

# **SALMONELLA'LARIN B. C (C1, C2) VE D GRUBU BAKTERİLERİNE ÖZGÜN O FAKTÖR HİPERİMMUN SERUMLARININ ELDE EDİLMESİ VE BU SERUMLAR YARDIMI İLE ÜLKEMİZ HAYVANLARINDA SEROGRUP İNSİDANSININ TESBİTİ ÜZERİNDE ÇALIŞMA**

Muhsin BEKÂR (\*) Faruk DOĞRUL (\*\*)

## **G İ R İ Ş**

Salmonella cinsinde insanlarda ve hayvanlarda spesifik infeksiyonlar veya her ikisinde de hastalık husule getiren bakteriler bulunmaktadır. Bunlardan ilk önce Salmonella cholerae suis 1886 yılında Salmon tarafından tarif edildiği için bu cinse salmonella adı verilmiştir (7).

Bakteriyolojik incelemelerin yoğunluk kazandığı günümüzde, salmonella grubu bakterileri de giderek artan alt grupları kapsamaktadır. 1800 üzerinde serotipi bulunan bu bakterinin primer rezervuarları, hastalık oluşturdukları canlı ve oluşturduğu hastalığın tipine göre ayrıcalıkları vardır (5). Pratikte hayvanlarda en sık rastlanan ve aktuel olanlar şunlardır :

Salmonella typhimurium : Koyun, buzağı, at, tavuk ve kemiricilerde çoğu kez öldürücü olan intestinal infeksiyonlar oluşturur.

Samonella abortus equi : Kısıraıklarda abort yapar, seyrek olarak da sığırlarda yavru atmalara neden olur.

Salmonella cholerae suis : Domuzlarda infeksiyöz enteritis etkenidir.

---

( \*) Etlik Hayv. Hast. Araşt. Enst. Bakt. Teşhis Lab. Şefi  
(\*\*) » » » » » Kan Grupları Lab. Şefi

Salmonella dublin : Erişkin sığırlarda yavru atmalara, buzağılarda enteritise ve septisemilere neden olur.

Samonella newport : Sığırlarda enteritislere neden olur.

Salmonella abortus ovis : Koyunlarda yavru atmalara neden olur.

Salmonella gallinarum : Kanatlı tifosunun etkenidir.

Salmonella pullorum : Kanatlılarda pullorum hastalığının etkenidir.

Paratifo infeksiyonları : Kumes hayvanlarında özel infeksiyonlara sebep olan S. pullorum ve S. gallinarum'dan başka özel olmayan infeksiyon oluşturan salmonellalar vardır. Bunlara genel olarak paratifo infeksiyonları adı verilir. Bu gruptaki mikroorganizmaların bellibaşlıları şunlardır : S. typhimurium, S. derby, S. bareilly, S. newport, S. monteideo, S. oranienburg, S. heidelberg, S. thompson (3).

Bunlardan başka bazı salmonellalar, örneğin S. enteritidis, S. typhimurium, S. cholerae suis v.d. insanlarda da hastalık oluştururlar. Bunlar genel olarak gıda maddelerinde (et, süt) çoğalır ve çok miktarda insanlara geldikleri zaman ekseriya gastro-enteritis şeklinde hastalıklara neden olurlar (gıda zehirlenmeleri). Yine aynı şekilde tavuk ve bildircında hastalık yapan S. oranienburg tavuk yumurtaarı ile, muhtelif hayvan ve kuşlarda hastalık yapan S. monteideo tavuk ve hindinin et ve yumurtaları ile insanlara geçer, gastro-enteritis veya septisemik infeksiyonlar oluştururlar (7).

Salmonella bakterileri O antijenlerindeki farklara göre A, B, C, D, E, F, G, H ve İ olmak üzere 9 gruba ayrılmıştır (2, 7). Ayrıca bu gruplara sokulamayan bir miktar salmonella bakterisi de vardır. Her grupta O antijenleri kısmen veya tamamı ile müşterek olan, yani birbirinin aynı olan, tipler bulunmaktadır. Bu gruplar da O antijenlerindeki farklara göre alt gruplara ayrılmaktadır.

Hayvanlarda infeksiyon oluşturan salmonellalar genellikle B, C (C1, C2) ve D gruplarında bulunmaktadır.

Salmonellaların teşhisi biyoşimik karakterlerine göre yapılabilmekte ise de bu teşhisin serolojik metodlarla doğrulanması gerekir. Bu çalışmamızda ilk etapta hayvanlarda infeksiyon oluşturan

salmonellaların gruplarını tayin etmek için B, C (C1, C2) ve D gruplarına özgün teşhis serumlarını elde etmeyi amaçladık.

### MATERYAL ve METOT

Laboratuvarımızda salmonellalara karşı hiperimmün serum elde etmek için Amerika (Diagnostic Bacteries National Veterinary Laboratoires - Aimes, Iowa)'dan A, B, C1, C2, D1, E1, E2 ve E4 grup ve alt gruplarını temsilen 8 adet salmonella suşu getirilmiştir. Bunlardan Veteriner Hekimlikte önemli olan B, C1, C2 ve D gruplarına özgün hiperimmün serum elde etmek üzere B grubu için *S. typhimurium*, C1 alt grubu için *S. thompson*, C2 alt grubu için *S. newport* ve D grubu için *S. typhi* suşları kullanılmıştır.

