

Salmonella Cinsi Bakterilerin Tespitinde Rappaport-Vassiliadis Zenginleştirici Besiyerinin Üç Farklı Formülünün Karşılaştırılması

Emir TAN

Yeni Yüzyıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Rappaport Vassiliadis zenginleştirici besiyerinin üç farklı çeşidinde (orijinal formüllü olanı [RV], temel katkı maddelerinden malaşit yeşili-oksalat miktarı azaltılmış, pH'sı yediye yükseltilmiş Chaiwat-Jatisatiennr modifikasyonu [RVJ] ve ticari hazır olanı [RVO]) Salmonella cinsi bakterilerin izolasyon oranlarını belirlemek ve Berlin/Almanya'da çeşitli süpermarket ve kasaplardan alınan besin maddelerinde Salmonella cinsi bakterileri araştırmak bu çalışmanın amacıdır.

Gereç ve Yöntem: Karşılaştırmalı bu çalışma, Salmonella bakterileri ile sıkça kontamine olduğu bilinen 300 besin maddesinde (domuz ve kümes hayvanları organları gibi) yapılmıştır. İncelenecek örnekler steril şartlarda küçük parçalara ayrılmış, 25 g örnek 225 ml % 1'lik peptonlu suda 37°C'de bir gece boyunca zenginleştirilmiştir. Daha sonra buradan 0.1 ml alınarak 10 ml'lik her üç farklı Rappaport-Vassiliadis besiyerine ekilmiştir. Besiyeleri 43°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra, sırasıyla brilliant yeşili-fenol kırmızısı-laktöz-sakkaroz-agar (BPLSA), malaşit yeşili-fenol kırmızısı-laktöz-sakkaroz-agar (MPLSA) ve mannit-liz-in-kristal viyole-brilliant yeşili agar (MLKBA) seçici besiyerlerine pasaj yapılmıştır. Katı besiyerleri 37°C'de bir gece inkübe edilmiş ve Salmonella olması olasılıkla kolonilerden Salmonella antiserumları ile aglütinasyon testi yapılarak tanımlama sağlanmıştır.

Bulgular: Örneklerin % 34'ünde, 18 farklı Salmonella serotipi izole edilmiştir. Rappaport-Vassiliadis'in üç farklı formülüne göre hazırlanan besiyerlerinde %29 (RV), %30 (RVJ) ve %28 (RVO) oranında izolasyon sağlanmıştır. Her üç RV besiyeri izolasyon oranları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Selektif katı besiyerlerindeki izolasyon oranları karşılaştırıldığında, RVO ve RVJ ile MLKBA kombinasyonu ve RVO ile BPLSA kombinasyonu en yüksek pozitif bulguları sağlamışlardır.

Sonuç: Rappaport-Vassiliadis'in üç farklı formülü arasında fark olmadığı ve MLKBA seçici agarın uluslararası standartlarda önerilen BPLSA besiyeriyle kıyaslanabilecek özellikte olduğunu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Salmonella cinsi, Rappaport-Vassiliadis zenginleştirici besiyeri

SUMMARY

Comparative Study of Salmonella Detection with Three Formulations of Salmonella Enrichment Media by Rappaport-Vassiliadis

Objective: The aim of this study was to compare three formulations of Rappaport-Vassiliadis enrichment media-the original formulation (RV), a modification (RVJ) by Chaiwat Jatisatiennr with change of the basic ingredients, reduction of the amount of malachite green oxalate and increase of the pH up to 7, a commercially prepared dried medium (RVO) and to search the food samples collected from supermarkets and butcher shops in Berlin/Germany.

Materials and Methods: For the comparative study, 300 food samples (such as organs from pigs and poultry), very often known to be contaminated with Salmonella-spp, were obtained from supermarkets and butcher shops in Berlin/Germany. After pre-enrichment of each 25 g-sample in 225 ml buffered peptone water overnight at 37°C, 0.1 ml of the preparation was transferred to 10 ml of the three RV formulations. These were then incubated for 48hrs at 43°C, thereafter the following ingredients were incubated on solid selective plating-out media: brilliant green phenol red lactose sucrose agar (BPLSA), malachite green phenol red lactose sucrose agar (MPLSA), and mannitol lysine crystal violet brilliant green agar (MLCBA). The solid media were incubated at 37°C overnight and then from suspect colonies-of salmonella spp. polyvalent salmonella antiserum were prepared, by slide agglutination tests to identify isolates.

