

SIĞIRLARDA LİSTERİAL ENSEFALİTİS OLGUSU

A LISTERIAL ENCEPHALITIS CASE IN CATTLE

Rüştü TAŞTAN * Nejat AYDIN ** Hasan AKTAR*
Veli GÜLYAZ * A.Gökhan ŞENOL *

ÖZET

Bu çalışma, semptomatik olarak kuduz belirtileri gösteren bir inek beyinde L. monocytogenes serotip-1'in izolasyonu, identifikasyonu ve bazı virülens özelliklerinin incelenmesi amacıyla yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler:

Listeria monocytogenes, inek, beyin, meningoensefalitis, kuduz.

SUMMARY

In this study, L. monocytogenes serotype-1 isolated and identified from the brain of a cattle, showing rabies symptoms. Listeria enrichment broth (LEB) and Modified Oxford agar (MOX) were used as selective media. Also, the isolated strain were serotyped and confirmed with Listeria antiserum (Difco) preparates. "Double CAMP Test" and pathogenicity trials were conducted in mice and rabbits in order to determine the virulence properties of the L. monocytogenes.

Key Words:

Listeria monocytogenes, cattle, brain, meningoencephalitis, rabies.

GİRİŞ

Listeriozis, insan ve hayvanlarda meningoensefalitis, abortus, septisemi, keratokonjunktivitis ve sığırlarda mastitis ile karakterize zoonotik, bakteriyel, infeksiyöz bir hastalıktır (2,8). Listeria genusunda beş tür (L. monocytogenes, L. ivanovii, L. welshimeri, L. seeligeri) bulunmaktadır. L. monocytogenes ve L. ivanovii insan ve hayvanlarda patojenik, diğerleri apatojenik karakterde olup, doğada yaygın olarak bulunurlar (8,9,17). L. monocytogenes insanlar ve 40'dan fazla memeli hayvan türünden, ayrıca 17'den fazla kanatlı türünden ve yabani

* Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, ERZURUM

** Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Dışkapı-ANKARA

Kabul Tarihi, Nisan 1996

kemiricilerden (8), L. ivanovii ise koyun abortus olgularından (16,19) ve atık sığır fetuslarından (1) izole edilmiştir. L. monocytogenes'in genç sığırlarda septisemi, erginlerde meningoensefalitislere, sporadik olarak mastitislere neden olduğu ve sütle atıldığı bildirilmektedir(8,14,15). Gray ve ark. (7), ensefalitisli sığır beyinlerinin bakteriyolojik incelemelerinde direkt ekimlerde izolasyon gerçekleştirilemez iken, beyin örneklerini ön zenginleştirme'ye bıraktıklarında çok sayıda Listeria izolasyonu yaptıklarını bildirmektedirler. March (12), kuduz semptomları gösteren sığır beyinlerini farelere intraserebral inokulasyon yöntemi ile kuduz yönünden incelemiş, deney farelerinin pek çoğundan L. monocytogenes izole etmiştir Vallee ve ark. (21), kuduz kuşkulu 260 sığır beyninin 8 tanesinde (%3.07), Dijkstra (4), bir süt ineği işletmesinde 4 ineğin beyinlerinden, L. monocytogenes izole ettiklerini bildirmişlerdir. Kampelmacher ve ark. (10), 215 sığır beyninden L. monocytogenes serotip-4b izole ettiklerini, Dijkstra (5) sığır ensefalitis olgularında en çok L. monocytogenes serotip-4b'nin bulunduğunu ve bu serotip'in nöropatojenik karakter taşıdığını bildirmektedirler.

Türkiye'de L. monocytogenes izolasyonu ilk defa 1945 de Özcebe ve Doğuer (13) tarafından gerçekleştirilmiştir. Doğuer (6)'e göre 1952-1954 yıllarında Bekir İyigören tarafından iki danadan L. monocytogenes izole edilmiştir. Aslan ve ark. (3), 8 sığırdaki semptomatik Listeriozis bulgusuna rastlandıklarını ve 8 sığırın Serebro Spinal Sıvı (CSF)'dan ve 2 sığırın da gaitasından L. monocytogenes izolasyonu gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışma, semptomatik olarak kuduz kuşkulu inek beyninden L. monocytogenes izolasyonu ve identifikasyonunu bildirmek ve Türkiye'deki sığır listeriozisi üzerine yapılmış çalışmalarını inceleyerek, sonuçları değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Enstitümüz'e 18 Kasım 1992'de, kuduz kuşkusuyla getirilen 4 yaşında, yerli bir ineğe ait beyin, çalışmamızın materyalini oluşturmuştur. Anamneze göre; Kuduz olduğu sanılan inek, ölüm tarihinden 30-35 gün önce Kuduz belirtileri gösteren, aşısız bir köpek tarafından ısırılmış ve köpeğin bir hafta sonra öldüğü bildirilmiştir. Isırılan ineğin, ölümden önceki son iki gün içinde yem yeme, su içme fonksiyonlarında azalma, geceleri bağırma, böğürme, çevresindeki cisimlere saldırma eylemleri gösterdiği, ağızda bol miktarda köpüklü salya akıntısı olduğu, dilde sarkma, dudaklarda felç meydana geldiği ve daha sonra öldüğü öğrenilmiştir.

