

## ATLARDA LEPTOSPIROZİSİN SEROPREVALANSI

### SEROPREVALANCE OF LEPTOSPIROSIS IN HORSE

Cengiz ÇETİN\*      Mihriban ÜLGEN\*      Vildan ÖZDEMİR\*\*  
Kamil SEYREK İNTAŞ\*\*\*

#### ÖZET

Bu çalışmada, Bursa bölgesindeki 140 at'a ait serum örnekleri, Mikroskopik Aglutinasyon Test (MAT) ile *Leptospira interrogans* serogrup *pomona*, *canicola*, *icterohaemorrhagiae*, *hardjo*'ya karşı antikor mevcudiyeti yönünden incelendi. MAT için, 1/100 ve yukarı titreler pozitif kabul edildi. İncelenen örneklerin 11 (% 7,85)'i sadece *L. icterohaemorrhagiae* ile pozitif reaksiyon verdi. Pozitif örneklerin 9'u 1/100, 1'i 1/200, 1'i 1/400 titreye sahiptir. Prevalans oranı bakımından erkekler ile dişiler arasında istatistiki olarak önemli bir fark saptanmadı.

**Anahtar Kelimeler:** *Leptospira*, at, Mikroskopik Aglutinasyon Testi.

#### SUMMARY

In this study, serum samples from 140 horses in Bursa, in north western Turkey were examined by the Microscopic Agglutination Test (MAT) for the presence of antibody against *Leptospira interrogans* serogroup *pomona*, *canicola*, *icterohaemorrhagiae* and *hardjo*. A titre of 1/100 or more was considered positive for MAT. Of the samples examined, 11 (7.85%) were positive against only *L. icterohaemorrhagiae*. Of the positive samples, 9 had titers of 1/100, 1 had titre of 1/200, 1 had titre of 1/400. There was no statistically significant difference in the prevalence rate between male and female.

**Key Words:** *Leptospira*, horse, Microscopic Agglutination Test.

\* U.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

\*\* Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Ankara.

\*\*\* U.Ü. Veteriner Fakültesi ve Jinekoloj. Hast. Anabilim Dalı, Bursa.

## GİRİŞ

Atlarda leptospirozis, çoğu zaman subklinik formda görülen, akut-subakut seyirli, ateş, iştahsızlık, sarılık, anemi, hemoglobini, abort ve periodik oftalmia ile karakterize infeksiyöz bir hastalıktır(2, 7). Hastalığın teşhisi genellikle serolojik testler ile yapılmaktadır. Bu amaçla, birçok araştırmacı tarafından en uygun test olarak kabul edilen Mikroskopik Aglutinasyon Test (MAT)'i kullanılmaktadır(24). Serolojik incelemeler, atlarda leptospira infeksiyonunun dünyada yaygın bir dağılım gösterdiğini ortaya koymuştur(7). Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan serolojik çalışmalarda atlarda Leptospira infeksiyonunun prevalansa %4.5 (11,21), %9.7(23), %14.8(18), %18.5(5), %20.6(19), %22.1(14), %25.5(26), %27.3(6), %30.7(10), %33(22), %34.6(12), %41.5(25), %80(17) ve %89.1(8) olarak saptanmıştır. İnfeksiyondan sorumlu olan Leptospira interrogans serotipleri, ülkeler arasında hatta bölgeler arasında farklılık göstermektedir; Yugoslavya'da *pomona*(18), Almanya'da *grippotyphosa*(21), Fransa'da *australis*(10) ve *icterohaemorrhagiae*(26), İngiltere'de *bratislava*(12), İngiliz adalarında *icterohaemorrhagiae*(17), Kuzey İrlanda'da *bratislava*(8), ABD'de *bratislava*(3, 19) ve *pomona*(27), Kanada'da *bratislava*(15) ve *icterohaemorrhagiae*(16), Brezilya'da *icterohaemorrhagiae*(11), Japonya'da *autumnalis*(20), Avustralya'da *copenhageni*(6), *pomona*(22) ve *ballum*(25), Yeni Zelanda'da *copenhageni*(13) ve Hindistan'da *conicola*(14)'nin predominant serotipler olduğu bildirilmiştir. Türkiye'de atlarda leptospira infeksiyonuna ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile Bursa bölgesindeki atlarda Leptospira infeksiyonunun prevalansının saptanması ve infeksiyon ile ilişkili patojen leptospira serotiplerinin belirlenmesi amaçlandı.

## MATERYAL VE METOD

**Serum Örnekleri:** Bursa bölgesinde farklı çiftliklerdeki 51'i erkek, 89'u dişi olmak üzere toplam 140 at'tan kan alındı, serumları ayrıldı ve kullanılabildiği kadar -20 °C'de saklandı.

