

BURSA İLİNDEKİ SOKAK KÖPEKLERİNDE LEPTOSPIROZİS'İN SEROPREVALANSI

Seroprevalence of leptospirosis in stray dogs in Bursa

Mihriban ÜLGEN* Cengiz ÇETİN* Vildan ÖZDEMİR**
Mürsel BÜYÜKÇOBAN***

ÖZET

Bu çalışmada, Bursa ilinde 82 adet sokak köpeğinden alınan kan serumu Mikroskopik Aglutinasyon Testi (MAT) ile *Leptospira* antikorları yönünden incelendi. *L.grippotyphosa* (serovar Moskova-V), *L.ballum* (sv.Mus-127), *L.pomona* (sv.pomona), *L.canicola* (sv.utrecht-IV), *L.icterohaemorrhagiae*(sv. icterohaemorrhagiae-RGA) antijenlerinin kullanıldığı MAT`inde 9 adet (%10.97) serum sadece *L. icterohaemorrhagiae* (sv. icterohaemorrhagie-RGA) serotipi ile pozitif reaksiyon verdi. Pozitif serumların titreleri 1:100 (4/9), 1:200 (2/9), 1:400 (2/9), ve 1:800 (1/9) olarak bulundu. İnfeksiyon oranı dişi köpeklerde %13.72, erkek köpeklerde %6.45 olarak bulundu. 1-4 yaş arası köpeklerde infeksiyon oranının (%15.09), 1 yaşından küçük köpeklerden (%4.34) daha yüksek olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler : Leptospirosis, köpek, Mikroskopik Aglutinasyon Testi (MAT).

SUMMARY

In this study, sera obtained from 82 stray dogs in Bursa were examined by the Microscopic Agglutination Test (MAT) for Leptospiral antibodies. Nine sera (10.97%) were positive only with serotype *L.icterohaemorrhagiae* -RGA in MAT which *L.grippotyphosa* (sv. Moskova-V), *L.ballum* (sv Mus-127), *L.pomona* (sv.pomona), *L.canicola* (sv. utrecht-IV) and *L.icterohaemorrhagiae* (sv. Ict.RGA) serotypes were used as antigens. Positive sera titres were 1:100 (4/9), 1:200 (2/9), 1:400 (2/9)and 1:800 (1/9). Infection rates were found 13.72% in female dogs, 6.45% in male dogs. It was determined that the infection rate was higher in the dogs of 1-4 years old (15.09%) that in the dogs < 1 years old (4.34%).

Key Words : Leptospirosis, dog, Microscopic Agglutination Test(MAT).

* Uludağ Üniv., Veteriner Fak., Mikrobiyoloji A.D., BURSA

** Etlik Vet. Kont. ve Araşt. Enst. ANKARA

*** Nilüfer Belediyesi Veteriner İşleri Müdürlüğü, BURSA

GİRİŞ

Leptospirosis, insan ve hayvanlarda akut seyirli ve öldürücü olabilen zoonoz bir enfeksiyondur (6,9,18). Köpeklerde ateş, sarılık, kusma ve hemoglobinuri ile karakterizedir. Tüm dünyada oldukça yaygın olan bu enfeksiyondan genellikle *Leptospira canicola* ve *Leptospira icterohaemorrhagiae* sorumlu olmakla birlikte hastalığı oluşturan serotipler ülkeden ülkeye hatta ülke içinde bölgeden bölgeye farklılık gösterebilir (1,16,18). Örneğin Japonya'da *L.pyrogenes*, *L.javanica*, *L.grippotyphosa*, *L.rachmati*, *L.canicola* ve *L.australis* (4); Amerika'da *L.pomona*, *L.grippotyphosa*, *L.ballum*, *L.canicola*, *L.icterohaemorrhagiae* (19,20); Avusturya'da *L.canicola* serogrubunun bromii, canicola ve bindjei serovaryları ile *L.pyrogenes*'in robinsoni serovary (21); İngiltere'de *L.canicola*, ve *L.sejroe* (18); Kanada'da *L.canicola* ve *L.icterohaemorrhagiae* (19); Arjantin'de *L.canicola*, *L.icterohaemorrhagiae*, *L.pomona* ve *L.hebdomadis* (18) serotiplerinin yaygın olduğu bildirilmektedir.

