

SALMONELLA SUŞLARININ 0-1 FAJİNA KARŞI DUYARLILIKLERİNİN
BELİRLENMESİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Mustafa Arda*

Ömer Akay**

Müjgan İzgür***

Studies on the sensitivity of salmonella strains to 0-1 phage

Summary: *The purpose of this study was to investigate the sensitivity of various salmonella strains of avian origin (41 strains), salmonellae from nonavian sources (53 strains belonging to different serogroups) and the enteric bacteriae other than salmonella (40 E.coli, 9 Shigella spp., 5 Pr.vulgaris, 5 Ps.aeruginosa) to salmonella phage 0-1. To achieve this, 1 × RTD and 1000 × RTD of phage 0-1 were used in this test.*

The results have showed that 37 strains out of 41 avian origin were sensitive (90.2 %) and 37 various salmonella strains out of 53 nonavian origin were also sensitive (69.8 %). The overall sensitivity of the salmonella strains used (94 strains) was 78.7 % among the other bacteriae tested, 39 strains out of 40 E.coli, 1 were sensitive, 9 shigella spp., 5 Pr. vulgaris and 5 Ps. aeruginosa strains were found resistant to the action of phage 0-1.

It was concluded that the phage sensitivity test could only be used as a additional test besides biochemical and serologic methods.

Özet: *Bu çalışmada, kanatlı hayvanlardan izole edilen salmonella suşları ile çeşitli araştırma enstitülerinden sağlanan salmonella suşlarının ve salmonella dışındaki diğer bazı enterik bakterilerin 0-1 fajına karşı duyarlılıkları incelenmiştir. Araştırmanın sonuçlarına göre, 41 kanatlı orijinli salmonella suşundan 37 adedi (% 90.2) 0-1 fajına duyarlı, 4 adedi (% 9.7) dirençli, kanatlı orijinli olmayan toplam 53 salmonella suşundan 37 adedi (% 69.8) fajına duyarlı, 16 adedi (% 30.2) ise dirençli bulunmuştur.*

Toplam olarak 94 salmonella suşundan 74 adedinin (% 78.7) duyarlı, 20 tanesinin (% 21.3) ise 0-1 fajına dirençli oldukları belirlenmiştir.

Denemelerde kullanılan 40 E.coli, 9 Shigella, 5 Proteus vulgaris, 5 Pseudomonas aeruginosa suşları arasında 0-1 fajına karşı sadece 1 E.coli suşu duyarlı diğerleri ise dirençli bulunmuştur.

* Prof.Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara-Türkiye.

** Doç.Dr., A.Ü.Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara-Türkiye.

*** Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Giriş

Enterobacteriaceae familyasının salmonella cinsine ait türlerinin diğerlerinden ayırt edilmesinde esas olarak çeşitli biyokimyasal ve serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Ancak, biyokimyasal testler her zaman gerçek ve kesin sonuçlar vermekte yeterli olmamaktadırlar. Serolojik tanı, önce polivalan (0) ve sonra da grup spesifik 0-antiserumlardan yararlanılarak mikroorganizmanın serogrubunu belli etmektedir. Bundan sonra, flagella(H) antiserumlarıyla türü bulunmaktadır (faz-1 ve faz-2). Ancak, bu standart serumların ticari kaynaklarından elde edilmesi oldukça masraflı ve zaman alıcıdır. Bu nedenle son yıllarda, birçok ülkede, izole edilen etkenlerin salmonella cinsine ait olduğunu ortaya koymada, ilk defa Felix ve Callow(3) tarafından bulunan 01-fajından yaygın olarak yararlanılmaya başlanmıştır.

Cherry ve ark.(2) ilk olarak 0-1 fajının salmonella etkenlerinin identifikasyonundaki önemini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, denemelerinde kullandıkları 427 salmonella suşundan 415 (% 97.2)'nin 0-1 faji tarafından lize olduğunu, buna karşın 12 (% 2.8) suşun faj tarafından lize edilemediğini, ayrıca salmonella dışındaki diğer enterik mikroorganizmaların faj duyarlılıklarını incelendiğinde, bu mikroorganizmaların çok düşük oranda etkilendiklerini (Shigella 195 suşta % 0.5, *E.coli* 93 suşta % 1.1) bildirmişlerdir.

Thal ve Kallings(11), 2134 gram negatif organizmanın 0-1 fajına duyarlılıklarını incelemişlerdir. Kullandıkları 1811 salmonella suşundan 1802'sinin faj tarafından lize olduğunu, faj testinin biyokimyasal testlerle birlikte kullanılmasının salmonella'ların rutin tanısında polivalan serumlarla yapılan teşhis yerine kullanılabileceğini araştırmalarında ortaya koymuşlardır. Fey ve ark. (4), çeşitli gruplara ait toplam 8255 adet salmonella suşunun 0-1 fajına karşı duyarlılıklarını saptadıklarında, 8028 (% 97.2)'nin faja duyarlı, 227 (% 2.8)'inin ise dirençli olduğunu, ayrıca salmonella dışındaki enterik bakterilerden, Arizona grubunda 193 suştan 111'inin (% 57.5), 118 *E.coli* suşundan % 10.2'sinin, Providencia grubu 126 suştan % 2.4'nün faja karşı duyarlı, 57 *Proteus* ve 37 adet *Shigella* suşlarının ise dirençli olduklarını ve Bockmühl (1), denemelerinde kullandığı 888 salmonella suşundan % 79.2'nin 0-1 faji tarafından eritildiğini, kullanılan suşlardan 176'sının 0 grup E'ye dahil olup, bu gruptaki suşların ancak % 47.4'nün faj tarafından lize edilebildiğini belirtmişlerdir. Welkos ve ark. (12), kullandıkları 603 salmonella

suşundan % 98.2'sinin 0-1 fajı tarafından lize edildiğini, ayrıca salmonella grubu dışında teste tabi tutulan 1463 adet gram negatif organizmanın 0-1 fajına direnç gösterdiklerini, ancak testte kullanılan 239 *E.coli*'den 14'ünün (% 5.9) fajı duyarlı olduğunu, Fey ve ark.(5), toplam 22880 salmonella suşundan 21.977'sinin (% 96.1), ayrıca 707 adet diğer gram negatif organizmalardan 64 (% 9.1)'nün 0-1 fajına duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Güdel ve Fey (6), 0-grubu E₁-E₂ salmonella suşlarının 0-1 fajına karşı diğer gruplara oranla daha az duyarlı olduklarını, ancak bu grup mikroorganizmalara etkili faj G-47'nin 0-1 fajına katılmasıyla, bu faj karışımına bu grup etkenlerin daha duyarlı hale geldiklerini denemelerinde gözlediklerini bildirmişlerdir. Kazan(9), değişik kaynaklardan sağladığı 128 salmonella, 62 proteus, 18 shigella, 121 pseudomonas ve 76 adet *E.coli*'nin 0-1 fajına karşı duyarlılıklarını incelediğinde, salmonella suşlarından 126 (% 98.4) adedinin 0-1 fajı tarafından lize edildiğini, testte kullanılan diğer mikroorganizmaların bu fajdan etkilenmediklerini açıklamıştır.

