

A.Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsü
Prof. Dr. Mustafa Arda

**İNDİREK HEMAGLUTİNASYON TESTİNİN
KANATLILARIN SALMONELLA GALLINARUM
İNFEKSİYONLARININ TEŞHİSİNDE KULLANILMASI,
PLATE TEST VE SERUM AGLUTİNASYON
TESTİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI
ÜZERİNDE İNCELEMELER**

Ersin İstanbullu*

Mustafa Arda**

The Studies on Application of the Indirect Haemagglutination (IHA) Test to the Diagnosis of Salmonella gallinarum Infection in Fowls, and Comparison of IHA Tests with Plate Tests and Serum Agglutination (SA) Tests

Summary: *In this study, application of the indirect haemagglutination (IHA) test to the diagnosis of Salmonella gallinarum infection of fowls, the standardization of IHA test were investigated, and IHA test were compared with the plate test and serum agglutination (SA) test. According to results of standardization experiments: a) Optimum polysaccharide concentration was 0.5 mg/ml. b) Optimum adsorption temperature was 37°C. c) Optimum adsorption time was 60 minutes, d) The most suitable erythrocyte was of fowl. The IHA procedure was found to be more sensitive than plate and serum agglutination tests. Of 43 sera, 17 gave positive reaction in all three tests. 10 (58.8 %) of 17 positive sera gave higher titre in IHA tests than SAT 6 (35.3 %) of 17 positive sera gave similar titres both in IHA and SAT. One positive (5.08 %) gave higher titre in SAT than IHA.*

IHA test had advantage over plate and serum agglutination test. It was generally more sensitive than plate and serum agglutination tests. Therefore,

* Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsü, Ankara Türkiye.

** Prof. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsü, Ankara Türkiye.

IHA test provide a valuable addition to the serological methods for the study of S. gallinarum infection in fowls.

Özet: *Bu çalışmada, kanatlıların S. gallinarum infeksiyonlarında İndirekt-Hemaglutinasyon (IHA) testinin standardizasyonu, kullanılması ile plate test ve serum aglutinasyon (SA) testleriyle karşılaştırılması üzerinde durulmuştur. IHA testinin standardizasyonu üzerinde yapılan çalışmalarda : a) Optimal polisakkarid konsantrasyonunun 0.5 mg ml. b) Optimal adsorpsiyon ısısının 37°C c) Optimal adsorpsiyon süresinin 60 dakika, d) En uygun eritrositin tavuk al yuvarları olduğu saptandı. IHA yöntemi plate test ve serum aglutinasyon testlerinden daha duyarlı bulundu. İncelenen 43 serumdan 17 si her üç test ile pozitif reaksiyon verdi. Pozitif serumlardan 10 tanesi (% 58.8) IHA-testi ile serum aglutinasyon testinden daha yüksek titrede çalıştı. Pozitif serumlardan 6 tanesi (% 35.3) IHA ve serum aglutinasyon testi ile aynı titreyi gösterdi. Pozitif serumlardan 1 tanesi (% 5.08) serum aglutinasyon testinde, IHA-testinden daha yüksek titrede bulundu.*

Çalışma sonucuna göre, IHA testi, kanatlıların S. gallinarum infeksiyonlarının serolojik teşhisinde, plate test ve serum aglutinasyon testinden daha duyarlı bir yöntemdir. Bu sonuçla, IHA'nın S. gallinarum ile infekte kanatlıların ortaya çıkarılmasında, kullanılan serolojik testler yanısıra kullanılabilceği görüşüne varılmıştır.

Giriş

Türkiyede, Salmonella gallinarum infeksiyonları (tavuk tifosu) kanatlı populasyonları arasında zaman zaman büyük ekonomik kayıplara neden olmakta ve bazen de bir işletmenin tamamıyla kapanması ile son bulmaktadır. Etkili bir aşının henüz yapılamaması nedeniyle, koruyucu önlemler çok daha fazla önem kazanmaktadır. Asemptomatik infekte hayvanları ve portörleri bulmak ve bunları ayıklamak hastalığın kontrol ve eradikasyonunda çok etkili bir yöntem olarak görülmektedir. Bu amaçla, hayvanların V. cutanea ulnaris'inden alınan taze kanla yapılan plate test, pratik olması nedeniyle, çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Şüpheli hallerde de, kan serumuyla lâm üzerinde çabuk ve tüpte yavaş aglutinasyondan yararlanılmaktadır. Ancak, infeksiyonun başlangıcında (ilk 7-8 güne kadar) hayvanların kanında mikroorganizma bulunmasına karşın aglutininler henüz oluşmadığı veya antikorların düşük bir düzeyde bulunması nedeniyle palte test negatif çalışmakta ve bunların varlığı saptanamamaktadır (10).

