

Tavuk dışkılarından Salmonella etkenlerinin konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle teşhisi

Orkun BABACAN

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Geliş Tarihi / Received: 24.05.2011, Kabul Tarihi / Accepted: 07.07.2011

Özet: Salmonella infeksiyonları kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde verim düşüklüğü ve ölümler sonucu ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Salmonellozis (paratifo) kanatlı hayvanlar ve kanatlı hayvan ürünleri ile bulaşan zoonoz bir infeksiyon olması nedeni ile insan sağlığı açısından da önem taşımaktadır. Bu derlemede tavuk dışkılarından Salmonella etkenlerinin teşhisinde kullanılan konvansiyonel ve moleküler yöntemler değerlendirilmiştir.

Anahtar sözcükler: Dışkı, Salmonella, tavuk, teşhis.

Detection of Salmonella from chicken faeces by conventional and molecular methods

Summary: In poultry breeding, Salmonella infections cause productivity losses and deaths. Salmonellosis (paratyphi) is very important disease for human health and zoonoses in humans consumption from poultry and poultry products. In this review detection of Salmonellae from chicken faeces by conventional and molecular methods were evaluated.

Key words: Chicken, diagnosis, faeces, Salmonella.

Giriş

Salmonella etkenleri Enterobacteriaceae familyasında yer alan Salmonella genusuna ait türlerin içerdiği serotiplerdir. Bu cins içinde iki tür bulunmaktadır ve bunlar *Salmonella enterica* ve *Salmonella bongori* olarak tanımlanmıştır. *S.enterica* içinde 7 alt grup bulunmaktadır. Bu gruplar *S.enterica* subsp. *enterica* (I), *S.enterica* subsp. *salamae* (II), *S.enterica* subsp. *arizonae* (IIIa), *S.enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb), *S.enterica* subsp. *houtenae* (IV), *S.enterica* subsp. *bongori* (V), *S.enterica* subsp. *indica* (VI)'dır Kanatlı hayvanlarla ilişkili tüm Salmonella etkenleri *S.enterica* türü içinde yer almaktadır (15, 19).

Tavuklarda Salmonella infeksiyonları temel olarak iki bölümde incelenmektedir (12). Bunlar, tavuklar için spesifik olan *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Pullorum'un neden olduğu Pullorum Hastalığı, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum'un neden olduğu Tavuk Tifosu ile insanlarda gıda kaynaklı hastalıklarla ilişkili olan farklı grupların serovarları tarafından oluşturulan paratifo infeksiyonlarıdır (20, 22).

Salmonella infeksiyonları kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde verim düşüklüğü ve ölümler sonucu ekonomik kayıplara neden olmaktadır. S.Pullorum

ve S.Gallinarum ile infekte damızlıklardan elde edilen civcivlerde, vertikal bulaşma nedeniyle erken dönem infeksiyonları şekillenmekte ve ciddi kayıplar oluşmaktadır (18, 28). S.Gallinarum ile infekte kanatlıların, etkeni en az bir ay süre ile dışkılarıyla çevreye saçtıkları bildirilmiştir (18).

Salmonellozis (paratifo) kanatlı hayvanlar ve kanatlı hayvan ürünleri ile bulaşan zoonoz bir infeksiyon olması nedeni ile insan sağlığı açısından da önem taşımaktadır (11, 33, 34). Tavuk ürünlerinden insanlara bulaşan ve gıda kaynaklı zehirlenme vakalarından en çok izole edilen serovarlar *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ve *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis'tir (20). İnsan, çiftlik hayvanları, tavuklar, rodentler ve kuşları içeren geniş bir konakçı spektrumuna sahip olan S.Typhimurium, bu konaklarda hastalık oluşturabilmektedir (29). Avrupa Birliği'nde özellikle yumurtalarda Salmonella kontrolü ve prevalansının azaltılması amacıyla 2003 yılında 2003/99/EEC adlı direktifi yayınlamıştır (1).