Bu çalışma, kanatlı orijinli ve kanatlı orijinli olmayan salmonella suşları ile diğer enterik bakterilerin 0-1 fajına karşı duyarlılıklarının incelenmesi ve bu testin Salmonella grubu bakterilerin rutin teşhisinde geçerliliğini araştırmak amacı ile ele alınmıştır.

Materyal ve Metot

1- Kanatlı orijinli salmonella suşları

a) *Standart suşlar*: Denemelerde kullanılan *Salmonella pullorum* Standart (S-), *S.pullorum* Varyant (V-) suşları Pendik Veteriner ve Kontrol Araştırma Enstitüsünden, *S.pullorum* I.S.S. Roma, *S.gallinarum* Kauffman suşları Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Kültür Koleksiyonu ünitesinden ve *S.anatis* Gülhane Tıp Akademisi Mikrobiyoloji Bölümünden, *S.gallinarum* patojenik 1007 suşu ise, Güney Afrika Birliğinden sağlanmıştır. Ayrıca, *S.gallinarum* 9R suşu Bakteri-yoloji Bilim Dalından temin edilmiştir.

b) *İzole suşlar*: A.Ü.Veteriner Fakültesi Bakteri-yoloji Bilim Dalı'na getirilen hastalıklı ve ölü tavuklardan 18 adet, Pendik Veteriner ve Kontrol Araştırma Enstitüsünde, hastalıklı ve ölü tavuklardan izole ve identifiye 16 adet *S.gallinarum* suşu, denemelerde kullanılmıştır.

2- *Diğer salmonella suşları*: Denemelerde, çeşitli araştırma enstitülerinden sağlanan ve kanatlı orijinli olmayan toplam 53 salmonella suşundan yararlanılmıştır.

3- *salmonella dışındaki enterik bakteriler*: Bu çalışmada kullanılan 40 *E.coli*, 9 *Shigella sp.*, 5 *Proteus vulgaris*, 5 *Pseudomonas aeruginosa* Anabilim Dalı Kültür koleksiyonundan sağlanmış ve kanatlı hayvanlardan izole edilen salmonella suşları ile çeşitli enstitülerden temin edilen Salmonella suşlarının ve diğer enterik bakterilerin bütün karakterleri yeniden incelenmiştir.

0-1 *Fajı*: Çalışmada kullanılan 0-1 fajı ve konakçı suşu *S.paratyphi B*, İsviçre Bern Üniversitesi Bakteriyoloji Enstitüsünden Prof. Dr. H. Fey'den sağlanmıştır.

Antiserum: Salmonella suşlarının 0 antijenlerinin belirlenmesinde Salmonella poly-0 antiserumu (BBL) kullanılmıştır.

Besi yerleri: Denemelerde kullanılan suşların üretilmesinde, özelliklerinin saptanmasında, genel katı, sıvı besiyerlerinden ve özel ortamlardan yararlanılmıştır. Fajın üretilmesi, Rutin Test Dilusyonunun (RTD) belirlenmesi ve suşların faja duyarlılıklarının saptanmasında nutrient buyyon ve agar kullanılmıştır.

Fajın üretilmesi: Fajın üretilmesinde Fey ve ark.(4)'nın bildirdikleri yöntemden yararlanılmıştır. Isısı 37°C. olan 100 ml. nutrient buyyona, 0-1 fajının konakçı suşu *S.paratyphi B*'nin 2 saatlik 37°C. su banyosundaki buyyon kültüründen 1 ml. ve 1 ml. de 0-1 fajı ilave edilerek karışım, 37°C. lik su banyosunda ara sıra çalkalanarak 6 saat inkube edilmiştir. Bu süre sonunda faj süspansiyonuna % 2 kloroform (Merck) katılarak 1 gece oda ısısında bekletilmiş, daha sonra kuvvetlice santrifüje edilerek üst sıvı alınmış ve buna tekrar final konsantrasyonu % 2 olacak şekilde kloroform katılarak +4°C. de saklanmıştır.

Rutin test dilusyonunun (RTD) saptanması: Üretilen 0-1 fajının RTD'sini saptamak amacı ile, konakçı suşu *S.paratyphi B*'nin 18 saatlik buyyon kültüründen 0.1 ml., 7 ml. nutrient buyyona ekilenecek 37°C. lik su banyosunda 2 saat inkube edilmiştir. Bu kültürden 1 ml. yüzeyi daha önceden kurutulmuş nutrient agar plaklarına yayılmış ve 10 dak. bekletildikten sonra fazla sıvı bir pipet yardımı ile alınmış ve agar yüzeyinin tamamen kurumamasından sonra RTD'si saptanacak fajın nutrient buyyondaki 10^1 . . . 10^7 dilusyonlarından birer damla agar plaklarının işaretlenmiş bölgelerine damlatılmıştır.

Tekrar yüzeyi kurutulmuş ve 37°C. de 5-6 saat inkübasyon sonunda sonuçlar değerlendirilmiştir. 18-24 saat sonra sonuçlar tekrar kontrol edilerek, RTD, fajın mikroplar üzerindeki konfluent erimesi olarak değerlendirilmiştir.

Faj deneyi: Faja karşı duyarlılıkları saptanacak suşların 37°C. de 2 saat bekletilerek hazırlanan buyyon kültürlerinden, daha önce yüzeyleri kurutulmuş nutrient agar plaklarına yayılmıştır. Fazla olan kültürler pipetle alınarak yüzeyi tekrar kurutulmuştur. Daha sonra 1×RTD ve 1000×RTD olan fajdan birer damla damlatılarak tekrar yüzeyin kuruması sağlanmış ve agar plakları 37°C.de 6 saat inkübe edilerek sonuçlar, erime meydana getirip (+) getirmemesine (-) göre değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler 18-24 saat sonra tekrar yapılmıştır.

