



ARAŞTIRMA

F. Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg.
2010; 24 (3): 133 - 136
<http://www.fusabil.org>

Cahit BABÜR¹
Bekir ÇELEBİ¹
Akin KIRBAŞ²
İbrahim BALKAYA³

¹Refik Saydam Hıfzıssıhha
Merkezi Başkanlığı,
Salgın Hastalıklar Araştırma
Müdürlüğü,
Parazitoloji Laboratuvarı,
Ankara, TÜRKİYE

²Atatürk Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
Erzurum, TÜRKİYE

³Atatürk Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Parazitoloji Anabilim Dalı,
Erzurum, TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 28.04.2010
Kabul Tarihi : 30.09.2010

Yazışma Adresi Correspondence

Akin KIRBAŞ
Atatürk Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları
Anabilim Dalı,
Erzurum - TÜRKİYE

akindahiliye55@yahoo.com

Erzurum Yöresi Eşeklerinde *Listeria monocytogenes*'in Seroprevalansı

Bu çalışmanın amacı Erzurum yöresi eşeklerinde *Listeria monocytogenes*'in seroprevalansını belirlemektir. Klinik olarak sağlıklı 92 eşekten elde edilen serum örnekleri *L.monocytogenes* antikorlarına karşı Osebold absorpsiyon testine tabi tutuldu. 92 serum örneğinin 38'i (%41.30) farklı dilüsyonlarda pozitif. Seropozitif serumların 29'u 1/100 (%76.32), 9'u 1/200 (%23.68) sulandırmada pozitif. *L.monocytogenes* seropozitivitesi erkeklerde %38.89 ve dişilerde %42.86 idi. Ayrıca seropozitivite oranları 0-3, 4-7, 8-11 ve 12-15 yaş gruplarında sırasıyla, %34.15, %47.62, %50 ve %33.33 olarak belirlendi. Cinsiyetler arasında istatistiksel olarak önemlilik ($p>0,05$) tespit edilmedi. Ancak yaş grupları arasında istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bir bağ belirlendi.

Sonuçta Osebold absorpsiyon testine göre elde edilen eşeklerdeki listeriosis'in yüksek seroprevalansı (%41.30) dikkate alındığında, bu hayvanların hastalığın potansiyel rezervuarı olabileceği, bu nedenle diğer hayvanlar ve insanlar için de enfeksiyon kaynağı olabileceği kanaati oluştu.

Anahtar kelimeler: Eşek, *listeria monocytogenes*, osebold absorpsiyon testi, seroprevalans.

Seroprevalance of *Listeria monocytogenes* in Donkeys in Erzurum Province

The aim of this study was to determine the seroprevalance of *Listeria monocytogenes* in donkeys in Erzurum province. Sera samples that coming from 92 clinically healthy donkeys were tested against *L.monocytogenes* antibodies with Osebold adsorption test. 38 (41.30%) out of 92 sera were found positive at different dilutions. 29 of 38 (76.32%) sera were found positive at 1/100 dilution, and 9 of 38 (23.68%) were positive at 1/200 dilutions. Seropositivity of *L.monocytogenes* was 38.89% in males and 42.86% in females. And seropositivity rates were 34.15%, 47.62%, 50% and 33.33%, in 0-3, 4-7, 8-11 and 12-15 age groups respectively. There was a statistically insignificant between the sex ($p>0,05$), but an important statistical difference between the age groups were determined ($p<0,01$).

It was concluded that the donkeys could be a potential reservoir of the listeriosis due to high seroprevalance of the infection (41.30%) with was detected by Osebold absorption test, however the donkeys could be and infections source for both human and animals.

Keywords: Donkey, *listeria monocytogenes*, osebold absorption test, seroprevalance.

GİRİŞ

Listeriosis hayvanlarda meningoensefalitis, septisemi, mastitis ve aborta neden olan enfeksiyöz zoonoz bir hastalıktır (1-3). Listeriosis, çoğunlukla ılıman ve soğuk iklimlerde kış ve bahar aylarında görülmektedir (4). *Listeria monocytogenes* gram pozitif, fakültatif ve intraselüler bir bakteridir. Toprakta, dışkıda ve kontamine bitkilerde bulunur. Soğuğa dayanıklı olup dışkı ve kuru toprakta 2 yıl kadar canlı kalabilir. Etkenin çoğalması için en uygun sıcaklık 4–44°C ve en uygun pH 4.5–9.6 aralıklarıdır (3, 5). Evcil hayvanlarda ve insanlarda her yaşta görülebilen hastalık genellikle oral, solunum ve deri yolu ile bulaşmaktadır (3). Ruminantlarda kontamine silajların yenilmesi enfeksiyonun bulaşması için ana kaynak olarak görüldüğünden silaj hastalığı olarak da bilinmektedir (6).