**Antijenler:** MAT'ta kullanılan antijenler, *L. pomona*, *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae* ve *L. hardjo* serogruplarına ait standart suşlarla hazırlandı. Suşlar Johnson sıvı besiyerinde 4-14 gün üretildi (ort.  $1-2 \times 10^8$ /ml.) ve bu canlı kültürler antijen olarak kullanıldı(4).

**Mikroskopik Aglutinasyon Test (MAT):** Serum örnekleri 1/50'den

1/6400'e kadar iki katlı sulandırıldı. Her sulandırmadan 0,2 ml. alınarak pleytin dört gözüne kondu ve üzerlerine her serotipe ait leptospira kültüründen aynı miktarda ilave edilerek iyice karıştırıldı. 2-4 saat 30 °C'de bekletildikten sonra en yüksek sulandırmadan başlayarak bir öze dolusu alındı ve temiz bir lam üzerine kondu. Karanlık saha mikroskopunda 10x objektif ile lamel kapatmadan değerlendirildi. %50 aglutinasyon görülen son sulandırma titre olarak belirlendi. 1/100 ve üzerindeki dilüsyonlarda %50 aglutinasyon görülmesi pozitif olarak değerlendirildi(9).

**İstatistiksel Analiz:** Leptospira infeksiyonu ile cinsiyet arasındaki ilişki 'kikare' testi ile incelendi(1).

## BULGULAR

İncelenen 140 adet serumun 11(%7.85)'i, sadece *L. icterohemorrhagiae* antijeni ile pozitif reaksiyon verdi. İnfeksiyon oranı, erkek cinsiyetli atlarda %5.88(3/51), dişi cinsiyetli atlarda %8.98 (8/89) olarak saptandı. Bu bulgu istatistiki olarak önemli bulunmadı. Pozitif serumların 9'u 1/100, 1'i 1/200, 1'i 1/400 titre verdi (Tablo 1).

**Tablo 1:** İncelenen serum örneklerinin MAT sonuçları

İncelenen hayvanın cinsiyeti	İncelenen serum sayısı	MAT ile pozitif serum sayısı (%)	MAT titreleri		
			1/100	1/200	1/400
Erkek	51	3(%5.88)	2	1	-
Dişi	89	9(%8.98)	7	-	1
<b>Toplam</b>	<b>140</b>	<b>11(%7.85)</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

## TARTIŞMA

Atlarda Leptospirozis, dünyada oldukça yaygın olarak görülen bir infeksiyondur. Çeşitli araştırmacılar tarafından infeksiyonun seroprevalansının ve infeksiyon ile ilişkili *L. interrogans* serotiplerinin saptanmasına yönelik çalışmalarda; Nesic ve ark.(18), test ettikleri 11748 atın %14.8'ini pozitif bul-



