

**İNSAN VE HAYVANLARDAN İZOLE EDİLEN ESCHERICHIA
COLİ SUŞLARININ KOLİSİN PLAZMİDİ TAŞIMA
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNDE İNCELEME**

Hatice AYHAN (*)

Nejat AYDIN (**)

GİRİŞ

Enterobacteriaceae familyası içinde yer alan pek çok türün kolisinojenik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (22).

İlk kez 1925 yılında Gratia (12) tarafından saptanan ve Frederigo (10)'nun kolisin adını verdiği protein yapısındaki bu maddeler, E. coli suşlarınca sentezlenir ve diğer duyarlı E. coli'ler üzerine öldürücü etki gösterirler. İnsan ve hayvanların enfekte ve sağlıklı materyallerinden izole edilen E. coli suşlarının kolisin aktivitelerinin patojenik karakterleri ile ilgisi birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (2, 5, 6, 9, 13, 16, 17, 21).

Jakarina (16), sağlıklı kanatlılardan % 98, enteritislilerden ise % 80'e yakın oranlarda kolisinojenik E. coli izole ettiklerini bildirirken, Heller ve Drabkin (13), hasta hindi ve tavuklardan sağlıklılara oranla daha fazla kolisinojenik suş izole ettiklerini belirtmişlerdir. Aynı yılda Smith ve Huggins (24), sığır ve tavuklarda col. V plazmidini bulunduran E. coli suşlarının, bu plazmidi bulundurmayanlardan daha patojenik olduklarını saptamışlardır. Kulstetha ve ark. (17), septisemi bulguları gösteren ve ölmüş kuzuların kalp kanında % 72 oranında kolisinojenik E. coli izole ederken Pohl ve ark. (21), sığır ve domuz orijinli ETEC suşlarında, Djonne (6), ETEC'lerin çoğunluğunda K88, K99 gibi antijenlerle birlikte kolisin sentezinin de bulunduğunu, saprofitik suşlarda düşük oranda olduğunu bildirmişlerdir. Arai ve ark. (2), klinik ma-

(*) Uzm. Biolog; A. Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalı, Ankara.

(**) Prof. Dr.; A. Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalı, Ankara.

teriyallerden izole ettikleri E. coli suşlarından en fazla irin orijinli olanların kolisinojenik karakter taşıdıklarını, Davies ve ark. (5) ise, hasta insanların kanlarından % 31.6, idrarlarından % 26.2 ve dışkılarından % 13.6 oranında col. V üreten E. coli izole ve tanıma ettiklerini belirtmişlerdir.

Araştırmacılar, E. coli suşlarını kolisinojenik karakterleri yanı sıra kolisin duyarlılığı özellikleri yönünden de araştırmışlardır (1, 25). Vasenius (25), sağlıklı domuzlardan kolisinojenik E. coli suşlarını daha fazla izole ettiklerini, bu durumun sağlıklı hayvanların barsak florasında bulunabilen patojenik suşlardan korunmada yardımcı olabileceğini savunmuştur. Alwis ve Thomlinson (1), domuzlardan izole edilen patojenik E. coli'lerin barsak florasındaki komensal E. coli suşları tarafından sentezlenen kolisinlere duyarlı olduklarını bildirmişlerdir.

İnsan ve hayvanlardan izole edilen E. coli suşlarının kolisin aktiviteleri üzerine yurdumuzda da çalışmalar yapılmış ve kolisinojenik aktiviteye sahip E. coli suşları izole edilerek patojenitesi ile ilişki kurulmaya çalışılmıştır (4, 8, 14, 15).

Bu çalışmada, insan ve hayvanların değişik materyallerinden izole ve tanıma edilen E. coli suşlarının kolisin plazmidi taşıma özellikleri incelenecektir.

MATERYAL ve METOD

Örneklerin toplanması: Denemelerde izolasyon için insanların dışkı, idrar, boğaz ve kan örnekleri ile çeşitli hayvan türlerine ait dışkı, idrar ve otopsi materyallerinden yararlanıldı. Çalışmada kullanılan insan ve hayvanlardan izole edilen 200 adet E. coli suşunun kaynak ve sayıları Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Tablo : 1. İnsanlardan izole edilen E. coli suşlarının sayı ve kaynakları

Kaynaklar	Dışkı	İdrar	Boğaz	Kan	Toplam
Özel Laboratuvar	3	6	—	—	9
G. Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	24	51	3	2	80
S.S.Y.B. Dışkapı Sosyal Sigortalar Kurumu Hastanesi	2	6	—	—	8
A. Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalı	1	2	—	—	3
Toplam	30	65	3	2	100

