

ELAZIĞ ve ÇEVRESİNDE KOYUNLARDA ENFEKSİYÖZ NEKROTİK HEPATİTİS PREVALANSI

Prevalence of Infectious Necrotic Hepatitis in Sheep in Elazığ and the Surrounding Provinces

Metin GÜRÇAY*

Canan ÖZCAN*

ÖZET

Elazığ ve çevresinden 1994-1998 yılları arasında enfeksiyöz nekrotik hepatitis şüphesiyle koyunlara ait, 122 karaciğer örneği Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne gönderilmiştir. Teşhis için kültürel yoklamalar ve toksin nötralizasyon testi kullanılmıştır. Bakteriolojik muayenelerde 122 örnekten 35'inde enfeksiyöz nekrotik hepatitis pozitif, 87'sinde negatif bulunmuştur. 35 adet enfeksiyöz nekrotik hepatitis vakasının 18'inde C. oedematiens Tip A, 10'unda C. oedematiens Tip D, 7'sinde ise hem Tip A hem de Tip D identifiye edilmiştir.

Anahtar Sözcükler:Koyun, Enfeksiyöz Nekrotik Hepatitis.

SUMMARY

One hundred and twenty two liver specimens belonging to sheep with infectious necrotic hepatitis suspicion were sent to Elazığ Veterinary Control and Research Institute from Elazığ and the surrounding provinces during the period of 1994-1998. Cultural examinations and Toxin-neutralisation test was applied for diagnosis. In bacteriological examinations, 35 out of 122 specimens were found positive and 87 negative. The isolates from 35 infectious necrotic hepatitis cases were identified as C. oedematiens Type A in 18 C. oedematiens Type D in 10 and both Type A and Type D in seven case

Key Words: Sheep, Infectious Necrotic Hepatitis.

GİRİŞ

Enfeksiyöz nekrotik hepatitis koyunların ve bazen de sığırların akut toksemik ve karaciğer nekrozları ile beliren bir hastalıdır. Hastalık, genellikle fasciolosis ve dicrocoeliosis ile ilişkili olup, bunlarla beraber görülür. Hastalığın etkeni, *Clostridium oedematiens* (*C. novyi*), hareketli olup 20 kadar peritrik flegellaya sahiptir, kapsüllü olmayıp, bütün anilin boyaları ile boyanır ve Gram pozitifdir. Sporları oval, sentral veya subterminaldir. A, B, C, D olmak üzere 4 tipi vardır. Tüm tipler alfa, beta, gamma, delta, epsilon, zeta, eta ve theta olmak üzere toplam 8 toksin içerirler (1,2). Enfeksiyöz nekrotik hepatitis toksemik bir hastalıktır. Enfeksiyon, karaciğer parazitlerinin fazla bulunduğu sulak ve bataklık yerlerde dikkati çeker. Etken toprakta ve hayvanların sindirim sisteminde fazla bulunur. Bu hastalıkta önemli olan nokta; çeşitli bakteriyel etkenler, toksik nedenler ve parazitismusa bağlı olarak karaciğerde primer nekrotik odağın oluşması, bu odağa en-

feksiyöz nekrotik hepatitis etkenlerinin gelmesi, nekrotik anaerobik bir ortamda etkenlerin çoğalması ve toksin salıvermeleridir (1,3).

Hastalık, karaciğer parazitleri ile ilgili olduğundan bu parazitlerin biyolojilerine uygun olarak mevsimsel bir seyir takip eder ve bu nedenle en fazla yaz ve sonbahar aylarında görülür. Hastalığa 2-4 yaşındaki iyi beslenmiş yetişkin koyunlar çok hassastır (4).

Enfeksiyöz nekrotik hepatitis, dünyada yaygın olup (5-8), yurdumuzda da ilk kez İyigören ve ark. tarafından 1965 yılında bildirilmiş, klinik, patolojik ve bakteriyolojik yönden incelenmiştir (9).

Hastalığın teşhisinde otopsi bulguları teşhise yardımcı olur. Özellikle, fasciolosis teşhisde önemlidir. Laboratuvar muayenelerinde kesin teşhis toksin araştırılması ve tip tayini ile olur.

* Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Elazığ-TÜRKİYE

Toksin araştırılması otopsi materyali ve kültürden yapılır. Toksin izolasyonu ve tip tayini için farelerde toksin nötralizasyon testinden yararlanılır (1).

Bu çalışma, Elazığ ve çevresinden 1994-1998 yılları arasında enfeksiyöz nekrotik hepatitis şüphesiyle Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne gönderilen koyunlara ait toplam 122 adet karaciğer numunesine uygulanan bakteriyolojik muayeneler sonucunda enfeksiyöz nekrotik hepatitisin bölgemizde yaygınlığını saptamak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal : Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsüne 1994-1998 yılları arasında enfeksiyöz nekrotik hepatitis'ten şüpheli olarak gönderilen toplam 122 adet karaciğer materyal olarak kullanıldı.

