

Salmonella enteritidis Faj Tip 1, 4 ve 7 ile Bildircinlarda (Coturnix coturnix japonica) Oluşturulan Deneysel Salmonellosis

Gülçin ÖZTÜRK

Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Elazığ-TÜRKİYE

Fethi YILMAZ

F.Ü.Sivrice Meslek Yüksekokulu, Elazığ-TÜRKİYE

Hakan KALENDER

Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 15.06.1998

Özet : Bu çalışmada, tavuk orijinli Salmonella enteritidis faj tip (S.enteritidis PT) 1, 4 ve 7 izolatlarının 10⁹ sayıda bakteri ihtiva eden inokulumları 45 bildircine oral yolla verildi. Yaklaşık 30 gün boyunca, inokulasyonu takiben 3.günden başlamak üzere örnekler alınarak, bakteriyolojik etken izolasyonu ve şekillenen patolojik bulgular yönünden incelendi. S.enteritidis PT1 verilen bildircinlarda inokulasyonun 3.gününde ölüm görüldü. Makroskobik muayenede karaciğerde hafif hiperemi, renk değişimi ve dalakta hafif büyüme, mikroskobik muayenede ise; karaciğerde dejenerasyon, nekroz, typhoid nodül, dalakta retiküler hücre aktivasyonu, bağırsaklarda epitelde dejenerasyon ve lenfoid hiperplazi dikkat çekici bulgular olarak kaydedildi. Bakteriyel muayenede; PT1 ve PT4 verilen bildircinların inokulasyondan sonraki 23.güne kadar bağırsak içeriği ile birlikte karaciğer ve dalağından etken izole edilirken, PT7 verilenlerin 19.güne kadar yalnız bağırsak içeriğinden etken izole edilebildi.

Anahtar Sözcükler : S.enteritidis, faj tipleri, bildircin, patoloji, deneysel enfeksiyon.

Experimental Salmonellosis Caused by Salmonella enteritidis Phage Types 1, 4 and 7 in Quails (Coturnix coturnix japonica)

Abstract : In this study, S.enteritidis PT1, 4 and 7 strains isolated from chickens were used. Suspensions containing 10⁹ bacteria were inoculated orally to 45 quails. Pathological lesions were examined and bacterial isolation were performed during about 30 days. In 3rd days of experiment, one quail died in PT1 group. In macroscopic examinations, hyperemia and change of colour in liver and slight enlargement in spleen were observed. In microscopic examinations, degeneration, necrose and typhoid nodes were seen in liver. There were reticular cell hyperplasia in spleen and epithelial degeneration, lenfoid hyperplasia in intestines. Bacteria was able to isolated from intestines, liver and spleen in quails inoculated with PT1 and PT4. Only intestinal isolation was able to performed in PT7 group during experiment. After 23rd days of inoculation any phage types of bacteria was not isolated.

Key Words : S.enteritidis, phage types, quail, pathology, experimental infection.

Giriş

Kanatlılarda paratifo enfeksiyonlarına neden olan Salmonella türleri arasında, S. enteritidis önemli bir yere sahiptir. Son yıllarda tüm dünyada olduğu gibi Türkiye' de de gıda zehirlenmelerine neden olan salmonellosisin kaynağının özellikle tavuk eti ve yumurta olduğu bildirilmektedir (1-4). S. enteritidis tavuk, ördek, hindi gibi kanatlıların yanısıra güvercin, bildircin, sülün, ispinoz, muhabbet kuşu, kanarya ve papağan gibi yabani ve süs kuşlarında da en çok rastlanan salmonella türlerindedir(5). Genellikle enterik enfeksiyonlardan izole edilen S. enteritidis'in farklı faj tiplerinin varlığı bilinmektedir (3,6-8). Faj tipleri ile yapılan virulans çalışmalarında aynı faj tipine ait değişik izolatlar arasında

farklılıkların olabileceği bildirilmektedir(9). Günlük civcivlerde yapılan çalışmada PT 4 de sekal kolonizasyonun PT 7' ye göre daha fazla olduğu, PT 4' ün özellikle gıda zehirlenmelerinden izole edildiği ve invaziv karakter taşıdığı ifade edilmektedir (10). PT 1, 4 ve 7 ile fareler üzerinde yapılan deneysel bir çalışmada (11), PT 4' ün deneme sürecince kontrol edilen tüm organlardan PT 1ve 7' nin ise sadece bağırsaklardan izole edildiği bildirilmektedir.

