

Adapazarı Bölgesi Bazı Broiler Tipi Tavukçuluk İşletmelerinden *Salmonella* İzolasyonu ve Tiplendirilmesi

Isolation and Typing of *Salmonella* from Some Broiler Chicken Companies in Adapazarı Region

İsmail Poyraz^{1*}, Satiye Ören²

Özet: *Salmonella*, tüm dünyada gıda sektörü için önemli bir patojen mikroorganizmadır. Özellikle kanatlı hayvan eti üretiminin her aşamasında takip ve kontrol edilmesi gereken bir kriterdir. Bu nedenle, üretim çiftliklerinde karşılaşılan *Salmonella*'ların, tespiti ve tiplendirilmesi de önem kazanmaktadır. Bu çalışmada, Adapazarı bölgesinde bulunan broiler tipi tavuk çiftliklerinden *Salmonella* izolasyonu ve tiplendirilmesi amaçlanmıştır. 46 farklı işletmeye ait 130 adet drag swap örneği *Salmonella* bakımından Dupont BAX Q7 rPCR-BAXrPCR sistemi ile test edilmiştir. *Salmonella* izolasyonu yapılan örneklerin otomatize Riboprinter sistemi (Dupont Qualicon, Wilmington, DE, USA) ile ribotiplendirilmesi gerçekleştirilmiş ve incelenen örneklerden pozitif sonuçlar kaydedilmiştir. Çalışma sonucunda, Adapazarı bölgesindeki kümeslerin %29.23'ünde *Salmonella* varlığı tespit edilmiştir. Pozitif örnekler içinde en fazla olan serotipin %52.6 oranla *Salmonella ser. Enteritidis* olduğu görülmüştür. Bu serotip dışında altı farklı serotipin de var olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Salmonella*, rPCR, Ribotiplendirme, Broiler, Tavuk.

Abstract: *Salmonella* is an important pathogen microorganism for food industries in the all world. Especially, it's a criteria that should be controlled at every stages of poultry meat production. Therefore, detection and typing of *Salmonella* encountering in production farms also come into prominence. In this study, it was aimed isolation and typing of *Salmonella* from broiler-type chicken farms in Adapazarı Region. 130 drag swap samples from 46 different businesses were tested with Dupont BAX Q7 rPCR-BAXrPCR system for *Salmonella*. Isolated *Salmonella* samples were ribotyped with automated Riboprinter System (Dupont Qualicon, Wilmington, DE, USA) and positive results from analyzed samples were saved. Finally, we determined that there is *Salmonella* in 29.23% of coops in Adapazarı Region. We observed that maximum rated serotype among positive samples is *Salmonella ser. Enteritidis* (52.6%). We determined that there are six different serotypes besides of this serotype.

Keywords: *Salmonella*, rPCR, Ribotyping, Broiler, Chicken.

I. GİRİŞ

Salmonella'lar Türkiye'de ve Dünya'da önemli bakteriyel patojenler arasındadır [1]. *Salmonella* enfeksiyonlarını önlemek hem gıda endüstrisi bakımından hem de kanatlı hayvanların sağlığı açısından önemlidir [2]. Gıda kaynaklı *Salmonella* enfeksiyonları, ABD, Almanya, Fransa, İspanya, İsveç ve Polonya gibi ülkelerde tüm gıda enfeksiyon ve intoksikasyonları arasında ilk sırayı alırken; İngiltere, Galler ve Hollanda'da *Campylobacter* ile yine ilk sırayı paylaşmaktadır [3]. *Salmonella* etmenleri, *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan *Salmonella* türlerine ait bakteri serotipleridir [4]. *Salmonella* cinsi, yaklaşık 2500'den fazla serotip içermekte olup son sınıflandırmaya göre iki türü bulunmaktadır. Bunlar *S. enterica* ve *S. bongori*'dir. Gıda kaynaklı enfeksiyonlar, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde insanlar için hayatı tehdit edicidir ve ekonomik olarak da önemli kayıplara neden olmaktadır. *Salmonella*; dünyada en sık rastlanan patojen olup gıda kaynaklı enfeksiyonların ana sebebidir [5-7].

