

ELAZIĞ VE MALATYA ÇEVRESİNDE YETİŞTİRİLEN DIŞI SIĞIRLARIN ENZOOTİK BOVİNE LÖYKOZ İNFEKSİYONU YÖNÜNDEN TARANMASI

İrem Gülaçtı¹@ Şükrü Tonbak¹ Hakan Bulut¹ Yusuf Bolat¹

Surveillance of Female Cattle in Elazig and Malatya for Enzootic Bovine Leucosis Infection

Özet: Bu çalışmada Elazığ ve Malatya çevresinde yetiştirilen 345 dişi sığırdan alınan kan örneklerinde enzyim linked immunosorbent assay (ELISA) ile Enzootik sığır löykemi virusuna karşı oluşan antikor varlığına bakılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 345 hayvanın 9 tanesinde (%2.6) seropozitiflik bulunmuştur. Daha önceden bölgemizde yapılan çalışmada belirlenen pozitiflikte kıyaslanınca, bu seropozitiflik daha yüksek olarak belirlenmiştir. Çalışılan hayvanların dişi olması epidemiyolojik bakımdan bu seropozitifliği daha da önemli kılmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Dişi Sığır, ELISA, EBL

Summary: The present study aimed at examining the presence of antibodies against enzootic bovine leukemia virus by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method in blood samples collected from 345 female cattle in Elazig and Malatya and their vicinity. As a result of the study, 9 out of 345 animals (2.6%) were found seropositive. When compared to the seropositivity rate determined in previous studies in our region, this rate was found high. The fact that the studied animals were female makes this rate of seropositivity more important epidemiologically.

Key Words: Female Cattle, ELISA, EBL

Giriş

Enzootik sığır löykozu (EBL) retroviridae ailesinde bulunan sığır löykemi virusu (BLV) tarafından oluşturulan sığırların viral bir infeksiyonudur (Coffin ve ark., 1997). BLV ile infekte ineklerin yaklaşık üçte birinde persiste infeksiyon gelişmektedir ve bu hayvanlar klinik belirti göstermemesine rağmen duyarlı hayvanlara virusun bulaştırılmasında taşıyıcı olarak görev yapmaktadır. Persiste infekte ineklerde virusun 200 günden 7 yıla kadar değişen bir inkübasyon periyodu bulunmakta ve bu sürenin sonunda hayvanlarda iyi huylu tümörler gelişebilmektedir (Ghysdael ve ark., 1984).

Hastalık dünyada bir çok ülkede görülmektedir. İnfeksiyonun prevalansı ABD'de %20, Kanada'da %6-11, Venezuela'da %37, Japonya'da %3.3, Brezilya'da %2.11, Arjantin'de %32.85 olarak bildirilmiştir (Blood ve Radostitis, 1990).

Türkiye'de ise BLV infeksiyonlarının belirlenmesine yönelik seroepidemiolojik çalışmalar 1980'li yıllarda başlamıştır ve değişen zaman ara-

lıklarında farklı bölgelerde araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda prevalansın yerli ırklardan ziyade ithal ırklarda ve özellikle devlet üretme çiftliklerindeki hayvanlarda yüksek olduğu belirlenmiştir (Burgu ve ark., 1990; Batmaz ve ark., 1995; Şen ve ark., 1995; Uysal ve ark., 1995; Yılmaz ve ark., 1997; Otlu ve ark., 2001). BLV bulaşmasında vertical bulaşma oldukça önemli olmasına rağmen (Agresti ve ark., 1993; Meas ve ark., 2002), kolostrumla yavruya doğum sonrası geçişin var olduğunda bildirilmiştir (Agresti ve ark., 1993). Bu nedenle dişi sığırların virusun sürü içinde yayılmasında epidemiyolojik önemi oldukça fazla bulunmaktadır.

Bu çalışmada Elazığ ve çevresinde yetiştirilen dişi sığırlarda BLV prevalansının ELISA testi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Örnekler: Bu çalışmada; Elazığ ve Malatya çevresinde yetiştirilen farklı sığır ırkına ait toplam 345 (200 montofon, 130 holştayn, 15 yerli ırk) dişi hayvandan EDTA'lı tüplere kan numuneleri alındı. Alınan

bu kan örnekleri santrifüj edilerek serumları çıkartıldı ve kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

