ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

THIQAR BÖLGESİ *SALMONELLA* HASTALIĞININ TESPİTİ İÇİN WİDAL TEST VE PCR TESTİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Ahmed Talib ABDULADHEEM

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ahmed Talib ABDULADHEEM tarafından hazırlanan **"Thiqar Bölgesi *Salmonella* Hastalığının Tespiti için Widal Test ve PCR Testinin Karşılaştırılması"** adlı tez çalışması 04/03/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL

Eş Danışman : Dr. Basim Abduhussein JARULLAH

Jüri Üyeleri :

Başkan :Dr. Öğr. Üyesi Aysel Sarı
Fen Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı
Fırat Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Pınar ARSLAN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğine göre hazırlamış olduğum "**Thiqar Bölgesi *Salmonella* Hastalığının Tespiti için Widal Test ve PCR Testinin Karşılaştırılması**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programıyla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğine ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim. (04/03/2022).

Ahmed Talib ABDULADHEEM

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

THIQAR BÖLGESİ *SALMONELLA* HASTALIĞININ TESPİTİ İÇİN WİDAL TEST VE PCR TESTİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Ahmed Talib ABDULADHEEM

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Eş Danışman: Dr. Basim Abduhussein JARULLAH

Salmonella, dünya çapında insanlarda önemli morbidite ve mortaliteye neden olan gram negatif bir bakteridir. *Salmonella typhi* (tifo mikrobu), hastalığın bağırsaklara ve dolaşıma yayılmasına neden olan bakteridir. Daha ciddi bir enfeksiyon olan Salmonelloz hastalığı insanlar arasında yaygın olarak bulaşan ve tedavisi zor bir hastalıktır. Bu nedenle bu çalışmada, Irak'ın ThiQar Şehrinde yer alan ThiQar Genel Hastanesi ve Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniğine başvuran 100 hastadan örnek toplanmıştır. Alınan *Salmonella* izolatları Macconkey agar, ksiloz lizin deoksikolat ve Selenit F Broth Medium üzerinde bakteri kültürü kullanılarak izole edilerek tanımlanmıştır. Daha sonra Widal testi ve PZR testi ile doğrulanmıştır. Çalışmamız kapsamında PZR sonuçlarının %63'ü pozitif, %27'si negatif, Widal test sonuçlarında ise %72'si pozitif ve %18'i negatif olarak tespit edilmiştir. Kan kültürü sonuçları %23 pozitif ve %77 negatif iken, dışkı kültürü sonuçları %29 pozitif ve %71 negatif olarak bulunmuştur. Çalışmamız sonucunda PZR ve Widal testlerinin kan kültürü ve dışkı kültürüne göre daha güvenilir olduğu ve birbirine benzer sonuçlar verdiği sonucuna varılmıştır. *S. typhi'*nin neden olduğu *Salmonella* hastalığının tanısında PZR testleri ve Widal testi birlikte uygulanmalı ve farklı coğrafi bölgelerden gelen suşlarla ile daha kapsamlı araştırmalar yapılmalıdır.

2022, 53 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *Salmonella*, PZR, Widal, ThiQar bölgesi, Irak

ABSTRACT

Master of Science Thesis

PCR TEST COMPARE TO WIDAL TEST FOR DETECTION SALMONELLOSIS DISEASE IN THIQAR PROVINCE

Ahmed Talib ABDULADHEEM

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. İlkay ÇORAK ÖCAL
Co-Advisor: Dr. Basim Abduhussein JARULLAH

Salmonella is a gram-negative bacterium that causes significant morbidity and mortality in humans worldwide. *Salmonella typhi* (typhoid bacteria) is the bacteria that causes the disease to spread to the intestines and circulation. Salmonellosis, which is a more serious infection, is a disease that is widely transmitted among people and is difficult to treat. Therefore, in this study, 100 samples who applied to ThiQar General Hospital and Infectious Diseases Polyclinic in ThiQar City, Iraq were collected. Received *Salmonella* isolates were identified by isolation using bacterial culture on Macconkey agar, xylose lysine deoxycholate and Selenit F Broth Medium. It was then confirmed by the Widal test and PCR test. In our study, 63% of the PCR results were positive, 27% were negative, and 72% were positive and 18% were negative in the Widal test results. While blood culture results were 23% positive and 77% negative, stool culture results were 29% positive and 71% negative. As a result of our study, it was concluded that PCR and Widal tests are more reliable than blood culture and stool culture and give similar results. In the diagnosis of *Salmonella* disease caused by S. typhi, PCR tests and Widal test should be applied together and more comprehensive studies should be done with strains from different geographical regions.

2022, 53 pages

Keywords: *Salmonella*, PCR, Widal, ThiQar province, Iraq

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Çalışmanın her safhasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, her türlü yardımını esirgemeyen hocalarım Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL ve Dr. Basim Abduhussein JARULLAH'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ahmed Talib ABDULADHEEM

Çankırı, Mart 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
SİMGELER DİZİNİ i
KISALTMALAR DİZİNİ ii
ŞEKİLLER DİZİNİ iii
ÇİZELGELER DİZİNİ i
1. GİRİŞ 1
2. LİTERATÜR ÖZETİ 2
2.1 *Salmonella* Typhimurium Hakkında Genel Bilgiler 2
2.1.1 *Salmonella* 'nın özellikleri 3
2.1.2 *Salmonella typhi* 7
2.1.3 *Salmonella paratyphi* 8
2.1.4 *Salmonella* epidemiyolojisi 10
2.1.5 *Salmonella* etiyolojisi 11
2.1.6 *Salmonella* 'nın mikrobiyolojisi 11
2.1.7 *Salmonella*'nın risk faktörleri 12
2.1.8 Salmonelloz 13
2.1.9 *Salmonella* ve antibiyotik direnci 14
2.1.10 Laboratuvar incelemesi 17
3. MATERYAL VE YÖNTEM 22
3.1 Hastaların Seçimi 22
3.2 Numunelerin Toplanması 24
3.3 Widal Testi 25
3.4 Kan ve Feçes Kültürleri İle Tanimlamalar 25
3.5 DNA Ekstraksiyonu 26
3.6 PCR Reaksiyonu 27
3.6.1 Tampon çözeltilerinin hazırlanması, saklanması ve kullanımı 27
3.6.2 %1 Agaroz jelinin hazırlanması 30

3.6.3 PCR primerlerinin hazırlanması 30
3.6.4 Jel elektroforezi..... 30
3.6.5 PCR ana reaksiyon karışımının hazırlanması ve reaksiyon koşulları..... 31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 32
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 42
KAYNAKLAR 43
ÖZGEÇMİŞ..... 53

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
±	Artı eksi
Mg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
DNA	Deoksiribonükleik asit
G	Gram
Mg	Miligram
mL	Mililitre
Ng	Nanogram
Nm	Nanometre
O_2	Oksijen

KISALTMALAR DİZİNİ

DAJE	Değişken alanlı jel elektroforezi
DHFR	Dihidrofolat redüktaz
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
EBİT	Enzime bağlı immünosorbent testi
TDKN	Tek duvarlı karbon nanotüpler
KDBB	Kinolon direnci belirleme bölgelerindeki
MIC	Minimum inhibitör konsantrasyonunu
PAKD	Plazmid aracılı kinolon direnci
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PSA	*Salmonella* patojenite adası
RCLB	Kırmızı hücre lizis tamponu
RES	Retiküloendotelyal sistemde
WCLB	Lökosit liziz tamponu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 *Salmonella* türlerinin ve alttürlerinin sınıflandırılması 3
Şekil 2.2 *Salmonella* 'da Faz Değişimi 5
Şekil 2.3 *Salmonella* typhi 8
Şekil 2.4 *Salmonella* paratyphi 9
Şekil 2.5 Widal testi etkileşimi 18
Şekil 4.1 Feçes örneklerinden ekstrakte edilen Genomik DNA'yı gösteren Ethidium Bromide boyalı agaroz jel elektroforez görünümü 32
Şekil 4.2 Feçes örneklerinden ekstrakte edilen Genomik DNA'yı gösteren etidyum Bromür boyalı agaroz jel elektroforez görünümü 33
Şekil 4.3 1 primerin (Flic primer) pcr ürünü için 4 farklı sıcaklıkta jel elektoforez görüntüsü 33
Şekil 4.4 2 primerin (STY0201 ve STY0307) PCR ürünü için 2 farklı sıcaklıkta jel elektroforezi 34
Şekil 4.5 (Flicprimer)'in PCR ürünü için (45 °C'de) jel elektroforezi 34
Şekil 4.6 (Flic primer) PCR ürünü için (45 °C'de) jel elektroforezi 35
Şekil 4.7 STY 0201 primerinin PCR ürünü için jel elektroforezi 35
Şekil 4.8 STY 0201 primerinin PCR ürünü için jel elektroforezi 36
Şekil 4.9 STY 0307 primerinin PCR ürünü için jel elektroforezi 36
Şekil 4.10 STY 0307 primerinin PCR ürünü için jel elektroforezi 37
Şekil 4.11 STY 0307 primerinin PCR ürünü için jel elektroforezi 37

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Hastaların cinsiyete göre yaş ortalaması 23
Çizelge 3.2 Hastaların, hastaneye kabul edildikleri polikliniklere göre sayısal ve oransal dağılımı 23
Çizelge 3.3 Reaksiyon karışımındaki hacimler 31
Çizelge 3.4 Rutin bir PZR için ısı döngüsü koşulları 31
Çizelge 4.1 PZR sonucunda pozitif ve negatif sonuç veren numuneler 38
Çizelge 4.2 Test sonuçlarının karşılaştırılması 38

1. GİRİŞ

Salmonella türleri dünya çapında önemli morbidite ve mortaliteye neden olan gram negatif bakterilerdir. Bunlar bakteriyel patogenez ve hücresel immün sistemlerini incelemek için yapılan çalışmalarda önemli bir rol oynamaktadır (Radovic-Moreno *et al.* 2012).

Salmonella typhi (tifo mikrobu), enfeksiyonu bağırsak sistemine ve kan dolaşımına geçen türlerdir. Bu bakteri türünün oluşturduğu hastalığa 'tifo ateşi' denir. Diğer bir tür olan *Salmonella paratyphi*, tifo ateşine benzer, ancak daha hafif bir hastalığa neden olur. *S. typhi* ve *S. paratyphi*, kanalizasyon ve su arıtma sistemlerinin zayıf olduğu gelişmekte olan ülkelerin birçoğunda yaygındır. BC'de bildirilen vakaların çoğu, bu bölgelere ziyarete gidip dönen yolcular arasında olmaktadır. *Salmonella enteritidis* ise, dünyanın birçok bölgesinde görülen gıda kaynaklı bir patojen olarak bilinmektedir. Ticari sınıfta yer alan işletmelerde *Salmonella enteritidis*'i azaltmak için etkili stratejilerin uygulanması gerekmektedir (Lunn *et al.* 2010).

Bu bakterilerin neden olduğu tifo hastalığının tanı sürecinde, organizmadan kan, kemik iliği, idrar ve dışkı izolasyonu yapılmalıdır. Genellikle yeterince hassas olmayan, zahmetli ve zaman alıcı olan kan örneği kültürü, klinik ortamda sıklıkla yapılmaktadır. Kemik iliği kültürü ise daha hassas olmasına rağmen yüksek teknikler içermesi nedeniyle rutin olarak yapılmamaktadır. Kan kültürü en ideal test olarak kabul edilse de her sağlık hizmeti ortamında olmaması sorun teşkil etmektedir. Bu testin sonuçlanması genellikle 2-3 günlük bir süre almaktadır.

Bu çalışmada, *Salmonelloz* hastalarının tespiti için widal test ile PCR testinin karşılaştırmalı çalışması ve salmonelloz hastalığı tanısı için widal test kullanma olasılığının belirlenmesi ile bu hastalık nedeniyle insanlar arasında yaygın görülen enfeksiyonlar, bulaşma ve tedavide görülen güçlüklerin araştırılması amaçlanmıştır.

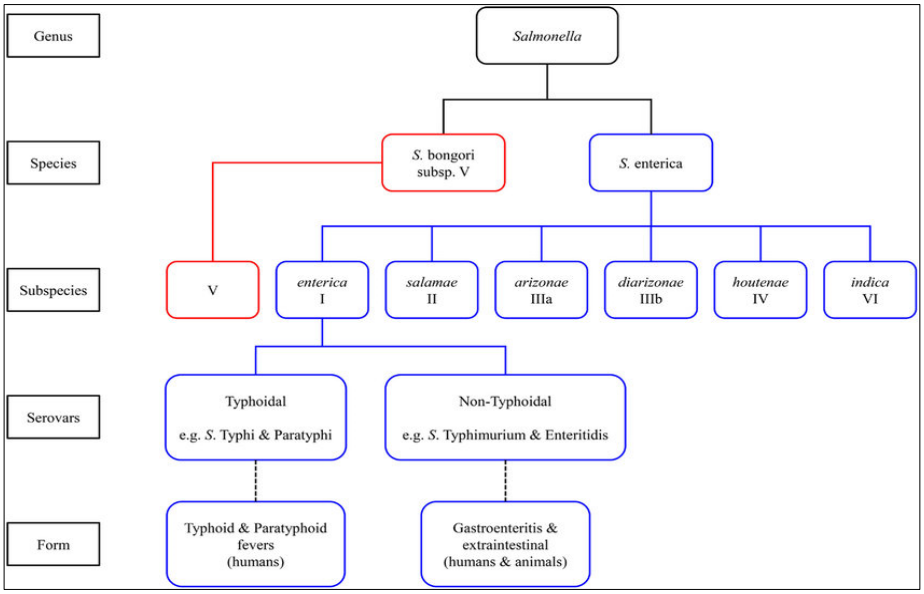
2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 *Salmonella* Typhimurium Hakkında Genel Bilgiler

Salmonella, Enterobakterler cinsi olup gram-negatif bakterilerdir. Amerikalı veteriner Daniel Elmer Salmon tarafından keşfedilen fakültatif bir anaerobiktir (Radovic-Moreno *et al.* 2012). *Salmonella* bakterileri, genellikle ağız yoluyla insanlara ve hayvanlara bulaşmaktadır. Bu bakteri hayvanlardan ve hayvansal ürünlerden insanlara bulaşarak bağırsak iltihabına, sistemik enfeksiyona ve bağırsak ateşine neden olmaktadır. *Salmonella,* ilk kez 1880'de Karl Eberth tarafından tifo hastalarının dalağında görüntülenmiştir (Eberth 1880).

Salmonella türlerinin ve alt türlerinin sınıflandırılması Şekil 2.1'de gösterilmektedir (Tatusova 2010, Sayers *et al.* 2019).

Alem : Prokaryot
Üst alem : Bakteri
Filum : Proteobakteriler
Sınıf : Gammaproteobakteriler
Familya : Enterobakterler
Tür : *Salmonella*



Şekil 2.1 *Salmonella* türlerinin ve alttürlerinin sınıflandırılması (Hurley *et al.* 2014)

2.1.1 *Salmonella* 'nın özellikleri

- Gram negatiftir.
- Hareketli çubuklar, peritriköz kamçıya sahiptirler.
- Sporsuz oluşurlar.
- Fakültatif aneoroptur.
- *Salmonella* optimum 37ºC'de büyür.
- *Salmonella*'nın büyümesi için optimum pH 6,5–7,5; 4,5–9,0 pH aralığında büyüyebilir (Lunn *et al.* 2010).

***Salmonella* cinslerinin antijenleri**

- Hücre duvarı O antijeni.
- Flagella H antijeni.
- Kapsüler Vi (Virülans) antijen olarak sıralanmaktadır

Biyokimyasal özellikler

- Laktoz ve sukrozu fermente etmez
- Glikoz fermantasyonu yapar
- H_2S üretimi.
- Ureaz negatif.
- Indol negatif

a) Hastalığın oluşumu

İnsanlarda *Salmonella* enfeksiyonunun ciddiyeti, spesifik serotip ve bulaşan insanın bağışıklık sistemine bağlı olarak değişmektedir. Yaşlıların, 5 yaşın altındaki çocukların ve bağışıklık sistemi baskılanmış olan kişilerin *Salmonella* enfeksiyonunu geliştirme olasılığı sağlıklı bireylere göre daha yüksek olarak karşımıza çıkmaktadır (Haraga *et al.* 2008). *Salmonella* 'nın hemen hemen tüm suşları patojenik olarak kabul edilebilir. Bunlar, insan konakçı hücrelerini istila etme, çoğalma ve hayatta kalma yeteneğine sahiptir ve bu da ölümcül hastalıklara sebep olabilir (Waterman and Holden 2003).

Salmonella, insan konukçu hücrelerini istila ederken, konağın vücudundaki fagositozu atlayabildiği dikkat çekici bir özellik gösterir (Hansen-Wester *et al.* 2002). Konak hücreye ulaşmak için aslında kendi fagositozunu uyarır. Bu ustaca stratejinin altında yatan dikkat çekici genler, *Salmonella* patojenite adalarında (SPA), büyük kromozomal DNA bölgesinde bulunan gen setlerinde ve istila sürecine dahil olan yapıları kodlayan kısımlarda bulunmuştur (Grassl and Finlay 2008).

