

SIĞIRLARDA CL.NOVIYİ İNFEKSİYONU

Doç. Dr. Mustafa KAHRAMAN (*)

Özet : Tunceli'de yeni ölmüş bir inekten alınan enfekte material hastalık etkenini ortaya koymak için incelendi, Aerob olarak herhangi bir ajan izole edilmedi. Anaerob kültürel şartlarda Gram pozitif, çubuk şeklinde bir mikroorganizma üretildi. İzole koloniler ince şeffaf, yassı ve mavimtrak gri renkte idi. Bundan başka kenarları düzensizdir. Bu etkenin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal karakterleri Cl. novyi'nin karakterlerine benziyordu. Fluoresan antikor tekniği ile incelendiğinde izole etkenin Cl. novyi olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, bu organizmaya ait buyyon kültür filtratları beyaz farelere enjekte edilerek organizmanın toksin meydana getirip getirmediği saptandı. Enjeksiyondan sonra 24 saat içinde bütün fareler öldüler.

The Infection of Cl.novyi in Cattle

Summary : An infected material, taken from a cow which new died at Tunceli, was studied to determine the causative agent of the infection. No kind of agent could be isolated aerobically. However, a microorganism which was gram positive and rod-shaped, was grown under anaerobic conditions. Isolated colonies were delicate, transparent, flattened and bluish gray in color. Moreover their contours were irregular.

The morphological, physiological and biochemical characteristics of this microorganism were similar to the ones of Cl.novyi. After studying it with fluorescent antibody technique, we understood that the microorganism itself was Cl.novyi. In addition, broth cultural filtrates of this agent were injected to white mice to find out whether it secredes toxin or not. All the injected mice died in 24 hours after injection.

(*) U.Ü. Veteriner Fakültesi BURSA

GİRİŞ

İnfeksiyöz nekrotik hepatitis koyunların akut toksemik bir hastalığıdır. Arasına sığırlarda da görülür. Parazitlerin genç şekillerinin tahrip ettikleri karaciğer dokusunda teşekkül eden nekrotik odaklarda etken Cl. novyi (Cl. oedematiens) üreyerek salgıladığı toksinin emilmesi sonucu hastalık oluşmaktadır (6). Saha şartlarında hastalık genellikle fasciolasis ve dicroceliasis ile beraber görülür. (8).

İnfeksiyon koyunlarda süratli seyreder. Hasta hayvanı görmek çok nadirdir. Hastalığa yakalanan bir kaç saat içerisinde ölür (9). Sığırlarda bu süre 2 gün kadar uzayabilmektedir (7). Hastalık birçok ülkede yaygındır (1). Yurdumuzda ilk defa 1965 yılında Bekir İyigören ve arkadaşları tarafından tesbit edilmiştir. Daha sonra Erzurum yöresindeki koyunlarda infeksiyöz nekrotik hepatitis enfeksiyonu ortaya çıkarılmıştır (3).

Etken Cl. oedematiens tip B (Cl.novyi) olarak adlandırılmakta olup Clostridiumların genel karakterlerini taşır. Anaerop basillerin en büyüklerindedir. Bir mikron eninde 4-8 mikron uzunlukta uçları yuvarlak olup mikroskopta tek, çift veya uzun filamentler halinde görülür. Sporlar oval ve subterminal olup vejetatif form kapsülsüzdür. İnokülasyondan sonra ölen kobayların karaciğer yüzeyinden yapılan sürme preparatlarda filament göstermez, taze kültürlerde Gram (+) olup eskimiş kültürlerde bu özellik kaybolabilir. İlk kültürlerinde çok yavaş ürer hatta bazan üretilemez. Bu durum fazla anaerop şartlarda ve çok taze vasata gereksini mduymasındadır. maamaf. ilk kültürü yapıldıktan sonra adi vasatlarda dahi kolaylıkla üreyebilmektedir. Buyyonda önce hafif bir bulanıklık meydana getirir. Fakat iri basiller çabuk dibe çöktüğünden buyyon berraklaşır. Kültür gazlı ve fena kokuludur. Reaksiyon aside döner. Kanlı agarda şeffaf, kenarları girintili çıkıntılı ve saçaklı koloniler meydana getirir, hemoliz yapar. Glikoz ve Maltozdan asit ve gaz yapar. Laktoz, Sakkaroz ve Salisini fermente etmesi ile Cl. septicum ve Cl. perfingensden Maltozu fermente etmesi ile de Cl. hemolyticum'dan ayrılır.