Results: From more than 34% of the totally 300 samples 18 different Salmonella serotypes were isolated. The isolation rates of the three different formulations of Rappaport-Vassiliadis media were 29% for RV, 30% for RVJ and 28% for RVO. There was no relevant statistically significant difference between the three RVs. Comparing the isolation rates on the selective solid plating-out media, the highest relative incidence of positive findings appeared when using the combinations RVO and RVJ with MLCBA, and RVO with BPLSA.

Conclusion: Therefore, it was concluded that three formulations of Rappaport-Vassiliadis are not different from each other, and selective MLKBA agar has characteristics comparable with internationally recommended BPLSA culture media.

Key words: Salmonella genus, Rappaport-Vassiliadis enrichment media

Alındığı tarih: 24.04.2012

Kabul tarihi: 15.10.2012

Yazışma adresi: Emir Tan, Yeni Yüzyıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34010 Zeytinburnu/İstanbul

e-posta: E. Tan@gmx.net

GİRİŞ

Salmonella türlerinin insan ve hayvanlarda oluşturduğu hastalığa salmonelloz denilmekte ve halk sağlığı yönünden büyük önem taşımaktadır. Günümüzde 2600'den fazla serotipi olan *Salmonella*'lardan, özellikle *Salmonella* serotip Typhi, *Salmonella* serotip Paratyphi A, B veya C genellikle sistemik hastalıklara neden olurken, besinlere bağlı salmonellozlarda sıklıkla *Salmonella* serotip Typhimurium ve *Salmonella* serotip Enteritidis başta olmak üzere 20-30 civarında serotip etken olarak görülmektedir.

Yaşam koşulları yüksek olan ülkelerde tifo tarzında seyreden salmonella enfeksiyonları seyrek olmakla beraber, özellikle II. Dünya Savaşı'ndan sonra hayvanlardan, besin maddelerinden ve yemlerden *Salmonella* cinsi bakterilerin izole edilebilmesi nedeniyle, Avrupa Birliği ülkelerinde gözlem altında tutulması gereken sekiz mikroorganizmadan biri olmuştur (EU Zoonoses Monitoring Directive 2003/99/EG). Birçok ülkede olduğu gibi Almanya'da da bildirilmesi zorunlu hastalıklar listesinde bulunan *Salmonella* cinsi bakteriler, yılda yaklaşık 230.000 civarında gastrointestinal sistem enfeksiyonuna neden olmaktadır ⁽¹⁾.

Salmonella cinsi bakteriler için hayvanlar önemi rezervuarlar olmakla beraber, hayvanlarda hastalık belirtisi seyrek olarak görülmektedir. Başlıca bulaş kaynağı sığır, domuz, tavuk gibi et ve et ürünleri, meyve, sebze gibi gıda maddeleri, süt ve süt ürünleri, çığ ya da az pişmiş yumurta ve yumurta ile hazırlanan yiyecek maddeleri, çikolata ve kontamine sulardır ⁽¹⁻⁴⁾. Yetişkinler için enfeksiyon dozu 104-106'dır. Süt çocukları, küçük çocuklar ve yaşlılar yüksek derecede risk grubunu oluşturmakta ve bu grupta enfeksiyon dozu 100'ün altına kadar inebilmektedir. İnkübasyon süresi genellikle 6-72 saat olup, alınan enfeksiyon dozuna ve serotipe bağlı olarak çoğunlukla 12-36 saattir ⁽⁴⁾. *Salmonella* enteriti çoğunlukla karın ağrıları, kolera benzeri sulu ishal (nadiren kanlı), ateş ve kusma; bazen ise ağır, sistemik belirtiler ile seyreden septik artrit, kolesistit, endokardit, menenjit, perikardit, pnömoni, piyodermi, piyelonefrit, hatta ölüme neden olan tablolara şeklinde ortaya çıkmaktadır ^(2,4-6). Salmonelloza karşı mevcut rutin bir aşı bulunmamaktadır.