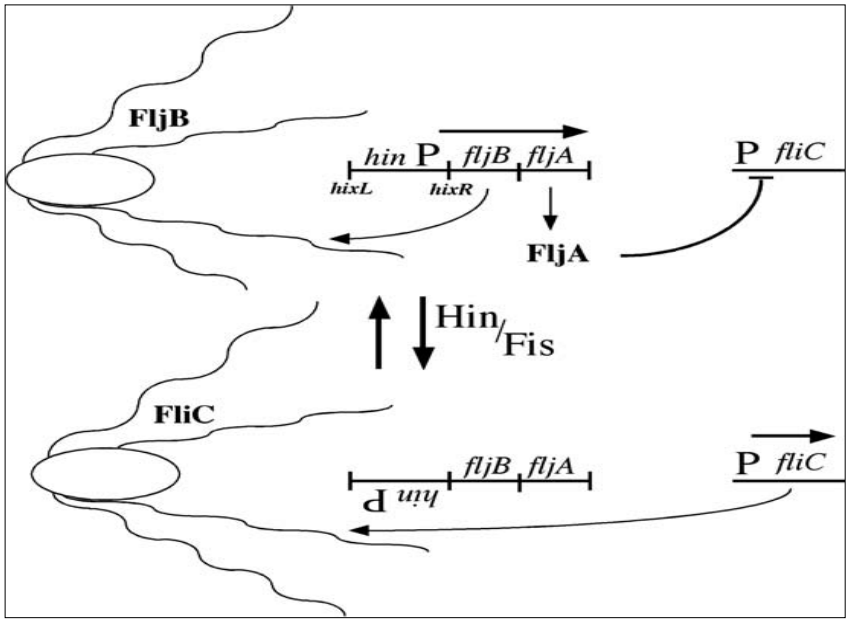
Salmonella, kirli su veya yiyecek yoluyla sindirim sistemine girdikten sonra, bağırsak duvarını kaplayan epitel hücrelerine nüfuz etmeye çalışır. SPA'lar tip III salgılama sistemlerini kodlarlar, bunlar *Salmonella* 'nın efektörlerini intestinal epitel hücre zarından sitoplazmaya enjekte etmesine izin veren çok kanallı proteinlerdir. Bakteriyel uyaranlar daha sonra sinyal iletim yolunu etkinleştirir ve konakçı hücrenin aktin hücre iskeletinin yeniden oluşmasını sağlar, bu da bakterileri yutmak için epitel hücre zarının dışarıdan gerilmesine veya buruşmasına neden olur. Zarın şekli kabaca fagositoz sürecine benzemektedir (Takaya *et al.* 2003).

Salmonella suşlarının konakçı hücrede kalma kabiliyeti patogenez için gereklidir, bu nedenle bu kabiliyetten yoksun suşlar zararsız kabul edilir (Bakowski *et al.* 2008). *Salmonella,* bir konakçı hücreye alındıktan sonra, bakteriler, konakçı hücre membranından oluşan vakuol adı verilen zarlı bir bölmede kapsüllenir. Normal koşullar altında, bakteriyel yabancı bir cismin varlığı, konakçı hücrenin bağışıklık sistemini aktive eder, bu da lizat partiküllerinin füzyonuna ve hücrelerin içindeki bakterileri

bozmak için sindirim enzimlerinin salgılanmasına yol açar. *Salmonella*, diğer fonksiyonel proteinleri vakuole enjekte etmek için bir tip III sekresyon sistemini kullanır. Yeniden yapılandırılmış vakuol, lizozomların füzyonunu önleyerek hücre içi hayatta kalmaya ve konakçı hücreler içinde *Salmonella* bakterilerinin çoğalmasına izin verir. *Salmonella*'nın makrofajlar içinde kalma yeteneği, retiküloendotelyal sistemde taşınmalarına izin verir (RES) (Monack *et al.* 2004).

b) *Salmonella* 'da faz değişimi

*Salmonella'*nın sahip olduğu H1 ve H2 genleri farklı flagella antijenlerini tanımlamakta ve faz farkıda olarak bilinen fenotip dalgalanmasına neden olmaktadır. *Salmonella* 'daki Faz Değişimi Şekil 2.4'te gösterilmektedir. Bu dönme, H2 geninin bir kısmına bitişik veya bu genin bir kısmını içeren 800 baz çift DNA dizisinin tersine çevrilmesiyle kontrol edilir (Broadbent *et al.* 2010). Tersine çevrilebilir bölgenin kolayşlaştırıcı fonksiyonunu düzenler. Ayrıca gen oluşumu olayının meydana gelebileceği ve ters çevirmeye yol açabilecek spesifik bölgeleri de içermektedir (Bonifield and Hughes 2003).



Şekil 2.2 *Salmonella* 'da Faz Değişimi (Moreno Switt *et al.* 2009)

H2 geni fragmanının belirlenmesinde, kolaylaştırıcı bileşeni olmayan, cheW geninin yanındaki bir hibrid lambda vakuolüne yerleştirilir. Ortaya çıkan füzyonda, cheW geninin aktivitesi geri yüklenerek, H2 ve cheW genlerinin açıcı kası sürekli olarak inversiyon ile kontrol edilir. Böylece H2 geninin transkripsiyon polaritesi ve konumu belirlenebilir (Ikeda *et al.* 2001).

Bu tür gen füzyonundan elde edilen kanıtlar, ters çevirme bölgesinde bir H2 gen kolaylaştırıcısının yer aldığını gösterir. H2 gen bölgeleri için substitütifler içeren bir H2 hibrid faj oluşturulur. "Açık" ve "kapalı" durumlar arasında değişen H2 genini içeren melezlerin aksine, substitütif edilmiş H2 lambdaların çoğu "açık" durumda sabitlenmiştir. Statik lambda H2'deki yeniden bağlama olayı için gerekli kısım kaldırılmalıdır (Silverman *et al.* 1979).

c) *Salmonella* 'nın fenotipik varyasyonu

Antibiyotik tedavisi, *Salmonella* gibi geçici ısıya dirençli bakterilerin bir kısmını ortadan kaldıramayabilir ve bu durum nükslere ve kronik enfeksiyonlara neden olabilir. Birden fazla mekanizma, bu tür yüksek antimikrobiyal tolerans inhibitörlerini in vitro olarak indükleyebilir, ancak bunların in vivo olarak önemi kesinleşmemiştir (Claudi *et al.* 2014). Floresan büyüme oranı raportörü kullanıldıktan sonra, konak dokularda *Salmonella* için büyük ölçekli bir fenotipik kontrast tespit edilebilir. Bu durum, yavaş büyüyen alt grupların yanı sıra hızlı büyüyen, iyi beslenmiş alt grupları içerir ve bunlar hastalığın ilerleme seyrinin ne olduğu hakkında bilgi verir (Velazquez *et al.* 2019).

Yapılan çalışmalarda, Kemoterapi kullanımından sonra *Salmonella'*nın büyümesi ve hayatta kalması gözlemlenmiştir. Buna göre, bakterileri öldüren antibiyotiklerin tek hücre bölünme oranlarıyla bağlantılı olduğu ve bölünmeyen *Salmonella* bakterisinin kısmen orta derecede büyümüş olan *Salmonella* 'ya sahip olan kişilere göre daha etkili olduğu tespit edimiştir (Claudi *et al.* 2014, Betancor *et al.* 2009).

d) *Salmonella* 'da genomik varyasyon

Salmonella bakterisinin evrimi sadece ortogonal genler arasındaki farkla sınırlı değildir. Aynı zamanda büyük stenoz haritalama, genomik çıkarma ve tüm genom dizileme yoluyla geniş ölçüde takdir edilen klonlardan veya diğer türlerden genlerin edinilmesini de içermektedir. Farklı *Salmonella* serotiplerindeki antibiyotik direnç gen kümeleri Şekil 2.5'te gösterilmektedir (Leekitcharoenphon *et al.* 2012). *Salmonella* bakterisinin genomu dinamik bir yapıdır ve tüm türlerin genomu hakkında yeterli bilgi elde etmek için türler arası varyasyon genom analizine dahil edilmelidir (Alikhan *et al.* 2018).

Bağırsakla ilgi (Intestinal) *Salmonella*, serolojik özelliklere göre serovarlara bölünmüş veya epidemiyolojik izleme amacıyla yüksek doğrulukta çeşitli diagnostik testlerle bölümlere ayrılmıştır (Liang *et al.* 2012, Leekitcharoenphon *et al.* 2012).

2.1.2 *Salmonella typhi*

Salmonella typhi bağırsak ve kanı enfekte eden bir bakteridir. Bu bakteri türünün oluşturduğu hastalığa ‘tifo ateşi’ denir (Wain *et al.* 2015).

Tifo ateşi sanayileşmemiş ülkelerde daha yaygındır. Asya, Afrika, Doğu Avrupa ve Latin Amerika'ya seyahat edenler özellikle risk altındadır. *Salmonella typhi* kronik taşıyıcılar da dahil olmak üzere enfekte olmuş kişilerin idrar veya dışkısı ile atılır (Lima *et al.* 2013).

Tifo ateşi, yüksek ateş, ishal ve kusmaya yol açabilen bakteriyel bir enfeksiyondur ve ölümcül olabilir. Bu bakteriler bağırsakta ve insan kan dolaşımında yaşar. Enfekte bir kişinin dışkısıyla doğrudan temas yoluyla bireyler arasında yayılır. Enfeksiyon çoğunlukla kontamine yiyecek ve içme suyu yoluyla bulaşır ve en çok el yıkamanın daha az olduğu yerlerde görülür. Bakteriyi taşıdıklarını bilmeyen taşıyıcılar tarafından da bulaşabilir (Zhou and Pollard 2010).

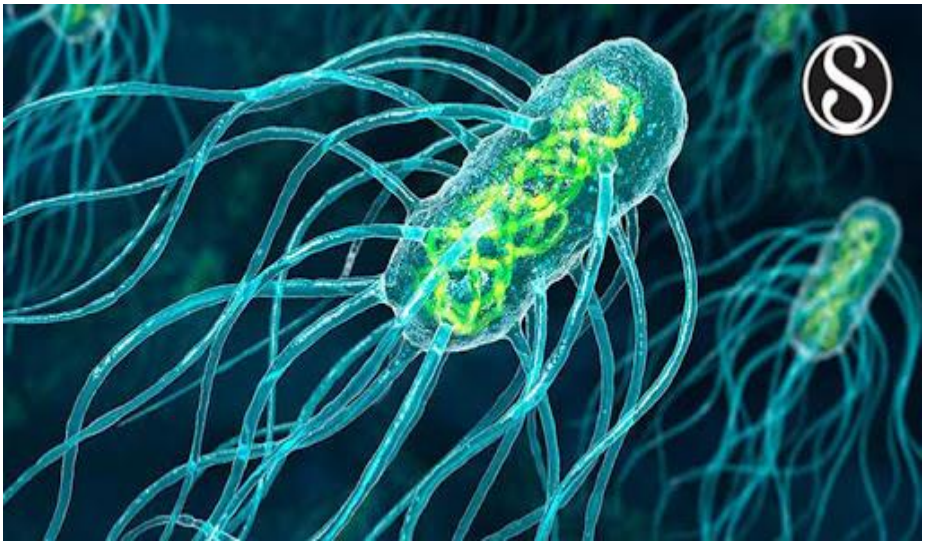
Tifo ateşi erken yakalanırsa antibiyotiklerle başarılı bir şekilde tedavi edilebilir; tedavi edilmezse tifo ölümcül olabilir. Genellikle tedavi edilmeyen, yaklaşık 5 tifo vakasından 1'i ölümcül olmaktadır. Tedavi olanlarda ise100 vakanın 4'ünden azı ölümcüldür (Wain *et al.* 2015). Tifo basili ağza girer ve bağırsakta 1-3 hafta geçirir. Bunun ardından, bağırsak duvarından kan dolaşımına girer. Kan dolaşımından diğer dokulara ve organlara yayılır. Konakçının bağışıklık sistemi yanıt verecek hiçbir şey yapamaz çünkü tifo basili, konakçının hücrelerinin içinde, bağışıklık sistemine immun olarak yaşayabilir (Mian *et al.* 2011). Tifo ateşi; kan, dışkı veya idrar örneği ile tifo basilinin varlığı tespit edilerek teşhis edilir (Ryan and Ray 2004).



Şekil 2.3 *Salmonella* t*yphi* (Gallois *et al.* 2001)

2.1.3 *Salmonella paratyphi*

Paratifoid ateş (paratifoid), üç bağırsak *Salmonella* türünden birinin neden olduğu bakteriyel bir enfeksiyondur. Paratifoid, aşağıdaki serotiplere sahip olan *Salmonella enterica*'dan kaynaklanır, *Salmonella* paratyphi yapısı Şekil 2.4'de gösterilmektedir (Ochiai *et al.* 2005).



Şekil 2.4 *Salmonella* paratyphi (Panezai *et al.* 2018)

Bu bakteri için kuluçka süresi genellikle bulaşmadan 6-30 gün sonradır. Hastalık tifo ateşine benzer semptomlar göstermektedir. Ateş birkaç gün içinde kademeli olarak başlar. Ayrıca bu bakteriler genel halsizlik, iştahsızlık ve baş ağrısına neden olur. Bazı insanlarda pembe benekli bir kızarıklık görülür. Bu semptomlar tedavi edilmezse haftalarca veya aylarca sürebilir (Liu *et al.* 2009).

Hastalığın semptomlarını göstermeden bu bakterileri taşıyan asemptomatik insanlar bulunmaktadır. Bu insanlar hastalığı başkalarına yayabilirler ve en tehlikeli epidemiyolojik hastalıklar arasında kabul edilirler (Wain *et al.* 2015).

Bu bakteriler genellikle bağırsakta ve kanda büyür. Yemek yiyerek veya içerek veya enfekte bir kişinin dışkısıyla kontamine suyla yayılır. Enfeksiyon, yemek hazırlayan enfekte kişilerden de yayılır. *Salmonella paratyphi* A, B ve C, genellikle ciddi ve bazen yaşamı tehdit eden bakteri hastalığına neden olan bakterilerdir. Ateş ve gastrointestinal semptomlar yaygın olmakla birlikte, hafif ve atipik enfeksiyonlar dahil olmak üzere klinik semptomlar değişiklik gösterir (Linke *et al.* 2014). Genellikle uluslararası seyahat sırasında bulaşır. *S. paratyphi* B (tartarat-negatif) ve C serotiplerinin neden olduğu paratifi ateşleri daha az bildirilmiştir. *S. paratyphi* enfeksiyonunun sürekli sürveyansı, salgınları tespit etmek ve kontrol etmek, halk sağlığı önceliklerini belirlemek, hastalık

eğilimlerini izlemek ve halk sağlığı müdahalelerinin etkinliğini değerlendirmek için gereklidir (Tan *et al.* 2013).

Daha önce S. Java olarak bilinen *S. paratyphi* B'nin (tartrat-pozitif), *S. paratyphi* A, B (tartrat-negatif) ve C'ye kıyasla tipik olarak daha düşük hastanede yatış oranına sahiptir. Bu nedenler yüzünden, *S. paratyphi B* (tartrat pozitif), *S. paratyphi* enfeksiyonu yerine salmonelloz olarak sınıflandırılır.

2.1.4 *Salmonella* epidemiyolojisi

Salmonella türleri gıda kaynaklı en önemli patojenler arasındadır ve dünya çapında ishalli hastalıklar arasında insanlarda üçüncü önde gelen ölüm nedenidir. Hayvanların bu patojenin ana kaynağı olduğunu ve hayvansal ürünlerden insanlara bulaşmada en önemli faktör olduğunu söyleyebiliriz (Olsen *et al.* 2001). Bu nedenle, bu bakterileri kontrol etmede ve ardından onları izlemede ana anahtar olan *Salmonella* serumunun epidemiyolojisini bilmek ve analiz etmek gerekir. Bu nedenle, hayvansal gıdalarda bağırsak serum *Salmonella* spp.'nin yaygınlığını ve çeşitliliğini değerlendiren birçok çalışma bulunmaktadır (sığır eti, domuz eti, kümes hayvanları ve deniz ürünleri) (Hald *et al.* 2003).

Salmonella spp'nin epidemiyolojik tespiti, ana epidemiyolojik bulguların belirlenmesi amacıyla yapılır. Burada kimyasal bir değerlendirme ile (kümenin hiyerarşik analizi ve temel bileşen analizi) her bir matristeki *Salmonella* serumunun yaygınlığını ve çeşitliliği belirlenerek analiz edilir (Wong *et al.* 2002). Serokonversiyona göre, *S. Typhimurium* dünya çapında tüm matrislerde değerlendirilen ve rapor edilen yaygın bir bakteridir. Kümes hayvanları, *Enteritidis serova*'nın insanlara yayılmasında merkezi bir role sahiptir. *Salmonella anatum* ve *Salmonella weltevre*'den sırasıyla sığır eti ve deniz ürünlerinden yayılan en yaygın bakterilerdir (Besser 2018). En yaygın ve bildirilen serotipler ve bu patojenin taşınması için ana bileşikleri oluşturan dizilerle ilgili bilimsel veriler sayesinde, *Salmonella* türlerini azaltmak ve kontrol etmek amacıyla belirli müdahaleleri uygulamaya ek olarak kontrol programları geliştirilebilir (Ferrari *et al.* 2019).