Bulgular

0-1 fajının RTD sonucu: Denemelerde kullanılan 0-1 fajının konakçı hücrelerinde RTD'si 10^{-5} , ve plak oluşturma ünitesi de (plaque forming unit-pfu) 12×10^{10} /ml. olarak belirlenmiştir.

Faj deneyi sonuçları

I- Kanatlı orijinli salmonella suşları

a) *Standart suşlar:* Tablo-1'de görüldüğü gibi, kanatlı orijinli standart suşlardan 3 tanesi 0-1 fajının 1×RTD'sinde, 4 tanesi ise 1000×RTD'de duyarlı bulunmuşlardır.

Tablo 1. Kanatlı orijinli standart salmonella suşlarının faj deneyi sonuçları.

Suşun adı	0-1 fajına duyarlılık	
	1xRTD	1000xRTD
S. pullorum (S)	+	+
S. pullorum (V)	+	+
S. pullorum I.S.S. Roma	-	-
S. pullorum Kauffmann	-	-
S. anatis	-	+
S. gallinarum 1007	+	+
S. gallinarum 9R	-	-

b) *İzole suşlar*: Kanatlılardan izole edilen 34 suştan 33'ü 0-1 fajının hem $1 \times \text{RTD}$ ve hemde $1000 \times \text{RTD}$ 'de, bir suş ise (*S.gallinarum* Çorum-5) her iki testte de negatif bulunmuştur (tablo-2).

Tablo 2. Kanatlı orijinli yerli izole salmonella suşlarının faj deneyi sonuçları

Suşun adı	0-1 fajına duyarlılık	
	$1 \times \text{RTD}$	$1000 \times \text{RTD}$
<i>S. gallinarum</i> (Çubuk-1,-2,-3,-4)	+	+
<i>S. gallinarum</i> (Çorum-1,-2,-3,-4)	+	+
<i>S. gallinarum</i> (Çorum-5)	-	-
<i>S.gallinarum</i> (Beypazarı-1,-2,-3,-4,-5,-6,-7)	+	-
<i>S. gallinarum</i> (Samsun)	+	+
<i>S. gallinarum</i> (Ankara)	+	+
<i>S. gallinarum</i> (Pendik-1,-2,-3,-4,-5,-6,-7,-8,-9,-10,-11,-12,-13,-14,-15,-16)	+	+

Denemelerde kullanılan standart ve izole toplam 41 salmonella kanatlı orijinli suşundan $1 \times \text{RTD}$ 'de 36 (% 87.8), $1000 \times \text{RTD}$ 'de ise 37 (% 90.2) duyarlı suşun bulunduğu saptanmıştır.

2- *Diğer salmonella suşları*: İncelenen 53 salmonella suşundan tablo-3'de görüldüğü gibi, 31 adedi (% 58.4) 0-1 fajının $1 \times \text{RTD}$ 'sinde, 37 adedi (69.8) ise, $1000 \times \text{RTD}$ 'de duyarlı olarak bulunmuştur. Dirençli olan toplam 16 salmonella suşunun (% 21.2) 5 tanesinin B, 9'un E grubuna, 2'nin ise 0 grubuna dahil oldukları belirlenmiştir (tablo-4).

3- *Salmonella dışındaki diğer enterik bakteriler*: Denemelerde kullanılan 40 *E.coli* suşundan sadece 1 tanesi $1000 \times \text{RTD}$ 'de pozitif, diğer *E.coli*'ler, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* ve shigella sp. ler negatif bulunmuştur.

Sonuç olarak, denemelerde kullanılan toplam 94 salmonella suşundan 74 (%78.7)ü faja $1000 \times \text{RTD}$ 'de duyarlı olduğu saptanmıştır.

Tablo 3. Diğer salmonella suşlarının faj deneyi sonuçları.

Suşun adı	0-1 fajna duyarlılık	
	1xRTD	1000xRTD
S. paratyphi A (1,-2,-3,-4,-5)	+	+
S. typhimurium (-1,2,-3,-4)	++	+
S. typhimurium Breslau	--	—
S. typhimurium Heildelberg	—	—
S.typhimurium Br Ursp I.R.Koch	—	--
S. dublin	+	+
S. urbana	+	+
S. abortus ovis (-1,-2)	+	+
S. havana	+	+
S. london	+	+
S. newport	+	+
S.paratyphi C	+	+
S. binza	--	—
S. botton (-1,-2)	-	---
S. paratyphi B (1,-2,-3,-4,-5,-6)	+	+
S. paratyphi B Güllhane	—	—
S. paratyphi B School UNSA IR Koch	--	--
S. hartford	--	--
S. liverpool (-1,-2)	—	--
S. minncsota WRAH Ets. 99/ 152	+	--
S. minnesota Kauffmann	—	+
S. champaign Kauffmann	+	+
S. seftenberg Kauffmann	--	—
S. seftenberg IP Ehrlich	—	+
S. thomson (-1,-2,-3)	+	+
S. riogrande	--	+
S. pensacolla	--	+
S. adelaide (-1,-2)	—	--

Tablo 3. devamı

Suşun adı	0-1 fajına duyarlılık	
	1xRTD	1000xRTD
S. illinois Kauffmann (-1,-2)	+	+
S. givc	+	+
S. arizona	—	—
S. orion	—	—
S. amsterdam	—	—
S. newington	—	—

Tablo 4. Kanatlı orijinli olmayan Salmonella gruplarının 0-1 fajına duyarlılık testi sonuçları (Toplam olarak)

Salmonella grubu	Suş adadi	1000xRTD	
		duyarlı	dirençli
A	5	5	—
B	17	12	5
C	7	7	—
D	2	2	—
E	14	5	9
G	1	1	—
L	2	2	—
N	1	1	—
O	2	1-	2
Q	1	1	—
R	1	1	—
TOPLAM	53	37	16

Tartışma ve Sonuç

Çeşitli kaynaklardan izole edilen salmonella'dan şüpheli suşlarının rutin identifikasyonlarında dünyanın birçok laboratuvarında biyokimyasal ve serolojik testler kullanılmaktadır. Salmonella 0-1 fajı ise salmonellalar üzerine yüksek oranda etkili olmasına rağmen henüz laboratuvarlarca rutin olarak kullanılan bir test haline gele-

memiştir. Klasik biyokimyasal ayırıcı sistemlerde, kesin identifikasyon için en azından 2-3 günlük bir süreye gereksinim vardır. Serolojik testlerin uygulanması hem pahalı ve hem de zaman alıcıdır. Buna karşın, 0-1 fajının kendine özgü bazı avantajları bulunmaktadır. Örneğin, faj testi çabuk, kolay ve ucuz bir yöntemdir. Ayrıca, bu fajın salmonella etkenleri üzerine etkisi de oldukça fazladır. Bunların yanı sıra faj testi 6 saat gibi kısa bir süre içinde sonuç vermektedir.

