

## TAVUK TİFOSU'NUN AGAR - JEL DİFFUZYON TESTİ İLE TEŞHİSİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR\*

Nedret AYDIN\*\*

### GİRİŞ ve LİTERATÜR BİLGİSİ

*Salmonella gallinarum*, kanatlı hayvanlarda septisemik seyreden tavuk tifosu (*Typhus gallinarum*) adı verilen hastalığın etkenidir.

Bu hastalık parakut, akut, subakut ve kronik olarak seyrederek ve kronik olaylarda hastalık aylarca sürebilir.

Tavuk tifosu bütün dünyada olduğu gibi Türkiye'de de büyük ekonomik kayıplara ve hayvanlar arasında yüksek oranda ölümlere neden olarak tavukçuluğumuzun gelişmesini önleyebilecek nitelikte görülmektedir. Bu bakımdan hastalığın serolojik metotlarla teşhisi yönüne gidilerek kontrol altına alınması önem taşımaktadır. Son yıllarda *Salmonella gallinarum*'la hazırlanan aşılar hastalıkla mücadelede tavsiye edilmektedir. Ancak bu gibi yerlerde yine serolojik yöntemlerle portör ayıklanmasının yapılması gerekmektedir (3, 4, 5, 11).

*Salmonella gallinarum* antijenik yapısı bakımından pullorum hastalığının etkenine büyük bir yakınlık gösterir (4,5). Morfolojik ve kültürel özellikleri bakımından *Salmonella* grubunun bütün özelliklerini taşır. *Salmonella gallinarum* Gr. (—), sporsuz ve kapülsüz bir mikroorganizmadır. Hareketsiz bir bakteri olduğu için H antijeni de yoktur. Besi yerlerinde, *Salmonella pullorum*'a göre daha kolay ve bol olarak ürer. *Salmonellalar* için teşhis amacıyla kullanılan zenginleştirme ve selektif besi yerlerinde bu mikroorganizma da kolaylıkla üreme yeteneğine sahiptir (1, 4, 5, 17).

\* Uzmanlık tezinden özetlenmiştir.

\*\* Uzman Veteriner Hekim, Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Antibiyogram ve Disk Üretim Laboratuvarı, ANKARA

Salmonella gallinarum 37°C de üreyebildiği gibi 43°C de de çoğalmakta ve bu derecede Proteus nevierinden ileri gelen bulaşmalar ziyadesiyle inhibe edilmektedir (7,17). Etken glycose, dulcitol, maltose, rhamnose, trehalose ve xylose gibi karbonhidratları gaz yapmadan asite çevirerek fermente etmektedir. Dulcitol ve maltose gibi karbonhidratlara etkisi ve gaz teşkil etmesi yönünden Salmonella pullorum'dan ayrılmaktadır. İndol reaksiyonu negatif olup Metil red reaksiyonu pozitifdir. Kurşun asetatlı kağıdı H<sub>2</sub>S meydana getirerek siyahlaştırmaktadır. Salmonella gallinarum turnusollü sütü çok çabuk asite çevirerek sonradan yavaş, yavaş alkali yapar (4,5,6,9,12,17,18).

Salmonella gallinarum'un yalnız «0» somat antijeni mevcuttur. Bu mikroorganizma Kauffman — White şemasında D grubundadır. Serolojik özelliği bakımından pullorum standart suşlarına benzerlik göstermekte ve 1, 9, 12 somat antijen faktörlerini taşımaktadır. (4, 5, 6, 9).

Typhus gallinarum'un kesin teşhisinde her zaman klinik ve otopsi bulguları yeterli olmamaktadır. Bunun için kati teşhis bakteriyolojik ve serolojik metodlarla uygulanmaktadır. Hastalığın teşhisinde ve portör ayıklanmasında en çok baş vurulan yöntem serolojik metodlardır. Özellikle kan ile yapılan çabuk agglutinasyon alan taramalarında oldukça yarar sağlamaktadır. Deneysel ve laboratuvar koşullarında kullanılan serolojik testler öncelik önemine göre sırasıyla agglutinasyon, hemagglutinasyon, antiglobulin hemagglutinasyon testleridir. (4,5,9,13). Araştırmacılar, indirek hemagglutinasyon testini tavuk salmonellosis'inin teşhisinde denemişler ve olumlu sonuçlar aldıklarını bildirmişlerdir. Çalışmada, indirek hemagglutinasyon testi ile bakteriyel agglutinasyon testi mukayese edilmiş ve bu testin agglutinasyon testinden daha duyarlı olduğu ortaya koyulmuştur (14). Japon araştırmacılar, yaptıkları bir çalışmada pullorum hastalığının teşhisinde agar-jel diffüzyon testini denemişler ve olumlu sonuçlar aldıklarını bildirmişlerdir (2).

