

İneklerden *S. typhimurium*'un İzolasyonu ve Bu Serotip'e Karşı Kan Serumlarındaki Antikor Düzeyleri Üzerine Bir Çalışma

K. Tayfun ÇARLI*

Cengiz ÇETİN**

M. KAHRAMAN***

Mümtaz DALLILAR****

ÖZET

Bu çalışma ineklerde *S. typhimurium* izolasyonu ve antikorlarının saptanması amacıyla yapılmıştır. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğindeki 72 inek bu yönden ele alınmıştır. Serolojik olarak, Mikroaglutinasyon testi (MA) uygulanmış, kan serumlarındaki *S. typhimurium*'a karşı aglutininlerin titreleri şu şekilde bulunmuştur: 8 inekte "0", dört'ünde "1/20", üç'ünde "1/40", 19'unda "1/80", 18'inde "1/160", 16'sında "1/320", dört'ünde "1/640" olarak saptanmıştır. *S. typhimurium*'un dışkıdan izolasyonu ise sadece 1/320 antikor titresine sahip 16 ineğin birinden yapılabilmektedir. Sonuç olarak, etkenin intermitten

* Yard. Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak., Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

** Araş. Gör.; U.Ü. Vet. Fak., Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

*** Prof. Dr.; U.Ü. Vet. Fak., Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

**** Vet. Hekim, U.Ü. Vet. Fak., Araş. ve Uyg. Çiftliği, Bursa-Türkiye.

enterik çıkış göstermesi nedeniyle, *S. typhimurium*'a karşı yüksek aglutinin titresine sahip ineklere aralıklı olarak dışkı kültürü uygulanmasının etkinin izolasyonu açısından yararlı olacağına karar verilmiştir.

SUMMARY

A Study on The Isolation of *S. Typhimurium* and Antibody Titers to This Serotype in Blood Sera From Cows

This study was carried out for the isolation of *S. typhimurium* from cows and to determine the antibodies against this microorganism. For this purpose, 72 cows found in Research and Practice Farm of Faculty of Veterinary Medicine, Uludağ University, were used. Serologically microagglutination test (MA) was applied and agglutinin titers in blood sera against *S. typhimurium* were determined as follows: "0" in eight cow, "1/20" in four, "1/40" in three, "1/80" in 19, "1/160" in 18, "1/320" in 16 and "1/160" in four. A *S. typhimurium* strain was isolated from rectal swab of one of the 16 cows having "1/320" in antibody titers. Finally, because of the intermittent enteric excretion of the agent it was decided that periodically application of coproculture would be useful for the isolation of the causative agent from the cows with high agglutinin titers.

Key words: *S. typhimurium*, isolation, antibody titers, cows.

GİRİŞ

Zoonotik öneme sahip, konakçıya özgü olmayan *Salmonella* serotipleri insanlarda ve hayvanlarda büyük bir sorun oluşturmaktadır^{1,2}. Hatta, bunların çoklu dirençli (multiple dirençli) olanlarının oluşturdukları enfeksiyonların sağlığının çok zor olduğu bilinmektedir^{3,4,5,6}. Sığırların bu serotiplerin olası kaynaklarından biri olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur^{4,7}. *S. typhimurium* birçok ülkede bu serotiplerin dominant'ı durumundadır. Bu serotipin izolasyonu ve serolojik yöntemlerle portörlerinin belirlenmesi çalışmaları önem taşımaktadır^{2,3,6,7,8}. Bölgemiz sığırlarında yapılan bir çalışmada besi hayvanlarında % 78.1 oranında *S. typhimurium* antikorları saptanmıştır¹. Serolojik testlerden en çok uygulananları mikroagglutinasyon testleridir^{8,9,10,11,12}. Mikroagglutinasyon testi uygulanış açısından en kolay olanıdır^{8,13}.

Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde bulunan ineklerde *S. typhimurium* izolasyonu ve antikorlarının aranması, böylece portörler hakkında nasıl bir bilgi edinileceğini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Serum örnekleri: U.Ü. Vet. Fak. Araş. ve Uyg. Çiftliğindeki 72 adet sığırdan kan alındı ve serumları çıkarıldı.

Mikroaglutinasyon (MA) Testi: MA testi için "U" dipli mikropleylerden, mikropipetlerden ve "Wellcome" firmasının üretmiş olduğu boyalı *S. typhimurium* antijeninden faydalanıldı. 450 µl serum fizyolojiğe (SF) 50 µl şüpheli serum koyularak, 1/10 oranında sulandırılmış oldu. Bu sulandırmadan mikropley'in ilk çukuruna 100 µl koyuldu, diğer çukurlara ise 50'şer µl SF payedildi. Sonra ilk çukurdan 50 µl sıvı alındı ve 2. çukura aktarıldı. İkinciden alınan aynı miktardaki sıvı 3.'ye devredildi ve aktarma işlemi son çukura kadar devam ettirildi. Böylece serumun 1/10'dan başlayarak iki katlı sulandırılması elde edilmiş oldu. Daha sonra her çukura 50 µl boyalı *S. typhimurium* antijeni eklendi. Çukurlarda final sulandırma oranları 2 kat artırılmış oldu. Pleytler 18-24 saat 37°C'de inkübe edildi ve sonuçlar değerlendirildi^{8,9}.

