

ANKARA BÖLGESİNDE SIĞIRLAR ARASINDA SEYREDEN İKTEROHEMOGLOBİNURİ VAK'ALARINDA SEROLOJİK VE KÜLTÜREL METODLARLA TESBİT EDİLEN LEPTOSPIROSİS OLAYLARI

A. Altan BULU

Veteriner Kont. ve Araşt.
Enst., Lep. Lab. Şefi
Etlik, Ankara

Mübeccel YUMUŞAK

Veteriner Kont. ve Araşt.
Enst., Lep. Lab. Asist.
Etlik, Ankara

G İ R İ Ő

Yakın bir geçmişı olan Leptosprosis hastalığı önceleri kan protozoonlarından ileri gelen hastalıklar ve Basiller İkterohe-moglobinuri ile karıştırılmıştır.

Adolf Weil Leptospirosisi ilk defa 1882 de gözlemiş ve bu hastalığın bulgularını tarif etmiştir. O zamanlar Leptospirosise Morbus Weil adı verilmiştir. 1915 yılında Inado ve Ido isimli iki Japon bilim adamı, maden işçilerinden hastalığın etkeni olan Leptospira'yı izole etmişlerdir. Türkiye'de 1948 yılında Leptospirosisin varlığı serolojik olarak Bernkopf tarafından bildirilmiştir.

Yurdumuzda ilk defa 1954 de Özgen ve Tunus (16) sığırdan bir Leptospira suşu izole etmişlerdir. Hakioglu (8) 1954 ya-zında Uzunköprü'de sığırlarından mikro aglutinasyon testle (M.A.) Leptospirosisin serolojik teşhisi yanında, febril hayvan-lardan suş izole etmeğe muvaffak olmuştur.

Vardar (19) 1963-1974 yılları arasında çeşitli evcil hayvan-lara ait 5586 serumu M.A. testle serolojik olarak muayene etmiş 1114 nü pozitif bulmuş, ayrıca yerel suşlarda izole etmiştir. Son otuz yıldır ülkemiz evcil hayvanlarından İkterohemoglobinuri septomları ile seyreden hastalıklarda laboratuvarlarca serolojik, kültürel ve histolojik yöntemlerle leptospirosis teşhisi yoğunluk kazanmış bulunmaktadır (19).

Leptospirosis insan dahil çok kalabalık bir canlı türünü tehdit eden geniş spektrumlu zoonoz bir enfeksiyondur. Dünyanın bir çok yerinde ilim adamları geyik dahil sığır, at, domuz, çakal, köpek, rat ve armandillo'lerden kültürel olarak çeşitli serotiplerde leptospira suşları izole etmeğe muvaffak olmuşlardır (1, 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 18). Ryan ve ark (17) Yeni Zellanda'da atık bir domuz yavrusunun gözünün humor vitreous'undan bir suş izole etmiştir. Leptospirosis kan serumlarının serolojik muayenesi sonucu seroaglutininlerin ortaya konulması ilede teşhis edilmektedir. (2, 3, 5, 6)

Matus ve Mike (13) hazırladıkları leptospiridin adlı allergeni domuzlarda subcutan olarak tatbik etmişlerse de sağlıklı bir sonuç alamamışlardır.

OLGULARIMIZ

I. Olay: 1979 yazında Haymana kazası Kavurmacı çiftliğinde sığırlarda hemoglobunuri ile seyir eden bir hastalık ihbarı üzerine adı geçen çiftliğe gidildi ve yerinde incelemelerde bulunuldu.

Çiftlikteki hayvanlarda derhal derece tatbik edildi ve birisinde 41,5°C.ye varan bir ateş, Anorexia hali, hemoglobinuri müşahade edildi. Mukozaların ikterik olduğu saptandı. Diğer bir sığırdaki deri lezyonları tesbit edildi. Skrotum ve meme derisinde kahverengi kabuklanmalar ile kulakların kıvrık, kuru siyahımsı, genel olarak derinin elastikiyetini kaybetmiş olduğu dikkatimizi çekti. Aynı hayvanda memede yumuşak tipli bir mastitisin olduğu ve sütün iyice azalarak kesildiği, yapılan sağımda kanlı koyu kıvamlı sütün geldiği tarafımızdan gözlemlendi. Çiftlik sahibinden aldığımız bilgilerden hastalığın üç haftadır devam ettiğini ve şimdiye kadar üç sığırın öldüğünü bildirdi. Ayrıca yaptığımız soruşturma sonucu çevrede ve ahırlarda bol miktarda fare ve yabancı kemirici hayvanların bulunduğunu öğrendik.