Agar - jel prepitasyon testi son yıllarda çeşitli hastalıkların teşhisinde oldukça çok kullanılan serolojik bir reaksiyon olarak dikkati çekmektedir. Test, gerek viruslar gerekse bakteriyel enfeksiyonların teşhisinde standardize edilerek kullanılmaktadır. Vasatın hazırlanışı, inkubasyon sıcaklığı ve içine katılacak

diğer kimyasal maddelerin ayarlanması gibi hususlar denene rek testin standardizasyonu yapılmıştır (8,10,15).

Bu çalışmada, lâm ve tüp agglutinasyon testleri yanında özellikle agar - jel diffüzyon testi üzerinde durulmuş ve alınan sonuçlar karşılaştırılmıştır.

## METERYAL ve METOD

**Suşlar** : 1 — Salmonella gallinarum (36 S) suşu. 2 — Etlik Veteriner Bakteriyoloji ve Araştırma Enstitüsünden temin edilen S. gallinarum suşu. Her iki suşun denemeden önce karakterleri saptandı ve tavuk pasajları yapıldı.

**Besi Yerleri** : 1 — Kollooidal sülfürlü agar : Bu vasat anti jen hazırlanmasında kullanıldı. 2 — Buyyon 3 — Kanlı agar hazırlanarak kullanıldı. (16,17)

**Biyosimik Testler** : İndol, MR. H<sub>2</sub>S, Karbonhidrat fermentasyonları (glukoz, laktöz sakkaroz, maltoz, dulsit, galaktoz) incelendi (8,9).

**Serolojik testler ve diğer gözlemler** : Hereket muayenesi, boyama, lâm ve tüp agglutinasyonu ile agar — jel diffüzyon testleri genel metodlara göre uygulandı (28).

**Serumlar** : Pozitif tavuk serumu tabii olarak veya suni olarak infekte edilen tavuklardan sağlandı. Denemelerde kürsüye ait stok pozitif serumlardan 7 adet kullanıldı. Bunlara ilaveten alan çalışmalarında 132 tavuğun kanları ile çabuk agglutinasyon ve bunların serumları ile de tüp agglutinasyon ve agar — jel diffüzyon testleri uygulandı. Ayrıca Askeri Biyoloji Enstitüsünden grup spesifik (A,B,C,D) Salmonella serumları, kürsü çalışmalarında kullanılan 3 adet spesifik E.coli antiserumları ve Refik Saydam Enstitüsünden temin edilen 3 adet Salmonella "0,, antiserumları da non spesifik reaksiyonların araştırılmasında denendi.

**Antijen hazırlanması** : Buyyonda üretilen 48 saatlik S. gallinarum (36 S) suşundan Kolloidal sülfür vasatına ekim yapıldı. Bir hafta 37°C etüvde bırakıldıktan sonra %05 formollü tuzlu su

içerisinde üreyen organizmalar toplandı. Toplanan emülsiyonlar biraraya getirildi ve fizyolojik tuzlu su ile 3 defa yıkandı. Dipdeki tortu sulandırılmak suretiyle deneme ve testlerde kullanıldı (16).

**Agar — Jel Diffüzyon Testi için Antijen Hazırlanması :** Yukarıda elde edilen tortudan %05 fenollü fizyolojik su ile kesif bir emülsiyon yapıldı. Ultrasonik vibratörde 15 dakika mikroorganizmanın parçalanması sağlandı (15). Parçalanmış olan antijenler toplandı ve bir erlenmayere konularak denemelerde kullanılmak üzere buzdolabında saklandı. Ayrıca antijenin bir kısmı 65°C de 1 saat müddetle ısıtılmak ve bir kısmı da deep frezde 10 gün müddetle dondurulup çözündürülmek suretiyle hazırlandı ve denemelerde kullanıldı.

**İmmun Serumların Hazırlanması :** Hazırlanan antijen Mc Ferland 1 in 50 katı yoğunlukta sulandırıldıktan sonra 3 adet genç tavşanın kulak venasına artan dozlar halinde verildi. İnokulasyonlar birinci hafta 0.2 cc. iki defa, ikinci hafta 0.4 cc. iki defa, üçüncü hafta 0.5 cc. iki defa, dördüncü hafta 0.75 cc. iki defa, beşinci, altıncı ve yedinci haftalar 1 cc. miktarında olmak üzere ikişer defa tatbik edildi. Son inokulasyondan bir hafta sonra hayvanlar bir gece aç bıraktıktan sonra kanları alınarak serumları alındı. - 20°C de saklanarak denemelerde kullanıldı. Agar-Jel diffüzyon testinde serumların titrağı (1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64) yapılarak en iyi sulandırmanın 1/1 ve 1/2 olduğu tespit edildi.

**7 — Agar - Jel Diffüzyon Testi İçin Kullanılan Agar Ortamının Hazırlanması :** Tuz oranı değişik protamin sulfatlı, metil oranj katılmış ortam hazırlandı. Tavşan serumları için % 09, tavuk serumları için ise tuz oranı % 5 olan ortam uygun bulundu. Hazırlanan ortam + 4°C de buz dolabında saklandı (2).