Hofmann(7), inceledikleri 1500 enterik bakteriden salmonellaların % 95'den fazlasının 0-1 fajı ile identifiye edildiklerini, difazik arizona suşlarının fajı duyarlı olduklarını ve diğer enterik bakterilerin etkilenmediklerini, Seidel(10), et ve et ürünlerinden izole edilen şüpheli salmonella mikroorganizmaların rutin tanısında, 0-1 faj testinin tamamlayıcı bir yöntem olduğunu ve biyokimyasal testlerden KCN ile birlikte uygulanmasının yararlı olacağını bildirmişlerdir. Kallings(8), denemelerinde kullandığı salmonella ve salmonella dışındaki mikroorganizmaları 3 grup altında teste tabi tutmuştur. Birinci grupta bulunan 521 salmonella suşundan 515'inin (% 98.8), salmonella olmayan 695 suştan 8'inin (% 1.2), ikinci grupta bulunan 215 salmonella suşundan 162'sinin (% 75.4), salmonella dışındaki 52 suştan 3'ünün (% 5.8), üçüncü grupta bulunan 2260 salmonella suşundan ise 2258'inin (% 99.9) fajı duyarlı olduklarını araştırmalarında açıklamıştır. Fey ve ark.(4), 8255 salmonella suşundan % 97.2'sinin fajı duyarlı, % 2.8'inin ise dirençli olduğunu ve Böckmühl(1) ise, 888 salmonella suşundan % 97.1'inin faj tarafından lize edildiğini ve denemelerde kullanılan 176 suşun 0 grup "E" ye dahil olduğunu ve bu gruptaki suşların % 47.4'nün lize edilebildiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmadan alınan sonuçlara göre, (1000×RTD kabul edilmiştir) kanatlı orijinli toplam 41 salmonella suşundan 37'sinin (% 90.2), kanatlı orijinli olmayan 53 salmonella suşlarından 37 adedinin (% 69.8) ve ayrıca çalışmalarda kullanılan toplam 59 enterik bakteriden sadece 1 adet *E.coli*'nin 0-1 fajına karşı duyarlı, diğerlerinin ise dirençli oldukları belirlenmiştir. Bu bulgulara dayanarak her ne kadar kanatlı orijinli olmayan salmonella suşlarının 0-1 fajına karşı duyarlılık oranı % 69.8 gibi düşük bir oranda bulunmasına rağmen dirençli olan 16 suşun 9'nun (% 56.2) E grubuna dahil olduğu belirlenmiş, E grubundaki salmonella suşlarının 0-1 fajına karşı sensitivitelerinin az olduğu görüşünü savunan araştırmacıların bulgularına uygunluk sağlamıştır. Kanatlılardan izole edilen salmonella suşlarının ise, yüksek oranda (% 90.2) fajı duyarlı oldukları saptanarak, araştırmacıların sonuçlarına paralellik sağlanmıştır.

Sonuç olarak, 0-1 fajının, salmonella'ların identifikasyonunda biyokimyasal ve serolojik testler yanısıra kullanılabilir olacak kolay, ucuz ve kısa sürede sonuç veren yardımcı bir test olabileceği kanısına varılmıştır.

Literatür

- 1- **Bockemüh, L.** (1972): *Die Lysogensibilität von Stämmen der Salmonella Subgenera 1-IV gegenüber dem phagen 0-1. Ihre mögliche Bedeutung für die Klassifikation des Genus Salmonella.* Med. Microbiol. Immunol., 158: 44-53.
- 2- **Cherry, W.B., David, P.R. and Hogan, R.B.** (1954): *A simple procedure for identification of the genus Salmonella by means of a Specific bacteriophage.* J. Lab. clin. Med., 44: 51-55.
- 3- **Felix, A. and Callow, B.R.** (1963): *Typing of paratyphoid B bacilli by means of Vi bacteriophage.* Brit. Vet. J. 2: 127-130.
- 4- **Fey, H., Margadant, A. und Ch. Lazona-Gutknecht.** (1971): *Eine rationelle Masendiagnostik von Salmonella (Shigella).* Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A., 218: 376-389.
- 5- **Fey, H., Burgi, E., Margadant, A. and Boller, E.** (1978): *An economic and rapid diagnostic procedure for the detection of salmonella / Shigella using the polyvalent Salmonella phage 0-1.* Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A., 240: 7-15.
- 6- **Güdel, K. and Fey, H.** (1981): *Improvement of the polyvalent Salmonella phage's 0-1 diagnostic value by addition of a phage specific for the O Groups E₁ -E₄.* Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A., 249:220-224.
- 7- **Hofmann, S.** (1957): *Über die Spezifität des O-Phagen testen nach Cherry, Davis, Edwards und Hagan.* Zbl. Bakt. I. Abt. Ref., 163: 466.
- 8- **Kallings, L.O.** (1967): *Sensitivity of various salmonella strain to Felix 0-1 phage.* Acta Path. Microbiol. Scand., 70: 466-454.
- 9- **Kazan, M.** (1981): *Salmonella tanımında Salmonella 0-1 fajının önemi.* Uzmanlık tezi.
- 10- **Seidel, G.** (1957): *Das Problem der Verwendung des 0-1 Phage in der Salmonella diagnostik.* Zbl. Bakt. I. Abt. Ref., 163: 466.
- 11- **Thal, E. und Kallings, L.O.** (1955): *Zur Bestimmung des genus Salmonella mit Hilfe eines Bakteriophagen.* Nord. Vet. Med., 7: 1063-1071.
- 12- **Welkos, S., Scriber, M. and Baer, H.** (1974): *Identification of Salmonella with the 0-1 bacteriophage.* App. Microbiol., 28: 618-622.

Teşekkür: Çalışmamızda kullanılan 0-1 fajı ve konakçı suşunu bize gönderen İsviçre Bern Üniversitesi Veteriner Bakteriyojji Enstitüsü Direktörü Prof. Dr. H. Fey'e teşekkür ederiz.

Yazı 26.7.1983 günü alınmıştır.