Ateşli sığırdan derhal kan alınarak, beraberimizde götürdüğümüz 3 kobay ve üç hamstere 1 er ml. intra peritoneal olarak enjekte edildi ve aynı kandan Fletcher ve Chang besi yerlerine ekimler yapıldı. Ayrıca bol miktarda kan protozoonları yönünden muayene için sürme kan frotisi yapıldı. Çiftliğin 65 sığırından kan alınarak, Mikro agglutination (M.A.) testle serolojik

olarak muayene olundu ve 7 hayvanın kan serumunda 1/200 - 1/3200 titrede *L. grippotyphosa*'ya karşı müsbet bulundu.

Hasta hayvanlardan idrar temin edemediğimizden idrardan ekim ve inokulasyonlar yapılamamıştır. Fakat mastitisli memeden elde ettiğimiz kanlı süt'ten hamster ve kobaylara intraperitoneal inokulasyonlar yaptık.

Ateşli hayvanın kanından intraperitoneal olarak enjekte ettiğimiz hamsterlerden birisi inokulasyondan 17 gün sonra öldü. Hamster açıldığında iç organlar iktero-hemorajik bir durum gösteriyordu, böbrekler büyümüş ve solgun durumdaydı. Böbrekten pasteur pipetiyle Fletcher ve Chang besi yerlerine ekimler yapıldı ve böbrek dokusundan bir parça alınarak, steril bir havandan deniz kumu ile böbrek dokusu emülsiyonu hazırlandı. Bu emülsiyonu karanlık saha mikroskopunda muayene ettik ve kısa boylu çok hareketli leptospira organizmlerini tesbit ettik. Aynı emülsiyondan yeni bir hamstere 1 ml. subcutan olarak enjekte ettik. Ölen hamster böbreğiden touche preparatlar yaptık ve giemsa ile boyadıktan sonra immersi-yonda boyanmış bol miktarda leptospira organizmlerini gördük.

Ateşli sığırdan hemokültür yaptığımız Fletcher vasatında 29 uncu gününde leptospira ürediği tarafımızdan tesbit edildi. Hemo kültür müsbet olan tüplerden ikinci defa invitro leptospira vasatlarına subkültürler yapılarak, ikinci pasajda leptospiraların üremeleri kontrol edildi. Ateşli sığır kanından yapılan kan frotileri giemsa ile yapılan boyama sonucu kan protozoonları yönünden mefi bulundu. Bu arada leptospira organizmlerinde görmeğe muvaffak olamadık. İzole edilen Haymana suşu hamsterleri 7-10 günde tipik leptospirosis bulguları içerisinde öldürmektedirler. Halen laboratuvarımızda hamsterlerde canlı pasajlarına eprüve patogen suşu olarak haftada bir devam edilmektedir.

İzolasyonu yapılan Haymana suşunun Chang vasatındaki 7 günlük kültürü elimizdeki hyperimmun serumlarla yapılan M.A. testle sadece *L. Grippotyphosa* hyperimmun serumu ile 1/6400 titrede müsbet reaksiyon vermiştir.

II. Olay: 29.5.1981 tarihinde Keskin ilçesi Emin efendi köyünden iki sığır kan serumu ile bir adet böbrek Leptospirosis

Böbrek çok taze olduğundan derhal Fletcher ve Chang besi yerlerine ekimler yapıldı. Aynı böbrek dokusundan fizyolojik tuzlu su ve steril deniz kumu ile porselen havanda emülsiyon hazırlanarak, üç kobay ve üç hamstere intraperitoneal olarak 2 şer ml. enjekte edildi. Aynı böbrek emülsiyonu karanlık saha mikroskobunda muayene edildi, hareketli leptospira organizmlerini gözleyemedik. Ayrıca böbrekten touche preparatlar hazırlandı. Hazırlanan preparatlar giemsa ile boyandı. Mikroskopta muayenede bol miktarda boyanmış leptospira organizmlerine rastlandı. Kan protozoonları görülemedi.

Hayvan sahibinin ifadesine göre hastalık 15 gün evvel sıgırlarda kan işeme ile kendini göstermiş. Hayvanlarda ateş, iştahsızlık, bitkinlik husule getirdiğinden bahsettiler.

Böbrekten ekim yapılan Fletcher ve Chang besi yerleri ekimden sonra 30°C.lik etüve inkubasyon için kaldırıldı. 15 günlük periyotlarla karanlık saha mikroskobunda yapılan üreme kontrollerinde 27 nci günde Fletcher vasatında leptospira organizmleri görüldü. Üreme saf ve temiz fakat organizm sayısı çok düşük seviyede olduğu için, üreme tesbit edilen Fletcher besi yerinden tekrar yeniden aynı besi yerlerine ekimler yapılarak, zayıf olan suşa yoğunluk kazandırıldı.

