

BARTONELLA VINSONI SUBSP. BERKHOFFI'NİN KAN KÜLTÜRÜ İLE İSTANBUL'DAKİ BARINAK KÖPEKLERİNDE TARANMASI

Screening of *Bartonella vinsoni subsp. berkhoffii* in Sheltered Dogs in İstanbul by Blood Culture

Bekir ÇELEBİ¹, Lora KOENHEMSİ², Aysegül TAYLAN ÖZKAN¹, Remzi GÖNÜL², Erman OR²

¹Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, ANKARA

² İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İSTANBUL

Geliş Tarihi: 30.09.2009
Kabul Tarihi: 18.11.2009

İletişim:

Bekir ÇELEBİ

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Parazitoloji Laboratuvarı, Cemal Gürsel Cad. No: 18, 06100, ANKARA

Tel : +90 312 458 24 74

E-posta : bekir.celebi@rsh.gov.tr
vetbekir@yahoo.com

ÖZET

Amaç: *Bartonella vinsoni subsp. berkhoffii* zoonotik potansiyele sahip olup, köpeklerde endokardit başta olmak üzere çeşitli semptomlara yol açmaktadır. Bu çalışma, İstanbul'daki barınak köpeklerinde *B. vinsoni subsp. berkhoffii*'nin varlığının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Üç farklı köpek barınağındaki 100 köpektan alınan kan örnekleri, tavşan kanlı beyin kalp infüzyon agara inokule edilerek mikroaerofilik ortamda inkübe edilmiştir. Kültürdeki üremeler, üreme zamanı, koloni morfolojisi ve biyokimyasal özelliklerine göre değerlendirilmiştir.

Bulgular: Alınan 100 kan örneğinin 31'inin kan kültürü kontaminasyona bağlı olarak değerlendirilememiştir. Değerlendirmeye alınan 69 örnekte ise *Bartonella spp.* üremesi gözlenmemiştir.

Sonuç: Bu çalışmada İstanbul'daki barınak köpeklerinde *B. vinsoni subsp. berkhoffii*'nin varlığı belirlenememesine karşın bakterinin zoonotik potansiyeli nedeniyle daha ileri incelemeler yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: *Bartonella*, köpek, zoonoz

ABSTRACT

Objective: *Bartonella vinsoni subsp. berkhoffii* which has zoonotic character may cause mainly endocarditis and other symptoms in dogs. This study was conducted to determine the existence of *B. vinsonii subsp. berkhoffii* in dogs living in the shelters of İstanbul city.

Method: Blood samples taken from 100 dogs in three different shelters were inoculated on brain heart infusion agar (BHI) enriched with 5% rabbit blood plate and were incubated in microaerophilic environment. Bacteria growth was assessed according to growth time, colony morphology and biochemical characteristics.

Results: Thirty one of the 100 blood culture sample taken cannot be evaluated because of the contamination. *Bartonella spp.* was unable to generate at 69 samples which were taken for assessment.

Conclusion: In this study, although the presence of *B. vinsoni subsp. berkhoffii* could not be determined in sheltered dogs of İstanbul, because of zoonotic potential of bacteria, further investigations are needed.

Key Word: *Bartonella*, dog, zoonoses

GİRİŞ

Bartonella genusu insanlarda ve birçok hayvan türünde hücre içi yerleşim gösteren ve uzun süreli bakteriyemiye neden olan bakteri türlerini içermektedir. Günümüzde, bu genus içinde yirminin üzerinde tür bulunmaktadır. *Bartonella henselae*, *Bartonella clarridgeiae*, *Bartonella elizabethae*, *Bartonella grahamii*, *Bartonella vinsonii subsp. arupensis*, *Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii*, *Bartonella washoensis* *Bartonella* genusunun zoonotik türleri olarak bildirilmiştir. Bu zoonoz etkenlerin çoğunun konakçısı olan kedi ve köpekler insanlarla iç içe yaşayan hayvanlardır (1). *B. vinsonii subsp. berkhoffii* ilk kez 1993'te endokarditli bir köpekten izole edilmiş ve 1996 yılında tanımlanmıştır (2). 2000 yılında *B. vinsonii subsp. berkhoffii*'nin endokarditli bir insanın kalp kapakçığından izole edilmesiyle zoonotik potansiyeli olan bir tür olarak tanımlanmıştır (3).

