

TÜRKİYE'DE TAVŞANLARDA ENCEPHALİTOZOON (NOSEMA) CUNICULI
ENFEKSİYONU

Ş.Berkin*

M. M. Kahraman**

Encephalitozoon Cuniculi Infection of Rabbits in Turkey

Summary : *This is the first report of Encephalitozoon (=nosema) cuniculi infection of rabbits in Turkey. It was accidentally encountered in 4 rabbits and characterized by focal granulomas in the brain. The granulomas were in different sizes and characterized by glial cell proliferation and mononuclear cell infiltrations. A central area of necrosis was also seen in some granulomas. Many blood vessels, particularly in areas adjacent to the granulomas showed varying degrees of mononuclear cuffing. The organisms were identified as pseudocysts in the cerebrum and cerebellum of 2 rabbits, and were readily recognised by their reactions to special stains.*

Özet: *Türkiye'de tavşanlarda Encephalitozoon (=nosema) cuniculi enfeksiyonunun ilk saptanmasıdır. Hastalığa 4 tavşanda tesadüfi olarak rastlanmıştır. Bu hayvanların 3'ü aynı laboratuvara aitti. Hastalık merkezi sinir sisteminde fokal granulomlar ile karakterizedir. Granulomları glial hücreler ile mononükleer hücreler oluşturmuştur. Bazı granulomların merkezinde nekroza da rastlanmıştır. Ayrıca, özellikle granulomlar yakınında bulunan damarlar çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonları görülmüştür. Etkenin 2 olayda cerebrum ve cerebellum'da pseudokistler halinde rastlanmıştır. Etkenin boyanma özelliği ile beyinde şekillenen tipik granulomlar hastalığın teşhisini sağlamıştır.*

Giriş

Encephalitozoonosis (=nosematosis) birçok laboratuvar ve evcil hayvanın, özellikle tavşanların bir protozoon hastalığıdır. İlk kez 1922 yılında bilinmeyen etiyojili spontan kronik bir meningoencephalitis olarak tanımlanmıştır(23). Aynı yıl tavşanlarda görülen spontan parolitik hastalıkta beyin, M. spinalis ve diğer organlarda protozoon benzeri mikroorganizmaların görüldüğü kaydedilmiştir(34).

*Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı.

**Araştırma Görevlisi A.Ü. Veteriner Fak. Patoloji Anabilim Dalı.

Mikrosporidian, intrasellüler bir parazit olan bu etken 1923 yılında *Encephalitozoon cuniculi* olarak isimlendirilmiştir(16). Etken üzerinde ilk ayrıntılı açıklama ise 1924 yılında yapılmıştır(17). Sonraki çalışmalarda çeşitli araştırmacılar hastalığın tavşanlarda yaygınlığını vurgulamışlardır (3,6,9-11,14,20,29,32,35).

Encephalitozoonosis tavşanlar dışında fare, sıçan, kobay, hamster, köpek, tilki, kuş ve insanlarda da görülmüştür (2,8,10-13,15,18, 20-22,24,25,27,28,30-33,35). Enfeksiyon çeşitli yollarla nakledilebilmektedir. Tavşanlarda parazitlerin bulaşması muhtemelen idrar ile kontamine gıda maddelerinin sindirim yolu ile alınmasından olmaktadır(3). Hastalığın seyrek olarak solunum yolu ile bulaştığı da kaydedilmiştir(3). Kuşlarda sporlara böbrek tubul ve barsak epitelinde rastlanmış ve bu nedenle hastalığın gaita ve idrarla bulaşabileceği bildirilmiştir(13). Fare, sıçan, tavşan ve köpeklerde konjenital enfeksiyonlar kaydedilmiştir (12,18,24,27). Ayrıca hastalık enfekte dokunun parenteral inokulasyonu ile oluşabileceği gibi (24), kannibalizm yolu ile de geçebilmektedir(31).

