

## Araştırma Makalesi

# TAVUK ETLERİ VE TAVUKLARDAN İZOLE EDİLEN *SALMONELLA ENTERICA* SUBSP. *ENTERICA* SEROVAR ENTERİTİDİS SUŞLARININ FAJ TİPLENDİRİLMESİ VE PULSED-FİELD GEL ELECTROPHORESİS İLE ANALİZİ

Hakan KALENDER<sup>1</sup>, Selahattin ŞEN<sup>2</sup>

Geliş Tarihi : 21.05.2008

Kabul Tarihi : 01.07.2008

## Analysis of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Enteritidis Strains Isolated from Chickens and Chicken Meat by Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Phage Typing

**Abstract:** The aim of this study was to analyse *S. Enteritidis* strains isolated from chickens and chicken meat by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) and phage typing. A total of 38 *S. Enteritidis* strains were analysed by PFGE after digestion of DNA with *Xba*I restriction enzyme. Seven different PFGE profiles were observed. A predominant type (X1) was found in 27 (71 %) of 38 *S. Enteritidis* strains. For all the strains, the genetic similarity was 85 %. The most common phage type was PT4, which was found in 15 (39.4 %) of the strains. Other phage types were PT7 (18.4 %), PT16 (13.1 %), PT1 (10.5 %), PT6 (7.8 %) and PT35 (2.6 %). Three strains were RDNC (reacted but did not conform). Different phage types such as PT1, 4, 6 and 7 belonged to the same PFGE pattern (X1).

The results of this study shows that *S. Enteritidis* strains originated from chickens in Turkey are genetically related. Further studies should be performed to determine genetic relationships among animal and human isolates.

**Key Words:** Chicken, chicken meat, *S. Enteritidis*, PFGE, phage typing

**Özet :** Bu çalışma tavuk ve tavuk etlerinden izole edilen *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (*S. Enteritidis*) suşlarının Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) ve Faj tiplendirme yöntemleriyle tiplendirilmesi amacıyla yapıldı. Toplam 38 *S. Enteritidis* suşu *Xba*I restriksiyon enzimi kullanılarak PFGE yöntemiyle tiplendirildi. Tiplendirme sonucunda 7 farklı bant profili elde edildi. Analiz edilen 38 *S. Enteritidis* suşunun 27 sinde (%71) aynı PFGE bant profili (X1) saptandı. Tüm suşlar arasındaki genetik benzerlik % 85 bulundu. Faj tiplendirme sonucunda 38 suşun 15'i (% 39.4) *S. Enteritidis* PT4 (Faj Tip 4) olarak tiplendirildi. Suşların % 18.4'i PT7, % 13.1'i PT16, % 10.5'i PT1, % 7.8'i PT6 ve % 2.6'sı PT35 faj tipinde bulundu. Suşların 3'ünün faj tipi belirlenemedi. Farklı faj tipindeki (PT1, 4, 6 ve 7) suşlarda aynı PFGE profili (X1) saptandı. Bu çalışmanın sonuçları Türkiye'de tavuk orijinli *S. Enteritidis* suşları arasında bir genetik ilişkinin olduğunu göstermektedir. İnsan ve hayvan izolatları arasındaki genetik ilişkiyi ortaya koymak için ilave çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Tavuk, tavuk eti, *S. Enteritidis*, PFGE, faj tiplendirme

## Giriş

*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (*S. Enteritidis*) insanlarda gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olan ve son yıllarda tüm dünyada giderek önemi artan bir *Salmonella* türüdür. Enfeksiyonun insanlara bulaşmasında *S. Enteritidis* ile kontamine tavuk et ve yumurtaları önemli bir rol oynamaktadır (2, 10, 29).

Türkiye'de 2000 ve 2002 yılları arasında insanlardan izole edilen *Salmonella* suşlarının % 47'sinin *S. Enteritidis* olduğu bildirilmiştir (13). Yine Türkiye'de son yıllarda farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda tavuk etleri ve tavuklardan en fazla izole edilen *Salmonella* türü *S. Enteritidis*'dir (3, 9, 17, 18).