İnsanlarda gıda kaynaklı enfeksiyonların sağlık ve ekonomik etkilerini azaltmak için, doğal kontamine yiyeceklerin tespitinde kullanılacak testlerin standardize, hızlı, spesifik ve duyarlı olmaları gerekmektedir [8-9]. Gıdalarda ve üretim merkezlerinde *Salmonella* varlığının standart kültür metotları ile tespit edilmesi yaklaşık 5-11 gün sürmektedir [10]. Bu nedenle etkenin özellikle yetiştirme dönemlerinde erken belirlenebilmesi ve gerekli

¹,*Sorumlu yazar iletişim: E-posta: ismail.poyraz@bilecik.edu.tr

Bilecik Şeyh Edebali Üniv.Fen Edebiyat Fak., Moleküler Biyoloji ve Genetik Böl.Gülümbe Kamp.11210, Bilecik, Türkiye.

² İletişim: oren.satiye@gmail.com

Bilecik Şeyh Edebali Üniv.Fen Edebiyat Fak., Moleküler Biyoloji ve Genetik Böl.Gülümbe Kamp.11210, Bilecik, Türkiye.

önlemlerin alınabilmesi için; daha kısa sürede sonuç veren ve ekonomik olan, farklı saptama sistemlerinin de kullanıldığı görülmektedir [11-14]. Dupont BAX Q7 sistemi (BAX rPCR), *Salmonella* tespitinde gerçek zamanlı PCR sistemi olarak DNA'ya bağlanan boyalara alternatif bir sistem ile kullanıma hazır hedef-spesifik problu tabletleri içermektedir. Bu sistemin su örnekleri, çeşitli gıda ve çevresel örneklerin yanında fekal örneklerde de başarıyla kullanıldığı rapor edilmektedir [13, 15-20].

Salmonella tiplendirilmesinde kullanılan ribotiplendirme analizi, rRNA genlerinin genetik çeşitliliği temelli bir yöntem olup, özellikle kontrol önlemlerinin alınabilmesi açısından önemlidir. Aynı anda birçok örneğin çalışılmasına imkan verdiği için, epidemiyolojik çalışmalarda alternatif bir yöntem olduğu için önemlidir [21-22].

Bu çalışmada, Adapazarı Bölgesi broiler tipi tavuk işletmelerinden alınan drag svap örneklerinde BAXrPCR sistemi yardımıyla *Salmonella* taraması yapılmış ve elde edilen izolatlar ribotiplendirme yöntemi kullanılarak tiplendirilmiştir.

II. MATERYAL ve METOT

A. Örneklerin Toplanması

2013-2014 yılları arasında Adapazarı ve Düzce'de bulunan 46 farklı işletmeden, bu işletmelere ait farklı 65 kümeden her birinden ikişer adet olmak üzere toplam 130 adet drag svap örneği alınmış ve soğuk zincir koşullarında laboratuvara getirilerek analiz işlemlerinde kullanılmıştır. İşletmelerin adı ve konumları kayıtlı olup, ticari haklarından dolayı verilmemektedir.

B. Bakteriyolojik Kültür

Her bir küme için ortalama ağırlığı 300 g olan iki drag svap örneği, steril polietilen bir poşet içerisinde dışarıdan elle ezilerek homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örneklerden 25 g alınmış ve ön-zenginleştirme işlemi için 225 ml Buffered Peptone Water ISO (BPW-ISO, Oxoid, CM1049B) bulunan steril polietilen poşetlerde 37°C'de 18 saat inkübe edilmiştir.

C. rPCR Analizi

Inkübe edilen örnekler, *Salmonella*'ya spesifik Dupont BAX System PCR Deney Kiti kullanılarak, kite ait deney protokolündeki BAX rPCR parametreleri uygulanarak (Part D14368501, Dupont, USA) rPCR analizleri gerçekleştirilmiştir. 12 ml litik tampona 150 µl proteaz ilave edilmiş, bu karışımdan cluster tüplere 200 µl konularak her birinin üzerine 5'er µl numune eklenmiştir. Örnekler 37°C'de 20 dakika, 95°C'de 10 dakika bekletildikten sonra, soğutucu bloklara (2-8°C) alınmış ve burada da 5 dakika bekletilmiştir. 2-8°C arasında bekletilen PCR tüplerindeki kit karışımına 50 µl lizat örneği eklenmiş ve Bax Q7 sistem cihazına yerleştirilmiştir. Analiz işlemi yaklaşık 3 saat 30 dakika sürmekte olup; PCR mix ve döngü bilgileri, firmanın ticari haklarından dolayı saklı tutulmaktadır. Analiz sonucunda pozitif çıkan örnekler ribotiplendirme analizi için ayrılmıştır.

