

ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN YERSİNİA ENTEROCOLITICA İZOLASYONU
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Serdar Diker*

Ersin İstanbulluoğlu**

Studies on the Isolation of Yersinia enterocolitica from Several Sources

Summary: *Fecal samples collected from dogs, sheep and cattle were examined for the presence of Yersinia enterocolitica. All samples were diluted with PBS and maintained at 4°C for 21 days for cold enrichment. After cold enrichment, samples were streaked onto MacConkey agar as differential media and incubated at 22°C for 48 hours. Small, lactose-negative colonies on MacConkey agar were examined in terms of Y. enterocolitica and Norway three tubes method was used for identification. Gram negative rods, motile at 22°C, but not at 37°C, positive results of tests for urease, mannitol, nitrate and negative test result of oxidase were considered to be Y. enterocolitica.*

Y. enterocolitica was isolated from 6(4%) of 156 fecal samples. All isolates were from fecal samples of dogs.

Özet: *Köpek, koyun ve sığır kaynaklı 156 dışkı örneği Yersinia enterocolitica yönünden incelendi. Dışkı örnekleri PBS de sulandırıldıktan sonra +4°C de "soğukta zenginleştirme" işlemi için 21 gün bırakıldı. Zenginleştirme işleminden sonra örnekler MacConkey agara ekilerek 22°C de 48 saat inkube edildi. MacConkey agar üzerindeki küçük laktöz negatif koloniler Y. enterocolitica yönünden incelenerek, bunların identifikasyonunda Norveç üçlü tüp yöntemi kullanıldı. Gram negatif, 22°C de hareketli, 37°C de hareketsiz, üreaz, mannitol, nitrat testlerinde pozitif, oksidaz testinde negatif reaksiyon gösteren suşlar Y. enterocolitica olarak değerlendirildi. İncelenen 156 dışkı örneğinin 6 tanesinden (%4) Y. enterocolitica izole edildi. İzolasyonların tümü köpek dışkı örneklerinden yapıldı.*

* Araştırma Görevlisi, A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara-Turkey.

** Doç.Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara-Turkey.

Giriş

Hayvanlarda *Yersinia* infeksiyonları, Enterobacteriaceae ailesinden olan ve ancak son yıllarda yapılan biyokimyasal ve serolojik incelemeler sonucunda birbirinden ayırt edilebilen iki mikroorganizma, *Y.pseudotuberculosis* ve *Y.enterocolitica* tarafından oluşturulur(3). *Y.enterocolitica* çeşitli türden sağlıklı hayvanların normal barsak florasında bulunabilmekte, insan ve hayvanlarda infeksiyonlara neden olduğu için bir zoonoz olarak kabul edilmektedir(3,13,14). Bu güne kadar yapılan araştırmalar sonucunda birçok yabani ve deniz hayvanı yanı sıra, sığır, koyun, keçi, tavuk, kedi, köpek ve tavşan gibi evcil hayvanlarda *Y.enterocolitica*'nın varlığı ortaya konmuştur (4,5,8,10, 11,15,16). Hayvanlardan izole edilen *Y.enterocolitica* suşlarının çoğunluğu, insanlarda infeksiyonlara neden olanlardan farklı isede, bir bölümü insanlardan izole edilenlerle aynı özellikleri taşırlar(3,10). *Y.enterocolitica*'nın doğal olarak hayvanların sindirim sistemi florasında bulunduğu ve bu nedenle insanlarda görülen infeksiyonların kaynağının hayvanlar ve hayvansal kökenli gıda maddeleri olduğu ileri sürülmektedir(7). Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda, sütlerde, süttten yapılan besin maddelerinde, hayvan dışkıları ile bulaşık sularda ve etlerde *Y.enterocolitica*'ya rastlanıldığı bildirilmiştir (1,2,9,11). Bu güne kadar Türkiye'deki hayvanlarda ve hayvansal kaynaklı gıdalarda *Y.enterocolitica*'nın varlığını ve epizootiolojisini bildiren bir çalışma yapılmamıştır.

Çalışmamızın amacı, sınırlı sayıdaki çeşitli türlerden evcil hayvanlarda *Y.enterocolitica*'nın varlığını belirlemektir.

Materyal ve Metot

Dışkı örnekleri: A.Ü. Veteriner Fakültesi Kliniklerine getirilen veya Ankara Belediyesi tarafından tutulan 109 köpek, 29 koyun ve 18 sığırın olmak üzere toplam 156 hayvanın dışkı örnekleri steril eküvyonlar yardımı ile toplandı.

