

Türkiye’de Sık Rastlanan *Salmonella* Enteritidis Serovarlarına Spesifik Bakteriyofajların İzolasyonu

Zafer Ata

Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkezi Komutanlığı Gıda Kontrol ve Araştırma Merkezi Başk., Gemlik, Bursa

Geliş Tarihi / Received: 18.11.2018, Kabul Tarihi / Accepted: 30.11.2018

Özet: Birçok ülkede önemli halk sağlığı sorunu olan *S. Enteritidis*, hayvanlardan ve gıdalardan izole edilen en yaygın *Salmonella* serotiplerinden biridir. Hayvanların bakteriyel infeksiyonlarının kontrolünde bakteriyofaj kullanımı, son yıllarda üzerinde araştırma yapılan konular arasındadır. Bu çalışmada, ülkemizde kanatlılardan en çok izole edilen *Salmonella* serotiplerinden biri olan *S. Enteritidis* (15 adet), bakteriyofajların konak hedef hücreleri olarak kullanıldı. Virulent bakteriyofajların izolasyonu ve zenginleştirilmesi amacıyla overlay-agar yöntemi seçildi. İzole edilen bakteriyofajların hedef bakteri suşları üzerindeki litik aktiviteleri spot test uygulaması ile belirlenerek değerlendirildi. Türkiye’nin farklı bölgelerinde bulunan ticari broyler tesislerinden *S. Enteritidis* üzerinde litik etki gösteren fajların izolasyonu için alınan toplam 78 adet örnek (tavuk dışkı, kümes atık suları, kümes altlık) bakteriyofaj izolasyonu amacıyla test edildi. Bu örneklerden toplam 22 adet *S. Enteritidis*’e spesifik fajın purifikasyonu gerçekleştirildi. Yapılan bu çalışmada, Af1-Ka ve Af3-Ka fajları, test edilen 15 adet *S. Enteritidis* suşunu sırasıyla %78’ini ve %71’ini lize ederek geniş bir konak spektrumu göstermiştir. Bu iki bakteriyofajın ileri faj karakterizasyonu ve tiplendirilmesinin yapılmasıyla, kanatlı endüstrisindeki bakterileri kontrol etmede kullanılacak etkili bakteriyofajın seçilmesi için bir temel oluşturulmasında yardımcı olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyofaj, Biyokontrol, İzolasyon, *Salmonella* Enteritidis

Isolation of Bacteriophages Specific to *Salmonella* Enteritidis Serovars Common in Turkey

Abstract: *S. Enteritidis*, an important public health problem in many countries, is one of the most common *Salmonella* serotypes isolated from animals and foods. The use of bacteriophage in the control of bacterial infections of animals is among the topics that have been researched in recent years. In this study, *S. Enteritidis* (15), one of the most frequently isolated *Salmonella* serotypes in Turkey, was used as host target cells of bacteriophages. Overlay-agar method was chosen for the isolation and enrichment of virulent bacteriophages. The lytic activities of the isolated bacteriophages on the target bacterial strains were determined by spot test application. Total of 78 samples (chicken manure, poultry waste waters, poultry litter) taken from commercial broiler facilities located in different regions in Turkey was tested for isolation of phage that had a lytic effect on *S. Enteritidis*. A total of 22 *S. Enteritidis* specific phages were purified from these samples. In this study, Af1-Ka and Af3-Ka phages showed a wide host spectrum by lysing 78% and 71% of the 15 *S. Enteritidis* strains tested respectively. It has been concluded that advanced phage characterization and typing of these two bacteriophages can help to establish a basis for selecting the effective bacteriophage to be used in controlling the bacteria in the poultry industry.

