–670.

Sonthipet, S., Ruenphet, S. & Takehara, K. (2018). Bactericidal and virucidal efficacies of potassium monopersulfate and its application for inactivating avian influenza virus on virus-spiked clothes. *J Vet Med Sci.*, *80*, 568-573.

Soria, M.C., Soria, M.A., Bueno, D.J., Godano, E.I., Gomez, S.C., ViaButron, I.A., Padin, V.M. & Roge, A.D. (2017). *Salmonella* spp. contamination in commercial layer hen farms using different types of samples and detection methods. *Poult. Sci.*, *96*, 2820–2830.

Sotelo-Boyás, M., Correa-Pacheco, Z., Bautista-Baños, S., & Corona-Rangel, M. (2017). Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles and nanocapsules incorporated with lime essential oil and their antibacterial activity against food-borne pathogens. *LWT*, *77*, 15–20.

Spanò, S., Ugalde, J.E., & Galán, J.E. (2008). Delivery of a *Salmonella* Typhi exotoxin from a host intracellular compartment. *Cell. Host Microbe*, *3*, 30–38.

Steele-Mortimer, O. (2008). The *Salmonella*-containing vacuole: Moving with the times. *Curr. Opin. Microbiol.*, *11*, 38–45.

Steinberg, D., Heling, I., Daniel, I., & Ginsburg, I. (1999). Antibacterial synergistic effect of chlorhexidine and hydrogen peroxide against *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *J. Oral Rehabil.*, *26*, 151–156.

Sukupolvi, S., Lorenz, R. G., Gordon, J. I., Bian, Z., Pfeifer, J. D., Normark, S.J., & et al. (1997). Expression of thin aggregative fimbriae promotes interaction of *Salmonella* Typhimurium SR-11 with mouse small intestinal epithelial cells. *Infection and Immunity*, *65*, 5320-5325.

Şahan, Ö., Aral E.M., Aden, M.M.A., Aksoy, A., Yılmaz, Ö., Jahed, R. & Akan M. (2016). Distribution and antibiotic resistance of *Salmonella* isolates from broiler enterprizes in Turkey. *Ankara Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 63, 1–6.

Şık, Z., Altıntaş, Ö., Atıcı, E.G., Elitok, Y. & Şen, S. (2022). Distribution of *Salmonella* serovars of animal origin in Türkiye between 2015 and 2020. *J. Etlik Vet. Microbiol.*, 33, 7–14.

Tamamura, Y., Tanaka, K., & Uchida, I. (2017). Characterization of pertussis-like toxin from *Salmonella* spp. that catalyzes ADP-ribosylation of G proteins. *Sci. Rep.*, 7, 2653–2653.

Tamara, F.R., Lin, C., Mi, F.L., & Ho, Y.C. (2018). Antibacterial effects of chitosan/cationic peptide nanoparticles. *Nanomaterials*, 8, 88.

Taylor, N.M., Wales, A.D., Ridley, A.M., & Davies, R.H. (2016): Farm level risk factors for fluoroquinolone resistance in *E. coli* and thermophilic *Campylobacter* spp. on poultry farms. *Avian Pathol.*, 45, 559–568.

Temelli S., Kahya S., Eyigor A. & Carlı K.T. (2010). Incidence of *Salmonella* Enteritidis in chicken layer flocks in Turkey: results by real-time polymerase chain reaction and International Organization for Standardization culture methods. *Poult. Sci.*, 89, 1406–1410.

Teplitski, M., Goodier, R.I., & Ahmer, B.M. (2003). Pathways leading from BarA/SirA to motility and virulence gene expression in *Salmonella*. *Journal of Bacteriology*, 185, 7257-7265.

Thankavel, K., Shah, A. H., Cohen, M. S., Ikeda, T., Lorenz, R. G., Curtiss, R., 3rd & Abraham S. N. (1999). Molecular basis for the enterocyte tropism exhibited by *Salmonella* Typhimurium type 1 fimbriae. *J Biol Chem.*, 274, 5797-5809.

Thamlikitkul, V., Trakulsomboon, S., Louisirirotchanakul, S., Chaiprasert, A., Foongladda, S., Thipsuvan, K., Arjratanakool, W., Kunyok, R., Wassi, C., Santiprasitkul S. & Danchaivijitr, S. (2001). Microbial killing activity of peracetic acid. *J. Vet. Med. Assoc.*, 84, 1375- 382.