İndirekt-Hemaglutinasyon (IHA) testinin çeşitli mikroorganizmalarda uygulanması birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (2,3,4,7,13). Bu testin gerek sığır (12, 14) ve gerekse kanatlı salmonellozisinde (8,9,10) portörleri ve infekte hayvanları ortaya koymada yararlı olduğu ve ayrıca IHA testinin, serum aglutinasyon testinden de daha duyarlı olduğu açıklanmıştır. Ancak, literatürde kanatlılarda bildirilen salmonellozis, genellikle, *S. gallinarum*'un dışındaki diğer salmonella etkenlerinden ileri gelen infeksiyonları kapsamaktadır.

Bu çalışmada, IHA tekniğinin tavuk tifosunun teşhisinde değerini saptamak, teknikle ilgili çeşitli standartları ortaya koymak ve bu testi plate test ve serum aglutinasyon testi (SAT) ile karşılaştırmak, amaç edinilmiştir.

Materyal ve Metot

Serumlar: Denemelerde (plate test ve SAT de) ve IHA testinin standardizasyonunda kullanılan pozitif ve negatif serumlar, A. Ü. Veteriner Fakóltesi, Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsüne ait tavuklardan ve kürsüye muayene için dışarıdan getirilen hayvanlardan sağlanmıştır.

Salmonella gallinarium suşu: Polisakkarid hazırlamada kullanılan patojenik ve (S) karakterindeki *S. gallinarum* suşu, kürsümüz koleksiyonundan sağlanmış ve bütün karakterleri (boyama, morfolojik, kültürel, fizyolojik, biyokimyasal ve antijenik) tekrar incelenmiştir.

Besi yeri: *S. gallinarum*'u üretmede, içinde kolloidal sülfür (% 0.1) bulunan gliserinli (% 20) katı besi yeri kullanılmıştır (1). Usulüne uygun olarak hazırlanan vasattan 15 adet büyük yassı şişeler içine 100 ml. miktarında kondu ve sterilize edildi. Besi yeri içeren şişelerin kontaminasyon kontrolleri 37°C de, 24 saat bırakılarak yapıldı. Bu şekilde hazırlanan ortamlar kullanılıncaya kadar +4°C. saklandı.

Plate test antijeni: Denemelerde kullanılan plate test antijeni, Veteriner İşleri Genel Müdürlüğü, Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Tavuk Hastalıkları Laboratuvarından sağlanmıştır.

Aglutinasyon antijeni: Serum aglutinasyon testi için antijen, polisakkarid hazırlamada kullanılan patojenik ve S- karakterindeki *S. gallinarum* suşundan Standart tüp aglutinasyon antijeni hazırlama yöntemleri esas alınarak elde edildi ve Mc. Farland Tüp No: 5'e göre ayarlanarak testlerde kullanıldı (1).

Kan örnekleri: İndirekt-Hemaglutinasyon testinde tavuk, koyun ve keçi kanı kullanıldı. Aseptik koşullarda alınan sitrathlı kan örnekleri, ayrı ayrı, fizyolojik su ile 3 defa yıkandı ve aşağıdaki yönteme göre sansibilize edildi (10).

Kanın sansibilizasyonu:

1- Çeşitli hayvan türlerinden (tavuk, koyun, keçi) alınan sitrathlı kan örnekleri, ayrı ayrı, 3 defa fizyolojik su ile yıkandı.

2- Depo kandan (santrifüj tüpünün dibindeki kan) 0.1 ml. alınarak 5 ml. fizyolojik su ile suspansiyon yapıldı.

