

## Elazığ ve Yöresinde Bulunan Arı İşletmelerinde Avrupa Yavru Çürüklüğü Hastalığının Araştırılması

Halil ŞİMŞEK, Canan ÖZCAN  
Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 25.08.2000

**Özet:** 1999 ve 2000 yıllarında Elazığ ve yöresinde bulunan 110 arı işletmesinden 250 örnek alındı. Örnekler Avrupa Yavru Çürüklüğü Hastalığı yönünden kontrol edildi. Makroskopik muayenede örneklerin 12'sinde klinik bulgular gözlenirken, bu örneklerin 8'inden *Paenibacillus alvei* izole ve tanımlandı. Antibiyotik duyarlılık testinde bu etkenin enrofloksasin (% 75), streptomisin (% 75) ve eritromisin (% 62.5)'e duyarlı olduğu belirlendi.

Bu çalışmada, Elazığ ve yöresinde Avrupa Yavru Çürüklüğü Hastalığının varlığı %3.2 oranında tespit edildi.

**Anahtar Sözcükler:** Balansı, Avrupa Yavru Çürüklüğü, *Paenibacillus alvei*

### Survey of European Foulbrood Disease in Bee Farms Located in Elazığ and the Surrounding Provinces

**Abstract:** A total of 250 specimens from 110 bee farms located in Elazığ and the surrounding provinces were taken in 1999 and 2000. The specimens were examined for European Foulbrood Disease. Under macroscopic examination clinical symptoms were noted in 12 specimens, and *Paenibacillus alvei* was isolated and identified from 8 of these specimens. As a result of the antibiotic sensitivity test, the isolate was found sensitive to enrofloxacin, streptomycin and erythromycin 75%, 75%, and 62.5% of the time respectively.

In this study, the presence of European Foulbrood Disease was determined in 3.2% of cases in Elazığ and the surrounding provinces.

**Key Words:** Honey Bee, European Foulbrood, *Paenibacillus alvei*

### Giriş

Avrupa Yavru Çürüklüğü, arıların bir larva hastalığı olup, larvayı 4-5 günlük iken enfekte etmekte ve ölümüne neden olmaktadır. Hastalık daha çok yazın ilk dönemlerinde (mayıs-haziran) görülmekte olup, dünyanın birçok ülkesinde rastlanmaktadır. Avrupa Yavru Çürüklüğünün bazı ülkelerde Amerikan Yavru Çürüklüğünden daha etkili olduğu bildirilmektedir (1, 2, 3).

Asıl hastalık etkeni *Melissococcus pluton* (*M. pluton*) olup, *Paenibacillus alvei* (*P. alvei*), *Paenibacillus laterosporus* ve *Streptococcus faecalis* *M. pluton* ile birlikte bulunur ve sekonder etken olarak görülürler. *M. pluton*, Gram pozitif, sporsuz tek, çift ya da zincir şeklinde, lanset biçimli koklardır. *P. alvei*, Gram pozitif basiller olup, sporlu mikroorganizmalardır (1, 4, 5).

Hastalık larvanın beslenmesi sırasında işçi arılar tarafından bulaştırılır. Etken larvanın orta barsağına

yerleşir ve hızlı bir şekilde çoğalır. Barsak içeriği topaklaşır. Larvanın ölümüyle etkenin çoğalması durur. Petek gözü kapaklarının kapatılmasından üç gün önce larva ölür. Ölmüş larvaların rengi beyazımsıtraktan kahverengine dönüşür. Ölü larva petek gözünün dibine bazen yan duvarlarına yığılmaktadır. Açık gözlerdeki larvalar kıvrık halde görülür. Larvaların tracheal sistemlerinin görülür hale gelmesi bu hastalık için semptomatiktir. Eğer *Paenibacillus alvei*'nin neden olduğu bir mikros enfeksiyon söz konusu ise ölü larvalara kibrit çöpü ile dokunulduğunda iplik gibi uzar. Kovan açıldığında ekşi bira mayası kokusu gelir (2, 3, 6).