Bazı araştırmacılar gerçek transmisyonun, etkenin barsak epitelinde geliştikten sonra şekillenebileceğini kaydetmişlerdir(15). Ancak bu hipotez daha sonra desteklenmemiştir. Cox ve ark. (3) ise sindirim yolu ile alınan sporların mideyi sağlam olarak geçtiğini ve barsaktan hemen dolaşıma aktarılmaları gerektiğini, bunun da olasılıkla bazı fagositik hücrelerle olduğunu kaydetmişlerdir. İlk gelişim siklusunun bu fagositik hücrelerde olmasının mümkün olabileceği, fakat bu konuda kesin bir bilginin bulunmadığı da bildirilmiştir(3). Buna karşılık, monositlerde ve peritoneal makrofajlarda geliştikleri de kaydedilmiştir(26,31). Serbest sporların ve enfekte monositlerin dolaşıma geçmesinden sonra enfeksiyon kan ile akciğer böbrek ve karaciğer gibi duyarlı dokulara ulaşmaktadır(3). *E.cuniculi*'nin vejetatif devresinin böbrek ve beyinde olduğu açıklanmıştır (31).

Hastalık klinik belirti göstermeksizin seyir ettiğinden, özellikle sentral sinir sistemi ile ilgili çalışmalarda sonuçların yanlış değerlendirilmesine neden olmaktadır(11). Önceleri hastalığın teşhis zorluğu nedeni ile deneysel çalışmalarda sağlıklı hayvan kolonisi elde edilmesi güçken, son yıllarda serolojik teşhis, özellikle immunofluorescence ile teşhisin değer kazanması enfeksiyondan arınmış kolonilerin seçilebilmesini sağlamaktadır (1,4,7).

Ülkemizde tavşanlarda bu hastalığın bulunuşuna dair bir kayıta rastlanmamıştır. Bu çalışmada 4 tavşanda rastlanan encephalitozoon enfeksiyonunun histopatolojik tablosu incelenmiştir.

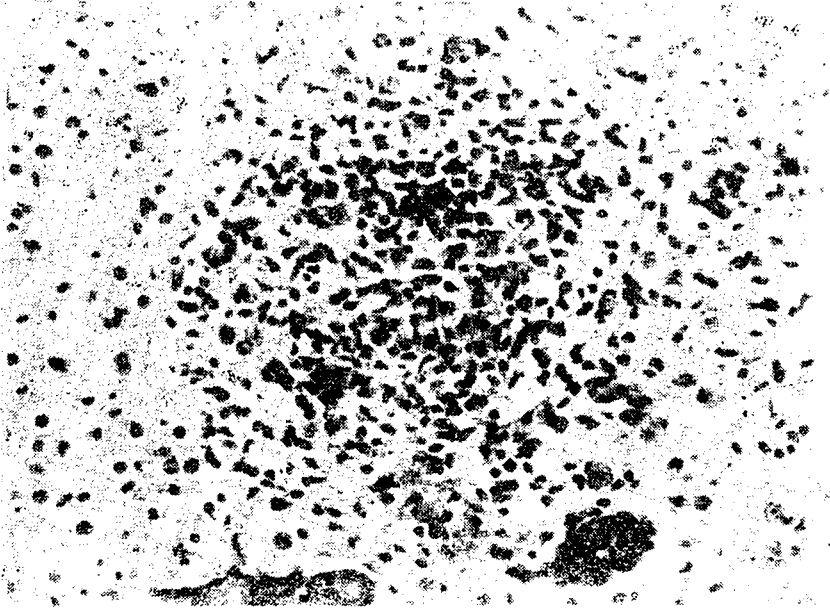
Materyal ve Metod

Materyal 1976 yılında paraliz teşhisi ile hayvan sahibi tarafından Patoloji Bilim Dalına getirilen ölü bir tavşan ile, bu yıl Ankara Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı deney hayvanlarından bir çalışma için alınan ve ani olarak ölen 3 tavşana aittir. Bu tavşanlarda tam otopsi yapılmıştır. Beyin, böbrekler, karaciğer, kalp, akciğer ve mide-barsaklardan alınan örnekler % 10 tamponlu formalin solusyonunda tesbit edilmiştir. Hazırlanan parafin bloklar 5-6 mikron kalınlığında kesilerek hematoxylin-eosin, Giemsa, Brown-Brenn ve Taylor'un gram boyası ve McCallum-Goodpasture gram boyası ile boyanmıştır(19).