3- Bu kan suspansiyonuna, ayrı ayrı (0.25-0.5-1.0 mg/ml.) polisakarid katıldı.

4- Bir saat 37°C. de, zaman zaman hafifçe çalkanarak, inkübe edildi.

5- Bu sürenin sonunda hücreler santrifüj yardımıyla 2 defa fizyolojik su ile yıkandı.

6- Kan tortusuna 9.9 ml. fizyolojik su konarak % 1 lik suspansiyon yapıldı ve test için hazırlandı.

Polisakarid hazırlanması: *S. gallinarum*'un hücre duvarındaki polisakaridleri çıkarmada *Smith ve Ark.* (10) bildirdiği yöntemden yararlanıldı. Buna göre:

1- *S. gallinarum* etkeni yassı büyük şişelerde 18-20 saat üretildi.

2- Her şişedeki üreme 10 ml. fizyolojik su ile ayrı ayrı tüplere toplandı ve kontaminasyon kontrolleri yapıldıktan sonra hepsi bir araya getirildi. Bu kontrolde, Gram boyama yöntemi kullanıldı.

3- Suspansiyon, santrifüjle, 3 defa fizyolojik su kullanılarak yıkandı.

4- Tortuya 50 ml. fizyolojik su konarak homojen bir suspansiyon yapıldı.

5- Suspansiyona 68°C. sıcaklıktaki fenolden (% 90 lık) 100 ml. katıldı.

6- Karışım soğutulduktan sonra 3000 dev./dak. da 30 dakika santrifüje edildi.

7- Oluşan 3 katmadan en üstte bulunanı bir steril pipet yardımı ile steril bir tüpe veya erlenmayere dikkatlice alındı.

8- Buna, 2.5 ml. % 20 lik sodium asetate ve sonra da 50 ml. absolüt alkol ilave edildi.

9- Karışım +4°C. de bir gece bekletildi.

10- Oluşan presipitat, 2500 dev./dak. da ve 15 dakika süre ile santrifüje edildi.

11- Meydana gelen tortu 20 ml. distile suda eritildi.

12- Solusyon, 48 saat süre ile akan çeşme suyuna karşı dialize edildi ve daha sonra 2.5 ml. miktarında steril şişelere konarak liyofilize edildi.

13- Test için kullanılacağı zaman, bir şişe içeriği tartıldı ve 2 ml. 0.02 N NaOH içinde çalkalanarak eritildikten sonra 37°C. de 2 saat bırakıldı.

14- Hazırlanan suspansiyon içine bir damla brom timol mavisi (BTM) kondu ve pH'sı N HCL ile nötralize edildi.

15- Polisakkarid eriyiği fizyolojik su ile çeşitli konsantrasyonlarda (0.25-0.5 ve 1.0 mg/ml.) sulandırılarak denemelerde kullanıldı.

IHA testinin yapılışı ve değerlendirme: Pozitif ve negatif serumlar fizyolojik su içinde 1/2, 1/4... 1/2048'e kadar 2 katlı sulandırıldı. Her serum dilusyonundan 0.2 ml. tüplere kondu ve üzerlerine eşit miktarda % 1 lik sansibilize kan ilave edildi. Çok hafif çalkalandıktan sonra 37°C. de 1 saat bırakıldı ve bu sürenin sonunda sonuçlar okundu. Kontrol olarak, içeriği aşağıda bildirilen 4 tüp kullanıldı (miktarlar yukarıdakilerinin aynısıdır).

1- Sansibilize kan + kontrol pozitif serum (1/2)

2- Sansibilize kan + kontrol negatif serum (1/2)

3- Sansibilize kan + fizyolojik tuzlu su

4- Normal kan (% 1) + fizyolojik tuzlu su

Değerlendirme Stavitsky (13) yöntemine göre yapıldı.

Optimal polisakkarid konsantrasyonu: Hazırlanan polisakkarid'in optimal yoğunluğunun saptanmasında 0.25-0.5 ve 1.0 mg/ml. polisakkarid konsantrasyonları ayrı ayrı denendi.

Optimal adsorpsiyon süresi: Polisakkarid'in eritrositler üzerine en uygun (optimal) adsorpsiyonunu saptamak için 30-60 ve 90 dakikalık 3 zaman dilimi esas alınarak incelendi.

