

Kars ve Ankara yöresine ait köpeklerde *Francisella tularensis* antikorlarının araştırılması

Investigation of *Francisella tularensis* antibodies in dogs in Kars and Ankara Region

Fatih BÜYÜK¹, Mitat ŞAHİN¹, Özgür ÇELEBİ¹, Neriman MOR², Bekir ÇELEBİ³

ÖZET

Amaç: Tularemi, *Francisella tularensis* tarafından oluşturulan memeliler, kuşlar ve böcekler dahil birçok hayvan türünü etkileyen geniş konak çeşitliliğine sahip zoonotik bir hastalıktır. Tularemi için küçük kemiriciler doğal konakçı; kan emen ektoparazitler ise en önemli vektörlerdir. Evcil hayvanlar içerisinde tularemiye en duyarlı tür koyunlardır. Köpekler ise gerek bakteriyi taşımakla rezervuar olarak gerekse kenelere konakçılık yaparak tulareminin epidemiyolojisinde önemli rol oynarlar. Bu çalışmada; Kars Yöresine ait çoban köpekleri ve Ankara Yöresine ait pet köpeklerinde *F. tularensis* antikorlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Kars Yöresine ait 171 çoban köpeği ve Ankara yöresine ait 99 pet köpeğinin kan serum örneği *F. tularensis* antikorları yönünden mikroaglutinasyon testi (MAT) ile incelenmiştir. Test antijeni olarak %0,005 safranin-O içeren *F. tularensis* antijeni kullanılmıştır. MAT ile 1/80 ve üzeri antikor titresi tanısal titre olarak dikkate alınmıştır.

Bulgular: Çoban köpeklerinin dokuz (%5,3)'ü ve pet köpeklerinin iki (%2,0)'ü olmak üzere toplamda 11 (%4,1) köpekte 1/80 ve üzeri titrede *F. tularensis* antikoru saptanmıştır. Bu serum örnekleri *Brucella canis* antijeni ile incelenerek brusellozis yönünden negatif oldukları belirlenmiştir. Çoban köpekleri ve pet köpeklerinde *F. tularensis* antikorlarının görülme sıklığı arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

ABSTRACT

Objective: Tularemia, is a zoonotic disease with a wide variety of hosts caused by *Francisella tularensis*, that affects many animal species including mammals, birds and insects. Small rodents are the natural hosts, and blood-sucking ectoparasites are the most important vectors. Sheep are the most susceptible species to tularemia in domestic animals. Dogs play an important role in the epidemiology of tularemia, both as a reservoir carrying of the bacteria and as a host of ticks. In this study it was aimed to investigate of *F. tularensis* antibodies in sheepdog from the Kars region and pet dog from the Ankara region.

Method: One hundred seventy one sheepdog blood serum samples from Kars region and 99 pet dog blood serum samples from Ankara region were examined in terms of *F. tularensis* antibodies with microagglutination test (MAT). *F. tularensis* antigen containing 0.005% safranin-O was used as the test antigen. Antibody titer of 1/80 or higher was considered as diagnostic titer with MAT.

Results: *F. tularensis* antibody titers were found as 1/80 and above in total of 11 (4.07%) dogs including 9 (5.3%) sheepdogs and 2 (2.0%) pet dogs. These serum samples were examined with *Brucella canis* antigen and were found negative for brucellosis. The difference of *F. tularensis* antibodies incidence between sheepdogs and pet dogs was found statistically insignificant ($p>0.05$).

¹Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KARS

²Kafkas Üniversitesi, Kars Sağlık Yüksekokulu, KARS

³Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ulusal Tularemi Referans Laboratuvarı, ANKARA

İletişim / Corresponding Author : Fatih BÜYÜK

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KARS

Tel : +90 474 242 68 07

E-posta / E-mail : fatihbyk08@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 29.11.2011

Kabul Tarihi / Accepted : 01.04.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2012.81488

Büyük F, Şahin M, Çelebi Ö, Mor N, Çelebi B. Kars ve Ankara Yöresine ait köpeklerde *Francisella tularensis* antikorlarının araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69(2): 83-8.

Sonuç: Tulareminin insanlara bulaşmasında köpeklerin rol oynayabileceği, hastalığın epidemiyolojisinin aydınlatılmasına yönelik bu tür çalışmaların yarar sağlayacağı ve sayılarının artırılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Francisella tularensis*, tularemi, köpek, mikroagglütinasyon testi (MAT)

Conclusion: It was concluded that dogs may play a role at transmission of tularaemia to people, such studies would benefit for the elucidation of the epidemiology of the disease and should be increased of the number of them.