Bu çalışma, Elazığ ve yöresinde bulunan arı işletmelerinde Avrupa Yavru Çürüklüğü hastalığının varlığını araştırmak, izole edilen etkenlere etkili antibiyotiği tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

## Materyal ve Metot

### Materyal

1999 ve 2000 yıllarında Elazığ ve yöresinde bulunan 110 arı işletmesine gidilerek alınan 250 adet örnek materyal olarak kullanılmıştır.

**Besi Yerleri:** Etken izolasyonu için Blood Agar Base (Oxoid) (% 5-10 defibrine koyun kan ilaveli), Brain Heart Infusion (BHI) agar (Difco, A.B.D.), antibiyotik duyarlılık testi için Mueller Hilton Agar (Oxoid) kullanılmıştır ( 4, 7, 8).

**Antibiyotik Diskleri:** Antibiyotik duyarlılık testinde Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan oksitetrasiklin -30 µg, penisilin -10 IU, neomisin -30 µg, ampisilin -10 µg, eritromisin -15 µg, gentamisin -10 IU, sefalosporin -30 µg ve streptomisin -10 µg ve Bayer ilaç firmasından temin edilen enrofloksasin -10 µg antibiyotik diskleri kullanıldı.

### Metot

**Bakteriyoskopi:** Fizyolojik tuzlu suda süspansiyon haline getirilen larvalı petek parçasından hazırlanan frotiler Gram (9,10,11,12) ve nigrosin boyama (5) yöntemleri ile boyandıktan sonra mikroskopta incelendi.

**İzolasyon:** Çalışmada kullanılan örneklerin her biri için, 3-5 larvayı içeren petek parçası bir cam tüp içinde 5 ml. steril distile su ile ezilerek süspanse edildi. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Daha sonra 80 °C deki su banyosunda 10 -15 dakika tutularak, bazıları sporlu olan hastalık etkenlerinin sporsuz hale gelmeleri sağlanmış oldu. Tüpler vortex mikserde karıştırılarak elde edilen süspansiyondan BHI agar, % 5-10 defibrine koyun kanlı agar ve nalidiksik asit ilaveli (3µg/ml) koyun kanlı agara ekim yapıldı. Daha sonra petriler 37°C' de aerobik ve % 10 CO<sub>2</sub> li etüvde , 37°C' de 48-72 saat inkübe edildi (7, 13).

**İdentifikasyon:** Etkenlerin identifikasyonu amacı ile şüpheli kolonilerden bakteriyostatik muayene için preparat hazırlanıp mikroskopta incelendi ve nutrient broth'a ekim yapılarak çeşitli biyokimyasal testler (catalase, Voges-Proskauer, citrate, mannitol, jelatini eritme ve nişasta hidrolizi testleri) uygulandı (4).

Ayrıca Avrupa ve Amerikan Yavru Çürüklüğü hastalıklarını birbirinden ayırmak amacıyla Holst süt testi yapıldı (9, 14).

## Bulgular

Elazığ ve yöresinde bulunan 110 arı işletmesine gidilerek rastgele alınan 250 adet örnekten yapılan bakteriyoskopik muayenelerde Gram pozitif basiller görüldü. Peteklerin makroskopik bakılarında; 12 örnekte mozayik yavru düzeni adı verilen kapalı gözlerin yanında boş gözlerle rastlandı, açık gözlerde larvalar kıvrık halde gözlemlendi. Yine kahve rengimsi olan ölü larvalara bir kibrit çöpü ile dokunulduğunda, Amerikan Yavru Çürüklüğünde tipik olan ipliksi uzantılara benzerlik gösteren, fakat daha kısa olan görümlere rastlandı.

Bakteriyolojik kontrolleri yapılan 250 örneğin 8 (% 3.2) inden etken izole edildi. İzole edilen mikroorganizmanın biyokimyasal özellikleri incelenerek *P. alvei* olduğu saptandı. İzole edilen suşların biyokimyasal özellikleri Tablo 1' de gösterildi.