Optimal adsorpsiyon ısısı: Deneme süresince 37°C. lik inkübasyon ısısı esas alınarak optimal polisakkarid konsantrasyonu ve optimal adsorpsiyon süresi saptandı. Bunlar ayarlandıktan sonra, 20°C. de ve 37°C. de test yapılarak iki ısı derecesinde alınan sonuçlar karşılaştırıldı.

Sonuçlar

1- İndirekt hemaglutinasyonun standardize edilmesi:

a) **Optimal polisakkarid konsantrasyonu:** Optimal polisakkarid yoğunluğunu saptamada kullanılan 3 farklı konsantrasyondan (0.25,0.5 ve 1.0 mg/ml.) en uygun olarak 0.5 mg/ml. bulunmuştur. 0.25 mg/ml. kullanıldığı deneylerde titreler genellikle düşük olmuş, buna karşın 1.0 mg/ml. yoğunluk kullanıldığı zaman 0.5 mg/ml. den farklı sonuç alınmamıştır.

b) **Optimal adsorpsiyon süresi:** Denenen üç ayrı süreden (30, 60, 90 dakika) 60 dakika optimal bulunmuştur. 30 dakika yetersiz olup 90 dakika ise 60 dakika ile aynı titreyi vermiştir.

c) **Optimal adsorpsiyon ısısı:** Adsorpsiyon için optimal ısısının 37°C. olduğu saptandı.

d) **Uygun eritrosit türü:** En uygun eritrosit saptamak için denenen koyun, keçi ve tavuk kanları arasında en yüksek titre tavuk eritrositleri ile alınmıştır. Koyun ve keçi kanları daha düşük titre vermişlerdir.

Standardizasyon ile ilgili sonuçlar çizelge-1-9 da da gösterilmiştir. Denemelerde 37°C. lik adsorpsiyon ısısı esas alınmış ve çizelgeler buna göre düzenlenmiştir.

Çizelge: 1 Polisaakarid 0.25 mg/ml. + koyun kanı + 30-60-90 dakikalık adsorpsiyon süreleri + 37° C. adsorpsiyon ısısı

Süre (dak.)	Serum dilasyonları*									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
30	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
90	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

(*) = 1/2ⁿ

Çizelge-1 de görüldüğü üzere 0.25 mg/ml. polisakkarid yoğunluğunda ve 30 dakikalık adsorpsiyon süresi ile $\frac{1}{8}$ (3) titre elde

edilmesine karşın 60 ve 90 dakikalık adsorpsiyon sürelerinde $\frac{1}{32}$ (5) titre elde edilmiştir.

Çizelge: 2 Polisakkarid 0.25 mg/ml. + keçi kanı + 30-60-90 dakikalık adsorpsiyon süreleri + 37°C. adsorpsiyon ısı

Süre (dak.)	Serum dilusyonları*									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
30	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
90	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

(*) = $1/2^n$

Çizelgede, 0.25 mg/ml. polisakkarid yoğunluğu kullanılarak keçi kanı ile yapılan passif hemaglutinasyonda 30 dakikada $1/4$ (2), 60 dakikada $1/16$ (4) ve 90 dakikada ise $1/32$ (5) titre elde edildi. Bu duruma göre 0.25 mg/ml. polisakkarid yoğunluğunda keçi kanı en iyi 90 dakikada çalışmıştır.

Çizelge: 3 Polisakkarid 0.25 mg/ml. + tavuk kanı + 30-60-90 dakikalık adsorpsiyon süreleri + 37° lik adsorpsiyon ısı

Süre (dak.)	Serum dilusyonları*									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
30	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
90	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

(*) = $1/2^n$

0.25 mg/ml. polisakkarid ile adsorbe edilen tavuk kanı ile yapılan deneylerde 30 dakikada $1/8$ (3), 60 ve 90 dakikalarda ise $1/32$ (5) titre elde edilmiştir.

Yukarıdaki üç çizelgeden ortaya çıkan sonuca göre 0.25 mg/ml. polisakkarid konsantrasyonunda bütün kanlar en yüksek titreyi 60 ve 90 cı dakikalarda göstermiş fakat, iki zaman süreci arasında titre son noktası yönünden bir farklılık görülmemiştir.