2.1.5 *Salmonella* etiyolojisi

Salmonella türlerinde, fakultatif hücre içi patojenler konakçı hücrenin özel bir membran bölmesinde bulunur ve hücre içi hayatta kalma ve proliferasyon elde etmek için konağı modifiye eder. *Salmonella* patojenite adası 2 (SPA2) tarafından kodlanan tip III salgılama sistemi, konakçı hücre fonksiyonlarına müdahale eden *Salmonella* hücre içi girişim için merkezidir. SPA2, konakçının antimikrobiyal savunma mekanizmalarının yanı sıra hücre içi taşıma süreçlerinin yanı sıra hücre iskeletinin bütünlüğünü ve işlevini ve konakçı hücrelerin ölümünü de etkilemektedir (Fàbrega and Vila 2013).

SPA2 sistemi ile bu modifikasyonlara, çok sayıda efektör proteinin yer değiştirmesi aracılık eder. Bu modifikasyonların, hücre içi ve konakçı hücre *Salmonella* arasındaki karmaşık bir dizi patojenik etkileşim olduğu düşünülmektedir (Kuhle and Hensel 2004).

2.1.6 *Salmonella* 'nın mikrobiyolojisi

Salmonella fakültatif anaerobik bir bakteridir. Pozitif katalaz analizi, negatif oksidaz ve glikoz, mannitol ve sorbitol fermantasyonunu asit veya asit ve gaz üretmek için kullanılır. Laktoz, *Salmonella* arizonae dışındaki türlerde fermente edilemez, *Salmonella* 'nın mikrobiyolojisi Şekil 2.8'de gösterilmektedir (Chen *et al.* 2013). *Salmonella* sükrozu fermente edebilir, ancak nadiren adonitol oluşturmaz ve genellikle indol üretir. Üreyi indirgemez veya fenilalanini hidrolize etmez, ancak genellikle demir üçlü şeker agar üzerinde H_2S oluşturur ve sitrat tek karbon kaynağı olarak kullanılabilir (Kuhle and Hensel 2004).

Salmonella, Salmonella typhi ve *Salmonella paratyphi A* dışında lizin ve ornitin dekarboksilaz oluşturur. *Salmonella,* metil kırmızısının negatif ve pozitif Voges-Proskauer testlerini üretir ve sitokrom oksit üretmez. *Salmonella* ayrıca triptofan veya fenilalanini de-amine edemez ve üreaz ve indol genellikle negatiftir. Bu biyokimyasal testlere dayanarak, *Salmonella* tanımlanabilir. Fakat, *Salmonella*' nın daha ayrıntılı

tanımlanması için, izolatların serotipinin özellikle de *Salmonella* 'nın epidemiyolojik bilgisinin araştırılması gerekir (Kaufmann *et al.* 2001).

Salmonella sınıflandırması, termoplastik polisakkarit hücre duvarı veya somatik antijenleri ("O"), termoproteinleri veya "H" antijenlerini içeren bakteriyel yüzey antijenlerinin tanımlanmasına dayanmaktadır. Ayrıca, faj tipine göre *Salmonella* serotiplerinin bir alt tipi yapılabilir. *Salmonella* 'nın alt bölümleri, üretilen DNA parçalarının plazmid profili, ribotipleme veya değişken alanlı jel elektroforezi (DAJE) ile de gerçekleştirilebilir (Bumann and Schothorst 2017).

2.1.7 *Salmonella*'nın risk faktörleri

Salmonella enfeksiyonu gelişme riskini artırabilecek yani bir kişiyi *Salmonella* bakterisiyle temasa yaklaştıran faaliyetler aşağıda belirtilmiştir. Bunlar genel olarak enfeksiyona karşı direnci zayıflatarak sorun içeren faaliyetler olarak bilinmektedir (Berends *et al.* 1997).

a) Aşırı maruziyet

- Özellikle yurtdışı seyahatleri tifo ateşine neden olan türleri de içeren *Salmonella* enfeksiyonuna karşı mazruziyeti artırmaktadır. Bu bakteri, sağlık hizmetlerinin yetersiz olduğu gelişmekte olan ülkelerde daha yaygındır (Mollenhorst *et al.* 2005).
- Evcil kuşları veya sürüngenleri beslemek. Bazı evcil hayvanlar, özellikle kuşlar ve sürüngenler, *Salmonella* bakterisi taşıyabilir. Bu tür hayvanların evlerde veya özel alanlarda beslenmesi ilgilenen kişiler açıcından maruziyeti artırmaktadır (Mollenhorst *et al.* 2005).

b) Mide veya bağırsak rahatsızlıkları

Vücudun *Salmonella* enfeksiyonuna karşı birçok doğal savunması vardır. Örneğin, güçlü mide asidi birçok *Salmonella* bakterisini öldürebilir. Fakat, bazı sağlık sorunları

veya ilaçlar bu doğal savunmayı engelleyebilir. Örnekler şunları içerir: Antasitler, midede azalan asitlik sebebiyle daha fazla *Salmonella* bakterisinin büyümesine neden olur (Belœil *et al.* 2004).

- İltihabi bağırsak hastalığı: bu bozukluk bağırsağın iç yüzeyine zarar vererek *Salmonella* bakterilerinin bağırsağa yerleşmesini kolaylaştırır.
- Kısa süreli antibiyotik kullanımı: bu bağırsaktaki "iyi" bakteri sayısını azaltabilir, böylece vücudun *Salmonella* enfeksiyonu ile savaşma yeteneğini bozabilir.

c) Bağışıklık sorunları

Sağlık sorunları veya aşağıdaki ilaçlar bağışıklık sistemini zayıflatarak Salmonella'ya yakalanma riskini arttırmaktadır (Rohrbach *et al.* 1992).

- AIDS
- Orak hücreli anemisi
- Sıtma
- Nakil sonrası alınan reddetmeyi engelleyen ilaçlar
- Kortikosteroidler

2.1.8 Salmonelloz

Salmonelloz, *Salmonella* türlerinin neden olduğu semptomatik bir enfeksiyondur. En yaygın semptomlar ishal, ateş ve kusmanın yanı sıra mide kramplarıdır. Belirtiler genellikle vücuda giren bakterilere maruz kaldıktan 8-48 saat sonra ortaya çıkar ve 2-7 gün sürer. Bazen dehidrasyona neden olabilir ve bu çok tehlikelidir. Yaşlılar ve bağışıklık sistemi zayıf olan insanlar da enfeksiyona karşı daha savunmasızdır.

Enfeksiyon, *Salmonella* türleri ile kontamine olmuş et, yumurta veya süt vb. besin maddelerinin tüketilmesi ile bulaşır. Ayrıca enfeksiyon insanlara kediler, köpekler ve sürüngenler de dahil olmak üzere evcil hayvanlar yoluyla da bulaşabilir. Hastalığın

gübre bulaşmış yiyeceklerle bulaşması da mümkündür. Salmonelloz, dünya çapında ishalin en yaygın nedenidir. Dünyada tifo olmayan salmonelloz nedeniyle bildirilen binlerce ölümün yanı sıra tifo salmonelloza bağlı olarak binlerce ölüm vardır (Wang *et al.* 2016).

2.1.9 *Salmonella* ve antibiyotik direnci

Salmonella typhimurium, araştırmacıların ilgisini çeken çoklu ilaca dirençli bir patojen olarak terminal tipi (DT) 104 olarak kabul edilir. İlk olarak İngiltere'den izole edilmiştir. Et ve et ürünleri yoluyla bulaşmaktadır (Velge *et al.* 2005). Bu patojen, ampisilin, kloramfenikol, streptomisin, florfenikol, tetrasiklin ve sülfonamidlere karşı direnç içerir. Bu nedenle bu tür patojen ile başa çıkması zordur. *S. typhimurium* DT104'te eşlenmemiş mobil plazmidlerle ilişkili trimetoprim direnci bildirilmiştir (Eng *et al.* 2015). *Salmonella* ve antibiyotik direnci Şekil 2.9'da gösterilmiştir.

Salmonella 'nın florokinolonlara karşı tifo olmayan direnci endişe kaynağıdır. Çünkü invazif salmonellozun tedavisinde tercih edilen ilaçtır ve florokinolon direnci, kinolon direnci belirleme bölgelerindeki (KDBB'ler) giraz (gyrA ve gyrB) ve topoizomeraz IV kodlayan genler çoklu mutasyonlara (örneğin, amino asit substitütifleri) bağlanmıştır ve bunlar bakteri hücrelerinde florokinolon hedefleri olarak kabul edilir. Bu da genlerdeki bu mutasyon florokinolonlara karşı dirence yol açar (Bouchrif *et al.* 2009, Velge *et al.* 2005).

*Salmonella typhimurium'*da bulunan, AcrAB (iç membran taşıyıcı) -TolC (dış membran taşıyıcı) 'nin aşırı üretimine neden olan ve dış zar proteinlerinde ve lipopolisakkaritlerde bir formda ilişkili değişikliklere neden olan, antibiyotik direnci için bir mekanizma da vardır (Walsh *et al.* 2001). *Salmonella typhimurium*'da siprofloksasin birikimini azaltmada sinerjiktir ve bu durum *Salmonella* 'da artan direncin ortaya çıkmasına neden olur.

Plazmid aracılı kinolon direnci (PAKD) genleri, *Salmonella* 'daki direnç mekanizmaları arasındadır. Bunlar arasında, *Salmonella typhimurium'*un siprofloksasine dirençli klinik izolatlarından izole edilen oqxAB ve aac (6')- Ib-cr gibi PAKD genleri bulunur. PAKD genleri, *Salmonella typhimurium*'da siprofloksasinin minimum inhibitör konsantrasyonunu (MIC) artırmada gyrA mutasyonları ile çalışır (Yu *et al.* 2002).

Diğer PAKD'lerde qnr genleri DNA giraz ve topoizomeraza bağlanır ve bunlar florokinolonların etkisini bloke eder. Başka bir PAKD geni olan qepA, akış pompasına bağlanır ve böylece florokinolonları hücre dışına atar (Wong *et al.* 2014). Tifo olmayan *Salmonella,* seftriakson dahil geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç gösterir ve bu durum gerçek bir endişe kaynağıdır. Çünkü bu ilaçlar, çocuklarda tifo olmayan invazif salmonelloz tedavisinde tercih edilen ilaçlar arasındadır (Hooper and Jacoby 2015).

Bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere direnç geliştirmenin ana mekanizmalarından biri, antibiyotiğin enzim hidrolizi ile doğrudan inaktivasyonudur. Genişletilmiş spektrumlu β-laktamazların (ESBL'ler) üretimi, *Salmonella* bakterileri de dahil olmak üzere çoğu entrobakterlerde direnç sağlayan anahtar bir mekanizmadır, β-laktamazların yapısı Şekil 2.10'da gösterilmektedir. Substrat ve inhibitör mekanizmalarına bağlı olarak çeşitli ESBL türleri vardır (Blair *et al.* 2015).

Bir β-laktamaz sınıfı, oksasilin ve kloksasiline karşı güçlü hidroliz aktivitesi olan ampisilin ve sefalolesitine *Salmonella* direnci veren OXA türüdür (Jacoby 2009). OXA-48 olarak bilinen S. Kentucky karbapenemaz üreten *Salmonella enterica* serovar Kentucky çeşitleri de vardır. Penisilinlerin ve PER-tipi sefalosporinlerin hidrolizi, tifo olmayan *Salmonella* da da tespit edilmiştir (Miriagou *et al.* 2004).

AmpC tipi laktamazlar gibi içsel sefalosporin enzimleri, CMY, DHA ve ACC-1 gibi enzim türlerini içeren tifo olmayan *Salmonella* 'da yaygındır. *Salmonella* serumunda ayrıca CMY-7, SHV-9 ve OXA-30 gibi farklı laktamaz türlerini gösterdiği tespit edilmiştir. Bu, bazı *Salmonella* türlerinin tifo olmayan *Salmonella* serumu ile yüksek düzeyde çapraz dirence sahip olduğu bulunmuştur (Hanson *et al.* 2002).

Ayrıca, bazı *Salmonella* türleri, aminoglikozid antibiyotiklere direnç gösterdiği kaydedilmiştir. Aminoglikozid asetiltransferazların enzimleri, aminoglikozid antibiyotiklerdeki amino gruplarını modüle eder. Aminoglikosit asetiltransferazları kodlayan genler aac olarak adlandırılır ve tipik olarak *Salmonella* genomik adalarında, integronlarda ve plazmitlerde bulunur (Hossain *et al.* 2004).

Asetiltransferazlar, gentamisin ve kanamisin gibi başlıca antibiyotiklere *Salmonella* direnci sağlar. *Salmonella* 'da aminoglikozid antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde aminoglikozid fosfotravis enzimleri olan aminoglikozid hidroksil grubunun fosforilasyonuna da katılırlar (Pitout *et al.* 2007).

StrA, strB, aph (3) -Ib ve aph (6) -Id genlerinin enzim varlığı streptomisine direnç sağlar. Bazı aminoglikozit fosfotransferazlar, kanamisin ve neomisine karşı direnç sağlar. Nükleotidiltransferazlar, *Salmonella* 'da bulunan hidroksil grubuna ait enzimleri değiştirir ve genellikle aad genlerinde kodlanır. Adenililtransferazı kodlayan farklı aminoglikozid genleri arasında aadA, streptomisine direnç sağlarken, aadB *Salmonella* da gentamisin ve tobramisine direnç sağlar (Alcaine *et al.* 2007).

Tetrasiklin direnci, esas olarak, klortetrasiklin, doksisiklin, oksitetrasiklin ve tetrasikline direnç sağlayan akış mekanizmalarına tet genlerinin katılımıyla *Salmonella* 'da gelişir (Roberts *et al.* 2015).

Kloramfenikol ve florfenikol dahil fenikol antibiyotiklere direnç, akış pompaları veya kloramfenikol asetiltransferaz ile antibiyotiklerin enzimatik inaktivasyonu yoluyla bazı *Salmonella* türlerinde de gelişmiştir (Alcaine *et al.* 2007).

Salmonella türlerindeki sülfonamid direnci, dihidropterid kompleksinin sülfonamidler tarafından inhibe edilemeyen duyarsız bir formunun ekspresyonuna neden olan Sole geninin varlığından kaynaklanmaktadır (Van Hoek *et al.* 2011). Yaygın kükürt genleri, *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium, Salmonella heidelberg* ve *Salmonella hadar* dahil olmak üzere *Salmonella* serovarlarında saptanan sul1, sul2 ve sul3'tür. Bu

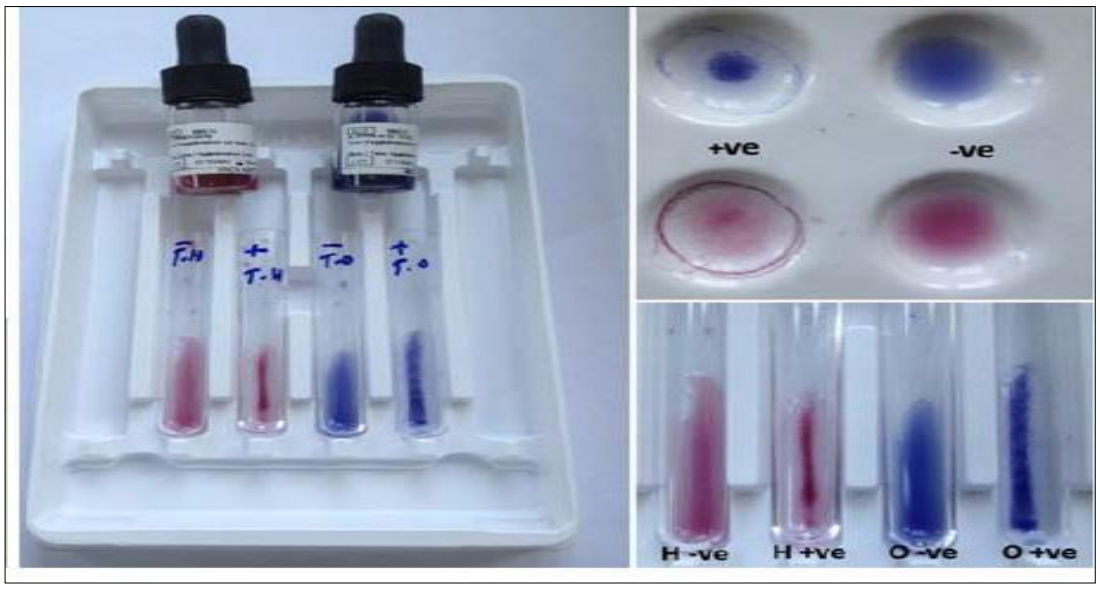
genler integrogonlarda, *Salmonella* gen adalarında veya transfer edilebilir plazmidlerde bulunur (Silver 2011). DHFR genleri, trimetoprim antibiyotikler tarafından inhibe edilemeyen hassas olmayan bir dihidrofolat redüktaz (DHFR) formunun ekspresyonuna neden olur ve *Salmonella*' da bu antibiyotik sınıfına karşı direnç gelişmesine yol açar. Bu genler ayrıca *Salmonella*' nın üretimleri, plazmitleri veya genomik adaları ile de ilişkilidir.