Araştırmacılar, köpeklerin insan leptospirozisinde önemli enfeksiyon kaynağı olduğunu vurgulamaktadırlar (10,20,24). Amerika'da 1962-1978 yılları arasında insanlarda saptanan 820 Leptospirozis vakasının %58'inin köpeklerden kaynaklandığı bildirilmiştir (19). Evcil köpekler genellikle *L. icterohaemorrhagiae* ve *L.canicola* serotiplerinden hazırlanan aşular ile korunmaya çalışılsa da diğer serotiplerle karşı karşıya geldiklerinde klinik semptom göstermeksizin enfekte olabilmekte ve enfeksiyonu insanlara bulaştırabilmektedirler(20,22). Evcil köpeklerin enfeksiyonu aldıkları kaynak ise genellikle sokak köpekleridir (17). Sokak köpekleri enfekte yabani hayvanlar ve özellikle rodentlerin idrarları ile bulaşan toprak ve sudan enfeksiyonu kolaylıkla alabilmektedirler (14,15). Hindistan, Barbados ve Amerika'da yapılan üç araştırmada sokak köpekleri, rodentler, evcil köpekler ve insanlarda ortak serotipler saptanmış ve dolayısıyla enfeksiyonun bu türler arasındaki sirkülasyonuna dikkat çekilmiştir (10,20,24).

L.icterohaemorrhagiae'nin köpeklerde daha çok ikterik formda bir hastalık tablosu oluşturduğu ve genellikle 3 yaşına kadarki köpekleri etkilediği; *L.canicola*'nın ise daha yaşlı köpeklerde etkili olduğu ve üremik formda hastalık tablosu oluşturduğu bildirilmektedir.(2,18,20,22). Ayrıca bazı araştırmacılar köpeklerde Leptospirozisin yaş ve cinsiyet ile ilişkisini araştırmışlar ve hastalığın yaş ile doğru orantılı olarak arttığını ve erkek köpeklerde dişi köpeklere oranla daha fazla leptospirozis vakasına raslandığını gözlemlemişlerdir (2,4,12,24,25).

Gerek insanlarda gerekse hayvanlarda leptospirozisin serolojik teşhisi için birçok test bulunmakla birlikte pratik olması açısından Mikroskopik Aglutinasyon Testi (MAT) çoğu araştırmacı tarafından tercih edilmektedir (3,5,6,26,27). Birçok

ülkede bölgesel olarak MAT testi ile saha taramaları yapılmış ve infeksiyon oranları çıkarılmıştır. Buna göre Japonya'nın bir bölgesinde %23 (4); Hindistan'ın Madras şehrinde %10.34 (25) ve %21.27(24); Kanada'nın güney bölgesinde %39.2(6); Barbados'ta %42; Fransa ve Hollanda'da %64; İngiltere'de %4,5; Almanya ve İtalya'da %2(10) oranında leptospirosis saptanmıştır. Türkiye'de ilk olarak 1950'li yıllarda Leptospirosis ile ilgili çalışmalara başlanmış ve bu çalışmalar daha çok sığır ve koyunlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Köpek leptospirozisi üzerinde ise yapılmış çok az çalışma bulunmaktadır (3). Bu nedenle bu çalışmada Bursa ili merkezindeki sokak köpeklerinde Leptospirozisin yaygınlığını ve dominant olan serotipleri ortaya koymak amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD

Serum Örnekleri: Bursa'da 82 adet sokak köpeğinden kan alındı, serumları ayrıldı ve kullanılabildiği kadar -20°C'de saklandı.

Antijen: MAT'de kullanılacak antijenler, L.grippotyphosa (serovar Moskova V), L.ballum (sv.Mus 127), L.canicola (sv.Utrecht-IV) ve L.icterohaemorrhagiae (sv. Ict-RGA) serotiplerinden hazırlandı. Suşlar Johnson sıvı besiyerinde 4-14 gün üretildi (Ort. $1-2 \times 10^8$ /ml) ve bu canlı kültürler antijen olarak kullanıldı. (7).

Mikroskopik Aglutinasyon testi (MAT): Serum örnekleri 1/50'den 1/6400'e kadar iki katlı sulandırıldı. Her sulandırmadan 0.2 ml. alınarak pleitin dört gözüne kondu ve üzerine her serotipe ait leptospira kültürlerinden aynı miktarda ilave edildi ve iyice karıştırıldı. 2-4 saat 30°C'de bekletildikten sonra en yüksek sulandırmadan başlayarak bir öze dolusu alındı ve temiz bir lam üzerine kondu. Karanlık saha mikroskopunda 10x objektif ile lamel kapatmadan değerlendirildi %50 aglutinasyon görülen son sulandırma titre olarak belirlendi. 1/100 ve üzerindeki dilasyonlarda %50 aglutinasyon görülmesi pozitif olarak değerlendirildi(11).