Key Words: *Francisella tularensis*, tularemia, dog, microagglutination test (MAT)

GİRİŞ

Tularemi, *Francisella tularensis* tarafından oluşturulan zoonotik bir enfeksiyon hastalığıdır (1, 2). *F. tularensis*, doğada oldukça yaygındır ve 300'den fazla hayvan türünden izole edilmiştir. Yabani tavşan, sincap, tarla faresi, su sıçanı ve kunduz gibi küçük kemirici hayvanlar bakterinin doğal rezervuarları olarak kabul edilmektedir. Keneler ise bakterinin doğadaki devamlılığı ve insanlara bulaştırılmasında en önemli vektörlerdir (3, 4).

Evcil hayvanlar içerisinde tularemiye en duyarlı tür koyunlardır. Son dönemlerde kedilerde bazı olgular bildirilmiş ve insanlar için enfeksiyon kaynağı olarak önem kazanmıştır (5, 6). Köpekler, gerek bakteriyi taşımakla rezervuar olarak gerekse kenelere konakçılık yaparak tulareminin epidemiyolojisinde rol oynayabilirler (7, 8). Hayvanlarda tularemi tanısında etkenin izolasyonu, genetik materyalinin gösterilmesi ve serolojik teknikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Duyarlı hayvanlarda enfeksiyonun başlangıç döneminde özgün antikorlar şekillenmeden serolojik tekniklerin duyarlılığı sınırlıdır. Fakat bu testler; sığır, domuz ve köpek gibi daha dirençli hayvanlarda enfeksiyonun retrospektif olarak doğrulanmasında yararlıdır. Sonuçlar değerlendirilirken *F. tularensis* ile *Brucella*, *Yersinia* ve *Salmonella* türleri arasındaki çapraz reaksiyon olabileceği göz önünde tutulmalıdır (1, 9).

Ülkemizde; evcil hayvanlarda tularemi prevalansına yönelik çok az sayıda veri bulunmaktadır.

Bu çalışmada; değişik yörelere ait kullanım amaçları, bakım ve beslenme alışkanlıkları farklı köpeklerde *F. tularensis* antikorlarının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada; örnekleme 2008-2010 yılları arasında yapılmış ve köpek popülasyonunun yoğunluğu dikkate alınarak çoban köpekleri için Kars ve pet köpekleri için Ankara Yöreleri seçilmiştir. Rastgele örnekleminin yapıldığı ve ergin köpeklerin seçildiği çalışmada, Kars Yöresine ait 12 farklı köyde bulunan 171 çoban köpeği ile Ankara Yöresine ait 99 pet köpeğinin kan serum örnekleri *F. tularensis* antikorları yönünden mikroagglütinasyon testi (MAT) ile incelenmiştir (Tablo 1). Köpeklerden alınan kan örnekleri santrifüj edilerek elde edilen serumlar kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır.

Mikroagglütinasyon Testi (MAT)

F. tularensis antikorlarının araştırıldığı MAT, U-tabanlı plastik mikroyeytlerde yapılmıştır. Serum örneklerinin pleytlerde MA tampon solüsyonu (%1 tavşan serumu ve %0,4 formaldehit içeren fosfat tampon solüsyonu) ile iki katlı dilüsyonları yapılmıştır. Daha sonra eşit hacimde safranin-O ile boyanmış, *F. tularensis* antijeni eklenerek serumların 1/10 ile 1/640 arası son dilüsyonları hazırlanmıştır. Pleytler hafifçe çalkalandıktan sonra 37 °C'de 4 saat ve sonrasında +4 °C'de bir gece bekletilmiştir.

MA testinde $\geq 1/80$ antikor titresi tanısal titre olarak kabul edilmiştir (10, 11).

Köpek türlerinde *F. tularensis* antikorlarının görülme oranları yüzde (%) olarak ifade edilmiş ve türler arası istatistiksel değerlendirme ki-kare testi ile yapılmıştır.