D. Ribotiplendirme Analizi

Ribotiplendirme işlemi, Otomote Riboprinter Sistemi (Dupont Qualicon, Wilmington, DE, USA) kullanılarak yapılmıştır. Tüm aşamalar, kit protokolü ve cihaz için belirtilen kullanım talimatlarına uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Pozitif örneklere ait pepton petrilerinden bakteri kültürleri kazınarak alınmış ve kite ait tampon ile dilüe edilmiştir. Dilüe örnekler sekizli kuyucuklara yüklenmiştir. Cihazda, otomatize olarak ön aşamada yüksek ısı ve litik ajanlar kullanılarak bakteri hücreleri parçalanmakta, deproteinizasyon ve DNA restriksiyonu aşamalarından sonra DNA fragmentleri jel elektroforezi ile ayrılarak naylon membrana aktarılmaktadır. Cihaz, chemiluminesce olarak işaretlenmiş problar ile hibridizasyon işlemini gerçekleştirmektedir. Cihazdan elde edilen hibridizasyon verilerine göre bakteri örneklerinin tanımlaması ve karakterizasyon analizi gerçekleştirilmiştir [23].

II. BULGULAR

A. rPCR Analiz Bulguları

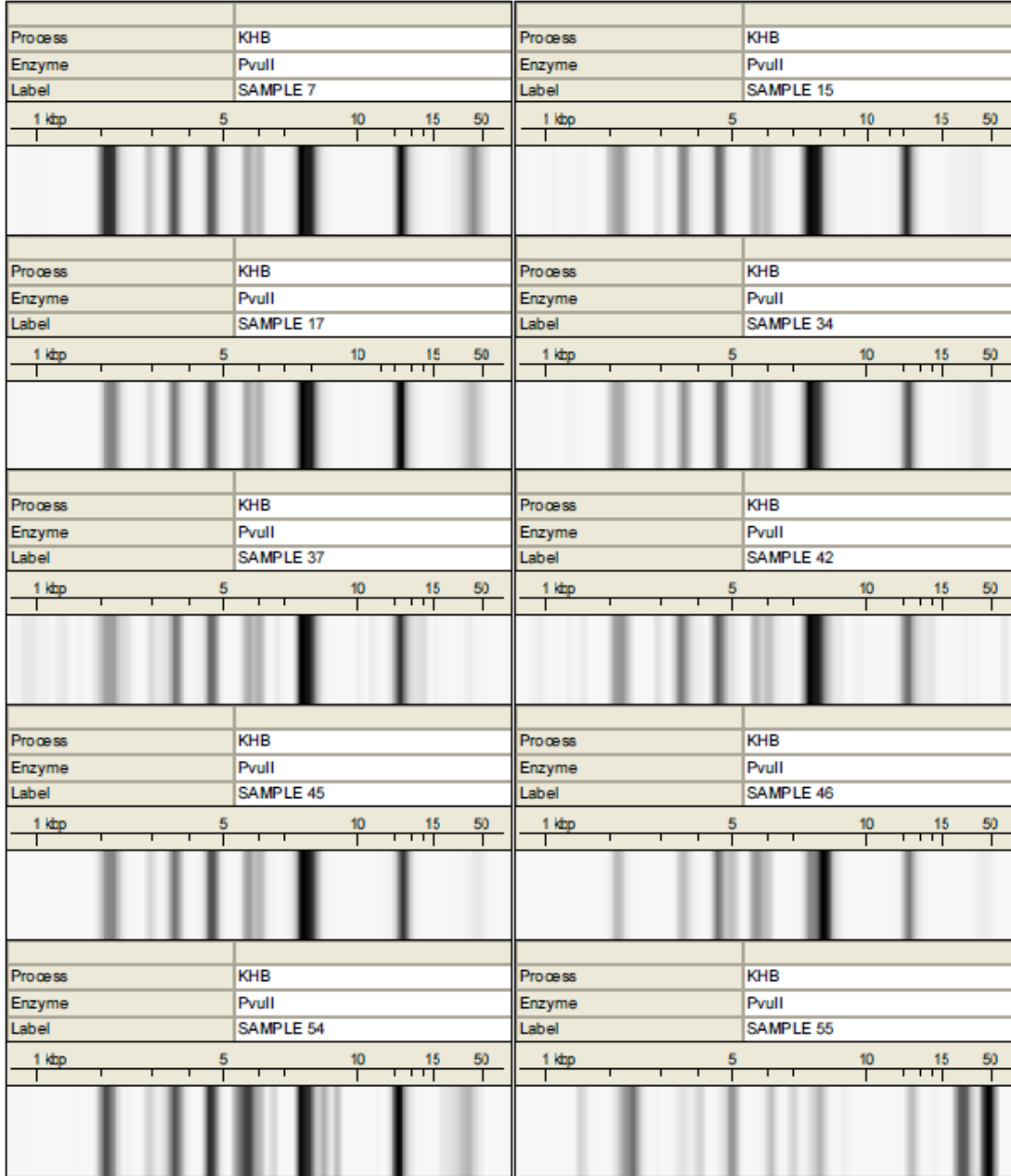
İncelenen toplam 46 farklı işletmeye ait 65 kümeden her seferinde ikişer örnek olmak üzere alınan toplam 130 drag svap örneğinden BAX-rPCR sonucu toplam 19 küme örneğinin (7, 12, 15, 17, 20, 25, 27, 28, 34, 36, 37, 42, 45, 46, 54, 55, 57, 60 ve 63) *Salmonella* pozitif olduğu (%29.23) görülmüştür. Analizi yapılan örnekler arasında *Salmonella* için tespit edilen pozitif ve negatif sonuçlarını gösteren cihaz verileri kaydedilmiştir (Şekil 1). Elde edilen veriler doğrultusunda tespit edilen 19 pozitif örnek, ribotiplendirme analizi için ayrılmıştır.

