

## TEKTIRNAKLILARDA GÖZLENEN ANTHRAX ENFEKSİYONU

### Anthrax Infection Observed in Equidae

Canan ÖZCAN\* Nurettin DİLGİN\* Metin GÜRÇAY\* Orhan MUZOĞLU\*

#### ÖZET

Kemaliye'de (Erzincan) at ve eşeklerde yüksek ateş, karn ve inguinal bölgede ödemle seyreden ölümlerin görüldüğü bir salgın enstitümüze bildirilmiştir. Hasta at ve eşeklerden alınan kan ve ödem sıvıları bakteriyolojik, hasta hayvanlar üzerinden alınan kan emici sinekler ise bakteriyolojik ve parazitolojik yönden incelenmiştir. Bakteriyolojik ve parazitolojik muayeneler sonucunda hasta hayvanlardan alınan kan, ödem sıvıları ve sineklerden *Bacillus anthracis* izole ve identifiye edilmiş; sineklerin Tabanidae ailesinin Tabanus soyuna ait oldukları tespit edilmiştir. Etkenin antibiyotiklere olan duyarlılığı ve patojenitesi saptanmış, Tabanusların anthrax etkenini hayvanlar arasında taşıdıkları vurgulanmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** At, Eşek, Anthrax, Tabanidae

#### SUMMARY

An outbreak characterized by high temperature, oedema on abdomen and inguinal region and deaths in horses and donkeys in Kemaliye (Erzincan) was reported to our institute. Blood and oedema specimens obtained from ill horses and donkeys were examined bacteriologically and blood-sucking flies taken from these animals were examined bacteriologically and parasitologically. In bacteriologic and parasitologic examinations, *Bacillus anthracis* was isolated and identified from blood, oedema specimens and flies; flies were named as Tabanus belonging to Tabanidae family. The sensitivity to antibiotics and pathogenicity of agent were determined and it was emphasized that Tabanus has transported the anthrax agent between animals.

**Key Words:** Horse, Donkey, Anthrax, Tabanidae.

#### GİRİŞ

Anthrax, *Bacillus anthracis*'in neden olduğu septisemik ve toksemik özellikte akut enfeksiyöz bir hastalıktır (1). Tüm dünyaya yayılmış tehlikeli bir zoonoz olan anthrax; koyun, keçi, sığır, manda, at, eşek, deve, fil, domuz, köpek, kedi, kobay ve rat'da görülmektedir. Genellikle sporadik, ender olarak da enzootik olarak ortaya çıkmakta ve ölümlerle sonuçlanmaktadır (2). Enfeksiyon genellikle dalak büyümesi, kanın koyu renk alması ve pıhtılaşma yeteneğinin kaybolması, deri, derialtı ve subseröz dokuların serohemorajik infiltrasyonu ve vücut ısısının yükselmesi ile karakterizedir (2,3). Hastalığın etkeni olan *Bacillus anthracis* aerobik (veya fakültatif anaerob), Gram pozitif, haraketsiz, sporlu ve kapsüllü bir mikroorganizmadır. Basilin yan kenarları birbirine paralel, uçları köşelidir. Basilin genelde sentral kısmında oluşan sporlar, aerobik koşullarda vücut dışında ve in vitro olarak meydana gelir. Sıvı ve katı besiyerlerinde, aerobik şartlarda bir günde üreyen mikroorganizma, katı ortamlarda

2-3 mm çapında kenarları düzgün olmayan, kırışık ve gri renkte koloniler meydana getirir. Sıvı ortamlarda, tüpün dibinde yapışkan ipliksi bir tortu oluşturur (1,4). Anthrax basilin sporları fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı çok dayanıklıdır (2).

Bulaşma, sindirim, solunum ve deri yoluya olmaktadır. Yine kan emici ve sokucu sinekler etkeni taşıyabilmektedirler (1,5). Bu tür sineklerden olan Tabanidae'ler hayvanlar arasında enfeksiyonu bulaştırabilmektedirler (6,7). Tabanidae ailesi 3500'den fazla tür kapsamaktadır. Ülkemizin de yer aldığı Palearktik bölgede tespit edilen tür sayısı yıldan yıla artmaktadır (8,9). Tabanidae türleri gelişmelerinde yumurta, larva ve pupa olmak üzere üç devre geçirirler (8). Gelişmelerinde tam bir metamorfoz vardır (10). Ergin dişiler çiftleşip kan emdikten 4-7 gün sonra yumurtlamaya başlarlar (8,10). Mevsimsel aktivitesi Mayıs-Eylül (8) ve Haziran-Temmuz-Ağustos aylarıdır (11-13).

\* Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Elazığ-TÜRKİYE

Hastalık atlarda akut olarak seyredip, boyun, göğüs, omuz, farengial ve genital bölgede ödemler, solunum ve yutma güçlüğü, ateş, bazen topallık görülmekte, ölüm 3-8 gün içinde meydana gelmektedir (2,3).

Hastalığın koruma ve kontrolünde, ülkemizde avirulent, kapsülsüz 34F2 suşu ile hazırlanmış Max Sterne aşısı hayvanlara uygulanmakta olup, bağışıklık süresi 1 yıldır (14). Aşılama çalışmaları ancak iyi bir dezenfeksiyon ve hijyen şartlarına uyma ve yetiştiricilerin bu konuda bilinçlendirilmesiyle başarıya ulaşacaktır.

Birçok araştırmacı at ve eşeklerde doğal anthrax enfeksiyonunun varlığını ortaya koymuşlar (15-17), hayvandan hayvana veya insana etkenin taşınmasında kan emici ve sokucu sineklerin rolü olduğunu tespit etmişlerdir (6,7).

Bu çalışmada; atlarda ve eşeklerde *B. anthracis* tarafından oluşturulan doğal enfeksiyonun bildirilmesi ve hasta hayvanlar üzerinde toplanan sineklerden etken izolasyonu amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

**Materyal:** Erzincan'ın Kemaliye ilçesine bağlı Kozlupınar ve Yeşilyurt köylerinde bulunan yaklaşık 50 at ve eşekten enfeksiyon sonucu hastalanan hayvanlardan alınan kan ve ödem sıvısı ve bu hayvanlar üzerinden toplanan sinekler (5 adet) materyal olarak kullanılmıştır.

**Besiyeri:** Etken izolasyonu için % 5-10 defibrine koyun kanlı agar, antibiyotik duyarlılık testi için Mueller-Hinton Agar (Merck), saf kültürlerin saklanması amacıyla Nutrient Broth'dan yararlanılmıştır (18).

**Antibiyotik diskleri:** Bu test için, Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünden sağlanan Ampisilin-10 mcg, Streptomisin-10 mcg, Neomisin-30mcg, Penisilin-10 IU, Eritromisin-15mcg, Nitrofurantoin-300mcg, Gentamisin-10mcg, Kloramfenikol-30mcg ve Karbenisilin-100mcg diskleri kullanılmıştır.

### Metot:

**Bakteriyoskopi:** Bakteriyoskopi için kan ve ödem sıvılarından hazırlanan sürme preparatlar

Gram ve Giemsa boyama yöntemleri ile boyanmıştır.

**İzolasyon:** Etken izolasyonu amacıyla hasta hayvanlardan alınan kan ve ödem sıvıları ile herbiri ayrı olarak steril % 0.9'luk fizyolojik tuzlu suda ezilen sineklerden, defibrine koyun kanlı agar ve nutrient buyyona ayrı ayrı ekimler yapılmış, bu besi yerleri aerobik şartlarda 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (4).

**İdentifikasyon:** Ekim sonrası kanlı agarda üreyen ve *B. anthracis* kolonisinin özelliklerini gösteren kolonilerden Gram boyama için; fare deneyi sonrası ölen farelerin dalaklarından Giemsa boyama için preparatlar hazırlanmıştır. Mikroskopik bakıda Gram pozitif basil şeklinde görülen etkenlerin saf kültürlerini elde etmek için saf olarak üreyen kolonilerden Nutrient Broth'a ekim yapılmış, etkenin biyokimyasal özellikleri klasik yöntemler kullanılarak tespit edilmiştir (19).