Tablo 1. İzole edilen etkenlerin biyokimyasal özellikleri.

Biyokimyasal Testler	Sonuç
Catalase	+
Voges Proskauer	+
Citrate	-
Mannitol (asit)	-
Jelatin	+
Nişasta Hidroliz	+

Biyokimyasal testler sonucu identifiye edilen 8 izolata ayrıca Holst süt testi uygulandı. Sonuçta 8 izolata da solüsyonun rengini berraklaştırmadığı gözlemlendi. Nalidiksik asit ilaveli agarda üreme gözlenmemesi ve Holst süt testi sonucu ile *P. alvei*, *P. larvae* den ayırt edilmiş oldu.

Yapılan antibiyotik duyarlılık testinde enrofloksasin (% 75), streptomisin (% 75) ve eritromisin (% 62.5) en etkili antibiyotikler olarak tespit edildi.

## Tartışma

Avrupa Yavru Çürüklüğü hastalığının Kuzey Amerika ve Avrupa'da varlığı bilinirken son zamanlarda Avustralya, Japonya, Güney Afrika, Finlandiya, Norveç, Tanzanya, Zambiya ve Güney Amerika'da da hastalığın yaygınlaştığı bildirilmiştir (1).

Bu çalışma yapıldığında Amerikan Yavru Çürüklüğünün Türkiye'de varlığını gösteren çalışmalara

rastlanırken (15, 16), Avrupa Yavru Çürüklüğü ile ilgili herhangi bir araştırmaya rastlanılamamıştır.

Finlandiya'da 52 kovan üzerinde yapılmış bir çalışmada *P. alvei* örneklerin % 15'inde tespit edilmiştir (17).

1980 yılında Fransa Tarım Bakanlığı'nın yayınladığı yıllık raporda arı hastalıkları ile ilgili olarak 36 adet Avrupa Yavru Çürüklüğü vak'ası bildirilmiştir (18).

Polonya Suwalki bölgesinde 1980-85 yılları arasında görülen arı hastalığı olgularında, 18035 arı muayene edilmiş ve %3 ü Avrupa Yavru Çürüklüğü olarak saptanmıştır (19).

İtalya Trento bölgesinde yapılmış bir çalışmada, Avrupa Yavru Çürüklüğü % 6.8 oranında tespit edilmiştir (20).

Danimarka'da 1987 yılında hayvan sağlığı ve hastalıklarının kontrolü ile ilgili olarak sunulan raporda

16 adet Avrupa Yavru Çürüklüğü salgını bildirilmiştir (21).

Rusya Kraljevo bölgesinde 1986-89 yılları arasında yapılmış bir çalışmada, 1079 örneğin 22'si (% 2.02) Avrupa Yavru Çürüklüğü olarak saptanmıştır (22).

Çalışmada *P. alvei*'ye etkili antibiyotik olarak enrofloksasin (% 75), streptomisin (% 75) ve eritromisin (% 62.5) bulunmuştur. Etkenin antibiyotiklere duyarlılığı ile ilgili Rusya'da yapılmış olan bir çalışmada streptomisin, eritromisin v.s. gibi preparatların furazolidone ve ethacridine kombinasyonu ile uygulandığında daha etkili olacağı önerilmiştir (23).

Sonuç olarak; bu çalışmada Elazığ ve yöresinde bulunan 110 işletmeden alınan 250 örnek Avrupa Yavru Çürüklüğü yönünden muayene edilmiş ve 8 (%3.2) inde hastalık etkenlerinden *P. alvei* izole ve identifiye edilerek, hastalığın bölgedeki varlığı saptanmıştır.