Keywords: Bacteriophage, Biocontrol, Isolation, *Salmonella* Enteritidis

Giriş

Salmonella infeksiyonları Türkiye’de kanatlı hayvan yetiştiriciliğinin en önemli problemlerinden birisidir [3]. Önemli bir zoonoz olan *Salmonella* infeksiyonları kanatlı hayvanlarda verim düşüklüklerine, önemli hastalık tablolarına ve ölümlere neden olmaktadır. Buna ek olarak; özellikle kanatlı hayvanlarda görülen *Salmonella* infeksiyonları insanlarda gıda zehirlenmelerine neden olan bulaşma kaynaklarının başında gelmektedir. Yukarıda sayılan nedenlerle kanatlılarda salmonellaların bulunması;

bu hayvanların yetiştiriciliğinden halk sağlığına kadar farklı alanları ve sektörleri etkilemektedir [2].

Son yıllarda antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalara karşı kullanmak amacıyla yapılan bakteriyofaj çalışmalarında artış olmuştur. Fajla terapi uygulamaları geçtiğimiz yüzyılın başlarında başlamıştır. 1923 yılında Gürcistan’ın Tiflis şehrinde kurulan George Elieva Enstitüsünde birçok hastalığın tedavisinde bakteriyofajlar etkin olarak kullanılmaktadır [17]. Virulent *Salmonella* faj Felix-O1 (FO1) 1930’larda Felix ve Callow tarafından ilk kez tanımlanmıştır [10]. *Myoviridae* üyesi olan bu faj,

Salmonella spp. arasında geniş konak özelliğine sahiptir [8].

Fajlar hem gıda ile temas eden yüzeylerde hem de hayvanlarda zoonoz etkenlere karşı kullanılabilirler [4]. Hayvan sağlığı alanında bakteriyofajlar, broylerlerde *E. coli* infeksiyonlarının [14], buzağılarda *E.coli*'ye bağlı ishallerin [5], piliçlerde *S. Typhimurium*'un ve *S. Enteritidis*'in bağırsaklarda ve karaciğerdeki sayılarını azaltmak için kullanılabilirler [4]. Ayrıca *S. Enteritidis* ile infekte tavuklarda hastalığın kontrolünde kullanılan bakteriyofajlar önemli oranda bakteri sayısını azaltabilmektedir [20].

Kanatlı yetiştiriciliğinde *Salmonella* infeksiyonlarının kontrol altına alınması zor bir işlemdir. Kümeslerde ciddi biyogüvenlik tedbirlerinin alınmasını ve birçok antibiyotik kullanımını gerektirmektedir [9]. Karkas yüzeylerinde *Salmonella* gibi enterik patojen kaynaklı yüzey kontaminantlarının sayılarını azaltmak için farklı metotlar kullanılarak yapılan çalışmalar çok uzun yıllara dayanmaktadır. Et üretim tesislerinde yapılan hijyen amaçlı çalışmalar, geniş çapta klorlu suların veya trisodyum fosfat gibi diğer antimikrobiyal ajanların sprey tarzında uygulamalarını kapsamaktadır [21]. *Salmonella* enfeksiyonlarına karşı alınan pahalı ve bir o kadar da zor ve insan sağlığı açısından şüpheli olan bu uygulamalara alternatif başka çözümler gereklidir. Bakteriyosinler (nisin-*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*), antimikrobiyal peptidler ve bakteriyofajlar bu sorunun çözümünde doğal antimikrobiyaller olarak rol oynamaktadırlar. Bu grup içinde de bakteriyofajlar doğada geniş çapta bulunmalarının yanında doğal bakteri yiyen ajanlar olarak dikkat çekmektedirler. Doğada, atık sularda ve hayvansal atıklarda bulunabildikleri gibi birçok gıda maddesinde de bulunmaktadırlar. *Salmonella* fajları kanatlı ekstraktlarından, kanatlı çiftlik ortamlarından ve atık su işleme tesislerinden izole edilebilmektedir. Bakteriyofajların yüksek oranda bakteri spesifik özellikleri, toksik olmamaları ve biyofilm oluşumunda birçok mikroorganizmayı kontrol edebilmeleri [16], günden güne bakteriler arasında artan antibiyotik dirençlilikleri, bakteriyofajları veteriner hekimlik ve tip alanında daha önemli yerlere taşımıştır [4].