Bulgular

Dört hayvanda da makroskopik olarak herhangi bir lezyon görülmemiştir.

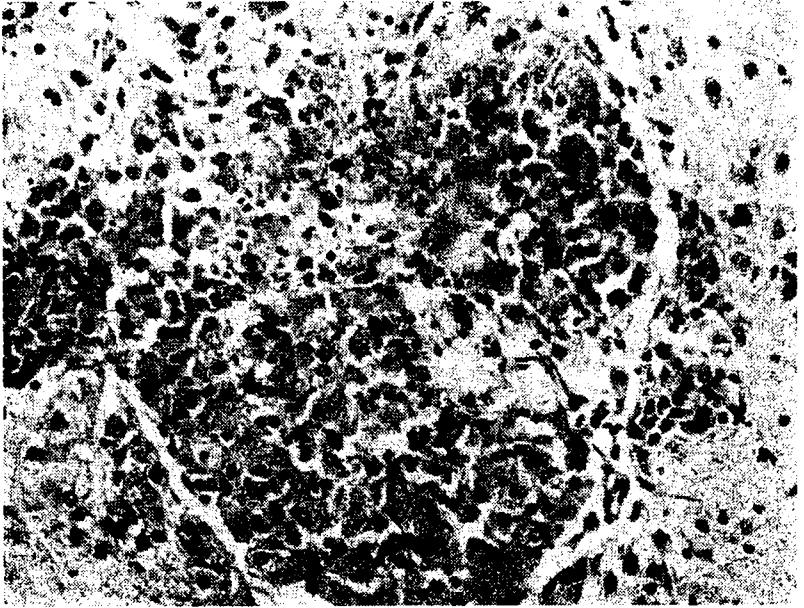
Mikroskopik Bulgular: Lezyonlar cerebrum'un hemen her bölgesinde, ak ve boz maddede farklı büyüklükte dissemine granulo mlar halinde idi. Granulo mları mikroglial hücreler ile yaygın mononükleer hücreler oluşturmuştur (Şekil. 1,2). Bazı



Şekil 1. Tavşanda encephalitozoonosis. Cerebrum'da glial hücrelerle, yaygın mononükleer hücreleri içeren tipik bir granulom. H.E. X 750

(Encephalitozoonosis in the rabbit. Section of cerebrum with typical granuloma)