Kanatlı hayvanlar, insanlarda görülen Salmonella infeksiyonlarının en önemli bulaşma kaynağını oluşturmaktadırlar. Buna bağlı olarak infeksiyonun gıda ile insanlara geçişi ve halk sağlığının önemi gi-

derek artarken, bu infeksiyonların özellikle kanatlı üretimde önlenmesi için çalışmalar başlatılmıştır (20, 28). Özellikle sadece kanatlı hayvanlarda hastalığa neden olan ve vertikal bulaşan S.Pullorum ve S.Gallinarum infeksiyonunda, damızlık üretiminden başlayan kontrol önem taşırken; paratifo infeksiyonlarında kontrol programları tüm yetiştiricilik aşamalarında bulaşma kaynaklarına bağlı olarak uygulanmaktadır (16, 20, 23, 35, 36).

Kanatlı hayvanlarda Salmonella infeksiyonlarının kontrolü, hastalık nedeni kayıpların önlenmesi ve etkili bir kontrol programları gerektirmektedir. (20). Türkiye’de kanatlı hayvanlar ve kanatlı ürünleri ile ilgili olarak Salmonella infeksiyonları için yasal düzenlemeler bulunmaktadır. İhbarı Mecburi Hayvan Hastalıklar Hakkında Tebliğe göre, kanatlı tifosu ve pullorum hastalığı ihbarı mecburi hastalıklardır (4, 5). Kuluçkahane ve Damızlık Kanatlı İşletmeleri Yönetmeliği Uygulama Talimatına göre, S.Gallinarum ve S.Pullorum hastalığının tespiti halinde o kümeste bulunan hayvanlar bedelsiz olarak itlaf edilmekte ve kuluçkahane ve günlük civcivlerde rastlanması durumunda civciv ve yumurtalar imha edilmektedir. S.Enteritidis ve S.Typhimurium’un yumurtada ve damızlık işletmesinde tespiti halinde bu Talimatın ilgili maddeleri gereğince işlem yapılır (6).

Broiler (Ticari Etlik) ve Ticari Yumurtacı Kümeslerinde Salmonella Kontrol Programı Uygulama Talimatlarında, zoonoz karakterdeki Salmonella etkenlerinin prevalansının tespit edilmesi ve prevalansın Avrupa Birliği seviyesine düşürmek amaçlanmaktadır (2, 8). Ayrıca Türk Gıda Kodeksi’nde yumurta ve yumurta ürünlerinde ve çiğ kanatlı eti ve hazırlanmış kanatlı eti karışımlarında salmonella etkenlerinin bulunmaması ile ilgili hükümler yer almaktadır (9, 10).

İnfekte kanatlıların dışkılarının bulaşma kaynağı olması, dışkıyla kontamine olan yem su, altlık, çalışanlar ve bunlara ait ekipmanlar etkenlerin kanatlılara bulaşmasını kolaylaştırmakta ve önemli bir infeksiyon kaynağı olmaktadır (19, 20). Kesim aşamasında dışkı, karkas kontaminasyonuna da neden olmakta ve etken karkasta bir aydan fazla süre canlı kalabilmektedir (18, 35).

Bu derlemede tavuk dışkılarında Salmonella etkenlerinin teşhisinde kullanılan konvansiyonel ve moleküler yöntemler değerlendirilmiştir.

Salmonella İnfeksiyonlarının Teşhisi

Salmonella etkenlerinin kontamine materyallerden kültür yöntemi ile izolasyon ve identifikasyonu yaklaşık olarak yedi gün sürmektedir (24). Bu süre özellikle gıda maddelerinde Salmonella kontaminasyonlarının belirlenmesinde bir problem oluşturmaktadır. Bu durumun aşılmasında, daha hızlı sonuç veren moleküler tekniklerin kullanımı yarar sağlamaktadır. Moleküler teknikler arasında Polymeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), etkenin saptanmasında hızlı, spesifik ve sensitivitenin yüksek olması ile büyük avantaj sağlamaktadır. Bu yöntemin dışkı gibi klinik örneklerden ve gıdalardan Salmonella etkenlerinin saptanmasında kullanımı sürekli artmaktadır. PZR’nin bir diğer avantajı ise biyokimyasal ve fenotipik varyasyonlara rağmen mikroorganizmaların doğru teşhis edilebilmesidir (24, 25).