**Agar - Jel Diffüzyon Testi :** Ortam 4.5 cm çapındaki küçük petri kutularının tabanını örtecek (2 mm) miktarda döküldü. Dökülen agar üzerine standart genişlik ve yükseklikteki (7 mm yükseklik, 2 mm çapında) porselen çubuklar eşit aralıklarla (4 - 5 mm kadar) biri ortada diğerleri kenarda olmak üzere yerleştirildi. Bir petride biri ortada diğerleri etrafta olmak üzere 5 adet delik açıldı. Agar döküldükten sonra porselen çubuklar bir pens yardımıyla çekilip alındı. Böyle açılan deliklerden or-

tadakine antijen etraftakilere ise Pasteur pipetiyle serumlar konularak denendi. Petriler 1 saat oda derecesinde bekletildikten sonra eksilen miktarlar tekrar tamamlandı.

Testler değişik ısı derecelerinde tekrarlandı ve reaksiyon değişik zaman aralıklarında okundu Petriler + 4°C, oda derecesi (22°C) ve 37°C lik etüvde bırakıldıktan sonra 24, 48 inci saatlerde reaksiyonlar incelendi.

## SONUÇLAR

**Tavşanlarda Hazırlanan İmmun Serumlarla Yapılan Denemelerde Alınan Sonuçlar :** İmmunizasyon sonucu kesilen 3 tavşanın serumu, tuz oranı değişik kolan protamin sulfatlı ortamda denendi. Tuz oranı % 0.9 olan ortamda 48 saat içinde 37°C de belirgin olarak bir presipitasyon çizgisinin oluştuğu görüldü. (Resim - 1). Negatif serum kontrolü olarak deliklerden birine normal tavşan serumu konuldu. Bu serumlarla aynı zamanda lâm ve tüp agglutinasyon testleri yapıldı. Tüp aglutinasyonunda titre 1/800 olarak saptandı (Tablo - 1).

### Tavuk Serumlarından Alınan Sonuçlar :

A — Kürsüde deneysel olarak Salmonella gallinarum ile infekte edilen bir adet tavuğun serumu ile lâm ve tüp agglutinasyon testleri ve agar-jel diffuzyon testi uygulandı. 8 no verilen bu serum her 3 testte de olumlu sonuç vermiştir (Tablo - II). Agar-Jel diffuzyonda % 5 sodyum klorür ihtiva eden protamin sulfatlı ortamın en iyi sonucu verdiği saptanmıştır.

B — Denemeler, aynı şekilde doğal infeksiyonlu hayvanlardan elde edilen kürsü stok serumları ile de yapıldı. Lâm ve tüp agglutinasyonu ile % 5 tuzlu agar-jel diffuzyon testine tabi tutulan 7 adet doğal infeksiyonlu tavuk serumunun hepsi de olumlu sonuç vermiştir (Tablo-II, Resim 2). Agar-jel diffuzyon testinde 37°C de 48 saat içinde belirgin olarak presipitasyon çizgileri oluşmuştur. Testlerde negatif serum kontrolü için normal tavuk, tavşan ve sığır serumları kullanılmıştır.

C — Alan denemelerinde, değişik kaynaklı 132 tavuktan alınan kan serumları ile lâm ve tüp agglutinasyon testi ile % 5 tuzlu ortamda agar-jel diffuzyon testi uygulandı. Bunlardan agglutinasyonla 36 serum pozitif bulunmuş olup, 41 serum ise agar-jel difufzyon testinde pozitif reaksiyon vermiştir. Her iki

testte de aynı serumlar olumlu reaksiyon vermiştir. Fakat agglutinasyon testi ile şüpheli reaksiyon veren 17 serumla, 5 menfi serum agar-jel diffuzyon testinde olumlu reaksiyon vermiştir. (Resim-3). Alan çalışmalarında serumlar 1 den 132 ye kadar numaralandırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; lām agglutinasyonunda 1, 5, 15, 18, 20, 68, 72, 75, 80, 83, 88, 91, 98, 104, 116 ve 125 no'lu serumlar şüpheli; 6, 7, 9, 10, 66, 70, 82, 85, 94, 109, 113 ve 123 no'lu serumlar hafif reaksiyon (++) ; 13, 16, 78, 96, 101 ve 119 no'lu serumlar kuvvetli reaksiyon (+++) vermiş olup diğer serumlar (96 adet) negatif bulunmuşlardır. Tüp agglutinasyon testinde; 1, 5, 10, 15, 18, 20, 68, 72, 75, 80, 82, 83, 88, 91, 92, 98, 104, 113, 116, 119 ve 125 no'lu serumlar 1/25; 6, 7, 13, 16, 66, 70, 74, 78, 85, 91, 96, 101, 109 ve 123 no'lu serumlar 1/50 titrede reaksiyon vermişlerdir. Agar-jel diffuzyon testinde ise; 72 saat sonunda 72, 80 ve 116 no'lu serumlar hafif reaksiyon (++), 5, 7, 15, 16, 18, 20, 22, 24, 70, 74, 75, 82, 83, 88, 91, 94, 96, 104, 109, 113, 121 ve 123 no'lu serumlar kuvvetli reaksiyon (+++) ve 1, 3, 6, 9, 10, 13, 23, 66, 68, 78, 85, 92, 98, 101, 119 ve 125 no'lu serumlar çok kuvvetli reaksiyon (++++) göstermişlerdir. Diğer serumlar ise (91 adet) negatif bulunmuştur.