İstatistiki Analiz: Pozitiflik saptanan köpeklerde yaş ve cinsiyetin önemi "Ki-Kare" metodu ile değerlendirildi (23).

BULGULAR

Sekseniki adet serumun 9 adedi (%10.97) sadece L.icterohaemorrhagiae-RGA antijeni ile pozitif reaksiyon verdi. Serumların MAT titreleri tablo-1 de görülmektedir. İnfeksiyon oranı cinsiyete göre değerlendirildiğinde, 51 adet dişi köpeğin 7'si (%13.72), 31 adet erkek köpeğin de 2'si (%6.45) pozitif reaksiyon verdi (Tablo.2). Bu sonuç istatistiki olarak önemli bulundu ($p < 0.05$). Yaşa göre değerlendirildiğinde ise 1 yaşından küçük 23 adet köpeğin sadece 1 tanesinde (%4.34); 1-4 yaş arası 53 adet köpeğin 8'inde (%15.09) infeksiyon saptandı 4

Tablo 1. Pozitif Serumların MAT Titreleri

Serum No.	MAT Titresi
3	1/100
21	1/100
23	1/400
33	1/800
37	1/100
66	1/400
71	1/200
76	1/100
77	1/200

Tablo 2. İnfeksiyonun Cinsiyete Göre Dağılımı

Cinsiyet	Toplam Serum	Pozitif Serum	Oran (%)
Dişi	51	7	13.72
Erkek	31	2	6.45

Tablo 3. İnfeksiyonun Yaşa Göre Dağılımı

Yaş Grupları	Toplam Serum	Pozitif Serum	Oran (%)
<1	23	1	4.34
1-4	53	8	15.09
>4	4	-	-

yaşından büyük 4 adet köpek ise negatif reaksiyon verdi (Tablo.3). 1-4 yaş arası köpeklerde infeksiyon oranının yüksek oluşu istatistiki olarak önemli bulundu ($p<0.05$)

TARTIŞMA-SONUÇ

Köpeklerde leptospirozis, dünyada oldukça yaygın olan ve önemle üzerinde durulan bir infeksiyondur. Çeşitli ülkelerde bölgesel olarak bulunan serotipler ve hastalığın insidensi ortaya konmuştur. Japonya'da Okinava adalarındaki sokak köpeklerinde leptospirozis oranı %23 olarak saptanmış ve en yaygın serotiplerin L.pyrogenes, L.javanica, L.grippotyphosa, L.rachmati, L.canicola ve L.australis olduğu bildirilmiştir (4). Hindistanın Madras şehrinde farklı zamanlarda yapılan iki araştırmada köpeklerde L.icterohaemorrhagiae, L.canicola ve L.pomona serotiplerine karşı %21.3 ve %10.34 oranında antikorlar saptanmıştır (24,25). Kanada'nın güney Ontario bölgesinde 474 köpek üzerinde yapılan inceleme sonucu %39.2 oranında infeksiyon saptanmış ve serotipler L.icterohaemorrhagiae ve L.canicola olarak belirlenmiştir (19) Avustralya'da köpeklerde L.canicola, L.australis, L.copenhageni, L.grippotyphosa, L.hardjo, L.pomona, L.tarassovi, L.zanoni serotipleri belirlenmiş ve 501 köpekte %9.8 oranında infeksiyon saptanmıştır(8). Everard ve ark (10), Amerika'nın güneyinde bulunan Barbados'ta, şehir merkezindeki köpeklerde %41 ve kırsal alanda yaşayan köpeklerde %42 infeksiyon oranı saptamışlar ve L.icterohaemorrhagiae, L.autumnalis ve L.australis serogruplarının en yaygın serogruplar olduğunu belirlemişlerdir. MAT ile yapılan bu ve diğer çalışmalarda (1,5,13) pozitif titrenin 1:100 kabul edildiği bilinmektedir. Bursa'da 82adet köpek üzerinde yapılan bu çalışmalarda ise 9 köpekte (%10.97) pozitif reaksiyon gözlenmiştir. Dokuz adet