Klinik bulgular sığırlarda koyunlardaki gibidir. Fakat süre daha uzun olup, hastalık 1-2 gün sürer (3). Ani ve şiddetli bir depresyon, yürümede güçlük, derinin soğuk olması, rumen seslerin kaybolması, düşük veya normal temperatür, kalp seslerinin boğuk duyulması ve zayıflığı özellikle karaciğer üzerine yapılan derin palpasyonda abdominal ağrının mevcut olması, dışkının yarı sıvı halde olması, bazı va-

kalarda periorbital ödem teşekkül gibi belirtiler sığırlarda görülen en önemli semptomlardır. Nekropside koyunlarda karaciğer kanla dolu koyu gri esmer görünümde olup karakterisitik nekrotik sahalar mevcuttur. Bunlar sarı renkte bir iki santimetre çapında ve etrafı parlak kırmızı hiperemik hale ile çevrilidir. Bu odaklar çoğunlukla karaciğerin diyaframa yüzünde fakat derin bir şekilde yerleşmişlerdir. Sığırlarda ise bu lezyonlar çizgisel bir görünümde dir. Karaciğerin kesit yüzünde hasarlı dokudaki kanalların parazit invazyonuna maruz kaldığı gözlenebilir. Bu durum karaciğere yüzeyden bakıldığı zaman subkapsular haemoragielerle karışabilir. Ergin parazitlere genellikle rastlanmaz. Perikardial, pleural ve peritoneal kavitelere fazla miktarda kanlı seröz bir sıvı vardır. Subendokardial ve subperikardial haemorrhagie'lere sıklıkla rastlanır. Hastalıkta ölen hayvanların bir kısmında abomazus duvarında geniş yangılı bölgelere (2), subkutan dokularda omuz ve sıkapula'lar arası kaslarda kan toplanması müşahade edilir.

MATERYAL VE METOD :

Hastalıklı materyal Tuncelinde sığırlarda salgın olduğu bildirilen köyde yeni ölmüş bir inekten alınmıştır. Materyal olarak karaciğer, dalak, böbrek parçaları, kalp kesesi sıvısı ve barsak içeriği ayrı ayrı alınarak ağız vidalı kapaklı steril şişeler içerisinde laboratuvara getirilerek incelenmiştir. Yoklamalar kültür ve toksin izolasyonu yönlerinden uygulanmıştır. Aerop üretme besi yeri olarak zenginleştirilmiş kanlı agar, anaerob, kültür için kıymalı ibuyyon (Oxoid) kullanılmıştır. Karaciğerin nekrotik sahalarından dalak ve böbrek parçalarından zenginleştirilmiş kanlı agara ekimler yapıldı ve aerop şartlarda 37°C de üremeye alınan parçalar oksijeni alınmış kıymalı buyyon içerisine konuldu. Katı parafinle üzeri kapatılarak hava ile teması kesildi ve 37°C de üremeye terkedildi. Ayrıca hastalıklı materyallerden ekim yapılan zenginleştirilmiş kanlı agar plaklarından biri pirogallol + NaOH ihtiva eden desikatöre konarak havası boşaltıldı. Pirogallol NaOH birbirine karışımı sağlandıktan sonra 37°C deki etüve bırakıldı.

Hayvan inokülasyonları için beyaz fare kullanıldı. Bu amaçla karaciğer, böbrek ve dalak parçalarından hazırlanan suspansiyonlar 30' bekletildikten sonra alınan üst sıvılar ayrı ayrı santrifüj edildiler ve ayrı ayrı olmak üzere her biri 5'er fareye 0,5 ml. subkutan enjekte edildi. Ayrıca 48 saatlik anaerob kültür filtratından 0,2 ml. 5'er fare-

ye subkutan inokülasyon yapıldı. Kalp kesesi sıvısı ve barsak içeriği ayrı ayrı filtre edilerek herbiri 5'er fareye 0,5 ml. subkutan enjekte edildi.

Karaciğer ve dalak kültürlerinden hazırlanan preparatlar gram boyası ile boyanarak mikroskopik incelemelere tabi tutuldu.

Üreme görülen anaerop kültürler Goldman'(4). nın bildirdiği metoda göre fluoresan antikor tekniği uygulanarak incelendi.

SONUÇ :

Laboratuvarda yapılan incelemeler sonunda aerop kültürlerde üreme olmadı. Anaerop kültürlerden desikatördeki kanlı agarda 48 saatte ince, şeffaf, kenarları düzensiz koloniler teşekkül etti. Bu kolonilerden ve kıymalı buyyondan hazırlanan preparatların mikroskopik incelenmesinde Gram (+) çomaklar görülmüştür. Dalak ve karaciğer suspansiyonları inoküle edilen fareler 48 saat sonra ölmeye başladılar. Bunlardan yapılan anaerop kültürel yoklama sonunda da Gram (+) çomak şeklinde, kolonileri ince şeffaf üzeri pürtüksüz, kenarları düzensiz olan mikroorganizma izole edildi. Böbrek suspansiyonu inoküle edilen fareler ölmediler.