Epidemiyolojik çalışmalarda *S. Enteritidis* suşlarının tiplendirilmesi amacıyla klasik yöntem olan faj tiplendirmenin (16, 31) yanında, Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) (6, 7, 26, 32), Plazmid Profil Analizi (1, 23), Ribotipleme (28), Random Amplified Polymorphic DNA (5) ve Restriction Fragment Length Polymorphism (24) gibi moleküler yöntemler de kullanılmaktadır. Moleküler tiplendirme yöntemleri suşlar arasında klonal ilişkiyi ortaya koyarak salgınların kaynağı, bulaşma yolları ve bulaşma dereceleri hakkında bilgiler sunmaktadır. Moleküler yöntemler arasında PFGE yönteminin ayırım gücünün oldukça yüksek olduğu ve altın standart yöntem olarak kabul edildiği bildirilmektedir (12, 33).

Bu çalışma tavuk ve tavuk etlerinden izole edilen *S. Enteritidis* suşlarını faj tiplendirme ve PFGE yöntemleriyle tiplendirmek amacıyla yapılmıştır.

## Materyal ve Metot

### S. Enteritidis Suşları

Çalışmada tavuk bağırsağından izole edilen 17 ve tavuk etinden izole edilen 21 olmak üzere toplam 38 suş kullanıldı. Bu suşların 22'si (17 bağırsak izolatu ve 5 tavuk eti izolatu) Doğu Anadolu Bölgesine aitti. Kullanılan diğer 16 suş Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünden temin edildi. Bu suşlar ise Türkiye'nin farklı bölgelerinden izole edildi. İzolatların her biri farklı kümeslere ait olup, izolasyon işlemi farklı tarihlerde gerçekleştirildi.

### PFGE Analizi

Suşların PFGE ile analizi *Xba*I (Promega, United Kingdom) restriksiyon enzimi kullanılarak CDC PulseNet protokolüne göre yapıldı (27). Kısaca; izolatlar kanlı agar da 37 °C'de 18 saat inkubasyona bırakıldıktan sonra bir öze dolusu alınarak 5 ml CSB buffer (100 mM Tris, 100 mM EDTA, pH 8.0) içeren tüp içinde süspansiyon edildi. Bakteri yoğunluğu spektrofotometre (Dynex) kullanılarak 620 nm'de 0.12 absorbans olacak

<sup>1</sup> Firat Üniversitesi Süleyman Demirel Keban Meslek Yüksekokulu, 23119, Elazığ

<sup>2</sup> Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, 06020, Ankara

şekilde ayarlandı. Tüpler 3600 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı döküldükten sonra pelet üzerine 300 µl CSB ve 25 µl proteinaz K (sigma) ilave edildi. Düşük erime ısı % 1'lik agarozdan 700 µl alındı ve tüp içerisine katıldı. Birkaç kez karıştırıldıktan sonra karışım agaroz kalıplarına dağıtıldı. Agaroz kalıpları + 4 °C'de 10 dakika bekletildi. Daha sonra agaroz blokları 5 ml lizis buffer (50 mM Tris pH 8.0, 50 mM EDTA pH 8.0, %1 Sarcosyl) ve 25 µl proteinaz K içeren tüpe aktarıldı. Bu tüpler çalkalamalı su banyosunda 2 saat bekletildi. Lizis buffer atıldıktan sonra agaroz blokları 54 °C'de çalkalamalı su banyosunda 2 kez steril distile suyla ve 6 kez TE buffer (10:1) ile yıkandı. Agaroz blokları kullanılıncaya dek TE buffer içinde muhafaza edildi. Daha sonra agaroz blokları lam üzerine alındı ve bisturi ile 1-2 mm kalınlığında parça kesildi. Kesilen bu parça buffer içeren ependorf tüpe kondu ve 37 °C'de 10 dakika ön inkubasyona bırakıldı. Ependorf tüpte bulunan sıvı atıldıktan sonra üzerine 150 µl restriksiyon enzim karışımından (15 µl enzim buffer 10X, 20 U *XbaI* enzimi, 133 µl distile su) ilave edildi. Agar blokları 37 °C'de 2 saat inkubasyona bırakıldı. Enzim ile kesilen agaroz kalıpları dişli tarakların uç kısmına kondu. Taraklar kaset içerisine yerleştirildi. Daha sonra kaset 0.5X Tris-Borate-EDTA solüsyonu ile hazırlanan PFGE agaroz (Sea Kem Gold Agarose) ile dolduruldu. Yaklaşık yarım saat sonra taraklar çıkarıldı ve tabla üzerindeki agaroz PFGE tankına kondu. CHEF DR-II (Bio-Rad) sisteminde 14 °C'de başlangıç vuruş süresi 2.2 saniye, bitiş vuruş süresi 63.8 saniye, vuruş açısı 120°C ve 6 V/cm akım ortamında 20 saat elektroforez işlemi uygulandı. Elektroforez işleminden sonra jel ethidium bromid ile boyandı ve UV ışığında görüntüledi. Çekilen resimler TIFF dosyası şeklinde kaydedildi. TIFF dosyaları BioNumerics software (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) programı ile analiz edildi. Farklı suşlar arasındaki ilişkiyi tanımlamak için profillerin dendrogramı oluşturuldu ve küme analizi yapıldı.