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) *Salmonella*'ların neden olduğu yaklaşık bir milyon tifo dışı bağırsak enfeksiyonu olgusundan, 20.000'inde hastane tedavisi gerekmekte ve yıllık 400 ölüm bildirilmektedir ⁽²⁾. Türkiye'den 2011 yılında ithal edilen çam fıstığını, ABD'deki beş eyaletteki süpermarketlerden alarak yiyen 39 kişi *Salmonella* serotip Enteritidis'in neden olduğu bağırsak enfeksiyonu nedeniyle hastalanmış ve ürün "Centers for Disease Control and Prevention" (CDC) tarafından piyasadan toplatılmıştır ^(2,3).

Ayrıca globalleşen dünyamızda sıklaşan yolculuklar ve yolculuk edenlerin farklı ülkelerde farklı hijyen koşullarında hazırlanan besinleri yemesi, "seyahat diyesi" tanımını da beraberinde getirmiştir. Bakteriyel nedenli seyahat diyarelerinde *Salmonella*'lar, enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC), *Camphylobacter*, *Shigella*, *Aeromonas* ve *Vibrio* (non-kolera) cinsleri ile birlikte en sık rastlanan etkenler olarak saptanmaktadır ⁽⁶⁻⁹⁾. Özellikle yolculuk edenlerde, ülkemiz, 110/100.000 oranı ile Bulgaristan'dan sonra *Salmonella* besin zehirlenmelerinin olduğu ikinci ülke olarak belirtilmiştir ⁽¹⁰⁻¹²⁾. Kılıç ve ark. ⁽¹³⁾, 2008 yılında Isparta'daki askeri merkezde 2469 kişinin şiddetli ishal ve karın ağrıları ile hastaneye başvurduğunu, bunlardan 445'inin hastanede tedavi edildiğini ve alınan dışkı örneklerinin 276'sında *Salmonella* serotip Enteritidis izole edildiğini bildirmiştir.

Bu çalışmada, halk sağlığı açısından büyük önem taşıyan *Salmonella* bakterileri, süper market ve kasaplarda satılan çeşitli et ürünlerinde araştırılmış ve Rappaport-Vassiliadis zenginleştirici besiyerinin üç farklı formülünün izolasyon oranları karşılaştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Berlin-Almanya'daki süpermarket ve kasaplardan alınan 56 domuz, 104 hindi, 43 tavuk ve 63 piliç organı (karaciğer, böbrek ve kalp), 32 tavşan eti ve bacağı ve 2 hayvan yemi olmak üzere toplam 300 örnekte, *Salmonella* cinsi bakteriler araştırılmıştır.

İncelenecek örnekler, steril şartlarda küçük parçalara ayrılmış ve 25 g örnek 225 ml % 1'lik peptonlu su (ph:7,2) içinde 37°C'de 18-24 saat tutularak ön zenginleştirilmesi yapılmıştır. Daha sonra her örnekten

0,1 ml olarak üç farklı formülde hazırlanmış ve steril 10 ml Rappaport-Vassiliadis zenginleştirici besiyerine ekilmiştir^(14,15). Rappaport-Vassiliadis zenginleştirici besiyerinin birincisi orijinal formüle (RV) göre hazırlanmış ve pH'sı beş olarak ayarlanmıştır. İkincisi (RVJ), Chaiwat Jatisatienr'a göre modifiye edilmiş olup (pH'sı 7), tripton yerine soya peptonu ve maya ekstraktı içermektedir⁽¹⁵⁾. Son olarak ise ticari hazır bir besiyeri (RVO; OXOID Code No CM 669) kullanılmıştır. Besiyeleri 43°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra bir öze alınarak üç ayrı (Brilliant yeşili-Fenol kırmızısı-Laktoz-Sakkaroz-Agar [BPLSA], Malaşit yeşili-Fenol kırmızısı-Laktoz-Sakkaroz Agar [MPLSA] ve Mannit-Lizin-Kristal Viyole-Brilliant yeşili Agar [MLKBA]) selektif besiyerlerine azaltma usulü ile ekilmiştir. Ekim plakları 37°C'de bir gece inkübe edilmiş ve *Salmonella* olması muhtemel kolonilerden *Salmonella* antiserumları (Almanya Berlin Ulusal *Salmonella* Referans Merkezi [Nationales Referenzlabor (NRL) zur Durchführung von Analysen und Tests auf Zoonosen]) ile aglütinasyon testi yapılarak tanımlama sağlanmıştır. Önce *Salmonella* polivalan OH serumu ile denenmiş, pozitif sonuç veren koloniler *Salmonella* monovalan O ve H serumları ile tanımlanmıştır.