Salmonella enfeksiyonlarında, klinik olarak solunum sayısında artış, ishal ve tüylerde düzensizlik, makroskobik muayenede dalakta büyüme ve bağırsaklarda hiperemi, mikroskobik muayenede; karaciğerde nekroz, yangı hücresi infiltrasyonları, dalakta retiküler hücre

hiperplazisi ve nekroz, bağırsaklarda lenfoid hiperplazi, epitelde dejenerasyon ve nekroz gibi bulgulardan sözedilmektedir (7,8,12,13).

Bu çalışmada, tavuklardan izole edilen *S. enteritidis* PT 1, PT 4 ve PT 7'nin kanatlı yetiştiriciliğinde giderek artan bir öneme sahip olan bildiricilerdeki patojenezi ve şekillenen patolojik lezyonların incelenmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot

Materyal

Salmonella Suşları: Tavuklardan izole edilen ve Paris Pasteur Enstitüsünde faj tipi belirlenen *S. enteritidis* PT 1, PT 4 ve PT 7 suşları kullanıldı.

Deneme Hayvanları: F.Ü. Bingöl Meslek Yüksekokulundan temin edilen 6 günlük 60 adet bildiricinin (*Coturnix coturnix japonica*) kullanıldı. Bildiricilerin Salmonella yönünden negatif oldukları bakteriyolojik olarak test edildi.

Metot

Çalışmada kullanılan bildiriciler kontrol ve 3 deneme grubu olmak üzere ayrı bölmeler içerisinde civciv büyütme yemi ve su verilerek, normal bakım şartlarında 30 gün boyunca bakıldı. Her grupta 15'er olmak üzere toplam 60 bildiricinin kullanıldı.

S. enteritidis PT 1, PT 4 ve PT 7 suşlarının buyyon kültürlerinin koloni sayım yöntemiyle (14) hesaplanan ve 0,1 ml' sinde 10^9 bakteri ihtiva eden inokulumları peros verildi. İnokulasyondan sonra bildiriciler klinik bulgular yönünden 30 gün boyunca gözlemlendi. Bu sürede ölenlerin nekropsileri yapıldı. Uygulamayı takiben 3. günden itibaren patolojik muayeneler için gün aşırı, bakteriyolojik muayeneler için ise her 4günde, birer bildiricinin nekropsileri yapılarak örnekler alındı.

Histopatolojik Muayene:

Karaciğer, dalak, kalp, böbrek, bezli mide, bağırsaklar, pankreas, akciğer ve beyinden doku örnekleri alınarak %10' luk nötral formol solusyonunda tespit edildi. Rutin doku işleme yöntemleriyle parafin bloklar hazırlanarak (5µm) kalınlığında kesit alındı. Hematoxylin Eosin (HE) yöntemiyle (15) boyanarak incelendi.

Bakteriyolojik Muayene:

İzolasyon için bildiricilerin karaciğer ve dalaklarından Mac Conkey agara ekim yapıldı ve besiyerleri aerobik

şartlarda 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Bağırsak içeriğinden ise Rappaport Vassiliadis Soya Pepton Broth' a ekim yapılarak 43°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda, bu besiyerinden Brilliant Green Agara geçildi ve 37°C'de, 24-48 saat aerobik ortamda inkübe edildi (14,16,17). Salmonella şüpheli kolonilerden hazırlanan preparatlar Gram boyama ile boyandı. Gram negatif, çomak şeklindeki mikroorganizmaların biyokimyasal ve antijenik özellikleri incelenerek identifikasyonları yapıldı (14,18).

Bulgular

Klinik Bulgular:

S. enteritidis PT 1 verilen grupta inokulasyondan sonraki 3. günde 1 bildiricinin öldüğü görüldü. Deneme süresince belirgin bir klinik bulgunun şekillenmediği saptandı.