### Faj Tiplendirme

Ward ve ark. (31) tarafından bildirilen yöntem kullanıldı. Faj tipi belirlenemeyen suşlar RDNC (reacted but did not conform) olarak adlandırıldı.

## Bulgular

*S. Enteritidis* suşlarının faj tipleri ve PFGE profilleri Tablo 1'de gösterilmiştir. İncelenen 38 *S. Enteritidis* suşunun PFGE analizi sonucunda 7 farklı profil elde edildi (Şekil 1). Suşların 27'sinde (% 71) X1, 4'ünde (% 10.5) X3, 3'ünde (% 7.9) X2, 1'inde (% 2.6) X4, 1'inde (% 2.6) X5, 1'inde (% 2.6) X6 ve 1'inde (% 2.6) X7 profili tespit edildi. X1 profili hem tavuk eti hem bağırsak içeriği izolatlarında, X2 profili sadece bağırsak içeriği izolatlarında, X3, X4, X5, X6 ve X7 profilleri de sadece tavuk eti

izolatlarında saptandı. Bant profillerinin analizi sonucunda suşlar % 85 oranında genetik olarak benzer bulundu (Şekil 1). Faj tiplendirme sonucunda 38 suşun 15'i (% 39.4) *S. Enteritidis* PT4 (Faj Tip 4), 7'si (% 18.4) PT7, 5'i (% 13.1) PT16, 4'ü (% 10.5'i) PT1, 3'ü (% 7.8) PT6 ve 1'i (% 2.6) PT35 faj tipinde bulundu. Suşların 3'ünün faj tipi belirlenemedi. Farklı faj tipindeki (PT1, 4, 6 ve 7) suşlarda aynı PFGE profili (X1) saptandı.

## Tartışma ve Sonuç

Son yıllarda gerek insanlardan ve gerekse hayvanlardan *S. Enteritidis*'in izolasyon oranının artmasına paralel olarak bu etkenin alt tiplerinin belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu ile ilgili çalışmalar önem kazanmıştır. 1950 yılından itibaren faj tiplendirme yöntemi epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmıştır (16, 26, 30, 31). Son yıllarda birçok araştırmacı *S. Enteritidis*'in tiplendirilmesi amacıyla moleküler yöntemleri kullanmışlardır (4, 7, 14, 22, 32). *S. Enteritidis* suşlarının ayırımında tek bir yöntemin güvenilir olmadığı bu nedenle birkaç yöntemin birlikte kullanılmasının daha güvenilir olduğu bildirilmiştir (20, 21, 26). PFGE yöntemi moleküler yöntemler içerisinde ayırma gücü oldukça yüksek bir testtir (7, 11, 12)

Diğer ülkelerde PFGE yöntemiyle insan ve hayvan *S. Enteritidis* izolatlarının analizi yapılmıştır. Tayland'da tavuk etleri, tavuk ve insanlardan izole edilen 53 *S. Enteritidis* suşunun 45'i aynı PFGE profili göstermiş, insan ve tavuk orijinli izolatlar arasında yüksek oranda benzerlik bulunmuştur (6). Cardinale ve ark. (7) Senegal'de insan ve kanatlılardan izole edilen 75 *S. Enteritidis* suşunun 22 PFGE profili gösterdiğini, insan ve kanatlı suşları arasında genetik ilişkinin olduğunu bildirmişlerdir. Liebana ve ark. (21), İngiltere, Kuzey İrlanda, İspanya, Hong Kong ve Amerika Birleşik Devletleri'nden izole edilen ve çoğu kanatlı orijinli olan 233 *S. Enteritidis* izolatının 14 PFGE profili gösterdiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar ribotipleme ile 53 farklı profil elde ettiklerini ve *XbaI*-PFGE yöntemi ile kombine olarak kullanıldığında ribotiplemenin suşlar arasındaki polimorfizmi saptamada duyarlı bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Kore'de tavuklardan ve insanlardan izole edilen *S. Enteritidis* suşlarında 3 farklı PFGE profili saptanmış ve suşlar % 94 oranında benzer bulunmuştur (8). Şili'de 57 kanatlı *S. Enteritidis* izolatının 5 profil gösterdiği ve izolatların % 37'sinin aynı profile sahip olduğu bildirilmiştir (14).