Tablo 2. Örneklerden izole edilen *Salmonella* serotipleri.

<i>Salmonella</i> serotipi	Domuz organı	Hindi organı	Piliç organı	Tavuk organı	Tavşan et ve bacağı	Hayvan yemi	Toplam
Braenderup		1	1		1		3
Caen					1		1
Dublin	1					1	2
Enteritidis		1	1				2
Gaminara					2		2
Glostrup					3		3
Hadar			3				3
Heidelberg		1			1		2
Heidelberg var.05-negatif		1	1	5	1		8
Indiana			3	1			4
Infantis		2	2	2	1		7
Manhattan			1				1
Muenchen				1			1
Saint-Paul		2		1	1		4
Saint-Paul var.05-negatif		6	3	1			10
Thompson		1	3	3			7
Typhimurium	4	1	5	3	3		16
Typhimurium var. Copenhagen			4	5			9
Virchow		2	2	9			13
9,12:1,v: -(subs.I)	1						1
Arizona IIIa 18:z4, z32: -		1		1			2
O-form, serogrup B, subs.I		1					1
R-form, subs.I			1				1
Toplam üreme (%)	6 (11)	20 (19)	30 (70)	32 (51)	14 (44)	1 (50)	103 (34)
Toplam örnek sayısı	56	104	43	63	32	2	300

BULGULAR

Araştırma sonucunda toplam 300 örneğin %34'ünde *Salmonella* cinsi bakteriler izole edilmiştir.

Salmonella bakterisi izole edilme oranı Tablo 1'de görüldüğü gibi domuz organları örneklerinde %11, hindi örneklerinde %19, tavuk örneklerinde %70, piliçlerde %51, tavşan bacağı örneklerinde %44 olarak saptanmıştır. İncelenen iki hayvan yemi örneğinden yalnızca birinde üreme olmuştur.

Tablo 1. İncelenen örneklerden izole edilen *Salmonella* bakterilerinin oranı.

Örnekler	%
Domuz organları (toplam 56 örnek)	11
Hindi ve organları (toplam 104 örnek)	19
Tavuk ve organları (toplam 43 örnek)	70
Piliç ve organları (toplam 63 örnek)	51
Tavşan eti ve bacağı (toplam 32 örnek)	44
Hayvan yemleri (toplam 2 örnek)	50

İncelenen 300 örnekten toplam 103 tane 18 farklı *Salmonella* serotipi izole edilmiştir. *Salmonella* serotip Typhimurium suşları %16 ile ilk sırada yer alırken, bunu %13 ile *Salmonella* serotip Virchow, %10 ile *Salmonella* serotip Saint paul var. 05-negatif takip etmiştir. Bu üç *Salmonella* serotipi izole edilen tüm suşların %39'unu oluşturmaktadır (Tablo 2).

Tablo 3. Farklı örneklerden izole edilen *Salmonella* izolatlarının üç farklı Rappaport-Vassiliadis besiyeri formülünde ve üç farklı selektif katı besiyerinde karşılaştırması.