muşlar ve en yaygın bulunan serotiplerin sırasıyla pomona, interohaemorrhagiae, mitis, canicola, batavia, sejroe ve australis olduğunu saptamışlardır. Almanya'da 2000 at'ın test edildiği bir çalışmada da benzer oranda pozitiflik saptanmış ve grippytyphosa'nın en yaygın serotip olduğu ortaya konmuştur(21). Fransa'da, Gaumont ve Trap(10), sağlıklı görünen 319 ve klinik semptomlu 344 atın sırasıyla %30.7 ve %32'sinin pozitif ve en yaygın serotiplerin australis, grippytyphosa ve sejroe olduğunu saptamışlardır. Aynı araştırmacılar başka bir çalışmada, test ettikleri 1841 at'ın %25.5'ini pozitif bulmuşlar ve infeksiyon ile ilişkili başlıca serotipleri sırasıyla icterohaemorrhagiae, australis ve grippytyphosa olarak belirlemişlerdir(26). İngiltere'de klinik olarak sağlıklı görünen 500 at test edildiğinde %34.6'sının pozitif bulunduğu ve bratislava'nın predominant serotip olduğu bildirilmiştir(12). İngiliz adalarında prevalans oranı %80 bulunurken, infeksiyon ile ilişkili serotipin icterohaemorrhagiae olduğu saptanmıştır(17). Kuzey İrlanda'da 650 kısırak test edildiğinde %89.1'i pozitif bulunmuş ve predominant serotipin bratislava olduğu bildirilmiştir(8). Park ve ark. (19) ABD'nin Ohio eyaletinde 204 at'ın %20.6'sını pozitif bulmuşlar ve en yaygın serotipin bratislava olduğunu saptamışlardır. Verma ve ark.(27) aynı ülkenin California eyaletinde %27.3 oranında pozitiflik belirlemişler ve ilişkili serotiplerin sırasıyla pomona (%12.47), icterohaemorrhagiae (%10.32), conicola (%3.22), grippytyphosa (%0.86) ve hardjo (%0.43) olduğunu bildirmişlerdir. Kentucky eyaletinde ise serotip bratislava %53, icterohaemorrhagiae %30, hardjo %19, pomona %14, grippytyphosa %13 ve canicola %8 oranında saptanmıştır(3). Giorgi ve ark. (11), test ettikleri 1653 at'ın %4.5'ini pozitif bulmuşlar ve başlıca serotiplerin icterohaemorrhagiae ve javanica olduğunu bildirmişlerdir. Avustralya'nın güneydoğu bölgesinde, prevalans oranı %27.3, en yaygın serotip copenhageni olarak saptanmıştır(6). Aynı ülkede, Queensland'de sağlıklı görünen 479 at test edildiğinde %33'ü pozitif bulunmuş ve serotip pomona %30.5, icterohaemorrhagiae %23.9, tarassovi %18.8, hardjo %12.2 canicola %8.6, grippytyphosa %3.6 ve australis %2.0 oranında belirlenmiştir(22). Bu ülkedeki başka bir çalışmada, bazıları hasta olan 272 atın %41.5'i pozitif olarak saptanmış ve infeksiyon ile ilişkili serotiplerin sırasıyla ballum (%15.1), autumnalis (%11.8), icterohaemorrhagia (%9.9), pomona (%8.1) ve hardjo (%7.7) olduğu rapor edilmiştir(25). Srivastava ve ark.(23), Hindistan'da 72 at'ın kan serumlarını test ettiklerinde, %9.7'sini pozitif bulmuşlardır. Aynı ülkede sağlıklı görünen atlarda yapılan bir incelemede, infeksiyonun prevalansının %22.1 ve en yaygın serotiplerin sırasıyla canicola, autumnalis ve icterohaemorrhagiae olduğu bildirilmiştir(24). Kanada, Japonya ve Yeni Zelanda'da ise en yaygın serotiplerin sırasıyla bratislava(15), icteroha-

*emorrhagiae*(16), *autumnalis*(20) ve *copenhageni*(13) olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada incelenen 140 at'ın 11(%7.85)'i pozitif bulundu ve sadece *L.icterohaemorrhagiae*'ye karşı olan antikorlar saptandı. Bu sonuç bazı araştırmacıların bulguları ile paralellik gösterirken, diğerleri ile benzerlik göstermemektedir. Leptospira infeksiyonu ile ilgili çalışmalarda, araştırma yapılan ülke veya bölgenin özelliği ve test prosedüründe kullanılan leptospira antijenlerinin sayısı ve tipleri sonuçları etkileyebilmektedir.

Atlarda Leptospira infeksiyonunun prevalansı ile cinsiyet arasındaki ilişkinin incelendiği araştırmalarda, erkekler ile dişiler arasında prevalans oranı bakımından önemli bir fark bulunmadığı bildirilmiştir(19, 27). Bu çalışmada da bu bulgulara paralel olarak prevalans oranı ile cinsiyet arasında bir ilişki saptanmadı. Kaura ve ark.(14) ise prevalans oranını, dişilerde erkeklere göre önemli derecede daha yüksek saptamışlardır. Bu bulgular, bu konuda genel bir sonuca varmanın mümkün olmadığını ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma ile Bursa bölgesinde yetiştirilen atlarda Leptospira infeksiyonunun mevcut olduğu ortaya konmuş ve diğer at yetiştirme çiftliklerinde de serolojik incelemelerin yapılarak Türkiye genelinde prevalansın ve yaygın serotiplerin belirlenmesinin yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- 1- **ANONİM** (1989). Minitab release 7.1 Copyright Minitab Inc.
- 2- **ARDA M, MİNBAŞ A, LELEOĞLU N, AYDIN N, AKAY Ö** (1992). Özel Mikrobiyoloji, Atatürk Üniversitesi Yayınları, No: 741, Erzurum.
- 3- **BERNARD W V, BOLIN G, RIDDLE T, DURANDO M, SMITH B J, TRAMONTIN R R** (1993). Leptospiral abortion and leptospiuria in horses from the same farm. JAVMA, 202, 8, 1285-1286.
- 4- **BLOBEL H, SOHLIEBER T** (1985). Leptospira, Handbuch der bakteriellen infektionen bei tieren, 5, 135-136.
- 5- **CORRADINI L, MORTARINA P, BASSI S** (1987). Serological and microbiological survey for leptospira in horses in Ferrara province. Clinica Veterinaria, 110, 3, 171-177.
- 6- **DICKESON D, LOVE D N** (1993). A serological survey a dogs, cats and horses in south-eastern Australia for leptospiral antibodies. Aust Vet J 70, 10, 389-390.
- 7- **DIETZ O, WIESNER E** (1984). Diseases of the Horse, Partz II, Karger AG, Germany.
- 8- **ELLIS W A, O'BREIN J J, CASSELLS J A, MOTGOMERY J** (1983). Leptospiral infection in horses in Northern Ireland: Serological and microbiological findings. Equine Vet J, 15, 4, 317-320.
- 9- **FAINE S** (1982). Guidelines for control of leptospirosis, section B-138, WHO, Geneva.
- 10- **GAUMONT R, TRAP D** (1988). Leptospira agglutinins in domestic animals in France. Bulletin-des-Groupements-Techniques-Veterinaires, 1, 49-51.
- 11- **GIORGI W, TERUYA J M, MACRUZ R, GENOVEZ M E, SILVA A S, BORGIO F** (1981). Serological survey for equine leptospirosis (in Brazil) and the isolation of Leptospira icterohaemorrhagiae from an aborted fetus. Biologico, 47, 2, 47-53.