## Kaynaklar

- Bailey, L.: Bacteria. Honey Bee Pathology. Academic Press, London, 1981, ISBN 0-12-073480.
- Zeybek, H.: Arı Hastalıkları ve Zararlıları. Tarım Köyişleri Bak. Etlik Hay. Hast. Araş. Enst. Müd. Yay. Ankara, 1991.
- Balcı, F.: Arıcılık. Tarım Orman Köyişleri Bak. Yay. Ankara, 1988.
- Alippi, A. M.: A Comparison of laboratory techniques for the detection of significant bacteria of the honey bee, *Apis mellifera*, in Argentina. J. of Apicul. Res. 1991; 30 (2): 75-80.
- Bailey, L.: European foulbrood disease. Office International Des Epizooties, Recommended Diagnostic Techniques and Requirements for Biological Products, 12 Rue de Prony, Paris, Vol. 1, B/ 076, 1989, ISBN 92-9044-229-8.
- Doğanay, A.: Türkiye'de arılarda görülen bazı önemli hastalıklar. Türk Vet. Hek. Derg. 1997; 9 (1): 49-54.
- Alippi, A.: Background on American foulbrood in Argentina. Bee World, 1997; 78(2). 92-95.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, M. D., Turck, M.: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., 1966; 45 (4): 493-499.
- Shimanuki, H., Knox, D.: American foulbrood. Office International Des Epizooties, Recommended Diagnostic Techniques and Requirements for Biological Products, 12 Rue de Prony, Paris, Vol. 1, B/ 075, 1989, ISBN 92-9044-229-8.
- Arda, M.: Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yay. Yay.No: 25, Ankara, 1997.
- Bilgehan, H.: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yay. Fakülte Kitabevi, Şafak Mat. Ankara, 1992.
- Lloyd, J. M.: Simplified laboratory diagnosis of American foulbrood disease. J. of Apicul. Res. 1986; 25 (1): 55-57.
- Shimanuki, H., Knox, D.A.: Improved method for the detection of *Bacillus larvae* spores in honey. J. of Apicul. Res. 1988; 8, 353-354.
- Coşkun, Ş. Z.: Arıların Bakteriyel Hastalıkları. Türk Parazit. Derg.1994; 18 (2): 204-208.
- Aydın, N., Bülbül, H., Bıyıklıoğlu, G., Yaralı, C., Yavuz, M.K.: Kovanlardan ve tüketime sunulan bal örneklerinden *Peenibacillus larvaenin* izolasyonu. Etlik Vet. Mik. Derg.1999; 10 (1). 93-100.
- Kaftanoğlu, O., Kumova, U., Yeninar, H. ve Özkök, D.: Türkiye'de bal arısı hastalıklarının dağılımı, koloniler üzerindeki etkileri ve entegre kontrol yöntemlerinin uygulanması. TÜBİTAK, 1995: VHAG-925.
- Kauko, L., Niskanen, M.: Occurrence and diagnosis of American foulbrood in SW Finland. Medicina Veterinaria, 1995; 50, (825): 249-253.
- Anonim, Annual Report of the French Minister of Agriculture for 1980. Part III. The Veterinary Services. France, 44-46, 1981.
- Irzyk, J., Skrobot, J.: Bee diseases occurring in the Suwalki District in 1980-1985. Zycie Veterinaryjne, 1987; 62, (6): 175-177.
- Zanin, E., Costanzi, C., Allegretti, M.: Results and experience in controlling infectious diseases of bees in Trento Province from 1975 to 1983. Attidella Societa Italiana del Scienze Veterinaria, 1984; 38, 713-716.

21. Anonim, Denmark Veterinary Service: The Animal health and disease control position in Denmark. Veterinaer Direktoratet. Denmark, 1988.
22. Debeljak, Z., Lolin, M., Dugaliç, Vendic, N., Zancoviç, A., Plausic, Z.: Common bee diseases in the Kraljevo Region. Veterinariski Glasnik, 1991; 45, (11-12): 845-849.
23. Falkina, F. B., Adrienko, V. M., Gladkaya L. V.: Action of antibiotics, ethacridine lactate and furazolidone on *Bacillus alvei*. Veterinaria, 1978; 4, 64-66.