

28236

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SALMONELLA ENTERITIDIS SUŞLARINDA

HEMAGLUTİNASYON ETKİNLİĞİ

VE FİMBRİYALAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayten KİMİRAN

Biyoloji Anabilim Dalı

(Mikrobiyoloji Programı)

Danışman : Doç. Dr. Mine ANĞ-KÜÇÜKER

YÜKSEK LİSANS TEZİ
HEMAGLUTİNASYON ETKİNLİĞİ

ARALIK - 1993

ÖNSÖZ

Bakterilerin patojenite faktörleri arasında yer alan ve ancak elektron mikroskopuyla görünür kılınan fimbriyalar, bakterilerin konak organizmanın mukoza yüzeylerine yapışmalarından sorumlu organelleridir. Mukoza yüzeylerine yapışma özelliği bir bakterinin bir konak organizmada infeksiyon ve infeksiyon hastalığı oluşturabilmesinin birincil koşulu olması nedeniyle büyük önem taşımaktadır.

Özellikle Enterobacteriaceae ailesi üyesi bakterilerde sıklıkla varolan fimbriyaların işlevsel ve yapısal özelliklerine göre birbirinden farklılıklar gösteren tipleri bulunmaktadır. Değişik bakteri cinsleri veya aynı cinsin değişik türleri farklı fimbriya tiplerine sahip olabildikleri gibi bakterilerin fimbriya oluşturma özellikleri ortam koşullarına da bağlı olarak değişebilmektedir.

Bakteri fimbriyaları farklı hücre tipleri arasında eritrositlere de yapışabilme ve böylelikle eritrositleri aglutine etme (hemaglutinasyon) yetenekleriyle bakteri hemaglutininleri (fimbriyal hemaglutininler) arasında yer almaktadırlar. Bu bağlamda, fimbriyaların varlıklarını ve yapışmada oynadıkları rolü göstermeye yönelik in vitro araştırmalarda kullanılan yöntemlerden biri de bakterilerin hemaglutinasyon yeteneklerinin gösterilmesine dayanır.

Salmonella cinsi bakterilerde fimbriyal hemaglutininlerden başka non-fimbriyal salgısal hemaglutininlerin varlığı da saptanmıştır.

Bakterilerde, cins ve türlere, ayrıca ortam koşullarına bağlı olarak farklılıklar gösteren fimbriya oluşumu, fimbriyal ve non-fimbriyal hemaglutinasyon özellikleri, hemaglutinasyon tipleri, eritrosit profilleri gibi özelliklerin araştırılmasında; bir yandan bilimsel bir merak sorunu, bir yandan da bakterilere ait epidemiyolojik bilgilerin genişletilmesiyle sağlık sorunlarıyla ilişkili pratik yaklaşımlara olanak sağlanması gibi amaçlardan sözedilebilir.

Bu çalışmada, gastroenterit etkeni olarak insanlardan izole edilmiş ve faj tipleri, plazmid profilleri, antibiyotik duyarlılıkları gibi bazı epidemiyolojik özellikleri önceden bilinen (5) 11 adet Salmonella enteritidis suşunun kobay,

tavşan, tavuk, koyun, sığır, öküz ve insan gibi farklı eritrosit tiplerini aglutine etme yetenekleri, oluşturdıkları hamaglutinasyon tipleriyle fimbriya oluşturma özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Danışmanlığımı üstlenerek tez çalışmalarımı yönlendiren, destek ve yardımlarını esirgemeyen, bilgilerinden yararlandığım Sayın Hocam Doç. Dr. Mine ANĞ KÜÇÜKER'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Elektronmikrografların çekimini gerçekleştiren Sayın Doç. Dr. Özden ÖZMUTLU'ya ve filmlerin basımında emeği geçen Sayın Araş. Gör. Melike ERKAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Ayten Kimiran



İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZ VE ABSTRACT	IV
KISALTMALAR	VI
I. GİRİŞ.....	1
II. MATERYAL VE METOD.....	9
III. BULGULAR.....	12
IV. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	25
V. ÖZET VE SUMMARY	30
VI. KAYNAKLAR	32
VII. ÖZGEÇMİŞ	37

ÖZ**Salmonella Enteritidis Suşlarında
Hemaglutinasyon Etkinliği ve Fimbriyalar**

Bu çalışmada, buyyon ve fosfat tamponlu agar besiyerlerinde 22°C ve 37°C sıcaklıklarda üretilen 11 adet *Salmonella enteritidis* suşunun kobay, tavşan, tavuk, koyun, sığır, insan ve öküz eritrositleriyle + 4°C'de ve oda sıcaklığında oluşturdukları hemaglutinasyon tipleri, eritrosit profilleri ve 37°C'de sıvı besiyerinde üretilen bu suşların, elektron mikroskopik yöntemlerle fimbriyaları araştırılmıştır.

Suşlar farklı sıcaklıklarda, farklı besiyerlerinde üretildiklerinde ve hemaglutinasyon deneyleri farklı sıcaklıklarda yapıldığında, oluşan hemaglutinasyon tiplerinin ve eritrosit profillerinin farklılıklar gösterdiği saptanmıştır.

Elektron mikroskobu incelemelerinde 37°C'de ve buyyon besiyerinde üretilen 11 *S. enteritidis* suşlarından altısının fimbriya oluşturduğu gözlenmiştir.

ABSTRACT**Hemagglutination Activity and
Fimbriae of *Salmonella Enteritidis* Strains**

In this study, 11 *Salmonella enteritidis* strains grown in broth and on phosphate buffered agar at 22°C and 37°C were examined for their hemagglutination types and erythrocyte profiles with erythrocyte guinea pig, rabbit, chicken, sheep, cattle, ox and human at +4°C and room temperature. Moreover these 11 *S. enteritidis* strains grown in broth media at 37°C were examined for the formation of fimbriae by electron microscopical methods.

In these study, it was shown that types of hemagglutinations and also the erythrocyte profiles of these 11 *S.enteritidis* strains are vary depending on the growth temperature of the strains and also on the temperature at which hemagglutination tests were done.

In electron microscopic examinations, six of the 11 *S.enteritidis* strains grown in broth media at 37°C were found to produce fimbriae.



KISALTMALAR

MR-HA	- Mannoza dirençli hemaglutinasyon
MS-HA	- Mannoza duyarlı hemaglutinasyon
MR/K-HA	- Mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon
Kb	- Kobay eritrositi
Tş	- Tavşan eritrositi
T	- Tavuk eritrositi
K	- Koyun eritrositi
S	- Sığır eritrositi
İ	- İnsan eritrositi
ÖT	- Tannik asitle kaplanmış öküz eritrositi
O.S.	- Oda sıcaklığı
VP	- Virulans Plazmidi

I. GİRİŞ

Bir bakterinin hastalık yapabilmesi, konak organizmanın mikroorganizmaya karşı ilgisine bağlı olduğu kadar bakterinin kendisinin sahip olduğu özgün patojenite faktörlerine de bağlıdır (4). Bu faktörler arasında en önemlilerinden biri, bakterilerin mukozaları kolonize edebilmesinin ön koşulu sayılan adherens olayından sorumlu olan ve genel olarak "adhesinler" adı verilen yapılardır (4,32). Kapsül bileşikler, bazı Gram pozitif bakterilerde fibril adı verilen özel organeller ve Gram negatif bakterilerin fimbriyaları adhesinlere örnek olarak gösterilebilirler (4).

Fimbriyalar, bakterilerde bulunan ve kirpiklerden ayrılmı olan uzantılardır. Bu uzantıların varlığı, ilk kez 1949'da Houwink ve van Iterson tarafından bildirilmiştir (16,20,21,24). Bu uzantıların morfoloji, fizyoloji ve genetiğine ilişkin bilgilerimizin büyük bölümünü Brinton, Duguid, Meynell ve Maccacora grubunun çalışmalarına borçluyuz (16). Bu uzantılara "filamentler", "tüyler", "fimbriyalar" (tekil: fimbria, çoğul: fimbriae), "piluslar" (tekil: pilus, çoğul: pili), "silyalar" (tekil: cilium, çoğul: cilia) gibi değişik adlar verilmiştir (16,20); ancak bu adlardan fimbriyalar ve piluslar genel olarak benimsenmiştir (16). Fimbriya kavramı Duguid ve arkadaşları tarafından 1955'te ortaya atılmıştır (16,20,21,45). Latince kökenli bu sözcüğün karşılığı "lif" veya "saçak" anlamındadır (16,20,45).

Fimbriyalar da kirpikler gibi hücre duvarını delip dışarı çıkan, sitoplazma veya sitoplazma zarı içerisindeki bazal granülden kaynaklanan, morfolojik ve kimyasal özellikleri bakımından kirpikten farklı uzantılardır (11,16,20,30,41,46). Fimbriyalar hareket organeli değildirler (20,24). Kirpikten daha kısa, daha ince ve daha düz olup, daha çok sayıdadırlar (17,20,22,24). Fimbriyaların boyları 0.2-20 μm , enleri de 3-14 nm arasındadır ve ancak elektron mikroskopuyla görülebilirler (16,17,21,24).

Fimbriya, fimbrillin adı verilen 17000-28000 molekül ağırlığında olan ve hidrofobik aminoasitler içeren bir proteinden yapıldır (16). Hidrofobik aminoasit alt üniteleri, fimbriyaları deterjan ve ayırıcı ajanlara karşı dirençli kılarlar (16). Kimyasal olarak inert olmaları ve düşük pH değerlerinde parçalanmamaları ile de kirpiklerden ayrılırlar (16).

Fimbriyalar, başta *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Proteus*, *Klebsiella* bakterilerinde olmak üzere *Enterobacteriaceae* üyesi cinslerde, ayrıca *Pseudomonas*'larda ve *Corynebacterium renale*, *Streptococcus salivarius* ve *Actinomyces viscosus* gibi Gram pozitif bakterilerde bulunmaktadır (16,19,20,30,34,41).

Ayrıca *Photobacterium*, *Chromobacterium*, *Moraxella*, *Caulobacter*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Neisseria* ve *Fusobacterium* cinslerinde de fimbriyaların varlığı bildirilmiştir (16,20,34,41).

Enterobacteriaceae üyesi bakterilerde fimbriyalar, peritrik yerleşim gösterdiği halde çeşitli *Pseudomonas* türlerinde fimbriyalar polar, bipolar veya peritrik yerleşim gösterirler (16,34).

Fimbriyalı çomaklar sıvı besiyerlerinde yüzeyde zar yaparak ürerler (16,21,22,40,45). Katı besiyerlerinde fimbriyalı bakterilerin kolonileri, fimbriyasızlara göre daha küçük ve daha düzgündür (16). Bazı fimbriyalı bakteriler, ortam koşullarına bağlı olarak fimbriyalı evreden fimbriyasız evreye geçebilmektedirler (16). Bakteriler, ortam koşullarından başka çeşitli genetik olaylarla da evre değişiklikleri gösterebilirler. Örneğin; mutasyon ile fimbriyalarını yitiren bakteriler fimbriyalı bakteriler ile konjugasyon sonucu yeniden fimbriyalı şekle dönüşmektedirler (16). Bakteri kültürlerinde fimbriyalı ve fimbriyasız evredeki bakteriler birarada bulunabilirler ve hatta, genotipik ve fenotipik olarak fimbriyalı olanlar (fim+), genotipik olarak fimbriyalı, ancak fimbriyasız evrede olanlar (fim(+)) ve genotipik ve fenotipik olarak fimbriyasız olanlar (fim-) olmak üzere üç tip hücre bir arada bulunabilmektedir (16).