Virolojik İncelemeler: Laboratuvarında kafatası, tekniğine uygun şekilde açılarak, beynin ilgili yerlerinden Kuduz yönünden Seller's boyama ve Floresan

antikor testi yapıldı. Beyinden hazırlanan inokulum 6 fareye intraserebral enjekte edildi. Deney farelerinden 2 tanesinin ilk 36-48 saatlerde ölmesine karşılık, 4 tanesinin ve 2 kontrol farelerinin 25-30 günlük gözlem süresince ölmediği görüldü. Mikroskopide spesifik Negri cisimciklerine rastlanılmadı.

Bakteriyolojik İncelemeler: Beyinin çeşitli yerlerinden besiyerlerine direkt ekimlerde üreme görülmedi. Daha sonra beyin dokusundan homojenat hazırlanıp, selektif besiyerlerine ekimleri yapıldı (16,18). Selektif besiyeri olarak Listeria Zenginleştirme Buyyonu (LEB) ve Modifiye Oxford Agar (MOX) (11), % 7 defibrine koyun Kanlı Agar (KA) kullanıldı. Beyin dokusu süspansiyonu 3-6 hafta süre ile +4°C inkubasyona bırakıldı (18). Belirli aralıklarla (7,15,21.nci günlerde) selektif besiyerlerine ekim işlemleri tekrarlandı (18). İdentifikasyon amacıyla biyokimyasal ve serolojik testler (16), diğer hemolitik Listeria türlerinden ayırmak, virülens özelliklerini belirlemek için “Çift CAMP Testi” (20), deney hayvanlarında patojenitesini incelemek için fare denemeleri ve tavşanlarda Anton’s testi (8) yapıldı. Antibiyotiklere duyarlılığını belirlemek için ise DST agarda disk diffüzyon yöntemi uygulandı.

BULGULAR

İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları: Beyin dokusu süspansiyonundan KA ve MOX agara direkt ekimlerde üreme olmadı. İki gün sonra ön +4°C süspansiyondan 1 ml alınarak, LEB’e ekimler yapıp, 37°C’de 24 saat süre ile inkubasyona bırakıldı. Ertesi gün KA ve MOX besiyerlerine ekimler yapıldı. İnkubasyon sonunda üreme görülmedi. Bu işlemler 15 gün sonra tekrarlandı. KA’da β-hemolitik, küçük, gri renkte, S-karakterli, şeffaf koloniler, MOX agarda ise siyah zemin üzerinde, beyaz, küçük, parlak koloniler üredi. Bu kolonilerden Gram boyama yapıldı. Mikroskopide Gram pozitif küçük, düzgün, uçları yuvarlak, sporsuz çomaklar görüldü. MOX agardan alınan kolonilere katalaz ve oksidaz testi uygulandı. Elde edilen sonuçlar Tablo 1’de verilmiştir.

Serotiplendirme Sonuçları: Listeria suşu hazır Listeria -0- antiserumları (Difco) ile yapılan çabuk lam aglütinasyon testinde, serotip-1 grubunda pozitif reaksiyon vermiş ve L. monocytogenes serotip-1 olarak identifiye edilmiştir.