Sample ID	Result	Target	Control	Positive Cont
SAMPLE 1	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 2	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 3	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 4	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 5	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 6	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 7	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 8	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 9	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 10	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 11	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 12	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 13	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 14	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 15	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 16	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 17	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 18	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 19	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 20	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 21	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 22	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 23	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 24	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 25	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 26	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 27	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 28	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 29	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 30	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 31	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 32	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 33	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 34	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 35	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 36	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 37	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 38	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 39	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 40	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 41	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 42	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 43	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 44	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 45	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 46	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 47	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 48	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 49	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 50	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 51	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 52	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 53	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 54	Positive	Salmonella	Internal	Negative
SAMPLE 55	Positive	Salmonella	Internal	Negative
SAMPLE 56	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 57	Positive	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 58	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 59	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 60	Positive	Salmonella	Internal	Negative
SAMPLE 61	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 62	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 63	Positive	Salmonella	Internal	Negative
SAMPLE 64	Negative	Salmonella	Internal	Positive
SAMPLE 65	Negative	Salmonella	Internal	Positive

Şekil 1. Taranan 130 örneğin 1-65. arası örnekler için BAX rPCR analizi sonucu.

B. Ribotiplendirme Analiz Bulguları

rPCR analizi sonucu elde edilen 19 adet *Salmonella* izolatının her biri için ribotiplendirme analizi gerçekleştirilmiş (Şekil 2). Bu örneklerden 10 tanesinin *Salmonella ser. Enteritidis* (%52.6), 3 tanesinin *Salmonella ser. Lille* (%15.8), 2 tanesinin *Salmonella ser. Infantis* (%10.5), ve birer tanesinin de *Salmonella ser. Hadar* (%5.3), *Salmonella ser. Give* (%5.3), *Salmonella ser. Typhimurium* (%5.3) ve *Salmonella ser. Arizonae/III* (%5.3) oldukları tespit edilmiştir (Tablo 1).



Şekil 2. *Salmonella* pozitif örneklerinden seçilen 10 örneğin ribotiplendirme analiz bant bulguları.