Thiagarajan, D., Thacker, H.L., & Saeed, A.M. (1996). Experimental infection of laying hens with *Salmonella* Enteritidis strains that express different types of fimbriae. *Poultry Science*, *75*, 1365-1372.

Threlfall, E.J. (2005). *Salmonella*. In: Borriello P, Murray PR, Funke G, Microbiology and Microbial Infections. Bacteriology vol.3.10th ed. London, 1398-1399.

Tian, X., Liu, H., Li, M., Zhang, Y., Zhang, C., Gao, Y., Wang, Z., & Wang, S. (2022). A camphor-based schiff base fluorescent probe for detection of alkaline pH and its applications in living cells, *J. Mol. Struct.*, *1251*, 132038.

Tomljenovic-Berube A.M., Henriksbo B., Porwollik S., Cooper C.A., Tuinema B.R., & McClelland M. (2013). Mapping and regulation of genes within *Salmonella* pathogenicity island 12 that contribute to in vivo fitness of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Infection and immunity*, *81*, 2394–404.

Totaro, M., Casini, B., Profeti, S., Tuvo, B., Privitera, G., & Baggiani, A. (2020). Role of hydrogen peroxide vapor (HPV) for the disinfection of hospital surfaces contaminated by multiresistant bacteria. *Pathogens*, *9*, 408.

Tsai, G. J. & Su, W. H. (1999). Antibacterial activity of shrimp chitosan against *Escherichia coli*. *J. Food Prot.*, *62*, 239–243.

Tsolis, R.M., Townsend, S.M., Miao, E.A., Miller, S.I., Ficht, T.A., Adams, L.G., & et al. (1999). Identification of a putative *Salmonella enterica* serotype Typhimurium host range factor with homology to IpaH and YopM by signature-tagged mutagenesis. *Infection and Immunity*, *67*, 6385-6393.

Tuladhar, E., Terpstra, P., Koopmans, M., & Duizer, E. (2012). Virucidal efficacy of hydrogen peroxide vapour disinfection. *J. Hosp. Infect.*, *80*, 110–115.

Tünger, A., Çavuşoğlu, C., & Korkmaz M. (2005). Asya Mikrobiyoloji, Asya Kitabevi, İzmir, p.60-70.

Tymczyna, L., Chmielowiec-Korzeniowska, A. & Drabik, A. (2007). The effectiveness of various biofiltration substrates in removing bacteria, endotoxins, and dust from ventilation system exhaust from a chicken hatchery. *Poult. Sci.*, *86*, 2095–2100.

USKP (2018). Ulusal *Salmonella* Kontrol Programı. <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Duyuru/323/Ulusal-Salmonella-Kontrol-Programi>

Vaara, M. (1993). Antibiotic-supersusceptible mutants of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium. *Antimicrob Agents Chemother*, 37, 2255.

van der Velden, A. W., Bäuml, A. J., Tsois, R. M., & Heffron, F. (1998). Multiple fimbrial adhesins are required for full virulence of *Salmonella* Typhimurium in mice. *Infect Immun.*, 66, 2803-2808.

Velásquez J.C., Hidalgo A.A., Villagra N., Santiviago C.A., Mora G.C., & Fuentes J.A. (2016). SPI-9 of *Salmonella enterica* serovar Typhi is constituted by an operon positively regulated by RpoS and contributes to adherence to epithelial cells in culture. *Microbiology*, 162, 1367-1378.

Velasquez, C.G., Macklin, K.S., Kumar, S., Bailey, M., Ebner, P.E., Oliver, H.F., Martin-Gonzalez, F.S. & Singh, M. (2018). Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* isolated from poultry farms in southeastern United States. *Poult. Sci.*, 97, 2144–2152.

Velusamy, P., Su, C.H., Kumar, G.V., Adhikary, S., Pandian, K., Gopinath, S.C., & Anbu, P. (2016). Biopolymers regulate silver nanoparticle under microwave irradiation for effective antibacterial and antibiofilm activities, *PLoS One*, 11, 0157612.