Patojenite Deneme Sonuçları: L. monocytogenes suşunun inokulasyonu yapılan deney fareleri, inokulasyonu izleyen 4. günde öldüler. Ölen farelerin organlarından, Gram ve Giemsa boyama yapıldı. Mikroskopide makrofajlar içinde ve doku aralıklarında, Gram pozitif, düzgün, küçük çomaklar görüldü. Farelerden geri alım işlemleri gerçekleştirildi (20). İzole edilen Listeria suşu ile orijinal suş benzerlik göstermekteydi. Bir yaşındaki Yeni Zelanda tavşanına uygulanan

Tablo 1. İnek Beyninden İzole Edilen *L. monocytogenes*'e ait Bakteriyolojik ve Serolojik Bulgular

Yapılan Testler		Sonuçlar
MOX agarda üreme		+
Kanlı agarda üreme ve hemoliz		+, β
25 °C'de	Asılı Damla	+
Hareket	Yarı katı agar	+
Çift CAMP	β-hem <i>S. aureus</i>	+
Testi	R.equi	-
D-Klisoz		-
L-Ramnoz		+
Glikoz		+
Salisin		+
Mannitol		-
Nitrat redüksiyonu		-
Laktöz		+ (6.gün)
L-Arabinöz		-
Üre		-
α-metil -D-Mannozid		+
α-D-Melezitoz		+
MR/VP		+ / +
Hippurat hidrolizi		+
Farelerde patojenite		+
Tavşanda ANTON's testi		+
Serotip		1

Anton's testinde, deney taşvanının gözünde ikinci günden itibaren serözite başladı. Dördüncü günde göz kapakları mukopurulent akıntı nedeniyle tamamen kapandı. Palpebra'larda ileri derecede ödem ve fimozis şekillendi (Resim 1 ve 2).

Antibiyotiklere Duyarlılık Sonuçları: İzole edilen *L. monocytogenes* suşu Neomisin, Danofloksasin ve Enrofloksasin'e orta derecede duyarlı, Ampisilin, Amoksisilin, Klortetrasiklin, Oksitetrasiklin, Karbenisilin, Trimetoprim, Gentamisin, Eritromisin, Tilmikosin ve Streptomisin'e duyarlı, Penisilin -G ve Sefalosporin'e dirençli bulundu.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sığır Listeriozis'i ile ilgili Türkiye'de ve Dünya'da yapılan çalışmaları gözden geçirdiğimizde, yurtdışında yapılmış araştırmalarda (5, 8, 12, 14, 15, 21) klinik ensefalitis olgularının Kuduz ile karıştığı bildirilirken, Türkiye'de benzer bir yayına rastlanılmamıştır. Türkiye'de sığır Listeriozisi ile ilgili ilk izolasyonun İyigören (6) ve ikinci incelemenin ise Aslan ve ark. (3) tarafından yapıldığı anlaşılmaktadır. Aslan ve ark. (3), 8 adet sığırın idrar, gaita ve CSF'larından L. monocytogenes izole ettiklerini bildirmelerine karşın, İyigören'in etkeni hangi doku veya organdan izole ettiğine yazılı kaynaklarda rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada ise, semptomatik olarak Kuduz'a benzeyen bir adet, 4 yaşındaki inek beyninden ön zenginleştirme işlemleri sonucunda 18-19. günlerde MOX ve KA'da saf halde üreme elde edilmiştir. İzole edilen L. monocytogenes suşunun etiyolojik özellikleri incelenmiş, sonuçlar klasik nitelikteki literatür verileri (8, 12, 16, 17) ile tam bir benzerlik göstermiştir. Özellikle sığırlarda Listeriozis'in semptomlarının Kuduz'a benzemesi nedeniyle beyin dokusu Kuduz yönünden incelenirken deney farelerinin ilk 48-72 saat içinde ölmeleri halinde, gerek fare organları ve gerekse orjinal örnek, Listeriozis yönünden de ayrıca bakteriyolojik olarak incelenmelidir (8).

Sonuç olarak, her ne kadar L. monocytogenes'in yol açtığı Listerial meningoensefalitis olguları semptomatik olarak Kuduz, bazı metal (bakır ve kurşun) zehirlenmeleri, metabolik hastalıklar (Poliensefalomalazi, Ketozis'in sinirsel formu), bazı viral ensefalitiser, Haemophilus sommus'un neden olduğu (15) Tromboembolik meningoensefalitis (TEME) ve Coenurosis gibi paraziter hastalıklar ile karışsa bile etkenin zoonotik karakterde olması nedeniyle olgular mutlaka laboratuvarında etiyolojik olarak incelenmeli ve olgular sporadik olsa da etken izolasyonuna gidilmesi sürü sağlığı ve toplum sağlığı bakımından önem taşımaktadır. Bu nedenle gerek literatür verileri ve gerekse sunulmuş olan bu çalışmanın sonuçları serebral Listeriozisin zoonotik önemini ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