Literatür taramalarında diğer ülkelerde salmonelları lize eden fajlara ait birçok çalışmanın bulunmasına rağmen, ülkemizde *S. Enteritidis*'e spesifik

faj çalışması bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışma; ülkemizde ve dünyada sık rastlanan paratifo etkenleri arasında yer alan *S. Enteritidis* infeksiyonlarını kontrol etmede etkili olabilecek, ülkemiz coğrafyasından izole edilen *S. Enteritidis* spesifik fajların purifikasyonları ve konakçı seçiciliğinin saptanması (bakteriyofajların *Salmonella* suşları üzerine olan litik etkilerinin belirlenmesi) amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Metot

Standart Suşlar

Bu çalışmada, *S. Enteritidis* ATCC 13076 suşu, bakteriyofajların konak hedef hücreleri olarak kullanıldı. 2000-2010 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı laboratuvarında izole edilmiş olan kanatlı hayvan orijinli toplam 14 adet *S. Enteritidis* izolatu fajların çalışmaya litik spektrumlarının belirlenmesi amacıyla dahil edildi. Ayrıca *Salmonella enterica* spesifik Felix O1 fajı ile *S. Enteritidis* vB-GES-Se-K1 Tiflis fajından, çalışmanın tüm aşamalarında kontrol fajı olarak faydalandı.

Virulent Bakteriyofaj İzolasyonu

Bursa, Adapazarı, Afyon, Balıkesir, Bandırma, Düzce bölgelerinde farklı lokalizasyonlarda bulunan kanatlı kümesi tesislerinden *S. Enteritidis* üzerinde litik etki gösteren fajların izolasyonu için alınan tavuk dışkı örnekleri, kümesi atık suları, kümesi altlık olmak üzere, toplam 78 adet örnek (şubat-kasım 2015 tarihleri arasında) bakteriofaj izolasyonu amacıyla kullanıldı. Laboratuvara taşınan örnekler debris çöktükten sonra 50 ml'lik falkon tüplerde üst sıvı santrifüj edildi (4°C, 13 000 g de 10 dk). Santrifüj sonrası süpernatant kısmı 0,22 µm geçirgenlikteki filtrelerden geçirilerek filtre edildi. Filtre edilen sıvı (filtrat) faj kaynağı olarak kullanıldı. Çalışmada kullanılan konak kültürü 37°C'de Tryptic Soy Broth ve Tryptic Soy Agar'da çoğaltıldı, istenen bakteri konsantrasyonları spektrofotometrik olarak oluşturulan eğriye göre ayarlandı. Bakteriyofaj üremesini indüklemesi nedeniyle çalışma boyunca besiyerleri hazırlanırken, içerisine CaCl₂ eklendi. 5 ml'lik hacimde Brain Heart Infusion Broth (BHIB)'a muhtemel bakteriyofaj içeren filtrattan 5 ml ve 0.1 ml MacFarland 0.5 konak kültürü eklendi. 37°C'de 24

saat boyunca sallayıcı (Nüve SL 350) üzerinde inkübe edildi. Bu işlem 3 gün süreyle tekrar edildi [7].

Elde Edilen Fajların Purifikasyonu (tek plak izolasyonu)