infekte köpeğin 4'ü 1:100,2'si 1:200,2'si 1:400, ve biri 1:800 aglutinasyon titresi vermiştir. Bazı araştırmacılar (21), bir serotiple yüksek titre veren serumun diğer serotipler ile gösterdiği düşük titrenin kross reaksiyon sonucu olduğunu ileri sürmektedirler. Ancak bu çalışmada serumlar sadece L.icterohaemorrhagiae - RGA ile reaksiyon vermiştir, dolayısıyla diğer serotiplerle kross reaksiyon söz konusu değildir. Belirlenen %10.97'lik infeksiyon oranı hastalığın Bursa'da sokak köpeklerinde bulunduğunu göstermesi açısından önemli olup sokak köpeklerinin potansiyel infeksiyon kaynağı olduğunu ortaya koymaktadır. Diğer yandan sadece L.icterohaemorrhagiae'ye karşı antikör varlığının saptanması Bursa bölgesinde sadece bu serotipin yaygın olduğunu göstermez, çalışmaların çevre ilçelerde de genişletilmesi, ve böylelikle Bursa ve çevresinde yaygın olan serotiplerin ortaya konması gereklidir.

Araştırmacılar köpek leptospirozisinin erkeklerde ve yaşlı köpeklerde gençlerden daha fazla görüldüğünü ileri sürmektedirler (2,12). Hindistanın Madras kentinde yapılan bir çalışmada erkeklerdeki infeksiyon oranı %10.94, dişilerindeki infeksiyon oranı ise %8.08 bulunmuştur. Ayrıca infeksiyonun 1-4 yaş arası köpeklerde %13.15, 1 yaşından küçüklerde ise %6.8 olduğu saptanmıştır (25). Aynı şehirde yapılan bir başka çalışmada da erkek ve 1 yaşından büyük hayvanlarda infeksiyon oranının dişi ve 1 yaşından küçük hayvanlardan daha fazla olduğu saptanmıştır (24). Arimitsu ve ark (4) da erkek hayvanların dişilere oranla daha fazla antikora sahip olduklarını ve infeksiyonun yaş ile doğru orantılı olarak arttığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise erkeklerdeki infeksiyon oranı %6.45 iken dişilerindeki infeksiyon oranı %13.72 olarak saptandı. Dişilerindeki infeksiyon oranının erkeklerden yüksek oluşu istatistiki olarak önemli bulundu ($p<0.05$). Bu bulgu diğer çalışmalarla farklılık göstermektedir. Ancak leptospirozisin görülüş sıklığında cinsiyetin önemli bir faktör olmadığını belirten çalışmalar da vardır (1). Diğer yandan infeksiyon oranı 1 yaşından küçüklerde %4.34 iken 1-4 yaş arası köpeklerde %15.09 olarak bulunmuştur. Bu bulgu infeksiyonun yaş ile doğru orantılı olarak attığını vurgulayan diğer literatürlerle uygunluk göstermektedir (2,4,12,24,25) ve istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Bu çalışma sonucunda Bursa'daki sokak köpekleri arasında leptospirozisin yaygın olduğu ve diğer köpeklere infeksiyonu bulaştırma ihtimalinin yüksek olduğu ortaya konmuştur. Aşılı olan köpeklerde infeksiyonun klinik semptom göstermeksizin seyredebileceği göz önüne alınırsa evcil köpeklerde de farklı antijenlerle serolojik muayeneler yapılması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. ANONYM (Australia, Veterinary Pathology Services), (1989) : Canine Leptospirosis - A Reemerging Disease? Australian Veterinary Practitioner, 19(3), 154.
2. ANDREWES, C. H. and WALTON, J. R.(1977) : Animal and Human Health Viral and Bacterial Zoonoses, Brander, G.C., Cassell and Collier, London, 108-111.
3. ARDA, M., MİNBAŸ, A., LELOĐLU, N., AYDIN, N., AKAY, Ö. (1992) : Özel Mikrobiyoloji, Atatürk Üniv. Yayınları, No:741. Erzurum, 456-460.
4. ARİMİTSU, Y., FUKUMURA, K., SHİNGAKİ, Y. (1989) : Distribution of Leptospirosis among stray dogs in the Okinawa islands, Japan: Comparison of the microcapsule and microscopic agglutination tests, Br. Vet. J., 145,473.
5. ARİMİTSU, Y., HARİTANİ, K., İSHİGURO, N. and KOBAYASHİ, S. (1989) : Detection of antibodies to Leptospirosis in experimentally infected dogs using the Micocapsule Agglutination Test, B r. Vet. J., 145,356-361.
6. ARİMİTSU, Y. and MATUHASI, T. (1987) : Serodiagnosis of Leptospirosis in China by the one-point MCA method, Epidem, Inf.,99,393-398.
7. BLOBEL, H. and SCHLİEBER, T. (1985) : Leptospira, Handbuch der bakteriellen infektionen beitiere, 5,135-136.
8. DİCKESON D., LOVE D.N. (1993) : A serological survey of dogs, cats and horses in south-eastern Australia for leptospiral antibodies, Aust. Vet.J.,70 (10), 389-390.
9. ELLIS, W. A. (1986) : Leptospirosis, J. Small Anim. Practice, 27 ,683-390.
10. EVERARD, C.O.R., JONES, C.J., İNNİSS, V.A., CARRİNGTON, D.G. and VAUGHAN A.W.(1987) : Leptospirosis in dogs on Barbados, Isr.J.Vet.Med.,43(4), 288-295.
11. FAİNE, S. (1982) :Guidelines for control of Leptospirosis, Section B-138, World Health Organization, Geneva.
12. GİLLESPİE, J.H., TİMONEY, J.F. (1981) : Hagan and Bruner's Infectious Diseases of Domestic Animals, Seventh Edition, Cornell University Press, United Kingdom, 67-68.
13. HARTMAN, E.G., VAN DEN İNGH, T.S.G.A.M., ROTHUİZEN, J. (1986) : Clinical, Pathological and Serological features of spontaneous canine