Tablo : 2. Hayvanlardan izole edilen E. coli suşlarının sayı ve kaynakları

Kaynaklar	Sığır	Koyun	Tavuk	Hindi	Kedi	Köpek	Maymun	Toplam
A. Ü. Veteriner Fak. Bakteriyoloji Bilim Dalı	20	5	16	5	2	2	9	59
A. Ü. Veteriner Fak. Cerrahi Anabilim Dalı	13	—	—	—	—	—	—	13
A. Ü. Veteriner Fak. İç Hastalıkları Anabilim Dalı	5	1	—	—	—	1	—	7
A. Ü. Veteriner Fak. Hayvan Besleme ve Beslenme Hast. Anabilim Dalı	8	—	—	—	—	—	—	8
A. Ü. Ziraat Fak. Zootečni Bölümü	13	—	—	—	—	—	—	13
Toplam	59	6	16	5	2	3	9	100

Standart E. coli suşu : İzole ve identifiye edilen E. coli suşlarının kolisin aktivitelerinin saptanmasında kullanılan, tüm kolisin tiplerine duyarlı indikatör E. coli ROW suşu, A. Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalı kültür koleksiyonundan sağlandı.

Besi yerleri : E. coli suşlarının identifikasyonu amacıyla zenginleştirilmiş kanlı agar (% 5 koyun kanlı) ile birlikte MacConkey agar (Difco) ve Eosin methylen blue agar (Difco); izole ve identifiye edilen suşların kolisin aktivitelerinin belirlenmesinde ise trip-tikaz soy agar (Difco) besi yerlerinden yararlanıldı.

Morfolojik ve kültürel karakterler : Çeşitli kaynaklardan alınan örneklerden E. coli izolasyon ve identifikasyonu Edwards ve Ewing (7)'e göre yapıldı. Alınan örneklerden zenginleştirilmiş kanlı agar; MacConkey ve EMB agar besi yerlerine ekildi. 37°C'de 18-24 saat üretildikten sonra bu ortamlarda üreme durumları ile aynı kültürlerden hazırlanan preparatlarda suşların mikroskopik morfolojileri incelendi. Ayrıca identifikasyon için glukoz, laktoz, manitol fermentasyonu, H₂S oluşumu, nitrat redüksiyonu, üreaz, indol, hareket özellikleri Lassen (18)'in «Üçlü Tüp Yöntemi»'ne göre, salisin, dulcitol, adonitol, arabinoz fermentasyonu ile MR, VP testleri ise klasik yöntemlere göre yapıldı (2).

Kolisin aranması: İzole ve identifiye edilen E. coli suşlarının kolisin aktiviteleri Gullies ve Dodds (11)'un yöntemi ile belirlendi. E. coli suşlarının 37°C'deki 18 saatlik buyyon kültürleri, saç örgüsü şeklinde bükülmüş iğne uçlu öze ile triptikaz soy agar plağına dikey olarak ekildi. Kültür 35°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra bir saat süreyle kloroform buharında bırakılarak inaktive edildi. İnaktive edilen mikroorganizmalar steril bir lam ile kazınarak alındı, 30 dakika içinde kloroform buharıyla inaktivasyon işlemi tekrarlandı. 15 dakika petri kutusunun kapağı açık bırakılarak kloroformun uçması sağlandı. Sonra tüm kolisin tiplerine duyarlı E. coli ROW suşunun 37°C'deki 24 saatlik buyyon kültüründen iğne uçlu öze ile ekim hattına dikey pozisyonda ekildi. Ekim yapılan petri kutuları 37°C'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda test suşunun üreme hattı ile ROW suşunun üreme hattının birleştiği bölgedeki inhibasyon alanının oluşumu incelendi.

BULGULAR

Morfolojik ve kültürel karakterler: İncelenen insan ve hayvan orijinli E. coli suşlarının glukoz, laktoz ve mannitolü fermente ettiği, nitrat redüksiyonu yönünden pozitif, H₂S oluşumu yönünden negatif olduğu belirlendi. Ayrıca suşların MD, indol, hareket özellikleri yönünden % 100'e varan oranlarda pozitiflik gösterdikleri saptandı.

Kolisin aktivitesi: İzole ve identifiye edilen 200 E. coli suşu, kolisin salgılama özellikleri yönünden incelendiğinde insan kökenli 4 (% 4) ve hayvan orijinli 10 suşun (% 11.8) pozitif oldukları saptandı.