			RV				RVJ				RVO			
	Örnek sayısı	Pozitif örnek	BPLSA	MPLSA	MLKBA	Toplam*	BPLSA	MPLSA	MLKBA	Toplam*	BPLSA	MPLSA	MLKBA	Toplam*
Domuz organı	56	6	3	5	5	5	2	3	5	5	5	5	5	5
Hindi organı	104	20	17	16	15	17	14	14	15	16	15	13	14	15
Tavuk organı	43	30	22	22	25	25	23	25	28	28	25	24	28	28
Piliç organı	63	32	24	25	23	29	24	25	26	30	27	25	26	26
Tavşan eti	32	14	11	9	7	11	7	8	11	11	8	8	11	11
Hayvan yemi	2	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Toplam	300	103	77	78	75	88	70	75	85	90	80	75	84	85
Pozitif örneklerdeki %			%75	%76	%73	%85	%68	%73	%83	%87	%78	%73	%82	%83
Tüm örneklerdeki %			%26	%26	%25	%29	%23	%25	%28	%30	%27	%25	%28	%28

*Henhangi bir seçici agarda üremeyen suş sayısı

Rappaport-Vassiliadis'in üç farklı formülündeki izolasyon oranları RV'de %29 (*Salmonella* bakterisi izole edilenler içinde %85), RVJ Jatisatier'de %30 (*Salmonella* bakterisi izole edilenler içinde %87) ve RV Oxoid'de %28 (*Salmonella* bakterisi izole edilenler içinde %83) olarak görülmektedir. Her üç besiyerinde elde edilen oranlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. RV'in üç formülasyonu ile selektif katı besiyerlerindeki izolasyon oranları karşılaştırıldığında; RV ile en iyi sonuç MPLSA'da (%76), RVJ ile en iyi sonuç MLKBA'da (%83) ve RVO ile en iyi sonuç MLKBA'da (%82) alınmıştır. MLKBA'nın uluslararası standartlarda önerilen BPLSA besiyeriyle kıyaslanabilecek özellikte olduğunu görülmektedir (Tablo 3).

TARTIŞMA

Vassiliadis ve ark. (15) ilk olarak 1976'da Rappaport'un *Salmonella*'lar için MgCl₂ malaşit yeşili zenginleştirme besiyerine iki önemli modifikasyon getirdiklerinden beri diğer birçok araştırmacı besiyerinin dinamik ve kinetiğini araştırmış ve ek modifikasyonlar içeren besiyerlerinin verimliliğini karşılaştırmıştır. Bu ve buna benzer çalışmalar RV besiyerinin *Salmonella*'lar için (*Salmonella* serotip Typhi hariç) geleneksel zenginleştirme besiyerleri olan tetrasyonat ve selenit besiyerlerinden üstünlüğünü göstermiştir (15-19).

Bir çalışmada toplam 286 et ürününden (kıyma ve tavuk organları) 39 (%13,6) *Salmonella* bakterisi izole edilmiştir. Selektif zenginleştirmede örnekler tetrasyonatlı novobiosin içeren Müller-Kaufmann (MKTTn) ile Rappaport-Vassiliadis soya unlu pepton buyyonuna (RVS) ve katı besiyeri olarak ksiloz-lizin-deoksikolat agar (XLD) besiyerine ekilmiştir. Ayrıca

RVS ve Selenit-Sistin (SC) besiyerleri ve katı besiyeri olarak BPLSA besiyerlerine de ekilerek sonuçları karşılaştırılmışlar, *Salmonella* cinsi bakterilerin bu besiyerlerinde saptanma oranları %97,4 ile RVS, bunu %94,9 ile MKTTn izlemiş, %38,5 ile SC son sırayı almıştır (20).

Ribeiro ve ark. (21) 61 tavuk organını (kanat, tüm vücut, sırt ve göğüs etleri) üç farklı yöntem ile araştırmış ve klasik mikrobiyolojik yöntemde örneklerin %41'inde, immünomagnetik ayrıştırma (IMS) yönteminde örneklerin %15'inde ve IMS ile Rappaport-Vassiliadis buyyonu kombinasyonunda örneklerin %49'unda *Salmonella* bakterilerini izole etmiştir.