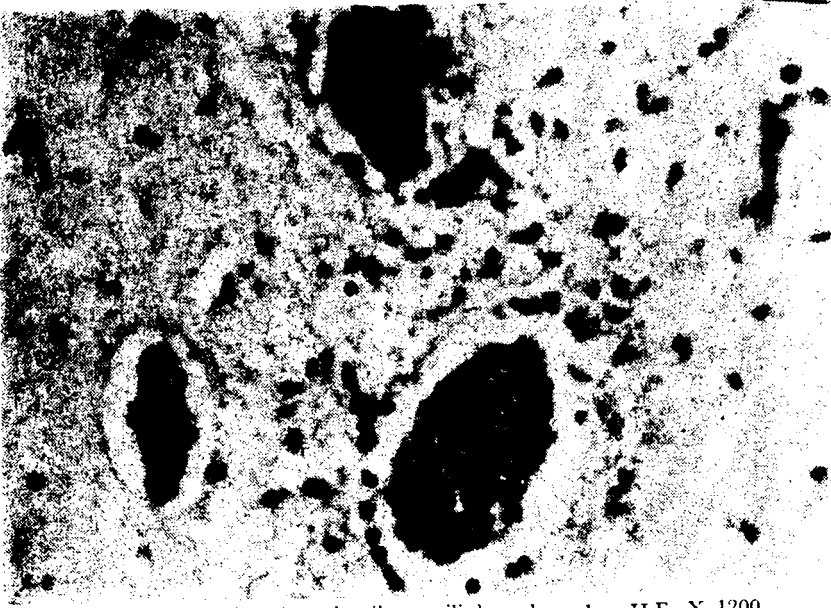
granulomların merkezinde nekroz görülmüştür (Şekil. 2). Cerebellum'da da benzeri granulomlara rastlanmıştır. Damarlar hiperemik olup, özellikle granulomlar çevresinde olanlar mononükleer hücre infiltrasyonları ile çevrilidir (Şekil. 3). Olayların 2'sinde cerebrum ve cerebellum'da belirgin bir membranla çevrili çok sayıda pseudokiste rastlanmıştır (Şekil. 4,5). Pseudokistler granulomlardan uzak mesafede yerleşmiş ve çevrelerinde herhangi bir doku reaksiyonu görülmemiştir. Sadece bu olguların birinde, bir granulom içinde de benzeri bir pseudokiste rastlanmıştır (Şekil. 6). İki olayda ise leptominx'te, özellikle büyük damarlar çevresinde değişik derecede mononükleer hücre infiltrasyonları ile 1 olayda beynin çeşitli bölgelerinde fokal kanamalar vardı.



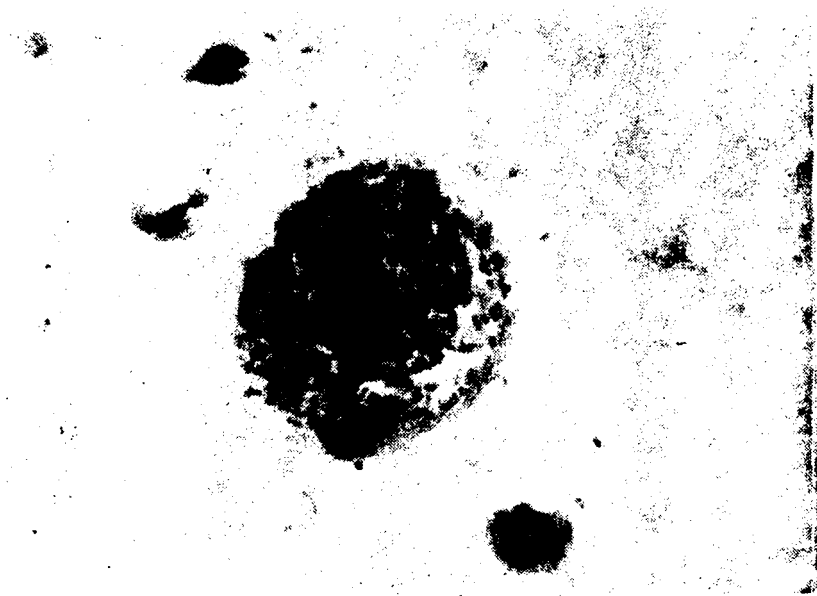
Şekil 2. Cerebrum'da ortası nekrotik, çevrede yangısel mononükleer hücreleri içeren bir granulom. H.E. X 1200

(Granuloma in the cerebrum with central necrosis)

