

TAVUKLARDA (GALLUS GALLUS VAR. DOMESTICUS) MEGABAKTERİYEL PROVENTRİCULİTİS

MEGABACTERIAL PROVENTRICULITIS IN HENS (GALLUS GALLUS VAR. DOMESTICUS)

Ö. Faruk MUTLU* Selda SEÇKİN** Rifki HAZIROĞLU***

ÖZET

Bu çalışmada, tavuklarda (*Gallus gallus var. domesticus*), megabakteriyel proventriculitis olguları tanımlandı. Beş adet Ross Brown PM-3 tavuğundan izole edilen megabakteriler Gram ve periodik-asit-Schiff pozitif olup, %10 defibrine koyun kanlı agarda, 48 saat içerisinde, %5 CO₂ ve %80 rutubet ihtiva eden atmosferde 37 °C'de β hemolitik rough koloniler oluşturdular. İzolatlar katalaz ve oksidaz testlerine pozitif reaksiyon göstermiş olup, bu izolatların üçüncü subkültivasyonu mümkün olmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Megabakteri, İzolasyon, Kültivasyon, Proventriculitis, Tavuk.

SUMMARY

In this paper, megabacterial proventriculitis in the hens (*Gallus gallus var. domesticus*) were described. Megabacteria isolated from five Ross Brown PM-3 hens were Gram and periodic-acid-Schiff positive. β haemolytic rough colonies were observed within 48 hours in 5% CO₂ and 80% humidity at 37 °C on blood agar with added 10% defibrinated sheep blood. Third subcultivation of these isolates which were positive to catalase and oxidase tests, could not be achieved.

Key Words: Megabacteria, Isolation, Cultivation, Proventriculitis, Hens.

* Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Bornova/İZMİR. (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü-ANKARA)

** Ankara Numune Hastanesi, Patoloji Bölümü, ANKARA.

*** Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, ANKARA.

GİRİŞ

Kafes ve hobi kuşlarının kronik seyirli, kusma, halsizlik ve zayıflama gibi spesifik olmayan semptomlarla seyreden ve etiyojisinde megabakteriler bulunan hastalığı 'going light syndrome' ve "westing disease" olarak isimlendirilmektedir(17).

Önceleri mantar olarak değerlendirilen megabakterilerin morfolojileri üzerine yapılan ultrastrüktürel mikroskopik çalışmalar bu mikroorganizmaların bakteri olduğunu ortaya koymaktadır(13). Büyüklüklerinden dolayı 'megabakteri' olarak isimlendirilen bu mikroorganizmalar 40x2 µm boyutlarında, çomak şeklinde ve sporsuzdur. Gram ve periodik-asid-Schiff (PAS) boyama tekniklerine göre boyanan kesitlerde pozitif reaksiyon verirler (11, 13, 16).

Megabakterilerin kültürasyonu bir çok besi yerinde denenmiş, ancak kültürasyonlarının kolayca mümkün olduğu bir besi yeri henüz bulunamamıştır. Sabouraud's ve MRS besi yerlerinde bu bakterilerin üremesi mümkün olmakla birlikte optimal değildir (8, 11).

Muhabbet kuşu (*Melopsittacus undulatus*), kanarya (*Serinus canaria*), sultan papağanı (*Nymphicus hollandicus*), kral papağanı (*Alisterus scularis*), kırmızı kanatlı papağan (*Aprismistis erthoptinus*), kakadu (*Cacatua sulphurea sulphurea*) ve sevda kuşları (*Agapornis spp.*) gibi bir çok kuş türünde ve Passerinus familyasında bulunan kuşlarda hastalık etkeni olarak izole edilen megabakteriler, kanatlı hayvanların bir problemi olarak önem kazanmaktadır (1, 2, 6, 7, 12, 13, 15, 16). Devekuşu yavrularında da fatal proventriculitis nedeni olarak belirlenen megabakteriosis olgularına(14) ait bilgilere henüz Gallinae familyasında bulunan hayvanlarda rastlanmamaktadır. Bu araştırmada evcil tavuklarda proventriculitis nedeni olarak tespit edilen megabakteriosis olgusu rapor edilmektedir.