Y.enterocolitica izolasyonu: *Y.enterocolitica* suşlarının izolasyonunda "soğukta zenginleştirme" yöntemi kullanıldı(12). İncelenecek dışkı örnekleri, 5 er ml. miktarında 1/15 M PBS (pH.7,6) içeren tüplerle konularak 4°C de 21 gün bekletildi. Bu sürenin sonunda PBS içinde bekletilen dışkı örneklerinden, 2 şer MacConkey Agara (Oxoid) ekimler yapılarak, bunlardan biri 22°C de 48 saat, diğeri ise 37°C de 24 saat ve bunu takiben 22°C de 24 saat inkube edildiler. İnkubasyon-

dan sonra besi yeri üzerindeki laktoz negatif ve toplu iğne başı büyüklüğündeki koloniler seçilerek *Y. enterocolitica* yönünden biyokimyasal testler yardımı ile incelendi.

Y. enterocolitica identifikasyonu: *Y. enterocolitica*'nın identifikasyonunda kullanılan biyokimyasal testlerden laktoz, glukoz, mannitol fermentasyonu, gaz oluşumu, H₂S, nitrat, üreaz ve indol testleri *Norveç Üçlü Tüp Yöntemi* ile yapıldı(6). Mikroorganizmanın 22°C ve 37°C deki hareketliliği aynı yöntemin 2. tüpünde incelendi. Sitrat deneyi, Simmons Citrate Agar (Oxoid)da yapıldı. Oksidaz testi için Bactident (Merck) kullanıldı. Tüm biyokimyasal testler 22°C ve 28°C de uygulandı. Ayrıca incelen her suşla birlikte *Y. enterocolitica* scrotip 0:9 suşunun biyokimyasal karakterleri de tanık olarak incelendi.

Laktozu fermente etmeyip, glukoz ve mannitölü fermente eden 22°C de hareketli, 37°C de hareketsiz, V.P., katalaz, üre, nitrat deneylerinde pozitif sonuç, H₂S, sitrat ve oksidaz deneylerinde negatif sonuç veren suşlar *Y. enterocolitica* olarak kabul edildiler.

Bulgular

İncelen 156 dışkı örneğinin 6 sından (%4) *Y. enterocolitica* izole edildi. Sığır ve koyunların dışkı örneklerinden *Y. enterocolitica* ayrılmasına karşın, incelen 109 köpek dışkısından 6 adet (%5.5) *Y. enterocolitica* izole edildi.

İzole edilen suşların tümü *Y. enterocolitica* için tipik olan biyokimyasal özelliklere sahip bulundular. Bulunan 6 suşun biyokimyasal özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Y. enterocolitica uzun zamandan beri bilinen bir mikroorganizma olmasına rağmen, ancak son yıllarda yapılan çalışmalarla bir patojen olarak önem kazanmıştır. Birçok ülkede yapılan araştırmalar sonucunda, *Y. enterocolitica*'nın hayvanların normal barsak florasındaki ve hayvansal kaynaklı gıda maddelerindeki varlığı ortaya konmuştur. Çekoslovakya'da yapılan bir çalışmada, süttten yapılan gıda maddelerinden 114 *Y. enterocolitica* suşu ayrılmıştır(1). Hughes ve Schiemann etkeni koyun ve inek sütlerinden izole ettiklerini bildirmişlerdir (2,9). Sığırlardan *Y. enterocolitica* izolasyonu üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, mikroorganizmanın sığırlarda çok düşük oranlarda bulunduğu

Tablo 1. İzole edilen *Y. enterocolitica* suşlarının biyokimyasal özellikleri.

Testler	suş1	suş2	suş3	suş4	suş5	suş6
laktoz	—	—	—	—	—	—
glukoz	+	+	+	+	+	+
gaz	—	+	—	—	—	—
H ₂ S	—	—	—	—	—	—
22°C de hareket	+	+	+	+	+	+
37°C de hareket	—	—	—	—	—	—
nitrat	+	+	—	+	+	+
mannitol	+	—	—	+	+	+
üre	+	+	+	+	+	+
indol	—	—	—	—	—	+
oksidaz	—	—	—	—	—	—
katalaz	+	+	+	+	+	+
sitrat	—	—	—	—	—	—
V.P.	+	+	+	+	+	+

ortaya konmuştur(16). Çeşitli ülkelerde, köpek dışkılarından *Y. enterocolitica* izolasyonu için yapılan çalışmalarda ise, etkenin bu hayvanlarda daha yüksek oranda bulunduğu bildirilmektedir. Pedersen, köpek dışkılarındaki izolasyon oranını %1.7, Shayegani %3.4, Tsu-bokura %2, Wooley %1 olarak bulduklarını bildirmişlerdir (8,10, 11,15).