KANATLI TÜBERKÜLOZİSİNİN TEŞHİSİNDE ALLERJİK VE SEROLOJİK
YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Hasan Başkaya* Nejat Aydın** Ömer Akay***

An investigation on the comparing of allergic and serologic methods for the diagnosing of avian tuberculosis.

Summary: *In this study, diagnostic value of allergic and serological tests (whole blood and plate agglutination tests) were investigated in experimentally Tb. infected chickens. The results were also confirmed with autopsy findings. In this experiment, 30 eleven months of olds chickens (25 Tb. infected and 5 control animals) were used. Agglutination test and allergic reaction were carried out in chickens 60 days after infection. The whole blood of 21 (84 %) and the sera of 23 (% 92) of the 25 tuberculous animals gave positive reaction in tests. Sixteen chickens (% 64) reacted to the tuberculin. All of the 5 control animals were found to be negative in these tests. Autopsy findings were also correlated with agglutination test and tuberculin reaction.*

Agglutination test has found much more sensitive and specific in comparison with tuberculin reaction. This investigation has also shown that when these tests were used simultaneously, more reactive chickens may be diagnosed in a flock.

Özet: *Deneyssel olarak infekte edilen tavuk ve horozlarda, hastalığın allerjik ve serolojik (kan ve serum aglutinasyonu) yöntemlerle teşhisi ve bunların makroskopik bulgularla olan ilişkisi incelenmiştir. Çalışmada 30 adet 11 aylık Leghorn (25 infekte, 5 kontrol) hayvanlar kullanılmıştır. İnfekte ve kontrol hayvanların kan ve serumları ve allerjik yoklamaları deneyssel infeksiyondan 60 gün sonra yapılmış ve çabuk kan aglutinasyonu ile 21 tanesi pozitif (% 84), 4 tanesi negatif (% 16), çabuk serum aglutinasyonu ile 23 tanesi pozitif (% 92), 2 tanesi negatif (% 8), tuberkulin testi ile 25 hayvandan 16 tanesi (% 64) pozitif, 9 tanesi (% 36) de negatif bulunmuştur. Kontrol hayvanların hepsi bütün testlerde negatif sonuç vermiştir. Her iki testin, otopsi bulguları ile paralellik gösterdikleri belirlenmiştir.*

*Prof. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara-Türkiye,

**Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara-Türkiye.

***Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara-Türkiye.

Alınan sonuçlara göre, avian tüberkülozis'in tanısında çabuk aglutinasyon yöntemi tuberkulin testine oranla daha olumlu sonuçlar vermektedir. Ancak, her iki testin birlikte uygulanması halinde daha yüksek oranda portör hayvanın ortaya çıkarabileceği kanısına varılmıştır.

Giriş

Kanatlı hayvanlarda verem, özellikle yaşlı hayvanlarda görülen ve birçok organlarda tüberkülozik bozuklukların meydana gelmesiyle karakterize olan, kronik seyirli bir enfeksiyondur. Hastalık çoğunlukla tavuklarda görülmekte ise de, hindi ve diğer kanatlılarda da enfeksiyona rastlanılmaktadır.

Avian tüberkülozis'de portör hayvanların meydana çıkarılması ve sürüden elimine edilmesi amacıyla uzun yıllardan beri değişik ülkelerde yoğun çalışmalar yapılmıştır *Keyhani*(6), *Moses ve ark.*(7), *Prochorow* (9), *Halik*(2) ve *Hiller*(3). Bunların çoğu allerjik ve serolojik yöntemlere dayanmaktadır. Yine bazı araştırmacılar tarafından her iki uygulamanın pratikte geçerliliği, teşhis bakımından birbirlerine olan üstünlüklerinin saptanması amacıyla da çalışmalar yapılmıştır *Hiller ve ark.*(4), *Tunkl*(17) ve *Nassal*(8).

Avian tüberkülozis'in aglutinasyon metodu ile saptanması ilk olarak *Moses ve ark.*(7), tarafından gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar, 3 *Mycobacterium avium* suşundan 2 tanesini antijen hazırlanması için uygun bulmuşlar, konsantre antijenle 50 tavuk üzerinde yaptıkları denemelerde, 22 tavuğun hem tuberkulin ve hem de serum aglutinasyonu ile reaksiyon verdiklerini, bunlardan 12 tanesinin tuberkulin pozitif olduğunu saptamışlardır. *Karlson ve ark.* (5), 282 tavukta tuberkulin ve aglutinasyon reaksiyonlarını karşılaştırdıklarında, 44 tavuğun hem tuberkulin ve hem de aglutinasyon testi ile pozitif olduklarını, ayrıca tuberkulin negatif reaksiyon veren hayvanlar arasında çabuk kan aglutinasyonu ile müsbet reaksiyon veren 14 portör tavuk saptadıklarını bildirmişlerdir. *Prochorow*(9), allerjik testin tavuklarda portörlerin teşhisinde kullanılmasının olumlu sonuç vermediğini, bu yöntemle çok az sayıda portör hayvanın ortaya konabileceğini, 23355 hayvana tuberkulin tatbik ederek yaptığı denemede bunlardan 756 (% 3. 2) pozitif geriye kalan 22599 hayvandan 2079 (% 8.4) çabuk lâm aglutinasyonu ile reaksiyon verdiğini ortaya koymuştur. *Halik* (2), tuberkulin testi ile aglutinasyon testini karşılaştırmış, aglutinasyon testinin tuberküline oranla daha duyarlı ve spe-