Listeriosis atlarda sporadik olarak ortaya çıkar ve genellikle meningoencefalitis ile karakterizedir. Bunun yanında mandibular ve farengial kaslarda paraliz, yürümede güçlük, iştahsızlık, polidipsi, kilo kaybı, kollaps (7-9), keratokonjunktivitis (10), taylarda ise septisemi gözlenebilir (7, 8, 10). Hayvanlarda klinik bulguların oluşmasını takiben 3-10 gün içinde ölüm gözlenir (7, 9).

Listeriosisin tanısında etken izolasyonu ve identifikasyonu temeldir (9, 11). Bunun yanında etken polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gibi moleküler teknikler (9) ve etkene karşı oluşan antikorlar; aglütinasyon testi, immunopresipitasyon, pasif immunohemolizis, komplement fikzasyon testi (CFT), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ve indirekt fluoresans antikor testi (IFAT) gibi serolojik testlerle belirlenmektedir (9, 11-14).

Ülkemizde sığır (12, 15), koyun (16), keçi (17, 18), köpek (19, 20) ve atlarda (21-24) listeriosis üzerine çeşitli serolojik araştırmalar yapılmasına karşın eşeklerde listeriosis varlığı üzerine geniş kapsamlı serolojik bir çalışma yapılmamıştır.

Bu araştırmada Erzurum yöresinde halk elinde bulunan eşeklerde *L.monocytogenes*'in seroprevalansının Osebold adsorbsiyon testi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmanın materyali Erzurum ilinin Merkez, Ilıca ve Pasınler ilçelerinde halk elinde bulunan yaşları 6 aylık ile 15 yaş arasında değişen 36 erkek, 56 dişi toplam 92 eşekten elde edildi. Serolojik muayeneler için hayvanların vena jugularislerinden 10 ml'lik vakumlu tüplere kan alındı. Laboratuara getirilen kan örnekleri 1 saat oda ısısında bekletildikten sonra 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri analizleri yapılana kadar -20°C'de muhafaza edildi.

Etik kurul onayı, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Karar No: 2009/5/52).

Listeria monocytogenes'e karşı oluşan antikor titreleri modifiye Osebold testi ile belirlendi (13). Test antijenleri Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı (RSHM) Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü Laboratuvarında hazırlanarak, Osebold yönteminde kullanıldı. Ölçüm, üç aşamalı olarak yapıldı. Birinci aşamada, *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) suşundan tüm hücre antijenleri hazırlandı. İkinci aşamada, *L.monocytogenes* 1/2a, 1/2b, 4b, 4c ve 4d suşlarından antijenler hazırlanarak aynı süspansiyon içerisinde kombine edildi. Son aşamada, *S. aureus* antijeni ile serum örneklerinin adsorbsiyon işleminden sonra aglütinasyon testi gerçekleştirildi.

Osebold Aglütinasyon testi (OAT) sonuçlarına göre, $\geq 1/100$ titreler pozitif olarak kabul edildi.

İstatistikî hesaplamalarda Kruskal Wallis testi (SPSS 11,5 Windows Microsoft) kullanılarak cinsiyet grupları arasındaki ve yaş grupları arasındaki önemlilik belirlendi.

Bulgular

Araştırmada kullanılan 92 eşek serumunun OAT sonuçlarına göre 38'i seropozitif (%41.30), 54'ü seronegatif (%58.70) olarak belirlendi. Sonuçlar, cinsiyet ve yaş gruplarına göre Tablo1 ve Tablo 2'de sunuldu.

Tablo1. Eşeklerde OAT ile saptanan *L.monocytogenes* seropozitifliğinin cinsiyete göre dağılımı.

Cinsiyet	Eşek Sayısı	Negatif Sayısı	Pozitif Sayısı	(%)	Seropozitiflik		Titreleri	
					1/100	1/200	1/100	1/200
Dişi	56	32	24	42,86	15	9		
Erkek	36	22	14	38,89	14	-		
Toplam	92	54	38	41,30	29	9		

Pozitif ve negatif değerler istatistiksel açıdan cinsiyete bağımlı değildir ($p>0.05$)

Tablo 2. Eşeklerde OAT ile saptanan *L.monocytogenes* seropozitifliğinin yaş gruplarına göre dağılımı.