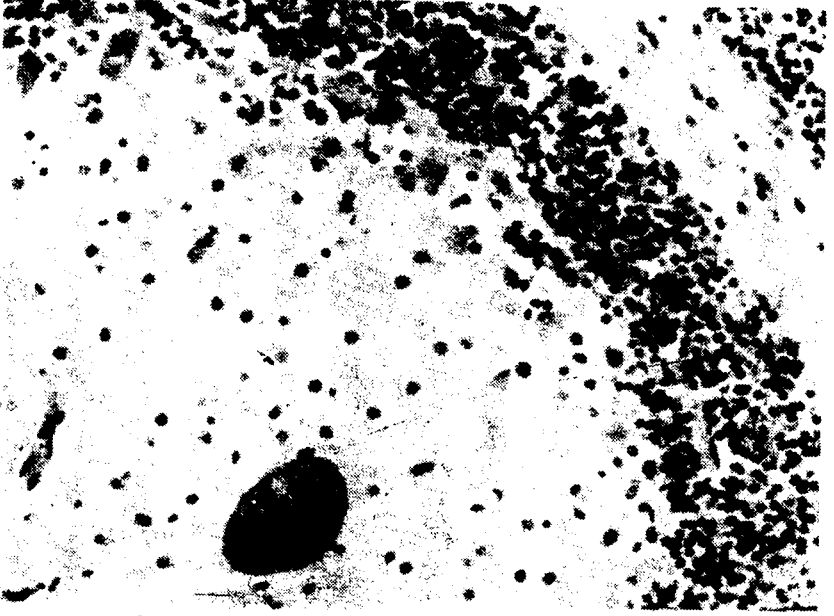
Pseudokistler hematoxylin-eosin ile hafif mavi, Giemsa ile mavimsi-mor, Brown-Brenn ve McCallum-Goodpasture boyası ile mavi ve Taylor'un gram boyası ile belirgin mavi-siyah renge boyanmıştır.



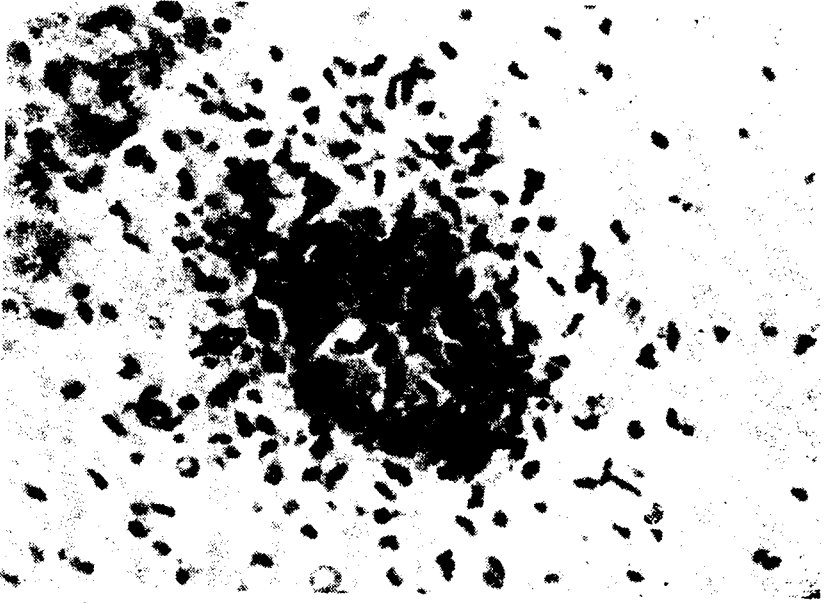
Şekil 3. Mononükleer hücreler ile çevrili kan damarları H.E. X 1200.
(Blood vessels with marked perivascular cuffing)



Şekil 4. Cerebrum'da E.uniculi pseudokisti. Brown-Brenn. X 2700.
(Pseudocyst in the cerebrum)



Şekil 5. Cerebellum'da *E. cuniculi* pseudokisti. H.E. X 750.
(Pseudocyst in the cerebellum)



Şekil 6. Bir granulom içinde *E. cuniculi* pseudokisti (→). H.E. X 1200.
(Pseudocyst within granuloma in the cerebrum)

Bütün olgularda böbreklerde interstütiel dokuda mononükleer hücre infiltrasyonları görülmüş, incelenen diğer organlarda herhangi bir bozukluğa rastlanmamıştır.