Görülüyor ki agglutinasyonla kati olarak teşhis edilemeyen bazı vak'alar agar-jel diffuzyon testi ile açıklık kazanmaktadır. Böylece doğal enfeksiyonlu hayvanların taranmasında bu testin daha güvenilir olacağı ortaya çıkmaktadır.

**Nonspesifik Reaksiyonların Araştırılması** Sonuçlara göre agglutinasyon testiyle negatif sonuç veren serumlar agar-jel diffuzyon testinde pozitif reaksiyon vermiştir. Böylece bazı serumların uygulanan testlerle verdiği sonuçlara bakılarak nonspesifik bir reaksiyonun olup olmadığı araştırıldı. Bu amaçla :

A — Refik Saydam Enstitüsünün 3 adet Salmonella «0» anti serumu temin edildi. Bu serumlarla yapılan agar-jel diffuzyon testinde S. typhi antiserumu ile antijen arasında 48 saatte hafif bir presipitasyon çizgisinin oluştuğu görüldü. Kontrol olarak denenen üç nolu kürsü stok müspet tavuk serumu 56 saatte kuvvetli bir presipitasyon çizgisi oluşturmuştur.

B — Kürsü araştırmalarında kullanılmak üzere temin edilen 3 adet E. coli antiserumları ile (Bacto E. coli antiserum - Bacto E. coli OB antiserum ve Bacto E. coli 0 - 15 antiserum) yapılan agar-jel diffuzyon testlerinde antijen ile bu serumlar

arasında hiç bir reaksiyonun oluşumuna rastlanmadı.

C — Askeri Biyoloji Enstitüsünden alınan liyofilize edilmiş grup spesifik Salmonella serumları (a - Salmonella O, antiserum grup D, faktör 1, 9, 12 b - Salmonella O, antiserum grup C, faktör 6, 7 c - Salmonella O antiserum, grup A, faktör 2, d - Salmonella O antiserum grup B faktör 4, 5) ile agar-jel diffuzyon testi uygulanmış A, B, C, grup antiserumlar hiç bir reaksiyon vermemesine karşın D grup antiserum ile antijen arasında 48 saat içinde hafif bir presipitasyon çizgisinin oluştuğu saptandı.

D — Diğer taraftan agar - jel diffuzyon denemelerinde petri kutularının ortasındaki deliğe antijen etraftaki deliklere ise sırasıyla pozitif serum, negatif serum, buyyon ve fizyolojik tuzlu su konularak test uygulandı. 24 - 48 saat sonra pozitif serum ile antijen arasında kuvvetli bir presipitasyon çizgisi oluştuğu halde buyyon, fizyolojik tuzlu su ve negatif serum arasında hiç bir reaksiyon görülmemiştir. Yine petri kutusundaki deliklerden ortadakine negatif serum etraftakilere ise sırasıyla pozitif serum, antijen, buyyon ve fizyolojik tuzlu su konuldu. 24 - 48 saat sonra kontrol edildiğinde antijen ile pozitif serum arasında hafif bir presipitasyon çizgisi oluştuğu görüldü. Reaksiyonun hafif olması iki delik arasındaki uzaklığın fazla olmasına bağlandı. 48 ve 72 nci saatlerde teşekkül eden presipitasyon çizgisinin belirgin olarak oluştuğu görüldü.

E — Gerek pozitif gerekse negatif serumlar 58°C de 30 dakika müddetle inaktive edilerek testlerde kullanılmış fakat aynı sonuçları verdikleri saptanmıştır.

F — Kürsüye muayene için getirilen serumlar çabuk kan aglutinasyonu ile pozitif reaksiyon veren 4 tavuğun otopsişi yapılmış ve etken izole edilmiştir. Bu tavukların serumları agar-jel diffuzyon testi ile de pozitif reaksiyon vermiştir. Bu serumlar 96, 109, 119 ve 123 numaralı serumlarıdır.

Ayrıca kürsüde deneysel olarak infekte edilen bir tavuktan etken izole edilmiştir.

Bu sonuçlara göre; agar-jel diffuzyon testinin Salmonella gallinarum'un teşhisinde kati sonuç vereceği kanısı edinilmekte ve daha pratik olan çabuk agglutinasyon testine göre iyi çalıştığı görülmektedir.