**Patojenite Testi:** Bu test için kan ve ödem sıvılarından kanlı agara yapılan ekimler sonunda 24 saat sonra üreyen kolonilerden steril % 0.9'luk fizyolojik tuzlu su ile süspansiyon hazırlanmıştır. Süspansiyon 1 nolu MacFarland tüpü yoğunluğuna göre ayarlandıktan sonra 0.1 ml miktarında her bir numuneden 2'şer adet beyaz fareye derialtı yolla inokulasyon yapılmıştır. Yine sinekler havanda herbiri ayrı olarak ezilerek steril % 0.9'luk fizyolojik tuzlu su ile süspansiyon yapılmış ve herbir numuneden 2'şer adet beyaz fareye derialtı yolla inokule edilmiştir (4).

**Antibiyotik Duyarlılık Testi:** Bu test Bauer ve ark. (20)'nin bildirdikleri yöntemle göre yapılmıştır.

**Sineklerin Tür Tesbiti:** Hayvanlar üzerinden toplanan sineklerin vücut, kanat, anten ve alın yapılarına göre teşhisleri Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalında yapılmıştır (9,21).

## BULGULAR

**Bakteriyoskopi:** Kan ve ödem sıvılarından yapılan preparatlar, ekim sonrası ve fare deneyi sonrası ölen farelerden hazırlanan tüm preparatlar giemsa ve gram yöntemi ile boyandı.

Preparatların tümünde anthrax basiline benzeyen Gram pozitif basiller görüldü.

**Klinik Bulgular:** Erzincan Kemaliye ilçesinin Kozlupınar ve Yeşilyurt köylerine gidilerek, hasta eşek ve atların muayenesi yapıldı. Muayene sonucunda vücut ısısının 38 °C olduğu, hasta hayvanların inguinal ve karın bölgelerinde ödemlerin olduğu, hastalığa maruz kalan hayvanlardan 9'unun öldüğü tespiti yapıldı.

**Bakteriyolojik Bulgular:** Ölen hayvanlar imha edilmiş olduğundan materyal alınmadı. Hasta olan hayvanlardan kan ve ödem sıvıları alındı. Yine bu hayvanlar üzerinde kan emmekte olan sinekler toplandı. Hasta hayvanlara ait kan, ödem sıvısı ve sineklerin süspansiyonlarından izole edilen mikroorganizmaların biyokimyasal özellikleri incelenerek *B. anthracis* olduğu saptandı. İzole edilen mikroorganizmanın biyokimyasal özellikleri Tablo 1'de gösterildi.

**Tablo 1.** İzole edilen Mikroorganizmanın biyokimyasal özellikleri.

**Table 1.** Biochemical specifications of isolated microorganisms

Kazein Hidrolizasyonu	+
Jelatin Hidrolizasyonu	+
% 7 NaCl de üreme	+
Arabinoz	-
Mannitol	-
Ksiloz	-
Glikoz	+
Sakkaroz	+
Trehaloz	+
Maltoz	+
Voges Proskauer	+
Hareket	-
Katalaz	+
Koyun kanlı agarda hemoliz	-

**Patojenite Test Bulguları:** Kültür ve sineklerden hazırlanan süspansiyonlar beyaz farelere deri altı yolla verilmiş ve kırksekiz saat sonunda tümü ölmüştür. Ölen farelerin dalak ve karaciğerlerinde buyyona ve kanlı agara ekim yapılarak identifikasyon çalışmalarında yukarıda açıklanan yöntemler kullanılmıştır. Ölen farelerin dalak ve karaciğerlerinden hazırlanan preparatlar Gram ve Giemsa yöntemleriyle boyanarak kapsüllü anthrax basili görülmüştür.

**Patolojik Bulgular:** Hayvanlar üzerinden toplanan 5 adet sineğin stereo-mikroskopta tek tek yapılan muayenesinde bunların Tabanidae ailesinin Tabanus soyuna ait *Tabanus eggeri* ve *Tabanus regularis* türleri olduğu tespit edilmiştir. Bu sineklerden 4'ünün *Tabanus eggeri* (vücut uzunluğu 19-21 mm, antenlerinin I ve II. segmentlerinin açık kahverengi, palpleri açık kahverengi, basal callus'un tabanı yuvarlak ve median callus ile bitişik), 1'inin ise *Tabanus regularis* (vücut uzunluğu 15 mm, antenlerden III. segment küt, basal callus dikdörtgen şekilli siyah renkte olup, tabanı frontal üçgene bitişik ve median callus ile bitişik) olduğu tespit edilmiştir.