MATERYAL ve METOT

İzmir İli Gümüldür İlçesi'nde bulunan bir çiftlikte yetiştirilen 200 adet Ross Brown PM-3 tavuklarında ani ve sürekli ölümlerin başlaması sonucunda çiftlik sahibi tarafından Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne müracaat edildi.

Alınan anemnezde hayvanların 12 haftalık olduğu, bahçe içinde serbest yetiştirildiği ve sanayi yemi ile beslendikleri öğrenildi. İlk uygulama olarak

enrofloxacin 10 mg/kg (5 gün), antihelmentik ilaç ve miks vitamin preparatları uygulanması tavsiye edildi. Uygulanan sağaltıma rağmen ölümlerin devam etmesi sonucunda, belirgin klinik bulgular (zayıflık, halsizlik, kusma) gösteren beş tavuk bakteriyolojik ve patolojik olarak incelendi. Hastalığın sürürde görülmesini takip eden bir ay içinde, ölen hayvan sayısı 29 olarak tespit edildi.

Besi yerleri olarak izolasyon için; blood agar base (Oxoid CM. 55), Mac Conkey agar (Oxoid CM. 115) ve identifikasyon için; kligler-iron agar (Difco Nr. 0086-01), urea agar (Difco Nr. 0283-01), Voges-Proskauer, methyl red buyyon (Oxoid CM. 43), indol buyyon (Difco Nr. 0092-01), lysindecaboxylase buyyon (Difco Nr. 0215-01), Simmons Citrate Agar (Oxoid CM, 155) ve nitrat buyyon (Merck Art. Nr. 10204) kullanıldı. Reagent olarak da, cytochromoxidase reagenti: N, N, N', N-tetramethyl-1, 4-phenylendiamindihydrochlorid'in (Sigma Nr. T-3134) %1'lik çözeltisi, atalase reagenti (Merck Art. Nr. 8597), Kovacs' reagenti (Merck Art. Nr. 9293) ve Griess-Ilosvays reagenti (Merck Art. Nr. 9023) çalışmada yer aldı.

Sistematik nekropsileri yapılan tavuklardan alınan karaciğer, dalak ve kemik iliği örneklerinde rutin bakteriyolojik muayeneler ve standart metotlara göre (5, 19) patojen bakteri izolasyonu çalışmaları yapıldı. Alınan materyallerden %10 oranında defibrine koyun kanı içeren kanlı agar ve Mac Conkey agara direkt ekim yapılarak 37 °C'da 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Bu besi yerlerinde üreyen kolonilerin 2. ve 3. pasajlarından elde edilen saf kültürlerle Gram boya ve biyokimyasal testler (glikoz ve laktozu parçalama, gaz ve H₂S oluşturma, üreaz reaksiyonu, Voges-Proskauer reaksiyonu, triptofandan indol oluşumu, sitratlı ortamda üreme, lisindekarboksilaz-, oksidaz- ve katalaz testleri) uygulandı ve sonuçlar değerlendirildi(4, 5).

Ayrıca proventriculus mukozası üzerinde bulunan beyaz, grimsi müköz tabakadan steril öze yardımı ile örnek alındı. Işık mikroskopunda yapılan incelemede megabakterilere benzer mikroorganizmaların görülmesi sonucunda kanlı agar ve Mac Conkey agara ekim yapıldı. Kültürler 37 °C'da inkübe edildi. Ayrıca aynı besi yerlerine ekim yapılarak %5 CO₂, %80 nem içeren karbondioksitli etüvde 37 °C'da bir hafta inkübasyona bırakıldı.

Histopatolojik inceleme için proventriculus ve ventriculus örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Rutin laboratuvar işlemlerinden sonra hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler hematoksilin-eosin (H&E), Gram ve PAS boyama yöntemleri ile(3) boyandı.