Yaş Grupları	Eşek Sayısı	Negatif Sayısı	Pozitif Sayısı	(%)	Seropozitiflik		Titreleri	
					1/100	1/200	1/100	1/200
0-3	41	27	14	34,15	10	3		
4-7	42	22	20	47,62	15	6		
8-11	6	3	3	50	3	-		
12-15	3	2	1	33,33	1	-		
Toplam	92	54	38	41,30	29	9		

Yaş grupları arasındaki bağ istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$)

Tartışma

Bu araştırmada Erzurum yöresinde halk elinde çeşitli amaçlarla kullanılan eşeklerde *L.monocytogenes* antikorlarının varlığı araştırıldı.

L.monocytogenes infeksiyonunun aktif döneminde hastalığın kesin teşhisini koymak için aglütinasyon, CFT, immunopresipitasyon ve pasif immunohemolysis testlerinden yararlanıldığı bildirilmektedir (9, 11-14). Fakat bu testlerin, infeksiyonun teşhisinde güvenilir olmadığı bunun nedeninin ise; *L. monocytogenes*'in farklı serotipleri ve bazı gram pozitif ve gram negatif (*S.aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Corynebacterium pyogenes*, *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli* K8) bakteriler arasındaki ortak antijenik yakınlıktan dolayı yanlış pozitif

sonuçların oluşmasına neden olabilmektedir. Osebold ve ark. (13) geliştirmiş oldukları aglütinasyon testinde, *L.monocytogenes* 'O' antikorlarının tespitinde, serum örnekleri *S. aureus* tüm hücre antijenleri ile muamele edilerek *S. aureus*'a karşı oluşan antikorlar elimine edilmektedir. Buna ilaveten *L.monocytogenes* tripsin uygulanarak gerek kimyasal gerekse antijenik yapısı korunarak testin duyarlılığı artırılmış ve çapraz reaksiyonların önüne geçilmiştir. Hastalığın seroprevalansının belirlenmesinde, çapraz reaksiyonların önlenmesiyle elde edilen aglütinasyon sonuçlarına dayanan Osebold yöntemi güvenle kullanılabilir (13,15-21, 23, 24). Çalışmamızda da serumlar, bu yöntem kullanılarak *L.monocytogenes* 'O' antikorları yönünden test edilmiştir.

Zoonoz bir hastalık olan listeriosis bulaşma ve yayılmasında hasta hayvanlar ve portörlerin gaita, idrar, süt, burun ve göz akıntıları, aborte fötüs, uterus akıntıları, kontamine silaj ve insektler rol oynamaktadırlar (1, 9).

Börkü ve arkadaşları (18), Ankara'da ticari bir işletmede bulunan 50 keçi, 3 at, 1 köpek ve bu hayvanların bakıcısı olan 6 kişinin kan örneklerinde *L. monocytogenes* antikorlarının varlığı yönünden yaptıkları araştırmada 50 keçinin 23'ünde, atların tamamında ve köpekte seropozitiflik saptamışlardır. Hayvan bakıcısı olan 6 kişinin 5'inde de seropozitif sonuç elde etmişlerdir. Halk elinde çeşitli amaçlarla kullanılan eşeklerde yapılmış olan bu çalışmada ise elde edilen %41.30'luk seropozitiflik, bölgedeki diğer çiftlik hayvanlarının ve bakıcılarının risk altında olduğunu göstermektedir.

Low ve Donachie (9), *L. monocytogenes* tarafından oluşturulan listeriosis, ılıman ve soğuk iklimlerde görülen bir enfeksiyon olduğunu belirtmektedirler. Erzurum ikliminin soğuk olması bu anlamda Low ve Donachie (9)'yi destekler niteliktedir.

Literatür taramalarında ülkemizde eşeklerde listeriosis varlığı üzerine yapılan yalnızca bir serolojik çalışma ile karşılaşıldı. Bu çalışmada İnci ve ark. (21), Kayseri yöresinde tek tırnaklı hayvanlardan topladıkları 120 serum örneğinden 67 atın 27'sinde (%40.29), 20 katırın 3'ünde (%15) ve 30 eşeğin 10'unda (%30.30) toplamda 120 tek tırnaklı hayvanın 40'ında (%33.33) pozitiflik belirlemişlerdir. Bunların 15'inde (%37.50) 1/50, 17'sinde (%42.50) 1/100, 5'inde (%12.50) 1/200 ve 3'ünde (%7.50) 1/400 sulandırmada *L.monocytogenes* antikorunu tespit edilmiştir. Çalışmamızda 92 eşek serumunun 38'inde (%41.30) antikor pozitifliği belirlendi. Seropozitif serumların antikor titreleri incelendiğinde, 29'u (%76.32) 1/100, 9'u (%23.68) 1/200 titrede *L.monocytogenes* antikorları yönünden pozitif olarak tespit edildi. Kayseri yöresi (21) eşeklerine (%30.30) göre Erzurum yöresinde seroprevalans yüksek oranda tespit edildi.