PFGE yöntemiyle *S. Enteritidis* suşlarının analizinde restriksiyon enzimi olarak *XbaI*, *BlnI*, *SpeI* ve *NorI* enzimleri kullanılmaktadır (6, 19, 26, 30). Bazı çalışmalarda değişik enzimler kombine olarak kullanılmıştır (19, 26). Bununla birlikte birçok araştırmacı sadece *XbaI* enzimi kullanarak genotiplendirme yapmışlardır (4, 7, 20, 22, 32).

Bu çalışmada *XbaI* restriksiyon enzimi kullanılarak yapılan PFGE testinde 38 *S. Enteritidis* suşu 7 farklı profil göstermiştir. Suşların % 71'inde aynı PFGE profili

saptanmış ve suşlar % 85 oranında genetik olarak benzer bulunmuştur. PFGE testinde daha az bant farkı olan izolatların genetik olarak yakın ilişkili izolatlar olarak değerlendirildiği bildirilmektedir (11, 12). Bu çalışmada bazı suşlara ait bant sayısının ve boyutunun farklılığından dolayı değişik PFGE profilleri elde edilmekle birlikte suşlar arasında çok fazla bir genetik farklılık saptanmamıştır. Bazı suşlarda görülen bu bant sayısı ve boyutlarındaki farklılık mutasyondan kaynaklanabilir.

Tavuk orijinli *S. Enteritidis* suşlarının faj tiplendirilmesi sonucunda Avrupa ülkelerinde PT4'ün, Kanada ve ABD'de PT8, PT13 ve PT13a'nın, Rusya ve Macaristan'da PT1'in baskın faj tipi olduğu bildirilmiştir (15, 29). Türkiye'de *S. Enteritidis*'in faj tiplendirilmesi ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Yapılan birkaç çalışmada insanlardan (1), tavuklardan (17) ve tavuk etlerinden (25) en fazla izole edilen faj tipi PT4'dür. Bu çalışmada suşların % 39.4'ü PT4 faj tipinde bulunmuş bunu sırasıyla PT7, PT16, PT1, PT6 ve PT35 faj tipleri izlemiştir. Bu çalışmada en fazla PT4'ün saptanması Türkiye'de yapılan diğer çalışmalardan (17, 25) elde edilen sonuçlara benzerlik göstermektedir.

PFGE ve faj tiplendirmenin birlikte kullanıldığı çalışmalarda farklı faj tiplerinin aynı PFGE profilini gösterebileceği bildirilmektedir (20, 21, 22, 26). Bu çalışmada X1 PFGE profilini PT1, PT4, PT6 ve PT7 suşları göstermiştir. Bu sonuç bu 4 faj tipi arasında genetik bir ilişkinin olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, PFGE yöntemi zaman alıcı, zor, pahalı ve özel ekipman gerektiren bir yöntem olmakla birlikte epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir faydalı bir yöntemdir. Türkiye'de *S. Enteritidis* suşlarının moleküler karakterizasyonu ile ilgili çalışmalar oldukça azdır. Bu nedenle insan ve hayvan izolatları arasındaki ilişkiyi daha iyi anlamak için geniş kapsamlı epidemiyolojik çalışmalara gereksinim vardır.