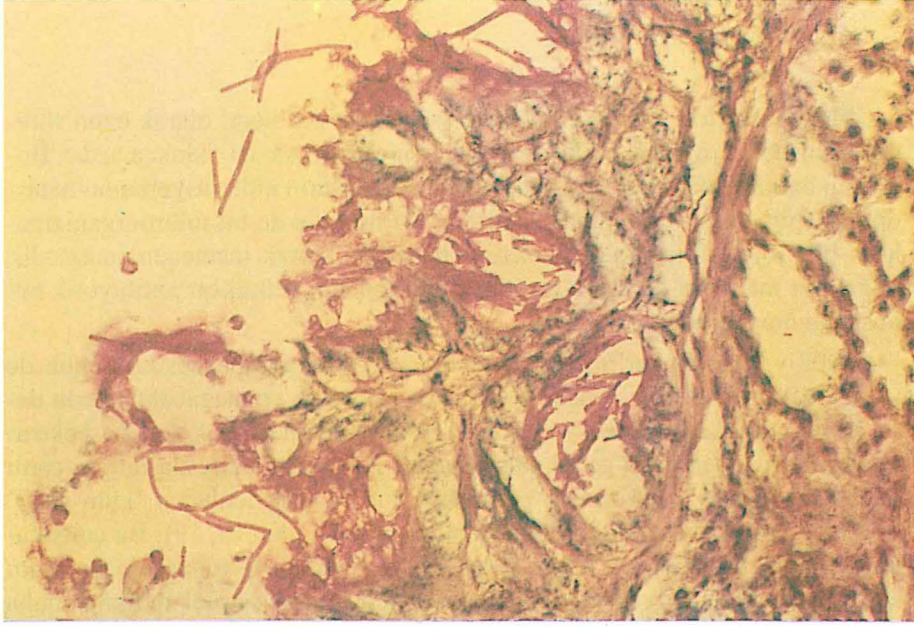
BULGULAR

Hayvanların yapılan klinik muayenelerinde, aşırı zayıflık, tüylerde matlık ve kabarıklık, halsizlik ve uyku hali gibi genel semptomlar dikkati çekti.

Beş hayvanın üçünün karaciğer ekimlerinden E. coli izole edilirken, dalak ve kemik iliği ekimlerinden herhangi bir izolasyon yapılamadı. Proventriculus mukozasından alınan materyallerden Mac Conkey agara yapılan ekimler negatif sonuç verirken, 37 °C'de inkübe edilen kanlı agarda non spesifik bakteri kültürleri saptandı. Bu izolatların Gram boyalı preparatlarının incelenmesinde megabakterilere rastlanmadı. %5 CO₂ ve %80 nem ihtiva eden CO₂'li etüvlerdeki kanlı agarlarda miks koloniler izole edildi. Mac Conkey agarda ise üreme tespit edilemedi. Kanlı agarda görülen β hemolitik, gri renkli granüler karakter taşıyan kolonilerin natif ve Gram boyalı preparatlarının incelenmesinde, Gram pozitif, yaklaşık 40-60 x 2 μm boyutlarında mikroorganizmalar yoğun şekilde görüldü. Bu izolatların 1. pasajlarında kısmen saf izolatlar elde etmek mümkün olmakla birlikte, 2. pasajda koloni sayısının çok azaldığı ve mikroorganizmaların büyüklüklerini kayb ettikleri gözlemlendi. Üçüncü pasajlarda ise başarılı kültürasyon gerçekleşmedi. İkinci pasajda elde edilen megabakterilerin oksidaz ve katalaz testlerine pozitif reaksiyon verdikleri tespit edildi. Bu bakterilerin biyokimyasal özelliklerini incelemek ve biyokimyasal vasatlara yapılan ekimlerde mikroaerobik koşullarda, CO₂'li etüvlerde herhangi bir üreme oluşmadı. Bu nedenle de beş izolatın diğer biyokimyasal özelliklerini incelemek mümkün olmadı.