Fimbriyaların fonksiyonu tam olarak aydınlatılmamakla birlikte, birçok patojen bakteride fimbriyaların, epitel hücrelerine yapışarak kolonizasyon ve invazyonu sağlamakla önemli bir virulans faktörü oldukları kabul edilmektedir (17,33,43). Fimbriyalı sferoblastların yapışma ve hemaglutinasyon yeteneklerine sahip olmaları, fimbriyasızların ise bu özellikleri göstermemeleri yapışmanın hücre duvarından çok fimbriyalar ile ilgili olduğunu kanıtlamaktadır (16). Fimbriyalar, eritrosit, lökosit, epitel hücreleri ve *Candida albicans* gibi maya hücresine yapışırlar. Fimbriyaların hücrelere karşı bu afiniteleri bakterilerin çeşitli tip eritrositleri aglütine edebilmesinde de rol oynamaktadır. (14,16). Böylece, hemaglutinasyon, bakteri hücrelerinin membran yüzeylerine bağlanma yeteneklerinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (16,17,24).

Bakterilerde hemaglutinasyon mekanizması, Anderson ve Houwink ve van Iterson tarafından hemaglutinasyon yapabilen bakterilerde fimbriyaların elektron mikroskopuyla gösterilmesine değin anlaşılmamıştır (24). Fimbriyalar ile hemaglutinasyon arasındaki ilişki ilk kez Duguid tarafından açıklanmıştır (33).

Duguid ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmalarda bakterilerin hemaglutinasyon yapma özelliğinin fimbriya ile yakından ilişkisi olduğu ve bunun patojeniteyle ilgili olduğu üzerinde durulmuştur (24). Fimbriyasını kaybeden bakterilerin hemaglutinasyon yapma özelliklerini de kaybettikleri bildirilmiştir (24).

Hemaglutinasyon, fimbriyalı bakterilerin eritrositlere yapışması ile oluşur. Bu tepkime enzimatik bir olay değildir; pH 3-12'de ortaya çıkar.%1 formaldehit, %0.5 fenol ve %90 etanol hemaglutinasyonu inhibe etmemektedir (16). Ancak bakteri kültürlerinin 100°C'de bekletilmeleriyle inhibe olabildiği görülmüştür (16). Hemaglutinasyon olayında fimbriyaların sayısı da önemli rol oynamaktadır (14).

Boyutları, sayıları, dağılımları (polar veya peritrik), antijenik özellikleri, adhesif özellikleri, genetik kontrolleri ve işlevsel özelliklerine göre farklılıklar gösteren fimbriya tipleri tanımlanmıştır (20).

Bakterilerin çoğunda bulunan ve bakterilerin farklı tip hücrelere yapışmasında rol oynayan fimbriyalar genelde kromozomal genlerce, buna karşılık az sayıda bakteride varolan ve konjugasyonda rol oynayan F-pilusları (seks fimbriyaları) plazmid genlerince kodlanır (20).

Duguid ve çalışma arkadaşları Tip I,II,III,IV,V,VI ve F olmak üzere yedi tip fimbriya tanımlamışlardır (14,16,20,). Tip I-VI fimbriyalar hakkında yeterli bilgi olduğu halde seks fimbriyaları hakkındaki bilgiler çok kısıtlıdır. F fimbriyalar ve Ib fimbriyalar olmak üzere iki tip seks fimbriyası saptanmıştır (20).

Mannoza duyarlı (mannose sensitive = MS) hemaglutinasyona neden olan tip I fimbriyalara sahip bakteriler, çeşitli eritrositlerin aglutinasyonuna neden olmaktadır (44) ve bu aglutine etme özelliği ortama α -D-mannoz ilavesiyle inhibe olmaktadır (12).

Tip I fimbriyalar, Enterobacteriaceae grubunun ortak fimbriyası olup tüm türlerde adhesin komponentleri birbirine benzer ve memeli hücrelerinin salgılarında ve membranlarında bulunan zincir şeklindeki mannoz artıklarını reseptör olarak seçerler (1,3,9,12,21,26,35,42,44).

Bu fimbriyalar, peritrik olarak dağılım gösterirler, sayıları genellikle hücre başına 50 ve 400 kadar olup uzunlukları 0.2-1.5 µm arasında değişmektedir (20).

Tip I fimbriyalara sahip olan bakteriler, düşük elektrofobik değişkenlik; hayvan, bitki, mantar hücrelerine güçlü yapışma özelliği; sıvı besiyerlerinde ürediklerinde, bakterilerin biraraya toplanmasına bağlı olarak yüzeyde zar oluşturma eğilimi gibi bazı özelliklere sahiptirler (8,20). Sıvı besiyerlerinde zar oluşturma yetenekleri de buyyona mannoz ilavesiyle inhibe edilebilir. Sıvı besiyerinde üreyen bakterilerin zar oluşturmalarının nedeni fimbriyalar aracılığıyla bakterilerin birbirine bağlanmalarından çok hidrofobik yapılarından kaynaklanmaktadır (20). Tip I fimbriyalara sahip bakterilerin hayvan eritrositlerini aglutine etme yetenekleri, özellikle α-D-mannoz ilavesiyle inhibe olur (mannoza duyarlı hemaglutinasyon) (8,23,25,37,40,44).

Tip I fimbriyalı bakterilerin bazen isotonik ortamda otoaglutinasyon göstermeleri, uzunlukları farklı olan fimbriyaların bakterilerin birbirine bağlanmasına neden olmalarından kaynaklanmaktadır (20).

Tip I fimbriyalar, eritrositlere olduğu gibi bakterilerin ökaryotik hücrelere yapışmalarında da rol oynamaktadırlar (9,13). Ökaryotik hücrelere yapışma özelliği de α-D-mannoz varlığında inhibe olmaktadır (8,44).

Tip I fimbriyalar, bakterilerde konjugasyon ve DNA transferinden sorumlu değildirler. Bununla beraber, bu fimbriyaların varlığının konjugasyon yapan bakteri hücreleri arasında col I plasmidinin transferinin arttığı saptanmış ve yapışmada rol oynayarak konjugasyonu kolaylaştırdıkları düşünülmüştür (20).

Tip II fimbriyaların, antijenik benzerlik gösterdikleri Tip I fimbriyaların mutanti oldukları düşünülmektedir (20). Bu fimbriyalar, dağılım ve boyut bakımından tip I fimbriyalara benzemektedirler, fakat hemaglutinasyon ve adhesif özelliklerinin olmamasıyla bunlardan ayrılırlar (20, 36). Tip II fimbriyalar; Salmonella gallinarum, Salmonella pullorum ve Salmonella paratyphi B'nin bazı suşlarında saptanmıştır (20, 36).

Tip III fimbriyalar, peritrik dağılım gösterirler ve uzunlukları bakımından (0.2-1.5 μm) tip I fimbriyalara benzerler. Sayıları genellikle hücre başına 50-1000'dir. Sayılarının tip I fimbriyalardan daha fazla olması dikkat çekicidir. *Klebsiella* ve *Serratia marcescens* suşlarında saptanan tip III fimbriyalar, bakterilere, mantar miselyumlarına, bitki hücrelerine, cam yüzeylere ve selüloz liflere mannoza dirençli tarzda yapışma özelliği vermekle birlikte hayvan hücrelerine adhesyonda rol oynamazlar ve ancak tannik asitle kaplanmış veya +70°C'de ısıtılmış eritrositlerle mannoza dirençli tip hemaglutinasyon gösterirler (20).

Bu tip hemaglutinasyon "mannoza dirençli *Klebsiella* benzeri hemaglutinasyon" olarak tanımlanmaktadır (MR/K-HA) (16).

Bakterilerin çeşitli hücre tiplerine yapışma özellikleri, bakterinin konak organizmada infeksiyon ve infeksiyon kaynağı oluşturabilmesinin ön koşulu olması yanısıra yararlı fonksiyonları da vardır. Nitekim; Korhonen ve arkadaşları, tip III fimbriyalı bakterilerin bitki kök hücrelerine yapıştığını ve bunların azot bağlayan *Klebsiella* suşlarında bakteri-bitki ilişkisini kurmada önemli bir rol oynadığını ileri sürmektedirler (10).

Tip IV fimbriyalar, mannoza dirençli (mannose - resistant= MR) fimbriyalar olup tannik asitle işlenmemiş eritrositlere yapışarak onları hemaglutine edebilmeleriyle tip III fimbriyalardan ayırtedilmektedirler (16). Bu fimbriyalar, Coetlee ve arkadaşları, Shedden ve arkadaşları, Hoenger, Gillies ve Duguid tarafından tanımlanmış olup *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia morganii* ve *Providencia rettgeri* gibi bakterilerde gösterilmişlerdir (20). Bu fimbriyalar çok incedirler. Genişlikleri yaklaşık 4.0 μm 'dir ve peritrik dağılım gösterirler. Uzunluk ve sayıca tip III fimbriyalara benzemektedirler. Mannoza dirençli hemaglutinasyon göstermeleri, adhesif özellikleri, aglutine ettikleri eritrosit tip çeşitliliği sınırlarının genişliği gibi özellikleriyle tip I fimbriyalardan ayırtedilebilirler (20).

Tip V fimbriyalar, *Pseudomonas*'larda bulunmakta olup koyun eritrositlerine kutupsal yapışma özellikleri nedeniyle hemaglutinasyon yapmazlar (16, 20) ancak eritrositlere yapışabilirler (hemadsorbsiyon). Eritrositlere yapışma (hemadsorbsiyon) yetenekleri mannoza duyarlıdır (20). Bunlar *Pseudomonas echinoides*'in monopolar fimbriyalarındır. Bu bakteri, hücre başına 50'nin üzerinde fimbriyaya sahiptir (20). Tip V fimbriyaların genişlikleri yaklaşık 5 μm , uzunluklarıysa yaklaşık olarak 1 μm 'dir (20).

Tip VI fimbriyalar, *Klebsiella ozanae* suşlarının %5'inde bulunmakta olan ve çok zayıf hemaglutinasyona neden olan fimbriyalardır (16,20). Sayıları çok az olan bu fimbriyalar (bakteri başına 4-40), kalın (~ 10 µm) ve çok uzundurlar (10 µm'den uzun) ve dağılımları peritrikittir. Bazı bakterilerde yukarda belirtilen fimbriya tiplerinin yanı sıra bunlardan ayrı olarak, daha az sayıda, daha uzun (20 µm) olan, bakteriler arasında genetik madde transferinde (konjugasyon) bir köprü ödevi gören ve bir plazmid tarafından kodlanan özelleşmiş fimbriyalar da bulunmaktadır; bunlar seks pilusu (F-pilus) olarak tanımlanmaktadırlar (16).