### Teşekkür

PFGE ve faj tiplendirmenin yapılması için laboratuvar imkanlarını kullandıran Danimarka Gıda ve Veteriner Araştırma Enstitüsünde görevli Prof.Dr.Frank Aerestrup'a ve yurtdışı doktora sonrası araştırma bursu kapsamında destek veren TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

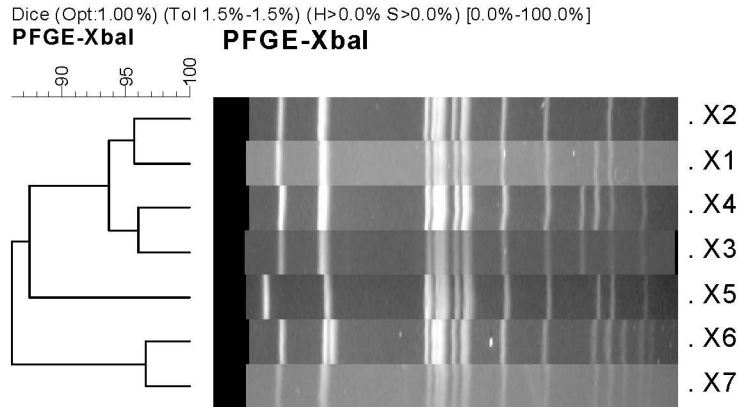
**Tablo 1.** *S. Enteritidis* suşlarının faj tipleri ve PFGE profilleri

**Table 1.** Phage types and PFGE Patterns of *S. Enteritidis* strains

Suş No	İzolasyon Kaynağı	PFGE Profili	Faj Tipi
1	Bağırsak	X2	PT1
2	Bağırsak	X2	PT1
3	Bağırsak	X2	PT1
4	Tavuk eti	X3	PT16
5	Tavuk eti	X3	PT16
6	Tavuk eti	X3	PT16
7	Tavuk eti	X3	PT16
8	Tavuk eti	X1	PT7
9	Bağırsak	X1	PT4
10	Tavuk eti	X1	PT7
11	Tavuk eti	X1	PT7
12	Bağırsak	X1	PT4
13	Tavuk eti	X1	PT7
14	Tavuk eti	X1	PT4
15	Bağırsak	X1	PT4
16	Bağırsak	X1	PT4
17	Tavuk eti	X1	PT7
18	Bağırsak	X1	PT4
19	Bağırsak	X1	PT4
20	Bağırsak	X1	PT4
21	Bağırsak	X1	PT1
22	Tavuk eti	X1	PT4
23	Bağırsak	X1	PT4
24	Bağırsak	X1	PT4
25	Tavuk eti	X1	PT6
26	Tavuk eti	X1	PT6
27	Bağırsak	X1	PT4
28	Bağırsak	X1	PT4
29	Bağırsak	X1	PT4
30	Tavuk eti	X1	PT7
31	Tavuk eti	X1	PT7
32	Bağırsak	X1	PT4

33	Tavuk eti	X1	RDNC*
34	Tavuk eti	X1	RDNC*
35	Tavuk eti	X4	PT16
36	Tavuk eti	X5	PT6
37	Tavuk eti	X6	PT35
38	Tavuk eti	X7	RDNC*

\* Faj tipi belirlenemeyen suş (RDNC)



Şekil 1. S. Enteritidis suşlarının PFGE profillerinin dendrogramı  
Figure 1. : Dendrogram of PFGE patterns of S. Enteritidis strains