Tablo 1. Pozitif örneklerde tespit edilen *Salmonella* Tipleri

Pozitif Örnek Numarası	<i>Salmonella</i> Tipi
Örnek 7	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis
Örnek 12	<i>Salmonella</i> ser. Infantis
Örnek 15	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis
Örnek 17	<i>Salmonella</i> ser. Lille
Örnek 20	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis
Örnek 25	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis
Örnek 27	<i>Salmonella</i> ser. Infantis
Örnek 28	<i>Salmonella</i> ser. Lille
Örnek 34	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis
Örnek 36	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis
Örnek 37	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis
Örnek 42	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis
Örnek 45	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis
Örnek 46	<i>Salmonella</i> ser. Hadar
Örnek 54	<i>Salmonella</i> ser. GIVE
Örnek 55	<i>Salmonella</i> ser. Arizonae/III
Örnek 57	<i>Salmonella</i> ser. Lille
Örnek 60	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis
Örnek 63	<i>Salmonella</i> ser. Typhimurium

III. TARTIŞMA ve SONUÇ

Salmonella, enfeksiyonları, dünyada en yaygın görülen gıda kaynaklı hastalıkların başında gelmektedir [1, 2, 6, 7]. Bu nedenle, gıda sektöründeki özellikle beyaz et işletmelerinde, kümeden kesim ve paketleme sürecine kadar üretimin her aşamasında kontrol sistemlerinin hızlı, spesifik ve hassas olması gerekmektedir [8, 9]. Standart kültür metotları ile gıdalarda ve üretim merkezlerindeki *Salmonella* varlığının tespit edilmesi yaklaşık 11 günü bulmaktadır [10]. 2000 yılında Abouzeed ve ark. [25] tarafından Prens Edward Adalarında serotiplerin virülans genlerine özgü primerler ile klasik PCR metodu kullanılarak yapılan bir çalışmada; *Salmonella*'nın sığır işletmelerinde görülme oranı %4.6 iken, broiler tipi tavuklarda görülme oranının %32.5 olduğu bildirilmiştir. Yapılan tiplendirme analizlerinde, tavuklarda *S. heidelberg*'in %43.6 ile ilk sırada olduğu, bunu %28.2 ile *S. schwarzengrund*'un takip ettiği görülmüştür [25]. Wedderkopp ve ark. [29] tarafından 2001 yılında Danimarka'da yapılan benzer bir çalışmada, broiler tipi tavuklarda %42.5 oranında *Campylobacter*'in, %5.5 oranında da *Salmonella*'nın görüldüğü rapor edilmiştir. Tiplendirme analizleri, *S. enteritidis*'in %19.8 oranıyla ilk sırada, onu takiben *S. typhimurium* %17.9, *S. infantis* %17.5, *S. 4.12:b:y* serotipi %14.4 ve *S. indiana*'nın %13.2 olduğunu göstermiştir [29]. Kuzey Carolina'da 2013 yılında broilerlerde yapılan bir araştırmada, alınan numunelerde %29.5 oranında fekal kaynaklı, %0.8 oranında da çevresel kaynaklı *Campylobacter*'in bulunduğu görülmüş; aynı çalışmada %8.8 fekal ve %8.4 çevresel kaynaklı *Salmonella*'nın varlığı tespit edilmiştir. Tiplendirme sonuçlarına göre baskın olarak *S. typhimurium*'un bulunduğu bildirilmiştir [30]. Özellikle, yetiştirme dönemlerinde erken tespit ve gerekli önlemlerin alınabilmesi için; daha kısa sürede sonuç alınan ve ekonomik saptama sistemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda kullanılan BAX rPCR sistemi de, *Salmonella* teşhisinde gerçek zamanlı PCR sistemi olup, hedefe özgü problemlere sahip tabletleri kullanmaktadır [13, 15-20]. Ribotiplendirme analizi ise rRNA genlerinin genetik çeşitliliği temelli bir yöntemdir. Bu yöntemin alternatifi olan PFGE testi, genotiplendirmede altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir. Ancak ribotiplendirme, bazı çalışmalarda PFGE kadar duyarlı bulunamasa da, PFGE testinden çok daha kısa sürede sonuç vermesi, uzman personel ve laboratuvar şartlarına gereksinim göstermeyen kapalı otomatize bir sistem olmasından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır [21-22].