Makroskobik Bulgular:

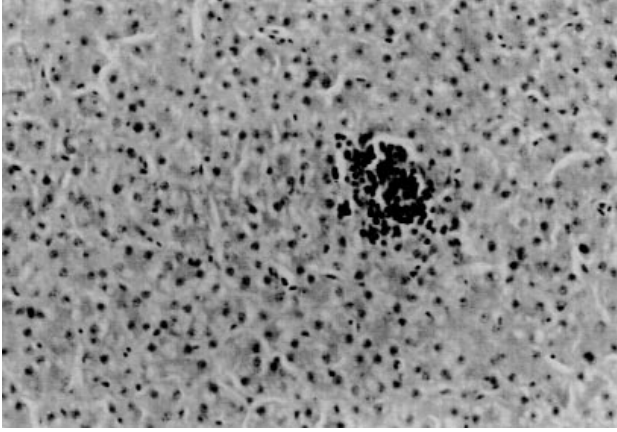
S. enteritidis PT 1 ve PT 4 verilen bildiricilerde inokulasyonu takiben 7. günde karaciğerde renk değişimi ve hiperemi, 9. günde PT 4 verilen grupta dalakta hafif büyüme görüldü. Aynı bulgu PT 1 grubunda inokulasyonun 21. gününde belirgin bir şekilde gözlemlendi. Kontrol grubu bildiricilerde makroskobik olarak herhangi bir bulgu saptanmadı.

Mikroskobik Bulgular:

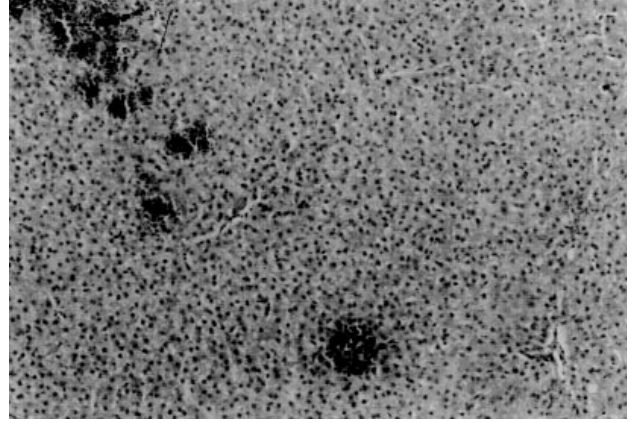
Başlıca mikroskobik değişimlerin her üç deneme grubunda da karaciğer ve bağırsaklarda şekillendiği görüldü. Karaciğerde, hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz, hafif sinuzoidal dilatasyon, kupffer hücrelerinde artış, mononükleer ve nötrofillerin oluşturduğu typhoid nodüller saptandı (Şekil-1,2) . İnokulasyonu takiben, PT1 ve PT4 verilen bildiricilerde sırasıyla 5. ve 9. günden itibaren çok küçük odaklar halinde typhoid nodül oluşmaya başladığı, ilerleyen günlerde daha belirgin hale geldiği, PT7 verilen grupta ise typhoid nodül oluşumunun nadiren şekillendiği gözlemlendi (Şekil-3) .

Dalakta özellikle PT1 ve PT4 verilen bildiricilerde hafif retiküler hücre aktivasyonu saptandı.

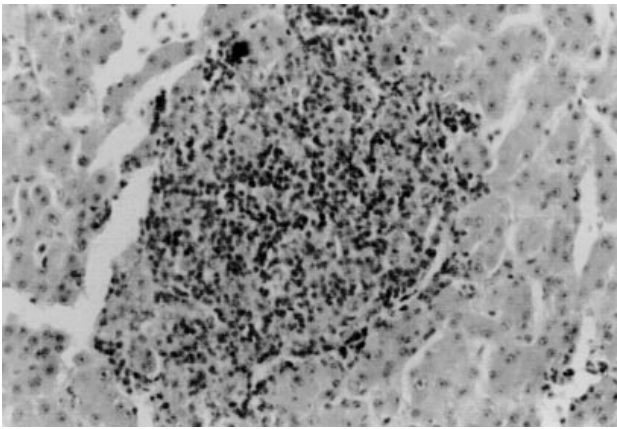
Bağırsaklarda, L. epitelyalite dejenerasyon ve deskuamasyon, L. propriyada hücre infiltrasyonları (Şekil-4) ve submukozada lenfoid hiperplazi önemli bulgular olarak dikkati çekti. PT7 verilen grupta bağırsaklardaki patolojik değişimlerin diğer iki gruptan daha erken



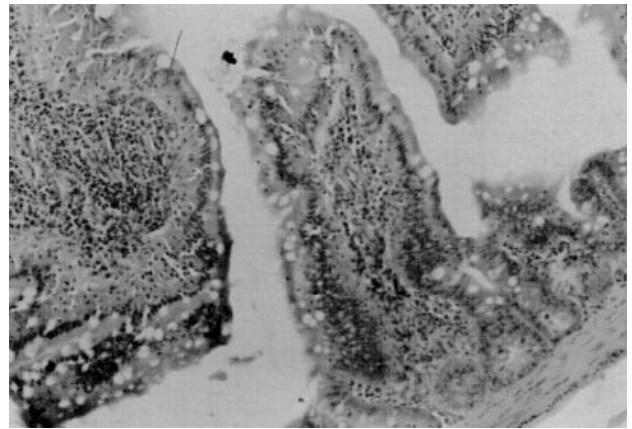
Şekil-1. Hepatositlerde dejenerasyon, typhoid nodül, karaciğer, PT4 (PI 14.gün), HE X 360.