Tartışma

Tavşanlarda Encephalitozoon cuniculi enfeksiyonu hafif kronik bir yangı oluşturur ve mortalitesi düşüktür. Lezyonların genellikle beyin ve böbreklerde, daha az olarak da kalp kası, karaciğer ve dalakta görüldüğü kaydedilmiştir(14).

Sentral sinir sistemindeki lezyonlar fokal granülomlar ve mikroglyal nodüller halindedir(8,11,12,22). Bunlara genellikle cerebrum'un ak ve boz maddesinde, mesencephalon ve pons'ta, arasıra da cerebellum ve nadiren M.spinalis'te rastlandığı bildirilmiştir (11,12,14,22,29). Etkene serbest olarak nekrotik granülom merkezlerinde, pseudokistlere ise hiçbir hücre reaksiyonu olmaksızın genellikle cerebrum'da, az olarak da cerebellum'da rastlanmaktadır(14). Olgularımızdaki bulgular bu literatür bilgilerini desteklemektedir. Ancak bir olguda granülom içinde serbest olarak bulunması gereken organizmalar yerine bir pseudokiste rastlanmıştır.

Böbreklerde interstütiel bir nefritis şekillendiği kaydedilmiştir (8,11,14,27-29). Etkenler tubuler hücrelerde veya serbest olarak lümeninde görülür(14). Şiddetli enfeksiyonlarda kalp kasında küçük ve multiple, monosit, plazma hücreleri ve lenfosit odaklarının görüldüğü ve karaciğerin portal bölgelerinde sıklıkla küçük lenfosit topluluklarının yer aldığı bildirilmiştir (8,14,29). Olgularımızda sadece fokal interstütiel bir nefritis'e rastlanmış, ancak etken görülmemiştir. Diğer organlarda kayda değer bir değişiklik yoktu.

Encephalitozoonosis olgularının çoğunda etkene seyrek olarak rastlanır. Tanı, beyin ve böbrek cortex'inde tipik granülomların görülmesi ile konur. 1940-1953 yılları arasında yapılan bir çalışmada 900 tavşan öldürülmüş, bunların 1/3'ünde hastalık histopatolojik olarak saptanmış, ancak olayların hiçbirinde etkene rastlanmamıştır(29). Başka bir çalışmada 43 olayda lezyon görülmüş, bunların 15'inde beyinde, 4'ünde ise böbreklerde etkene rastlanmıştır(20). Biz 4 tavşanın 2'sinde beyinin çeşitli bölgelerinde pseudokiste rastladık. Ayrıca, birkaç gün önce Bilim Dalımıza Ankara'da 50 tavşanı bulunan bir hayvan sahibinin getirdiği ve ani ölümlerden şikayetçi olduğu bir tavşanda da hastalığın patolojik lezyonlarını ve pseudokist-

leri saptadık. Bulgularımıza ve anemneze göre hastalığın Ankara ilindeki oranının fazla olabileceği kanısındayız.

Encephalitozoon ile toxoplasma arasında morfoloji, lokalizasyon ve konakçıda çoğalmaları bakımından benzerlikler olduğu gibi büyüklükleri, yapısal ve boyanma özellikleri bakımından farklılıklar da vardır (9,11,14,15,21,24). Olgularımızda pseudokistler çeşitli gram boyaları ile pozitif olarak boyanmıştır. Ayrıca beyinde granülom şekillenmesi ve granülomların yapısı, ile mikroglial nodüller bu olayları encephalitozoonosis olarak isimlendirmemizi sağlamıştır ve literatür bulguları ile identiktir.