0.5 mg/ml. polisakkarid ile adsorbe edilen koyun kanı ile yapılan passif hemaglutinasyon deneylerinde en yüksek titre $1/64$ (6), 60 dakikalık adsorpsiyon süresinde elde edilmiştir. Çizelge-4 de görüldüğü gibi 30 dakika sonunda elde edilen titre $1/8$ (3) ve 90 dakikalık zaman süreci sonunda ise $1/32$ (5) dir.

Çizelge: 4 Polisakkarid konsantrasyonu 0.5 mg/ml. + koyun kanı + 30-60-90 dakikalık adsorpsiyon süreleri + 37°C. adsorpsiyon ısısı

Süre (dak.)	Serum dimusyonları*									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
30	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
90	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

(*) = $1/2^n$

Çizelge: 5 Polisakkarid konsantrasyonu 0.5 mg/ml. + keçi kanı + 30-60-90 dakikalık adsorpsiyon süreleri + 37°C. adsorpsiyon ısısı

Süre (dak.)	Serum dilusyonları*									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
30	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
90	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

(*) = $1/2^n$

Keçi kanı ve 0.5 mg/ml. polisakkarid kullanılarak yapılan deneylerde en yüksek titre olan $1/3_2$ (5) hem 60 dakikalık hemde 90 dakikalık adsorpsiyon sürelerinde elde edilmiştir.

Çizelge: 6 Polisakkarid konsantrasyonu 0.5 mg/ml. + tavuk kanı + 30-60-90 dakika adsorpsiyon süresi + 37°C adsorpsiyon ısısı

Süre (dak.)	Serum dilusyonları*									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
30	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
90	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

(*) = $1/2^n$

Çizelgede görüldüğü üzere 60 ve 90 dakikalık adsorpsiyon sürelerinde aynı titre $1/128$ (7) elde edilmiştir.

Koyun critositleri ile 1.0 mg/ml. polisakkarid konsantrasyonunda 60 ve 90 dakikalık adsorpsiyon zamanlarında $1/64$ (6) titre elde edilmiştir.

Çizelge: 7 Polisakkarid konsantrasyonu 1.0 mg/ml. + koyun kanı +
30-60-90 dakikalık adsorpsiyon süresi + 37°C. adsorpsiyon ısı

Süre (dak.)	Serum dilisyonları*									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
30	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
90	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

(*) = $1/2^n$

Çizelge: 8 Polisakkarid konsantrasyonu 1.0 mg/ml. + keçi kanı +
30-60-90 dakikalık adsorpsiyon süresi + 37°C. adsorpsiyon ısı

Süre (dak.)	Serum dilusyonları*									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
30	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
60	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
90	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

(*) = $1/2^n$

Denemede keçi kanı bütün sürelerde ve kan türlerinde aynı titreyi,
1/64 (6), vermiştir.

Çizelge: 9 Polisakkarid konsantrasyonu 1.0 mg/ml. + tavuk kanı +
30-60-90 dakikalık adsorpsiyon süreleri + 37°C adsorpsiyon ısı

Süre (dak.)	Serum disusyonları*									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
30	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
60	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
90	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

(*) = $1/2^n$

Tavuk kanı ve 1.0 mg/ml. polisakkarid konsantrasyonu ile 60 ve 90 dakikalık adsorpsiyon sürelerinde aynı titre 1/64 (6) elde edilmiştir.

Çizelge-10 da görüldüğü üzere 37°C lik adsorpsiyon ısısında 20°C. ye oranla daha yüksek titre elde edilmiştir.

Çizelge: 10 Polisakkarid konsantrasyonu 0.5 mg/ml. + tavuk kanı + 60 dakikalık adsorpsiyon süresi + 20°C. ve 37°C. lik adsorpsiyon ısıları

Isı (C*)	Serum dilusyonları*									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
20°C	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
37°C	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

(*) = $1/2^n$

Yukarıdaki standardizasyon denemelerinden elde edilen sonuçlara göre:

- En uygun (optimal) polisakkarid konsantrasyonu 0.5 mg/ml.,
- En uygun adsorpsiyon süresi 60 dakika,
- En uygun alyuvar tavuk eritrositi,
- En uygun optimal ısı da 37°C. olarak saptanmıştır.