Elde edilen anaerop şuşların morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal karakterleri incelendi. Bu özelliklerin *Cl. oedematiens*'in özelliklerine benzediği tesbit edilmiştir.

İzole edilen şuşun *Cl. oedematiens* olup olmadığını saptamak için fluoresan antikor tekniği ile boyama yapıldı. İnceleme sonunda izole şuşun *Cl. oedematiens* (*Cl. novyi*) olduğu anlaşıldı.

Kalp kesesi sıvısı ve bağırsak içeriği filtratları inoküle edilen fareler ise inokülasyondan 24 saat sonra öldüler. Elimizde antitoksik serum bulunmadığı için toxin nötralizasyon testi yapılmamıştır.

TARTIŞMA :

Aslında bir koyun hastalığı olan infeksiyöz nekrotik hepatitis zaman zaman sığırlarda da görülmektedir. Karşılaştığımız olayda sığırlarda ölümlere neden olan hastalığın *Cl. oedematiens* enfeksiyonu olduğu tesbit edilmiştir. Hastalık 1-2 gün sürüyor ve genellikle ölümlerle son buluyordu. Bu durum Niilo et al, (7), ve Gee, (3)'nün bildirdikleri sonuca benzemektedir. Yapılan otopside elde edilen bulgular ne-

ticesinde Ditchfield ve Julian, (2)'nin bildirdiklerine benzer şekilde deri altı dokularda özellikle omuz ve postskapular kaslarda kan toplanması karaciğerde çizgisel nekroz odakları perikardial Pleural ve peritoneal kavitelerde kanlı seröz bir sıvının var olduğu subendokardial ve subperikardial hemorajiler gözlenmiştir. Karaciğer kesit yüzünde nekrotik bölgelerdeki kanallarda ergin parazitlere rastlanmıştır. Bu bulgu Williams (9)'ın görüşünü teyid etmektedir. Nekropside tesbit ettiğimiz gibi hastalıktan ölen sığırların abomazus duvarında patolojik bozuklukların görüldüğü kimi araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (2,1,6). Nekrotik karaciğer ve dalaktan izole ettiğimiz anaerob mikroorganizmanın tür tayini Goldman (4)'nin bildirdiği fluoresan antikor tekniğine göre yapılmıştır. Hasdemir ve Günel (5)'in açıkladığı gibi bu metod referens laboratuvarlarında da aynı amaçla kullanılmakta ve kesin sonuç vermektedir. Aynı metodla yaptığımız inceleme neticesinde izole şuşun *Cl. oedematiens* (*Cl. novyi*) olduğu sonucuna varılmıştır.

Gerek otopsi bulguları ve gerekse laboratuvar incelemelerinin neticeleri ile adı geçen köyde sığır popülasyonu arasında seyreden hastalığın bir *Cl. oedematiens* enfeksiyonu olduğu ortaya konulmuştur.

K A Y N A K L A R

1. Bagadi, H.O. (1974) : Infectious necrotic hepatitis (black disease) of sheep. The Veterinary Pulletin, No : 7,44 : 385-387.
2. Ditchfield, J. and Jülian, R.J. (1960) : Can. Vet. J., 1, 542.
3. Gee, R.W. (1958) : Aust. Vet. J., 34, 352.
4. Goldman, M. (1968) : Fluorescent Antibody methods academic press New-York.
5. Hasdemir, F. ve Günel, G. (1968) : Erzurum'da Dadaş köyünde tesbit edilen Enfeksiyöz Hepatitit nekrozan. Türk. Vet. Hek. Dern. Derg., Sayı : 11,38 : 18-20.
6. Nadas, Ü.G. (1971) : Infectious Necrotik hepatitis : Koyun hastalıkları, 123-134, Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Yayınları No. 3 İstanbul.
7. Roberts, R.S. : Black diseases In «Infectious diseases of animals» edited by A.W. Stableforth and I.A. Galloway Volume 1, pp. 195-200 Butterworths, London.
8. NILO, L., Dorward, W.J, and Avery, R.J. (1969) : the role of *Clostridium novyi* in bovine disease in Alberta. Can Vet. J. 10 : 159-168.
9. Williams, B.M. (1962) : Black disease of sheep : observation on the disease in mid-wales. Vet. Rec., 74 : 1536-1543.