Adı geçen sıgır böbreğinin emülsiyonu inokule edilen kobaylarda üç hafta sonunda ateş ve mukozalarda ikterik bir durum saptanmasına rağmen her üç kobayda ölmedi. Bunların kalplerinden punksiyonla alınan kan leptospira vasatlarına ekildi. 24. gün bu vasatlarda üreme saptandı. Hamsterlerden ikisi 13 ncü gün öldü. Yapılan otopside iç organlardan barsak ve mezenteriyum, akciğerlerde iktero-hemorajik durum çok belirgin olarak görüldü. Böbrekten tekrar Fletcher ve Chang besi yerlerine ekimler yapıldı. Hamster böbreğinin emülsiyonu tekrar yeni bir hamstere 1 ml. subcutan olarak verildi. Aynı emülsiyonun 1/100 diliyonu karanlık saha mikroskobunda muayene edilerek çok hareketli kısa boylu leptospira organizmleri tesbit edildi.

Böbrekle birlikte getirilen iki sıgır kan serumu yapılan M.A testle 1/1600 litrede L. Grippytyphosa ile müsbet bulundu.

İzole edilen keskin suşu Chang vasatında 7 günlük üremeyi takiben hyperimmun serumla yaptığımız M.A testle yalnız L.

Grippotyphosa hyperimmun serumu ile 1/10.000 litrede müsbet reaksiyon verdi.

Ankara'nın iki ilçesinde sığırlar arasında iktero hemoğlobunuri ile seyir eden iki vak'ada hasta olan hayvanlardan temin olunan materyallerle olayların leptospirosis olduğu etken izolasyonu ile doğrulanmıştır. Keskin'den getirilen sığır böbreğinden Enstitümüz Patoloji laboratuvarınca yapılan histopatolojik muayenede, olay'ın leptospirosis olduğu saptandı.

İzole edilen leptospira suşları hyper immunserumlarla yaptığımız M.A testinde yalnızca L.Grippothyphosa hyperimmun serum ile 1/6400-1/10.000 titre'de müsbet reaksiyon vermiş olup, böylece suşların yurdumuzda hakim tip olan L. Grippotyphosa sero grubundan olduğu kanıtlandı. Haymana ve Keskin suşları ayrıca Enstitü Pasteur'deki referens leptospira laboratuvarına, sero tiplerinin tesbiti için gönderildi ve yapılan muayene sonucu her iki suşunda L.Grippotyphosa sero grubundan olduğu bildirilerek identifiyemizi doğrulamış oldu.

S U M M A R Y

THE STUDIES ON ICTEROHAEMORRHAGIC LEPTOSPIRAL INFECTIONS OF CATTLE IN ANKARA REGION

A. Altan BULU

Chief of the Lep. Lab.,
Vet. Cont. and Research Institute
Etlik, ANKARA

Mübeccel YUMUŞAK

Ass. of the Lep. Lab.,
Vet. Cont. and Research Institute
Etlik, ANKARA

Case I

Blood samples were obtained from one of the 65 cattle having fever and icterohaemoglobinuria at a farm in Haymana, Ankara.

Its Blood and urine were inoculated into six-week old hamsters by the subcutaneous route and into Fletchers, and Chang Media.

After 29 days of incubation a strain was isolated in Fletcher's medium.

Bovin urine inoculated into hamster, leptospira were found in their kidney and isolated a new strain The strain were found pozitivite in M.A. test against leptospira grippotyphosa immun serum in 1/6400 titre when sera from the 65 cattle tested examination by M.A test gave pozitive result against Leptospira grippotyphosa in 1/200-1/3200 titre.

From these cases, three cows belonging to this form died.

Case II

Blood serum and kidney samples from two cattle sent to our laboratory from Keskin, Ankara were examined for leptospirosis.

Serum samples were examined by Micro Agglutination test (M.A.) the sera were found positive against Leptospira grippotyphosa in 1/1600 titre.

Tissue emulsions of kidneys were inoculated into Fletcher's, and Chang media and to 6 weeks old 6 hamsters, subcutaneously and intra peritoneally.

The leptospira organism were isolated in Fletcher's and Chang media and were identified under the dark field microscope.

The two hamsters which were inoculated intra peritoneally died within 13 days after inoculation kidney emulsion from the dead hamsters were inoculated into another set off hamsters for the pathogenicty control.

The isolated new strain was positive in 1/10.000 titre against Leptospira grippotyphosa immun serum when tested with M.A test.