Duguid ve Gillies yaptıkları bir çalışmada hemaglutinasyon yapma özelliğinin, bazı suşlarda ortamda %0.5 α-D-mannoz veya metil-alfa-D mannozid varlığında tamamen inhibe olduğunu göstermişlerdir. Bu tip hemaglutinasyon "mannoza duyarlı hemaglutinasyon (MS-HA)" şeklinde adlandırılırken, mannoz varlığında da gözlenebilen hemaglutinasyon "mannoza dirençli hemaglutinasyon (MR-HA)" terimiyle anılmaya başlanmıştır (23,24). Diğer bir hemaglutinasyon da "mannoza dirençli *Klebsiella* benzeri hemaglutinasyon" olarak adlandırılır. Bu tip hemaglutinasyonda bakteriler, ancak tannik asitle kaplanmış eritrositleri aglutine ederler.

Fimbriyalar konak hücre yüzeylerindeki farklı yapılarda olabilen spesifik reseptörlere bağlanırlar (31). Tip I fimbriyalar, mannoz içeren reseptörleri tanırlar ve mannoza duyarlı hemaglutinasyona neden olurlar. Buna karşılık mannoza dirençli hemaglutinasyona neden olan fimbriyalar ökaryotik hücrelerde bulunan mannozdan başka reseptörleri de tanımaktadırlar (31).

Patojenik *E.coli* suşları, fimbriyalar dışında, eritrositlere veya diğer ökaryotik hücrelere bağlanma yeteneğinde olan bazı protein yapısında maddelere sahiptirler. Bunlar non-fimbriyal adhesinler olarak adlandırılmaktadırlar (31).

Fimbriyal adhezinler, O,H ve K'dan ayrı antijenik yapılar olup F antijeni olarak tanımlanmaktadırlar (42). *E.coli* fimbriyaları F antijeni bakımından F1'den F12'ye kadar sınıflandırılmışlardır. F1 antijenleri en sık bulunanı olup tip I fimbriyalara aittir (42) ve General Clonizing Factor (GCF) olarak ta tanımlanmaktadır (42).

Salmonella bakterilerinde mannoza duyarlı hemaglutinasyon yapan tip I fimbriyalar, mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon yapan tip III fimbriyalar ve mannoza dirençli non-fimbriyal hemaglutininler olmak üzere üç tip adherens faktörü bildirilmiştir (6,7).

Bütün Salmonella suşlarının yaklaşık olarak %80'i mannoza duyarlı hemaglutinasyon etkinliği göstermekte olup tip I fimbriyalara sahiptir. Salmonella suşlarının virulansında tip I fimbriyaların rolünün sınırlı olduğu düşünülmektedir. Yapılan deneylerde Salmonella typhimurium'un fimbriyalı ve fimbriyasız suşlarının, ağız yoluyla verildiklerinde, virulansları arasında anlamlı fark görülmemiş ve fimbriyasız suşların da ileal mukoza yüzeyine yapışabildikleri saptanmıştır (26).

Salmonella subspecies 1 ve 3'de bulunan ince fimbriyalar; Enterobacter, Klebsiella ve Yersinia'ların tip III fimbriyalarıyla antijenik yakınlık gösterirler ve onlara benzer şekilde tannik asitle kaplanmış eritrositleri aglutine etme yeteneğinde olup mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutininler (MR/K-HAs) olarak adlandırılırlar (40).

Bazı Salmonella suşlarında, salgısal bir maddenin de mannoza dirençli hemaglutinasyona neden olduğu saptanmıştır (40). Non-fimbriyal mannoza dirençli hemaglutininler (MR-HAs), Salmonella'ların birçok farklı serotipi tarafından fakat genellikle subspecies 1 tarafından oluşturulurlar (40). S. typhimurium ve Salmonella enteritidis suşlarında saptanan bu salgısal maddeye Salmonella typhi, Salmonella choleraesuis ve Salmonella dublin gibi, insanlarda invazif hastalıklara neden olan türlerde rastlanmamıştır (12,40).

Salmonella sendai tarafından oluşturulan mannoza dirençli hemaglutinasyon, dağılma özelliğiyle diğer Salmonella'lardan ayırt edilmektedir (40). Yani, eritrositlere adhere olmuş bakteriler, aglutinasyon karışımının bulunduğu ortamın sıcaklığına bağlı olarak, eritrositlerden ayrılırlar (23,40). E.coli suşlarının %60'ında, Haemophilus influenzae ve Yersinia frederiksenii'in bazı suşlarında bu özellik gözlenmiştir (40).

Salmonella enteritidis suşlarında; 14000 molekül ağırlıklı fimbrin yapısında fimbriyaların yanı sıra 21000 molekül ağırlığına sahip fimbrinden oluşmuş SEF 21 adı verilen fimbriyalar saptanmıştır. 30°C ve daha düşük sıcaklıklarda üretilen suşlar yalnızca SEF 21 fimbriyalar oluşturmaktadırlar.

Yapılan bir çalışmada bir klinik suşu olan Salmonella enteritidis 27655 suşunun mannoza duyarlı hemaglutinasyon gösterdiği ve morfolojik olarak tip I'i andıran fimbriyalar oluşturduğu gözlenmiştir ve bu fimbriyaların N-terminal aminoasit dizisinin diğer enterik bakterilerin tip I fimbriyelerindakinden farklı oldukları saptanmıştır (37).

Daha önce de söz edildiği gibi fimbriyalar, konak hücre membranlarına yapışma özellikleriyle bakteri infeksiyonlarının patogeneğinde rol oynayan önemli virölans faktörlerindendir ve eritrositlere yapışabilme özelliklerinin indikatör olarak değerlendirildiği hemaglutinasyon deneyleri ve buna paralel olarak elektronmikroskopik incelemelerle ortaya konmaktadırlar.

Bu çalışmada, tüm dünyada gastroenterit olgularından giderek artan sıklıkla izole edilen, önceleri izolasyon oranı olarak *S. typhimurium*'un sahip olduğu birinci sırayı almış olan ve özellikle kümes hayvanlarının et ve yumurtalarından insana bulaşan *S. enteritidis* serovarına ait 11 suşun farklı canlı türlerine ait eritrositleri aglutine etme yetenekleri ve fimbriya oluşturma özelliklerinin, hemaglutinasyon deneyleri ve elektronmikroskopik gözlemlerle saptanması amaçlanmıştır.

II. MATERİYAL VE METOD

Çalışmamızda, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gastroenteritli hastaların dışkılarından izole edilen 11 adet *Salmonella enteritidis* suşu kullanılmıştır.

Hemaglutinasyon yapma yeteneği incelenen bu suşlar, ayda bir kez eğri jeloz besiyerlerinde pasajları yapılarak +4°C'de saklanmışlardır.

Suşların Deneye Hazırlanması

Deneylerde buyyon besiyeri ve FTA (Fosfat tamponlu agar besiyeri) besiyerlerinde üretilen suşlar kullanılmışlardır.

Buyyon* besiyerinde, üçer gün aralıklarla sekiz kez pasajları yapılarak 37°C'de ve yedişer gün aralıklarla altı kez pasajları yapılarak 22°C'de üretilmiş olan suşlar, 2000 r.p.m'de 15 dakika santrifüj edilerek steril fizyolojik tuzlu su içinde süspanse edilmişlerdir (2,18,33,39).

Ayrıca, petri kutularındaki Fosfat tamponlu agar* besiyerlerine azaltma yöntemi ile ekilmiş olan suşlar 37°C'de 24 saat ve 22°C'de 48 saat inkübe edilerek steril fizyolojik tuzlu su içinde süspanse edilmişlerdir (2,17,18,33,39).

Eritrositlerin Deneye Hazırlanması

Hemaglutinasyon deneylerinde kullanılan kobay ve tavşan kanları İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan; koyun, tavuk ve sığır kanları Pendik Hayvan Hastalıkları Merkez Araştırma Enstitüsünden, öküz kanları mezbahadan, insan kanı ise Çapa Kızılay Kan Merkezi'nden sağlanmıştır.

Kanların, 1500 r.p.m'de 10 dakika santrifüj edilmesiyle elde edilen eritrositlerin steril fizyolojik tuzlu su ile üç kez yıkanarak steril fizyolojik tuzlu suda, ayrıca %2 mannoz içeren steril fizyolojik tuzlu suda %3'lük süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu süspansiyonların dört günden daha eski olmamasına özen gösterilmiştir (2,17,18,23,39).

* Buyyon : 10 gr Pepton, 5 gr Et özeti, 5 gr NaCl, 1000 ml Distile Su (pH: 7.0).

* FTA (Fosfat tamponlu agar): 10 gr Pepton, 5 gr Et özeti, 5 gr NaCl, 3.6 gr KH₂PO₄, 6.4 gr Na₂HPO₄, 15 gr Agar, 1000 ml Distile Su (pH:7.0).

Mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyonu (MR/K-HA) saptamak amacıyla tannik asitle kaplanmış öküz eritrositleri kullanılmıştır. Bu amaçla; deney tüplerinde %3'lük yıkanmış öküz eritrositleri eşit hacimde steril fizyolojik tuzlu su içinde hazırlanmış %0.01 tannik asit çözeltisi ile muamele edilerek 37°'de 15 dakika bekletilmişlerdir. Bekleme süresi sonunda, steril fizyolojik tuzlu su ile üç kez yıkanan eritrositlerin steril fizyolojik tuzlu su içinde %3'lük süspansiyonları hazırlanarak deneyde kullanılmıştır (18,39).

Hemaglutinasyon Deneyleri

Çalışmamızda bakteri suşlarının mannoza duyarlı, mannoza dirençli, mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon etkinlikleri tüpte hemaglutinasyon deneyleriyle incelenmiştir.

a- Mannoza dirençli hemaglutinasyon (MR-HA)

Mannoza dirençli hemaglutinasyon tipini saptamak amacıyla tüplere 0.5 ml bakteri süspansiyonu ve %2 oranında mannoz içeren steril fizyolojik tuzlu su içinde hazırlanmış %3'lük eritrosit süspansiyonundan 0.5 ml konmuştur. Tüpler iyice çalkalanmışlar ve hemaglutinasyon deneyi sonuçları +4°C ve oda sıcaklığında olmak üzere iki farklı sıcaklıkta bir gece bekleme süresi sonunda değerlendirilmiştir (2,18,23,39).

b- Mannoza duyarlı hemaglutinasyon (MS-HA)

Mannoza duyarlı hemaglutinasyon tipini saptamak amacıyla, tüplere 0.5 ml bakteri süspansiyonu ve 0.5 ml steril fizyolojik tuzlu su içinde hazırlanmış %3'lük eritrosit süspansiyonu konarak tüpler iyice çalkalanmış ve hemaglutinasyon deneyi sonuçları +4°C'de ve oda sıcaklığında olmak üzere iki farklı sıcaklıkta bekleme süresi sonunda mannoza dirençli hemaglutinasyon deneyleri sonuçlarıyla karşılaştırılarak yorumlanmışlardır (2,18,23,39).

c- Mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon (MR/K-HA)

Mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon tipini saptamak amacıyla, tüpler içine 0.5 ml bakteri süspansiyonu, 0.5 ml tannik asitle kaplanmış %3'lük öküz eritrosit süspansiyonu ve 0.5 ml steril fizyolojik tuzlu su içinde hazırlanmış %2 mannoz çözeltisi konmuş; tüpler iyice çalkalandıktan sonra hemaglutinasyon deneyi sonuçları +4°C ve oda sıcaklığında olmak üzere iki farklı sıcaklıkta bir gece bekleme süresi sonunda değerlendirilmiştir (39).