**12- HATHAWAY S C, LITTLE T W A, FINCH S M, STEVENS A E** (1981). Leptospiral infection in horses in England: A serologic study *Vet Rec* 108, 396-398.

**13- HILBINK F, PENROSE M** (1990). Serological reactions against *Leptospira interrogans* serovars in New Zealand horses. *New Zealand Vet J*, 38, 124-125.

**14- KAURA Y K, BATRA H V, PRASAD S** (1990). Concurrent *Salmonella* and *Leptospira* infections in equines. *Indian J Anim Sci*, 60, 3, 259-263.

**15- KITSON-PIGGOT A W, PRESCOTT J F** (1987). Leptospirosis in horses in Ontario. *Can J Vet Res*, 51, 448-451.

**16- LEES V W, GALE S P** (1994). Titers to *Leptospira* species in horses in Alberta. *Can Vet J*, 35, 10, 636-640.

**17- MICHNA S W** (1967). Animal Leptospirosis in the British Isles. *Vet Rec*, 80, 13, 394-400.

**18- NESIC D, TRIFUNOVIC Z, ROMANIC S** (1984). Detection of antibodies to various *Leptospira* serotypes and their titres in horses. *Veterinarski-Glasnik*, 38, 9-10, 765-769.

**19- PARK Y G, GORDON J C, BECH-NIELSEN S, SLEMONS R D** (1992). Factors for seropositivity to leptospirosis in horses. *Prev Vet Med*, 13, 121-127.

**20- SAKAMOTO H, AKUZAW A M, MISUMI K, DEGUCHI E, OKAMOTO K, KAŞEDA Y** (1996). Survey of *Leptospira* antibody in horses (1991-1993). *J Jap Vet Med Assoc*, 49, 7, 439-442.

**21- SCHONBERG A, STAAK C, KAMPE U** (1987). Leptospirosis in the German Federal Republic. Results from a programme of investigations into leptospirosis in animals in 1984. *J Vet Med-B*, 34, 2, 98-108.

**22- SLATTER D H, HAWKINS C D** (1982). Prevalence of leptospiral titres in normal horses. *Aust Vet J*, 59, 3, 84-86.

**23- SRIVASTAVA S K, SINGH S P, SRIVASTAVA N C** (1983). Seroprevalence of Leptospirosis in animals and man in India. *Indian J Comp Microbiol Immunol Infect Dis* 4, 4, 243-246.

**24- SRIVASTAVA S K** (1988). Factors affecting anti-leptospira agglutinin titres in sera of animals and man. *Indian J Anim Sci*, 58, 6, 632-634.

**25- SWART K S, CALVERT K, MENEY C** (1982). The prevalence of antibodies to serovars of *Leptospira interrogans* in horses. Aust Vet J, 59, 1, 25-27.

**26- TRAP D, GAUMONT R** (1982). A serological survey of Leptospiral infection in livestock in France. Proceedings of the 10th conference of the O.I.E. Regional Commission for Europe, London, 28 September-1 October 1982, 93-104.

**27- VERMA B B, BIBERSTEIN E L, MEYER M E** (1977). Serologic survey of Leptospiral antibodies in horses in California. Am J Vet Res, 38, 9, 1443-1444.