Bu çalışmada broiler tipi tavukçuluğun yoğun görüldüğü Adapazarı Bölgesi'nden yetiştirme sürecindeki kümeslerden alınan örnekler BAX rPCR yöntemi ile test edilmiş, *Salmonella* serotipleri ribotiplendirme analizi ile tespit edilmiştir. Türkiye'de kanatlı yetiştiriciliğinde önde gelen bölgelerden olan Adapazarı bölgesine ait *Salmonella* yoğunluğu gerçek zamanlı rPCR yöntemiyle tespit edilmiş ve Riboprinter Analiz yöntemiyle tiplendirilme analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre; Adapazarı bölgesindeki kümeslerin %29.23'ünde *Salmonella* varlığı tespit edilmiş, pozitif örnekler içinde en fazla olan serotipin %52.6 oranla *Salmonella* ser. Enteritidis olduğu görülmüştür. Bu serotip dışında 6 farklı serotipin; *Salmonella* ser. Lille (%15.8), *Salmonella* ser. Infantis (%10.5), *Salmonella* ser. Hadar (%5.3), *Salmonella* ser. GIVE (%5.3), *Salmonella* ser. Typhimurium (%5.3) ve *Salmonella* ser. Arizonae/III(%5.3) de varlığına rastlanılmıştır. Çalışmanın sonuçları, benzer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırıldığında; ülkemizdeki broilerlerde

kontaminasyon oranının daha az olduğu ve *Salmonella* kontaminasyonunda en sık görülen serotipin *S. enteritidis* olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarımızın, ülkemiz [12,14, 24,26] ve dünyada [27-28] yapılan diğer benzer araştırmaların sonuçlarıyla da paralellik gösterdiği görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, 2013-01-BİL.04-02 no'lu Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Gast, R.K., Mitchell, B.W. and Holt, P.S., "Detection Of *Salmonella* Enteritidis In The Environment Of Experimentally Infected Laying Hens By An Electrostatic Air Sampling Device," *Proceedings of the Congress of the World Veterinary Poultry Association*, p.79, 2003.
- [2] Hartig, L., Hummert, C., Buhlert, J., Von Czapiwski, K. and Schreiber, A., "Detection of acrylamide in starch-enriched foods," *J. Environ. Health*, vol. 27, pp. 219-226, 2003.
- [3] Sinell, H.J. and Kleer, J., "Lebensmittel als Infektionsquelle. In Das Salmonella Problem," Selbitz HP, Sinell HJ, Szigoleit A(eds) Gustav Fisher Verlag, Jena (Stuttgart, 1995: 133-149)
- [4] Şengül, S. ve Türkyılmaz, S., "Broylerlerde *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium Enfeksiyonlarının ELISA ve Drag Sıvap Yöntemleri ile İncelenmesi," *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, vol.4 ,pp. 85-90, 2007 .
- [5] Patrick, M.E., Adcock, P.M., Gomez, T.M., A Hekruse, S.F. and Holland, B.H., "*Salmonella* Enteritidis infection, United States, 1985-1999," *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 10(1), pp. 1-7, 2004.
- [6] Tietjen, M. and Fung, D.Y.C., "*Salmonella* and food safety," *Crit. Rev. Microbiol.*, vol. 21(1), pp. 53-83, 1995.
- [7] United States Department of Agriculture, Food Safety Inspection Service (USDA-FSIS), "*Salmonella* serotypes isolated from raw meat and poultry," January 26, 1998- January 25, 1999.
- [8] Candrian, U., "Polymerase chain reaction in food microbiology," *J. Food. Microbiol. Methods*, vol. 23, pp. 89-103, 1995.
- [9] Uyttendaele, M., Vanwildemeersch, K. and Devere, J., "Evaluation of real-time PCR vs. automated ELISA and a conventional culture method using a semi-solid medium for detection of *Salmonella*," *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 37, pp. 386-391, 2003.
- [10] Koneman, E. W. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6. ed., Lippincott Williams and Wilkins, Front Cover., Philadelphia, USA, 2006.
- [11] Eriksson, E. and Aspan, A., "Comparison of culture, ELISA and PCR techniques for *Salmonella* detection in faecal samples for cattle, pig and poultry," *BMC Vet. Res.*, vol. 3, pp. 1-19, 2007.
- [12] Ata, Z. ve Aydın, N., "Ankara bölgesindeki tavukçuluk işletmelerinde *Salmonella* spp. İzolasyonu," *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, vol. 55, pp.161-168, 2008.
- [13] Kahya, S., Kesin Tuğ, B., Temelli, S., Çarlı, K.T. and Eyigör, A., "Yumurtacı Tavuklarda *Salmonella* İzolatlarının Tanısı ve Tiplendirilmesi," *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, vol. 20/6, pp. 939-944, 2014.
- [14] Temelli, S., Kahya, S., Eyigor, A. and Carli, K.T., "Incidence of *Salmonella* Enteritidis in chicken layer flocks in Turkey: Results by real-time polymerase chain reaction and International Organization for Standardization culture methods," *Poultry Sci*, vol. 89, pp. 1406-1410, 2010.
- [15] Tomazelli, I.B., Freitas, J.B., Fabbi, L.M., Filipini, T.A., Silva, C.M., Bedin, J.M., Duarte, D.A.M., Santos, A., Baccarin, A., Higa, L.R.H., Yano, D.M.Y., Killner, M., Frezza, A.L.C., Abecia, E.C.G., Tronco, V.M., Junior, O.T. and Junior, W.B., "Comparison of the BAX system PCR method to Brazil's official method for the