**Antibiyotik Duyarlılık Testi:** Yapılan test sonucunda penisilin en etkili antibiyotik olarak saptanmıştır.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

*Anthrax* hem zoonoz olması ve hem de ekonomik kayıplara neden olmasıyla günümüzde de önemini sürdürmektedir. Birçok araştırmacı koyun, keçi ve sığırlarda oluşan anthrax salgınlarını bildirmişlerdir (22-24). Bulduğumuz bölgede de gerek koyunlarda ve gerekse sığırlarda anthrax olguları gözlenmektedir. Laboratuvarımıza 1998 yılında 25 anthrax vakası ulaşmıştır. Etkenin sporlu olması ve sporların uzun süre canlı kalması yayılmada önemli bir faktördür (1).

Çalışmamızda enfeksiyon kaynağı hakkında bir fikir yürütmek oldukça zordur. Ancak hasta hayvanlar üzerinden toplanan Tabanidae ailesine bağlı sineklerden de etkenin izole ve identifiye edilmesi bulaşmada kan emici sineklerin önemini bir kez daha kanıtlamıştır.

Irak'ta yapılan bir çalışmada çok sayıda eşek, at ve sığırdaki anthrax salgını tespit edilmiş, hayvanlarda Tabanidae'lerin neden olduğu yaralar saptanmış, ancak sineklerden *B. anthracis* izole edilememiştir (16), oysa Afrika'da yapılmış diğer bir çalışmada, anthraxın Tabanidae'ler tarafından taşındığı tespit edilmiştir (7).

Yine Yugoslavya'da Tabanidae türlerinde yapılan bakteri izolasyonu çalışmalarında izole edilen etkenler arasında *B. anthracis* de bulunmaktadır (5).

1974 yılı Haziran ve Temmuz aylarında Texas'da değişik türden 236 hayvanda anthrax salgını saptanmış, bunların içerisinde atlarda ölüm oranı en yüksek olup, % 18.2 olarak tespit edilmiştir (17).

Hastalık ülkemizde hem insanlarda hem de hayvanlarda görülmektedir (24-26). Çalışmamızda Erzincan Kemaliye ilçesine bağlı Kozlupınar ve Yeşilyurt köylerinde ortaya çıkan ve sporadik olarak seyreden anthrax vakalarından bazıları tarafımızdan gözlemlenmiş, klinik bulgular, kültürel yoklamalar, biyokimyasal testler ve patojenite testleri sonucu izole edilen etkenin *B. anthracis* olduğu ortaya konmuştur. Etkenin özellikleri, daha önce bildirilen anthrax olgularından izole edilen *B. anthracis*'in kültürel ve biyokimyasal özelliklerine aynen benzemektedir (19). Antibiyotiklerden penisilin türlerine çok duyarlı olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (16). İzole edilen mikroorganizma ve sinek süspansiyonları beyaz farelere derialtı yolla verildiğinde fareler 48 saat sonunda ölmüşler ve ölen farelerin karaciğer ve dalaklarından etken izole ve identifiye edilmiş, dalak ve karaciğerlerden hazırlanan preparatlarda *B. anthracis*'in tipik kapsüllü görünümü saptanmıştır. Çalışmamıza konu olan vakaların Ağustos ayı içinde oluşması ve hasta hayvanlarda kan emici Tabanusların varlığının tespiti, Tabanusların mevsimsel aktivitelerinin Haziran-Temmuz-Ağustos aylarında olması (11-13) gerçeğiyle uyum göstermektedir.

Tektırmaklılarda enfeksiyonun olduğu durumlarda etkenin kuluçka dönemi dikkate alınarak antibiyotik ve aşı uygulaması, Tabanusların mevsimsel aktivitesi dikkate alınarak sineklerle mücadele önerilebilir.