**TABLO I**  
**İMMUN TAVŞAN SERUMLARINDAN ALINMIŞ SONUÇLAR**

Serum No.	AGGLUTİNASYON		AGAR-JEL DİFFUZYON TESTİ		ORTAMDAKİ TUZ ORANI			
	Lâm	Tüp	24 saat	48 saat	% 09	% 2,5	% 5	% 7,5
1	++++	1/800	++++	++++	+	--	—	—
2	++++	1/800	++++	++++	+	—	—	—
3	++++	1/800	+++	++++	+	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—	—

Not :

(+) Çok hafif reaksiyon (++) Hafif reaksiyon (+++) Kuvvetli reaksiyon (++++) çok kuvvetli reaksiyon (—) Negatif reaksiyon

4 : Normal tavşan serumu.

**TABLO II**  
**KÜRSÜ STOK TAVUK SERUMLARINDAN ALINAN SONUÇLAR**

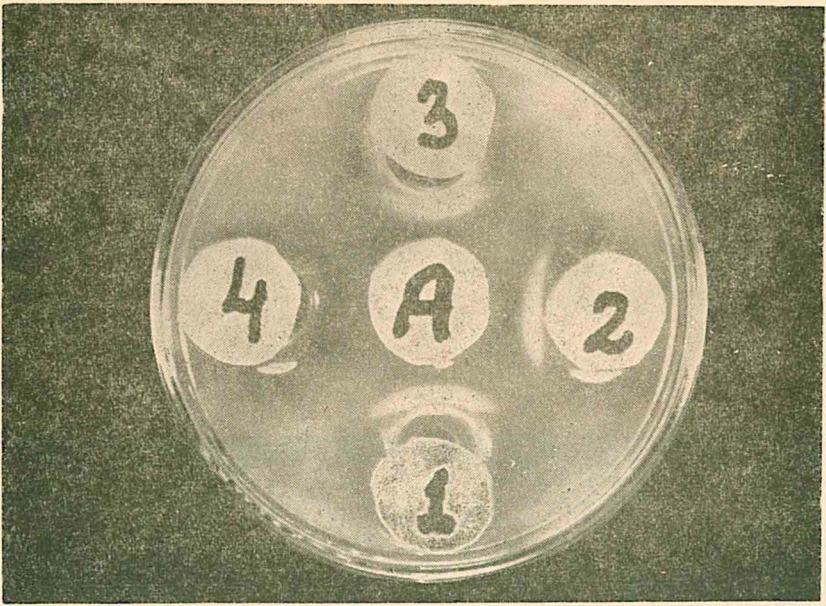
Serum No.	AGGLUTİNASYON		AGAR-JEL DİFFUZYON TESTİ		ORTAMDAKİ TUZ ORANI			
	Lâm	Tüp	24 saat	48 saat	% 09	% 2,5	% 5	% 7,5
1	++++	1/400	++	++++	—	+	+	—
2	++++	1/800	++	++++	—	—	+	—
3	++++	1/800	++	++++	—	—	+	—
4	++++	1/800	++	++++	—	+	+	—
5	++++	1/400	++	++++	—	+	+	—
6	++++	1/400	++	+++	—	—	+	—
7	++++	1/200	+	+++	—	+	+	—
8	++++	1/800	+++	++++	—	—	+	—

Not :

+ = Çok hafif reaksiyon ++ = Hafif reaksiyon +++ = Kuvvetli reaksiyon  
++++ = Çok kuvvetli reaksiyon — = Negatif reaksiyon

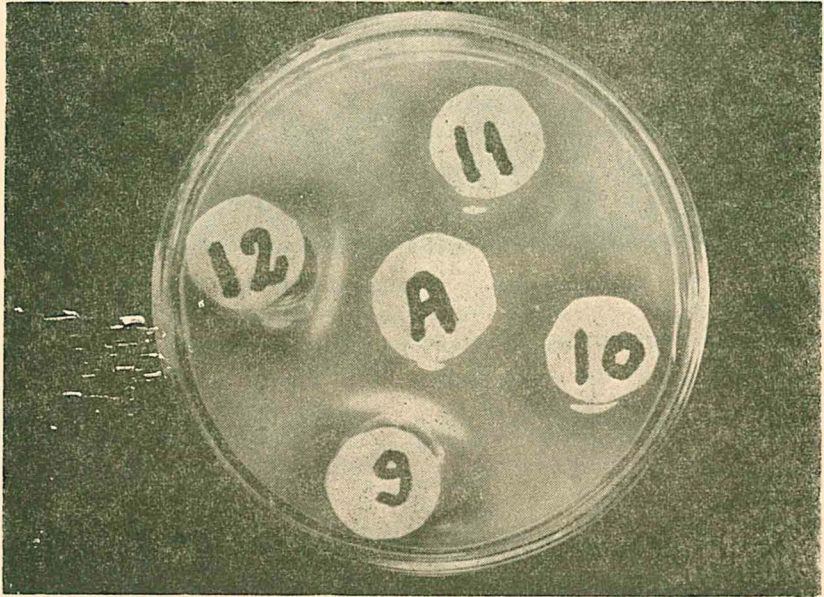
8 . Suni olarak infekte edilen tavuktan alınan serum.