Hemaglutinasyon Deneylerine İlişkin Sonuçların Değerlendirilmesi

Sonuçların yorumlanmasında, eritrositlerin tüplerin dibinde kenarları düzensiz, girintili çıkıntılı, kalınca bir çember ya da düzensiz bir kitle halinde toplanması pozitif hemaglutinasyon reaksiyonu olarak; eritrositlerin tüplerin dibinde düzgün bir daire şeklinde çökmesi de negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Bakteri süspansiyonu ve %2 oranında mannoz içeren steril fizyolojik tuzlu sudaki %3'lük eritrosit süspansiyonu içeren tüplerde gözlenen hemaglutinasyon mannoza dirençli hemaglutinasyon (MR-HA veya R) olarak değerlendirilmiştir.

Bakteri süspansiyonu ve sadece steril fizyolojik tuzlu su ile hazırlanmış %3'lük eritrosit süspansiyonu içeren tüplerde hemaglutinasyon reaksiyonunun gözlenmesi fakat bakteri süspansiyonu ve %2 oranında mannoz içeren steril fizyolojik tuzlu sudaki eritrosit süspansiyonu içeren tüplerde hemaglutinasyon reaksiyonu gözlenmemesi, mannoza duyarlı hemaglutinasyon reaksiyonu olarak değerlendirilmiştir. Her iki tüpte reaksiyon olmaması da suşun hemaglutinasyon yapma özelliğinde olmadığı şeklinde yorumlanmıştır (23).

İçinde bakteri süspansiyonu, steril fizyolojik tuzlu su içinde hazırlanmış %0.01 tannik asit çözeltisi ile kaplanmış %3'lük öküz eritrosit süspansiyonu ve %2'lik mannoz çözeltisi bulunan tüplerde gözlenen hemaglutinasyon reaksiyonu mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon (MR/K-HA) olarak yorumlanmıştır (18,39).

Elektron mikroskopik incelemeler

Elektron mikroskopik incelemeler amacıyla negatif boyama yönteminden yararlanılmıştır. Bu yöntem uyarınca sıvı besiyerinde 37°C'de üretilen 24 saatlik S. enteritidis kültürlerinden 100 µl, formvar kaplı gridler üzerine damlatılmış ve bakterilerin grid yüzeyine yapışmaları için yaklaşık bir dakika beklenmiştir. Bu süre sonunda gridler üzerine kontrastlamak amacıyla %1'lik amonyum molibdat çözeltisinden bir damla kadar konmuş ve yaklaşık 30 saniye beklenmiştir (27). Bakterilere ait elektronmikrograflar için ZEISS 9 M elektron mikroskobu kullanılmıştır.

III. BULGULAR

Fosfat tamponlu agar ve buyyon besiyerlerinde 22°C ve 37°C sıcaklıklarda üretilen 11 adet *Salmonella enteritidis* suşunun; kobay, tavşan, tavuk, koyun, sığır, öküz ve insana ait olmak üzere yedi çeşit eritrositle +4°C ve oda sıcaklığında oluşturdıkları hemaglutinasyon reaksiyonlarına ilişkin sonuçlar tablo 1'de özetlenmiştir (Tablo 1).

22°C'de üretilmiş 11 adet *Salmonella enteritidis* suşunun +4°C'de hemaglutinasyon yeteneği incelenmiş ve incelenen 11 adet *Salmonella enteritidis* suşundan 10'unun mannoza dirençli; bu suşlardan üçünün aynı zamanda mannoza duyarlı; dördünde ayrıca mannoza dirençli *Klebsiella* benzeri hemaglutinasyon gösterdiği saptanmış olup bir suşta hiçbir eritrosit türüyle hemaglutinasyon görülmemiştir (Tablo 2).

22°C'de buyyonda üretilerek oda sıcaklığında hemaglutinasyon yeteneği incelenen 11 adet *Salmonella enteritidis* suşundan dokuzunun mannoza dirençli; bunlardan altısının aynı zamanda mannoza duyarlı; iki suşun ise sadece mannoza duyarlı hemaglutinasyon gösterdiği saptanmış olup, mannoza dirençli *Klebsiella* benzeri hemaglutinasyon yeteneği gösteren suşa rastlanmamıştır (Tablo 2).

22°C'de ve buyyonda üretilerek +4°C'de hemaglutinasyon yetenekleri incelenen *S. enteritidis* suşlarından biri kobay, tavşan, koyun, sığır ve insan eritrositleriyle; biri tavşan, tavuk, koyun, sığır ve insan eritrositleriyle; ikisi kobay, tavşan, tavuk, koyun ve sığır eritrositleriyle; biri kobay, tavşan, koyun, sığır eritrositleriyle; biri kobay, tavşan, tavuk ve koyun eritrositleriyle; biri tavşan, tavuk, koyun ve sığır eritrositleriyle; ikisi tavşan, tavuk ve koyun eritrositleriyle; biri koyun ve sığır eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon göstermiştir. Oda sıcaklığında, bu suşların biri kobay ve tavşan eritrositleriyle; üçü tavşan ve insan eritrositleriyle; dördü tavşan; biriye sığır eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon göstermiştir (Tablo 3).

Tablo 1. Buyyon ve FTA besiyelerinde 22°C ve 37°C'de üretilen S. enteritidis suşlarının farklı eritrosit tipleriyle +4°C ve oda sıcaklığında oluşturdukları hemaglutinasyon reaksiyonları (MR-HA: Mannoza dirençli hemaglutinasyon; MS-HA: Mannoza duyarlı hemaglutinasyon, MR/K-HA : Mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon; Kb: Kobay , Tş: Tavşan, T: Tavuk, K: Koyun, S: Siğir, l: İnsan eritrositi, ÖT:Tannik asitle kaplanmış öküz eritrositi ; * : Atipik reaksiyon veren suş)

Suş No	Taj Tipi	P-laz Midler	Sıcaklık	Buyyon 22°C			Buyyon 37°C			FTA 22°C			FTA 37°C		
				MR-HA	MS-HA	MR/K-HA	MR-HA	MS-HA	MR/K-HA	MR-HA	MS-HA	MR/K-HA	MR-HA	MS-HA	MR/K-HA
2	6	VP+3	4°C	K,S			Kb,Tş,T			T	Tş,K		T,K,S		
			O.S		T		Kb	Tş		Tş,T,K			Tş,T,K	Tş	
3	6	VP+2	4°C	Kb,Tş,K,S,l			Tş,T						T,K,S		
			O.S	Kb,Tş	T,K,S		Tş			Kb,Tş,T			Tş,T,K		
4	6a	VP+3	4°C	Tş,T,K,S,l			Tş,T,K			Tş,T	Tş		T,K,S		
			O.S	Tş	K		Tş			Kb,Tş,T,K			T,K,l		
5	6a	VP+1+3	4°C	Kb,Tş,K,S	T	ÖT	Tş			T,K		ÖT	T,K,S		ÖT
			O.S	Tş	T,K,S		Tş			Kb,Tş,T,K		ÖT	T,l	K	
6	6	VP+1	4°C	Kb,Tş,T,K,S		ÖT	Tş	Kb		T			S		
			O.S	S	Tş,K		Tş			T,K	Tş		T,l	Tş	
9	6a	VP	4°C	Kb,Tş,T,K,S		ÖT	Tş,T			K		ÖT			ÖT
			O.S	Tş,l	Kb,K,S		Tş			K	Tş	ÖT	T,K		
12	*	(-)	4°C	Tş,T,K			Tş			T			K		
			O.S	Tş,l			Tş			Kb,Tş,T,K		ÖT	T,K	Tş	
15	8	VP+3	4°C	Kb,Tş,T,K			Tş,T,S	K		Kb,Tş,K,S,l	Tş	ÖT	Kb,Tş,T		ÖT
			O.S		Tş		Tş,K				Tş,K,S	ÖT		S	
16	6	VP	4°C	Tş,T,K,S	Kb		Tş,K	Kb		T	Kb		T,K,S		
			O.S	Tş,l	S		Tş	T			T		T,l		
18	4	VP	4°C	Tş,T,K	Kb	ÖT	Kb,Tş			T			T,K,S		
			O.S	Tş						T,K			Tş,T,K		
13	4	VP	4°C				Tş					ÖT			
			O.S	Tş				Tş		Tş	Tş		Tş,l		

Tablo 2. 22°C'de buyyonda üretilen *S. enteritidis* suşlarında +4°C ve oda sıcaklığında saptanan MS-HA, MR-HA ve MR/K-HA tipleri.

Suş No	HA tipi							
	+4°C				Oda Sıcaklığı			
	MS	MR	MR/K	HA ⁻	MS	MR	MR/K	HA ⁻
2	-	+	-	-	+	-	-	-
3	-	+	-	-	+	+	-	-
4	-	+	-	-	+	+	-	-
5	+	+	+	-	+	+	-	-
6	-	+	+	-	+	+	-	-
9	-	+	+	-	+	+	-	-
12	-	+	-	-	-	+	-	-
15	-	+	-	-	+	-	-	-
16	+	+	-	-	+	+	-	-
18	+	+	+	-	-	+	-	-
13	-	-	-	+	-	+	-	-
	3	10	4	1	8	9	0	0

22°C'de buyyonda üretilen *S. enteritidis* suşlarından ikisi tavuk, koyun ve sığır eritrositleriyle; biri kobay, koyun ve sığır eritrositleriyle; biri tavşan ve koyun eritrositleriyle; biri tavşan; biri tavuk; biri koyun; biriyse sığır eritrositleriyle oda sıcaklığında mannoza duyarlı hemaglutinasyon göstermiştir. Bir suş tavuk eritrositleriyle, iki suş ise kobay eritrositleriyle +4°C'de mannoza duyarlı hemaglutinasyon oluşturmuştur (Tablo 3).

37°C'de buyyonda üretilerek +4°C sıcaklığında hemaglutinasyon yeteneği incelenen 11 suşun hepsinin mannoza dirençli; bunlardan dördünün de mannoza duyarlı hemaglutinasyon gösterdiği saptanmış olup ayrıca mannoza dirençli *Klebsiella* benzeri hemaglutinasyon yeteneği gösteren suşa rastlanmamıştır (Tablo 4).