Ülkemizde şimdiye kadar *Y. enterocolitica*'nın varlığı ve epidemiyolojisi üzerinde hiçbir çalışma yapılmadığından, mikroorganizmanın diğer ülkelerdeki dağılımı ile bir karşılaştırma ve yorum yapmak olanaksızdır. Araştırmamızda, sınırlı sayıdaki materyalden elde ettiğimiz sonuçlar, *Y. enterocolitica*'nın Türkiye'deki varlığını ve hayvanların taşıyıcı rol oynayabileceklerini ortaya koymaktadır. Bu nedenle, diğer ülkelerde yapılan çalışmalarla, insan infeksiyonlarına neden olan hayvansal kaynaklarda belirlenen *Y. enterocolitica*'nın önemi ve epidemiyolojisi üzerinde ülkemizde daha geniş kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Literatür

- 1- **Aldova, E., Sobotkova, J., Brezinova, A., Cerna, J., Janeckova, M., Pegrimkova, J. and Pkorna, V.** (1981): *Yersinia enterocolitica* in water and foods. Zbl.Bakt. Hyg., I.Abt.Orig.B, 173: 464-470.
- 2- **Hughes, D.** (1979): *Isolation of Yersinia enterocolitica from milk a dairy farm in Australia.* J.Appl.Bacteriol., 46:125-130.
- 3- **İstanbulluoğlu, E.** (1982): *Hayvanlarda Yersinia enterocolitica infeksiyonları* (Ed. Tümbay, E., *Yersinia enterocolitica*). Türk Mikrobiyol.Dern.Yay.No.2.

- 4- **Kaneko, K-I. and Hashimoto, N.** (1981): *Occurrence of Yersinia enterocolitica in wild animals.* Appl.Environ.Microbiol., 41:635-638.
- 5- **Kapperud, G.** (1981): *Survey on the reservoirs of Yersinia enterocolitica and Yersinia enterocolitica like bacteria in Scandinavia.* Acta Path.Microbiol.Scand.Sect.B, 89: 29-35.
- 6- **Lassen, J.** (1975): *Rapid identification of gram negative rods using a three tubes method combined with a dichomatic key.* Acta.Path.Microbiol.Scand.Sect.B., 82: 525-533.
- 7- **Morris, G.K. and Feeley, J.C.** (1976): *Yersinia enterocolitica: a review of its role in food hygiene.* Bull.Wld.Hlth.Org., 54:79-85.
- 8- **Pederson, K.B. and Winblad, S.** (1979): *Studies on Yersinia enterocolitica isolated from swine and dogs.* Acta.Path.Microbiol.Scand.Sect.B, 87:137-140.
- 9- **Schiemann, D.A. and Toma, S.** (1978): *Isolation of Yersinia enterocolitica from raw milk.* Appl.Environ.Microbiol., 35: 54-58.
- 10- **Shayegani, M., DeFoge, I., McGlynn, D.M. and Root, T.** (1981): *Characteristics of Yersinia enterocolitica and related species isolated from human, animal and environmental sources.* J.Clin.Microbiol., 14: 304-312.
- 11- **Tsubokura, M., Fukuda, T., Otsuki, K., Kubota, M., Itagaki, K. and Tnamachi, S.** (1975): *Isolation of Yersinia enterocolitica from some animals and meats.* Jap.J.Vet.Sci., 37:213-215.
- 12- **VanNoyen, R., VanDepitte, J., Wauter, G. and Selderslagh, R.** (1981): *Yersinia enterocolitica: its isolation by cold enrichment from patient and healthy subjects.* J.Clin.Pathol., 34:1052-1056.
- 13- **Vantrappen, G., Agg, H.O., Geboes, K. and Ponette, E.** (1982): *Yersinia enterocolitica.* Med.Clin.North Amer., 66:639-653.
- 14- **WHO Scientific Working Group** (1980): *Enteric infections due to Campylobacter, Yersinia, Salmonella and Shigella.* Bull.Wld.Hlth.Org., 58: 519-537.
- 15- **Wooley, R.E., Shotts, E.B. and McConnell, J.W.** (1980): *Isolation of Yersinia enterocolitica from selected animal species.* Am.J.Vet.Res., 41: 1667-1668.
- 16- **Zen-Yoji, H., Sakai, S., Maruyama, T. and Yanagawa, Y.** (1974): *Isolation of Yersinia enterocolitica and Yersinia pseudotuberculosis from swine, cattle and rats at an abattoir.* Jap.J.Microbiol., 18:103-105.

Yazı 21.3.1983 günü alınmıştır.