Besiyeri :

Kıymalı - peptonlu su:
Pepton 30 gr
NaCl 5 gr
Distile su 1000 cc

Karışım hazırlanmış, pH 8.2-8.6 olacak şekilde ayarlanmıştır. İçlerinde bir kısım taze, yağsız sığır kıyması bulunan test tüplerine yukarıdaki karışımdan 2 kısım ilave edilerek otoklavda 121 °C'de 15 dakika süreyle sterilize edildi.

Deney Hayvanları: Araştırmada, laboratuvara gönderilen her karaciğer numunesi için toksin (karaciğer süspansiyonu) ve toksin + antitoksin inokulasyonu yapmak amacıyla 732 beyaz fare kullanıldı.

Antitoksinler: Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünden temin edilen *C. oedematiens* alfa ve beta antitoksinleri kullanıldı.

Metot:

Bakteriyoskopi: Üreme görülen tüplerden hazırlanan preparatlar Gram boyama yöntemiyle boyandı (1).

İzolasyon: Etken izolasyonu için karaciğerin lezyonlu kısımlarından, kıymalı peptonlu suya

ekimler yapıldı. Tüpler 37 °C'de 2 gün üremeye bırakıldı. Üreme durumunu takip etmek için tüpler her gün kontrol edildi (10).

Deney Hayvanlarına İnokulasyonlar: Karaciğerin nekrotik kısımlarından alınan doku parçaları steril havanda ezildikten sonra üzerine % 0.9 steril fizyolojik tuzlu su ilave edildi ve 3000 devirde 20 dakika müddetle santrifüj edildi, süpernatant süzgeç kağıdından süzülerek tekrar santrifüj edildi. Süpernatant (filtrat) steril bir tüpe aktarıldı. Toksin izolasyonu ve toksin nötralizasyon testi için 3 hemoliz tüpüne sırasıyla 0.6 ml filtrat; 0.3 ml filtrat + 0.3 ml *C. oedematiens* alfa antitoksin; 0.3 ml filtrat + 0.3 ml *C. oedematiens* beta antitoksin konuldu. Yarım saat 37 °C'lik etüvde tutuldu. İnkübasyondan sonra her karışımdan ikişer adet beyaz fareye 0.3 ml periton içi verildi. Fareler 48 saat izlendi, ölenler kaydedildi (8,10).

BULGULAR

Bakteriyoskopi: Üreme görülen tüplerden hazırlanan preparatların bazılarında Gram pozitif basiller görüldü.

Kültürel yoklama bulguları: Toksin izolasyonu sağlanan 35 numuneden ve toksin izolasyonu sağlanmayan numunelerin bir kısmından (50 adet) kıymalı-peptonlu suya yapılan ekimlerde *C. oedematiens* izole edildi.

Toksin nötralizasyon test bulguları: Toksin izolasyonu ve tip tayini için yapılan toksin nötralizasyon testi sonucunda potitif olan 35 vak'ının 18 (%51.4)'inde etken *C. oedematiens* Tip A, 10 (%28.6)'unda *C. oedematiens* Tip D, 7 (%20.0)'sinde ise hem Tip A hem de Tip D identifiye edildi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Clostridial etkenlerin toprak, sağlıklı hayvanların çeşitli organ ve dokuları, hayvansal ürünler gibi çeşitli ortamlarda varlıklarının saptanmasını amaçlayan araştırmalar yapılmıştır (5,6). *C. oedematiens* için de aynı yönde çalışmalar yapılmış ve etkenin neden olduğu enfeksiyöz nekrotik hepatitis hastalığının karaciğerde meydana gelmesi ile bu mik

rorganizmaların karaciğerde bulunuşları arasındaki ilişki üzerinde ayrıca durulmuştur (7).

Jamieson (11), sağlıklı koyun karaciğerlerinin % 28.9'unda, Güven ve ark. (8), sağlıklı koyun karaciğerlerinin % 47'sinden *C. oedematiens*'i izole etmişlerdir. Çeşitli nedenlerle oluşan ölüm olaylarından sonra alınan karaciğerlerde, başta *C. oedematiens* olmak üzere bazı Clostridial mikroorganizmaların araştırılması şeklinde yürütülen araştırmada Batty ve ark. (12), sığır, koyun ve domuz kökenli 315 karaciğerin % 38'inde *C. oedematiens* izole etmişlerdir. Berkoğlu (13), Pendik mezbatasından alınan sağlıklı sığır karaciğerlerini *C. oedematiens*'in varlığı yönünden incelemiş, çalışılan 100 karaciğerin 62'sinde *C. oedematiens* saptanmıştır. Ancak enfeksiyöz nekrotik hepatitis hastalığının patogenezi ile ilişkin olarak, araştırmacılar (3,12) sağlıklı hayvanların karaciğerinde bulunabildiği belirlenen *C. oedematiens* mikroorganizmalarının üreyebilmesi için, karaciğerde uygun ortam şekillenmesinin gerekli olduğu görüşünde birleşmektedirler. Bu uygun ortam karaciğer nekrozları ile oluşabilecek anaerobiosisdir. Karaciğer nekrozlarının parazitler, çeşitli ilaçlar, metabolik bozukluklar, beslenme bozuklukları ve biopsiler gibi birçok biyolojik, mekanik ve kimyasal etkenlerle meydana gelebildiği bu çalışmalarda bildirilmiştir.