detection of *Salmonella* in food, water and environmental samples,” *J. Food Prot.*, vol. 71, pp. 2442-2447, 2008.

[16] Tice, G., Andaloro, B., Fallon, D. and Wallace, F.M., "Dupont qualicon BAX system polymerase chain reaction assay performance tested method 100201,” *J. AOAC. Int.*, vol. 92, pp. 1902-1905, 2009.

[17] Tice, G., Andaloro, B., White, H.K., Bolton, L., Wang, S., Davis, E. and Wallace, M., “In-house validation study of the Dupont qualicon BAX system Q7 instrument with the BAX System PCR assay for *Salmonella*,” *J. AOAC Int.*, vol. 92/3, pp. 989-994, 2009.

[18] Löfström, C., Kravse, M., Josefsen, M.H., Hansen, F. and Hoorfar, J., “Validation of a same-day real-time PCR method for screening of meat and carcasses swabs for *Salmonella*,” *BMC Microbiol.*, vol. 9, pp.1-9, 2009.

[19] Franchin, P., Ogliari, P.J., Andrade, D.F., Chiapinoto, M., Silva, I.G.D. and Batista, C.R.V., “Comparison of the BAX system with an in house MRSV method for the detection of *Salmonella* in chicken carcasses and pork meat,” *Braz. J. Microbiol.*, vol. 37, pp. 521-526, 2006.

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

[21] Hollis, R.J., Bruce, L., Fritschel, S.J. and Pfaller, M.A., “Comparative evaluation of an automated ribotyping instrument versus Pulsed-field gel electrophoresis for epidemiological investigation of clinical isolates of bacteria,” *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 34, pp. 263-268, 1999.

[22] De Cesare, A., Manfreda, G., Dambaugh, T.R., Guerzoni, M.E. and Franchin, A., “Automated ribotyping and random amplified polymorphic DNA analysis for molecular typing of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* strains isolated in Italy,” *J. Appl. Microbiol.*, vol. 91, pp. 780-785, 2001.

[23] Riboprinter Kullanım Kılavuzu: http://www2.dupont.com/Qualicon/en_US/products/RiboPrinter_System

[24] Eyigör, A., Goncagul, G., Günaydın, E. and Çarlı, K.T., “*Salmonella* profile in chickens determined by real-time polymerase chain reaction and bacteriology from years 2000-2003 in Turkey,” *Avian Pathol.*, vol. 34, pp. 101-105, 2005.

[25] Abouzeeda, Y.M., Hariharana, H., Poppeb, C. and Kibenge, F.S.B., “Characterization of *Salmonella* isolates from beef cattle, broiler chickens and humansources on Prince Edward Island,” *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, vol. 23, pp. 253-266, 2000.

[26] Eyigor, A., Carli, K.T. and Unal, C.B., “Implementation of real-time PCR to tetrathionate broth enrichment step of *Salmonella* detection in poultry,” *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 34, pp. 37-41, 2002.

[27] Zhang, L., Yan, Z. and Ryser, E.T., “Comparison of the reveal test, the U. S. Food and Drug Administration culture method, and selective media for recovery of *Salmonella enteritidis* from commercial egg layer flock environments,” *J. Food Prot.*, vol. 69, pp. 2766-2769, 2006.

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

[29] Wedderkopp, A., Gradel, K.O., Jørgensen, J.C. and Madsen, M., “Pre-harvest surveillance of *Campylobacter* and *Salmonella* in Danish broiler flocks: a 2-year study,” *International Journal of Food Microbiology*, vol.68, pp.53–59, 2001.

[30] Thakur, S., Brake, J., Keelara, S., Zou, M. and Susick, E., “Farm and environmental distribution of *Campylobacter* and *Salmonella* in broiler flocks,” *Research in Veterinary Science*, vol. 94, pp. 33–42, 2013.