Vernikos, G. S. & J. Parkhill. (2006). Interpolated variable order motifs for identification of horizontally acquired DNA: revisiting the *Salmonella* pathogenicity islands. *Bioinformatics*, 22, 2196-2203.

Vinsová, J. & Vavříková, E. (2011). Chitosan derivatives with antimicrobial, antitumour and antioxidant Activities— A Review. *Curr. Pharm. Des.*, 17, 3596–3607.

Vishwakarma, A., Sriram, P., Preetha, S.P., Tirumurugaan, K.G., Nagarajan, K., & Pandian, K. (2019). Synthesis and characterization of chitosan/TPP encapsulated curcumin nanoparticles and its antibacterial efficacy against colon bacteria. *Int. J. Chem. Stud.*, 7, 602–606.

Vosik, D., Tewari, D., Dettinger, L., M'ikanatha, N.M. & Shariat N.W. (2018). CRISPR typing and antibiotic resistance correlates with polyphyletic distribution in human isolates of *Salmonella* Kentucky. *Foodborne Pathog. Dis.*, 15, 101–108.

Wadhwa, S., Paliwal, R., Paliwal, S.R. & Vyas, S.P. (2009). Chitosan and its role in ocular therapeutics. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 9, 1639-1647.

Wagner, C. & Hensel M. (2011). Adhesive mechanisms of *Salmonella enterica*. *Advances in Experimental Medicine and Biology.*, 715, 17-34

Wagner, C., Polke, M., Gerlach, R.G., & et al. (2011). Functional dissection of SiiE, a giant non-fimbrial adhesin of *Salmonella enterica*. *Cell Microbiol.*, 13, 1286–1301.

Weber, D.J., Kanamori, H., & Rutala, W.A. (2016). “No touch” technologies for environmental decontamination: Focus on ultraviolet devices and hydrogen peroxide systems. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 29, 424–431.

Weening, E.H., Barker, J.D., Laarakker, M.C., Humphries, A.D., Tsolis, R.M., & Baumber, A.J. (2005). The *Salmonella enterica* serotype Typhimurium *lpf*, *bcf*, *stb*, *stc*, *std*, and *sth* fimbrial operons are required for intestinal persistence in mice. *Infection and Immunity*, 73, 3358-3366.

Wernicki, A., Nowaczek, A., & Urban-Chmiel, R. (2017). Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry. *Virol J.*, 14, 179.

White, G.C. (1999). Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants; John Wiley & Sons Ltd.: Hoboken, NJ, USA.

Winter, J., Ilbert, M., Graf, P.C.F., Özcelik, D., & Jakob, U. (2008). Bleach Activates a Redox-Regulated Chaperone by Oxidative Protein Unfolding. *Cell*, 135, 691–701.

Winter, S.E., Thiennimitr, P., Winter, M.G., Butler, B.P., Huseby, D.L., Crawford, R.W., & et al. (2010). Gut inflammation provides a respiratory electron acceptor for *Salmonella*. *Nature*, 467, 426-429.

Wongpreecha, J., Polpanich, D., Suteewong, T., Kaewsaneha, C. & Tangboriboonrat, P. (2018). One-pot, large-scale green synthesis of silver nanoparticles-

chitosan with enhanced antibacterial activity and low cytotoxicity. *Carbohydrate Polymers*, 199, 641-648.

World Health Organization (WHO), (2014). Infection prevention and control of epidemic- and pandemic-prone acute respiratory infections in health care. WHO Guidel., This article outlines the efficacy of alcohol and isopropyl alcohol in disinfecting surfaces in relation to hospital acquired infections.

Wu, T., Wu, C., Fu, S., Wang, L., Yuan, C., Chen, S., & Hu, Y. (2017). Integration of lysozyme into chitosan Nanoparticles for improving antibacterial activity. *Carbohydr. Polym.*, 155, 192–200.

Xiong, Z., Wang, S., Huang, Y., Gao, Y., Shen, H., Chen, Z., Bai, J., Zhan, Z., Wen, J., Liao, M. & Zhang, J. (2020). Ciprofloxacin-resistant *Salmonella enterica* serovar Kentucky ST198 in broiler chicken supply chain and patients, China, 2010–2016, *Microorganisms*, 8, 140.