Fajların litik aktiviteleri kullanılarak izole edilmeleri için overlay-agar (CaCl_2 'lü yarı katı BHIB) yöntemi kullanıldı ve bunun için belirli konsantrasyonlarda (MacFarland 0.5) konak kültürü (3-6 saatlik taze kültür) yarı katı agar içerisine eklendi ve bu karışım önceden hazırlanmış dip agar (CaCl_2 'lü BHIB) üzerine döküldü. Bu sırada her bir faj stoğunun ayrı ayrı faj plaklarının daha belirgin olmalarının sağlamak amacıyla saline-magnezyum (SM) vasatı kullanıldı. Faj lizatının 10^{-6} - 10^{-11} pfu/ml olacak şekilde her plak için fizyolojik tuzlu su (FTS) dilüsyonu hazırlandı. Her faj için 7 plak (petri besi yeri) olmak üzere 6 adet dilüsyon, 1 adet kontrol (fajsız) kullanıldı. Dilüsyonlar hazırlandıktan sonra her dilüsyondan ayrı ayrı hızlıca 100 µl faj dilüsyonu overlay agara (3 ml) eklendi ve sonra hızlıca 300 µl konak bakteri eklenerek pipetajla karıştırıldı. Kontrol plağı için olan overlay agara sadece konak kültür eklendi. Bu karışım yüzeyi kurumuş dip agara döküldü. Bu işlem her dilüsyon için tekrarlandı. Kullanılacak plakların yüzeylerinin kuruması için 37°C 'de 1-2 saat ters çevrilip bekletildi. Kuruyan plaklar ters çevrilerek 18-24 saat 37°C 'de inkübe edildi. Ertesi gün her petrideki faj plakları tek düştüğü bir bölgeden tek bir plak steril enjektör ucuyla kesilip, steril bir tüp içerisine alındı. Bu tüpe 5 ml BHIB eklenip iyice karıştırılarak fajların besiyerine geçmesi sağlandı. 3-6 saatlik konak kültürden (MacFarland 0.5 konsantrasyonda) tekrar 0.1 ml alınarak bu tüp içine pipetlenerek adsorpsiyonun gerçekleşmesinden sonra 5 ml daha sıvı besiyeri eklendi. 37°C 'de 24 saat boyunca sallayıcı üzerinde inkübasyonun ardından konak hücre artıklarını uzaklaştırmak için 4°C , 13 000 g de 10 dk'lık santrifüj işlemi uygulandı. Bu işlemler her overlay agarda aynı morfolojiye sahip plak formasyonu görülene kadar tekrarlanarak faj purifikasyonu tamamlandı. Son olarak purifiye olarak elde edilen süpernatant, 0,22 µm porlu filtrelerden geçirilerek veya %10 kloroform eklenerek faj filtratı olarak kullanıldı. Filtrata %10 kloroform eklenerek -20°C 'de bakteriyofajlar saklandı [7].

Fajların Çoğaltılması

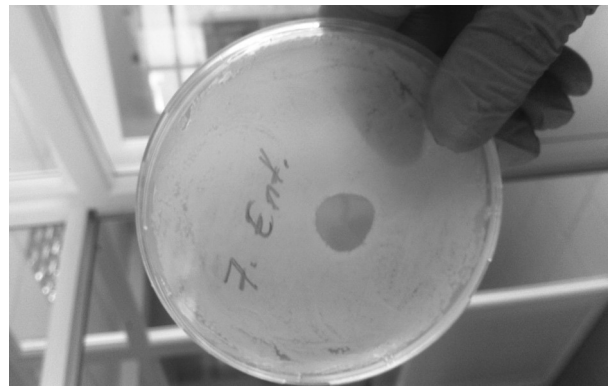
Saf faj filtratının zenginleştirilmesi için kısaca yukarıda anlatıldığı gibi faj ve 3-6 saatlik konak bakteri, sıvı ortamda istenilen titreye ulaşmaya kadar pasajlar yapılarak karşılaştırıldı. Titrenin belirlenmesi için son karşılaştırmaya ait faj süspansiyonunun 10^{-6} - 10^{-11} 'e kadar FTS içerisinde dilüsyonları hazırlandı ve yine overlay-agar yöntemi kullanıldı [7].

Bakteriyofajların Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi

İzole edilen bakteriyofajların hedef bakteri suşları üzerindeki litik aktiviteleri spot test uygulaması ile belirlenerek değerlendirildi. Hazırlanan dip agara fajın konak bakteri üzerinde etkili olup olmadığını anlamak amacıyla spot test uygulandı. Bu test için hazırlanan dip agara yayma plak yöntemiyle her bir bakteriden ekim yapıldı. Ekim yapılan dip agara 10^8 pfu/ml olan 5-15 µl faj süspansiyonu eklenerek (damlatılarak) 24 saat 37°C de inkübe edildi. Etüvde 37°C 'de 18-24 saat inkübasyon sonrasında plak formasyonları değerlendirildi. İnkübasyon sonunda üreme olmayan alanların görülmesi fajın konak bakteri üzerine etkili olduğunu gösterdi [7,13].