1. AALEXANDER, A.V., WALKER, R.L, JONHSON, B.J., CHARLTON, B.R. AND WOOD., L.W.: Bovine abortions attributable to *Listeria ivanovii*: Four cases (1988-1990). J.Am. Vet. Assoc., 1992, 200: 711-714.
2. ARDA, M., MİNBAŞ, A., LELOĞLU, N., AYDIN, N. VE AKAY, Ö.: “*Listeria* Enfeksiyonları” Özel Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mitotik İnfeksiyöz Hastalıklar. Atatürk Üniversitesi Yayınları No: 74, Kars Veteriner Fakültesi Yayınları No: 1, Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum, s:236-247, 1992.
3. ASLAN, V., TURGUT, K., KAYA, O., SEVİNÇ, M.: Sığırlarda *Listeriosis* Olgusu. Hay. Araş. Derg. 1992. 1:37-39.
4. DIJKSTRA, R.G.: *Listeria-encephalitis* in cows through litter from a broiler farm. Zbl. Bakt. Hyg., I.Abt. Orig. B, 1976, 161: 383-385.
5. DIJKSTRA, R.G.: *Listeriosis* in Animals: Clinical Signs, Diagnosis and Treatment, pp:68-78. in *Listeriosis* Joint WHO/ROI Consultation on Prevention and Control. 1987, A. Schönberk. (Ed). Drunk. Bundergesundheitsamtes, Berlin, West Germany
6. DOĞUNER, M.: Türkiye’de *Listeriosis*, Etlik Vet. Bkt. Enst. Derg., 1961, 1:345-348
7. GRAY, M.L, STAFSETH, H.J. AND THORP, F.: A four year study of *Listeriosis* in Michigan. J.Am.Vet.Med.Assoc., 1961, 118:242-252
8. GRAY, M.L. AND KILINGER, A.H.: *Listeria monocytogenes* and *Listeria* infections. *Bakteriol Rev.*, 1966, 30:309-382.
9. GRONSTOL, H.: *Listeria*. in: C.L. Gyles and C.O. Thoen. (eds), *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*, Iowa State University Press, pp:48-55, 1986
10. KAMPELLACHER, E.H. AND JONHSEN, L.M.N.: *Listeriosis* in human and animals in the Netherlands (1958-1977). Zbl. Bakt. Hyg., I. Abd. Orig. 1980, A/246: 211-227.

11. LEE, W.H. AND MC CLAIN, D: FSIS Method for Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* From Processed Meat and Poultry Products. Laboratory Communication No.57, Revised 24 May. 1989. USDA, FSIS, Beltssville, Md., 1989.

12. MARCH, R.W.: A Rapid method for the Isolation of *Listeria monocytogenes* from bovine brain. *Cornell. Vet.*, 1956, 46: 274-276.

13. ÖZCEBE, İ. VE DOUER, M.: Koyunlarda *Listerellalardan* ileri gelen *Encephalomyelitis purulenta*. *Türk Vet. Cem. Derg.*, 1946, 16:36-37.

14. REBHUN, W.C. AND DE LAHUNTA, A.: Diagnosis and treatment of bovine *Listeriosis*. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, 1982. 180:395-398

15. REBHUN, W.C.: *Listeriosis*; "Bovine Neurologic Diseases". *Vet. Clin. Nort. Am.: Food Animal Practice.*) 1987, 3:75-83.

16. ROCOURT, J.: The Recognition and Identification of *Listeria* species by classical methods. *İnfeksiyon Derg. (Turkish J. Infec.)*, 1988, 2:471-488.

17. SEELIGER, H.P.R. AND JONES, D.: Genus *Listeria*. in: P.H.A. Sneath and J.H. Holt. (Eds), *Berger's Manuel of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, pp:1235-1245, 1986.

18. SEELIGER, H.P.R. AND JONES, D.: Methods of *Listeria monocytogenes* and related species from clinical samples, food and enviromental source. *İnfeksiyon Derg.*, (Turkish J. Infec.), 1988, 2:607-616.

19. SERGEANT, E.S.G., LOVE, S.C.J. AND MCLNNES, A.: Abortions in sheep due to *Listeria ivanovii*. *Aust. Vet. J.*, 1991, 68-69.

20. TAŞTAN, R.: Tavuklardan *Listeria* spp. İzolasyonu ve İdentifikasyonu Üzerinde Çalışmalar. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 1995.

21. VALLEE, A., GUILLON, J.C., LEVADITI, J. AND DESPIERRES, M.: Bovine Cerebral *Listeriosis* in France, *Bull. Acad. Vet. France.*, 1972, 45:277-282. in *Vet. Bull.*, 1973.