I- Konvansiyonel yöntemler

Salmonella etkenlerinin konvansiyonel yöntemlerle teşhisinde, ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme, ayırıcı besi yerlerine ekim, biyokimyasal testler ve serolojik doğrulama aşamaları bulunmaktadır (4, 7, 20). Konvansiyonel yöntemde, uluslararası düzeyde kabul gören ISO 6579:2002 standardı bulunmaktadır.

a) Ön zenginleştirme: Konvansiyonel yöntemin ilk aşaması ön zenginleştirme aşamasıdır. Ön zenginleştirmenin amacı, Salmonella etkenlerinin zengin besin maddeleri bulunan besi yerlerinde sayılarının artırılmasıdır (7). Ön zenginleştirme aşamasında 25 g dışkının 225 ml ön zenginleştirme besi yerine ilavesi önerilmektedir (3). Yapılan çalışmalarda 25 g dışkı numunesinin Salmonella etkenlerini saptayabilecek düzeyde olduğu belirtilmiştir (7).

Ön zenginleştirme aşamasında farklı besi yerleri kullanılabilir. Bu besi yerleri arasında Laktoz Broth, Yağsız Süt Tozu Besi yeri, Nutrient Broth, Trypticase Soy Broth ve Tamponlanmış Peptonlu Su (TPS)’dur. ISO 6579:2002 standardında önerilen önzenginleştirme besi yeri TPS’dir ve bu besi yerinde 37°C’de 16-20 saatlik bir inkübasyon önerilmektedir (3). TPS, içerdiği fosfat tampon nedeniyle örnek ilavesi sonrası inkübasyon aşamasında pH değerini 6.0 seviyelerinde kontrol etmekte ve bu pH değerlerinde Salmonella etkenlerinin üremeleri olumsuz etkilenmemektedir (7).

b) Selektif zenginleştirme: Konvansiyonel yöntemin ikinci aşaması selektif zenginleştirmedir.

Amacı, flora ve diğer bakterilerin inhibe edilmesini/sınırlamasını sağlayarak Salmonella etkenlerinin üremesini arttırmaktır (7, 20). Bu amaçla Rapaport Vassiliadis Soy Peptone Broth (RVS), Selenit Sistin Broth ve Tetrasyonat Broth kullanılmaktadır (7).

Selektif zenginleştirme olarak ISO 6579 metodu Rapaport Vassiliadis Soy Peptone Broth'ta 42°C de 18–24 saat inkübasyonunu önermektedir. TSE ise Tetrasyonat Broth'ta 43°C'de 24 saat inkübasyon önermektedir (3). Genel olarak, yüksek sıcaklıklardaki inkübasyonların daha etkili olduğu belirtilmektedir (7).

Tetrasyonat Broth içerdiği pepton ve safra gibi maddelerle salmonella etkenlerinin üremesini desteklerken; yine içerdiği kalsiyum bileşikleri ve iyot sayesinde *E.coli* üremesini inhibe etmektedir (20). RVS'nin içerdiği soya pepton Salmonella etkenlerinin çoğalmasını arttırmaktadır (7). ISO 6579:2002 standardına göre önzenginleştirme kültüründen 0.1 ml, 10'ar ml'lik Rapaport Vassiliadis Soy Peptone Broth ve Tetrasyonat Broth'a ekimler yapıldıktan sonra belirtilen sıcaklık ve sürede inkübasyona bırakılır (3).

c) Ayırıcı besi yerlerine ekim: Selektif zenginleştirme aşamasından sonra Salmonella üremesini gözle görebilmek için çeşitli besi yerlerine ekim yapılmaktadır. Bu besi yerlerinde Salmonella etkenlerine ait koloniler belirleyici özellikleri ile diğer etkenlerden ayrılmaktadır. Ayırıcı besi yerlerinde kullanılan bu belirleyici özellikler özellikle Salmonella etkenlerini laktoz şekerini fermente edememeleri ve hidrojen sülfür üretimleri esasına dayanmaktadır (20).