37°C'de buyyonda üretilerek oda sıcaklığında hemaglutinasyon yeteneği incelenen 11 suştan dokuzunun mannoza dirençli; bunlardan aynı zamanda birinin mannoza duyarlı; bir suşun ise sadece mannoza duyarlı hemaglutinasyon gösterdiği saptanmış olup; ayrıca mannoza dirençli *Klebsiella* benzeri hemaglutinasyon yeteneği gösteren suşa rastlanmamıştır (Tablo 4).

Tablo 3. 22°C sıcaklıkta buyyonda üretilen suşların MR-HA, MS-HA eritrosit profilleri (* : Oda sıcaklığı, ** : +4°C).

MR												MS											
4°C	4°C	4°C	4°C	4°C	4°C	4°C	4°C	4°C	O.S	O.S	O.S	O.S	O.S	O.S	O.S	O.S	O.S	O.S	O.S	4°C	O.S	O.S	
Kb,T ₉ ,K,S,I	T ₉ ,T,K,S,I	Kb,T ₉ ,T,K,S	Kb,T ₉ ,K,S	Kb,T ₉ ,T,K	T ₉ ,T,K	K,S		Kb,T ₉	T ₉ ,I	T ₉	S	T,K,S	Kb,K,S	T ₉ ,K	T	K	T ₉	Kb	S				
3	4	6	5	15	12	2		3	9	4	6	3	9	6	2*	4	15	16	16				
		9			18				12	5		5			5**			18					
1	1	2	1	1	2	1	1	1	3	4	1	2	1	1	2	1	1	2	1				

Tablo 4- 37°C'de buyyonda üretilen S.enteritidis suşlarında +4°C ve oda sıcaklığında saptanan MS-HA, MR-HA ve MR/K-HA tipleri.

Suş No	HA tipi							
	+4°C				Oda Sıcaklığı			
	MS	MR	MR/K	HA ⁻	MS	MR	MR/K	HA ⁻
2	-	+	-	-	+	+	-	-
3	-	+	-	-	-	+	-	-
4	-	+	-	-	-	+	-	-
5	-	+	-	-	-	+	-	-
6	+	+	-	-	-	+	-	-
9	-	+	-	-	-	+	-	-
12	-	+	-	-	-	+	-	-
15	+	+	-	-	-	+	-	-
16	+	+	-	-	-	+	-	-
18	+	+	-	-	-	-	-	+
13	-	+	-	-	+	-	-	-
	4	11	0	0	2	9	0	1

37°C'de ve buyyonda üretilerek +4°C'de hemaglutinasyon yetenekleri incelenen S.enteritidis suşlarından biri kobay, tavşan ve tavuk eritrositleriyle; biri tavşan, tavuk ve koyun eritrositleriyle; biri tavşan, tavuk ve sığır eritrositleriyle; ikisi tavşan ve tavuk eritrositleriyle; biri kobay ve tavşan eritrositleriyle; biri tavşan ve koyun eritrositleriyle; ikisi tavşan eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon göstermiştir. Oda sıcaklığında bu suşlardan biri tavşan ve koyun eritrositleriyle; biri kobay eritrositleriyle; ikisi tavşan eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon göstermiştir. Ayrıca dört suş hem +4°C'de hem de oda sıcaklığında tavşan eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon göstermiştir (Tablo 5).

37°C'de buyyonda üretilerek oda sıcaklığında hemaglutinasyon yetenekleri incelenen S.enteritidis suşlarından ikisi tavşan eritrositleriyle; biri tavuk eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon göstermişlerdir. İki suş kobay eritrositleriyle, bir suş ise koyun eritrositleriyle +4°C'de mannoza duyarlı hemaglutinasyon oluşturmıştır (Tablo 5).

Tablo 5- 37°C sıcaklıkta buyyonda üretilen suşların MR-HA ve MS-HA eritrosit profilleri
(* : Oda sıcaklığı, **: 4°C, ***: +4°C, Oda sıcaklığı)

MR								MS			
4°C	4°C	4°C	4°C		4°C	O.S		4°C	4°C	O.S	O.S
Kb, Tş, T	Tş, T, K	Tş, T, S	Tş, T	Tş, K	Kb, Tş	Kb	Tş	Kb	K	Tş	T
2	4	15	3 9	15* 16*	18	2	3* 4** 5*** 6*** 9*** 12* 16** 13**	6 16	15	2 13	16
1	1	1	2	2	1	1	8	2	1	2	1

22°C'de fosfat tamponlu agar'da üretilerek +4°C'de hemaglutinasyon yeteneği incelenen 11 adet S. enteritidis suşundan dokuzunun mannoza dirençli; bunlardan dördünün aynı zamanda mannoza duyarlı; üçünün hem de ayrıca mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon gösterdiği bir suşun ise sadece mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon gösterdiği saptanmıştır. Bir suшта hiç bir eritrosit çeşidiyle hemaglutinasyon görülmemiştir (Tablo 6).

22°C'de fosfat tamponlu agar'da üretilerek oda sıcaklığında hemaglutinasyon yeteneği incelenen 11 suştan dokuzunun mannoza dirençli, bunlardan üçünün aynı zamanda mannoza duyarlı; bir suş sadece mannoza duyarlı; bir suş ise hem mannoza duyarlı hem de mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon göstermiştir. Dördünde ayrıca mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon gösterdiği saptanmıştır (Tablo 6).

22°C'de fosfat tamponlu agarda +4°C'de hemaglutinasyon yetenekleri incelenen S. enteritidis suşlarından biri kobay, tavşan, koyun, sığır ve insan eritrositleriyle; biri tavşan ve tavuk eritrositleriyle; biri tavuk ve koyun eritrositleriyle; dördü tavuk eritrositleriyle; biri koyun eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon göstermişlerdir. Oda sıcaklığında bu suşlardan üçü kobay, tavşan, tavuk ve koyun eritrositleriyle; biri tavşan tavuk ve koyun eritrositleriyle; ikisi tavuk ve koyun eritrositleriyle; biri tavuk; biri koyun eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon göstermişlerdir (Tablo 7).

Tablo 6. 22°C'de fosfat tamponlu agarda üretilen S.enteritidis suşlarında +4°C ve oda sıcaklığında saptanan MS-HA, MR-HA ve MR/K-HA tipleri.

Suş No	HA tipi							
	+4°C				Oda Sıcaklığı			
	MS	MR	MR/K	HA ⁻	MS	MR	MR/K	HA ⁻
2	+	+	-	-	-	+	-	-
3	-	-	-	+	-	+	-	-
4	+	+	-	-	-	+	-	-
5	-	+	+	-	-	+	+	-
6	-	+	-	-	+	+	-	-
9	-	+	+	-	+	+	+	-
12	-	+	-	-	-	+	+	-
15	+	+	+	-	+	-	+	-
16	+	+	-	-	+	-	-	-
18	-	+	-	-	-	+	-	-
13	-	-	+	-	+	+	-	-
	4	9	4	1	5	9	4	0

22°C 'de ve fosfat tamponlu agarda üretilerek +4°C'de hemaglutinasyon yetenekleri incelenen S.enteritidis suşlarından biri koyun ve tavşan eritrositleriyle; ikisi tavşan eritrositleriyle; biri kobay eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon göstermişlerdir. Oda sıcaklığında bu suşlardan biri tavşan, koyun ve insan eritrositleriyle; üçü tavşan eritrositleriyle; biri tavuk eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon göstermiştir (Tablo 7).

Tablo 7. 22°C sıcaklıkta fosfat tamponlu agarda üretilen suşların MR-HA ve MS-HA eritrosit profilleri (*: Oda sıcaklığı **: 4°C, ***:4°C, Oda sıcaklığı)

MR									MS				
4°C	O.S	O.S	O.S	4°C				O.S	O.S	4°C		4°C	O.S
Kb,Tş,K,S,l	Kb,Tş, T,K	Tş,T,K	Kb,Tş,T	Tş,T	T,K	T	K	Tş	Tş,K,l	Tş,K	Tş	Kb	T
15	4 5 12	2	3	4	5** 6* 18*	2** 6** 12* 16** 18**	9***	13	15	2	4** 6* 9* 15** 13*	16	16
1	3	1	1	1	3	5	1	1	1	1	5	1	1

37°C'de fosfat tamponlu agarda üretilerek +4°C'de hemaglutinasyon yeteneği incelenen 11 suştan dokuzu mannoza dirençli; bunlardan ikisi aynı zamanda mannoza dirençli Klebsiella benzeri; bir suş sadece mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon göstermiş olup, bir suşa ise hiçbir eritrosit çeşidiyle hemaglutinasyon olmadığı saptanmıştır. Ayrıca, mannoza duyarlı hemaglutinasyon gösteren suşa rastlanmamıştır (Tablo 8).

Tablo 8- 37°C sıcaklıkta fosfat tamponlu agarda üretilen *S. enteritidis* suşlarında +4°C ve oda sıcaklığında saptanan MS-HA, MR-HA ve MR/K-HA tipleri.

Suş No	HA tipi							
	+4°C				Oda Sıcaklığı			
	MS	MR	MR/K	HA ⁻	MS	MR	MR/K	HA ⁻
2	-	+	-	-	+	+	-	-
3	-	+	-	-	-	+	-	-
4	-	+	-	-	-	+	-	-
5	-	+	+	-	+	+	-	-
6	-	+	-	-	+	+	-	-
9	-	-	+	-	-	+	-	-
12	-	+	-	-	+	+	-	-
15	-	+	+	-	+	-	-	-
16	-	+	-	-	-	+	-	-
18	-	+	-	-	-	+	-	-
13	-	-	-	+	-	+	-	-
	0	9	3	1	5	10	0	0

37°C'de ve fosfat tamponlu agarda üretilerek +4°C'de hemaglutinasyon yeteneği incelenen *S. enteritidis* suşlarından altısı tavuk, koyun ve sığır eritrositleriyle; biri kobay, tavşan ve tavuk eritrositleriyle; biri sığır eritrositleriyle; biri de koyun eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon göstermişlerdir. Oda sıcaklığında, bu suşların üçü tavşan, tavuk ve koyun eritrositleriyle; biri tavuk, koyun ve insan eritrositleriyle, üçü tavuk ve insan eritrositleriyle; ikisi tavuk ve koyun eritrositleriyle; biri tavşan ve insan eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon göstermişlerdir (Tablo 9).

37°C'de ve fosfat tamponlu agarda üretilerek oda sıcaklığında hemaglutinasyon yeteneği incelenen *S. enteritidis* suşlarından üçünün tavşan eritrositleriyle; birinin koyun eritrositleriyle; birinin sığır eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon gösterdikleri saptanmıştır (Tablo 9).

MR									MS		
4°C	O.S	O.S	4°C	O.S	O.S	O.S	4°C	4°C	O.S	O.S	O.S
T,K,S	T _§ ,T,K	T,K,I	K _b ,T _§ ,T	T,I	T,K	T _§ ,I	S	K	T _§	K	S
2 3 4 5 16 18	2 3 18	4	15	5 6 16	9 12	13	6	12	2 6 12	5	15
6	3	1	1	3	2	1	1	1	3	1	1

Tablo 10- Buyyon besiyerinde 22°C'de üretilen S.enteritidis suşlarının kobay, tavşan, tavuk, koyun, sığır, öküz ve insan eritrositleriyle +4°C ve oda sıcaklığında gözlenen HA tipleri

[illegible]

Buyyon besiyerinde 37°C'de üretilen S.enteritidis suşlarının kobay, tavşan, tavuk, koyun, sığır, öküz ve insana ait olmak üzere yedi çeşit eritrositle +4°C ve oda sıcaklığında oluşturdukları hemaglutinasyon tipleri Tablo 11'de özetlenmiştir.