Leptospirosis. An evaluation of the IgM-and IgG-specific ELISA., Vet. Immun. Immunopath., 13,261-271.

14. HATHAWAY, S.C., LITTLE, T.W.A., HEADLAM, S.A. (1983) : Infection of free-living carnivores with leptospire of the Australis serogrup, Vet.Rec., 113,233-235.

15. HATHAWAY, S.C., LITTLE, T.W.A., STEVENS, A.E.(1983) : Serovar identification of leptospire of the Australis serogrup isolated from free-living and domestic species in the United Kingdom, Res.Vet.Sci.,35,64-68.

16. JOHNSON, R.C. and FAÏNE, S. (1984) : Leptospiracea, Bargey's Manual of systematic Bacteriology Vol. I, Krieg N.R., Williams & Wilkins, USA, 62-67.

17. MALONE, E. (1994) : Leptospirosis-an important zoonosis, Irish Vet.J., 47(6),272-273

18. MICHNA, S.W. (1970) : Leptospirosis, Vet.Rec.,86,484-496.

19. PRESCOTT, J.F., FERRIER, R.L., NICHOLSON, V.M., JOHNSTON, K.M., HOFF, B. (1991) : Is canine leptospirosis underdiagnosed in southern Ortario? A case report and serological survey, Can.Vet.J.,32,481-486

20. PRITCHARD, D.G. (1990) : Spirochaetal and Leptospiral diseases, Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity, Eighth Ed., Vol.3,Bacterial Diseases, Geoffrey R. Smith, Charles S.F., Easman, Butler & Tanner Ltd., Great Britain, 632-633.

21. ROTHWELL, J.T. (1990) : Serum agglutinating antibodies to Leptospira interrogans serovar canicola presumed due to serovar robinsoni infection in an Australian dog, Australian Vet. J.,67(6),232.

22. SCHMIDT, D.R., WINN, R.E., KEEFE, T.J. (1989) : Leptospirosis, Epidemiological features of a sporadic case, Arch. Intern.Med., 149, 1878-1880.

23. SÜMBÜLOVA, K., SÜMBÜLOVA, V. (1995) : Biyoistatistik, Özdemir yayıncılık, Ankara, 156-167.

24. VENKANATARAMAN, K.S. and NEDUNCHELLİYAN, S.(1992): Epidemiology of an outbreak of Leptospirosis in man and dog, Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 15(4), 243-247.

25. VENKANATARAMAN, K.S. and NEDUNCHELLİYAN, S.(1993): Seroepidemiology of canine leptospirosis in Madras city, Indian Journal of Animal Sciences,63(2), 150-152.

26. WATSON, A.D.J. (1991) : Leptosipirra interrogans serovar bratislava infection, J.A.V.M.A., 199(10), 1239.

27. WINERALS, C.G., CHAN, L., CONGLAN, J.D., LEDINGHAM, J.G.G., OLIVER, D.O. (1984) : Acute renal failure due to Leptospirosis: Clinical features and outcome in six cases, Quarterly Journal of Medicine, 212, 487-495.