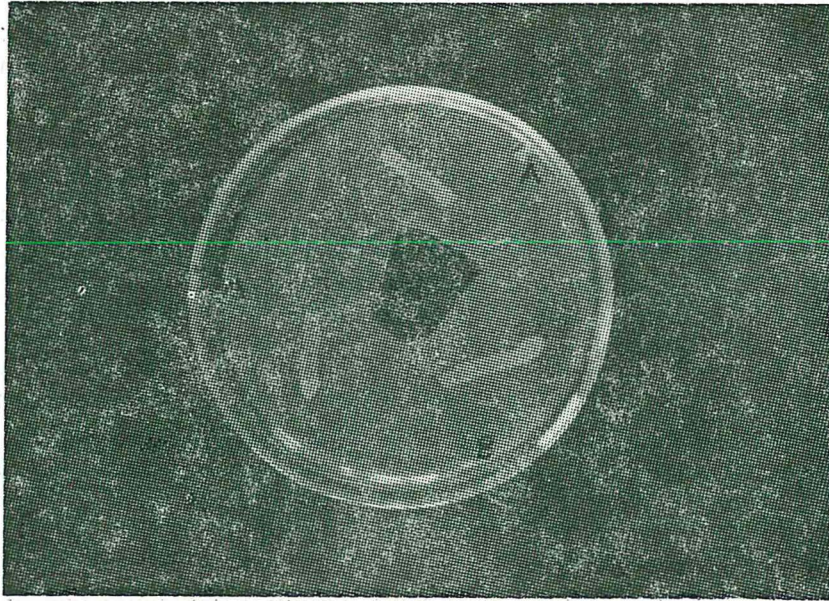
Tablo : 3. Çeşitli hayvan türlerinden izole ve identifiye edilen E. coli suşlarının kolisin salgılama özelliklerinin dağılımı (suş sayı ve % oranı)

Kaynak	İncelenen Suş	Pozitif	Negatif
Sığır	59	3 (5.1)	56 (94.9)
Tavuk	16	2 (12.5)	14 (87.5)
Hindi	5	5 (5.0)	0 (0.0)
Toplam	85	10 (11.8)	75 (88.2)

Tablo : 4. İnsan orijinli dışkı ve idrar örneklerinden izole ve tanımlanmış E coli suşlarının kolisin salgılama özelliklerinin dağılımı (suş sayısı ve % oranı)

Kaynak	İncelenen Suş	Pozitif	Negatif
Dışkı	30	3 (10.0)	27 (90.0)
İdrar	65	1 (1.5)	64 (98.5)
Toplam	95	4 (4.2)	91 (95.8)

Resim : 1. E.coli suşlarının kolisin özellikleri; A) Pozitif, B) Negatif sonuçları göstermektedir.



TARTIŞMA

Bugüne kadar yapılan çalışmalarla, çeşitli hayvan ve insan orijinli E.coli suşlarının kolisin sentezledikleri ortaya konmuştur (8, 13, 14, 15, 20, 23, 25). Vasenius (25), domuzlardan izole ettikleri patojenik E.coli suşlarının kolisin aktivitelerini incelemiş ve 435 domuz orijinli E.coli'nin 228 (% 52.4)'ünün kolisinojenik olduğunu bildirmiştir. Sarmanova ve Salajka (23), domuz orijinli patojenik

E. coli'lerde % 34.4 kolisin aktivitesi elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Heller ve Drabkin (13), enfekte tavuk ve hindilerin klinik materyallerinden izole ettikleri E. coli'lerin tavuklarda % 61.8, hindilerde % 65.7 oranında kolisin ürettiklerini, sağlıklı kanatlılarda ise bu oranın yaklaşık yarısı kadar pozitiflik elde ederek, patojenite ile kolisin sentezleme arasında ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir. Obi ve Campbell (20), triptikaz soy agar (TSA) plaklarında, çeşitli türlerdeki sağlıklı hayvanlara ait dışkı örneklerinden koyun, keçi, sığırlarda sırasıyla: % 34, % 18, % 3; Braine Hart Infusion agar (BHIA)'da % 46, % 38, % 16 kolisinojenik E. coli saptamışlardır. İstanbulluoğlu ve Diğer (14), sağlıklı tavuklarda % 14 col V, İzgür (15), sağlıklı koyunların dışkı örneklerinden % 6 kolisinojenik E. coli suşu izole ettiklerini bildirmişlerdir. Erganiş (8) ise hindi dışkı orijinli 188 E. coli suşunda % 4.2 oranında kolisin aktivitesi belirlemiş, kolisinojenik bulunan E. coli'lerin % 83.3'ünün patojenik olduklarını, kolisin aktivitesinin bakterinin patojenitesine yardım ettiğini savunmuştur.