Yemle dolu olan bezli midelerin geçiş bölgesinde oluşan dilatasyon sonucu mide normal şeklini kaybederek, kaslı mide ile birlikte 'kum saati' şeklini almıştı. Taşlıklarda yem bulunmamaktaydı. Proventriculus mukozalarında kalınlaşma, mukoza üzerinde beyaz, grimsi renkli bir mukus tabaka dikkati çekti. Distal bölgede çok sayıda toplu iğne başı büyüklüğünde hemorajik ülseratif lezyonlar bulunmaktaydı. Koillin tabakası kaslı mideden kolayca ayrılabilmekteydi. Genel olarak kaşeksi, hepatopathie, anemik dalak ve enteritis dikkati çeken diğer makroskobik bulgulardı.

Histopatolojik incelemede proventriculusta mukozayı döşeyen epitel hücrelerinde yaygın deskuamasyon ve propria mukozada lenfosit infiltrasyonları dikkati çekti. Gerek proventriculusun lumene bakan yüzeylerinde ve gerekse tubuler bezlerde H&E ve PAS boyamalarında megabakteriler saptandı (resim 1, 2).



Şekil 1. Proventriculus mukozası üzerinde çok sayıda megabakteri (AS 20X).



Şekil 2. Proventriculus tubular bezleri lumeninde lokalize olmuş PAS pozitif megabakteriler (PAS 40X).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Megabakteriosis hobi ve kafes kuşlarının bir problemi olarak uzun süredir bilinmesine rağmen, bu konu üzerinde araştırma sayısı oldukça azdır. Bunun en önemli nedenlerinden birisi, megabakterilerin kültürasyonunun henüz optimal bir şekilde yapılamamasıdır(9). Bu nedenle de bu mikroorganizmaların biyolojik ve morfolojik özellikleri detaylı olarak incelenememektedir. Sağaltımı mümkün olmayan megabakteriosise karşı etkili bir antibiyotik henüz bilinmemektedir.

1993 yılında Baker'in(2) yanıtlanamayan sorularının hepsine bugün de yanıt verilememektedir. Ancak bu çalışma sonuçları ve megabakterilerin de ve kuşlarında da(14) izolasyonu, bu mikroorganizmaların konakçı spektrumunun bilinenden daha geniş olabileceğini göstermektedir. Hastalığın canlı hayvanlarda radyolojik tanısı, proventriculus ve ventriculusun 'kum saati' görünümünün radyografide saptanması ile mümkündür(10, 19). Bu çalışmada da makroskopik olarak tespit edilen, proventriculus ve ventriculusun 'kum saati' görünümü radyografiyi onaylamaktadır. Buna paralel bulgular daha önce de bildirilmiştir(15).

Muhabbet kuşu, kanarya ve diğer kuşlarda görülen megabakteriosisteki (1, 6, 7, 11, 13, 15, 16) makroskopik ve mikroskopik bulgular, bu çalışmadaki bulgulara identiktir. Megabakteriyel proventriculitiste bezli mide mokoza-sında görülen peteşiyal hemoraji ve ülserlerin Newcastle hastalığında ve stress faktörleri altında çıkan lezyonlara benzemesi önemli bir bulgu olup, bu nokta ayırıcı tanı açısından dikkatlice değerlendirilmelidir. Zira Newcastle hastalığına karşı bağışık hayvanlarda bu tip lezyonlara rastlanmasına rağmen, virüs izole edilemeyen vakalar klinik ve laboratuvar tecrübelerle bilinmektedir.

Bu çalışmada Ross Brown PM-3 tavuklarından izole edilen beş megabakteri izolatının Gram ve PAS pozitif olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatlar oksidaz ve katalaz testlerine pozitif reaksiyon göstermişlerdir. Bunlarla birlikte izolatların morfolojik özellikleri ve kültürasyonlarının problemlili oluşu, diğer araştırma sonuçlarını (6, 7, 12, 13, 14, 15, 16) onaylamaktadır. Ancak %10 oranında defibrine koyun kanı içeren kanlı agarda, %5 CO₂ ve %80 oranında rutubet ihtiva eden atmosferde megabakterilerin izole edilebildiğinin gösterilmesi, üçüncü pasajlar mümkün olmasa dahi üzerinde araştırma yapılması gereken bir noktadır. Bu konuya daha önce de dikkat çekilmek istenmiştir(15). Şayet megabakterilerin kültürasyonu kolayca ve rutin olarak yapılabilirse, bu mikroorganizmalar üzerine olan bilgiler hızla artacak ve hastalığın tanı ve sağaltımında yeni adımlar atılabilecektir.