Tablo 1. Serum örneklerinin ve *F. tularensis* seropozitif köpeklerin odaklara göre dağılımı

| Odak | İncelenen örnek sayısı | Seropozitif örnek sayısı | |
|---------------|------------------------|--------------------------|----------|
| | | 1/80 | 1/160 |
| Ankara | 99 | 2 | - |
| Kars | 171 | 8 | 1 |
| Alaca | 15 | - | - |
| Aynalı | 22 | 1 | - |
| Azat | 15 | - | - |
| Bulanık | 14 | - | - |
| B. Boğatepe | 6 | - | - |
| Cumhuriyet | 11 | - | 1 |
| Çakmak | 12 | 1 | - |
| Halefoğlu | 13 | 2 | - |
| Hapanlı | 15 | 3 | - |
| Mezra | 20 | - | - |
| Ocaklı | 15 | 1 | - |
| Yücelen | 13 | - | - |
| Toplam | 270 | 10 | 1 |

Tablo 2. Köpek türlerine göre *F. tularensis* MAT sonuçları

| Köpek Türü | Mikroaglutinasyon testi | | | | |
|---------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|
| | Negatif | | | Pozitif | |
| | 1/10 | 1/20 | 1/40 | 1/80 | 1/160 |
| Çoban köpeği | 31 | 26 | 17 | 8 | 1 |
| Pet köpeği | 15 | 4 | 5 | 2 | - |
| Toplam | 46 | 30 | 22 | 10 | 1 |

BULGULAR

Serolojik analiz sonucu Kars yöresine ait 171 çoban köpeğinin dokuz (%5,3)'ü ve Ankara yöresine ait 99 pet köpeğinin iki (%2,0)'si olmak üzere toplam 270 köpeğinin 11 (%4,1)'inde $\geq 1/80$ titrelerde *F. tularensis* antikoru saptanmıştır. Bu pozitifler içerisinde 1/160 oranında antikor titresine sahip Kars Yöresi Cumhuriyet Köyü'ne ait bir adet çoban köpeği hariç diğerlerinin tümünde 1/80 titrede antikor saptanmıştır (Tablo 1 ve 2).

Çoban köpeklerinin 88 (%51,5)'i ve pet köpeklerinin 73 (%73,7)'ü *F. tularensis* antijeni ile reaksiyon vermezken, 74 (%43,3) çoban köpeği ve 24 (%24,2) pet köpeğinde 1/40 ve daha düşük titrede antikor saptanmıştır (Tablo 2).

Pozitif saptanan serum örnekleri Pendik Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen *Brucella canis* antijeni ile incelenerek brusellozis yönünden negatif oldukları belirlenmiş ve böylece çapraz reaksiyon nedeniyle oluşabilecek yanlış pozitiflik önlenmiştir.

F. tularensis antikorlarının görülme sıklığı bakımından çoban köpekleri ile pet köpekleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

TARTIŞMA

Tularemi; doğal olarak tavşangiller, kemirgenler ve kunduzlarda ortaya çıkan bakteriyel bir hastalıktır (12, 13). Koyun, keçi, sığır gibi çiftlik hayvanları ve kedi, köpek, at gibi diğer evcil hayvanlar rastlantısal konaklardır (14, 15). Zoonoz karakterde olan tularemide insan olguları genellikle yabani hayvanların hastalıklarına paralellik göstermektedir (16). Etken, kontamine gıda ve suların tüketilmesi, enfekte yabani hayvanlar, kemirgenler, kene ve diğer vertebrasızlarla direkt temas veya enfekte aerosollerin inhalasyonu ile insanlara bulaşır (1, 3). Kedi ve köpekler etkeni veya vektörlerini taşıyarak hastalığın epidemiyolojisinde rol oynarlar (8, 17). Literatürde kedi ve köpeklerin enfeksiyon kaynağı olduğu az sayıda insan tularemi

vakası belirlenmiştir (18-20). Fakat son dönemlerde kediler insan epidemileri için enfeksiyon kaynağı olarak önem kazanmıştır (5, 6, 19).