Bu araştırmada enfeksiyöz nekrotik hepatitis şüphesiyle laboratuvarımıza gelen 122 adet karaciğerden kıymalı peptonlu suya ekim yapılmış, birçoğunda (50 adet) *C. oedematiens* izole edilmiştir. Ancak sağlıklı karaciğerlerde de *C. oedematiens* bulunabileceğinden dolayı, bakteri izolasyonunun yanısıra toksin izolasyonu da yapılmış ve 122 adet enfeksiyöz nekrotik hepatitis şüpheli karaciğerin 35'inden toksin izolasyonu sağlanmıştır. Keza Bekar ve ark (3) tarafından, Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Bakteriyoj Laboratuvarına gönderilen 34 nekrozlu karaciğerin nekrozlu kısımlarından yapılan frotilere *C. oedematiens* yönünden Florasan antikör (FA) tekniğiyle bakılmış, 32 adet karaciğerin tamamında etken görülmüş ve toksin izolasyonu sağlanmıştır. Erzurum ili ve yöresinde 1990 yılında yapılan başka bir çalışmada ise sığır ve koyunlarda sarılık ve kan işeme belirtisi gösteren hayvanların kontrol edilen karaciğerlerinin birçoğunda *C. oedematiens*

FA tekniği kullanılarak tespit edilmiş, ancak bu karaciğerlerden toksin izolasyonu sağlanamamıştır (14).

Sonuç olarak; 1994-1998 yılları arasında enstitümüz laboratuvarına 122 adet enfeksiyöz nekrotik hepatitisten şüpheli koyun karaciğeri gelmiş, bunların 35 (% 28.6)'inde enfeksiyöz nekrotik hepatitis hastalığı toksin nötralizasyon testi kullanılarak teşhis edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Arda M, Minbay A, Aydın N: Anthrax. Özel Mikrobiyoloji. Ankara Üniv Bas, 377-391, 1982.
2. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Halt JG: Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, Vol II, 1176, 1994
3. Bekar M, Girgin H, Aksoy E, Tartar N: İç Anadolu Bölgesinde koyunların enfeksiyöz hepatit nekrozan olaylarında etiolojik çalışmalar. *Etlik Vet Kont Araş Enst Derg*, 4(7): 92-96, 1993.
4. Katritch RV: Hepatite necrosante. Les maladies des animaux domestique causees paries microbes anaerobies. 153-163, 1965.
5. Estola T, Stenberg H: Occurrence of clostridia in domestic animals and animal products. *Nord Vet Med*, 15: 35-47, 1963.
6. Nishida S, Nakagawara G: Isolation of toxigenic strains of *Clostridium novyi* from soil. *J Bact*, 88: 1636-1640, 1964.
7. Smith LDS, Holdeman LV: The pathogenic anaerobic bacteria. Ed. by A Balows, Springfield, Illinois USA Thomas, 1968.
8. Güven S- Warrall EE, Nada S, Elverdi R, Roberts RS: Genç koyun normal karaciğerlerinden *C. oedematiens* suşlarının izolasyonu ve tip tayinleri. *Pendik Vet Kont Araş Enst Derg*, 10(2): 10-12, 1970.
9. İyigören B, Durukan Ş, Kılıçoğlu G: Enfeksiyöz hepatit nekrosant. Eskişehir ve Yozgat illerinde görülen vakalar üzerinde müşahadeler. *Etlik Vet Kont ve Araş Enst Derg*, 3(1-2): 14-16, 1966.
10. Güven S: Anaerob mikroorganizmalar ve bakteriyojistik muayene metodları. *Pendik Vet Kont ve Araş Enst*, 14, 64, 1972.
11. Jamieson S: The identification of *Clostridium oedematiens* and an experimental investigation of its in the pathogenesis of infectious necrotic hepatitis (black disease) of sheep. *J Path Bact*, 61: 389, 1949.
12. Batty I, Buntain D, Walker PD: *Clostridium oedematiens*: A cause of sudden death in sheep, cattle and pigs. *Vet Rec*, 76(1): 1115-1117, 1964.
13. Berkoğlu A: Sağlam sığırların karaciğerlerinden *Clostridium oedematiens* izolasyonu, identifikasyonu ve bacillary hemoglobinüria ile ilişkisi üzerinde araştırmalar. *Pendik Hay Hast Araş Enst Derg*, 20(1): 25-40, 1989.
14. Özkan Ö, Dörterler R, Hoştürk F: Erzurum ili ve yöresindeki sığır ve koyunlarda sarılık ve kan işeme semptomları ile seyreden hastalıklarda *Clostridium oedematiens*, leptospira ve kan protozoonlarının insidansının belirlenmesi. *Etlik Vet Kont ve Araş Enst Derg*, 7(4): 97-104, 1993.