#### O Antijen üretimi (1, 4, 6, 8) :

- a) Besiyeri olarak adi buyyon ve adi agar kullanılmıştır.
- b) Suşlar usulüne uygun olarak ikişer adet buyyon besiyerine ekilmiş ve 24 saat 37°C'de üremeye bırakılmıştır.
- c) Buyyonda iyi gelişim gösteren kültürlerin homojenitesi gram boyama ile kontrol edilmiştir.
- d) Daha sonra suşlar yatık agar besiyerine ekilmiş, 24 saat 37 C'de üretildikten sonra grup özelliklerini saptamak üzere Difco Firmasından temin edilen grup spesifik serumlarla aglutinasyona tabi tutulmuş ve uygunluğu saptanmıştır.
- e) Bu kontrollerden sonra yatık agar kültürlerinden her bir suş için 3'er adet adi buyyona pasaj yapılacak 37°C'de üremeye bırakılmıştır.
- f) Ertesi gün her bir buyyon kültürü adi agar besiyeri içeren Roux şişelerine ayrı ayrı iyice yayılarak dökülmüştür.
- g) 37 C'de 48 saatlik bir üremeden sonra her bir şişeye 35 cc. F.T.S. ilave edilip çalkalanarak yüzeydeki kültür süspanse edilmiştir.
- h) Daha sonra bakteri süspanسیونları steril şişelere alınıp 2 saat 100°C'de (açık otoklavda) tutulmak suretiyle H antijenleri tahrip edilmiştir.



1) Sterilize kontrolları (aerob ve anaerob besiyerlerinde) yapıldıktan sonra bakteri süspansiyonları 3000 devir/dak.'da 30 dakika santrifüje edilerek bakteriler çöktürülmüş ve üstteki sıvı atılmıştır.

i) Bu suretle elde edilen salmonella O antijenleri F.T.S.'de süspense edilerek (herbir şişedeki antijen için 3 cc. F.T.S. hesabı ile) stok olarak buzdolabında +4°C'de saklanmıştır.

#### **Hiperimmum Serum üretimi (1, 4, 6, 8) :**

a) Stok O antijenleri Mc.Farland bulanıklık tüplerinden yararlanılarak ml'de 2 milyar jermlik opasite karşılığı olacak şekilde F.T.S. ile suandırmıştır.

b) İmmunizasyonda, her antijen için 3'er adet tavşan kullanılmıştır.

c) Tavşanlara injeksiyonlar 5 gün ara ile 4 defa, gittikçe artan miktarlarda intravenöz (şöyleki; 1. injeksiyon 0,5 cc, 2. injeksiyon 1 cc, 3. injeksiyon 2 cc, 4. injeksiyon 4 cc) verilmiş ve son injeksiyondan 6 gün sonra her bir tavşandan kan alınarak serumu ayrılmış, lamda ve tüpte kendi antijenleri ile aglutinasyona tabi tutulmuştur. Lam aglutinasyonunda bütün serumlar hemen müsbet reaksiyon vermiş ve ertesi gün tüp aglutinasyonunda da serumların hepsi 1/800'ün üzerinde aglutinasyon müspet bulunmuştur. Hiperimmumun serum üretme protokolümüze göre 1/800 ve daha yukarı sulandırmada reaksiyon veren tavşanların kanının alınması uygun görüldüğünden hayvanların hepsinin tüm kanları steril şartlar altında alınmıştır (Tavşanlar kesilerek). Alınan kanların serumları ayrılmış, santrifüje edilmiş, seitz filtresinden süzölmüş ve 1/10.000 oranında merthiolat ilave edilerek +4 derecede muhafazaya alınmıştır.

Elde edilen antiserumlar lamda ve tüpte homologu olan ve olmayan antijenler ile çapraz aglutinasyona tabi tutulmuştur. (Agglutinasyon sonuçları Tablo 1. ve 2.'de gösterilmiştir). Çapraz reaksiyon verenler Castellani'nin metoduna göre doyurmaya tabi tutulmuştur.

### Dozurma :

a) *S. typhimurium* antiserumu (B grubu serumu) : Grup özelliğini taşıması için 1 kısım B serumu, 1 kısım D antijeni ve 0,5 kısım C2 antijeni ile,

b) *S. thompson* antiserumu (C1 alt grubu serumu) : Grup özelliğini taşıması için 1 kısım C1 serumu, 1 kısım C2 antijeni ile,

c) *S. newport* antiserumu (C2 alt grubu serumu) : Grup özelliğini taşıması için 1 kısım C2 serumu, 1 kısım C1 antijeni ve 1 kısım B antijeni ile,

d) *S. typhi* antiserumu (D grubu serumu) : Grup özelliğini taşıması için 1 kısım D serumu, 2 kısım A antijeni ile doyurulmuştur.