#### KAYNAKLAR

1. Arda M, Minbay A ve Aydın N: Anthrax. Özel Mikrobiyoloji. Ankara Üniv Basımevi, 377-391, 1982.
2. İmren HY ve Şahal M: Anthrax. Veteriner İç Hastalıkları. Medisan Yay, Ankara, 321-323, 1994.
3. Hakioglu F, Batu A, Sarısayın F, Vural A ve Sina M: Anthrax. Koyun Hastalıkları. *Pendik Vet Kont Arş Enst Yay*, 3, 78-94, 1971.
4. Anonim : Anthrax. Recommended diagnostic techniques and requirements for biological products, Vol:1, 8, 1989.
5. Maretic Z, Zeki R: The effects of gad flies stings in human. Nith International Congress on Tropical Medicine and Malaria. Athens 14-21 October 1973. Volume 1, Abstracts of Invited Papers, 76, 1973.
6. Hayakawa H: Biological studies on *Tabanus iyoensis* group of Japan with, special reference to their blood-sucking habits (Diptera, Tabanidae). *Bull Tohoku Nati Agri Exp Sta*, 62: 131-321, 1980.
7. Bowden J: Weather and the phenology of some African tabanidae. *J Entomo Soc South Africa*, 39: 2, 207-245, 1976.
8. Chvala M, Lyneborg L and Moucha J: The horse flies of Europe (Diptera, Tabanidae). Ent Soc Copenhagen, EW Classey Ltd Hampton, 1-502, 1972.
9. Leclercq M: Systematique des Tabanides (Dipteres), criteres actuels. *Bull Soc Paras*, 7(1): 77-91, 1989.
10. Herms WB: Medical entomology. 4 th ed. The Macmillan Company. New York, 279-299, 308-313, 1956.
11. Leclercq M: Tabanidae (Diptera) de Turquie. Diagnoses d' atylotus hendrixi, haematopota coolsi, haematopota delozin spp, *Bull Reach Argon Gembloux*, NS, 1(3): 463-477, 1966.
12. Leclercq M: Tabanidae (Diptera) de Turquie. II. Diagnoses d' hybomitra okayi, atylotus hendrixi and haematopota hennauxi n spp. *Bull Reach Agron Gembloux*, NS 2(1): 106-127, 1967.
13. Leclercq M: Tabanidae (Diptera) de Turquie. III. *Bull Reach Agron Gembloux*, NS, 2(4): 707-710, 1967.
14. Avcıl F ve Emre MN: Türkiye'de hazırlanan max sterne anthrax aşısı. *Etlik Vet Bak Enst Derg*, 2: 239-249, 1964.
15. Anonim: Animal health 1986. Report of the chief Veterinary officer. V + 137, 1987.
16. Dabbas AHA, Sharma GL: An epizootic of cutaneous anthrax in donkeys, horses and cattle in southern Iraq. *Indian Vet J*, 58(1): 1-9, 1981.
17. Fox MD, Boyce JM, Kaufman AF, Young JB and Whitford HW: An epizootiologic study of anthrax in falls country, Texas. *J Am Vet Med Assoc*, 170(3): 327-333, 1977.
18. Arda M: Genel Bakteriyoloji. Ankara Üniv Vet Fak Yay, 402, 1985.
19. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME and Halt JG: Systematic bacteriology. Williams and Wilkins. Baltimore, Vol:2, 1105-1139, 1984.
20. Mauer AW, Kirby WMM, Sherris MD, Truck M: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *A J Clin Pathol*, 45(4): 493-496, 1966.
21. Erdoğmuş Z: Elazığ ve yöresinde bulunan tabanidae (Diptera) türleri üzerinde araştırmalar. FÜ Sağ Bil Ens Müd Doktora Tezi, 1992.
22. Premkumar DB, Prabhakar TG, Venkatasubba RC and Venkatesan RA: Rapid detection of capsulating virulent anthrax bacilli. *Indian J Anim Sci*, 62: 11, 1011-1014, 1992.
23. Veit HP, McCarthy F, Friedericks J, Cashin M and Angert R: A survey of goat and cattle diseases in the Arribonite Valley, Haiti, West Indies. *Rev D' Elevage Med Vet Rays Tropicaux*. 46: 1-2, 27-38, 1993.
24. Özkan O, Bulu AA, Dörterler R ve Hoştürk F: Kars ve yöresinde önemli salgın ve belirli sendromlarla seyreden hayvan hastalıklarının epidemiyolojisi üzerine araştırma. *Etlik Vet Mik Derg*, 7:4, 115-135, 1993.
25. Aksaray N, Cinas P, Coşkun U, Serbest M, Köksal F: Cutaneous anthrax. *Tropical and Geographical Med*. 42:2 168-171, 1990.
26. Ilgaz A, Özgür Y: Silivri'de rastlanan bir şarbon olgusu. *Türk Mik Cem Derg*, 24:3-4, 184-187, 1994.