Encephalitozoonosis bir koloni enfeksiyonudur ve bulaşıcıdır. Enfeksiyon zincirinde serumda antikor şekillenmesi ile idrardan *E. cuniculi* sporlarının ekskresyonu arasında bir gecikme bulunmaktadır. Antikorlar etkenin sirkulasyona dahil olması ile şekillenmeye başlar, sporların ekskresyonu ise hastalığın böbreklere yerleşmesi ile mümkün olur. Bazen enfeksiyonun alınmasından 40-70 gün sonra idrarda sporlar görülür(3). Bulaşma ancak bu devrede, yani etkenin idrarla dışarı çıkmasından sonra şekillenir. Hastalığın diğer hayvanlar ve insanlara bulaşmasında kontamine gıdanın rolü daima hatırd tutulmalıdır. Bu nedenle de bir kolonide hastalığın varlığı, hastalığın böbreklere yerleşmesinden önce serolojik yöntemlerle saptanmalı ve eradikasyonu yapılmalıdır.

Literatür

- 1- **Chalupsky, J., Vavra, J., Bedrnik, P.** (1973): *Detection of antibodies to Encephalitozoon cuniculi in rabbits by the indirect immunofluorescent antibody test.* Folia Parasitol., (Praha), 20: 281-284.
- 2- **Cowdry, E.V., Nicholson, F.M.** (1929): *The Coexistence of Protozoonlike Parasites and Meningo-encephalitis in Mice.* J.Exper. Med., 40: 51-62.
- 3- **Cox, J.C., Hamilton, R.C., Attwood, H.D.** (1979): *An Investigation of the Route and Progression of Encephalitozoon cuniculi Infection in Adult Rabbits.* J. Protozool., 26 (2): 260-265.
- 4- **Cox, J.C., Gallichio, H.A.** (1977): *An evaluation of indirect immunofluorescence in the serological diagnosis of Nosema cuniculi infection.* Res. Vet. Sci., 22: 50-52.
- 5- **Cox, J.C., Gallichio, H.A., Pye, D., Walden, N.B.** (1977): *Application of immunofluorescence to the establishment of an Encephalitozoon cuniculi-free rabbit colony.* Lab. Anim. Sci., 27: 204-209.
- 6- **Cox, J.C., Gallichio, H.A.** (1978): *Serological and histological studies on adult rabbits with recent, naturally-acquired encephalitozoonosis.* Res. Vet. Sci., 24: 260-261.
- 7- **Cox, J.C., Pye, D.** (1975): *Serodiagnosis of nosenmatosis by immunofluorescence using cell-culture-grown organisms.* Lab. Anim., 9: 297-304.