Şekil-2. Hiperemi, sinuzoidal dilatasyon, typhoid nodül, karaciğer, PT1 (PI 14.gün), HE X 180.



Şekil-3. Typhoid nodül, karaciğer, PT7 (PI 26.gün), HE X 360.



Şekil-4. L.propriyada yangı hücresi infiltrasyonu, bağırsak, PT7 (PI 14.gün), HE X 180.

başladığı ve deneme süresince devam ettiği gözlemlendi.

Deneme grubundaki bıldırcınların diğer organlarında ve kontrol grubu bıldırcınların incelenen organlarında herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı.

Bakteriyolojik Bulgular:

İnokulasyondan sonra 3., 7., 11., 15., 19., 23., 27. ve 29. günlerde bıldırcınların karaciğer, dalak ve bağırsak içerinden yapılan ekimlerde *S. enteritidis*'in izolasyon durumu Tablo 1' de gösterildi.

Septisemi sonucu ölen PT1 verilen gruptaki bıldırcının karaciğer ve barsak içeriğinden etken izole edilirken, inokulasyondan sonraki 3. günde PT1, PT4 ve PT7 verilen gruplardaki bıldırcınların yalnız bağırsak

içeriğinden etken izole edildi. Daha sonraki bakteriyolojik muayenelerde PT7 verilen bıldırcınların yalnız bağırsak içeriğinden, PT1 ve PT4 verilen bıldırcınların ise bağırsak içeriği ile birlikte karaciğer ve dalaklarından etken izole edildi. PT7 verilen grupta 19. günden, PT1 ve PT4 verilen gruplarda ise 23. günden sonra muayene edilen hiçbir organdan etken izole edilmedi.

Tartışma ve Sonuç

Salmonella enfeksiyonu kanatlı yetiştiriciliğini tehdit eden önemli zoonozlardan birisidir. Salmonellalar ile kontamine tavuk eti ve yumurtalar insanlar için önemli enfeksiyon kaynağıdır. Bıldırcın eti ve yumurta tüketiminin son yıllarda giderek artması, bıldırcınlardaki

İnokulasyon sonrası günler	PT1			PT4			PT7		
	KC	D	B	KC	D	B	KC	D	B
3	-	-	+	-	-	+	-	-	+
7	-	-	+	-	+	+	-	-	+
11	+	-	+	-	-	+	-	-	+
15	-	-	+	+	+	+	-	-	+
19	+	+	+	-	-	+	-	-	+
23	-	-	+	-	-	+	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 1. S.enteritidis PT1, PT4 ve PT7 verilen bildiricilerin iç organlarından etken izolasyon durumu.

KC: Karaciğer, D: Dalak, B: Bağırsak,
+ : üreme oldu, - : üreme olmadı

Salmonella enfeksiyonlarının insan sağlığı açısından önemini arttırmaktadır.

Salmonella enfeksiyonlarında, gerek doğal ve gerekse deneysel çalışmalarda, etkenin farklı organlardan değişik oranlarda izole edildiği ifade edilmektedir(13,19, 20,21). Deneysel bir çalışmada (19) tavukların sekum, karaciğer, ovaryum ve dalaklarından S. enteritidis izole edildiği, inokulasyondan sonraki 22. haftada en yüksek izolasyon oranının sekumda olduğu saptanmıştır. Yine tavukların aerojen yolla enfeksiyonlarında etken öncelikle akciğer ve sindirim sisteminden, daha sonra ise ovaryum, oviduct, dalak ve böbrekten izole edilmiştir (6). S. enteritidis ile enfekte edilen 1 günlük civcivlerde karaciğer, dalak ileosekal lenf yumruları, kemik iliği ve sekum içeriğinden (22), 10 günlük bildiricilerin Salmonella enfeksiyonu sonucu ise dışkı, karaciğer, kalp, böbrek, pankreas ve dalaktan etken izolasyonu sağlanmıştır(23). Farelerde PT1, PT4 ve PT7 ile yapılan deneysel çalışmada karaciğer, dalak ve bağırsak içeriğinden etken izole edilebildiği ve bağırsakta kolonizasyonun diğer organlardan daha uzun süreli olduğu tespit edilmiştir (11).