## Kaynaklar

1. Anđ-Küçüker, M., Tolun, V., Helmuth, R., Rabsch, W., Büyükbaba-Boral, Ö., Törümküney-Akbulut, D., Susever, S., Anđ, Ö.: Phage types, antibiotic susceptibilities and plasmid profiles of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* strains isolated in Istanbul, Turkey. Clin. Microbiol. Infect., 2000; 6(11): 593-599.
2. Anonim: Salmonellosis control: The role of animal and product hygiene. WHO Expert Committee, Technical Report Series. 774. 1988.
3. Bekar, M., Ayaz, Y., Akman, A., Yazıcıoğlu, N., Uysal, Y., Tekin, C., Korkut, N., Miriođlu, M., Aslan, A., Ergün, A., İdeş, Z.: Tavuk mezbahalarının *Salmonella* yönünden taranması. Etlik Vet. Mikrobiyol. Derg., 1993; 7(4):1-23.
4. Ben Aissa, R., Al-Gallas, N.: Molecular typing of *Salmonella enterica* serovars Enteritidis, Corvallis, Anatum and Typhimurium from food and human stool samples in Tunisia, 2001-2004. Epidemiol. Infect., 2008; 136(4): 468-475.
5. Betancor, L., Schelotto, F., Martinez, A., Pereira, M., Algorta, G., Rodriguez, M.A., Vignoli, R., Chabalgoity, J.A.: Random amplified polymorphic DNA and phenotyping analysis of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolates collected from humans and poultry in Uruguay from 1995 to 2002. J. Clin. Microbiol., 2004; 42(3):1155-1162.
6. Boonmar, S., Bangtrakulnonth, A., Pornrunangwong, S., Terajima, J., Watanabe, H., Kaneko, K., Ogawa, M.: Epidemiological analysis of *Salmonella enteritidis* isolates from humans and broiler chickens in Thailand by phage typing and pulsed-field gel electrophoresis. J. Clin. Microbiol., 1998; 36(4): 971-974.
7. Cardinale, E., Perrier Gros-Claude, J.D., Rivoal, K., Rose, V., Tall, F., Mead, G.C., Salvat, G.: Epidemiological analysis of *Salmonella enterica* ssp. Enterica serovars Hadar, Brancester and Enteritidis from humans and broiler chickens in Senegal using pulsed-field gel electrophoresis and antibiotic susceptibility. J. Appl. Microbiol., 2005; 99(4):968-977.
8. Cheong, H.J., Lee, Y.J., Hwang, I.S., Kee, S.Y., Cheong, H.W., Song, J.Y., Kim, J.M., Park, Y.H., Jung, J.H., Kim, W.J.: Characteristics of non-typhoidal *Salmonella* isolates from human and broiler chickens in Southwestern Seoul, Korea. J. Korean Med. Sci., 2007; 22(5): 773-778.
9. Çarlı, K.T., Eyigör, A., Caner, V.: Prevalence of *Salmonella* serovars in chickens in Turkey. J. Food Microbiol., 2001; 64(11):1832-1835.
10. De Jong, B., Ekdahl, K.: The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries. BMC Public Health, 2006; 6:4.
11. Durmaz, B., Durmaz, R.: Pulsed-Field Gel Electrophoresis. Erişim 13.05.2008, İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi. <http://web.inonu.edu.tr/~iozerol/rdurmaz/UygMolMikr/161.pdf>
12. Durmaz, R., Otlu, A., Çalışkan, A., Gürsoy, N.: *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella* türlerinin moleküler tiplendirilmesinde kullanılabilecek kısa süreli "pulsed field gel" elektroforez (PFGE) protokolü. ANKEM Derg., 2007; 21(2):113-117.
13. Erdem, B., Ercis, S., Haşçelik, G., Gür, D., Gedikođlu, S., Aysev, A.D., Sümerkan, B., Tatman-Otkun, M., Tuncer, İ.: Antimicrobial resistance patterns and serotype distribution

among *Salmonella enterica* strains in Turkey. 2000-2002. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 2005; 24(3):220-225.