Ayırıcı olarak kullanılan besi yerleri Brilliant Green Phenol Red Agar, XLD Agar, XLT₄ Agar, McConkey Agar, Bizmut Sülfid Agar, Salmonella Shigella Agar, Rambach Agar ve Hectoen Enterik Agar'dır. (31, 34). XLD Agar, XLT₄ Agar, Bizmut Sülfid Agar, Hectoen Enterik Agar hidrojen sülfür (H₂S) oluşturma prensibiyle hazırlanmış besi yerleridir (7). Brilliant Green Phenol Red Agar, MacConkey Agar, Salmonella Shigella Agar ise laktoz içermekte ve laktoz fermentasyonu prensibine dayanmaktadır. Rambach Agar'ın bileşiminde ise propilen glikol bulunmaktadır. Salmonella etkenleri, besi yeri bileşimindeki propilen glikol'den asit oluştururlar ve koloni renginin kırmızı olmasıyla diğer etkenlerden ayırt edilirler (7).

ISO 6579:2002 standardında önerilen agarlar XLD Agar ve Brilliant Green Phenol Red Agardır. Ekim yapıldıktan sonra agarlar 37°C'de 18-24 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda Salmonella etkenleri XLD Agar'da siyah merkezli kırmızı koloniler halinde, Brilliant Green Phenol Red Agar'da pembe koloniler halinde üreme gösterirler (3).

d) Biyokimyasal Testler: Ayırıcı besi yerlerinde üremiş olan Salmonella şüpheli kolonilerden identifikasyon amacıyla çeşitli biyokimyasal testler yapılmaktadır. Bu testler laktoz, sükroz, glikoz fermentasyon testleri, lizin dekarboksilasyon testi, üre testi, Metil red/Voges Preskauer testi, hidrojen sülfür testi, indol testidir (Tablo 1) (3). Tüm bu testler ISO 6579:2002 standardında belirtilen testlerdir.

Tablo 1: Salmonella etkenlerinin biyokimyasal özellikleri (3, 20, 21, 27, 28).

Test	Özellik
Gram Boyama	-
Katalaz	+
Oksidaz	-
Laktoz	-
Sükroz	-
Glikoz	+
O/F	Fermentatif
H ₂ S	+
Gaz	+
İndol	-
Üre	-
Lizin Dekarboksilaz	+
Sitrat	+
Metil Red	+
Voges-Proskauer	-

e) Serolojik doğrulama: Biyokimyasal testler sonucunda Salmonella olarak tanımlanan suşlar serolojik olarak doğrulanmalıdır. Serolojik doğrulama için, hücre duvarı polisakkait antijenlerinden hazırlanmış spesifik 'O', flagella antijenlerinden hazırlanmış 'H', ve yüzey antijenlerinden hazırlanmış 'Vi' antiserumlar ile serolojik teste tabi tutulurlar (20,26). Bunun için, agarda üretilmiş olan etkenlere antiserumlarla lam aglütinasyon testi uygulanır (14, 20, 26).

II- Moleküler Yöntemler

Konvansiyonel yöntemlerin çok uzun sürmesi nedeniyle Salmonella etkenlerinin teşhisinde çeşitli moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Moleküler yöntemler kısa sürede sonuç vermeleri yönünden avantaj sağlamaktadırlar (25). Dışkı gibi klinik örneklerden Salmonella etkenlerinin hızlı ve güvenilir teşhisi hastalık kontrolüne yardımcı olmaktadır (30, 32). Bu teknikler erken teşhis amacıyla kullanılmaktadır ve klinik örneklerde pozitiflik saptanması durumunda etken izolasyonu gereklidir.

İnsan, hayvan ve gıda örneklerinden Salmonella teşhisi için PCR metodları ve DNA ekstraksiyonu prosedürleri tanımlanmıştır (17). PCR yöntemlerinin Salmonella etkenleri cins ya da alt tür düzeyinde teşhisine göre Salmonella etkenlerine ait hedef genler değişmektedir. Genellikle kullanılan genler arasında *iroB*, *invA*, *fliC*, *ompA*, *iagAB*, *agfA*, *oriC*, 16S rRNA ve 16S rDNA bulunmaktadır (13, 24).

InvA, salmonella genusuna spesifik bir özelliğindedir. Salmonella etkenlerinin 2 türü olan *S.enterica* ve *S.bongori*'yi saptamaktadır. *IroB* ve *iagAB*, *S.enterica* alt türlerini saptamaktadırlar. *sefA*, *S.Enteritidis*, *S.Pullorum* ve *S.Gallinarum*'u teşhis etmek için kullanılmaktadır. *fliC* ise *S.Typhimurium*'u spesifik olarak teşhis etmektedir (13).