Josefsen ve ark. (22) *Salmonella* serotip Typhmuriun, *Salmonella* serotip Enteritidis ve *Salmonella* serotip Dublin ile yapay olarak inoküle edilmiş 50 domuz ve 50 tavuk kıyması örnekleri ile yaptıkları çalışmada, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile besin maddelerinde özellikle 12 saat gibi kısa bir süre sonunda *Salmonella* bakterilerini saptama yöntemini geliştirerek klasik yöntemlere göre sürenin kılmasını ve aynı zamanda da bu tetkiklerin rutin laboratuvar koşullarında ekonomik olarak yapılabilmesini ve optimizasyonun sağlanabileceğini belirtmiştir.

Love ve ark. (23) 46 domuz dışkılarından izole edilen *Salmonella* serotip Enterica ve 56 negatif örnekler ile beş farklı kültür yöntemini karşılaştırmış ve %80 ile en yüksek duyarlılık tetrasyonat ilave edilen ksiloz-lizin-tergitol-4 (XLT4)'de saptanmıştır.

Koyuncu ve Haggblom (24) yaptıkları çalışmada, beş farklı hayvan yemini İsveç Ulusal Veteriner Enstitüsü Kültür Koleksiyonları'ndan temin edilen *Salmonella*

serotip Typhimurium ST115506, *Salmonella* serotip Cubana ST58403 ve *Salmonella* serotip Yoruba ST45506 suşları ile deneysel olarak kontamine etmiş ve modifiye yarı katı Rappaport Vassiliadis, Uluslararası Standard yöntem (EN ISO 6579:2002) ve kuzey ülkeleri standart yöntemi NMLKL71 ile karşılaştırdıklarında, her üç yöntemle elde edilen sonuçların doğruluk ve duyarlılık (%65 ve %56) ve izolasyon düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık göstermediğini gözlemlemiştir.

Yapılan bu araştırma sonucunda toplam 300 örneğin % 34'ünden 18 farklı *Salmonella* serotipi izole edilmiştir. İzole edilen *Salmonella* oranı diğer çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. MLKBA'nın uluslararası standartlarda önerilen BPLSA kadar etkinlikte bir besiyeri olduğu görülmüş ve izolasyonunda kullanılan zenginleştirici besiyerlerine ait veriler oluşturulmuştur.