Bunun yanında ülkemizin çeşitli yörelerinde atlarda da serolojik çalışmalar yapılmıştır (22-24).

Solmaz ve ark. (22), Van yöresinde tüp aglütinasyon testi ile 203 atın 176'sında (%86.69), Güçlü ve ark. (23), Ankara yöresinde Osebold testi ile sportif amaçlı yetiştirilen atlardan elde edilen 100 serumun 62'sinde

(%62), Göz ve ark. (24), aynı metotla Hakkâri yöresinde 74 atın 36'sında (%48.6) antikor pozitifliği saptamıştır.

Çalışmada belirlenen seropozitiflik, Van (22), Ankara (23) ve Hakkâri (24) yörelerinde atlarda tespit edilen sonuçlardan düşük olarak tespit edildi. Ankara (23) ve Hakkâri (24) yörelerinde de aynı metot kullanılmasına rağmen sunulan çalışmada elde edilen antikor pozitifliği düşük bulundu. Solmaz ve arkadaşlarının (22) kullandığı tüp aglütinasyon testinin duyarlılığının daha yüksek olması, çalışma sonuçlarının daha düşük bulunmasına sebep olan bir faktör olarak değerlendirilebilir.

Van (22), Ankara (23), Hakkâri (24) ve Kayseri'de (21) yapılan çalışmalarda olduğu gibi Erzurum'da yapılan bu çalışmada da pozitif sonuçların bulunması ve hastalığın zoonoz özelliğe olması, hem Erzurum'da hem de diğer illerde konuyla ilgili kapsamlı araştırmaların yapılmasının veteriner hekimlik ve halk sağlığı yönünden gerekli olduğunu göstermektedir.

Low ve Donachie (9), listeriosis genellikle genç hayvanlarda görüldüğünü belirtmektedirler. Low ve Donachie' nin (9) belirttiğiyle uyumlu olarak *L.monocytogenes* yönünden seropozitif bulunan eşeklerin küçük yaş grubundakilerde daha yüksek olduğu belirlendi. Göz ve ark. (24) tarafından Hakkâri yöresinde atlarda yapılan çalışmada yaş grupları arasında istatistikî bir fark saptanmamıştır. Ancak sunulan çalışmada hastalığın yaşa göre dağılımında istatistiksel olarak önemli bir bağ ($p<0,01$) tespit edildi (Tablo 2).

Sonuçlar cinsiyete göre değerlendirildiğinde listeria seropozitifliği dişi eşeklerde (%42.86) erkeklere (%38.89) göre yüzdesel olarak daha yüksek saptandı. Ancak cinsiyetler arasında istatistiksel olarak önemli bir bağ ($p>0,05$) belirlenmedi (Tablo1). Göz ve arkadaşlarının (24) Hakkâri yöresinde atlarda yaptığı çalışmada da cinsiyet grupları arasında istatistikî bir fark saptanmamıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada Erzurum yöresi eşeklerinde listeriosis seroprevalansı %41.30 olarak tespit edildi. Seroprevalansın yüksek bulunması hastalığın insan ve hayvanlara bulaşmasında eşeklerin önemli bir role sahip olacağını düşündürdü. Bundan dolayı enfeksiyonun Veteriner Hekimler, halk sağlığı yetkilileri ve hayvan sahipleri tarafından dikkate alınması gerektiği kanaatine varıldı.