Ayrıca prob hibridizasyonu, pulsed field gel electroforsis (PFGE), polimorfik DNA'nın rastgele amplifikasyonu (RAPD-PZR), DNA dizi analizi (DNA sequencing), AFLP (amplified fragment length polymorphism), VNTR (variable number tandem repeat), SNP (single nucleotide polymorphism) ve DNA Mikrodizilimi (DNA Microarray) gibi teknikler *Salmonellalar*ın moleküler tiplendirilmesi ve moleküler epidemiyolojisinde kullanılmaktadır (31).

Sonuç

Kanatlı hayvanlarda özellikle ekonomik kayıplara neden olan ve insanlarda gıda zehirlenmelerine neden olan Salmonella infeksiyonlarının laboratuvar teşhisi büyük öneme sahiptir. Konvansiyonel yöntemlerin etken izolasyonu ve identifikasyonunu kapsadığından dolayı güvenilir bir yöntemdir ve standart tekniktir. Moleküler yöntemler, özellikle PCR, izole edilen etkenlerden doğrulama amacıyla yapılmasının yanında özellikle dışkı gibi klinik

materyallerden de kısa sürede doğru teşhis yapabilmesi nedeniyle büyük avantajlar sağlamaktadır. Bu sebeple, konvansiyonel yöntemlerle birlikte PCR yönteminin bir arada kullanılması sonuç ve süre açısından daha güvenilir ve kısa olmaktadır.

Kaynaklar

1. **Adelina HS, Marianne C, Sophie LB, Françoise L, Isabelle P, Sandra R, Virginie M, Phillippe F, Nicolas R,** (2009). *Risk factors of Salmonella enterica subs. enterica contamination in 519 French laying hen flocks at the end of the laying period.* Prev Vet Med. 89, 51- 58.
2. **Anonim,** (2009). *Broler (ticari etlik) kümeslerinde salmonella kontrol programı uygulama talimatı.* Hukuki Dayanak: 29.04.2009 tarih ve 015125 sayılı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Yazısı.
3. **Anonim,** *Horizontal method for the detection of Salmonella spp.* ISO 6579: 2002.
4. **Anonim,** (2004). *İhbarı mecburi hastalıklar hakkında tebliğ.* Resmi gazete: 25420 Tebliğ No: 2004/14.
5. **Anonim,** (1967). *Kanatlıların pullorum ve gallinarum hastalığı yönetmeliği.* Resmi Gazete: 669/68124.
6. **Anonim,** (2007). *Kuluçkahane ve damızlık kanatlı işletmelerini yönetmeliği uygulama talimatı.* Tarih ve No: 30.11.2007/43.
7. **Anonim,** (2011). *Salmonella.* Erişim adresi: <http://www.mikrobiyoloji.org>, Erişim tarihi: **10.06.2009.**
8. **Anonim,** (2009). *Ticari yumurtacı kümeslerinde Salmonella kontrol programı uygulama talimatı.* Hukuki Dayanak: 29.04.2009 tarih ve 015125 sayılı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Yazısı.
9. **Anonim,** (2006). *Türk gıda kodeksi çiğ kanatlı eti ve hazırlanmış kantalı eti karışımları tebliği.* Tebliğ No: 2006/29.
10. **Anonim,** (2000). *Türk gıda kodeksi yumurta ve yumurta ürünleri tebliği.* Tebliğ No: 2000/11.
11. **Antunes P, Reu C, Sousa JC, Peixe L, Pestana N,** (2003). *Incidence of Salmonella from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents.* Int J Food Microbiol. 87, 97- 103.
12. **Barrow PA,** (2007). *Salmonella infections: immun and ion-immun protection with vaccines.* Avian Pathol. 36, 1- 13.
13. **Bäumler AJ, Heffron F, Reissbrodt R,** (1997). *Rapid Detection of Salmonella enterica with primers specific for iroB.* J Clin Microbiol. 35, 1224-1230.
14. **Bilgehan H,** (2004). *Klinik Mikrobiyolojik Tanı.* Barış Yayınları, İzmir.
15. **Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B,** (2000). *Salmonella nomenclature.* J Clin Microbiol. 38, 2465- 2667.
16. **Cox NA, Berrang ME, Cason JA,** (2000). *Salmonella penetration of egg shells and proliferation in broiler hatching eggs.* Poult Sci. 79, 1571- 1574.
17. **Çarlıh KT, Ünal CB, Caner V, Eyigör A,** (2001). *Detection of chicken feces by a combination of tetrathionate broth enrichment, capillary pcr, and capillary gel electrophoresis.* J Clin Microbiol. 39,1871-1876.