Tablo 11. Buyyon besiyerinde 37°C'de üretilen S.enteritidis suşlarının kobay, tavşan, tavuk, koyun, sığır, öküz ve insan eritrositleriyle +4°C ve oda sıcaklığında gözlenen HA tipleri.

Buyyon 37°C		4°C												Oda Sıcaklığı											
Eritrosit	HA	2	3	4	5	6	9	12	15	16	18	13	2	3	4	5	6	9	12	15	16	18	13		
Kobay	MR	+									+		+												
	MS					+				+															
Tavşan	MR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+				
	MS												+										+		
Tavuk	MR	+	+	+			+		+																
	MS																				+				
Koyun	MR			+						+										+					
	MS								+																
Sığır	MR								+																
	MS																								
İnsan	MR																								
	MS																								
Öküz	MR/K																								

Fosfat tamponlu agar besiyerinde 22°C'de üretilen S.enteritidis suşlarının kobay, tavşan, tavuk, koyun, sığır, öküz ve insana ait olmak üzere yedi çeşit eritrositle +4°C ve oda sıcaklığında oluşturdukları hemaglutinasyon tipleri Tablo 12'de özetlenmiştir.

Tablo 12- FTA besiyerinde 22°C'de üretilen S.enteritidis suşlarının kobay, tavşan, tavuk, koyun, sığır, öküz ve insan eritrositleriyle +4°C ve oda sıcaklığında gözlenen HA tipleri

FTA 22°C		4°C												Oda Sıcaklığı											
Eritrosit	HA	2	3	4	5	6	9	12	15	16	18	13	2	3	4	5	6	9	12	15	16	18	13		
Kobay	MR								+					+	+	+			+						
	MS									+															
Tavşan	MR			+					+				+	+	+	+			+				+		
	MS	+		+					+											+			+		
Tavuk	MR	+		+	+	+		+		+	+		+	+	+	+	+		+			+			
	MS																				+				
Koyun	MR				+		+		+				+		+	+	+	+	+			+			
	MS	+																		+					
Sığır	MR								+																
	MS																								
İnsan	MR								+																
	MS																			+					
Öküz	MR/K				+		+		+			+				+		+		+	+				

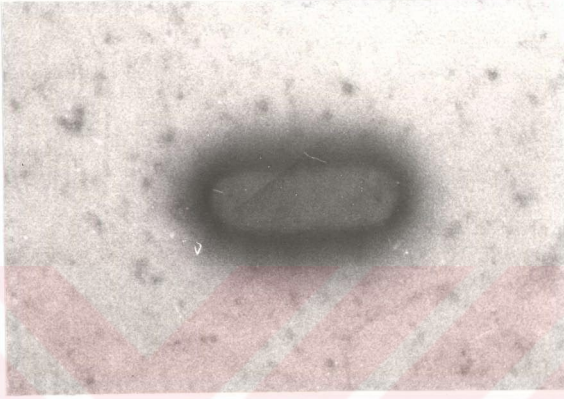
Fosfat tamponlu agar besiyerinde 37°C'de üretilen S.enteritidis suşlarının kobay, tavşan, tavuk, koyun, sığır, öküz ve insana ait olmak üzere yedi çeşit eritrositle +4°C ve oda sıcaklığında oluşturdıkları hemaglutinasyon tipleri Tablo 13'de özetlenmiştir.

Tablo 13- FTA besiyerinde 37°C'de üretilen *S.enteritidis* suşlarının kobay, tavşan, tavuk, koyun, sığır, öküz ve insan eritrositleriyle +4°C ve oda sıcaklığında gözlenen HA tipleri

FTA 37°C		4°C											Oda Sıcaklığı											
Eritrosit	HA	2	3	4	5	6	9	12	15	16	18	13	2	3	4	5	6	9	12	15	16	18	13	
Kobay	MR								+															
	MS																							
Tavşan	MR								+				+	+								+	+	
	MS												+				+		+					
Tavuk	MR	+	+	+	+				+	+	+		+	+	+	+	+	+	+		+	+		
	MS																							
Koyun	MR	+	+	+	+			+		+	+		+	+	+			+	+			+		
	MS															+								
Sığır	MR	+	+	+	+	+				+	+													
	MS																			+				
İnsan	MR														+	+	+				+		+	
	MS																							
Öküz	MR/K				+		+		+															

Elektron Mikroskobu Bulguları

37°C'de sıvı besiyerinde üretilen *S.enteritidis* suşları negatif boyama yöntemiyle elektron mikroskopik olarak incelenmişlerdir. Bu incelemelerde, 11 adet *S.enteritidis* suşlarından altısının fimbriya oluşturduğu (Resim 1), beşininse bu üreme koşullarında fimbriya oluşturmadığı (Resim 2) gözlenmiş, kullanılan mikroskobun rezolüsyon gücünün yeterli olmaması nedeniyle fimbriyaların tiplerini adlandırmak mümkün olmamıştır.



Şekil 1- Fimbriya oluşturmuş bir *S. enteritidis* hücresine ait elektronmikrograf (X 36000).



Şekil 2- Fimbriyasız bir *S. enteritidis* hücresine ait elektronmikrograf (X 36000).

IV. TARTIŞMA VE SONUÇ

Hemaglutinasyon özellikleri ve fimbriya oluşumuyla ilgili çalışmaların pek çoğu Enterobacteriaceae ailesi üyesi bakterilerle gerçekleştirilmektedir.

Çoşar, yaptığı bir çalışmada 130 üropatojen E.coli suşundan 51'inin 0-grubu insan eritrositleriyle hemaglutinasyon gösterdiğini, bunlardan sadece 15'inin mannoza duyarlı tip hemaglutinasyon yaptığını bildirmiştir (15).

265 üropatojen E.coli suşunun incelendiği bir başka çalışmadaysa bu suşlardan %56'sının insan 0-grubu eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon gösterdiği saptanmıştır (29).

Üropatojen E.coli suşlarının insan 0-grubu eritrositlerini aglutine etme yeteneklerinin bakteriye ilişkin virulans faktörleri arasında yer aldığı düşünülmekle birlikte, bu özelliğin insan ürogenital sisteminde epitel hücrelerine yapışmayla ilişkisinin varlığı ve şekli kesin olarak bilinmemektedir (15).

Çalışmamızda incelenen 11 S. enteritidis suşundan sekizinin insan eritrositleriyle mannoza dirençli, birinin mannoza duyarlı hemaglutinasyon göstermesi Çoşar'ın ve Green'in ürogenital E.coli suşlarıyla elde ettiği bulgulara benzerlik göstermektedir.

Çoşar, çeşitli kültür koşullarında üretilerek +4°C ve oda sıcaklığında hemaglutinasyon yeteneği incelenen 220 E.coli suşundan 53'ünün hemaglutinasyon yeteneği göstermediğini, hemaglutinasyon yeteneği gösteren 167 suştan 109'unun mannoza dirençli, 58'inin mannoza duyarlı hemaglutinasyon gösterdiğini, koyun ve sığır eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon yapan üropatojenik E.coli suşlarının sayısının insan ve diğer tür eritrositlerle mannoza dirençli hemaglutinasyon yapan suşların sayısından daha az olduğunu saptamıştır (17).

Çalışmamızda, S.enteritidis suşları arasında da koyun ve sığır eritrositleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon yeteneği gösteren suşların sayısının insan hariç diğer eritrosit tipleriyle mannoza dirençli hemaglutinasyon yapan

suşların sayısından az olması Çoşar'ın E.coli suşlarıyla elde ettiği bulgulara benzerlik göstermektedir.

Duguid ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, buyyon besiyerinde 37°C'de 48 saat inkübe edilen suşların kobay eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon, fosfat tamponlu agar besiyerinde 37°C'de 18 saat inkübe edilen suşların da mannoza dirençli fakat dağılan hemaglutinasyon meydana getirdiğini saptamıştır (23).

Çalışmamızda, farklı kültür sıcaklıklarının suşların farklı hemaglutinasyon tipleri (mannoza dirençli ve mannoza duyarlı hemaglutinasyon) meydana getirmesi üzerine etkisi olmadığı fakat mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyonun yalnız, buyyon ve fosfat tamponlu agar besiyerlerinde 22°C'de üretilen suşlarda rastlandığı saptanmıştır.

Çoşar, yaptığı bir çalışmada çeşitli kültür koşullarında üretilen 11 Klebsiella pneumoniae suşunun mannoza duyarlı, mannoza dirençli Klebsiella benzeri ve mannoza dirençli Proteus benzeri hemaglutinasyon tipi oluşturduğunu, hemaglutinasyon göstermeyen suşa rastlanmadığını ayrıca bir suşun koyun eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon göstermediğini, 11 Klebsiella suşunun tamamının mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon oluşturduğunu saptamıştır (18).

Çalışmamızda, çeşitli eritrosit tipleri ile meydana getirdikleri hemaglutinasyon yetenekleri incelenen S.enteritidis suşları arasında mannoza duyarlı hemaglutinasyon gösteren suşların sayısının azlığı dikkat çekmiştir. İncelenen 11 adet S.enteritidis suşundan yedisinin mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon oluşturduğu saptanmıştır.

Kantarci ve Çoşar yaptıkları bir çalışmada sekiz farklı tür eritrositle hemaglutinasyon yeteneği incelenen 103 Proteus suşunun mannoza duyarlı, mannoza dirençli Proteus benzeri ve mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinin olmak üzere üç tip hemaglutinin oluşturduklarını, en kuvvetli hemaglutinasyonun kümes hayvanları ve kobay eritrositleriyle oluşturduğunu saptamışlardır (33).

Çalışmamızda incelenen S.enteritidis suşlarında koyun, tavuk ve tavşan eritrositleriyle hemaglutinasyonun daha sık olduğu gözlenmiştir.

Adegbola ve arkadaşları, çeşitli kültür koşullarında üretilen 48 *Proteus mirabilis* suşunun farklı türlere ait eritrositlerle meydana getirdikleri hemaglutinasyon tiplerini inceleyerek bu suşların genellikle mannoza dirençli *Proteus benzeri* ve mannoza dirençli *Klebsiella benzeri*, daha az sıklıkla ise mannoza duyarlı hemaglutinasyon oluşturdıklarını saptamışlardır (2).

Old ve Adegbola, çeşitli kültür koşullarında üretilen *Morganella*, *Proteus* ve *Providencia* suşlarının mannoza duyarlı, mannoza dirençli *Proteus benzeri*, mannoza dirençli *Klebsiella benzeri* hemaglutininler olmak üzere üç tip hemaglutinin oluşturdıklarını, 37°C'den daha düşük sıcaklıklarda sıvı besiyerinde üretilen suşların daha çok mannoza dirençli *Klebsiella benzeri*, 37°C'de üretilen suşların ise mannoza dirençli hemaglutinasyon yeteneği gösterdiğini saptamışlardır(39).