Yapıcıer Ö.Ş. & Sareyyüpoğlu B. (2022). Prevalence and rapid identification of *Salmonella* Infantis in broiler production in Turkey. *Ankara Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 69, 1–8.

Younes, I. & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Mar. Drugs*, 13, 1133–1174.

Young, J. C., Clements, A., Lang, A. E., Garnett, J. A., Munera, D., Arbeloa, A., Pearson, J., Hartland, E. L., Matthews, S. J., Mousnier, A., Barry, D. J., Way, M., Schlosser, A., Aktories, K., & Frankel, G. (2014). The *Escherichia coli* effector EspJ blocks Src kinase activity via amidation and ADP ribosylation. *Nat Commun.*, 5, 5887.

Youseif, H. M. Z., Z. A. W. Hassanin & M. Bader Jihan (2001). The sanitizing effect of glutaraldehyde quaternary ammonium combination (Aldekol GDA0 on bacterial infection in hatching eggs (laboratory and field trials). *Vet. Med. J. Giza*, 49, 531-541.

Yousef, A. E. & Carlstrom, C. (2003). *Salmonella*. In *Food Microbiology: A Laboratory Manual*, Yousef, A. E. and Carstrom, C. (Eds). John Wiley and Sons, Inc, New Jersey; pp:167-205.

Youssef, A.M., Abou-Yousef, H., El-Sayed, S.M., & Kamel, S. (2015). Mechanical and antibacterial properties of novel high performance chitosan/nanocomposite films. *Int. J. Biol. Macromol.*, *76*, 25–32.

Yue, M., Rankin, S.C., Blanchet, R.T., Nulton, J.D., Edwards, R.A., & Schifferli, D.M. (2012). Diversification of the *Salmonella fimbriae*: A model of macro- and microevolution. *PLoS One*, *7*, e38596.

Zeiner, S.A., Dwyer, B.E., & Clegg, S. (2012). FimA, FimF, and FimH are necessary for assembly of type 1 fimbriae on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Infection and Immunity*, *80*, 3289-3296.

Zeng, L., Zhang, L., Wang, P., & Meng, G. (2017). Structural basis of host recognition and biofilm formation by *Salmonella* Saf pili. *eLife*, *6*, e28619.

Zhang, Y., Xia, L., Lin, L., Tang, H., Osei-Adjei, G., Xu, S., Zhang, Y., & Huang, X. (2018). Reciprocal Regulation of OmpR and Hfq and Their Regulatory Actions on the Vi Polysaccharide Capsular Antigen in *Salmonella enterica* Serovar Typhi. *Current Microbiology*, *75*, 773–778.

Zhang, X. L., I. S. Tsui, C. M. Yip, A. W. Fung, D. K. Wong, X. Dai, Y. Yang, J. Hackett, & Morris C. (2000). *Salmonella enterica* serovar Typhi uses type IVB pili to enter human intestinal epithelial cells. *Infect Immun.*, *68*, 3067-3073.

Zierler, M.K. & Galan, J.E. (1995). Contact with cultured epithelial cells stimulates secretion of *Salmonella* Typhimurium invasion protein InvJ. *Infection and Immunity*, *63*, 4024–4028.

ÖZGEÇMİŞ

KİMLİK BİLGİLERİ

Adı Soyadı: İbrahim POLAT

BİYOĞRAFI

1994 yılında ilkokulu, 1997 yılında ortaokulu bitirdikten sonra lise eğitimini 2001 yılında Yabancı Dil Ağırlıklı Tarsus Cumhuriyet Lisesi'nde tamamladı. 2007 yılında Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'den mezun oldu. 2008 yılında Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2011 yılında Güney Marmara Bölgesinde üretilen bazı balların antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ile pestisit ve antibiyotik kalıntılarının incelenmesi üzerine yüksek lisans eğitimini tamamladı. 2012 yılından bu yana gıda ve ilaç fabrikalarının kalite kontrol birimlerinde mikrobiyoloji uzmanı olarak çalışmaya devam etmektedir.

Yabancı dil: İngilizce

YAYINLAR

Polat, İ., Şen, B. & Kaynak Onurdağ, F. (2024). *Salmonella enterica* serotypes isolated for the first time in laying hens, and their susceptibility to antibiotics, *Poultry Science*, 103, 103180. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103180>