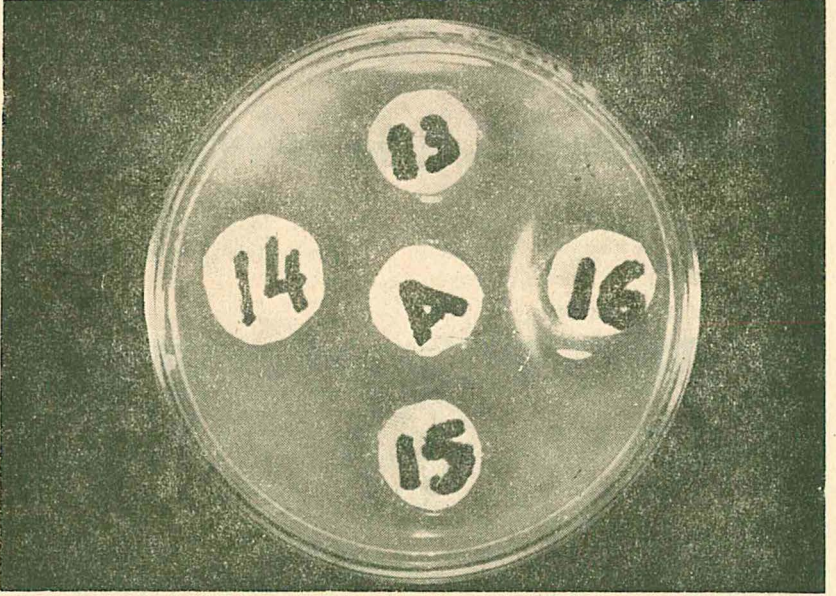
Resim — 1 : Hyperimmün tavşan serumları ve kürsü stok serumu ile yapılan agar - Jel difüzyon testi. A — Antijen, 1 — İmmün tavşan serumu, 2 — İmmün tavşan serumu, 3 — Kürsü stok serumu (9R tavşan immün serumu) 4 — Normal tavşan serumu

Not : Vasattaki tuz oranı % 09



Resim — 2 : Doğal infeksiyonlu hayvanlardan elde edilen serumlarla yapılan agar - Jel difüzyon testi. A — Antijen; 9-10-11-12 kürsüde kesilen deneme tavuklarının stok serumları.

Not : Vasattaki tuz oranı % 5



Resim — 3 : Doğal olarak infekte hayvanlardan elde edilen serumlarla yapılan agar - Jel difüzyon testi. A — Antijen; 13, 14, 15, 16 kürsüye muayene için getirilen tavuklardan alınan serumlar.

Not : Ortamdaki tuz oranı % 5.

— T A R T I Ş M A —

Araştırmacılar, Typhus gallinarum'un teşhisinde serolojik yöntemlerin önemi üzerinde durmuşlardır. Özellikle agglutinasyon, komplement fixation ve indirekt hemagglutinasyon testlerinin Typhus gallinarum'un teşhisinde yararlı olduğunu saptamışlardır (4,5,9,14).

Son yıllarda agar-jel diffuzyon testinin hastalıkların teşhisinde daha iyi sonuçlar verdiği ortaya konulmuş ve çeşitli hastalıkların teşhisinde denenmiştir (8,10,15).

Japon araştırmacıları agar-jel diffuzyon testini pullorum hastalığının teşhisinde kullanmışlardır. Test uygulandığında, spesifik reaksiyon belirgin olarak kısa zamanda oluşmaktadır. Test çok az antijen ve serum ile uygulandığı için hem pratik hem de uygulanması daha kolaydır. Araştırmacılar pozitif tavuk serumlarının 37°C de ve 24 saatte presipitasyon çizgisi meydana getirdiklerini belirtmişler ve testin hastalığın teşhisinde önemi üzerinde durmuşlardır (2).

Bu çalışmada, tavşanlarda hazırlanmış immün serum, de-neyssel olarak infekte edilmiş tavuk serumu ve doğal infeksiyonlu tavuk serumları ile agar-jel diffuzyon testi uygulanmış ve serumların 24-48 saat içinde belirgin bir şekilde reaksiyon verdikleri ortaya konmuştur. Bu arada serumları lâm ve tüp agglutinasyon testlerinde de denenerek sonuçları agar-jel diffuzyon testi ile mukayese edilmiştir. Sonuçta lâm ve tüp agglutinasyon testi ile negatif sonuç veren serumların agar-jel diffuzyon testinde pozitif reaksiyon verdikleri saptanmıştır. 132 tavuk serumundan 41 tanesinin agar-jel diffuzyon testi ile pozitif reaksiyon verdikleri görülmüştür.