2.1.10 Laboratuvar incelemesi

Salmonella enfeksiyonunun teşhisi için hasta kişilerden alınan dışkı veya kan örneklerinin test edilmesini gerekir. Yapılan bu testler, tedavi kararlarını yönlendirmeye yardımcı olmaktadır. *Salmonella* bakterileri çeşitli şekillerde tespit edilir. Bunlar;

a) Widal testi

Widal testi, tifo ateşi olarak da bilinen enterik ateşin varsayımsal teşhisine yardımcı olmak için kullanılabilecek bir yöntemdir. Widal testinin güvenilirliği konusunda endişeler bulunsada hızlı, uygulaması kolay ve daha ucuz olması nedeniyle tercih edilmektedir. Bu test tifo ateşine özgü değildir. Kişide enfeksiyon olmasa bile pozitif sonuçlar verebilir. Bu test artık Amerika Birleşik Devletleri'nde veya diğer gelişmiş ülkelerde çok tercih edilmesede birçok gelişmekte olan ülkede kullanılmaktadır (Olopoenia and King 2000). Widal test etkileşimleri Şekil 2.5'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5 Widal testi etkileşimi (Bijapur *et al.* 2014)

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Widal testinin sonuçlarını etkileyebilecek çeşitli faktörler nedeniyle, bu teste çok fazla güvenmemenin en iyisi olduğunu söylemiştir. Bunun yerine, Dünya Sağlık Örgütü mümkün olduğunda kültürlerin kullanılmasını tavsiye etmektedir (Gunn *et al.* 2014). Ancak başka bir basit, ucuz ve güvenilir seçenek mevcut olana kadar, Widal Test muhtemelen sınırlı kaynaklara sahip ülkelerde kullanılmaya devam edecektir. Tifo ateşi için daha yeni hızlı antikor testleri ticari olarak mevcuttur ve güvenilirlikleri için karşılaştırmalı çalışmalara birkaç tanesi dahil edilmiştir. Ancak sonuçlar, teşhis etmek için yapılan kan kültüründe olduğu kadar güvenilir değildir (Sánchez-Vargas *et al.* 2011).

Widal test prensibi

Widal testi, hastanın serumunu, spesifik O, H, AH ve BH antijenlerini taşıyan öldürülmüş *Salmonella* süspansiyonu ile karıştırılarak tifo ateşine karşı spesifik antikorların tespit edildiği ve kümelenme, yani Antijen-antikor reaksiyonu açısından gözlemlendiği bir aglütinasyon testidir (Tennant and Levine 2015). Widal testin ana prensibi, eğer homolog antikor hastanın serumunda mevcutsa, süspansiyondaki ilgili antijen ile etkileşime girmesi ve test slaydında veya kartta görünür kümeler vermesidir.

Widal test özellikleri

Dalga testi, enterik ateş veya tifo ateşini teşhis etmek için kullanılan serolojik bir testtir. Test, Greenbaum ve Widal tarafından 1896'da geliştirilmiştir. Tifo veya enterik ateş, insan bağırsağında bulunan Gram-negatif bakterilerden *Salmonella enterica, Salmonella typhi* veya *Salmonella paratyphi*'den kaynaklanır. *Salmonella paratyphi* ayrıca tifoya da neden olmaktadır (Khan *et al.* 1998).

Salmonella, hücre duvarında O-antijene ve flajelinde H-antijene sahiptir. Enfekte olunduğunda, bu antijen vücudu kana salınan spesifik antikorlar üretmesi için uyarır. Widal testi, antijen ve antikor reaksiyonları kullanılarak tifo hastalarının serum numunesinde bu spesifik antikorları tespit etmek için kullanılır. Bu spesifik antikorlar, enfeksiyondan 6 gün sonra hastanın serumunda tespit edilebilir (Hosoglu *et al.* 2008).

Salmonella typhi, hücre duvarında O antijenine ve flajel üzerinde H antijenine sahiptir. *Salmonella paratyphi* A ve *S. paratyphi* B'nin de hücre duvarlarında O antijeni vardır, ancak flajellerinde sırasıyla AH ve BH antijeni bulunmaktadır (Parry *et al.* 1998). Geniş test prosedürleri Şekil 2.12'de gösterilmiştir.

b) Serolojik test

Patojenik bakterileri tespit etmek için kullanılan yöntemler arasında enzime bağlı immünosorbent testi (EBİT), rutin numune analizinde en yaygın kullanılan tekniklerden biridir. Bağırsak *Salmonella* için serum typhimurium tespiti için, tipik EBİT 106-107 CFU/mL'lik bir duyarlılık üretir, algılama hassasiyetini artırmak için tek duvarlı karbon nanotüpler (SWCNT'ler) kullanılır (Dorigo-Zetsma *et al.* 1999).

Bu yöntem, akut *Salmonella* enfeksiyonunun serolojik teşhisinde büyük bir ilerleme sağlar. Bu test, organizmanın izolasyonunun genellikle mümkün olmadığı enfeksiyon sonrası komplikasyonlar sırasında *Salmonella* antikorlarını tespit etmek için özellikle önemlidir. Bu yöntemde IgG ve IgM tespit edilebilir (Chunglok *et al.* 2011).

c) İzolasyon ve tespit

1- Numuneler

Kültür için sık sık kan alınmalıdır. Enterik ateş ve septisemide, kan kültürü sonuçları genellikle hastalığın ilk haftasında pozitiftir. Kemik iliği kültürleri faydalı olabilir. İdrar kültürü sonuçları ikinci haftadan sonra pozitif olabilir (Mainar-Jaime *et al.* 2013) .Dışkı örnekleri de sık sık alınmalıdır. Enterik ateşte dışkı ikinci veya üçüncü haftadan itibaren olumlu sonuçlar verir; Enterokolitte ise dışkı ilk hafta içinde olumlu sonuç verir. Pozitif duodenal drenaj kültürü, taşıyıcılardaki safra kanallarında *Salmonella* varlığını kanıtlar.

2- *Salmonella* izolasyonu için bakteriyolojik yöntemler

- **Farklı ortam kültürleri**

EMB medyatörü, MacConkey veya deoksikolat, laktoz de-fermentasyon ajanlarının hızlı tespit edilmesini sağlar. Bu durum gram pozitif organizmalar da bir dereceye kadar baskılanabilir. Ayrıca, bizmut sülfit ortamı, hidrojen sülfit üretimi nedeniyle siyah koloniler oluşturan *Salmonella* 'nın hızlı tespitini sağlar. Birçok *Salmonella* H_2S üretir (Jacobson *et al.* 2008).

- **Seçici ortam kültürleri**

Numune, *Salmonella* -shigella agar (SS), enterik hektoin agar, ksiloz-lisin dekarboksilaz (XLD) agar veya diğer bağırsaklarda *Salmonella*-shigella büyümesini uyaran deoksikolatekitrat agar üzerine kaplanarak tespit edilebilir.

- Zenginleştirme Kültürleri

Alınan dışkı örnekleri normal bağırsak bakterilerinin çoğalmasını engelleyen ve *Salmonella* 'nın çoğalmasına izin veren bir selenit F suyu veya tetratiyonata yerleştirilir.

1-2 günlük inkübasyon süresinden sonra seçici ve diferansiyel ortama kaplanır ve üreme durumuna göre hastalık tespit edilir.

- Nihai tanımlama-şüpheli katı kolonileri

Ortam, biyokimyasal reaksiyon modelleri ve spesifik serum ile slayt aglütinasyon testleri ile belirlenir.

d) PCR Metodu

Salmonella bakterisinin (TaqMan) polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile tespitinde özel olarak tasarlanmış primerler ve 30,5°C'de patojen *Salmonella* Adası2 yakınında bulunan ttrRSBCA lokusu içinde stile hedefi kullanır (Wang and Mustapha 2007).

Deney, tüm *Salmonella* suşları için de uygulanır. *Salmonella* DNA'sı ile aynı öneklerle birleştirilen dahili amplifikasyon kontrolü de deneye dahil edilir.

Birçok çalışma da PCR yöntemi tanı konusunda geleneksel yöntemlere kıyasla %100 doğru sonuç vermektedir. PCR yöntemi için toplam analiz süresi, geleneksel kültür yöntemi için geçen 4 ile 5 günlük analiz süresinin aksine yaklaşık 24 saattir. Bu metodoloji, standart tanı yöntemleri için kalite güvence laboratuvarlarına yönelik artan talebi karşılamaya katkıda bulunabilir (Malorny *et al.* 2004).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Tezin deneysel çalışmaları, Irak'ın Tikar Şehrinde yer alan Tikar Genel Hastanesi'nin laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Tikar Genel Hastanesi Acil Servisi ve Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniklerine, 2019/ 2021 Tarihleri arasında *Salmonella* enfeksiyonun belirtileri ile başvuran ve hekim tarafından *Salmonella* kaynaklı enfeksiyon şüphesi ile teşhis edilen hastalardan yüz kişi seçilerek deney grubu oluşturulmuş ve bu hastalardan elde edilen numuneler hem PCR hem de widal testine tabi tutulmuştur. Deney aşamaları sırasıyla ayrıntılı olarak aşağıda belirtilmiştir.

3.1 Hastaların Seçimi

Hastaların seçiminde daha önceden tespit edilen özelliklere uygun 100 kişilik bir çalışma grubu oluşturulmuştur. İlgili özellikler şunlardır:

- Hastaların 18 yaşından büyük olması.
- Enfeksiyon hastalıkları polikliniği hekimlerince *Salmonella* kaynaklı enfeksiyon tanısının konmuş olması.
- Hastaların numune toplanma aşamasında herhangi bir ilaç kullanmıyor olması, özellikle antibiyotik kullanmamaları.
- Hastaların, çalışma sonuçlarını etkileyecek farklı herhangi bir hastalıklarının olmaması.

Yukarıda belirtilen ve çalışma öncesinde hekimlerin de dikkatine sunulan kriterlere uyum sağlayan 128 hasta tespit edilmiş olup, yapılan son inceleme ile birlikte, 100 hasta seçilerek deney grubu oluşturulmuştur. 128 hastadan 12 tanesi çalışmaya katılmayı reddetmiş olup, kalan 116 hastadan 8 tanesi hastanede tedaviyi kabul etmemiş ve 2 tanesi de farklı hastanede tedavi olmak istediğini belirtmiştir.

Sonuç olarak 106 hastadan 6 tanesi çalışma dışı bırakılarak, toplam 100 hasta ile çalışma grubu oluşturulmuştur. Hastaların 6 tanesinin çalışma dışı bırakılmasının nedeni, hasta sayısının 100 olarak belirlenmesi, kadın ve erkek hastalar arasındaki oransal dağılımın daha sağlıklı izlenmesi ve hesaplama kolaylığının amaçlanması ile ilişkilidir.

Hastaların 60 tanesi erkek 40 tanesi kadındır. Oransal olarak ifade edilirse hastaların %60'ı erkek, %40'ı kadındır. Hastaların, cinsiyet ve yaş ortalamaları Çizelge 3.1'de, hastane kabullerinin gerçekleştirildiği poliklinik bilgileri ise Çizelge 3.2'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1 Hastaların cinsiyete göre yaş ortalaması

Cinsiyet	Hasta Sayısı	Yaş Ortalaması	S. Sapma
Erkek	60	44,82	15,51
Kadın	40	41,58	12,41
Toplam	100	43,52	14,38

Erkek hastaların yaş ortalaması 44,82 ± 15,51 kadın hastaların yaş ortalaması 41,58 ± 12,41 ve toplam hastaların yaş ortalaması 43,52 ± 14,38 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3.2 Hastaların, hastaneye kabul edildikleri polikliniklere göre sayısal ve oransal dağılımı

Poliklinik	Cinsiyet	Hasta sayısı	Yüzde oran cinsiyet / toplam
Acil Servis	Erkek	21	%35 / %21
	Kadın	12	%30 / %12
	Toplam	33	%33
Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği	Erkek	39	%65 / %39
	Kadın	28	%70 / %28
	Toplam	67	%67

Acil servisten başvuran erkek hastaların sayısı 21'dir. Bu, erkek hastaların %35'i, toplam hastaların %21'idir. Acil servisten başvuran kadın hastaların sayısı 12'dir. Bu, kadın hastaların %30'u, toplam hastaların %12'sidir.

Enfeksiyon hastalıkları polikliniğinden başvuran erkek hastaların sayısı 39'dur. Bu, erkek hastaların %65'idir. Enfeksiyon hastalıkları polikliniğinden başvuran kadın hastaların sayısı 28'dir. Bu, kadın hastaların %70'i, toplam hastaların %28'idir.

Sonuç olarak, genelde, hastaların 33 tanesi Acil Servise, 67 tanesi de doğrudan enfeksiyon hastalıkları polikliniğine başvurmuştur. Bu, anlaşıldığı üzere, oransal olarak sırasıyla %33 ve %67'ye karşılık gelmektedir.

Numunelerin toplanmasından önce hastaların her birine çalışma hakkında bilgi verilmiş olup, yazılı ve sözlü onayları alınmıştır. Yazılı onaylar hastane etik kuruluna teslim edilerek çalışma için onay alınmıştır.

3.2 Numunelerin Toplanması

Hastaların kan ve feçes (gaita) numuneleri başvurdukları klinik tarafından yapılan yönlendirme ile aynı hastanenin biyokimya laboratuvarı birimi tarafından alınmış olup barkodlanmıştır. Hasta kimlikleri, barkodlar ile eşleştirilmiştir. Toplamda 100 hastanın her birinden kan ve gaita örnekleri toplanmıştır.

Her bir hastadan toplam 15 mL kan numunesi alınmıştır. Kanlar mor kapaklı EDTA tüplerine alınmış olup, her bir hasta için 10 mL kan doğrudan inoküle edilmiş ve 2,5 mL kan ise Widal testinde kullanılacak serumların elde edilmesi amacıyla santrifrüjlenmiştir. 2,5 mL kan ise DNA ekstraksiyonunda kullanılmıştır.

Gaita numuneleri, temiz ve kuru bir kaba alınarak, kaşıkla toplanmış ve Selenit F Broth besiyeri içerisine inoküle edilmiştir.

Bu şekilde alınan ve laboratuvara taşınan numunelerin Widal ve PCR testleri gerçekleştirilmiştir.

3.3 Widal Testi

S. typhi'nin tanımlanması amacıyla gerçekleştirilen serolojik test olan widal testi'nin parametreleri ve işleyişi şu şekildedir:

- Widal testi için alınan 2,5 mL hacmindeki kan, 3000 rpm döngü hızında 300 saniye boyunca santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonunda ayrılan serum, -20 ^{o}C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.
- Numuneler temiz ve kuru test tüplerinde 1:20 oranından başlayarak 1:320 oranına kadar seyreltilmiştir.
- Elde edilen seyreltik çözeltilere hacimsel olarak 1:9 oranında serum ve fizyolojik salin eklenmiş ve elde edilen yeni seyreltik çözelti ayrılmıştır.
- Daha sonra 0,5 mL seyreltilmiş serum 0,5 mL salin ile karıştırılarak ve son tüpten 0,5 mL atılarak seri olarak seyreltilmiştir.
- Titredeki olası artışı saptamak için gönderilen numuneden 5 seyreltme serisi hazırlanmıştır. Bu seyreltme dizilerinin oranları sırasıyla: 1:20, 1:40 1:80, 1:160 ve 1:320 şeklindedir.
- Hazırlanan tüplerin tamamı 37 ^{o}C sıcaklıkta 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır.
- Ertesi gün, inkübasyonun sonunda, tüpler kontrol edilerek, tüplerde aglütinasyon tepkimesi tespit edilmiştir.

3.4 Kan ve Gaita Kültürleri İle Tanimlamalar

Kan kültürü ile ilgili şu adımlar takip edilmiştir:

- Steril tüplerden alınan kan numuneleri beyin kalp infüzyonu besiyerine yavaşça karıştırılarak eklenmiştir.
- Elde edilen numune karışımı barkodlanmıştır.