sifik olduğunu açıklamıştır. *Schliesser ve Hiller*(12), 129 tavuk üzerinde yaptıkları karşılaştırmalı denemelerde, 105 hayvanın çabuk kan aglutinasyonu, 29 hayvanın tuberkulin testi ile pozitif bulunduğunu ve yapılan otopsislerinde 103 hayvanda tuberküloz lezyonu saptadıklarını bildirmişlerdir. *Schliesser ve Berger*(11), 2428 hayvanı tuberkülin ve çabuk kan aglutinasyonu ile tuberküloz yönünden incelediklerinde, 308 hayvanın (% 12.7) aglutinasyon, 160 tavuğun (% 6.6) tuberkülin testinde pozitif olduğunu ortaya koymuşlardır. *Nassal*(8), 1270 tavuk üzerinde yaptığı denemede, tuberkulin testi ile 67 (% 3.9), aglutinasyon reaksiyonu ile de 221 (% 12.8) portör saptamış, ayrıca deneysel infekte edilen tavuklarda aglutinasyonun tuberkülin testine oranla daha uygun sonuç verdiğini ve pratik olduğunu belirtmiştir. *Stoll ve Lucas*(16), ise çabuk kan aglutinasyon testinin tuberküline oranla daha uygun sonuç verdiğini, ancak saha taramalarında her iki yöntemin birlikte uygulanması görüşünde olduklarını açıklamışlardır. *Schoop ve ark.*(14), deneysel damar içi ve ağızdan infekte ettikleri tavuklarda belirli aralıklarla aglutinasyon testini uygulayarak, damar içi infekte edilenlerde birinci hafta sonu reaksiyon zayıf, ikinci haftada kuvvetli, ağızdan infekte edilenlerde ise, birinci ve ikinci haftada reaksiyonun zayıf ancak üçüncü haftada kuvvetli olduğunu bildirmişlerdir. *Schneider ve Haass*(13), 2000 tavuk üzerinde çabuk lām aglutinasyonu ile çabuk serum aglutinasyonunu karşılaştırmışlar, kan aglutinasyonu ile 27 (% 1.35), serum aglutinasyonu ile de 34 (% 1.7) hayvanı pozitif bulmuşlar, ayrıca serum aglutinasyonunda oluşan reaksiyonun daha kuvvetli ve belirgin olduğunu ortaya koymuşlardır. *Keyhani*(6), deneysel infekte ettiği hayvanların serumlarını tuberküloz yönünden pozitif olarak belirlediğini, 165 tavuk üzerinde yaptığı diğer bir denemede ise, aglutinasyonla 25 hayvan saptadığını ancak, bunlardan 11 tanesinin yapılan otopsisinde lezyon belirleyemediği gibi etken izole edemediğini de açıklayarak, aglutinasyonun sağlıklı tavuklara ait serumlarla da meydana gelebileceğini bildirmiştir.

Bu çalışmada, deneysel olarak infekte edilen tavuklarda allerjik ve serolojik yöntemlerin karşılaştırılması ve bu verilerin otopsi bulguları ile olan paralelliğini ortaya koymak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Deneme suşu : Antijen hazırlanmasında ve deneysel infeksiyonlarda kullanılan *Mycobacterium avium*-3 suşu, Bakteriyoloji Bilim Dalına

getirilen tüberkülozlu tavuklardan izole ve identifiye edilmiştir. Mikroorganizmanın denemeye alınmadan önce bütün karakterleri yenidoğuzden gözden geçirilmiştir (morfolojik, kültürel, serolojik, tiplendirme ve patogenite).

Besi yerleri : Antijen olarak kullanılan suşun izolasyonunda, antijenin hazırlanmasında, mikroorganizmanın morfolojik ve kültürel özelliklerinin belirlenmesinde Lowenstein-Jensen ve gliserinli agar ortamlarından yararlanılmıştır.

Deneme hayvanları : 30 adet 11 aylık Leghorn tavuk ve horoz Bakterioloji Bilim Dalından temin edilmiştir.

Tuberkülin : Deneme infeksiyonu oluşturulduktan sonra hayvanlarda allerjik testin uygulanmasında kullanılan avian PPD, Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünden sağlanmıştır.

Deneyisel infeksiyon : Bu amaçla, 25 adet Leghorn tavuk ve horoza 0.25 mg./0.5 ml. fizyolojik tuzlu su içinde *Myc. avium-3* suşu *V. cutanea ulnaris*'den intravenöz verilmiştir. Kontrol amacı ile kullanılan 5 hayvana ise inokulasyon yapılmamış ve her iki gruptaki hayvanlar ayrı olarak muhafaza edilmişlerdir.

Antijen hazırlanması : Denemelerde kullanılan çabuk lâm aglutinasyon antijeni, *Moses ve ark. (7)*'nin bildirdiği yöntem modifiye edilerek hazırlanmıştır. Deney tüplerinde üretilen *Myc. avium-3* suşundan viski şişelerindeki Lowenstein-Jensen besi yerlerine ekimler yapılmış ve şişeler 37°C. lik etüvde tam bir üreme meydana gelinceye kadar inkube edilmişlerdir. Uygun üreme meydana geldikten sonra, bher viski şişesinin içine % 0.5 fenol içeren fizyolojik tuzlu sudan 10 ml. konmuş ve kültürler ayrı ayrı olarak tüplere toplanmıştır. Tüpteki kültürler, bir erlenmayerde bir araya getirilerek yukarıda bildirilen solusyon ile 3 kez yıkanmıştır. Daha sonra sediment miktarının belirlenmesi için, fizyolojik tuzlu su ile süspanse edilerek dereceli santrifüj tüpüne alınmış ve tortu % 0.5 fenollü fizyolojik tuzlu suda % 10 oranında olacak tarzda konsantre edilerek cam pamuğundan 2 kez süzölmüş, pH'sı 7.4'e ayarlanarak denemelerde kullanılmıştır. Hazırlanan bu antijenin negatif, pozitif serumlarla ve fiz. tuzlu su ile kontrolleri yapılmış ve uygun bulunmuştur.

Lâm aglutinasyon testi : Deneme infeksiyonundan 60 gün sonra hayvanların tüberküloz yönünden serolojik yoklamaları çabuk lâm aglutinasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, hayvanların kan ve serumları incelenmiştir. Her iki muayene tekniğinde de

temiz bir lâm üzerine bir damla % 10 konsantre antijenden konmuş ve üzerine bir damla kan veya bir damla serum ilave edilmiş, karıştırıldıktan sonra sonuçlar 60 saniye içerisinde reaksiyonun derecesine göre —, 1+, 2+, 3+, ve 4+ olarak gözle değerlendirilmiştir.

Tüberkülin testi: Deneme infeksiyonundan 60 gün sonra hayvanların sakal derisi içine avian PPD 0.1 ml. şırınga edilmiş ve injeksiyondan 48 saat sonra inokule edilen sakal diğeri ile karşılaştırılarak (ödem, şişme, sıcaklık, duyarlılık) sonuçları değerlendirilmiştir.

Bulgular

Lâm aglutinasyon testi sonuçları

a-Kanla yapılan test sonuçları: Deneme infeksiyonundan 2 ay sonra yapılan yoklamada, 25 hayvandan 4 tanesinin negatif (% 16), 21 tanesinin ise değişik derecede pozitif reaksiyon verdikleri (% 84) saptanmıştır. Kontrol olarak kullanılan hayvanların hepsi negatif bulunmuştur.

b-Serumla yapılan test sonuçları: Deneme infeksiyonundan 60 gün sonra hayvanlardan kan alınmış, serumları ayrılmış ve antijen ile lâm üzerinde aglutinasyon yönünden yoklamaları yapılmıştır. Teste tabi tutulan 25 hayvana ait serumdan 23'ü pozitif sonuç verirken (% 92) 2 tanesi negatif bulunmuştur (% 8).