Salmonella grup insidansının tesbiti için, Enstitümüz Bakteri-yolojik Teşhis Laboratuvarına gelen ve biyosimik özelliklerine göre Salmonella olduğu tesbit edilen 7 suş serumlarımızla serolojik muayeneye tabi tutulmuştur. İzole edilen bu 7 suş Çankırı-Orta ( Örenköy, Gökçeörenköy ve Kayılar köyü), Polatlı-Tüfekçioğlu köyü, Malya Tarım İşletmesi, Sincan-Yenipecenek köyü ve Enstitümüz deneme hayvanları orijinlidir. Bu suşlardan 4'ü atık yapan koyun ceninlerinden, 2'si sığırdan ve 1'i de tavşandan elde edilmiştir.

## B U L G U L A R

Çalışmamızda salmonellaların B, C (C1, C2) ve D gruplarına özgün O faktör hiperimmün serumlar elde edilmiştir. Bu serumlar vasıtasıyla, biyosimik karakterlerine göre salmonella olduğu anlaşılan 7 değişik orijinli salmonellaların B grubundan oldukları tesbit edilmiştir.

## T A R T I Ş M A

Elde edilen hiperimmün serumların müşterek O antijen fraksiyonlarına sahip gruplarla çapraz aglutinasyon verdiği gibi klasik tabloda müşterek antijenleri bulunmayan diğer gruplarla da reaksiyon verdiği gözlenmiştir. B grubu antiserumu, bir müşterekliği olmamasına rağmen C2 grubu antijeni ile, C1 ve C2 antiserumu da B grubu antijeni ile aglutinasyon vermiştir. Bu durum gözönüne alı-

narak doyurma işlemleri yapılmış ve sonuç olarak B, C (C1, C2) ile D grubuna özgün O faktör hiperimmün serumlar elde edilmiştir.

Üretilen bu hiperimmün serumlar, yapılan testlerde, Difco Firmasından sağlanan salmonella O grubu spesifik serumları ile paralellik göstermiştir.

Spesifik karakterleri tesbit edilen bu serumlar ihtiyacı olan kurumlara gönderilmektedir.

## Ö Z E T

Veteriner Hekimlikte önemli olan salmonellaların B, C (C1, C2) ve D gruplarına özgün O faktör hiperimmün serumlar elde edilmiş ve bu serumlarla 7 ayrı odaktan izole edilen salmonellaların grup tayininde B grubu samonella oldukları tesbit edilmiştir.

## S U M M A R Y

O factor hyperimmün sera have been obtained for serological groups of B, C (C1, C2) and D which are important salmonella groups for veterinary medical field. In seven foci salmonella spp. have been isolated and in their serological groupings, all of them were from B group.

## L İ T E R A T Ü R

- 1 — ÇETİN, E.T. (1965) : Pratik Mikrobiyoloji, İsmail Akgün Matbaası, İstanbul.
- 2 — HAUDUROY, Pr. P. (1959) : Dictionaire des bacteries pathogene.
- 3 — İSTANBUOĞLU, E. (1979) : Enterobakteriyase Seminer Notları, Pendik.
- 4 — LE MINOR, L. (1959) : Le Diagnostic de laboratoire des enterobacteries, Editions de la Tourelle, France (3. Baskı).
- 5 — ONUL, M. (1983) : Sistemik Enfeksiyon Hastalıkları, Hacettepe-TAŞ Kitapçılık Ltd. Şti. (2.Baskı).
- 6 — ÖKTEM, Z. (1955) : Mikrobiyoloji Pratiği, Kutulmuş Matbaası, İstanbul.
- 7 — ÖKTEM, Z. (1960) : Tıbbi Bakteriyoloji, Kutulmuş Matbaası, İstanbul (2. Baskı).
- 8 — ÖZBİTEY, T. (1972) : Salmonella Polivalan Aglutinasyon Serum Üretimi, GATA Sağlık Araştırma ve Biyoloji Enstitüsü.

ÇİZELGE : I

LAM AGLUTINASYONU

		ANTİGENLER			
SERUMLAR	B	+	+	+	+
	C <sub>1</sub>	-	+	+	+
	C <sub>2</sub>	+	+	+	-
	D	+	+	-	+
		B	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	D



## TÜP AGLİTİNASYONU ( SERUMLAR )

		B (S. typhimurium)								C <sub>1</sub> (S. thompson)								C <sub>2</sub> (S. newport)								D (S. typhi)							
		SERUM DİLİŞYONLARI																															
		1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400
ANTİGENLER	B (S. typhimurium)	4	4	4	4	4	4	2	-	4	4	4	2	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
	C <sub>1</sub> (S. thompson)	4	4	4	3	-	-	-	-	4	4	4	4	4	4	4	-	4	2	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
	C <sub>2</sub> (S. newport)	4	3	2	2	-	-	-	-	4	4	3	2	-	-	-	-	4	4	4	4	4	4	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D (S. typhi)	4	3	3	2	2	2	2	2	4	4	3	2	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	4	4	4	4	4	4	4	4

4: ♦♦♦♦ 3: ♦♦♦ 2: ♦♦