Bulgular

Bakteriyofaj izolasyonu amacıyla kullanılan 78 adet örnekten toplam 22 adet *S. Enteritidis*'e spesifik faj purifiye edildi (Tablo 1). Kanatlı hayvanlardan izole edilen toplam 14 *S. Enteritidis* ve 1 *S. Enteritidis* ATCC 13076 standart suşunun, 22 *S. Enteritidis* fajlarına karşı litik aktiviteleri Tablo 2'de, litik aktiviteye sahip bakteriyofajlara ait spot test ve overlay-agar görünüşleri sırasıyla Şekil 1 ve Şekil 2'de sunuldu.



Şekil 1. Spot test görünümü

Tablo 1. Ticari broyler kümeslerden izole edilen *Salmonella* Enteritidis'e özgü bakteriyofajların örneğe ve bölgelere göre dağılımı

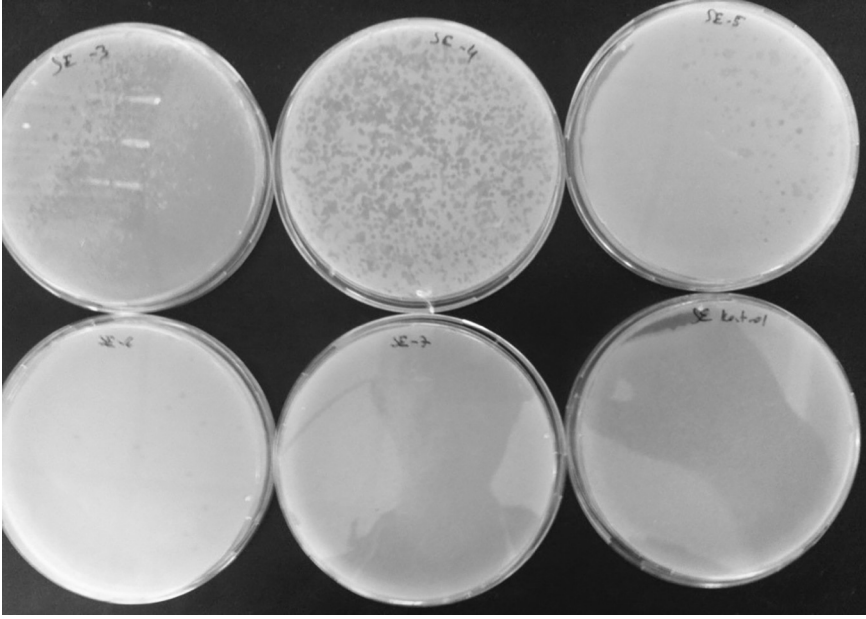
Orijin	İzole edilen bakteriyofaj pozitif tavuk dışkı örneği/toplam%	İzole edilen bakteriyofaj pozitif kümes atık sıvısı örneği/toplam %	İzole edilen bakteriyofaj pozitif kümes altlık örneği/toplam %	İzole edilen bakteriyofaj pozitif örnek / toplam %
Adapazarı	2/9 (%22,2)	0/2 (%0)	1/3 (%33,3)	3/14 (%21,4)
Afyon	6/17 (%35,2)	-	3/8 (%37,5)	9/25 (%36)
Bahkesir	0/8 (%0)	-	-	0/8 (%0)
Bandırma	2/5 (%40)	1/2 (%50)	0/2 (%0)	3/9 (%33,3)
Bursa	4/14 (%28,5)	0/1 (%0)	0/2 (%0)	4/17 (%23,5)
Düzce	3/5 (%60)	-	-	3/5 (%60)
Toplam	17/58 (%29,3)	1/5 (%20)	4/15 (%26,6)	22/78 (%28,2)