- Barkodlanan numuneler 37 ^{o}C sabit sıcaklıkta bir hafta (7gün) boyunca inkübasyona bırakılmıştır.
- 18-24 saat inkübasyonu süresince, bakteri üremesi takip edilmiştir.
- 18-24 saat boyunca bakteri altkültürü Mac Conkey agar (Merck, Sigma-Aldrich, Almanya) besiyerinde gerçekleştirilmiştir.
- Mac Conkey agar (Merck, Sigma-Aldrich, Almanya) besiyerindeki bakteri altkültürleri 37^{o}C sabit sıcaklıkta, aerobik olarak inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon sonunda gözlenen bakteri kolonileri tanımlanmıştır.

Dışkı kültürü ile ilgili olarak izlenen adımlar ve yaklaşımlar:

- Feçes numuneleri, temiz ve kuru bir kaba alınarak, kaşıkla toplanmış ve Selenit F Broth besiyeri içerisine inoküle edilmiştir
- %5 Selenit F Broth Besiyeri içerisinde inokülasyon süresince altkültürleme gerçekleştirilmiştir.
- Başka bir altkültürleme işlemi ksiloz lizin seoksikolat üzerinde gerçekleştirilmiştir.

3.5 DNA Ekstraksiyonu

Numunelerin moleküler tespiti ve tanımlanması belirtilen yönteme göre yapılmıştır. Buna göre, aşağıdaki adımlar izlenmiştir:

- DNA ekstraksiyonu SDS ve Proteinaz K ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.
- 300 µL kan numunesi 1000 µL Kırmızı Hücre Lizis Tamponu (RCLB) ile 1,5 mL Eppendorf tüpünde iyice karıştırılarak süspanse edilmiştir.
- Süspansiyon, 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonucu elde edilen süpernatan atılmıştır.
- 300 µL lökosit liziz tamponu (WCLB) eklenmiştir,
- 10 µL % 10 SDS ve 10 µL proteinaz K çözeltisi eklenmiştir.
- Karışım 60 dakika boyunca 65°C sabit sıcaklık altında inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyondan sonra sırasıyla;

- 100 µL 6 M NaCl ilave edilmiştir
- 200 µL soğuk kloroform ilave edilmiştir
- 11000 rpm'de 6 dakika süreyle santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonucu elde edilen DNA'yı içeren süpernatan daha sonra yeni bir tüpe aktarılmıştır.
- Saf Etanol ilave edilmiştir
- 11000 rpm'de 300 saniye santrifüjlenmiştir.
- Süpernatan boşaltılmış ve pelet, 600 µL % 70 etanol ile yıkanmıştır.
- 6000 rpm'de 300 saniye santrifüjlenerek, etanol atılmıştır.
- Saflaştırılan DNA, 100 µL TE tamponunda çözümdürülmüştür.
- Elde edilen numune -20°C saklanmıştır.

3.6 PCR Reaksiyonu

PCR Reaksiyonunda izlenen adımlar ve kullanılan primerlere aşağıda yer verilmektedir. Kullanılan Primerler:

F: 5-TTACC CCACA GGAAG CACGC-3
R: 5-CTCGT TCTCT GCCGT GTGGG-3

3.6.1 Tampon çözeltilerinin hazırlanması, saklanması ve kullanımı

Moleküler biyolojide, TBE ve TAE, nükleik asitlerin elektrofezinde tampon olarak kullanılmaktadır. Tris tamponları, DNA elektrofezinde olduğu gibi hafif bazik pH koşullarında kullanılmaktadır. Çünkü bu, DNA'yı çözeltide çözünür hale getirmekte ve deprotonize etmektedir. Böylece, DNA elektroda çekilmekte ve bir jel içerisinden geçmektedir.

EDTA, solüsyondaki bir bileşendir çünkü bu yaygın kenetleme maddesi nükleik asitleri enzimler tarafından parçalanmaya karşı korumaktadır. EDTA, numuneyi kontamine

edebilecek nükleazlar için kofaktör olan iki değerlikli katyonları içerir. Bununla birlikte, magnezyum katyon, DNA polimeraz ve kısıtlama enzimleri için bir kofaktör olduğundan, EDTA konsantrasyonu kasıtlı olarak düşük tutulur (yaklaşık 1 µL konsantrasyon).

10X TBE elektroforez tampon içeriği şu şekildedir;

• 108 g Tris bazı [tris (hidroksimetil) aminometan].
• 55 g Borik asit.
• 7,5 g EDTA, disodyum tuzu.
• Deiyonize su.

10X TBE elektroforez tamponunun hazırlanması

• Tris, borik asit ve EDTA 800 mL deiyonize su içerisinde çözülür.
• Tampon 1 L hacmine seyreltilir.
• Çözelti şişesi sıcak su banyosuna yerleştirilerek ve çözünmemiş hücre kümelerinin çözünmesi sağlanır. Bu esnada manyetik karıştırma çubuğu ile karıştırılmıştır

Üretici talimatlarına göre, çözeltinin sterilize edilmesine gerek olmadığı görülmektedir. Bu nedenle çözelti tekrar sterilize edilmemiştir. Ayrıca üretici talimatlarında bir süre sonra çökelme meydana gelmesine karşın stok çözeltinin halen kullanılabilir olacağı bildirilmektedir. Çözeltinin pH'ının ayarlanması için pH metre kullanılarak, damla damla konsantre hidroklorik asit eklenebileceği göz önünde bulundurulmuştur.

TBE tamponu oda sıcaklığında saklanabilmektedir.

Tampon içerisinde oda sıcaklığında herhangi bir çökelti oluşma ihtimaline karşın, stok çözeltinin kullanımdan önce 0,22 mikronluk filtreden süzülmesi önerilmektedir.

10X TBE elektroforez tamponunun saklanması

10X tampon çözeltisi şişesini oda sıcaklığında saklanmıştır. Buzdolabında saklanması halinde meydana gelecek soğutmanın, çökelmeyi hızlandıracağı değerlendirilmiştir.

10X TBE elektroforez tamponunun kullanımı

Çözelti, kullanımdan önce seyreltilir. 100 mL 10X stok çözleti, deiyonize su ile 1 L seyreltilmiştir.

5X TBE çözelti içeriği şu şekildedir

- 54 g Tris bazı (Trizma).
- 27,5 g borik asit.
- 20 mL 0,5 M EDTA solüsyonu.
- Deiyonize su.
- 5X çözeltinin avantajı, çökelme olasılığının düşük olmasıdır.

5X TBE Çözeltisinin Hazırlanması

- Tris bazı ve borik asidi EDTA solüsyonunda çözülmüştür.
- Çözeltinin pH'ı konsantre HCl kullanarak 8,3'e ayarlanmıştır.
- 1 L 5X stok solüsyonu yapmak için solüsyon deiyonize suyla seyreltilmiştir.
- Çözelti ayrıca elektroforez için 1X ve 0,5X'e seyreltilmiştir.
- Elekroforezde 5 X veya 10 X çözelti kullanmak aşırı ısı üretimi nedeniyle hatalı ve kötü sonuçların alınmasına neden olmaktadır. Böyle bir durumda, çözünürlük zayıf olabileceği gibi numune de zarar görebilecektir.

0,5X TBA çözelti içeriği şu şekildedir

- 5X TBE stok çözeltisi
- Distile deiyonize su

0,5X TBA çözeltisinin hazırlanması

- 900 mL distile deiyonize suya 100 mL 5X TBE solüsyonu eklenmiştir.
- Kullanmadan önce iyice karıştırılmıştır.

3.6.2 %1 Agaroz jelinin hazırlanması

- 1 g agaroz, şişe içerisindeki 100 mL 1 X TBE tamponuna ilave edilmiştir.
- Kaynama görünmüne kadar mikrodalga fırında çözündürülmüştür.
- Şişe fırından çıkarılmış ve karışım karıştırılmıştır.
- Karıştırılan karışım tekrar fırına konmuş ve kaynayana kadar bekletilmiştir.
- Herhangi bir parçacık görünümü olmayana dek bu döngü devam edilmiştir.
- Agaroz 60 ^{o}C'ye kadar soğutulmuştur.
- Soğutulan agaroz jele etidyum bromür eklenmiştir (100 mL agaroz jel için 5 µL 10 mg/ mL stok çözeltisi).

3.6.3 PCR primerlerinin hazırlanması

Primerler, üretim talimatına bağlı olarak, liyofilize primerlerin TE (Tris-EDTA) tamponu ile çözülerek 100 pmol/ µL konsantrasyonunda stok solüsyonu yapılmasıyla hazırlanmıştır. Döndürüldükten ve bir gece 4°C'de kaldıktan sonra, her primer için nihai çalışma solüsyonu (10 pmol / µL) elde etmek için stok solüsyonu TE tamponuyla seyreltilerek primer çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.

3.6.4 Jel elektroforezi

Multigenin PCR ürünleri agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Elektroforez analizinin adımları aşağıda belirtilmektedir, karışım reaksiyon boyutları Çizelge 3.3'te gösterilmiştir.

- %1 Agaroz jel, 1X TBE kullanılarak ve 100°C'de su banyosunda 15 dakika çözündürülerek hazırlanmış ve ardından 50°C soğumaya bırakılmıştır.
- 2µL etidyum bromür boyası agaroz jel solüsyonuna eklenmiştir.
- Agaroz jel solüsyonu, tarak uygun pozisyonda sabitlendikten sonra tepsiye dökülmüş ve oda sıcaklığında 15 dakika katılaşmaya bırakılmıştır.

- Tarak tepsiden nazikçe çıkarılmış ve her bir tarağa 10µL PCR ürünü ilave edilmiştir. Ayrıca her kuyucukta 5µL 1500 bp DNA merdiveni yer almaktadır.
- Jel tepsisi, elektroforez bölmesine sabitlenmiş ve 1X TBE tamponu ile doldurulmuştur.
- Sırasıyla, 30 dakika boyunca 100-volt ve 45 dakika boyunca 50 volt elektrik akımı uygulanmıştır.
- PCR ürünleri ultraviyole transillüminatör kullanılarak görselleştirilmiştir.

Çizelge 3.3 Reaksiyon karışımındaki hacimler

Bileşen	**25µL Reaksiyon karışımındaki hacim**
10 µL İleri Primer	0,5 µl
10 µL Geri Primer	0,5 µL
DNA Şablonu	1,5 µL
OneTaq Quick-Load 2X Master Mix Karışımı ve Standart Tampon Çözeltisi	12,5 µL
Nükleazsız Su	10 µL
Toplam	25 µL

3.6.5 PCR ana reaksiyon karışımının hazırlanması ve reaksiyon koşulları

PCR ana karışım reaksiyonu, üreticinin talimatlarına göre PCR Kiti kullanılarak hazırlanmıştır, Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

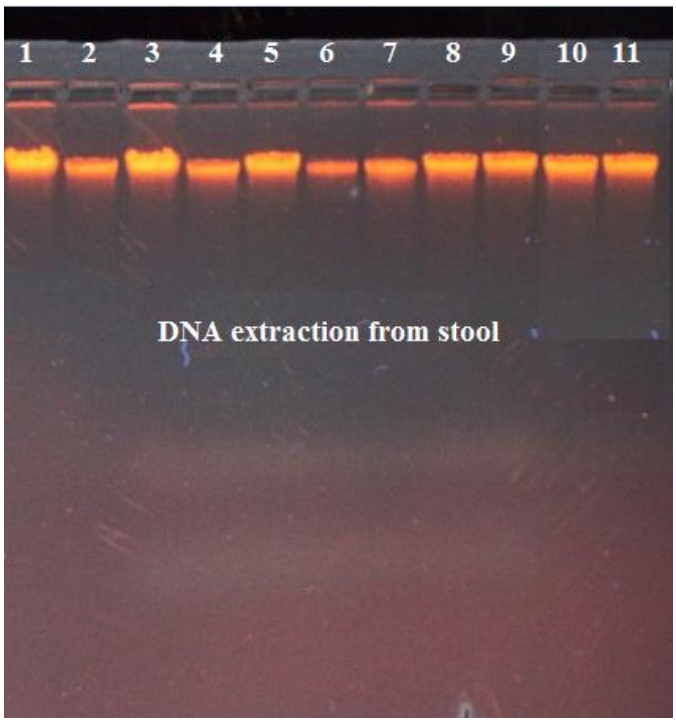
Çizelge 3.4 Rutin bir PCR için ısı döngüsü koşulları

Adımlar	**Sıcaklık**	**Süre**
İlk Denatürasyon	94°C	30 saniye
Denatürasyon Yapışma 30 Döngü Uzatma	94°C değişken (her fotoğrafın altında belirtildiği gibi) 68°C	15-30 saniye 15-60 saniye Her kb başına 60 saniye
Son Uzatma	68°C	60 saniye
Saklama	- 10°C	30 saniye

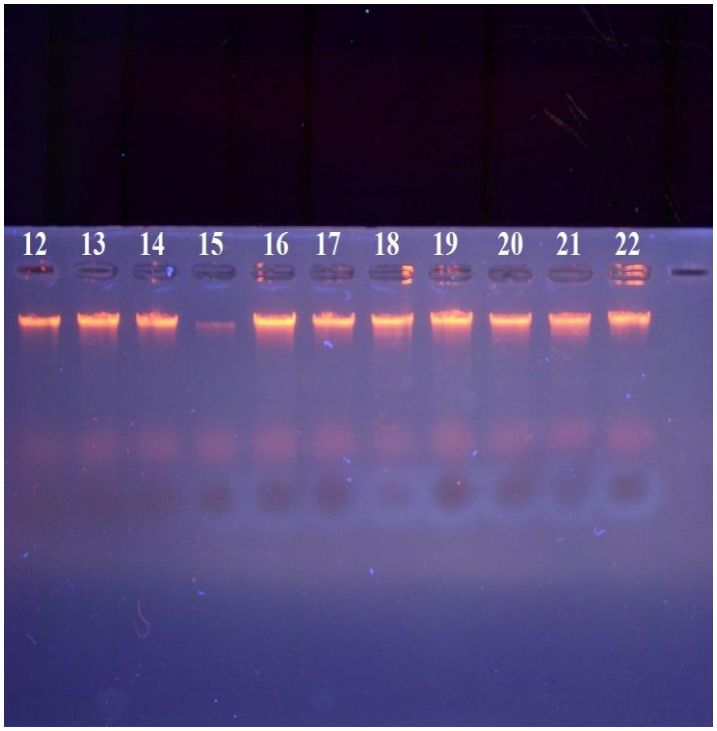
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışma da sonuçlarına göre, *S. thypi* kaynaklı Salmonellozis hastalığı tanısı alan hastaların farklı yöntemlerle tanı ve teşhis çalışmaları farklı sonuçlar vermektedir. Çalışmamız kapsamında, PCR sonuçlarının %63'ü pozitif, %27'si negatif sonuç verirken, Widal Testi sonuçlarında %72 pozitif sonuç ve %18 negatif sonuç alındığı görülmektedir. Kan kültürü sonuçları %23 pozitif ve %77 negatif sonuç verirken, feçes kültürü sonuçları %29 pozitif, %71 negatif sonuç vermiştir.