Çalışmamızda, *S.enteritidis* suşları arasında da 22°C'de buyyon ve fosfat tamponlu agar besiyerinde üretilen suşlarda mannoza dirençli *Klebsiella benzeri* hemaglutinasyon saptanması Old ve arkadaşlarının *Morganella*, *Proteus*, *Providencia* suşlarıyla elde ettiği bulgulara benzerlik göstermekle birlikte farklı üreme sıcaklıklarının ve besiyerlerinin mannoza dirençli hemaglutinasyon oluşturmada önemli olmadığı görülmüştür.

Nolan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, sıvı besiyerinde iki üç gün aralıklarla altı kez pasajlarını yaparak ürettikleri hasta ve sağlıklı tavuklardan izole edilen 12 adet *Salmonella spp* suşlarından altısının kobay ve tavuk eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir (38).

Gerlach ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada Luria Agar'da 37°C'de 18-24 saat inkübe edilen dokuz adet *S.typhimurium* suşundan beşinin kobay eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon gösterdiğini saptamışlardır (28).

Utsunomiya yaptığı bir çalışmada, 37°C'de Luria buyyon'da 24 saat inkübe ederek kobay ve tavuk eritrositleriyle hemaglutinasyon yeteneğini incelediği altı adet *Salmonella kiambu* suşunun kobay ve tavuk eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon gösterdiğini saptamıştır (45).

Çalışmamızda, fosfat tamponlu agar besiyerinde 37°C'de 24 saat inkübe edilen 11 *S. enteritidis* suşunda kobay eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon görülmemesi, Gerlach'ın *S.typhimurium* suşlarıyla elde ettiği bulgulara uymamaktadır.

Aslanzadeh ve Paulissen, yaptıkları bir çalışmada sıvı besiyerinde 37°C'de 48 saat inkübe edilen iki adet *S. enteritidis* suşunun at, kobay, tavşan, fare, tavuk, keçi, koyun, insan O-A-B grubu eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon, bunlardan birinin de aynı zamanda tannik asitle kaplanmış öküz eritrositleriyle mannoza dirençli *Klebsiella* benzeri hemaglutinasyon oluşturduğunu saptamışlardır (6).

Çalışmamızda, buyyonda 37°C'de inkübe edilen *S. enteritidis* suşlarının tavuk, koyun ve sığır eritrositleriyle mannoza duyarlı hemaglutinasyon yeteneği gösterdikleri görülmüş, tannik asitle kaplanmış öküz eritrositleriyle mannoza dirençli *Klebsiella* benzeri hemaglutinasyon saptanmamıştır. Buyyonda 22°C'de inkübe edilen *S. enteritidis* suşlarının, kobay, tavşan, tavuk, koyun, sığır eritrositleriyle mannoza duyarlı, tannik asitle kaplanmış öküz eritrositleriyle mannoza dirençli *Klebsiella* benzeri hemaglutinasyon gösterdiği saptanmıştır.

Çalışmamızda, bakterilerin farklı sıcaklıklarda üretilmelerinin, suşların mannoza dirençli ve mannoza duyarlı hemaglutinasyon oluşturma özellikleri üzerine etkisi olmadığı; ancak, mannoza dirençli *Klebsiella* benzeri hemaglutinasyonun 22°C'de üretilen suşlarda daha sık gözlemlendiği saptanmıştır.

İncelenen *S. enteritidis* suşlarında mannoza dirençli hemaglutinasyon tipinin diğer hemaglutinasyon tiplerinden çok daha sık görüldüğü saptanmış olup, ayrıca bu tipe ait eritrosit profilinin spektrumunun da diğer hemaglutinasyon tiplerinde daha geniş olduğu görülmüştür. Bu suşlarda, diğer *Salmonella* serovarlarına ait suşlarda olduğu gibi mannoza dirençli hemaglutinasyonun non-fimbriyal hemaglutininlerce oluşturulduğu düşünülmektedir.

Yapılan bir çalışmada, *Salmonella*'larda 20 adet *S. typhi* suşunun hepsinde, 10 paratyphi suşunun hiçbirinde, 13 *S. paratyphi B* suşunun 12'sinde, 11 *S. typhimurium* suşunun dokuzunda, sekiz *S. gallinarum* ve *S. pullorum* suşunun altısında ve 13 farklı serotipe ait 19 suşun 18'inde fimbriyalar gözlenmiştir. Bir *S. typhi* suşunda fimbriya oluşumunun en iyi buyyon besiyerinde 37°C ve 30°C sıcaklıkta üretilmekle gerçekleştiği saptanmıştır (22).

Non-tifoid *Salmonella* spp'nin fimbriyaları görünüşte adhesif organeller oldukları ve bu fimbriyaların gastroenteritlerin oluşumunda bağırsak epitel hücrelerinin kolonizasyonu için gereklilikleri üzerinde durulmaktadır (13). *Sal-*

monella spp. tarafından oluşturulan fimbriyalar arasında patogeneizde sadece S.typhimurium'un tip I fimbriyaların rolü yaygın olarak incelenmiştir (13).

Çoşar yaptığı bir çalışmada, 113 S.typhimurium suşundan hemaglutinasyon yapan 84 suşun fimbriyaya sahip olduğunu, hemaglutinasyon yapmayan 29 suşun ise fimbriyaya sahip olmadığını saptamıştır (14).

Duguid ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, 775 S.typhimurium suşunun 107'nin hemaglutinasyon oluşturmadığını ve fimbriyasız olduklarını saptamışlar ve S.typhimurium suşlarının hemaglutinasyon aktivitesinin direkt olarak fimbriyaların varlığıyla ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Daha sonraki çalışmalarda Duguid ve Gillies, 11 S. typhimurium suşunun dokuzunun hemaglutinasyon aktivitesi göstermesi yanı sıra fimbriyalara sahip olduklarını saptamışlardır (14).

Çalışmamızda, 37°C sıcaklıkta ve sıvı besiyerinde üretilerek incelenen 11 S. enteritidis suşundan altısının fimbriya oluşturduğu, beşininse bu üreme koşullarında fimbriya oluşturmadığı gözlenmiştir.

Elektronmikroskopik incelemelerde uygulanan yöntem uyarınca, belirlenmiş koşullarda fimbriya oluşturmadığı saptanan suşların birinin diğer suşların aksine sadece tavşan eritrositleriyle ve baskın olarak mannoza dirençli hemaglutinasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu bağlamda hemaglutinasyon deneyleri sonucuyla elektron mikroskopik bulgular bu suş için uyumludur. Diğer fimbriya oluşturmeyen suşlarınsa hepsinin değişik eritrosit profilleri gösteren değişik tip hemaglutinasyon etkinliklerine sahip oldukları gözlenmiştir. Bu nedenle, bu suşlarda mannoza duyarlı hemaglutinasyon yapan, tip bir fimbriya oluşturma yeteneklerinin var olduğu ancak ya elektron mikroskobu incelemeleri amacıyla uygulanan kültür koşullarının fimbriya oluşumunu teşvik etmediği yada kullanılan elektronmikroskobunun rezolüsyon gücünün düşüklüğü nedeniyle oluşan fimbriyaların görülemediği düşünülmektedir.

Çalışmada kullanılan elektron mikroskobunun rezolüsyon gücünün fimbriyaların en, uzunluk ve ince yapısal özelliklerini saptamaya yetmemesi nedeniyle, görülen fimbriyaların tiplerini adlandırmak olanaklı olamamıştır. Ayrıca, fimbriyaların saptanmasına yönelik elektron mikroskobu incelemelerinin bakterinin farklı üreme koşullarında da yinelenmesinin daha ayrıntılı sonuçlar vereceği kanısındayız.

V.ÖZET

Bu çalışmada, buyyon ve fosfat tamponlu agar besiyerlerinde 22°C ve 37°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta üretilen 11 adet Salmonella enteritidis suşunun kobay, tavşan, tavuk, koyun, sığır, öküz ve insana ait olmak üzere yedi çeşit eritrositle +4°C ve oda sıcaklığında oluşturdukları hemaglutinasyon tipleri, eritrosit profilleri ve 37°C'de sıvı besiyerinde üretilen bu suşların elektronmikroskopik yöntemlerle fimbriyaları araştırılmıştır.

S.enteritidis suşları farklı sıcaklıklarda ve farklı besiyerlerinde üretildiklerinde ve hemaglutination deneyleri farklı sıcaklıklarda yapıldığında oluşturdukları hemaglutinasyon tiplerinin ve hemaglutinasyon eritrosit profillerinin değişiklikler gösterdiği saptanmıştır.

Genel olarak S.enteritidis suşlarında mannoza duyarlı hemaglutinasyon yapan tip I fimbriyalar, mannoza dirençli Klebsiella benzeri hemaglutinasyon yapan tip III fimbriyalar saptanmış olup, mannoza dirençli hemaglutinasyonun non-fimbriyal hemaglutininlerce gerçekleştirildiği düşünülmektedir.

Elektron mikroskobu incelemelerinde, 37°C'de ve buyyon besiyerinde üretilen 11 S. enteritidis suşlarından altısının fimbriya oluşturduğu gözlenmiş, kullanılan mikroskobun rezolüsyon gücünün düşük olması nedeniyle fimbriya tiplerini adlandırmak mümkün olamamıştır.

SUMMARY

Hemagglutination Activity and Fimbriae of Salmonella Enteritidis Strains.

In this study, 11 *Salmonella enteritidis* strains grown in broth and on phosphate buffered agar at 22°C and 37°C were examined for their hemagglutination types and erythrocyte profiles with erythrocytes of guinea pig, rabbit, chicken, sheep, cattle, ox and human at +4°C and room temperature. Moreover these 11 *S. enteritidis* strains grown in broth media at 37°C were examined for the formation of fimbriae by electron microscopical methods.

In these study, it was shown that types of hemagglutinations and also the erythrocyte profiles of these *S. enteritidis* strains are vary depending on the growth temperature of the strains and also the temperature at which hemagglutination tests were done.

The results of this study indicate that, generally ,type I fimbriae mediate mannose sensitive hemagglutination and type III fimbriae mediate mannose resistant Klebsiella like hemagglutination are produced by *S. enteritidis* strains. On the other hand, it is suggested that mannose resistant hemagglutination activity by these strains are associated with non-fimbrial hemagglutinins.

In electron microscopic examinations, six of the 11 *S. enteritidis* strains grown in broth media at 37°C were found to produce fimbriae. But, in this study, it was not possible to identify the types of fimbriae because of the low resolution power of the microscop used.