Tablo 2. Ticari broyler kümes (tavuk dışkı, kümes atık suları, kümes altlık) örneklerinden izole edilen 22 adet *S. Enteritidis* fajının, kanatlı hayvanlardan izole edilen toplam 15 adet *S. Enteritidis* suşundaki litik aktivitesi

Faj Kodu ^a	<i>Salmonella</i> suşları														
	SE	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14
Ad1-Td	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Ad2-Td	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
Ad3-Ka	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+
Af1-Td	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Af2-Td	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+
Af3-Td	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Af4-Td	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-
Af5-Td	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Af6-Td	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-
Af1-Ka	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
Af2-Ka	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Af3-Ka	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ban1-Td	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Ban2-Td	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-
Ban1-Kas	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
Bur1-Td	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Bur2-Td	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Bur3-Td	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
Bur4-Td	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Dü1-Td	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-
Dü2-Td	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
Dü3-Td	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-

^a İdentifiye edilen bakteriyofajlar: Fajın izole edildiği bölge (Ad: Adapazarı; Af: Afyon; Ban: Bandırma; Bur:Bursa; Dü:Düzce), faj izolasyonunun numarası ve örnek çeşidi (Td:Tavuk dışkısı; Ka: Kümes altlık; Kas: Kümes atık sıvısı)

SE: *S. Enteritidis* ATCC 13076; +: Litik aktivite pozitif; -: Litik aktivite negatif



Şekil 2. *S. Enteritidis* bakteriyofaj plaklarının overlay-agar görünüşleri

Tartışma ve Sonuç

Salmonelloz, ticari kümes hayvanlarını etkileyen, kümes hayvanı üretimine zarar veren ve halk sağlığı açısından kaygı oluşturan önemli bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. Dünyada ve Türkiye’de paratifoid *Salmonella* etkenleri uzun süredir insanlarda ve kanatlı hayvanlarda önemli sağlık sorunlarına ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Çeşitli ülkelerde *S. Enteritidis*’e özgü bakteriyofajların izolasyonu ile ilgili yapılan araştırmalar [4,7,20] bulunmasına rağmen, ülkemizde konuyla ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma, ülkemizde ticari broyler kümes örneklerinden (tavuk dışkı, kümes atık suları ve kümes altlıkları) *S. Enteritidis*’e özgü bakteriyofajların izolasyonunun yapıldığı ilk çalışmadır.

Her konağa spesifik olmak, bakteriyofajların ortak özellikleri arasında bulunmaktadır. Bakteriyofajlar çoğu zaman sadece 1 bakteri türünü veya bir tür içinde sadece 1 serotipi enfekte ederler [1]. Bununla birlikte, bakteriyofajların bu özelliği bakteriyel enfeksiyonlara karşı kontrol ve tedavi etkisini sınırlayıcı bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır [6]. Araştırmacıların izole ettikleri bakteriyofajların geniş konak spektrumuna sahip olduğuyla ilgili daha önce yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmada, Af1-Ka ve Af3-Ka fajları, test edilen 15 adet *S. Enteritidis* suşunu sırasıyla %78’ini ve %71’ini lize ederek geniş bir konak spektrumu gösterdi.

Çin’de yapılan bir çalışmada [22], kanatlı çiftliklerinden SaFB14 fajının izole edildiği, bu fajın test edilen 39 *S. Enteritidis*’i %94,87 oranında lize ederek geniş konak spektrumuna sahip olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen fajların konak spektrumu yönünden çalışmamız, bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Atterbury ve ark. [4] kümes hayvanı işletmelerinden izole ettikleri ϕ 25, ϕ 28, ϕ 37 fajlarının, test edilen 7 *S. Enteritidis* suşunun tümünde (%100) litik aktiviteye sahip olduğunu göstererek, bu çalışmaya oranla, daha geniş konak spektrumuna sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan hedef bakteri suşu olan *S. Enteritidis*’in sayısı (15 adet) Atterbury ve ark.’nın [4] çalışmasının (*S. Enteritidis* hedef bakteri suşu 7 adet) iki katı oranındadır. Test edilecek bakteri sayısının artması litik fajların konak spektrumu azaltmaktadır. Bunun nedeninin, konak spektrumu belirlenecek bakteri suşlarının sayıları ile litik fajların konak spektrumu arasındaki negatif korelasyon olarak düşünülmektedir.