Agar-jel diffuzyon testinde kullanılan ortamdaki tuz oranları çeşitli değerlerde denenmiştir. Tavşan serumlarında %9 Na Cl ve tavuk serumlarında ise %5 Na Cl in daha iyi sonuç verdiği saptanmıştır. Protamin sulfat ortamda önemli bir rol oynamaktadır. Yaptığımız denemelerde protamin sulfat katılarak hazırladığımız agar-jel ortamından daha iyi sonuçlar alınmıştır. Denemelerimizde muayene edilen 132 tavuk serumundan 19 tanesi agglutinasyonla pozitif, 17 si şüpheli reaksiyon verdiği halde 41 tanesi agar-jel diffuzyon testi ile

pozitif sonuç vermiştir. Agglutinasyonda olumlu sonuç veren serumlar agar-jel diffuzyon testi ile de olumlu sonuç vermiştir. Fakat agar-jel diffuzyonda, agglutinasyonla negatif reaksiyon veren 5 serum pozitif sonuç vermiştir. (3, 22, 23, 24, 121 No). Bu nedenle, yaptığımız denemelerle agar-jel diffuzyon testinin uygulanmasında non spesifik bir reaksiyonun olabileceği düşünülmüştür. Yaptığımız denemelerle non spesifik bir reaksiyon olmadığı ortaya konmuştur. Fakat infeksiyonun periyoduna göre bu testler arasında ayrılıklar olabilir. İnfeksiyonun şiddetine göre kandaki antikor seviyeleri yükselir veya alçalabilir. Belki de kandaki presipitasyon antikorları uzun zaman aynı titreyi muhazafa ederek reaksiyonun ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Denemelerden aldığımız sonuçlara göre agar-jel diffuzyon testi salmonella gallinarum'un teşhisinde daha etkili olmaktadır. Teknik basit ve uygulaması da oldukça kolaydır. Az serum ve antijenle uygulanabilmesi ve hazırlanan agar-jel ortamında + 4°C de uzun müddet saklanabilmesi de başka bir avantajdır. Laboratuvar çalışmalarında bu testin diğer testlere nazaran daha pratik olduğu görülmektedir. Fakat alan çalışmalarında, kümes taramalarında çabuk lām agglutinasyonu daha pratik ve ekonomik olmaktadır.

## ÖZET

Typhus gallinarum'un teşhisinde çabuk kan agglutinasyon testi portör hayvanların saptanmasında çok kullanılır. Bu çalışmada, agar-jel diffuzyon testi uygulanmış ve iyi sonuçlar alınmıştır. Denemeler lām ve tüp agglutinasyon testleri ile karşılaştırılmıştır.

Denemelerde kullanılan agar ortamında tuz oranı (% 09, % 2,5 % 5, % 7,5) olarak ayarlandı ve tavşan serumları için % 09, tavuk serumları için % 5 konsantrasyon uygun bulunmuştur. Ortama % 01 protamin sülfat ilavesi reaksiyonun daha iyi meydana gelmesinde rol oynamaktadır. En uygun ısı 37°C dir.

Tavşanların immunizasyonu ile elde edilen serumlar agar-jel diffuzyonla 24 saat içinde belirgin bir presipitasyon çizgisi göstermiştir.

Doğal infeksiyonlu tavuklardan alınan kürsümüze ait stok 7 tavuk serumu ile deneysel olarak enfekte edilmiş bir tavuğun serumu çıkarılarak denenmiş ve hepsinin gerek agglutinasyon, gerekse agar - jel diffuzyon testinde pozitif reaksiyon verdikleri görülmüştür.

Alan çalışmaları olarak, 132 tavuktan elde edilen serumlardan agar - jel diffuzyon testi ile 41 serum müspet sonuç vermiştir. Agar - jel duffuzyon testinde pozitif sonuç veren bu serumlardan, agglutinasyon reaksiyonu ile 19 u müspet ve 17 si ise şüpheli reaksiyon vermiştir.

Agar - jel diffuzyon testi Salmonella gallinarum'un teşhisinde yararlı olabilecek serolojik bir test olarak görülmektedir. Şayet test üzerinde önemle durulursa alan çalışmalarında çabuk kan aggulutinasyon testi kadar önemli olabilir. Zira teknik basit, az serum ve antijenle uygulanma olanağı vardır.

## SUMMARY

Plate agglutination (Rapid blood test) test has been used to detect carrier animals in diagnosis of Typhus gallinarum in the fielt. In this study, agar gel diffusion test was used aid dependable results were obtained' Results obtained by plate agglutination and tube agglutination tests were compared wih result obtained by agar-gel diffusion test.

Different salt concentration were used in the preparation of agar used. Among concentration of % 09, % 2.5, % 5 and % 7.5 NaCl used, % 09 and % 5 concentration were found the most suitable for rabbit serums and chickens serums respectively. Addition of % 01 protamine sulfat to the medium gave better results. The most suitable temperature for the was found to be 37°C.