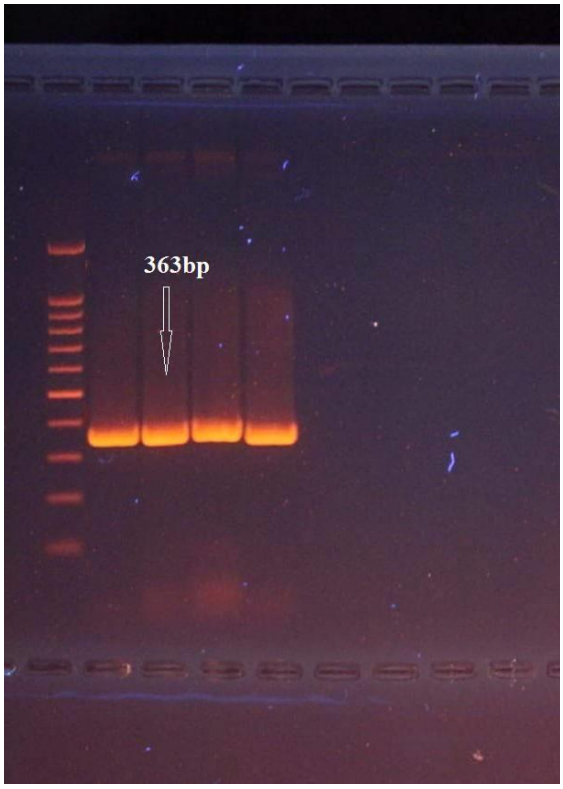
Çalışmamız sonucunda, PCR ve Widal Testlerinin kan kültürü ve feçes kültürüne kıyasla çok daha güvenilir olduğu ve birbirine yakın sonuç verdiği sonucuna varılmıştır. Tüm sonuçlar Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekile 4.11 ve Çizelge 4.1, Çizelge 4.2 de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Feçes örneklerinden ekstrakte edilen Genomik DNA'yı gösteren Ethidium Bromide boyalı agaroz jel elektroforez görünümü



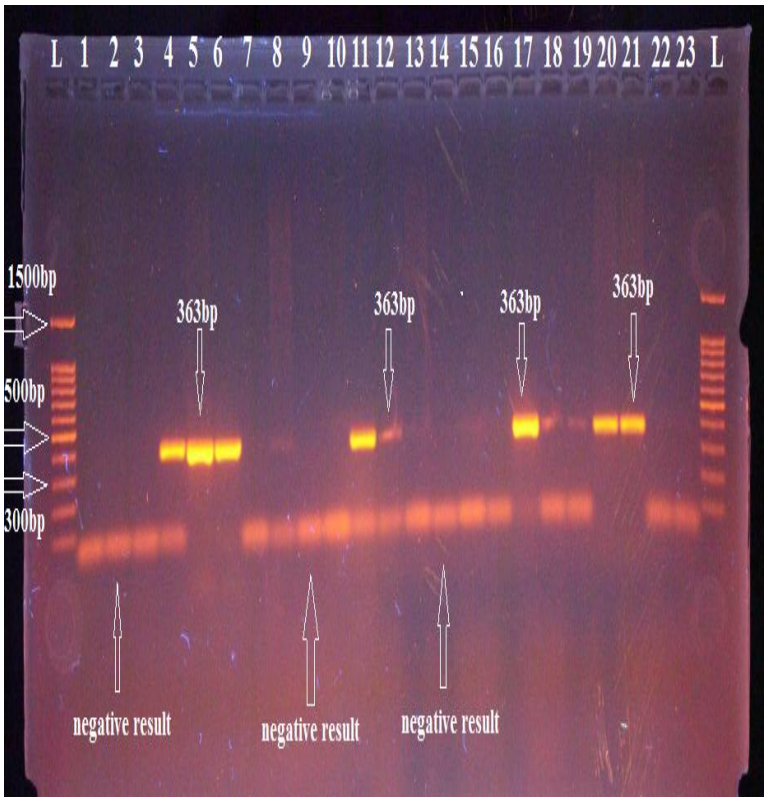
Şekil 4.2 Feçes örneklerinden ekstrakte edilen Genomik DNA'yı gösteren etidyum Bromür boyalı agaroz jel elektroforez görünümü



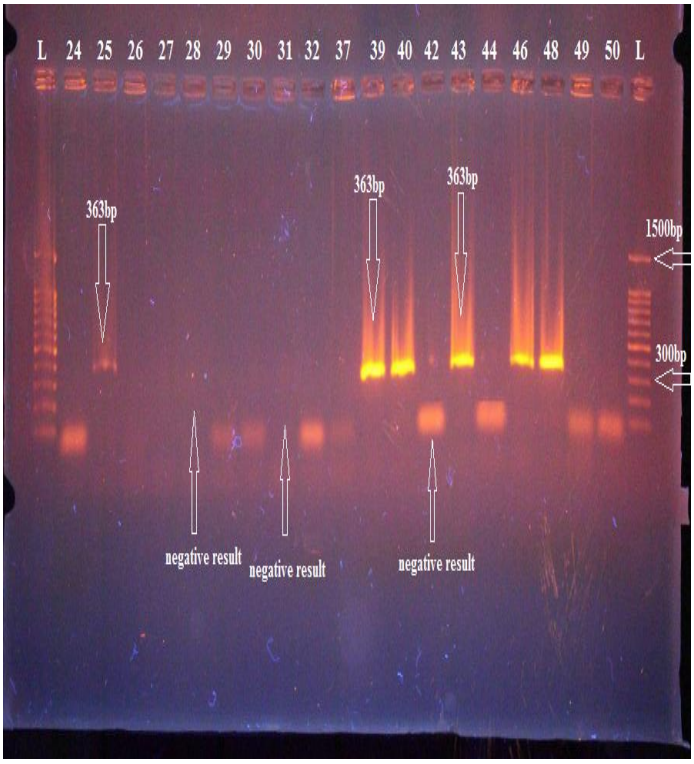
Şekil 4.3 1 primerin (Flic primer) pcr ürünü için 4 farklı sıcaklıkta jel elektoforez görüntüsü



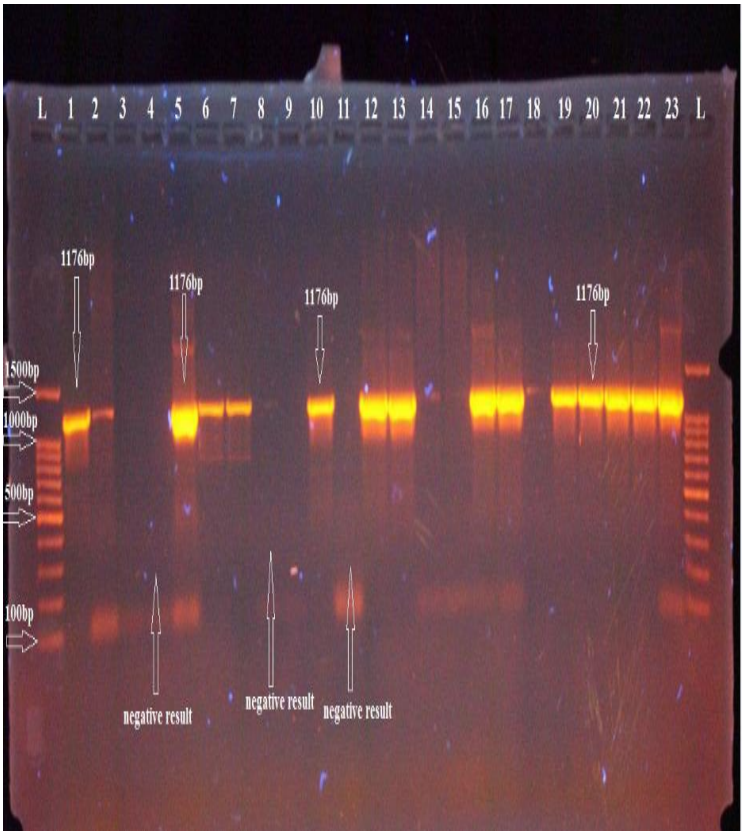
Şekil 4.4 2 primerin (STY0201 ve STY0307) PCR ürünü için 2 farklı sıcaklıkta jel elektroforezi



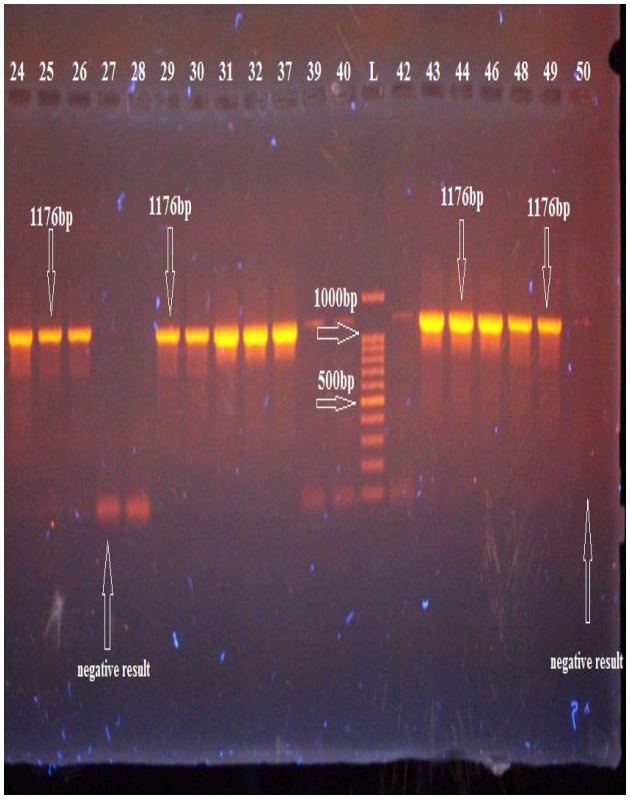
Şekil 4.5 (Flicprimer)'in PCR ürünü için (45 °C'de) jel elektroforezi



Şekil 4.6 (Flic primer) PCR ürünü için (45 °C'de) jel elektroforezi



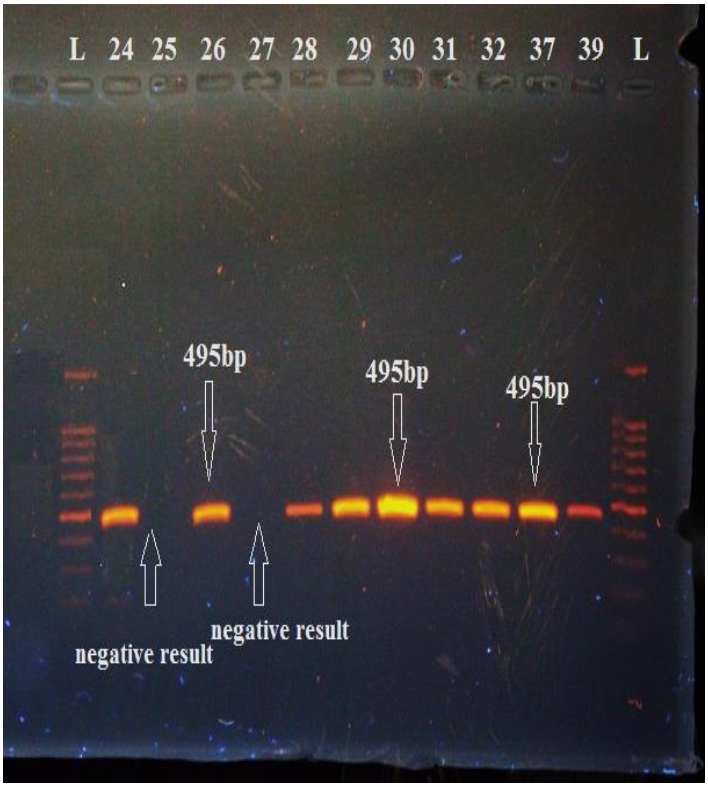
Şekil 4.7 STY 0201 primerinin PCR ürünü için jel elektroforezi



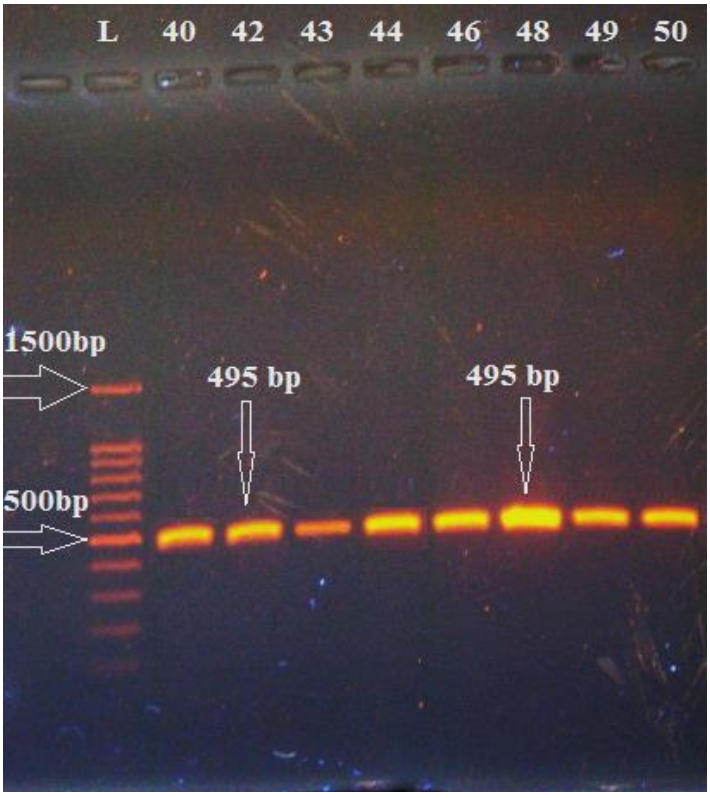
Şekil 4.8 STY 0201 primerinin PCR ürünü için jel elektroforezi



Şekil 4.9 STY 0307 primerinin PCR ürünü için jel elektroforezi



Şekil 4.10 STY 0307 primerinin PCR ürünü için jel elektroforezi



Şekil 4.11 STY 0307 primerinin PCR ürünü için jel elektroforezi

Çizelge 4.1 PCR sonucunda pozitif ve negatif sonuç veren numuneler

NO	Primer Adı	PCR Ürünü	TM	Pozitif Numuneler	Negatif Numuneler
1-	*Flic*	363bp	45c	4-6, 8, 11-12, 17-21, 25, 39, 40, 43, 46-48, 51-73, 75-96, ve 98-100	1, 2, 3, 7, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 22, 23, 24, 26, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 42, 44, 45, 49, 50, 74, ve 97
2-	STY 0201	1176bp	57c	1-2, 5-7, 10, 12-26, 29-49, 51-83, 85-96, ve 98-10	3, 4, 8, 9, 11, 27, 28, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 45, 47, 50, 84 ve 97
3-	STY 0307	495bp	55 c	1-3, 5-10, 12-24, 26 ve 28-39, 51-83, 85-96 ve 98-100	4, 11, 25, 27, 33, 34, 35, 36, 38, 41, 45, 50, 84, ve 97

Çizelge 4.2 Test sonuçlarının karşılaştırılması

Test Adı	Pozitif	Negatif	Toplam
PCR	63 (%63)	27 (%27)	100
Widal	72 (%72)	18 (%18)	100
Kan Kültürü	23 (%23)	77 (%77)	100
Feçes Kültürü	29 (%29)	71 (%71)	100

S. typhi, tifo ateşinin etken maddesidir. Tifo ateşi, güvenli su ve sağlık sisteminin sınırlı olduğu gelişmekte olan ülkelerde daha yaygındır. Yaşayan bir bakterinin yol açtığı enfeksiyonu, iyi karakterize edilmiş antijenlere dayalı uygun immünolojik testler ile belirlemektedir. Hastalığın yayılmasını azaltmak için halkın bilinçlendirilmesi, doğru teşhis, temizlik programları dahil olmak üzere önemli bir strateji izlenmelidir (Radhakrishnan *et al.* 2018). Bu çalışmadaki tüm izolatlar kültürel, morfolojik ve biyokimyasal testler sonucunda, *S. typhi* olarak doğrulanmış ve tanımlanmıştır. Ayrıca, Moleküler tekniklerle daha ayrıntılı tanımlamalar yapılmıştır.

Mevcut çalışmada, PCR tekniği, Widal titrasyon, dışkı kültürü ve kan kültürü ile tifo ateşinin büyüklüğü sırasıyla %63, %73, %23 ve %29 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, testler arasında büyük bir varyasyon olduğunu göstermektedir. Widal testi, gelişmekte olan ülkelerde tifo teşhisi için bir yüzyıldan fazla bir süredir kullanılmaktadır, ancak düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiştir (Sherwal *et al.* 2004, Wain and Hosoglu 2008). Bu çalışmada Widal testi hastaların %63'ünde pozitif bulunmuştur.

PCR tabanlı tanı, klinik olarak şüphelenilen tüm tifo vakaları için özellikle yararlıdır. PCR'nin duyarlılığı ve tifo ateşinin rutin teşhis ve epidemiyolojik çalışmalarında potansiyel kullanımı, kemik iliği kültürü, dışkı, safra örnekleri vb. dahil edilerek çalışmaları tamamlamak için kullanılabilir (Kumar *et al.* 2002).

Bu çalışmadaki bulgular, her yaştan insanın *S. Typhi* enfeksiyonuna duyarlı olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar hem çocukların hem de yetişkinlerin kontamine yiyecek ve su alımı yoluyla tifoya yakalanabileceğini göstermiştir (Parry *et al.* 1999). Güney Doğu Asya gibi yüksek riskli yerlere seyahat edenlerin tifo hastalığına yakalanma riski yüksektir (Lin *et al.* 2010). Güvenli içme suyuna ve uygun sanitasyon tesislerine erişimin zayıf olduğu aşırı kalabalık bölgelerde yaşayan insanlar, tifo enfeksiyonuna daha fazla maruz kalmaktadır.

Elde edilen sonuçlar, her iki cinsiyetin de tifo enfeksiyonuna duyarlı olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular (Pang *et al.* 1998), *S. typhi'nin* bulaş oranlarının hem erkekler hem de kadınlar da benzer olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni hem erkeklerin hem de kadınların, onları yüksek enfeksiyon riskine maruz bırakan açık hava etkinliklerine katılması olarak açıklanabilir. Ek olarak, sağlık tesislerinin çoğu, tifo ateşini doğru şekilde teşhis etmek için ekipman ve teknik uzmanlığa sahip değildir (Pang *et al.* 1998). Vakaların çoğu tedavi edilmez. Bakteriler vücutta uzun süre kalır ve bu da yüksek bir taşıyıcı popülasyonuna neden olmaktadır. Diğer hastalar uygun tedaviyi uygulamazlar ve bunun yerine antibiyotik alırlar ve semptomlar geçtiğinde ilaç almayı bırakırlar. Bu nedenle bu hastalar, bakterileri dökmeye devam ederek daha fazla popülasyona bulaşmaktadır. Rastgele antibiyotik kullanımı nedeniyle yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere dirençli *S. typhi* bakteri suşu ortaya çıkmıştır. *S.typhii* vakalarında gelişigüzel ilaç kullanımından vazgeçilmelidir (Chowta M. and Chowta N. 2005).