Besiyerleri ve izolasyon işlemleri: Bakteriyolojik muayenelerde izolasyon amacıyla steril eküvyonlar, tetrathionate broth, SS-novobiyosin (SS-N) ve BG-novobiyosin (BG-N) agarlar, izole edilen mikroorganizmanın identifikasyonu için ise uygun besiyerleri kullanıldı^{14,15}.

Bakteriyolojik muayene: Serolojik muayeneleri yapılan inekler antikor titrelere göre gruplara ayrıldılar. Bu ineklerin rektal eküvyonları alınarak, tetrathionate broth'a (TT-broth) atıldı. 37°C'de 18 saat inkübasyonun sonunda TT-brothlar'dan SS-N ve BG-N agarlara pasaj yapıldı. Bu besi yerleri 37°C'de 24-48 saat inkübe edildikten sonra, üreyen *Salmonella* şüpheli koloniler gerekli muayeneye alındı^{3,4}.

BULGULAR

Mikroaglutinasyon test sonuçları: Test edilen 72 ineğin kan serumlarının 8'inde hiç antikor titresi saptanamazken, 4'ünde "1/20", 3'ünde "1/40", 19'unda "1/80", 18'inde "1/160", 16'sında "1/320" ve 4'ünde "1/640" düzeyinde antikor titresi belirlenmiştir (Tablo: I).

Bakteriyolojik muayene: Serum antikor titreleri belirlenen 72 inekten rektal eküvyonlar (dışkı örneği) alındı. Bakteriyolojik yoklamalar sonucu sadece bir ineğin dışkı örneğinden *S. typhimurium* üretilebilmiştir. Bu inek 1/320 antikor titresine sahip grup içindeydi. Diğer hayvanların dışkı kültürlerinden, kullanılan besiyerlerinin özelliğinden dolayı başta *E. coli* olmak üzere diğer enterik mikroorganizmalara ait deforme koloniler elde edilmiştir. İdentifiye edilen etkenin ampicillin, streptomycin, tetracyclin'e dirençli, neomisin chloranphenicol ve gentamycin'e duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Tablo: I
Test Edilen İneklerin Mikroaglutinasyon Testiyle Saptanan Antikor
Titrelerine Göre Dağılımı

Antikor Titresi	0	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Toplam
Hayvan Sayısı	8	4	3	19	18	16 *	4	72
Yüzde (%)	11.1	5.5	4.2	26.4	25	22.2	5.5	100

* - S. typhimurium'un izole edildiği ineğin bulunduğu grup.

Bakteriyolojik muayene: Serum antikor titreleri belirlenen 72 inekten rek-tal eküvyonlar (dışkı örneği) alındı. Bakteriyolojik yoklamalar sonucu sadece bir ineğin dışkı örneğinden S. typhimurium üretilebilmiştir. Bu inek 1/320 antikor titresine sahip grup içindeydi. Diğer hayvanların dışkı kültürlerinden, kullanılan besiyerlerinin özelliğinden dolayı başta E. coli olmak üzere diğer enterik mikroorganizmalara ait deforme koloniler elde edilmiştir. İdentifiye edilen etkenin ampicillin, streptomycin, tetracyclin'e dirençli, neomisin chloranphenicol ve gentamycin'e duyarlı olduğu belirlenmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

S. typhimurium infeksiyonlarının zoonotik önemleri ve etkenin birden fazla antibiyotiğe birden (multiple) antibiyotik direncine sahip olması nedeniyle^{1,2,3,4,5,6} bir kat daha artmıştır. Sığırların da bu mikroorganizmanın portförlülerinden biri olduğu saptandığından^{4,7}, bu çalışma ineklerde de olası taşıyıcıların serolojik ve bakteriyolojik olarak belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Çalışmada ele alınan 72 ineğin kan serumu incelenmiş, bunların 60 (% 83.4)'ında 1/40 ve yukarı titre saptanmıştır. Bu sonuç portförlük oranının fazlalığını akla getirmektedir. Yine aynı teknikle, Gedikoğlu ve ark.¹'nin yaptığı bir çalışmada bu rakamı % 80.0 olarak bulmaları bu bulguyu destekler niteliktedir. Ayrıca, bu çalışmada sadece bir inekten S. typhimurium izole edilmiştir. İzolasyonun düşük oluşu, hayvanlardaki portförlük süresiyle ve etkenin intermittennt çıkışıyla ilgilidir. Nitekim, bu konuda yapılan deneysel bir çalışmada, S. typhimurium ile enfekte 20 hayvanın ancak 3'ünden 120 gün sonra etken üretilebilmiştir¹⁴. Yine, Gedikoğlu ve ark.¹'nin yapmış olduğu çalışmada da 300 hayvanın sadece 3'ünden etkenin izole edilişi yukarıdaki bulguları teyit etmektedir.