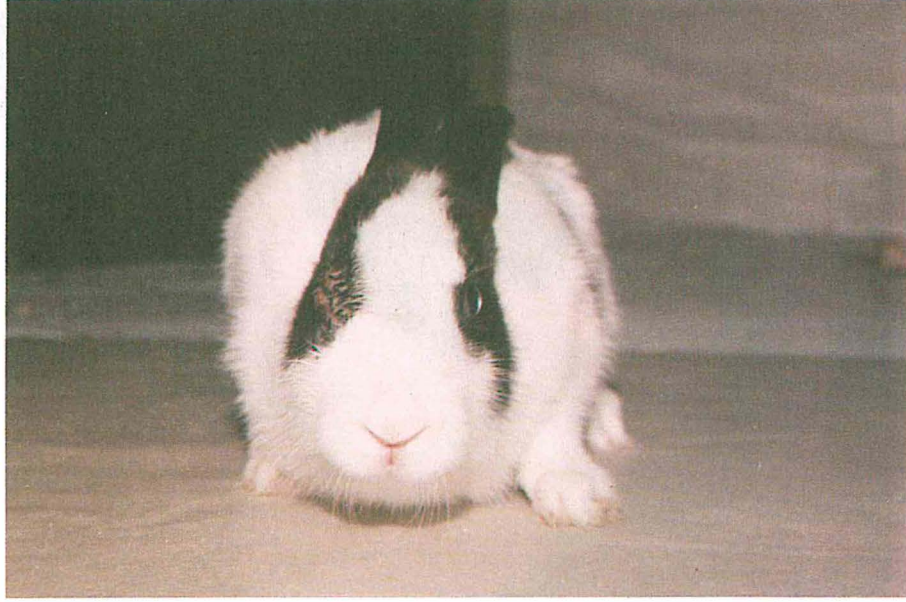
TEŞEKKÜR

Çalışmada kullanılan R. equi ve L. monocytogenes serotip 1/2a: CLIP-12498 suşunu gönderen Fransa Pasteur Enstitüsünden Sayın Dr. J. ROCOURT'a, β -hem. S. aureus suşunu sağlayan Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünden Sayın Uzm. Veteriner Hekim Nedret AYDIN'a ve yazıları titizlikle daktilo eden Laborant Mehmet GEZER ve Yahya SEÇKİN'e teşekkür ederiz.

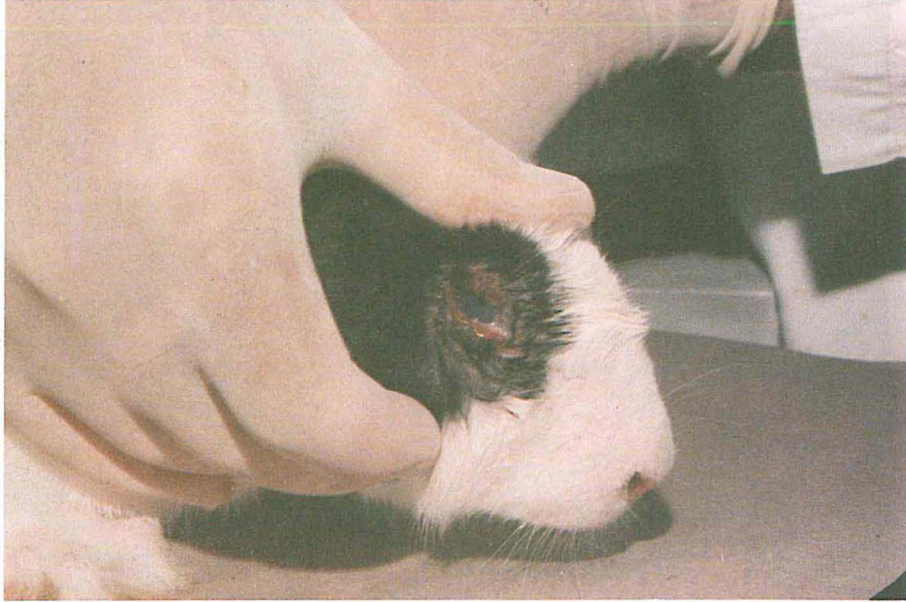


Resim 1. Sığır Beyninden izole edilen *L. monocytogenes* serotip-1 ile tavşan'da Deneysel Anton's testi. İnstillasyondan 6 gün sonra; **A)** soldan, **B)** sağdan görünüş (orjinal)

A)



B)



Resim2. Sığır Beyninden izole edilen *L. monocytogenes* serotip-1 ile tavşan'da Deneysel Anton's testi. İnstillasyondan 6 gün sonra; A) önden, B) sağdan ve yakından görünüş (orjinal).