Ampisilin, gentamisin, koksisilin, Augmentin, seftazidimin gibi antibiyotiklere karşı çoklu ilaca dirençli suşlar ortaya çıktığından, bu antibiyotikler tedavi amaçlı kullanıldığında bakteriler elimine edilmez ve bu nedenle aylarca veya yıllarca vücuttan atılarak daha fazla popülasyona bulaşmaktadır (Parry *et al*. 2009). İlaç direnci, *S. typhi* enfeksiyonunun yönetiminde hızla büyük bir sorun haline gelmektedir. Çoklu ilaç

direnci, tifo tedavisinde kullanılan üç birinci basamak ajana direnç olarak tanımlanır (Cooke and Wain 2004).

Kan kültürü, *Salmonella typhi* enfeksiyonu için standart tanı yöntemidir. Kan normalde steril bir ortamdır, bu nedenle kandaki bakteri tespiti sistemik enfeksiyonun bir göstergesidir. Bakteriyemi tespiti için kan kültürü en duyarlı yöntemdir (Lin *et al.* 2010). Bununla birlikte, kan kültürü *S. typhi* enfeksiyonunu saptamada en yüksek duyarlılığa sahip olmasına rağmen, kırsal kesimdeki sağlık kuruluşlarının çoğunda yaygın olarak uygulanamamaktadır. Negatif oranların varlığı nedeniyle dışkı kültürünün Widal testinden daha iyi performans gösterdiği düşünülebilir (Muthoni 2016). Mali kaynak yetersizliği nedeniyle, kan kültürü tesisi olan bir mikrobiyoloji laboratuvarı kurmak ve sürdürmek büyük bir zorluktur. Kırsal sağlık tesislerinde istikrarlı ve güvenilir elektrik arzının sağlanamaması, kan kültürü yapmak için büyük bir zorluk teşkil etmektedir. Kan kültürlerine erişim, kent merkezlerinde bulunan donanımlı özel hastanelerle sınırlıdır. Etkili teşhisin yapılamaması, kötü sağlık sonuçlarına, gelişigüzel antibiyotik kullanımına ve ilaca karşı direncin artmasına neden olmuştur. Ayrıca, hedeflenen uygun maliyetli aşılama stratejilerinin uygulanmasını imkânsız hale getirmiştir. Kan kültürünün sınırlamalarından bazıları, ağrı ile ilişkili damar delinmesini içerir, bu nedenle hastalarda özellikle de gençlerde korku yaratır. Kan örneği vermekle ilişkili risk faktörleri arasında deri altında kan birikmesi (hematom), aşırı kanama, özellikle hemofilik olanlar, ardından bayılma ve enfeksiyonlar yer almaktadır.

Kan kültürü ilk haftada teşhisi belirler ve çok spesifiktir ancak çeşitli faktörler nedeniyle duyarlılığı zayıftır. Çalışmaya alınan klinik olarak tifo ateşi olduğundan şüphelenilen toplam 100 vakadan 12'sinde kan kültürü ile pozitif ve duyarlılık %37, özgüllük 97,2 olarak rapor edilmişken, diğer çalışmalarda kan kültür pozitifliği %8,9-43 arasında bir duyarlılık bulunmuştur (Abucejo *et al.* 2010). Kan kültüründen elde edilen düşük izolasyon oranı hastalığın teşhisinde gecikmeye, antibiyotiklerin yaygın ve akılcı olmayan kullanımına ve özellikle çocuklarda kültür için alınan kan hacminin düşük olmasına bağlanır. Bu bağlamda, Sanjeev *et al.* 2013, Saha *et al.* 2003 tarafından çalışmalarda %65-68 oranında duyarlılık bildirmiştir. Bu çalışmalardaki yüksek izolasyon oranı, insanların ikinci veya üçüncü basamak sağlık kuruluşuna erken

başvuruda bulunmalarına neden olan farkındalıklarına, tanısal testler için yeterli miktarda kan alınabilmesine ve kan kültürü yöntemlerindeki gelişmelere, özellikle otomatik sistemlerin kullanılmasına bağlı olarak değişmektedir.

Bu çalışmadaki dışkı kültürü sonuçları, dışkı kültürünün düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, Prajapati'ın (2008) dışkı kültürünün en yüksek tifo vakalarını seçtiğini ortaya koyan daha önceki çalışmalardan farklı sonuçlar almıştır. *Salmonella typhi,* enterik bir mikroorganizmadır ve esas yerleşim yeri insan bağırsağındadır, bu nedenle bakterinin erken yutulması durumunda bile dışkıda kolaylıkla saptanabilmektedir (Prajapati *et al*. 2008).

Dışkı kültürü tanı için önemli bir yardımcıdır; kan kültürü negatif olduğunda bile kişiler pozitif olabilir. Bu kişiler belirgin klinik tedaviden sonra *S. Typhi* taşıyıcılığının izlenmesi için de önemlidir. Dışkı kültürü duyarlılığının iyileştirilmesi, dışkıyı üç kopya halinde kültürleyerek yapılabilmektedir. Ek olarak, kültür için kullanılan dışkı miktarının arttırılmasının, standart bir gram izolasyonu %10 oranında arttırmak yerine iki gram dışkı kültürü ile duyarlılığı arttırdığı gösterilmiştir (Bhanu *et al.* 2011).

Widal testi %72 oranında pozitif sonuçlar vermiştir. Bu sonuçlara bağlı olarak, Widal testi ile hasta serumunda saptanan önemli miktarda antikor titresinin tifo hastalığına özgü olduğu tespit edilmiştir (Andualem *et al.* 2014). Yüksek düzeyde spesifik ve çapraz reaksiyon gösteren antikorların bulunabileceği durumlarda Widal testinin %54'lük bir duyarlılığa ve %81'lik bir özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiştir, ayrıca tifo ateşinden şüphelenilen Hintli çocuklarda da Widal testinin duyarlılığı %64,6, İranlı çocuklarda %75,86 olarak bulunmuştur (Noorbakhsh *et al.* 2003). Widal testi kolay, ucuz ve nispeten non-invazivdir. Kan kültürleri mevcut olmadığında veya pratik olmadığında tanısal değere sahip olabilirler. Nekahat serumu üzerinde yapılan Widal testi de güvenilir sonuçlar vermektedir (Willke *et al.* 2002).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmanın sonuçlarına göre, *S. thypi*'nin neden olduğu Salmonelloz tanısı alan hastaların değişik tanı yöntemleri farklı sonuçlar vermektedir. Ancak, Kan kültürü ve feçel kültür ve birbirine benzer sonuçlar vermiştir. Mevcut çalışma, hastalığa neden olan ajanın izolasyonu ve tanımlanmasının bir hastalığın kaynağını belirlemek için "altın standart" olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu çalışmada kullanılan antikor testinin canlı bir bakteri olmasa bile enfeksiyon kanıtı olarak kabul edilebileceğini göstermektedir. İzolatların tümü *S. typhi* olarak tanımlanmıştır. Mevcut çalışma, *S. typhi'nin* bulaş oranlarının erkekler ve kadınlar için aynı olduğunu bulmuştur. Bu çalışma, çoklu ilaca dirençli suşların ortaya çıkması nedeniyle Antibiyotiklerin artık bakterilere karşı etkili olmadığını göstermektedir.

*S. typhi'*nin neden olduğu *Salmonella* tanısında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testleri kullanılmalıdır. Çünkü PCR testleri diğer testlere göre daha doğru ve hassas sonuç vermektedir. Ayrıca bu konuda daha kapsamlı çalışmalar aynı coğrafi bölgede benzer suşlarla ve farklı coğrafi bölgelerden gelen suşlarla yapılmalıdır. İyi karakterize edilmiş antijenler ve uygun immünolojik testler kullanılmalıdır. Özellikle hastaların doktor tarafından verilen tedaviyi eksiksiz uygulaması ve rastgele antibiyotik kullanmaması ciddiyetle önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Abucejo, P. E., Capeding, M. R., Lupisan, S. P., Arcay, J., Sombrero, L. T., Ruutu, P. and Herva, E. 2001. Blood culture confirmed typhoid fever in a provincial hospital in the Philippines. Southeast Asian journal of Tropical Medicine and Public Health, 32: 531-536.

Alcaine, S. D., Warnick, L. D. and Wiedmann, M. 2007. Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella*. Journal of Food Protection, 70: 780-790.

Alikhan, N. F., Zhou, Z., Sergeant, M. J. and Achtman, M. 2018. A genomic overview of the population structure of *Salmonella.* PLoS Genetics, 14: e1007261.

Andualem, G., Abebe, T., Kebede, N., Gebre-Selassie, S., Mihret, A. and Alemayehu, H. 2014. A comparative study of Widal test with blood culture in the diagnosis of typhoid fever in febrile patients. BMC Research Notes, 7: 1-6.

Bakowski, M. A., Braun, V. and Brumell, J. H. 2008. *Salmonella* containing vacuoles: directing traffic and nesting to grow. Traffic, 9: 2022-2031.

Belœil, P. A., Fravalo, P., Fablet, C., Jolly, J. P., Eveno, E., Hascoet, Y. and Madec, F. 2004. Risk factors for *Salmonella* enterica subsp. Preventive Veterinary Medicine, 63: 103-120.

Berends, B. R., Van Knapen, F., Snijders, J. M. A. and Mossel, D. A. 1997. Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. International Journal of Food Microbiology, 36: 199-206.

Besser, J. M. 2018. *Salmonella* epidemiology and a whirlwind of change. Food Microbiology, 71: 55-59.

Betancor, L., Yim, L., Fookes, M., Martinez, A., Thomson, N. R., Ivens, A. and Chabalgoity, J. A. 2009. Genomic and phenotypic variation in epidemic-spanning *Salmonella* enterica serovar enteritidis isolates. BMC Microbiology, 9: 237-45.

Bhanu, S., Vandana, S. and Archana, S. 2011. Comparative study of the diagnostic procedures in *Salmonella* infection, causative agent. International Research Journal of Pharmacy, 25: 2230-8407.

Bijapur, G. A. M., Kakkeri, S. R., Raysa, N. P. and Usman, S. M. 2014. A study to determine significant titre-values of widal test in the diagnosis of enteric fever for a population of north Kerala, India. Al Ameen Journal Med. Sci., 7, 71-77.

Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O. and Piddock, L. J. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nature Reviews Microbiology, 13: 42-51.

Bonifield, H. R. and Hughes, K. T. 2003. Flagellar phase variation in *Salmonella* enterica is mediated by a posttranscriptional control mechanism. Journal of Bacteriology, 185: 3567-3574.

Bouchrif, B., Paglietti, B., Murgia, M., Piana, A., Cohen, N., Ennaji, M. M. and Timinouni, M. 2009. Prevalence and antibiotic-resistance of *Salmonella* isolated from food in Morocco. The Journal of Infection in Developing Countries, 3: 035-040.

Broadbent, S. E., Davies, M. R. and Van Der Woude, M. W. 2010. Phase variation controls expression of *Salmonella* lipopolysaccharide modification genes by a DNA methylation dependent mechanism. Molecular Microbiology, 77: 337-353.

Bumann, D. and Schothorst, J. 2017. Intracellular *Salmonella* metabolism. Cellular Microbiology, 19: e12766.

Chen, H. M., Wang, Y., Su, L. H. and Chiu, C. H. 2013. Nontyphoid *Salmonella* infection for microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. Pediatrics and Neonatology, 54: 147-152.

Chowta, M. N. and Chowta, N. K. 2005. Study of clinical profile and antibiotic response in typhoid fever. Indian Journal of Medical Microbiology, 23: 125-127.

Chunglok, W., Wuragil, D. K., Oaew, S., Somasundrum, M. and Surareungchai, W. 2011. Immunoassay based on carbon nanotubes-enhanced elisa for *Salmonella* enterica serovar typhimurium. Biosensors and Bioelectronics, 26: 3584-3589.

Claudi, B., Spröte, P., Chirkova, A., Personnic, N., Zankl, J., Schürmann, N. and Bumann, D. 2014. Phenotypic variation of *Salmonella* in host tissues delays eradication by antimicrobial chemotherapy. Cell, 158: 722-733.

Cooke, F. J. and Wain, J. 2004. The emergence of antibiotic resistance in typhoid fever. Travel medicine and infectious disease, 2: 67-74.

Crump, J. A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M. A. and Parry, C. M. 2015. Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive *Salmonella* infections. Clinical Microbiology Reviews, 28: 901-937.

Dorigo-Zetsma, J. W., Zaat, S. A., Wertheim-van Dillen, P. M. E., Spanjaard, L., Rijntjes, J., Van Waveren, G. and Dankert, J. 1999. Comparison of PCR, culture, and serological tests for diagnosis of mycoplasma pneumoniae respiratory tract infection in children. Journal of Clinical Microbiology, 37: 14-17.

Eberth, C. J. 1880. Die organismen in den organen bei typhus abdominalis. Archiv Für Pathologische Anatomie und Physiologie und Für Klinische Medicin, 81: 58-74.

Eng, S. K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N. S., Ser, H. L., Chan, K. G. and Lee, L. H. 2015. *Salmonella* review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. Frontiers in Life Science, 8: 284-293.

Fàbrega, A. and Vila, J. 2013. *Salmonella* enterica serovar typhimurium skills to succeed in the host. Clinical Microbiology Reviews, 26: 308-341.

Ferrari, R. G., Rosario, D. K., Cunha-Neto, A., Mano, S. B., Figueiredo, E. E. and Conte-Junior, C. A. 2019. Worldwide epidemiology of *Salmonella* serovars in animal-based foods. Applied and Environmental Microbiology, 85: e00591-19.

Gallois, A., Klein, J. R., Allen, L. A., Jones, B. D. and Nauseef, W. M. 2001. *Salmonella* pathogenicity island 2-encoded type III secretion system mediates exclusion of NADPH oxidase assembly from the phagosomal membrane. The Journal of Immunology, 166: 5741-5748.

Gonzalez-Escobedo, G., Marshall, J. M. and Gunn, J. S. 2011. Chronic and acute infection of the gall bladder by *Salmonella* typhi. Nature Reviews Microbiology, 9: 9-14.

Grassl, G. A. and Finlay, B. B. 2008. Pathogenesis of enteric *Salmonella* infections. Current Opinion in Gastroenterology, 24: 22-26.

Gunn, J. S., Marshall, J. M., Baker, S., Dongol, S., Charles, R. C. and Ryan, E. T. 2014. *Salmonella* chronic carriage for epidemiology, diagnosis, and gallbladder persistence. Trends in Microbiology, 22: 648-655.

Gupta, S. K., Sharma, P., McMillan, E. A., Jackson, C. R., Hiott, L. M., Woodley, T. and McClelland, M. 2019. Genomic comparison of diverse *Salmonella* serovars isolated from swine. PloS One, 14: e0224518.

Hald, T., Wingstrand, A., Swanenburg, M., Von Altrock, A. and Thorberg, B. M. 2003. The occurrence and epidemiology of *Salmonella* in European pig slaughterhouses. Epidemiology and Infection, 131: 1187-1203.

Hansen-Wester, I., Stecher, B. and Hensel, M. 2002. Type III secretion of *Salmonella* enterica serovar typhimurium translocated effectors and SseFG. Infection and Immunity, 70: 1403-1409.

Hanson, N. D., Moland, E. S., Hossain, A., Neville, S. A., Gosbell, I. B. and Thomson, K. S. 2002. Unusual *Salmonella* enterica serotype typhimurium isolate producing CMY-7, SHV-9 and OXA-30 β-lactamases. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 49: 1011-1014.

Haraga, A., Ohlson, M. B. and Miller, S. I. 2008. *Salmonella* e interplay with host cells. Nature Reviews Microbiology, 6: 53-66.

Hooper, D. C. and Jacoby, G. A. 2015. Mechanisms of drug resistance and quinolone resistance. Annals of the New York Academyy of Sciences, 1354: 12-18.

Hosoglu, S., Bosnak, V., Akalin, S., Geyik, M. F. and Ayaz, C. 2008. Evaluation of false negativity of the Widal test among culture proven typhoid fever cases. The Journal of Infection in Developing Countries, 2: 475-478.

Hossain, A., Ferraro, M. J., Pino, R., Dew III, R. B., Moland, E. S., Lockhart, T. J. and Hanson, N. D. 2004. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing enzyme KPC-2 in an enterobacter sp. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 48: 4438-4440.

Hurley, D., McCusker, M. P., Fanning, S. and Martins, M. 2014. *Salmonella* –host interactions–modulation of the host innate immune system. Frontiers in Immunology, 5: 481-8.

Ikeda, J. S., Schmitt, C. K., Darnell, S. C., Watson, P. R., Bispham, J., Wallis, T. S. and O'Brien, A. D. 2001. Flagellar phase variation of *Salmonella* enterica serovar typhimurium contributes to virulence in the murine typhoid infection model but does not influence*Salmonella* -induced enteropathogenesis. Infection and Immunity, 69: 3021-3030.