Bu çalışmada, incelenen sağlıklı ve hasta hayvan türlerinden izole ve identifiye edilen E. coli'lerin sığır orijinli olanlarında % 5.1, tavuk orijinlilerde % 12.5, hindi orijinlilerde ise % 100 kolisin aktivitesi belirlenmiştir. Hindilerden tavuklara oranla daha fazla kolisinojenik E. coli suşu izole edilmiştir. Bu da Heller ve Drabkin (13)'in bulgularına paralellik göstermektedir.

Çetin ve ark. (4), insanların çeşitli laboratuvar materyallerinden izole ettikleri 247 E. coli suşu üzerinde yaptıkları çalışmada, 38 suşta kolisinojenik özellik bulmuşlardır. 247 suşun standart kolisinlere duyarlılıklarını Frederiço'nun standart kolisinleri ile dediklerinde, bunların 35 kolisin tipi içinde toplandıklarını bildirmişlerdir. Minshew ve ark. (19), insanlarda kandan % 16 kolisinojenik E. coli izole etmişlerdir. Arai ve ark. (2), çalışmalarında, insanlardan kolisinojenik suş elde etme sıklığının sırasıyla; irin, gaita, salya ve idrar olduğunu tesbit etmişler; bu oranların, % 17, % 15, % 12, % 9 olduğunu bildirmişlerdir. Davies ve ark. (5), idrar yolu enfeksiyonlu hastaların idrar örneklerinden % 26.2, kanlarından % 31.6, dışkılarından % 13.6 kolisinojenik suş izole etmişlerdir.

Bu araştırmada, gaitadan izole edilen 30 suştan 3 (% 10)'unun, idrardan izole edilen 61 suştan 1 (% 1.5)'inin kolisinojenik olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Arai ve ark. (2)'nin bulgularını

destekler niteliktedir. Tüm bu sonuçlar, insan ve hayvanlardaki enfeksiyon odakları ile normal floradan her an için kolisin oluşturan E.coli'leri izole etmenin mümkün olabileceğini göstermektedir.

ÖZET

İNSAN VE HAYVANLARDAN İZOLE EDİLEN ESCHERICHIA COLI SUŞLARININ KOLİSİN PLAZMİDİ TAŞIMA ÖZELLİKLERİ ÜZERİNDE İNCELEME

Bu çalışmada, sağlıklı, hasta insan ve hayvanların çeşitli laboratuvar materyallerinden izole edilen 200 adet E.coli suşunun kolisin plazmidi taşıma özellikleri incelendi.

İnsanların gaita ve idrarlarından izole ve identifiye edilen 100 E.coli suşunda sırasıyla; % 10, % 1.5; sığır, tavuk ve hindilerden izole edilen 100 adet E.coli suşu arasında ise sırasıyla: % 5.1, % 12.5, % 100 kolisinojenik özellik belirlenmiştir.

SUMMARY

INVESTIGATIONS ON COLICINOGENIC CHARACTERISTICS OF ESCHERICHIA COLI ISOLATED FROM HUMAN AND ANIMALS

In this study, 200 E.coli strains isolated from different laboratory materials of healthy and diseased human and animals were examined for colicinogenity.

The percentage of colicine production in E.coli strains isolated from cattle, chicken and turkeys were found as follows :5.1 % for cattle, 12.5 % for chicken, 100 % for tukeys and was found 4 % in human strains.

KAYNAKLAR

- 1 — ALWIS, M. C. L. and THOMLINSON, J. R. (1973) : The incidence and distribution of colicinogenic and colicin-ensitive E. coli in the gastrointestinal tract of the pig. J. Gen. Microbiol. 74 : 45-52.
- 2 — ARAI, and KOMATSU, S. (1981) : Distribution of the colicinogenic strains and the labilty of their colicins. Keio J. Med., 30 : 83.
- 3 — ARDA, M. (1978) : Genel Bakteriyoloji. A. Ü. Vet. Fak. Yayın No : 342. Ders Kitapları : 242, A. Ü. Basımevi.