Bakteriyofajların karakterizasyonu ve tiplendirilmesiyle (Faj genom büyüklüğü, faj genom dizi analizi, faj yapısal proteinlerinin tespiti, fajların elektron mikroskopisi vb.) farklı araştırmacıların yaptıkları birçok çalışma bulunmaktadır [15,18,19]. Bu çalışmada izole edilen fajların litik aktivitelerinin farklı *S. Enteritidis* suşlarında yakın sayılabile-

cek özellikte olması faj izolatlarının aynı şuş olabileceği sorunu akla getirmektedir. Bu nedenle, ileri faj karakterizasyonu ve tiplendirilmesinin yapılması bu sorunun yanıtı olabileceği düşünülmektedir.

Dışkı örnekleri ve atık sular her zaman birçok *Salmonella* serotipine karşı litik fajların izolasyonu için büyük bir ilgi alanına sahiptir. *S. Enteritidis*'e özgü bakteriyofajlar bu çalışmada, ticari broyler kümeslerinin kümes atık sıvısı, dışkı vb. gibi toplam 78 örneğin %28,2'sinden izole edilmiştir. Ticari broyler kümeslerinin kümes atık sıvısı, dışkı vb. örneklerinde bol miktarda bakteriyofajın bulunduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır [4,12,22].

Fiorentin ve ark.'nın [11] 2005 yılında yaptıkları çalışmada kullandıkları bakteriyofajların piliçlerde *S. Enteritidis* PT4'ü yoğunluğu azalttığını göstermişlerdir. Atterbury ve ark. [4], *Salmonella* bakteriyofajlarının, ticari broylerlerde *Salmonella* suşları ile mücadele etmek için kullanılabilecek olanaklarını araştırmıştır. Araştırmacıların elde ettikleri sonuçlar, bu bakteriyofajların *S. Enteritidis*'in barsak kolonizasyonunu önemli ölçüde azalttığını göstermiştir [4]. Bakteriyofajların bu avantajları ve *S. Enteritidis*'e litik aktivite gösteren bakteriyofajların uygulamaları göz önüne alındığında, bu çalışmada izole edilen bakteriyofajların, *S. Enteritidis*'in neden olduğu tavukların bakteriyel infeksiyonlarını kontrol etmek için iyi terapötik ve profilaktik maddeler olma potansiyeline sahip olabileceği kanısına varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışmayı HDP (V)-2014-43 numaralı proje olarak Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) desteklemiştir.