Jacobson, A. P., Hammack, T. S. and Andrews, W. H. 2008. Evaluation of sample preparation methods for the isolation of *Salmonella* from alfalfa and mung bean seeds with the bacteriological analytical manual's *Salmonella* culture method. Journal of AOAC International, 91: 1083-1089.

Jacoby, G. A. 2009. AmpC β-lactamases. Clinical Microbiology Reviews, 22: 161-182.

Kaufmann, S. H., Raupach, B. and Finlay, B. B. 2001. Introduction of microbiology and immunology. Microbes and Infection, 3: 1177-1181.

Khan, M., Coovadia, Y. M., Connoly, C. and Sturm, A. W. 1998. The early diagnosis of typhoid fever prior to the Widal test and bacteriological culture results. Acta Tropica, 69: 165-173.

Kuhle, V. and Hensel, M. 2004. Cellular microbiology of intracellular *Salmonella* enterica. Cellular and Molecular Life Sciences, 61: 2812-2826.

Kumar, A., Arora, V., Bashamboo, A. and Ali, S. 2002. Detection of *Salmonella* typhi by polymerase chain reaction: implications in diagnosis of typhoid fever. Infection, Genetics and Evolution, 2: 107-110.

Leekitcharoenphon, P., Lukjancenko, O., Friis, C., Aarestrup, F. M. and Ussery, D. W. 2012. Genomic variation in *Salmonella* enterica core genes for epidemiological typing. BMC Genomics, 13: 88-94.

Li, X. Z., Mehrotra, M., Ghimire, S. and Adewoye, L. 2007. β-Lactam resistance and β-lactamases in bacteria of animal origin. Veterinary microbiology, 121: 197-214.

Liang, W., Zhao, Y., Chen, C., Cui, X., Yu, J., Xiao, J. and Kan, B. 2012. Pan-genomic analysis provides insights into the genomic variation and evolution of *Salmonella* paratyphi A. PLoS One, 7: e45346.

Lima, E., Guerra, R., Lara, V. and Guzmán, A. 2013. Gold nanoparticles as efficient antimicrobial agents for escherichia coli and *Salmonella* typhi. Chemistry Central Journal, 7: 11-16.

Lin, F. Y., Vo, A. H., Phan, V. B., Nguyen, T. T., Bryla, D., Tran, C. T. and Robbins, J. B. 2000. The epidemiology of typhoid fever in the dong thap province, mekong delta region of vietnam. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 62: 644-648.

Linke, K., Rückerl, I., Brugger, K., Karpiskova, R., Walland, J., Muri-Klinger, S. and Stessl, B. 2014. Reservoirs of listeria species in three environmental ecosystems. Applied and Environmental Microbiology, 80: 5583-5592.

Liu, W. Q., Feng, Y., Wang, Y., Zou, Q. H., Chen, F., Guo, J. T. and Liu, S. L. 2009. *Salmonella* paratyphi C for genetic divergence from *Salmonella* choleraesuis and pathogenic convergence with *Salmonella* typhi. PloS One, 4: e4510.

Lunn, A. D., Fàbrega, A., Sánchez-Céspedes, J. and Vila, J. 2010. Prevalence of mechanisms decreasing quinolone-susceptibility among *Salmonella* spp. clinical isolates. Int Microbiol, 13: 15-20.

Mainar-Jaime, R. C., Andrés, S., Vico, J. P., San Román, B., Garrido, V. and Grilló, M. J. 2013. Standard method for detection of *Salmonella* spp. on mesenteric lymph nodes from slaughter pigs. Journal of Clinical Microbiology, 51: 89-94.

Malorny, B., Paccassoni, E., Fach, P., Bunge, C., Martin, A. and Helmuth, R. 2004. Diagnostic real-time PCR for detection of *Salmonella* in food. Applied and Environmental Microbiology, 70: 7046-7052.

Mian, M. F., Pek, E. A., Chenoweth, M. J. and Ashkar, A. A. 2011. Humanized mice are susceptible to *Salmonella* typhi infection. Cellular and Molecular Immunology, 8: 83-87.

Miriagou, V., Tassios, P. T., Legakis, N. J. and Tzouvelekis, L. S. 2004. Expanded-spectrum cephalosporin resistance in non-typhoid *Salmonella*. International Journal of Antimicrobial Agents, 23: 547-555.

Mollenhorst, H., Van Woudenbergh, C. J., Bokkers, E. G. and De Boer, I. J. 2005. Risk factors for *Salmonella* enteritidis infections in laying hens. Poultry Science, 84: 1308-1313.

Monack, D. M., Mueller, A. and Falkow, S. 2004. Persistent bacterial infections. Nature Reviews Microbiology, 2: 747-765.

Moreno Switt, A. I., Soyer, Y., Warnick, L. D. and Wiedmann, M. 2009. Emergence, distribution, and molecular and phenotypic characteristics of *Salmonella* enterica serotype. Foodborne Pathogens and Disease, 6: 407-415.

Muthoni, G. C. 2016. Performance of widal test and stool culture as diagnostic methods for *Salmonella* typhi infection in chuka general hospital, tharaka nithi county Doctoral dissertation, 63 pages, Kenyatta University, Kenya.

Noorbakhsh, S., Rimaz, S., Rahbarimanesh, A. A. and Mamishi, S. 2003. Interpretation of the Widal test in infected children. Iranian Journal of Public Health, 32: 35-37.

Ochiai, R. L., Wang, X., Von Seidlein, L., Yang, J., Bhutta, Z. A., Bhattacharya, S. K. and Clemens, J. D. 2005. *Salmonella* paratyphi arates and asia. Emerging Infectious Diseases, 11: 1764.

Olopoenia, L. A. and King, A. L. 2000. Widal agglutination test− 100 years later. Postgraduate Medical Journal, 76: 80-84.

Olsen, S. J., Bishop, R., Brenner, F. W., Roels, T. H., Bean, N., Tauxe, R. V. and Slutsker, L. 2001. The changing epidemiology of *Salmonella* and trends in

serotypes isolated from humans in the United States, 1987–1997. The Journal of Infectious Diseases, 183: 753-761.

Panezai, M., Kamran, M. T., Nawaz, I., Taj, I., Panezai, N., Zafar, U. and Muhammad, G. 2018. Isolation and identification of *Salmonella* paratyphi from enteric fever patients at different hospitals of Quetta city. Pakistan Journal of Biological Sciences, 21: 469-474.

Pang, T., Levine, M. M., Ivanoff, B., Wain, J. and Finlay, B. B. 1998. Typhoid fever important issues still remain. Trends in Microbiology, 6: 131-133.

Parry, C. M., Hoa, N. T. T., Diep, T. S., Wain, J., Chinh, N. T., Vinh, H. and Farrar, J. J. 1999. Value of a single-tube widal test in diagnosis of typhoid fever in vietnam. Journal of Clinical Microbiology, 37: 2882-2886.

Parry, C., Wain, J., Chinh, N. T., Vinh, H. A. and Farrar, J. J. 1998. Quinolone-resistant *Salmonella* typhi in vietnam. The Lancet, 351: 1289.

Pitout, J. D., Church, D. L., Gregson, D. B., Chow, B. L., McCracken, M., Mulvey, M. R. and Laupland, K. B. 2007. Molecular epidemiology of CTX-M-producing escherichia coli in the Calgary health region. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 51: 1281-1286.

Prajapati, B., Rai, G. K., Rai, S. K., Upreti, H. C., Thapa, M., Singh, G. and Shrestha, R. M. 2008. Prevalence of *Salmonella* typhi and paratyphi infection in children: a hospital based study. Nepal Med. Coll. Journal, 10: 238-41.

Radhakrishnan, A., Als, D., Mintz, E. D., Crump, J. A., Stanaway, J., Breiman, R. F. and Bhutta, Z. A. 2018. Introductory article on global burden and epidemiology of typhoid fever. The American journal of tropical medicine and hygiene, 99: 4-11.

Radovic-Moreno, A. F., Lu, T. K., Puscasu, V. A., Yoon, C. J., Langer, R. and Farokhzad, O. C. 2012. Surface charge-switching polymeric nanoparticles for bacterial cell wall-targeted delivery of antibiotics. ACS Nano, 6: 4279-4287.

Roberts, M. C. and Schwarz, S. 2016. Tetracycline and phenicol resistance genes and mechanisms: importance for agriculture, the environment, and humans. Journal of Environmental Quality, 45: 576-592.

Rohrbach, B. W., Draughon, F. A., Davıdson, P. M. and Olıver, S. P. 1992. Prevalence of Listeria monocytogenes, campylobacter jejuni, yersinia enterocolitica, and *Salmonella* in bulk tank milk. Journal of Food Protection, 55: 93-97.

Ryan, K. J. and Ray, C. G. 2004. Medical microbiology. McGraw Hill, 4: 370-380.

Saha, M. R., Dutta, P., Palit, A., Dutta, D., Bhattacharya, M. K., Mitra, U. and Bhattacharya, S. K. 2003. A note on incidence of typhoid fever in diverse age groups in Kolkata, India. Japanese Journal of Infectious Diseases, 56: 121-122.

Sánchez-Vargas, F. M., Abu-El-Haija, M. A. and Gómez-Duarte, O. G. 2011. *Salmonella* infections. Travel Medicine and Infectious Disease, 9: 263-277.

Sanjeev, H., Nayak, S., KB, P. A., Rekha, R., Karnaker, V. and Ganesh, H. R. 2013. A systematic evaluation of rapid dot-EIA, blood culture and Widal test in the diagnosis of typhoid fever. Journal of Health and Allied Sciences, 3: 21-24.

Sayers, E. W., Cavanaugh, M., Clark, K., Ostell, J., Pruitt, K. D. and Karsch-Mizrachi, I. 2019. Gen bank. Nucleic Acids Research, 47: 94-99.

Sherwal, B. L., Dhamija, R. K., Randhawa, V. S., Jais, M., Kaintura, A. and Kumar, M. 2004. A comparative study of typhidot and widal test in patients of typhoid fever. Journal Indian Acad. Clin. Med. Journal, 5: 244-6.

Shlaes, D. M. 2013. New β lactam, β lactamase inhibitor combinations in clinical development. Annals of the New York Academy of Sciences, 1277: 105-114.

Silver, L. L. 2011. Challenges of antibacterial discovery. Clinical Microbiology Reviews, 24: 71-109.

Silverman, M., Zieg, J., Hilmen, M. and Simon, M. 1979. Phase variation in *Salmonella* for genetic analysis of a recombinational switch. Proceedings of the National Academy of Sciences, 76: 391-395.

Soncini, R. A. 2011. Reducing risks of *Salmonella* infections in poultry. World Poultry-Doetinchem, 1: 16-21.

Takaya, A., Suzuki, M., Matsui, H., Tomoyasu, T., Sashinami, H., Nakane, A. and Yamamoto, T. 2003. Lon, a stress-induced ATP-dependent protease, is critically important for systemic *Salmonella* enterica serovar typhimurium infection of mice. Infection and Immunity, 71: 690-696.

Tan, S. L., Lee, H. Y., Bakar, F. A., Karim, M. A., Rukayadi, Y. and Mahyudin, N. A. 2013. Microbiological quality on food handlers' hands at primary schools in hulu langat district, Malaysia. International Food Research Journal, 20: 2973.

Tatusova, T. 2010. Genomic databases and resources at the national center for biotechnology information. Methods in Molecular Biology, 609: 17-44.

Tennant, S. M. and Levine, M. M. 2015. Live attenuated vaccines for invasive *Salmonella* infections. Vaccine, 33: C36-C41.

Van Hoek, A. H., Mevius, D., Guerra, B., Mullany, P., Roberts, A. P. and Aarts, H. J. 2011. Acquired antibiotic resistance genes. Frontiers in Microbiology, 2: 203-210.

Velazquez, E. M., Nguyen, H., Heasley, K. T., Saechao, C. H., Gil, L. M., Rogers, A. W. and Bäumler, A. J. 2019. Endogenous enterobacteriaceae underlie variation in susceptibility to *Salmonella* infection. Nature Microbiology, 4: 1057-1064.

Velge, P., Cloeckaert, A. and Barrow, P. 2005. The problems related to *Salmonella* enterica serotyp enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. Veterinary Research, 36: 267-288.

Wain, J. and Hosoglu, S. 2008. The laboratory diagnosis of enteric fever. The Journal of Infection in Developing Countries, 2: 421-425.

Wain, J., Hendriksen, R. S., Mikoleit, M. L., Keddy, K. H. and Ochiai, R. L. 2015. Typhoid fever. The Lancet, 385: 1136-1145.

Walsh, C. T., Chen, H., Keating, T. A., Hubbard, B. K., Losey, H. C., Luo, L. and Patel, H. M. 2001. Tailoring enzymes that modify nonribosomal peptides during and after chain elongation on NRPS assembly lines. Current Opinion in Chemical Biology, 5: 525-534.

Wang, H., Naghavi, M., Allen, C., Barber, R. M., Bhutta, Z. A., Carter, A. and Bell, M. L. 2016. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death. The Lancet, 388: 1459-1544.

Wang, L., Li, Y. and Mustapha, A. 2007. Rapid and simultaneous quantitation of Escherichia coli O157: H7, *Salmonella* , and shigella in ground beef by multiplex real-time PCR and immunomagnetic separation. Journal of Food Protection, 70: 1366-1372.

Waterman, S. R. and Holden, D. W. 2003. Functions and effectors of the *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system. Cellular Microbiology, 5: 501-511.

Willke, A., Ergonul, O. and Bayar, B. 2002. Widal test in diagnosis of typhoid fever in Turkey. Clinical and Vaccine Immunology, 9: 938-941.

Wong, M. H., Chan, E. W., Liu, L. Z. and Chen, S. 2014. PMQR genes oqxAB and aac (6′) Ib-cr accelerate the development of fluoroquinolone resistance in *Salmonella* Typhimurium. Frontiers in Microbiology, 5: 521-8.

Yu, T. W., Bai, L., Clade, D., Hoffmann, D., Toelzer, S., Trinh, K. Q. and Floss, H. G. 2002. The biosynthetic gene cluster of the maytansinoid antitumor agent ansamitocin from actinosynnema pretiosum. Proceedings of the National Academy of Sciences, 99: 7968-7973.

Zhou, L. and Pollard, A. J. 2010. A fast and highly sensitive blood culture PCR method for clinical detection of *Salmonella* enterica serovar typhi. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 9: 14-21.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Ahmed Talib ABDULADHEEM

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019-Halen
Lisans	Bağdat Üniversitesi Bilim Koleji Biyoloji Bölümü	2013-2017

Irak Sağlık Bakanlığı
ThiQarSağlık Dairesi
Eğitim ve İnsaniGelişmeMerkezi
Araştırma ve Bilgi Yönetimi Şubesi

Sayı : 142
Tarih : 28.07.2020

Al-Habubi Eğitim Hastanesi'ne
Konu / Görev kolaylaştırma

Çankırı Üniversitesi / Yüksek Lisans -Tıbbi Bilimler Enstitüsü / Türkiye'de Yüksek Lisans – Master öğrencisi (AhmedTalibAbduladheem) tarafından sunulan talebe istinaden,

Aşağıda yazılı araştırmasını yapmak üzere gerekli bilgileri almak amacıyla görevinin kolaylaştırılması hususunda bir sakıncamız yoktur.

(Phenotypic and genotypic characterized of campylobacter spp. Isolated from patient with diarrhea Thi-Qar)
(Thi-Qar bölgesindeki diyareli hastalardan izole edilen campylobacter spp.'nin fenotipik ve genotipik karakterizasyonu)

Departmanımız herhangi bir hukuki ve mali sorumluluk üstlenmeyecektir.
(0611728) numaralı 28.07.2020 tarihli makbuz gereği görev kolaylaştırma ücreti tahsil edilmiştir.

Bilgilerinize saygılarımızla,,

Dr. Murtaza Kazım Yaser (İMZA)
Eğitim ve İnsani Gelişme Şubesi Müdürü
28.07.2020
(RESMİ MÜHÜR)

(İ M Z A)
Bir sureti :-

- *Çankırı Üniversitesi / Yüksek Lisans Tıbbi Bilimler Enstitüsü - ÖğrenciAhmedTalibAbduladheem..saygılarımızla bilgilerinize,*
- *Eğitim ve İnsani Gelişme Bölümü / Araştırma ve Bilgi Yönetimi Şubesi... Evveliyatla birlikte,*

E-Mail: thiqarhealthtraining@yahoo.com

DÜNYA DİLLERİ TERCÜME
İÇ ve DIŞ TİCARET LTD.ŞTİ.
YEMİNLİ
Sakarya Cad. No:1/18 [illegible] ANKARA
Tel:(0312)434 22 28 Fax:(0312)434 73 28
Çankaya V.D. 322 002 7689

DÜNYA DİLLERİ TERCÜME BÜROSU
İşbu Çeviri ARAPÇA dilinden
TÜRKÇE'ye tarafımızdan ve
aslına sadık kalınarak çevrilmiştir.