Serums taken from immunized rabbits gave visible precipitation lines in 24 hours. Serum of naturally infected 7 and 1 artifically infected chicken were tested, a positive reactions were observed with there serum in both aglutination and agar-gel diffusion test. On field trials 132 chickens serums were used. Of the 132 serums tested 41 gave pasitive reaction by agar-gel diffusion test. Of the 41 positive serums 19 gave positive reactions

by agglutination test where as 17 serum were found to be suspicious, 5 serums were negatif.

Agar-gel difusion test appears to be a usefle serological test in the diagnosis of Salmonella gallinarum. He is a simple method and test could be run with a small amount of serum and antigen. The test can be used as field test in diagnosis of Salmonella gallinarum.

## L İ T E R A T Ü R

- 1 — **Alkis, N.** 1967. Salmonella ve Shigella Enfeksiyonları Şüphesinde Muh-telif Materyalin Hazırlanması ve ve Muayenesi.  
Türk Hij. ve Tec. Biol. Derg., Cilt XXVII, 1, 197-126.
- 2 — **Aoki, S., Kashiwazaki, M., Sato, S., Watase, H. and Sakamoto, C.** 1963. Application of Agar-gel - Precipitin Test to the Diagnosis of Pullorum Disease.  
Nat. İnst. Animal Healt Quart, 3: 175-184.
- 3 — **Arda, M.** 1971. Tavuk Tifosuna Karşı Kanatlıları Aşılama S. galli-narum Apatoeğn 9 R Suşunun İçme Suyu Vasıtasıyla Kullanılması Üzerinde Bir Araştırma.  
Vet. Fak. Der., Cilt XVIII, 2, 229-238.
- 4 — **Başkaya, H.** 1973. Kümes Hayvanları Hastalıkları Ders Notları.  
Teksir Vet. Fak. Bakt. Kür. Ankara.
- 5 — **Biester, H.E. and Schwarte, L.H.** 19. Diseases of Poultry. th edition, the Iowa state coliege Press, Ames, Iowa.
- 6 — **Costin, I. D. et Costin, E.** 1966. Etude Biochimique et Antigenique du groupe Salmonlela Gallinarum-Salmonella Pullorum.  
Ann. de L'inst. Past. 111, 592-605.
- 7 — **Geissler, H. et Kösters, j.** 1970. Zur Diagnose der Salmonellose des Geflugsels nüt Hilge der Anreisherung bei 43°C. Zbl. Bakt. 1. Abt.
- 8 — **Kolmer, J., Spaulding, E., and Robinson, H.** 1951. Approved Laboratory Tecnique. Appleton - Century - Crofts, Inc., New York, N.Y.
- 9 — **Lucas ,A., Andral, L. Boulev, G., Paraf, A. et Quinchon, C.** 1951. Etude Biochimique de Salmonella Pullorum et de Salmonella Gallinarum. Types Biochimiques rencontres Recherches Pathologique et Antigeni-que en fonction de ces Types.  
Rec. de Med. Vet. CXXVII, 547-568.
- 10 — **Mansi, M.** 1957. The Study of Some Viruses By The Plate Gel Diffusion Precipitin Test.  
J. Comp. Path. 67, 294-297.

- 11 — **Minbay, A.** 1975. Tavuk Hastalıkları ve Yetiştiricilikteki Önemi. Türkiye I. Tavukçuluk Kongresi. Tebliğ.
- 12 — **Nel, R., Minor, L. et Taslimi, H.** 1954. Les Variations dans la Fermentation des Glucides par Salmonella Gallinarum et salmonella pullorum leur. İnteret diagnostique. Ann. de L'inst, past. 87, 719-724.
- 13 — **Neter, E.** 1956. Bacteriel Hemagglutination and Hemolysis. Bact. Rew. 20, 166-189.
- 14 — **Sapra, V. A. and Mehta, M. L.** 1967. İndirect Hemagglutination Test far Diagnosis of Salmonellosis in Poultry. İndian Vet. J., 44, 647-652.
- 15 — **Tam, S. Davud - West** 1966. The Standardization of some Immuno-diffusion System in Agar gel. J. Path and Bact. 92, 477.
- 16 — **Tarım Bakanlığı Vet. İş. Gn. Md.** 1967. Kanatlıların Pullorum ve Gallinarum Hastalığı Yönetmeliği. Ogun Kardeşler Matbaası, Ankara.
- 17 — **Vassiliadis, P., Papadakis, J. et Trichopoulos, D.** 1972. Comportement de «S. gallinarum-pullorum» dans les milieux d'enrichissement et dans les milieux selectifs pour «Salmonella». Ann. L'inst. Pasteur, 123, 231-238.
- 18 — **Virat, B., Vallé, A. et Jacotot, H.** 1955. Au sujet des differens types de Salmonelles Aviaires. Ann. de L'inst. Past. 88, 133-137.