Kontrol olarak kullanılan 5 hayvanın hepsi de negatif reaksiyon vermişlerdir.

Her iki testle ilgili sonuçlar Tablo-1'de gösterilmiştir.

Tüberkülin test sonuçları: Deneysel infeksiyondan iki ay sonra yapılan tüberkülin testi sonucunda infekte edilen 25 hayvandan 16 tanesi (% 64) tüberkülin pozitif, 9'u ise (% 36) negatif sonuç vermiştir (Tablo-1).

Kontrol olarak kullanılan 5 hayvan ise negatif bulunmuştur.

Otopsi sonuçları: Lâm aglutinasyon ve tüberkülin testi uygulanan hayvanlara daha sonra otopsi yapılarak organları tüberkülozik bozukluklar yönünden incelenmiştir. Otopsileri yapılan 25 infekte hayvandan 22 tanesinde tüberkülozik lezyonlar saptanmasına karşın, diğerlerinde herhangi bir makroskopik değişime rastlanamamıştır (Tablo-1). Lezyonlu organlardan yapılan bakteriyolojik yoklamalar sonucu etken izolasyonu gerçekleştirildiği halde, lezyon görülmeyen hayvanların organlarından yapılan bakteriyolojik yoklamalar sonucunda ise etken izolesi mümkün olamamıştır.

Tablo-1. İnfeksiyondan 2 ay sonra Kan-Scrum Aglutinasyon, Tüberkülin Testi ve Otopsi Bulguları

Hayvan No.	Kanla çabuk lām aglutinasyonu	Serumla çabuk lām aglutinasyonu	Tüberkülin testi	Otopsi bulguları(lezyon)	
				Karaciğer	Dalak
1	4 +	4 +	+	+	+
2	2 +	4 +	—	—	+
3	2 +	4 +	+	—	+
4	—	2 +	—	—	—
5	4 +	4 +	—	—	+
6	4 +	4 +	+	+	+
7	3 +	4 +	+	+	+
8	2 +	4 +	—	+	+
9	4 +	4 +	—	+	+
10	3 +	4 +	—	+	+
11	4 +	4 +	+	+	+
12	2 +	2 +	+	—	—
13	3 +	4 +	+	+	+
14	2 +	3 +	—	+	+
15	4 +	4 +	—	+	+
16	2 +	3 +	+	+	+
17	4 +	4 +	+	+	+
18	—	3 +	—	—	—
19	4 +	4 +	—	+	+
20	3 +	4 +	+	+	+
21	—	—	—	+	+
22	—	—	+	+	+
23	2 +	2 +	+	+	+
24	3 +	3 +	+	+	+
25	3 +	3 +	+	+	+
Kont-1	—	—	—	—	—
Kont-2	—	—	—	—	—
Kont-3	—	—	—	—	—
Kont-4	—	—	—	—	—
Kont-5	—	—	—	—	—

Aglutinasyon testi, tüberkulin reaksiyonu ve otopsi bulgularının karşılaştırılmaları yapıldığında; çabuk serum aglutinasyonunun çabuk kan aglutinasyonuna oranla sonuçların daha kolay okunabileceği (No. 2, 3, 4, 7, 8, 10, 13, 14, 16, 18 ve 20) ve kanla negatif sonuç alındığı halde serumla bu hayvanların pozitif olabilecekleri (No. 4 ve 18), kan-serum aglutinasyonu ile tüberkulin testinin karşılaştırmasında ise, aglutinasyon testinin tüberkulin testine oranla çok daha uygun sonuçlar verdiği (No. 2, 4, 5, 10, 14, 15, 18 ve 19), ancak bazı durumlarda aglutinasyon (kan ve serum) negatif olabildiği halde tüberkulin'in pozitif bulunabileceği (No.22) ve her iki uygulamanın otopsi bulguları ile bir korelasyon sağladığı (3 olgu hariç- No. 4, 12 ve 18) ortaya konulmuştur (Tablo-1).

Tartışma ve Sonuç

Mycobacterium avium'dan ileri gelen kanatlı tüberkülozis'inin dünyada yaygın olduğu literatür kayıtlarından anlaşılmaktadır. Bu infeksiyonun kronik bir seyir izlemesi ve etkenin alınmasından hastalığa ilgili belirtilerin ortaya çıkıncaya ve hatta kaşeksi tablosu oluşuncaya kadar dikkati çekecek herhangi bir bulguya rastlanması pek mümkün olmadığından, bu durum göz önünde tutularak, bir sürüdeki portör hayvanların elimine edilmesi amacıyla değişik uygulamalar yapılmaktadır. Bunlar arasında en geçerli olanları serolojik ve allerjik metodlardır. Her iki test birlikte kullanılmak suretiyle, çeşitli ülkelerde tüberkülozdan ari, doğal ve yapay infekte sürülerde testlerin teşhisteki önemi, geçerliliği ve birbirlerine üstünlüğü açısından çalışmalar yapılmıştır.

Bekte ve ark.(1), hazırladıkları antijenle 3208 hayvanın serolojik ve allerjik yoklamalarının yaptıklarında, aglutinasyon testi ile 151 (% 4.7), tüberkulin reaksiyonu ile de 186 (% 5.8) hayvanı pozitif bulduklarını, *Richter*(10), 1438 hayvan üzerinde yaptığı denemelerde aglutinasyonla % 6.8, tüberkulin ile % 10.8 portör saptadıklarını bildirmişlerdir. Bu sonuçlara benzer bulgular *Hiller ve ark.* (4), tarafından 290 yetiştirmeye ait 10075 tavuk üzerinde yapılan denemeden alınmıştır. Araştırmacılar, kan aglutinasyonu ile 8867, tüberkulin testi ile de 1855 reaktif belirlediklerini ve 501 aglutinasyon pozitif reaksiyon veren tavuklar üzerinde yapılan otopsi yoklamalarında ise 389 hayvanda lezyon saptadıklarını açıklamışlardır. *Hiller*(3), 25 kuş tipi mikobakteriden 3 tanesini antijen hazırlanmasında uygun bulunduğunu ve bu antijenlerle 118 tavukta yaptığı denemelerde 55