VI.KAYNAKLAR

1. **ABRAHAM, S.N., SUN, D., DALE, J.B., BEACHEY, E.H. (1988):** Conservation of the D-mannose-adhesion Protein Among Type 1 Fimbriated Members of the Family Enterobacteriaceae. *Nature*, 336, 682-684.
2. **ADEGBOLA, R.A., OLD, D.C., SENIOR, B.W. (1983):** The Adhesins and Fimbriae of *Proteus mirabilis* Strains Associated with High and Low Affinity For the Urinary Tract. *J.Med. Microbiol.* 16,427-431.
3. **ADEGBOLA, R.A., OLD, D.C. (1987):** Antigenic Relationships Among Type-1 Fimbriae of Enterobacteriaceae Revealed by Immuno- electron-microscopy. *J.Med. Microbiol.*, 24, 21-28.
4. **ANĞ-KÜÇÜKER, M. (1988):** Bakterilerin Patojenite Mekanizmaları. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 18, 71-86.
5. **ANĞ-KÜÇÜKER, M., BÜGET, E., DİNÇER, N., ANĞ, Ö. (Baskıda):** İstanbul'da izole edilen *S.enteritidis* Suşlarının Özellikleri. *İnfek. Derg.*
6. **ASLANZADEH, J., PAULISSEN, L.J. (1992):** Role of Type 1 and Type 3 Fimbriae on the Adherence and Pathogenesis of *Salmonella enteritidis* in Mice. *Microbiol. Immunol.*, 36, 351-359.
7. **BİLGEHAN, H (1989):** Temel mikrobiyoloji ve bağışıklık bilimi, 4. Baskı, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, Ankara.
8. **BRUBAKER, R.R. (1985):** Mechanism of Bacterial Virulence. *Ann. Rev. Microbiol.*, 39, 21-50.
9. **CLEGG, S., HULL, S., HULL, R., PRUCKLER, J (1985):** Construction and Comparison of Recombinant Plasmids Encoding Type 1 Fimbriae of Members of the Family Enterobacteriaceae. *Infect. Immun.*, 48, 275-279.
10. **CLEGG, S., GERLACH, G.F. (1987):** Enterobacterial Fimbriae. *J. Bacteriol.*, 169, 934-938.
11. **COLLINSON, S.K., EMÖDY, L., MÜLLER, K-H., TRUST, T.J., KAY, W.W. (1991):** Purification and Characterization of Thin, Aggregative Fimbriae from *Salmonella enteritidis*. *J. Bacteriol.*, 173, 4773-4781.

12. **COLLINSON, S.K., EMÖDY, L., TRUST, T.J., KAY, W.W (1992):** Thin Aggregative Fimbriae from Diarrheagenic *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 174, 4490-4495.
13. **COLLINSON, S.K., DOIG, P.C., DORAN, J.L., CLOUTHIER, S., TRUST, T.J., KAY, W.W. (1993):** Thin, Aggregative Fimbriae Mediate Binding of *Salmonella enteritidis* to Fibronectin. *J. Bacteriol.*, 175, 12-18.
14. **COŞAR, G (1985):** The Relationship Between Fimbriae and Hemagglutinating Activity of *Salmonella typhimurium* Strains. *KÜKEM*, 8, 21-25.
15. **COŞAR, G. (1988):** Üropatojen *Escherichia coli* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları, Hemoliz ve İnsan O-Grubu Eritrositler ile Hemagglutinasyon Özellikleri. *İnfek. Derg.*, 2, 55-60.
16. **COŞAR, G. (1988):** Bakteri Fimbriyaları. *İnfek. Derg.*, 2, 429-437.
17. **COŞAR, G. (1989) :** Hemagglutination and Fimbriae of *Escherichia coli* Strains Causing Urinary Tract Infections and Diarrhea. *İnfek. Derg.* 3, 39-47.
18. **COŞAR, G. (1989):** Fimbriyal Hemagglutinins of *Klebsiella pneumoniae*. *İnfek. Derg.*, 3, 67-74.
19. **DUBREUIL, J.D., FAIRBROTHER, J.M. (1992):** Biochemical and Serological Characterization of *Escherichia coli* Fimbrial Antigen F1652. *FEMS Microbiology Letters*, 95, 219-224.
20. **DUGUID, J.P. (1968):** The Function of Bacterial Fimbriae. *Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis*, 16, 173-188.
21. **DUGUID, J.P. (1985):** Antigens of Type 1 Fimbriae. In: *Immunology of the Bacterial Cell Envelope*. (Ed: D.E.S. Stewart-Tull and M. Davies), 301-318 John Wiley & Sons Ltd.
22. **DUGUID, J.P., GILLIES, R.R. (1958):** Fimbriae and Haemagglutinating Activity in *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus* and *Chromobacterium*. *J. Pathol. Bacteriol.*, LXXV, 519-520.
23. **DUGUID, J.P., CLEGG, S., WILSON, M.I. (1979):** The Fimbrial and Non-Fimbrial Haemagglutinins of *Escherichia coli*. *J. Med Microbiol.*, 12, 213-227.

24. **ERDARCAN, S. (1985):** Escherichia coli'nin Hemaglutinasyon Yapma Özelliği ve Hastalık Tanısındaki Değeri. Tıp Bilimleri Doktora Tezi. İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul
25. **FEUTRIER, J., KAY, W.W., TRUST, T.J. (1986):** Purification and Characterization of Fimbriae from Salmonella enteritidis. J. Bacteriol., 168, 221-227.
26. **FINLAY, B.B., FALKOW, S. (1988):** Virulence Factors Associated with Salmonella Species. Microbiological Sciences, 5, 324-327.
27. **GERHARDT, P., MURRAY, R.G.E., COSTILOW, R.N., NESTER, E.W., WOOD, W.A., KRIEG, R.N., PHILLIPS, G.B. (1981) :** Manual of methods for general bacteriology. O-914826-29-8, American Society for Microbiology Washington.
28. **GERLACH, G-F., CLEGG, S., NESS, N.J., SWENSON, D.L., ALLEN, B.L., NICHOLS, W.D. (1989):** Expression of Type 1 Fimbriae and Mannose Sensitive Hemagglutinin by Recombinant Plasmids. Infect. Immun., 57, 764-770.
29. **GREEN, C.P., THOMAS, V. (1981):** Hemagglutination of Human O Erythrocytes, Hemolysin Production and grouping of Escherichia coli Isolated from Patients with Acute Pyelonephritis, Cystitis and Asymptomatic Bacteriuria. Infect. Immun., 21, 309.
30. **GRUND, S., WEBER, A. (1988):** A New Type of Fimbriae on Salmonella typhimurium. J.Vet. Med. B, 35, 779-782.
31. **HACKER, J, (1992):** Role of Fimbrial Adhesins in the Pathogenesis of Escherichia coli Infections. Can.J.Microbiol., 38, 720-727.
32. **HERPAY, M., CZIROK, E., SZÖLLÖSY, E., FEKETE, I.G., MILCH, H. (1991):** Relative Surface Hydrophobicity, Antigen K1 and Haemagglutinating Activity Are Associated in Escherichia coli. Acta Microbiologica Hungarica, 38, 17-28.
33. **KANTARCI, G., COŞAR, G. (1988):** The Relationship Between Fimbriae and Haemagglutinating Activity of Proteus Species. İnfek. Derg., 2, 419-429.

34. **KROGFELT, K.A. (1991):** Bacterial Adhesion: Genetics, Biogenesis, and Role in Pathogenesis of Fimbrial Adhesins of *Escherichia coli*. RID, 13, 721-735.
35. **LOCKMAN, H.A., CURTIS III., R. (1992):** Virulence of Non-Type 1 Fimbriated and Non-fimbriated Nonflagellated *Salmonella typhimurium* Mutants in Murine Typhoid Fever. Infect. Immun., 60, 491-496.
36. **LOCKMAN, H.A., CURTIS, III., R. (1992):** Isolation and Characterization of Conditional Adherent and Non-Type 1 Fimbriated *Salmonella typhimurium* Mutants. Molecular Microbiol., 6, 933-945.
37. **MÜLLER, K-H., COLLINSON, S.K., TRUST, T.J., KAY, W.W. (1991):** Type 1 Fimbriae of *Salmonella enteritidis*. J.Bacteriol., 173, 4765-4772.
38. **NOLAN, L.K., WOOLEY, R.E., BROWN, J., PAYEUR, J.B. (1991):** Comparison of Phenotypic Characteristics of *Salmonella* spp Isolated from Healthy and Ill (Infected) Chickens. Am. J.Vet.Res., 52, 1512-1517.
39. **OLD, D.C., ADEGBOLE, R.A (1985):** Antigenic Relationships Among Type 3 Fimbriae of Enterobacteriaceae Revealed by Immunoelectronmicroscopy. J.Med. Microbiol., 20, 113-121.
40. **OLD, D.C., YAKUBU, D.E., SENIOR, B.W. (1989):** Characterisation of a Fimbrial Mannose - Resistant and Eluting Haemagglutinin (MREHA) Produced by Strains of *Salmonella* of Serotype Sendai. J.Med. Microbiol., 30, 59-68.
41. **PARANCHYCH, W., FROST, L.S. (1988):** The Physiology and Biochemistry of Pili. Advances in Microbial Physiology, 29, 52-114.
42. **ROTA, S., KUŞTİMUR, S., TÜRET, S., GÜLSAYIN, C. (1990):** İdrar yolu enfeksiyonu yapan *Escherichia coli*'lerin Mannoz-Sensitif (MS) ve Mannoz Rezistan (MR) Adezinleri Bakımından İncelenmesi. İnfek. Derg., 4, 563-570.
43. **SIMMONS, K.W., WOOLEY, R.E., BROWN, J. (1988):** Comparison of Virulence Factors and R Plasmids of *Salmonella* spp. Isolated from Healthy and Ill Swine. Appl. Environ. Microbiol., 54, 760-767.

44. **SOKURENKO, E.V., COURTNEY, H.S., ABRAHAM, S.N., KLEMM, P., HASTY, D.L.H. (1992):** Functional Heterogeneity of Type 1 Fimbriae of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 60, 4709-4719.
45. **UTSUNOMIYA, A. (1988):** Fimbriate Phase Variation and Purification of Type 1 Fimbriae from *Salmonella kiambu* A21. *Trop. Med.*, 30, 73-91.
46. **UTSUNOMIYA, A., NAITO, T., EHARA, M., ICHINOSE, Y., HAMAMOTO, A. (1992):** Studies on Novel Pili from *Shigella flexneri*. I. Detection of Pili and Hemagglutination Activity. *Microbiol. Immunol.*, 36, 803-813.



VII. ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında İstanbul'da doğdum. 1980 Haziran döneminde Siyavuşpaşa İlkokulu'ndan, 1986 Haziran döneminde de Kocasınan Lisesi'nden mezun oldum. Aynı yıl İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'ne kaydolarak 1991 Şubat döneminde Lisans öğrenimimi tamamladım. 1991 yılında İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Mikrobiyoloji Yüksek Lisans Programına kayıt oldum. 15 Temmuz 1992 yılında Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Programına Araştırma görevlisi olarak atandım.

Halen, araştırma görevlisi olarak aynı anabilim dalında görevimi sürdürmekteyim.



YÜKSEKÖĞRETİM KÜTÜPHANESİ
ROMANTASYON MERKEZİ