Kaynaklar

1. Gray ML, Killinger AH. *Listeria monocytogenes* and listeric infections. *Bacteriol Rev* 1966; 30: 309-382.
2. Khan CM. Listeriosis. In: Khan CM (Editor). *Merck Veterinary Manual*. 9th Edition, Philadelphia: National Publishing Inc, 2005: 531-533.
3. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Veterinary Medicine. A text book of the diseases of cattle, sheep, goat, pigs and horses*. 10th Edition, Edinburgh: Saunders, 2007: 805-810.
4. Kimberling CV. Diseases of the central nervous system. In Jensen R, Swift BL (Editors). *Diseases of Sheep*, 3rd Edition, Philadelphia: Lea and Febiger, 1988:195-199.
5. Vazquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 584-640.
6. Unnerstad H, Romell A, Ericsson H, Danielsson-Tham ML, Tham W. *Listeria monocytogenes* in faeces from clinically healthy dairy cows in Sweden. *Acta Vet Scand* 2000; 41: 167-171.
7. Pirs T, Zdovc I, Gombac M, et al. *Listeria monocytogenes* septicaemia in a foal. *Slov Vet Res* 2005; 42: 49-53.
8. Wilkins PA, Marsh PS, Acland H, Del Piero F. *Listeria monocytogenes* septicemia in a thoroughbred foal. *J Vet Diagn Invest* 2000; 12: 173-176.

9. Low JC, Donachie W. A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *Vet J* 1997; 153: 9-29.
10. Evans K, Smith M, McDonough P, Wiedmann M. Eye infections due to *Listeria monocytogenes* in three cows and one horse. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16: 464-469.
11. Low JC, Davies RC, Donachie W. Purification of listeriolysin-O and development of an immunoassay for diagnosis of listeric infections in sheep. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 2705-2708.
12. Erdoğan HM, Gökçe, G, Gökçe Hİ, ve ark. Kars yöresindeki sığırlarda *Listeria monocytogenes* enfeksiyonlarının ELISA yöntemi ile araştırılması. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 1999; 5: 43-46.
13. Osebold JW, Aalund O, Crisp CE. Chemical and immunological composition of surface structures of *Listeria monocytogenes*. *J Bacteriol* 1965; 89: 84-88.
14. Osebold JW, Aalund O. Interpretation of serum agglutinating antibodies to *Listeria monocytogenes* by immunoglobulin differentiation. *J Infect Dis* 1968; 118: 139-148.
15. Kennerman E, Babür C, Kılıç S. Determination of seroprevalence of *Listeria monocytogenes* antibodies in cattle in Bursa Province of Turkey. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Derg* 2005; 24: 95-98.
16. Gazyağcı S, Yıldırım M, Babür C, Kılıç S. Ankara Yöresindeki Koç ve Koyunlarda *Listeria monocytogenes*'e Karşı Oluşan Antikorların Varlığının Araştırılması. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2009; 15: 975-977.
17. Karaca M, Babür C, Çelebi B, ve ark. Investigation on the seroprevalence of Toxoplasmosis, Listeriosis and Brucellosis Goats living in the region of Van; Turkey. *YYÜ Vet Fak Derg* 2007; 18: 45-49.
18. Börkür MK, Ural K, Gazyağcı S ve ark. Serological detection of listeriosis at a farm. *Turk J Vet Anim Sci* 2006; 30: 279-282.
19. Babür C, Atlas MG, Çelebi B, ve ark. Şanlıurfa Yöresi Sokak Köpeklerinde Toxoplazmosis, Leishmaniasis ve Listeriosis'in Seroprevalansı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Derg* 2007; 64: 11-16.
20. İçen H, Babür C, Bademkiran S, ve ark. Diyarbakır Bölgesindeki Sahipsiz Köpeklerde Toxoplazmosis, Leishmaniasis ve Listeriozisin Seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Derg* 2010; 34: 6-10.
21. İnci A, Babür C, Aydın N, Çam Y. Kayseri yöresinde tek tırnaklılarda (at, eşek, ve katır) *Toxoplasma gondii* (Nicolle ve Manceaux, 1908) ve *Listeria monocytogenes*'in seroprevalansı üzerine araştırmalar. *F Ü Sağ Bil Derg* 2002; 16: 181-185.
22. Solmaz H, Akkan HA, Tütüncü M, ve ark. Van yöresinde Atlarda Listeriosis'in Seroprevalansı. *YYÜ Vet Fak Derg* 2002; 13: 62-63.
23. Güçlü HZ, Karaer KZ, Babür C, Kılıç S. The Seroprevalence of *Listeria monocytogenes* in Sport Horses Bred in Ankara Province. *Turk J Vet Anim Sci* 2007; 31: 271-273.
24. Göz Y, Babür C, Aydın A, Kılıç S. Seroprevalence of toxoplasmosis, brucellosis and listeriosis in horses in Hakkari, eastern region of Turkey. *Rev Med Vet* 2007; 158: 534-539.