Köpeklerde görülen *Bartonella* türü genellikle *B. vinsonii subsp. berkhoffii* olup, doğal hayatta tilki ve çakalların da rezervuarı olduğu belirlenmiştir (1,4,5). *Bartonella* türleri, pire, kene ve bit gibi kan emen artropod vektörler aracılığıyla memeli rezervuardan yeni bir konakçıya taşınmaktadır. *B. vinsonii subsp. berkhoffii*'nin köpekler arasında taşınmasında kenelerin rol oynadığı düşünülmektedir (6). Endokardit, köpeklerde *B. vinsonii subsp. berkhoffii* enfeksiyonunda en sık görülen klinik tablodur. Ayrıca miyokardit, ateş, granülomatoz lenfadenit, rinit, epistaksis, kutanöz vaskülit, anterior üveit ve hemolitik anemi de bildirilmiştir (1,7-10). Bununla birlikte Kordick ve ark. (11) deneysel olarak *B. vinsonii subsp. berkhoffii* ile enfekte ettikleri köpekte, 14 ay süre ile asemptomatik bakteriyemi gözlemişler ve bu etkenin köpeklerde uzun süreli asemptomatik bakteriyemiye de neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, zoonotik bir tür olan ve de köpekler için patojen olabilen *B. vinsonii subsp. berkhoffii*'nin İstanbul'daki barınak köpeklerinde varlığının kan kültürü ile araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için 18 Nisan 2008 - 08 Mayıs 2008 tarihleri arasında İstanbul'daki üç farklı barınaktaki 100 köpekten EDTA'lı tüplere 2 ml kan alınmıştır. Kültür yapılarına kadar kanlar, -20 °C 'de saklanmıştır. Çalışmaya dahil olan köpeklerin 80'i dişi, 20'si erkek olup; yaş aralığı 1 ay ile 14 yaş arasında değişmektedir.

Kan kültürü için ETDA'lı tüplere alınan ve -20 °C'de dondurulmuş kan kullanılacağı zaman oda ısısında çözündürülmüştür. Dondurup çözündürme işlemi ile eritrositlerin parçalanarak intraeritrositik olan *B. vinsonii subsp. berkhoffii*'nin eritrosit dışına çıkarılması sağlanmıştır. Oda ısısında çözündürülen kanlar vorteks ile iyice karıştırılmış ve kanlar 3800 rpm de 70 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant dikkatlice dökülerek, pelet kısmını süspanse etmek için üzerine 200 µl brain heart infusyon (BHI) (MERK, Darmstadt, Germany) broth eklenmiş ve vorteks ile iyice karıştırılmıştır. Süspansiyondan alınan 200 µl örnek iki adet % 7 tavşan kanlı BHI (MERK, Darmstadt, Germany) agara, inoküle edilmiştir. Besiyerlerine dökülen süspansiyon kendi akışkanlığı ile besiyeri üzerine yayılması sağlanmıştır (12). Besiyerleri 35 °C'de %5 CO₂'li etüvde 35 gün inkübe edilmiştir. Çalışmada kontrol suşu olarak *B. vinsonii subsp. berkhoffii* (ATCC 51672) kullanılmıştır.

Besiyerlerindeki üreme günlük olarak kontrol edilmiştir. Şekillenen kolonilerin gelişme zamanı ve koloni morfolojisi açısından değerlendirilmiştir. *Bartonella spp.* için uyumlu koloni morfolojisi gözlenen kolonilerden gram boyama yapılmış ve gram negatif olanlar incelemeye alınmıştır. Gram negatif, kokobasil etkenlerin oksidaz ve katalaz testi negatif olan izolatlar muhtemel *Bartonella spp.* olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

B. vinsonii subsp. berkhoffii (ATCC 51672) kontrol suşu ile yapılan ekimlerde üreme olmasına karşın; 69 barınak köpeğinin kan kültüründe, şekillenen kolonilerin gelişme zamanı, koloni morfolojisi, izolatların gram negatif özelliği ve biyokimyasal olarak değerlendirilmesinde olası *Bartonella spp.* izole edilememiştir. 31 köpeğe ait örneğin kültür sonucu kontaminasyondan dolayı değerlendirilememiştir.

TARTIŞMA

Bartonella genusu geç ve güç üreyen bir genustur ve bu nedenle izolasyonda başarısızlıklar yaşanmaktadır. *Bartonella* türlerinin duyarlı konakların kanından izolasyonu için değişik yöntemler denenmiştir. Brenner ve ark. (13) kedilerin kanlarından *B. henselae*'nın izolasyonda EDTA'lı kanı dondurup çözülmesi ile izolasyon şansının artırıldığını bildirmiştir. Maruyama ve ark. (12) da dondurup çözdürmeye ek olarak kanın yüksek devirde santrifüj ederek kandaki bakterilerin pellette toplanmasını sağlamışlar ve pelletin inokulasyonu ile izolasyonda başarılı olmuşlardır. Çelebi ve ark. (14,15) ülkemizde de yaptıkları çalışmalarda *Bartonella spp.*'nin kedi ve köpek kanlarından izolasyonunu Maruyama ve ark. (12) tarafından kullanılan yöntem ile sağlamışlardır. Bu çalışmada da aynı yöntem kullanılmasına ve kontrol suşlarında üreme görülmesine karşın hiçbir örnekten *B. vinsonii subsp. berkhoffii* izole edilememiştir.