Sonuç olarak, "1/40" ve daha yukarı antikor titresine sahip olan bireylerin sayısı ineklerde S. typhimurium portförlüğünün yüksek olduğunu göstermektedir. Ancak izolasyon sayısının az oluşu, hastalıkta portförlük süresi ve etkenin dışkıyla intermittennt çıkış özelliğine bağlıdır. Ayrıca etken izolasyonu ve identifikasyo-

nun daha gelişmiş metodlarla, örneğin Antigen Capture Immunoassey metodu, etkili olacağı ortaya konulmuştur¹⁶.

KAYNAKLAR

1. GEDİKOĞLU, S., GÖRAL, G., HELVACI, S., AYDIN, F.: Bursa bölgesindeki besi hayvanlarında *S. typhimurium* araştırması. U.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (Baskıda) (1990).
2. TIMONEY, J.F.: The epidemiology and genetics of antibiotic resistance of *Salmonella typhimurium* isolated from diseased animals in New York. *J. Infect. Dis.*, Vol. 137, No. 1, p. 67-73 (1978).
3. ÇARLI, T.: Bursa bölgesindeki yumurta ve broyler tipi tavuklardan izole edilen *Salmonella* türleri üzerinde bakteriyolojik ve serolojik çalışmalar (Doktora Tezi), Doğa, Türk Vet. Hay. Derg., Baskıda (1990).
4. MURRAY, C.J., RATCLIFF, R.M., CAMERON, P.A., DIXON, S.F.: The resistance of antimicrobial agents in *Salmonella* from veterinary sources in Australia from 1975 to 1982. *Aust. Vet. J.*, Vol. 63, p. 286-292 (1986).
5. HOLMBERG, S.D., WELLS, J.G., COHEN, M.L.: Animal to man transmission of antimicrobial resistant *Salmonella*; Investigation of U.S. outbreaks, 1971-1983. *Bri. Med. J.*, 7 May: 833-835 (1984).
6. GEDİKOĞLU, S., GÖRAL, G.: *Salmonella typhimurium* infeksiyonlarının Bursa bölgesindeki durumu. U.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (Baskıda) (1990).
7. REILLY, W.J., FORBES, G.I., PATERSON, G.M., SHARP, J.C.M.: Human and animal *Salmonellosis* in Scotland associated with environmental contamination, 1973-1979. *Vet. Rec.*, Vol. 27, p. 553-555 (1981).
8. SARI, I., THAIN, J.A.: Antibody response of turkeys to clinical infection with *Salmonella typhimurium*. *Bri. Vet. J.* Vol. 140, p. 70-75 (1984).
9. WILLIAMS, J.E., WHITTEMORE, A.D.: Serological diagnosis of pullorum disease with the microagglutination system. *Appl. Microbiol.*, Vol. 21, p. 394-399 (1971).
10. WILLIAMS, J.E., WHITTEMORE, A.D.: Comparison of six methods of detecting *Salmonella typhimurium* infection of chickens. *Avian Dis.*, Vol. 20, p. 728-733 (1976).
11. WILLIAMS, J.E., WHITTEMORE, A.D.: Microantiglobulin test for detecting *Salmonella typhimurium* agglutinins. *Appl. Microbiol.*, Vol. 23, p. 931-937 (1972).
12. WILLIAMS, J.E.: Avian *Salmonellosis*: Detection and characterization of

serologic response to major serogroup infections. *Am. J. Vet. Res.*, Vol. 36, p. 951-952 (1975).

13. WILLIAMS, J.E., WHITTMORE, A.D.: Field applications of MA and MAG tests for detection of avian Salmonellosis. U.S. Animal Health Associations's 80 th. Annual Meeting. p. 297-303 (1976).
14. COTTRAL, G.E.: Manual of standardized methods for veterinary microbiology, Cornell Univ. Press. Ithaca, London, 363-364 (1978).
15. MALLINSON, E.T.: Salmonella detection shortened and improved, Kişisel görüşme (1988).
16. MALLINSON, E.T., TATE, C.R., MILLER, R.G., BENNETT, B., RUSSEK-COHEN, E.: Monitoring poultry farms for Salmonella by drag-swab sampling and antigen-capture immunoassay, *Avian Dis.* Vol. 33, 684-690 (1989).