2- İndirekt hemaglutinasyonun plate test ve serum aglutinasyonla karşılaştırılması: Denemeye sokulan toplam 43 serumla yapılan çalışmalar Çizelge-11 de toplu halde gösterilmiştir.

Çizelge-11'de de izlenebileceği gibi indirekt hemaglutinasyon testi, genellikle, serum aglutinasyon testinden daha yüksek titre göstermiştir. Kullanılan 43 serumun 17 tanesi her üç testte de pozitif reaksiyon vermiştir. Bu 17 serumdan 10 tanesi indirekt hemaglutinasyon (IHA) testinde, serum aglutinasyon testine oranla daha yüksek titre göstermiştir. Bunun oranı % 58.8 dir. Geri kalan 7 serumdan 6 tanesinde (% 35.0) her iki testin titresi birbirine eşit bulundu. Bir serumda (27 nolu) SAT titresi IHA titresinden daha yüksek olarak saptandı.

Tartışma

Bu çalışma ile kanda bulunan *S. gallinarum* antikorlarının tespit edilmesinde IHA testinin serum aglutinasyon tüp testinden daha duyarlı olduğu ortaya konulmuştur. IHA testinin *S. gallinarum* ve *S. pullorum* infeksiyonlarının klinik teşhisinde yararlı olacağı ve şüpheli hallerde, SAT yanısıra teşhisi kuvvetlendirmek için IHA testinin kullanılmasının yerinde olacağı kanısına varılmıştır.

İndirekt hemaglutinasyon testi (IHA) diagnostik amaçlarla sığırlardaki salmonella infeksiyonlarının teşhisinde kullanılmış olup alınan sonuçlara göre, sığırların *S. dublin* infeksiyonlarında, tenenli koyun eritrositlerine alkali polisakkaridin adsorpsiyonu ile yapılan IHA testi serum aglutinasyon testine oranla daha yüksek titre vermekte ve dolayısı ile, teşhiste daha iyi sonuç elde edilmektedir (14).

Çizelge: 11 İndirekt hemaglutinasyonun plate test ve serum aglutinasyon testi ile karşılaştırılmasından elde edilen sonuçlar

Serum No:	Plate test	Aglutinasyon titresi (1/2 ⁿ)	İndirekt-Hemaglutinasyon titresi (1/2 ⁿ)
1	—	—	—
2	—	—	—
3	—	—	—
4	+	3	3
5	+	2	3
6	—	—	—
7	—	—	—
8	+	4	5
9	—	—	—
10	—	—	—
11	—	—	—
12	—	—	—
13	—	—	—
14	+	5	6
15	+	5	5
16	—	2	4
17	—	—	—
18	+	4	4
19	—	—	—
20	—	—	—
21	+	6	7
22	+	4	4
23	+	4	5
24	+	6	7
25	+	3	5
26	—	—	—
27	+	3	2
28	—	—	—
29	—	—	—
30	—	—	—
31	—	—	—
32	—	—	—
33	—	—	—
34	+	6	8
35	—	—	—
36	—	—	—
37	+	4	4
38	+	4	6
39	+	3	3
40	—	—	—
41	—	—	—
42	—	—	—
43	—	—	—
Kontrol	—	—	—

IHA testi kanatlılardaki çeşitli salmonella infeksiyonlarının teşhisinde de başarı ile kullanılmıştır (6,7). *S. virchow* ve *S. bredency* türleriyle oluşturulan deneysel infeksiyonlarda, plate testin genellikle 11-14 gün sonra pozitif reaksiyon vermesine karşın IHA testinde daha erken sonuç alındığını bildirilmiştir (10). *S. pullorum* infeksiyonlarında IHA testinin, bakteriyel aglutinasyondan 4 defa daha duyarlı

olduğunu ve deneysel olarak infekte edilmiş kanatlılarda İHA testinin antikorların daha erken saptanmasına yardımcı olduğu açıklanmıştır(6)

Bu çalışmada *S. gallinarum*'dan fenol ekstraksiyon yöntemi ile hazırlanan polisakkarid ile yapılan İHA testinin, serum aglutinasyon testinden daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Bu bakımdan, bulgular İHA testi ile yapılan önceki çalışmalardan elde edilen sonuçları doğrular niteliktedir.