- 8- **Flynn, R.J.** (1973): *Parasites of Laboratory Animals*. Iowa State Univer. press/Ames, 84-86.
- 9- **Frenkel, J.K.** (1956): *Pathogenesis of toxoplasmosis and of infections with organisms resembling toxoplasmosis*. Ann. N.Y. Acad. Sci., 64: 215-231.
- 10- **Goodpasture, E.W.** (1924): *Spontaneous Encephalitis in Rabbits*. J. Infect. Dis., 34: 428-432.
- 11- **Innes, J.R.M., Saunders, L.Z.** (1962): *Comparative Neuropathology*. pp. 484-489. Academic Press, New York.
- 12- **Innes, J.R.M., Zeman, W., Frenkel, J.K., Berner, G.** (1962): *Occult Endemic Encephalitozoonosis of the Central Nervous System of Mice*. J. Neuropath. Exptl. Neurol., 21: 519-533.
- 13- **Kemp, R., Kluge, J.P.** (1975): *Encephalitozoon sp. in the Blue-Masked Lovebird, Agapornis personata (Reichenow): First Confirmed Report of Microsporidian Infection in Birds*. J. Protozool. 22(4): 489-491.
- 14- **Koller, L.D.** (1969): *Spontaneous Nosema cuculi Infection in Laboratory Rabbits*. J.A.V.M.A., 155: 1108-1114.
- 15- **Lainson, R.** (1954): *Natural Infection of Encephalitozoon in the brains of laboratory rats*. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 51-: 111-117.
- 16- **Levaditi, C., Nicolau, S., Schoen, R.** (1923): *Neuvelles données sur l'Encephalitozoon cuculi*. Comp. rend. Soc. Biol. 89: 1157-1162.
- 17- **Levaditi, C., Nicolau, S., Schoen, R.** (1924): *Encephalitis of Rabbits*. Ann. Inst. Pasteur, 38: 651-712.
- 18- **Levine, N.D.** (1961): *Protozoön parasites of domestic animals and of man*. Burgess, Minneapolis.
- 19- **Luna, L.G.** (1968): *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. pp. 222, 226. McGraw-Hill Book Company.
- 20- **Malherbe, H., Munday, V.,** (1958): *Encephalitozoon cuculi Infection of Laboratory Rabbits and Mice in South Africa*. J. South African Vet. M.A., 29: 241-246.
- 21- **Matsubayashi, H., Tamotsu, K., Mikata, I., Takei, H., Hagiwara, S.** (1959): ^c *A Case of Encephalitozoon-like Body Infection in Man*. A.M.A.Arch. Path., 67: 181-187.
- 22- **Møller, T.** (1968): *A Survey on toxoplasmosis and encephalitozoonosis in laboratory animals*. Z.Versuchstierk. 10: 27-38.
- 23- **Oliver, J.** (1922): *Spontaneous Chronic Meningo-Encephalitis of Rabbits*. J. Infect. Dis., 30: 91-94.
- 24- **Perrin, T.L.** (1943a): *Spontaneous and Experimental Encephalitozoon Infection in the Laboratory Animals*. Arch. Path., 36: 559-567.
- 25- **Perrin, T.L.** (1943b): *Toxoplasma and Encephalitozoon in Spontaneous and in Experimental Infection of Animals: A Comparative Study*. Arch. Path., 36: 568-578
- 26- **Petri, M.** (1969): *Studies on Nosema cuculi found in transplantable ascited tumors with a survey of microsporidiosis in mammals*. Acta Pathol. Microbiol. Scand., (suppl.). 204: 1-91.
- 27- **Plowright, W.** (1952): *An Encephalitis-Nephritis Syndrome in the Dog Due to Congenital Encephalitozoon Infection*. J.Comp. Path. Therap., 62: 83-92.

- 28- **Flowright, W., Yeoman, G.** (1952): *Probable Encephalitozoon infection of the dog*. Vct. Rec., 64: 381-383.
- 29- **Robinson, J.J.** (1954): *Common Infectious Disease of Laboratory Rabbits Questionably Attributed to Encephalitozoon Cuniculi*. A.M.A.Arch. Pathol., 58: 71-84.
- 30- **Ruiz, A.** (1965): *Spontaneous Encephalitozoon cuniculi Infection in White Mice*. Rev. Biol. Trop., 12: 225-227.
- 31- **Weiser, J.** (1965): *Nosema muris n.sp., a new microsporidian parasite of the white mouse (Mus musculus L.)*. J. Protozool., 12(1): 78-83.
- 32- **Wilson, J. M.** (1979): *Encephalitozoon cuniculi in wild European rabbits and a fox*. Res. vet. Sci., 26: 114.
- 33- **Wolf, A., Cowen, D.** (1937): *Granulomatous Encephalitis due to Encephalitozoon (Encephalitozoic Encephalomyelitis) a New Protozoon Disease of Man*. Bull. Neurol. Inst. New York, 6: 306-371.
- 34- **Wright, H.J., Craighead, E.M.** (1922): *Infectious Motor Paralysis in Young Rabbits*. J. Exptl. Med., 36: 135-140.
- 35- **Yost, D.H.** (1958): *Encephalitozoon Infection in Laboratory Animals*. J. Natl. Cancer Inst., 20: 957-963.

Yazı 7.7.1983 günü alınmıştır.