KAYNAKLAR

- 1- ANDERSON N L (1993). Candida/megabacteria proventriculitis in a Lesser sulphurcrested cackatoo (*Cacatua sulphurea sulphurea*). J. Assoc. Avian Vet. 7; 4, 197-201.
- 2- BAKER J R (1993). Megabacteriosis in exhibition budgerigars in the U.K. The 1993 European Conference on Avian Medicine&Surgery. March 3/6-1993 Netherlands proceedings pp. 305-311.
- 3- BANCROFT J D, COOK H C (1984). Manual of histological techniques. Churcill Livinstone, Edinburg, London, Melbourne and New York.
- 4- BERGEYS MANUEL (1986). Bergey's manuel of systematic bacteriology. Williams&Wilkins, Baltimore.
- 5- COWAN S T and STELL K J (1974). Manuel for the identification of medical bacteria. Sec. Edit. Cambridge University Press.
- 6- FILIPPICH L J, O'BOYLE D A, WEBB R and FUERST J A (1993). Megabacteria in birds in Australia. Aust. Vet. Pract. 23, 71-76.
- 7- FILLIPPICH L J and PARKER M G (1994). Megabacteria and proventricular/ventricular disease in psittacines and passerines. Association of Avian Veterinarias, Main Conference Proceedings, 1994 Session No: 1945, pp. 287-293.
- 8- GERLACH H (1986). Going light in budgerigars. Proceeding of 1986 Annual Meeting of the Association of Avian Veterinarians pp. 247-249.
- 9- GERLACH H (1990). Resistance of megabacteria to treatment. J. Assoc. Avian Vet. 4, 205.
- 10- GRIMM F, UNGERECHTS N und KORBEL R (1990). Die röntgenologische Darstellung von gastrointestinalen Läsionen beim Wellensittich, verursacht durch Megabakterien. DVG. VII. Tagung über Vogelkrankheiten, München 01-02.03.1990 pp. 321-326.
- 11- GYLSTORFF, I. und GRIMM F (1987). Vogelkrankheiten. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- 12- HAARGREAVES R C (1981). A fungus commonly found in the proventriculus of small pet birds. 30th Western Poultry Disease Conference and 15th Poultry Health Symposia. March 9-13, 1981 Cooperative Extension University of California, Davis pp. 75-76.
- 13- VAN HERCK H, DUIJSER T, ZWART P, DORRESTEIN G M, BUITELAAR M and VAN DER HAGE M H (1984). A bacterial proventriculitis in canaries (*Serinus canaria*). Avian Pathol. 13, 561-572.

14- HUCHZERMEYER F W, HENTON M M and KEFFEN R H (1993). High mortality associated with megabacteriosis of proventriculus and gizzard in ostrich chicks. *Vet. Rec.* 7, 143-144.

15- MUTLU Ö F (1997). Muhabbet Kuşu (*Melopsittacus undulatus*) ve Kanaryalarda (*Serinus canaria*) Megabakteriosis. *Etlik Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg.* (Yayımda).

16- SCANLAN M C and GRAHAM D L (1990). Characterization of a gram-positive bacterium from the proventriculus of budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Avian Dis.* 34, 779-786.

17- SCHWEIGHARDT H, PECHAN P und LAUERMAN E (1984). Leichtwerden, Hinfälligkeit und Erbrechen als Ausdruck einer spezifischen, pilzbedingte Drüsenmagenentzündung bei Wellensittichen und Kanarienvögel. *Kleintierpraxis* 9, 439-442.

18- UNGERECHTS N (1989). Eine Bewertung der Kontrastmittelradiographie bei der Diagnose innerer Erkrankungen des Wellensittichs (*Melopsittacus undulatus*, Shaw, 1805). *Vet. med. Diss. München.*

19- WINKLE S (1979). Mikrobiologische und serologische und serologische Diagnostik. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.