Köpeklerde *B. vinsonii subsp. berkhoffii*'nin epidemiyolojisine ilişkin veriler oldukça sınırlıdır. Yapılan az sayıdaki epidemiyolojik çalışmalar genellikle seroepidemiyolojik araştırmalar olup, köpeklerde *Bartonella* bakteriyemisi prevalansı düşüktür. Li ve ark (16), Çin'de sokak köpeklerinde yaptıkları izolasyon çalışmasında, 70 köpekten ikisinde (%2.9) *B. vinsonii subsp. berkhoffii* bakteriyemisi belirlerken, Henn ve ark (17), Amerika'da kırsal

alandaki köpeklerin %0.5'inin bakteriyemik olduğunu saptamışlardır. Hint okyanusundaki Reunion adasındaki köpeklerde Müller ve ark (18), tarafından yapılan bir çalışmada kültürde *B. vinsonii subsp. berkhoffii* üremesi gözlenmemiş, ancak %9 seropozitiflik belirlenmiştir.

Ülkemizde, köpeklerde *B. vinsonii subsp. berkhoffii*'nin varlığına ilişkin yapılan ilk çalışmada Çelebi ve ark. (15) Ankara'daki sokak köpeklerinde %5, barınak köpeklerinde %12.4 oranında bakteriyemi pozitifliği bildirmişlerdir. Türkiye'de 10 ildeki köpeklerde yapılan bir çalışmada da; İstanbul'daki barınak köpeklerinde %3 *B. vinsonii subsp. berkhoffii* seropozitifliği saptanmıştır (19). Aynı çalışmada en yüksek seropozitiflik oranı Sivas Bölgesindeki kırsal alanda yaşayan köpeklerde, %14.7 olarak bulunmuştur. İstanbul Bölgesindeki köpeklerde seroprevalansın düşük olması ve bu çalışmada etken izolasyonunun yapılamaması *B. vinsonii subsp. berkhoffii*'nin İstanbul'daki köpeklerde yaygın olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Hayvanlarda *Bartonella* prevalansını etkileyen faktörlerin başında vektör konumundaki ekto-parazitlerin popülasyondaki yoğunluğu gelmektedir. *B. vinsonii subsp. berkhoffii* için vektör olarak düşünülen *Rhipicephalus sanguineus* türü kenelerdir (6). Bu türün bölgeler arasında iklimle bağlı olarak popülasyondaki yoğunluk farklılığı etkenin yayılmasını etkileyen bir faktör olabilir. Ankara Bölgesindeki köpeklerde baskın kene türünün *R. sanguineus* olması ve İstanbul Bölgesinde köpeklerde baskın kene türünün *Ixodes ricinus* olması ve Ankara Bölgesinde barınak köpeklerinde % 12.4'lik, İstanbul Bölgesinde barınak köpeklerinde %0 bir bakteriyemi pozitifliğinin bulunması *R. sanguineus*'un potansiyel vektörlük rolünü güçlendirmektedir. Bu çalışmada köpeklerden kan toplama işlemi nisan sonu, mayıs başında yapılmıştır. Çalışmamızda bakteriyemi pozitifliğinin saptanamamasının nedeni, bu dönemin köpeklerdeki

kene enfestasyonunun az olduğu bir sezon olmasıyla ilişkisi bulunabilir. Bu tarz çalışmalarda örneklemin yıl boyunca yayılmasının sonucu daha anlamlı kılacağı düşünülmektedir.