Bu çalışmada PT1, PT4 ve PT7 verilen bildiricilerde etken izolasyonunun karaciğer, dalak ve bağırsak içeriğinden yapılabildiği, PT7 grubunda ise yalnız barsak içeriğinden izolasyonun mümkün olduğu ortaya konulmuştur. Ancak PT7' de 19. günden, PT1 ve PT4 de ise 23. günden sonra kontrol edilen hiçbir organdan etken izolasyonu yapılamamıştır. Bu durum, etkenin sindirim sisteminden ekstraintestinal dokulara invazyonu ile antikor yapımını aktive etmek suretiyle humoral bağışıklığın ve kazanılmış hücresel bağışıklığın bildiricileri enfeksiyona karşı koruduğu kanaatini uyandırmıştır.

Salmonella enfeksiyonlarında enterokolitis ve

septisemi tablosunun görüldüğü, başlıca etkilenen organların etkenin alınış yoluna göre değişmekle beraber karaciğer, dalak, bağırsaklar, akciğer ve böbrekler olduğu bildirilmektedir (6-8,11-13,24). Günlük civcivlerin S. enteritidis ile oral enfeksiyonunda, etkenlerin ileosekal bölgede görüldüğü saptanmıştır (13). Yine aynı çalışmada 2 haftalık civcivlerde ise sekumun propria mukozası, submukozası ve muskularis mukozasında diffuz heterofil infiltrasyonları ve ödem görüldüğü kaydedilmiştir. Bir başka çalışmada (24), PT4 ile enfeksiyonda yine ileum ve sekumda nötrofil lökosit infiltrasyonu ve ödem tespit edilmiştir.

Salmonella enfeksiyonlarında genel olarak karaciğerde fokal nekroz odakları, paratifoid nodüller, histiosit ve makrofaj infiltrasyonu, dalakta retikuloendotelial hiperplazi ve nekroz odaklarının varlığı bildirilmektedir (6,13).

Bu çalışmada ortaya konulan mikroskopik ve makroskopik bulguların araştırmacıların bildirmiş olduğu bulgulara benzerlik gösterdiği görülmektedir. PT1 grubunda inokulasyondan sonraki 3. günde meydana gelen ölümün spesifik immun yanıt öncesi şekillendiği düşünülmüştür. Ayrıca PT7 grubundaki lezyonların daha önce farelerde yapılan (11) çalışmadaki bulgulara benzer şekilde PT1 ve PT4 grubuna nazaran daha hafif olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, tavuk orijinli S. enteritidis PT1, PT4 ve PT7' nin bildiriciler için patojen olduğu, faj tipleri arasında bakteriyel izolasyonlar ve şekillenen lezyonlar açısından farklılıkların varlığı ortaya konulmuştur. Özellikle inokulasyondan sonraki 23. günden sonra hiçbir faj tipinde etken izolasyonunun olmaması bildiricilerin uzun süre portör olarak kalmadıklarını göstermiştir.