Tularemiye duyarlı hayvanlar genellikle *F. tularensis* antikorları şekillenmeden ölmektedir. Fakat sığır, köpek ve domuz gibi daha dirençli olan türlerde antikorlar saptanabilecek düzeydedir ve bunların saptanmasında özellikle aglütinasyon (MAT ve tüp aglütinasyon testi) teknikleri olmak üzere ELISA yöntemi de yaygın şekilde kullanılmaktadır (21, 22). Köpeklerde doğal enfeksiyonun gelişimine ve az sayıda insan olgusunda bulaşmaya yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (23-25). Gustafson ve De Bowes (23) bir Alman çoban köpeğinde üç haftalık bir süre içerisinde *F. tularensis*'e karşı antikor titresinde dört kattan fazla artışı belirlemişlerdir. McKeever ve ark. (24); köpekler üzerinde yapılan iki serolojik araştırmada %48 ve %62 oranında $\geq 1/40$ titrelerde *F. tularensis* antikoru tespit etmişlerdir. Meinkoth ve ark. (25) ise bir İrlanda av köpeğinin lenf nodülü aspiratından *F. tularensis* izolasyonunun yanı sıra hastalığı takiben 4-10. haftalar arasında *F. tularensis* antikoru saptamışlardır. Av köpeklerinin yetiştirildiği ve ticari olarak satışının yapıldığı Bratislava'da Gurycová ve Kopcok (8) tarafından yapılan bir çalışmada da köpeklerde *F. tularensis*'e karşı %16,4 oranında seropozitiflik saptanmıştır.

Ülkemizde ise değişik coğrafik bölgelerde ve değişik zaman dilimlerinde insanlarda çok sayıda tularemi olgusu bildirilmiş ve bunların tümü su kaynaklı epidemiler olarak kayıtlara geçmiştir (26). Ankara (26) ve Kars (27) Yörelerinde, insanlarda tularemi epidemileri bildirilmesine rağmen evcil hayvanlarda bu hastalığın varlığı ile ilgili veriler sınırlı sayıda (28). Bu yörelerde köpeklerde tulareminin araştırılmasına yönelik çalışma ise bulunmamaktadır.

Bu çalışmada; 171 çoban köpeğinin 9(%5,3)'u ve 99 pet köpeğinin 2 (%2,0)'si olmak üzere toplam 11 (%4,1) köpekte 1/80 ve üzeri titrede antikor saptanmıştır.

Çalışılan bölgelerin ve hayvan türlerinin farklı olması nedeniyle diğer çalışmalardan (8, 24) farklı sonuçlar elde edilmiştir. *F. tularensis* antikorlarının varlığı bakımından köpek türleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Fakat çoban köpeklerinde *F. tularensis* antikoru yüzde olarak daha fazla saptanmıştır. Bu durumun çoban köpeklerinin doğal ortamla ilişkilerinin fazla olmasından ve tulareminin primer konağı tavşan ve vektörü kenelerle daha sık karşılaşma olasılığından kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Odaklar arası farklılıkların ise bazı köylerin ormanlık alanlara dolayısıyla yaban hayatına yakın olması gibi coğrafik yapıya bağlıdır. Ayrıca köpeklerin ve sığır veya tularemiye duyarlı evcil hayvanlar arasında ilk sırada yer alan koyun sürülerinde kullanılması, bazılarının koyun veya sığır sürüleri ile serbest dolaşma imkanlarının olması ve özellikle tavşan başta olmak üzere av için kullanımlarına bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Pet köpeklerinde antikor saptanmasının beslenme ve barınma koşullarındaki eksikliklerden kaynaklandığı düşünülmekte ve etkenin insanların evinin içine girebilecek kadar yaklaşması endişe verici bir durum olarak görülmektedir.