tanesisinin aglutinasyon, 13 adedinin ise tüberkulin pozitif sonuç verdiğini, serolojik olarak pozitif bulunan tavukların yapılan otopsislerinde 48 hayvanda lezyon belirlendiğini ve alınan bu sonuçlara göre serolojik metodun allerjik yöntemle oranla daha üstün olduğunu bildirmiştir. *Stool* (15), tüberkülozdan ari olduğu varsayılan yetiştirilmelere ait 520 tavuk üzerinde uyguladığı çabuk kan aglutinasyonu ile bunlardan 54 tanesini (% 10.39) pozitif bulduğunu rapor etmiştir. *Tunk* (17) ise, aglutinasyonun diğer testlere oranla daha pratik olduğunu bildirmiştir. Karşılaştırmalı olarak yapılan denemeler de deneysel olarak infekte edilen hayvanların, inokulasyondan 2 ay sonra yapılan serolojik ve allerjik yöntemlerle muayenelerinde; hastalıklı 25 hayvandan 21 tanesinin çabuk kan aglutinasyonu (% 84) pozitif, 4 tanesinin negatif (% 16), çabuk serum aglutinasyonu ile 23 tanesinin pozitif (% 92), 2 tanesinin negatif (% 8), tüberkulin testi ile de 16 tanesinin (% 64) pozitif, 9 tanesinin ise (% 36) negatif olduğu belirlenmiştir. Literatür bilgisi ve tartışmanın bir bölümünde bildirildiği gibi tüberkülozlu reaktif hayvanların ortaya çıkarılmasında en geçerli olan yöntemler, aglutinasyon ve allerjik testlerdir. Araştırmacıların rapor ettikleri gibi, bazı olgularda tüberkulin aglutinasyona oranla, bazılarında ise, aglutinasyon allerjik yöntemle nazaran daha uygun sonuçlar vermektedir. Yapılan denemelere göre; aglutinasyon testi tüberkulin'e oranla daha uygun sonuçlar vermekte ve araştırmacıların bulgularına paralellik göstermektedir. Ayrıca pozitif bulunan (aglutinasyon ve tüberkulin) hayvanların yapılan otopsislerinde 3 olgu hariç, bir korelasyon mevcut olduğu da belirlenmiştir.

Denemelerden alınan sonuçlara göre; Avian tüberküloz'li hayvanların tanısında serolojik yöntemler iyi sonuç vermektedir. Ancak, reaktör hayvanların ortaya çıkarılmasında hem allerjik ve hem de serolojik yöntemlerin birlikte kullanılmasıyla daha fazla sayıda portör hayvanın saptanabileceği kanısına varılmıştır.

Literatür

- 1- **Bekte, P., Blum, H. und Graubmann, H.D.**(1964): *Untersuchungen über die Frischblut-Agglutination zur Diagnose der Hühnertuberkulose.* Mh. Vet. Med., 19: 507-509.
- 2- **Halik, J.** (1960): *A blood or serum slide agglutination test for diagnosis of tuberculosis in poultry.* Vet. Cas., 9: 550-559.
- 3- **Hiller, K.** (1961): *Die Diagnose der Geflügeltuberkulose mit Hilfe einer Frischblut-Schlagglutination.* Vet. Med. Diss. München.
- 4- **Hiller, K., Schliesser, T., Fink, G. und Dorn, P.** (1967): *Zur serologischen Diagnose der Hühnertuberkulose.* Berl. Münch. Tierarztl. Wschr., 80: 212-216.

- 5- **Karlson, A.G., Zinober, M.R. and Feldman, W.H.** (1950): *A whole blood agglutination test for avian tuberculosis-A preliminary report.* Amer. J. Vet. Res., 11: 137-141.
- 6- **Keyhani, M.** (1972): *La restriction de la valeur du test d'agglutination rapide dans le diagnostic de la Tuberculose aviaire.* Rev. Med. Vet., 123: 1089-1094.
- 7- **Moses, H.E., Feldman, W.H. and Mann, F.C.** (1943): *Mycobacterial rapid agglutination antigens and their diagnostic value in tuberculosis of fowl.* Amer. J. Vet. Res., 4: 390-394.
- 8- **Nassal, L.** (1963): *Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Frischblut-Schnellagglutination zur Feststellung der Tuberkulose beim Huhn.* Mh. Tierhk. 15. Sonderteil. 120: 109-116
- 9- **Prochorow, A.W.** (1968): *Agglutination test for diagnosis of tuberculosis in birds.* Veterinarija Moscow. 35, 9: 60-64.
- 10- **Richter, W.** (1965): *Die Entwicklung eines Antigens für die Frischblut-Schnellagglutination zur Diagnose der Geflügeltuberkulose.* Arch. exp. Vet. Med., 19: 297-299.
- 11- **Schliesser, Th. und Berger, W.** (1962): *Vergleichende Untersuchungen mit der Frischblut-Schnellagglutination und der Tuberkulin Kehllappen-Probe bei Hühnern.* Mh. Tierhk. 14, Sonderteil. 11: 91-98.
- 12- **Schliesser, T. und Hiller, K.** (1961): *Eine Frischblut Schnell-agglutination zur Diagnose der Geflügeltuberkulose.* Mh. Tierhk. 13, Sonderteil. 10: 201-207.
- 13- **Schneider, L. und Haass, K.** (1968): *Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkulose in Intensivhühnerhaltungen in den Regierungsbezirken Nord-und Südbaden.* Berl. Münch. tierarztl. Wschr., 81: 321-323.
- 14- **Schoop, G., Stoll, L. und Siam, M.A.** (1967): *Zur Frage der Spezifität der Frischblut-schnellagglutination bei Geflügeltuberkulose.* Deut. Tierarztl. Wschr. 74: 297-301.
- 15- **Stoll, L.** (1967): *Zur Frage der Spezifität der Frischblut-schnellagglutination bei Geflügeltuberkulose.* Deut. tierarztl. Wschr., 27: 280-283.
- 16- **Stoll, L. und Luvass, H.** (1963): *Vergleichende Untersuchungen zur Diagnose der Geflügeltuberkulose mit Hilfe der Tuberkulin Kehllappenprobe und der Frischblut-schnellagglutination.* Rindertuberk. Brucell, 12: 164-169.
- 17- **Tunkl.B.** (1958): *Die diagnose der Hühnertuberkulose mit der Voll-blut-Schnell-Agglutination.* Die Veterinarmedizin. 11: 430.

Yazı 26.7.1983 günü alınmıştır.