S.dublin ve *S. typhimurium*'dan ileri gelen sığır salmonellozisinin teşhisinde yararlanılan İHA testi için saptanan optimal standard değerler, polisakkarid konsantrasyonu için, 0.5 mg/ml; ısı 37°C; adsorpsiyon süresi, 60 dakika, ve en uygun eritrosit olarak tavuk al yuvarlarıdır. (11) Bu sonuçlar İHA testini standardize etmede elde edilen optimal değerlerle bir paralellik göstermiştir.

İHA testinin yüksek titre vermesi yanı sıra, sonuçlar 60 dakika gibi kısa bir zamanda alındığı için bu test serum aglutinasyon testine üstünlük sağlamaktadır. Gerek çalışmada elde edilen sonuçlar ve gerekse diğer araştırmacıların elde ettikleri verilere göre İHA testi grup spesifik salmonella antikorlarının saptanmasında iyi bir yöntemdir.

Literatür

- 1- **Anonim** (1967): *Kanatlıların pullorum ve gallinarum hastalığı yönetmeliği*. Tarım Bakanlığı, Vet. İş. Gn. Müd. Ongun kardeşler matbaası, 1-15.
- 2- **Arda, M., Akyol, İ., ve Kahraman, M.** (1969): *Salmonella gallinarum'a karşı aşılınmış (9 R ile) tavukların deneysel infeksiyonunu üzerinde araştırmalar*. Vet. Fak. Derg., 16: 191-199.
- 3- **Fulthorpe, A.J.** (1954): *Agglutination of sheep erythrocytes sensitized with salmonella polysaccharids*. J. path. and Bact., 68: 315-325.
- 4- **Neter, E.** (1956): *Bacterial hemagglutination and hemolysis*. Bact. Review, 20: 166-188.
- 5- **Neter, E., Westphal, O., Lüderitz, O., and Gorzynski, E.A.** (1956): *The Bacterial hemagglutination test for the demonstration of antibodies to enterobacteriaceae*. Ann. N.Y. Acad. Sci., 41: 67-71.
- 6- **Sapre, V.A., and Mehta, M.L.** (1967): *Indirect hemagglutination test for diagnosis of salmonellosis in poultry*. Ind. Vet.J., 44: 647-652.

- 7- **Sieburth, J. McN.** (1957): *The Effect of Furazolidone on the cultural and serological response of Salmonella typhimurium infected chickens.* Avian Dis., 1: 180-194.
- 8- **Siebert, J. McN.** (1957): *Indirect hemagglutination studies on salmonellosis of chickens.* J. Immunol., 78: 380-386.
- 9- **Siebert, J. McN.** (1958): *The indirect hemagglutination test in the avian salmonella problem.* Amer. J. Vet. Res., 19: 729-735.
- 10- **Smith, P.J., Larkin, M. and Brookskank, N.H.** (1972): *Bacteriological and serological diagnosis of salmonellosis of fowls.* Res. Vet. Sci., 13: 460-467.
- 11- **Smith, P.J., and Harvey, C.N.** (1977): *Diagnosis of bovine salmonellosis. I. Development of an indirect haemagglutination test.* Br. Vet. J., 133: 474-482.
- 12- **Smith, P.J., Harvey, C.V. and Hebert, C.N.** (1977): *Diagnosis of bovine salmonellosis. II. Application of the indirect haemagglutination test to the diagnosis of salmonella dublin infection.* Br. Vet. J., 133: 509-517.
- 13- **Stavitsky, A.B.** (1954) *Micromethods for the study of proteins and antibodies I. procedure and general applications of hemagglutination and hemagglutination-inhibition reaction with tannic acid and protein-treated red blood cells.* J. Immunol., 72: 360-375
- 14- **Wary, C. Morris, J.A. and Sojka, W.J.** (1975): *A comparison of indirect haemagglutination tests and serum agglutination tests for the serological diagnosis of salmonella dublin infection in cattle.* Br. Vet. J., 131: 727-737.