14. **Fernandez, J., Fica, A., Ebensperger, G., Calfullan, H., Prat, S., Fernandez, A., Alexandre, M., Heitmann, I.:** Analysis of molecular epidemiology of Chilean *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolates by pulsed-field gel electrophoresis and bacteriophage typing. J. Clin. Microbiol., 2003; 41(4):1617-1622.
15. **Hasenson, L.B., Kaftyreva, L., Laszlo, V.G., Woitenkova, E., Nesterova, M.:** Epidemiological and microbiological data on *Salmonella enteritidis*. Acta Microbiol. Hung., 1992; 39(1):31-39.
16. **Hickman-Brenner, F.W., Stubbs, A.A., Farmer, J.J.:** Phage typing of *Salmonella enteritidis* in the United States. J. Clin. Microbiol., 1991; 29(12):2817-2823.
17. **Kalender, H., Muz, A.:** Elazığ Bölgesindeki tavuklardan izole edilen *Salmonella* türlerinin tiplendirilmesi. Tr. J. Vet. Anim. Sci., 1999; 23(2):297-303.
18. **Kılınç, Ü., Aydın, F.:** Kayseri yöresindeki tavukçuluk işletmelerinden toplanan tavuklardan izole edilen *Salmonella* türlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları. Erciyes Üniv. Sađ.Bil.Derg., 2006; 15(1): 35-40.
19. **Laconcha, I., Baggesen, D.L., Rementeria, A., Garaizar, J.:** Genotypic characterisation by PFGE of *Salmonella enterica* serotype phage types 1, 4, 6 and 8 isolated from animal and human sources in three European countries. Vet. Microbiol., 2000; 75(2): 155-165.
20. **Liebana, E., Garcia-Migura, L., Breslin, M.F., Davies, R.H., Woodward, M.J.:** Diversity of strains of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis from English poultry farms assessed by multiple genetic fingerprinting. J. Clin. Microbiol., 2001; 39(1):154-161.
21. **Liebana, E., Garcia-Migura, L., Guard-Petter, J., McDowell, S.W.J., Rankin, S., Opitz, H.M., Clifton-Hadley, F.A., Davies, R.H.:** *Salmonella enterica* serotype Enteritidis phage types 4, 7, 6, 8, 13a, 29 and 34: a comparative analysis of genomic fingerprints from geographically distant isolates. J. Appl. Microbiol., 2002; 92(2):196-209.
22. **Liebana, E., Clouting, C., Garcia-Migura, L., Clifton Hadley, F.A., Lindsay, E., Threlfall, E.J., Davies, R.H.:** Multiple genetic typing of *Salmonella enteritidis* phage-types 4, 6, 7, 8 and 13 isolates from animals and humans in the UK. Vet. Microbiol., 2004; 100(3-4):189-195.
23. **Ling, J.M., Koo, I.C., Kam, K.M., Cheng, A.F.:** Antimicrobial susceptibilities and molecular epidemiology of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis strains isolated in Hong Kong from 1986 to 1996. J. Clin. Microbiol., 1998; 36(6):1693-1699.
24. **Lopes, V.C., Velayudhan, B.T., Halvorson, D.A., Lauer, D.C., Gast, R.K., Nagaraja, K.V.:** Comparison of methods for differentiation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis phage type 4 isolates. Am. J. Vet. Res., 2004; 65(5): 538-543.
25. **Mutluer, B., Yargülü, B., Hartung, M., Erol, İ.:** Incidence and serovar distribution of *Salmonella* in market broilers in Turkey. 3 rd. World Congress Foodborne Infectious and Intoxications. Proceedings. Vol. II. 16-19 June, Berlin, 1992, 1075-1079.

26. **Pang, J.C., Chiu, T.H., Chiou, C.S., Schroeter, A., Guerra, B., Helmuth, R., Tsen, H.Y.:** Pulsed-field gel electrophoresis, plasmid profiles and phage types for human isolates of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis obtained over 13 years in Taiwan. J. Appl. Microbiol., 2005; 99(6):1472-1483.
27. **Ribot, E.M., Wierzbza, R.K., Angulo, F.J., Barrett, T.J.:** *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 isolated from humans, United States, 1985, 1990, and 1995. Emerg. Infect. Dis., 2002; 8(4):387-91.
28. **Ridley, A.M., Threlfall, E.J., Rowe, B.:** Genotypic characterization of *Salmonella enteritidis* phage types by plasmid analysis, ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. J. Clin. Microbiol., 1998; 36(8):2314-2321.
29. **Rodrigue, D.C., Tauxe, R.V., Rowe, B.:** International increase in *Salmonella enteritidis*: a new pandemic? Epidemiol. Infect., 1990; 105(1): 21-7.
30. **Tsen, H.Y., Lin, J.S.:** Analysis of *Salmonella enteritidis* strains isolated from food-poisoning cases in Taiwan by pulsed field gel electrophoresis, plasmid profile and phage typing. J. Appl. Microbiol., 2001; 91(1):72-79.
31. **Ward, L.R., De Sa, J. D., Rowe, B.:** A phage-typing scheme for *Salmonella enteritidis*. Epidemiol. Infect., 1987; 99(2):291-294.
32. **Wiesner, M., Hidalgo, M., Castenade, E., Agudelo, C.I.:** Molecular analysis of *Salmonella* Enteritidis and Typhimurium clinical and food isolates by pulsed-field gel electrophoresis in Bogota, Colombia. Microb. Drug Resist., 2006; 12(1): 68-73.
33. **WHO :** Global Salm- Surv, Laboratory protocols, Level 5 training course, pulsed field gel electrophoresis for *Salmonella*. 2005.