TEŞEKKÜR

Suşların Pasteur Enstitüsüne gönderilmesini sağlayan A. Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji ve Salgın Hastalıklar Kürsüsü Doçenti Sayın Dr. Nejat Aydın'a ve yaptığı testlerle bu suşların Leptospira grippotyphosa sero grubundan olduğunu teyit eden Dr. M. Mailloux'a teşekkürlerimizi sunarız.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — Akhmedow, M.M., Amaev, K.G., Salıkov, YU.S., Makhmudov, M.P. 1979. (Epidemioloji of leptospirosis in animals cattle, buffalo, horse, sheep, swine and dog in Dagestan) Veterinariya Moscow USSR No. 1. 42. 43 Reff.: Vet. Bull 1979, 573, 4386.
- 2 — Carpio, M.M., İversen, J.O. 1979. A serological survey of leptospira İnterorgans serotype Romona in saskatchewan horses Canadian Vet. J. 20 (5) 127-130.
- 3 — Cole, J.R., jr.; Sulzer C.R., Pursel, A.R. 1973. Improved microtechnique for the leptospiral mikroskopik agglutination test Applied microbiology 25 (6), 976-90.
- 4 — Corrigall, W. 1978. Naturally Occurrine leptospirosis (Lep. Ballum) in a Red deer. (cervus elaphus) veterinary Record 103 (4), 75-76.
- 5 — Daninde, D.F., Jones, C.J., Myers, D.M. 1979. A study of leptospirosis among Animals in Barbados W.I. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hypiene 73 (22), 161-168.
- 6 — Fenestad, K.L., Borg-Petersen, C. 1972. Leptospirosis in Danish wild mamals journal of wild life Diseases 8 (4) 343-351.
- 7 — Florio, A.R., Lescure, F., Guelfi, J.F., Lautie R., Meigner, B., Geral B.F. 1973. (Studies of icterogenic leptospiral infections of dogs in the Toulouse area) Bull. de la société de sciences Vet. et de Med. Compareé de tyon 75 (2), 87-94.
- 8 — Hakioglu F. 1956. Uzun köprü sığırlarında serolojik ve kültürel metodlarla tesbit edilen leptospirosis hastalığı. Türk. Vet. Hek. Der. Dergisi, 26 (114-115), 2767-2796.
- 9 — Jelambi, F', Pena, A., Padilla C., İvanova, N., Ipolanco, J.E. 1976. Leptospirosis of demostic animals (pig, cattle, horse, dog) in Venezuela. Veterinaria Tropical 1 (1), 63-71. Reff.: Vet. Bul. 1978, 571-4104.
- 10 — Leon Vizcaino L., Miranda Garcia A., Perez, M. 1977. New outbreaks of leptospirosis in cattle and pigs in Cordoba Sublemento científico de boletin informetiro, consefo General de colegios Veterinarios de Espana No. 207/208, 7384.
- 11 — Marler, R.J., 1979. Leptospirosis in coyotes Dissertation Abstract international 39 B (10), 4665.
- 12 — Masedo Agirre, C., Chernukha, Yu. G., 1979. Classification of leptospire isolated in peru. Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii, Immunobiologii, (2), 77-81.
- 13 — Matus, F., Mike J., 1978. Testing of leptospira allergen (leptospirin) in swine herds. Magjar Allatorvosok Lapzo 33, (2), 103, 104-107.

- 14 — **Morales, G. A., Guaman, V. H., Beltran, L. E., 1978.** Leptospirosis in Colombia: isolation of leptospira spp. from the kidneys of brown rats trapped on infected piggeries Tropical Animal Health and production 10 (2), 121-123.
- 15 — **Myers, D. M., Caparo, A. C., Moreno, J. P., 1977.** Isolation of serotype hardjo and other leptospira from Armodillos in Argentina. Bulletin of the Pan Am. Health organiastion 11 (2), 131-139.
- 16 — **Özgen, H., Tunus, M., 1954.** Türkiye'de ilk olarak Leptospira Bovis suşunun kültürel geliştirilmesi. Türk. Vet. Hekim. Dergisi, 24 (98-99), 1865-1874.
- 17 — **Ryan, T. J., Marshall, R. B., Edwars, J. D., Stevenson, B. J., 1977.** Isolation of leptospire from the vitreous humor of aborted piglets Newzealand veterinary Journal, 25 (11), 352.
- 18 — **Shenberg, E., Torten M., Kapeler S., Doljanski, N., Costin C., 1978.** Public healt aspect of leptospirosis caused by the serovar hardjo in İsrail Refuah Veterinarith 35 (2), 59-67.
- 19 — **Vardar, T., 1976.** 1963-1974 yılları arasında yurdumuz evcil hayvanlarında görülen Leptospirosis olayları. Etlik Vet. Bakt. Enst. Dergisi 4 (5-10), 147-162.