KAYNAKLAR

1. Robert Koch Institut (RKI). Veröffentlichung der meldedaten gemass Ifsg. Aktuelle statistik meldepflichtiger infektionskrankheiten. *Deutschland Epid Bull* 2012; 50:508-10.
2. Food poisoning outbreaks and litigations online. 2012 [http://www.foodpoisonjournal.com/salmonella/]
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Salmonellosis. Multistate outbreak of human *Salmonella* serotype Enteritidis infections linked to Turkish pine Nuts. 2011 [http://www.cdc.gov/salmonella/pinenuts-enteritidis/]
4. Robert Koch Institut (RKI). Ratgeber fuer aerzte-salmonellose. 2011. [http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Salmonellose.html]
5. Trevejo RT, Courtney JG, Starr M, Vugia DJ. Epidemiology of salmonellosis in California 1990-1999: morbidity, mortality and hospitalization costs. *Am J Epidemiol* 2003; 157:48-57. http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwf155 PMID:12505890
6. Voetsch AC, van Gilder TJ, Angulo FJ, et al. FoodNet estimate of the burden of illness caused by nontyphoidal salmonella infections in the United States. *CID* 2004; 38(Suppl 3): S127-34. http://dx.doi.org/10.1086/381578 PMID:15095181
7. Yates J. Traveler's diarrhea. *Am Fam Physician* 2005; 71:2095-100. PMID:15952437
8. Jiang ZD, Lowe B, Verenkar MP, et al. Prevalence of enteric pathogens among international travelers with diarrhea acquired in Kenya (Mombasa), India (Goa) or Jamaica (Montego Bay). *J Infect Dis* 2002; 185:497-502. http://dx.doi.org/10.1086/338834 PMID:11865402
9. Adak GK, Long SM, O'Brien SJ. Trends in indigenous foodborne disease and deaths, England and Wales 1992-2000. *Gut* 2002; 51:832-41. http://dx.doi.org/10.1136/gut.51.6.832 PMID:12427786 PMCid:PMC1773489
10. De Jong B, Ekdahl K. The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries. *BMC Public Health* 2006; 6:4. http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-6-4 PMID:16403230 PMCid:PMC1352352
11. Maire B. Doppelinfektion mit *Salmonella* Typhimurium und *Cryptosporidium* nach Türkeiurlaub. *Grundlagen Der Mikrobiologie* 2007; 10:101-4.
12. Kasper SS, Fretz R, Kornschober C, Allerberger F, Schmid D. Imported salmonella enteritidis cases: a multiphase outbreak among Austrian vacationers in Turkey. *Wien Klin Wochenschr* 2009; 121:144-8. http://dx.doi.org/10.1007/s00508-008-1136-9 PMID:19280141
13. Kılıc A, Bedir O, Kocak N, et al. Analysis of an outbreak of *Salmonella* serotype Enteritidis by repetitive sequence based PCR and pulsed-field gel electrophoresis. *Intern Med* 2010; 49:31-6. http://dx.doi.org/10.2169/internalmedicine.49.2743 PMID:20045998
14. Jatisatien CH. Der nachweis von Salmonellen in milchprodukten als teil der betriebsinternen produktionskontrollle. Techn Univ Muenchen, Fak Landwirtschaft u. Gartenbau, Diss, 1985.
15. Vassiliadis P, Mavrommati CH, Kalapothaki V, Chronas G, Efstratiou M. Salmonella isolation with Rappaport-Vassiliadis enrichment medium seeded with different sized inocula of pre-enrichment cultures of meat products and sewage pollutad water. *J Hyg (Lond)* 1985; 95:139-47. http://dx.doi.org/10.1017/S0022172400062379 PMID:4020107 PMCid:PMC2129496
16. Vassiliadis P. A note on the stability of Rappaport-Vassiliadis enrichment medium. *J Appl Bacteriol* 1985; 59:143-5. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.1985.tb03313.x PMID:4044451
17. Van Schothorst M, Renaud AM. Dynamics of *Salmonella* isolation with modified Rappaport's medium (R10). *J Appl Bact* 1983; 54:209-15. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.1983.tb02609.x
18. Pietzsch O. Salmonellen in Futtermitteln. *Zbl Vet Med* 1984; 31:343-57. http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0450.1984.tb01312.x
19. Quail E, McGibbon L, Fricker CR. A study of the relative efficiencies of three commercially available dehydrated Rappaport-Vassiliadis media. *J Hyg (Lond)* 1986; 96:425-9. http://dx.doi.org/10.1017/S0022172400066195 PMID:3734428 PMCid:PMC2129704
20. Schönenbrücher V, Mallinson ET, Bulte M. A comparison of standard cultural methods for the detection of foodborne *Salmonella* species including three new chromogenic plating media. *Int J Food Microbiol* 2008; 123:61-6. http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.064 PMID:18192050
21. Ribeiro AR, do Nascimento VP, Cardoso MO, dos Santos LR, da Silveira Rocha SL. Utilization of immunomagnetic separation for detection of *Salmonella* in raw broiler. *Braz J Microb* 2002; 33:339-41. http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822002000400012
22. Josefson MH, Krause M, Hansen F, Hoorfar J. Optimization of a 12-Hour TaqMan PCR-based method for detection of *Salmonella* bacteria in meat. *Appl Environmental Microbiol* 2007; 73:3040-8. http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02823-06 PMID:17351094 PMCid:PMC1892850
23. Love BC, Rostagno MH. Comparison of five culture methods for *Salmonella* isolation from swine fecal samples of known infection status. *J Vet Diagn Invest* 2008; 20:620-4. http://dx.doi.org/10.1177/104063870802000514 PMID:18776096
24. Koyuncu S, Haggblom P. A comparative study of cultural methods for the detection of *Salmonella* in feed and feed ingredients. *BMC Vet Res* 2009; 5-6.