Kaynaklar

1. Karagül,E., Dündar,V., Özyürek, S., Akgül, A., Selçuk,S.: Haydarpaşa Numune Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları Polikliniğine Başvuran Hastalarda Salmonella enteritidis'in Neden Olduğu Gastroenterit Olguları. İnfeksiyon Derg. 1992; 6(3): 197-198.
2. Anğ-Küçükler,M., Büget,E., Dinçer,N.,Anğ,Ö.: İstanbul'da İzole Edilen Salmonella enteritidis Suşlarının Özellikleri. İnfeksiyon Derg. 1992; 6(2):91-93.
3. Hickman-Brenner,F.V., Stubbs,A.D., Farmer,J.J.: Phage Typing of Salmonella enteritidis in the United States. J.Clin.Microbiol.1991 ;29(12):2817-2823.
4. Anğ-Küçükler,M., Kimiran,A., Bal,Ç.: Kümes Hayvanlarının Et ve Yumurtalarından Salmonella enteritidis İzolasyonu. Türk Mikrobiol. Cem.Derg. 1995; 23:138-141.
5. Altay,G., Yardımcı,H.: Kafes Kuşlarının Bakteriyel ve Viral Hastalıkları. Türk Vet.Hek.Derg. 1997;9(4):30-40.
6. Baskerville,A., Humphrey,T.J., Fitzgeorge,R.B., Cook,R.W., Chart,H., Rowe,B., Whitehead,A.: Airborne Infection of Laying Hens with Salmonella enteritidis Phage Type 4. Vet.Rec. 1992; 130:395-398.
7. Özcan,C., Öztürk,G., Kalender,H.: Kobaylarda Salmonella enteritidis Faj Tip 4'ün Oluşturduğu Doğal Enfeksiyonun İncelenmesi. Tr.J. Vet.Anim.Sci. 1997; 21: 365-369.
8. Casebolt,D.B., Schoeb,T.R.: An Outbreak in Mice of Salmonellosis Caused by Salmonella enteritidis serotype enteritidis. Lab.Anim.Sci. 1988; 38(2):190-192.
9. Chart,H., Threlfall,E.J., Rowe,B.: Virulence Studies of Salmonella enteritidis Phage Types. Letters App.Microbiol. 1991;12(5):188-191.
10. Poppe,C., Demczuk,W., Mc Fadden,K., Johnson,R.P.: Virulence of Salmonella enteritidis Phage Types 4,8 and 13 and Other Salmonella spp. for Day-Old Chicks, Hens and Mice. Can.J.Vet.res. 1993; 12 (5): 281-287.
11. Öztürk,G., Özer,H., Kalender,H.: Salmonella enteritidis Faj Tipleri İle Farelerde Oluşturulan Deneysel Salmonellosis. Tr.J.Vet.Anim. Sci., 1998; 22: 371-377.
12. Çarlı,K.T., Şen,A., Kahraman,M.M., Özmen,Ö.: Salmonella typhimurium İle Enfekte Edilen Farelerde Bazı İncelemeler. Tr.J.Vet.Anim.Sci. 1996; 20(2): 103-107.
13. Turnbull,P.C.B., Snoeyenbos,G.H.: Experimental Salmonellosis in The Chicken. I.Fate and Host Response in Alimentary Canal, Liver, and Spleen. Avian Dis. 1973; 18(2):153-177.
14. Bilgehan,H.: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Banş Yay., İzmir, 121-135,387-411,1992.
15. Mc Manus,J.F.A., Mowry,R.W.: Staining Methods, Histologic and Histochemical. Paul B. Hoeber Inc., 67-74, 1960.
16. Barrow,P.A.: Recent Progress in the Diagnosis and Control of Salmonella Infections in Poultry. World Organization for Animal Health, 63 rd General session, Paris, 1995.
17. Bekar,M.: Enterobacteriaceae Familyası Mikroorganizmaların Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri. Etlik Vet. Kont.Arşt.Enst., Ankara, 1995.
18. Lassen,J.: Rapid Identification of Gram negative Rods Using a Three-Tube Method Combined with a Dichotomic Key. Acta Pathol.Microbiol.Scand. Sect.B. 1975; 83: 525-533.
19. Gast,R.K., Beard,C.W.: Isolation of Salmonella enteritidis from Internal Organs of Experimentally Infected Hens. Avian Dis. 1990; 34: 991-993.
20. Hinton,M., Threlfall,E.J., Rowe,B.: The Invasive Potential of Salmonella enteritidis Phage Types for Young Chickens. Letters App. Microbiol. 1990; 10: 237-239.
21. Sarma,B.J., Dhanalakshymi,K., Reddy,B.D., Chetty,M.S.: An Outbreak Due to Salmonella gallinarum in Japanese Quails. Ind.Vet.J. 1988;65(12): 1139-1140.
22. Turan,N., Ilgaz,A.: Tavuklarda Salmonella enteritidis ve Salmonella typhimurium ile Oluşturulan Deneysel Enfeksiyonlar ve Marmara Bölgesindeki Seroplavalansı. Yutav Uluslar arası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı, 24-27 Mayıs, 227-236. 1995.
23. Buchholz,P.S., Fairbrother, A.: Pathogenicity of Salmonella pullorum in Northern Bobwhite Quail and Mallard Ducks. Avian Dis. 1992; 36(2): 304-312.
24. Humphrey,T.J., Chart,H., Baskerville,A., Rowe,B.: The Influence of Age on the Response of SPF Hens to Infection with Salmonella enteritidis PT4. Epidemiol. Infect. 1991; 106: 33-43.