Sonuç olarak; bu çalışma ile Kars ve Ankara yörelerinde köpeklerde ilk kez *F. tularensis* antikorları araştırılmış ve kullanım amaçları, bakım ve beslenme alışkanlıkları farklı olan bu köpeklerin değişik oranlarda antikor taşıdıkları belirlenmiştir. Bu bulgular özellikle Kars gibi yoğun hayvan popülasyonuna sahip yörelerde sürü idaresinde kullanılan çoban köpekleri ve Ankara gibi metropolitan şehirlerde bakım ve beslemesi yapılan pet köpeklerinin tulareminin ekolojisinde ve insanlara bulaşmasında rollerinin olabileceğini düşündürmüş, hastalığın epidemiyolojisinin aydınlatılmasına yönelik bu tür çalışmaların yarar sağlayacağı ve sayılarının artırılması gerektiği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Ellis J, Oyston PC, Green M, Titball RW. Tularemia. *Clin Microbiol Rev*, 2002; 15: 631-46.
2. Foley JE, Nieto NC. Tularemia. *Vet Microbiol*, 2010; 140: 332-8.
3. World Health Organization (WHO). Guidelines on Tularaemia. http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_EPR_2007_7.pdf. (Erişim: 26 Kasım 2011).
4. Friend M. Tularemia, Circular 1297. Reston, VA: US Geological Survey Publications, 2006.
5. Miller LD, Montgomery EL. Human tularemia transmitted by bite of cat. *J Am Vet Med Assoc*, 1957; 130: 314.
6. Woods JP, Panciera RJ, Morton RJ, Lehenbauer TW. Feline tularemia: Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, 1998; 20: 442.
7. Caihoun EL, Mohb CO, Alfobd HI. Dogs and other mammals as hosts of tularemia and of vector ticks in Arkansas. *Am J Hyg*, 1956; 63: 127-35.
8. Gurycová D, Kopcok M. Surveillance of *Francisella tularensis* infection in dogs in Bratislava. *Vet Med (Praha)*, 1992; 37: 169-76.
9. Spletstoeser WD, Tomaso S, Al Dahouk S, Neubauer H, Schuff-Werner P. Diagnostic procedures in Tularemia with special focus on molecular and immunological techniques. *J Vet Med B*, 2005; 52: 249-61.
10. Brown SL, McKinney FT, Klein GC, Jones WL. Evaluation of a safranin-O-stained antigen microagglutination test for *Francisella tularensis* antibodies. *J Clin Microbiol*, 1980; 11: 146-8.
11. Schneider N, Mitchell R, Hardy AV. A rapid slide agglutination test for *Pasteurella tularensis* infection. *Public Health Lab*, 1950-51; 8: 33-5.
12. Hopla CE. The ecology of tularemia. *Adv Vet Sci Comp Med*, 1974; 18: 25-53.
13. Mörner T. The ecology of tularemia. *Rev Sci Tech*, 1992; 11: 1123-30.
14. Gese EM, Schultz RD, Johnson MR, Williams ES, Crabtree RL, Ruff RL. Serological survey for diseases in free-ranging coyotes (*Canis latrans*) in Yellowstone National Park, Wyoming. *J Wildl Dis*, 1997; 33: 47-56.
15. Mörner T, Sandstedt K. A serological survey of antibodies against *Francisella tularensis* in some Swedish mammals. *Nord Vet Med*, 1983; 35: 82-5.
16. Otlu S. Hayvanlarda tularemi araştırmaları ve dünyadaki durum. In: Gürcan Ş. ed. *Francisella tularensis* ve Tularemi, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2009; p. 161-8.
17. Kaufmann AF. Tularemia. In: Greene CE. ed. *Infectious diseases of the dog and cat*, WB Saunders Co, Philadelphia, 1990; p. 628-31.
18. Capellan J, Fong IW. Tularemia from a cat bite: case report and review of feline-associated tularemia. *Clin Infect Dis*, 1993; 16: 472-5.
19. von Schroeder HP, McDougall EP. Ulceroglandular and pulmonary tularemia: a case resulting from a cat bite to the hand. *J Hand Surg*, 1993; 18: 132-4.
20. Siret V, Barataud D, Prat M, Vaillant V, Ansart S, Le Coustumier A, et al. An outbreak of airborne tularaemia in France, August 2004. *Euro Surveill*, 2006; 11: 58-60.
21. Office International Epizootica (OIE). Tularemia. 2009. <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/tularemia.pdf>. (Erişim: 25 Haziran 2011).
22. Bevanger L, Maeland JA, Naess AI. Agglutinins and antibodies to *Francisella tularensis* outer membrane antigens in the early diagnosis of disease during an outbreak of tularemia. *J Clin Microbiol*, 1988; 26: 433-7.
23. Gustafson BW, DeBowes LJ. Tularemia in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc*, 1996; 32: 339-41.
24. McKeever S, Schubert JH, Moody MD, Gorman GW, Chapman JF. Natural occurrence of tularemia in marsupials, carnivores, lagomorphs and large rodents in Southwestern Georgia and Northwestern Florida. *J Infect Dis*, 1958; 103: 120-6.
25. Meinkoth KR, Morton RJ, Meinkoth JH. Naturally occurring tularemia in a dog. *J Am Vet Med Assoc*, 2004; 225: 545-7.
26. Kılıç S. A general overview of *Francisella tularensis* and the epidemiology of tularemia in Turkey. *Flora*, 2010; 15: 37-58.

27. Şahin M, Atabay Hİ, Bıçakçı Z, Ünver A, Otlı S. Outbreaks of tularemia in Turkey. *Kobe J Med Sci*, 2007; 53: 37-42.
28. Şeyda T. Kars bölgesinde koyunlarda tularemi infeksiyonunun insidensis üzerinde serolojik ve kültürel çalışmalar: İlk rapor. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 1996; 2: 49-60.