Kaynaklar

- Ackermann HW, Audurier A, Berthiaume L, Jones LA, Mayo JA, Vidaver AK, (1978). *Guidelines for bacteriophage characterization*. Adv Virus Res. 23, 1–24.
- Akan M, (2008). *Kanatlılarda salmonella infeksiyonları ve kontrolünde temel prensipler*. Veteriner Tavukçuluk Derneği Mektup Ankara Dergisi 6(2), 3-4
- Aksakal A, (2003) *Bazı kanatlıların dışkılarında Salmonella türlerinin varlığı ve yaygınlığı ile antibiyotiklere duyarlılıkları*. YYÜ Vet. Fak. Derg. 14 (1), 95-101.
- Atterbury RJ, Van Bergen MAP, Ortiz F, Lovell MA, Harris JA, De Boer A, Wagenaar JA, Allen VM, Barrow PA, (2007). *Bacteriophage therapy to reduce Salmonella colonization of broiler chickens*. Appl Environ Microbiol. 73, 4543-4549.
- Barrow P, Lovell M, Berchieri AJ, (1998). *Use of lytic bacteriophage for control of experimental Escherichia coli septicemia and meningitis in chickens and calves*. Clin Diag Lab Immunol. 5, 294-298.
- Bielke L, Higgins S, Donoghue A, Donoghue D, Hargis BM, (2007). *Salmonella host range of bacteriophages that infect multiple genera*. Poult. Sci. 86(12), 2536-2540.
- Carey-Smith GV, Billington C, Cornelius AJ, Hudson JA, Heinemann JA, (2006). *Isolation and characterization of bacteriophages infecting Salmonella spp.* FEMS Microbiol Lett. 258, 182-186.
- Cherry WB, Davis BR, Edwards PR, Hogan RB, (1954). *A simple procedure for the identification of the genus Salmonella by means of a specific bacteriophage*. J Lab Clin Med. 44, 51-55.
- Dibner JJ, Richards JD, (2005). *Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action*. Poult Sci. 84, 634-643.
- Felix A, Callow BR, (1943). *Typing of paratyphoid B bacilli by means of Vi bacteriophage*. Brit Med J. 12, 127–130.
- Fiorentin L, Vieira ND, Barioni WJ, (2005). *Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of Salmonella Enteritidis PT4 in caecal contents of broilers*. Avian Pathol. 34, 258-263.
- Higgins JP, Higgins SE, Guenther KL, Huff W, Donoghue AM, Donoghue DJ, Hargis BM, (2005). *Use of a specific bacteriophage treatment to reduce Salmonella in poultry products*. Poult Sci. 84, 1141-1145.
- Higgins JP, Andreatti Filho RL, Higgins SE, Wolfenden AD, Tellez G, Hargis BM, (2008). *Evaluation of Salmonella-lytic properties of bacteriophages isolated from commercial broiler houses*. Avian Dis. 52, 139-142.
- Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Donoghue AM, (2005). *Alternative to antibiotics utilization of bacteriophage to treat colibacillosis and prevent food born pathogens*. Poult Sci. 84, 655-659.
- Kang HW, Kim JW, Jung TS, Woo GJ, (2013). *WksI3, a new biocontrol agent for Salmonella enterica Serovars Enteritidis and Typhimurium in foods: Characterization, application, sequence analysis, and oral acute toxicity study*. Appl Environ Microbiol. 79(6), 1956-1968.
- Kudva IT, Jelacic S, Tarr PI, Youderian P, Hovde JC, (1999). *Biocontrol of Escherichia coli O157 with O157-specific bacteriophages*. Appl Environ Microbiol. 65(9), 3767-3773.
- Kutateladze M, Adamia R, (2010). *Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics*. Trends Biotechnol. 28(12), 591-595.
- Kwon HJ, Cho SH, Kim TE, Won YJ, Jeong J, Park SC, Kim JH, Yoo HS, Park YH, Kim SJ, (2008). *Characterization of a T7-like lytic bacteriophage (SG-JL2) of Salmonella enterica Serovar Gallinarum Biovar Gallinarum*. Appl Environ Microbiol. 74(22), 6970-6979.

19. Lappe ND, Doran G, O'Connor J, O'Hare C, Cormican M, (2009). *Characterization of bacteriophages used in the Salmonella enterica serovar Enteritidis phage-typing scheme*. J Med Microbiol. 58, 86-93.
20. Sklar IB, Joerger RD, (2001). *Attempts to utilize bacteriophage to combat salmonella enterica serovar enteritidis infection in chickens*. J Food Saf. 21(1), 15-29.
21. Slavik MF, Kim JW, Pharr MD, Raben DP, Tsai S, Lobsinger CM, (1995). *Effect of trisodium phosphate on campylobacter attached to post-chill chicken carcasses*. J Food Prot. 57, 324-326.
22. Tang D, Zhang P, Zhang Q, Xue F, Ren J, Sun J, Qu Z, Zhuge X, Li D, Wang J, Jiang M, Dai J, (2018). *Isolation and characterization of a broad-spectrum phage of multiple drug resistant Salmonella and its therapeutic utility in mice*. Microb Pathog. doi:10.1016/j.micpath.2018.10.042.