- 4 — ÇETİN, E.T., BOZOK, C. ve FURTUN, M. (1970) : E. coli suşlarının kolisin ve kolisin tip tayini. İ.Ü. Tıp Fak. Mec., 33 : 141.
- 5 — DAVIES, D.C., FALKINER, F.R. and HARRY, K.G. (1981) : Colicin V production by clinical isolates of E. coli. Infect. Immun., 31 : 574.
- 6 — DJONE, B.K. (1985) : Colicine production in relation to pathogenicity factors in strains of E. coli isolated from intestinal tract of piglets. Acta. Vet. Scand., 26 : 145 - 148.
- 7 — EDWARDS, P.R. and EWING, W.H. (1972) : Identification of Enterobacteriaceae. Third Ed. Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota, USA.
- 8 — ERGANİŞ, O. (1988) : Hindilerin fekal florasından izole edilen E. coli suşlarının bazı patojenite özellikleri üzerinde incelemeler. Doktora Tezi. Selçuk Üni. Vet. Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.
- 9 — FRANKLIN, A., SODERLIND, O. and MOLLBY, R. (1981) : Plasmids coding for enterotoxins, K88 antigen and colicins in porcine E. coli strains of O, group 149. Med. Microbiol. Immunol., 170 : 63 - 72.
- 10 — FREDERICO, P. (1953) : Ann. Inst. Pasteur, 84 : 294. SOJKA, W.J. (1965) : E. coli in domestic animals and poultry. Commonwealth Agr. Bureau Farnham Royal. Bucks. England.
- 11 — GILLIES, R.R. and DODDS, T.C. (1963) : Bacteriology. Illustrated Livingstone Ltd., London.
- 12 — GRATIA, A. (1925) : C. R. Soc. Biol., Paris, 93 : 1040. SOJKA, W.J. (1965) : E. coli in domestic animal and poultry. Commonwealth Agr. Bureau Farnham Royal Bucks., England.
- 13 — HELLER, E. and DRABKIN, N. (1977) : Some characterization of pathogenic E. coli strains. Br. Vet. J., 133 : 572 - 578.
- 14 — İSTANBULLUOĞLU, E. ve DİKER, S. (1980) : Tavuklardan izole edilen E. coli suşlarının biyokimyasal, kolisin, lizojenik karakterleri ve antibiyotiklere duyarlılık oranları üzerinde incelemeler. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 27 : 484 - 490.
- 15 — İZGÜR, M. (1981) : Sağlıklı koyunlardan izole edilen E. coli suşlarının çeşitli özellikleri üzerinde incelemeler. Doktora Tezi. A.Ü. Vet. Fak.
- 16 — JAKOVINA, M. (1972) : Colicine production by E. coli strains isolated intestinal of chickens. Archiv., 42 : 255 - 263.
- 17 — KULSHRESTHA, S.B., KRISHNA, L. and PALIWAL, O.P. (1978) : Indian J Animal Sci., 48 : 746.
- 18 — LASSEN, J. (1975) : Rapid identification of gram negative rods using three-tube methods combined with a dictotomic key. Acta. Path. Microbiol. Scand Sect. B., 83 : 525 - 533.

- 19 — MINSHEW, B. H., JORGENSEN, J., SWANSTRUM, M., GROOTES-REUVE-CAMP, G. A. and FULKOV, S. (1978) : Some characteristics of E. coli strains isolated from extraintestinal infections and humans, J. Infect. Dis., 137 : 648.
- 20 — OBI, S. K. C. and CAMPBELL, J. A. (1978) : Incidence of colicinogenic E. coli in shepp, goats and cattle, Zbl. Vet. Med. B., 25 : 252 - 256.
- 21 — POHL, P., LINTERMANS, P. and MOURY, J. (1981) : Colicine production by pathogenic E. coli domestic mammals. Ann. Med. Vet., 125 : 567 - 570.
- 22 — REEVES, P. (1965) : The bacteriocins. Bacteriol. Rev., 29 : 24 - 42.
- 23 — SARMANOVA, Z. and SALAJKA, E. (1970) : Colicine production of hemolytic E. coli infections in weanling pigs. Acta. Vet. Brno., 40 : 241.
- 24 — SMITH, H. W. and HUGGINS, M. B. (1976) : Further observation of the association of the colicine V plasmid of E. coli with pathogenicity and with survival in the alimentary tract. J. Gen. Microbiol., 92 : 335 - 350.
- 25 — VASENIUS, H. (1967) : The colicinogenic properties of porcine E. coli strains. Acta. Vet. Scand., 8 : 195 - 200.