Ülkemizde köpeklerde *B. vinsonii subsp. berkhoffii*'nin varlığının daha önce bildirilmesi (15) ve zoonotik karakterde bir tür olması nedeni ile değişik bölgelerde bu türün varlığının araştırılması faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Breitschwerdt EB, Kordick DL. Bartonella infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. Clin Microbiol Rev. 2000; 13: 428-38.
- Kordick DL, Swaminathan B, Greene CE, et al. Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii subsp. nov., isolated from dogs; Bartonella vinsonii subsp. vinsonii; and emended description of Bartonella vinsonii. Int J Syst Bacteriol. 1996; 46: 704-9.
- Roux V, Eykyn SJ, Wyllie S, Raoult D. Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii as an agent of afebrile blood culture-negative endocarditis in a human. J Clin Microbiol. 2000; 38: 1698-700.
- Breitschwerdt EB, Atkins CE, Brown TT, Kordick DL, Snyder PS. Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii and related members of the alpha subdivision of the Proteobacteria in dogs with cardiac arrhythmias, endocarditis, or myocarditis. J Clin Microbiol. 1999; 37: 3618-26.
- Pesavento PA, Chomel BB, Kasten RW, McDonald KA, Mohr FC. Pathology of bartonella endocarditis in six dogs. Vet Pathol. 2005; 42: 370-3.
- Pappalardo BL, Correa MT, York CC, Peat CY, Breitschwerdt EB. Epidemiologic evaluation of the risk factors associated with exposure and seroreactivity to Bartonella vinsonii in dogs. Am J Vet Res. 1997; 58: 467-71.
- Henn JB, Liu CH, Kasten RW, VanHorn BA, Beckett LA, Kass PH, Chomel BB. Seroprevalence of antibodies against Bartonella species and evaluation of risk factors and clinical signs associated with seropositivity in dogs. Am J Vet Res. 2005; 66: 688-94.
- Michau TM, Breitschwerdt EB, Gilger BC, Davidson MG. Bartonella vinsonii subspecies berkhoffii as a possible cause of anterior uveitis and choroiditis in a dog. Vet Ophthalmol. 2003; 6: 299-304.
- Breitschwerdt EB, Blann KR, Stebbins ME, Muñana KR, Davidson MG, Jackson HA, Willard MD. Clinicopathological abnormalities and treatment response in 24 dogs seroreactive to Bartonella vinsonii (berkhoffii) antigens. J Am Anim Hosp Assoc. 2004; 40: 92-101.
- Pappalardo BL, Brown T, Gookin JL, Morrill CL, Breitschwerdt EB. Granulomatous disease associated with Bartonella infection in 2 dogs. J Vet Intern Med. 2000; 14: 37-42.
- Kordick DL, Breitschwerdt EB. Persistent infection of pets within a household with three Bartonella species. Emerg Infect Dis. 1998; 4: 325-8.
- Maruyama S., Nakamura Y., Kabeya H., Tanaka S., Sakai T., Katsube Y., Prevalence of Bartonella henselae, Bartonella clarridgeiae and the 16S rRNA gene types of Bartonella henselae among pet cats in Japan. J. Vet. Med. Sci. 2000; 62: 273-9.
- Brenner SA, Rooney JA, Manzewitsch P, Regnery RL. Isolation of Bartonella (Rochalimaea) henselae: Effects of Methods of Blood Collection and Handling J Clin Microbiol. 1997; 35: 544-7.
- Celebi B, Kilic S, Aydin N, Tarhan G, Carhan A, Babur C. Investigation of Bartonella henselae in Cats in Ankara, Turkey. Zoonoses Public Health. 2009; 56: 169-75.
- Çelebi B, Çarhan A, Kılıç S, Babür C. Ankara Bölgesindeki köpeklerde Bartonella spp. araştırılması. VIII. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi özet kitabı, 7-9 Ekim 2008 Van / Türkiye s: 84.
- Li DM, Meng FX, Song XP, Qin ZJ, Yang XR, Wu HX, Ren DS, Liu QY. Study on Bartonella vinsonii berkhoffii isolated from blood of native dogs in China. (Abstract) Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2006; 27: 333-8.

17. Henn JB, Gabriel MW, Kasten RW, Brown RN, Theis JH, Foley JE, Chomel BB. Gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) as a potential reservoir of a *Bartonella clarridgeiae*-like bacterium and domestic dogs as part of a sentinel system for surveillance of zoonotic arthropod-borne pathogens in northern California. *J Clin Microbiol.* 2007; 45: 2411-8.
18. Müller S, Boulouis H, Viallard J, And Beugnet F, Epidemiological survey of canine bartonelloses to *Bartonella vinsonii* subs. *berkhoffii* and canine monocytic ehrlichiosis in dogs on the Island of Reunion, *Revue Méd. Vét.*, 2004: 155: 377-80.
19. Çelebi B, Kılıç S, Akça A, Mamak N. Türkiyedeki sokak köpeklerinde *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* seroprevalansının araştırılması. VIII. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi özet kitabı, 7-9 Ekim 2008 Van / Türkiye s: 164.