18. Dunkley KD, Callaway TR, Chalova VI, McReynolds JL, Hume M, Dunkley CS, Kubene LF, Nisbet DJ, Ricke SC, (2009). *Foodborne Salmonella ecology in the avian gastrointestinal tract*. Anarobe. 15, 26- 35.
19. İzgür M. (2010). *Kanatlı Salmonella enfeksiyonlarının epidemiyolojisi*. Turkiye Klinikleri J Vet Sci. 1(2), 61-68.
20. İzgür M. (2002). *Salmonella İnfeksiyonları*. İzgür M, Akan M. Eds. Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayınevi, Ankara. s. 41-53.
21. Koneman E, Washington WJ, Allen S, Janda W, Procop G, Schreckenberger P, Woods G, (2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Sixth Edition. Chapter 6. p. 211
22. Liu GR, Rahn A, Liu WQ, Sanderson KE, Johnston RN, Liu SL, (2002). *The evolving genome of Salmonella enterica serovar Pullorum*. J Bacteriol. 184, 2626- 2633.
23. Maciorowski K.G, Herrera P, Jones FT, Pillai SD, Ricke SC, (2006). *Cultural and immunological detection methods for Salmonella spp. in animal feeds*. Vet Res Commun. 30, 127- 137.
24. Oliveira SD, Rodenbusch CR, Cé MC, Rocha SLS, Canal CW, (2003). *Evaluation of selective and nonselective enrichment PCR procedures for Salmonella detection*. Lett Appl Microbiol. 36, 217-221.
25. Oliviera SD, Santos LR, Schuch DMT, Silva AB, Salle CTP, Canal CW, (2002). *Detection and identification of Salmonellas from poultry- related samples by PCR*. Vet Microbiol. 87, 25- 35.
26. Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR, (1994). *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby Year Book Europe Limited.
27. Quinn PJ, Markey BK, (2003). *Concise Review of Veterinary Microbiology*. Blackwell Publishing Ltd.
28. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC, (2004). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. India Replica Press Pvt. Ltd, Kundli. Enterobacteriaceae. p: 106
29. Rabsch W, Andrews HL, Kingsley RA, Prager R, Tschape H, Adams LG, Baumler A, (2002). *Salmonella enterica serotype Typhimurium and its host- adapted variants*. Infect Immun. 70, 2249- 2255.
30. Riyaz- Ul- Hassan S, Verma V, Qazi GN, (2004). *Rapid detection of Salmonella by polymerase chain reaction*. Mol Cell Probes. 18, 333- 339.
31. Sareyyüpoğlu B, (2010). *Kanatlı Salmonella enfeksiyonlarının konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle teşhisi*. Turkiye Klinikleri J Vet Sci. 1(2), 69- 79.
32. Sareyyüboğlu B, Çelik Ok A, Cantekin Z, Yardımcı H, Akan M, Akçay A, (2008). *Polimerase chain reaction detection of salmonella spp. in faecal samples of pets birds*. Avian Dis. 52, 163- 167.
33. Su LH, Chiu CH, (2007). *Salmonella: clinical importance and evolution of nomenclature*. Chang Gung Med J. 30 (3), 210-219.
34. Türkyılmaz S, Savaşan S, Kırkan Ş, Kaya O, (2007). *Tavuklarda Salmonella enteritidis enfeksiyonlarının bakteriyolojik ve serolojik yöntemlerle teşhisi*. İstanbul Üniv Vet Fak Derg. 33, 23- 33.
35. Uyttendaele MR, Debevere JM, Lips RM, Neyts KD, (1998). *Prevalance of Salmonella in poultry carcasses and their products in belgium*. Int J Food Microbiol. 40, 1- 8.
36. Yoshikawa TT, Herbert P, Oill PA, (1980). *Salmonellosis*. West J Med. 133, 408-417.