ELISA: ELISA testi üretici firmanın belirttiği prosedüre göre yapıldı (CHEKIT-Leucotest, serum; Dr.Bommeli AG, Stationsstrasse 12 CH-3097 Liebefeld-Bern). Kısaca, ilk olarak pozitif, negatif ve tüm serum örnekleri 1/40 oranında %0.02 PBS-Tween-20 içinde sulandırıldı. Her serum örneği çift kuyucuk olarak çalışıldı. Örnekler ELISA pleytinde 37°C'de 1.5 saat bekletildi. Kuyucukların dört kere yıkanmasından sonra tüm kuyucuklara 1/2000 oranında sulandırılmış anti-bovine IgG peroksidazdan 160 µl bırakıldı. İnkübasyon ile yıkamalar tekrarlandıktan sonra kromojen eriyiği (0.1 M Sitrik asit, 0,2 M Na₂HPO₄, % 3 H₂O₂, 10 mg OPD) kuyucuklara 160 ml bırakıldıktan sonra ELISA kapları 10 dk. karanlık ortamda bekletildi. Bu süre sonunda reaksiyonu durdurmak için kuyucuklara 50 ml 1N H₂SO₄ konuldu. Absorbans değerleri otomatik ELISA okuyucusunda (Medispec ESR 200) 450 nm dalga boyunda belirlendi.

Her örnek için optik dansite değeri çift rakamlı antijen kaplı kuyucuğun optik dansite değerinden tek rakamlı antijen kaplı olmayan kuyucuğun optik dansite değerinin çıkarılmasıyla bulundu.

Sonuçların değerlendirilmesinde, pozitif referans serumun optik dansite değeri en az 0.182 nm ve pozitif referans serumun optik dansite değeri ile negatif referans serumun optik dansite değeri arasındaki farkın 3.5 kat oranında olması temel kriter olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

Yapılan ELISA sonucunda 345 sığira ait serum örneğinin 9 tanesinde enzootik sığır löykemi virusuna karşı antikor belirlendi. Seropozitiflik belirlenen hayvanların 5 tanesinin montofon, 3 tanesinin holştayn ve 1 tanesinin de yerli ırktan olduğu görüldü. Seropozitif bulunan hayvanların 2-5 yaş arasında oldukları tespit edildi (Tablo 1).

Tablo 1. Üç farklı ırkta enzootik sığır löykemi virusuna karşı ELISA sonuçları

ELISA	Montofon	Holştayn	Yerli ırk	Toplam
+	3	5	1	9
-	197	125	14	336
Toplam	200	130	15	345

Tartışma ve Sonuç

Sığır löykemi virusu; boynuz çıkarma operasyonu, hayvanların damgalanması ve hayvanlarda aynı enjektörün kullanılması gibi iatrojenik yollarla (Johnson ve ark., 1985) yada büyük oranda transplental yolla (Agresti ve ark., 1993; Meas ve ark., 2002) bulaşmaktadır. Sığır löykemi virusu ayrıca aneden yeni doğmuş yavruya kolostrum veya süt yoluyla da geçebilmektedir (Agresti ve ark., 1993). Bu nedenle, BLV'un hayvanlar arasında yayılmasında dişi hayvanlar daha önemlidir. Bu yüzden, öncelikle dişi hayvanların kısa süre içinde duyarlı ve spesifik testlerle belirlenip sürüden uzaklaştırılması epidemiyolojik açıdan büyük önem taşımaktadır.

BLV enfekte hayvanın teşhis edilmesinde enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), agar gel immunodiffusion test (AGİD) ve radioimmunoassay (RIA) gibi virusa karşı antikor varlığını belirlemeye yönelik serolojik testler sıklıkla kullanılmaktadır (Klintevall ve ark., 1991; Nguyen ve Maes., 1993; Martin ve ark., 2001). Bu testler içerisinde infeksiyonun teşhis edilmesinde kolay uygulanabilirlik, sensitive ve spesifik olmasından dolayı ELISA diğer serolojik testlere tercih edilmektedir (Martin ve ark., 2001).

Bu çalışmada Elazığ ve Malatya çevresinde yetiştirilen farklı ırklara ait 345 dişi hayvana ait serum örneği EBL yönünden ELISA ile incelenmiştir. Bu test sonucunda 9 hayvanda virusa karşı antikor tespit edilmiştir.

Ülkemiz dahil, pek çok ülkede BLV infeksiyonu için ithal edilen hayvanların seronegatif olması istenmektedir. Ayrıca birçok ülkede virusla savaşım çok ciddi şekilde yürütülmektedir ve rutin seroprevalans çalışmalarıyla uzaklaştırma politikaları uygulanmaktadır (Johnson ve ark., 1985). Ülkemizde çeşitli çalışmalarda BLV prevelansının azımsanmayacak oranda olduğu dil:kat çekmektedir. Buna göre hastalığın prevelansı yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda %33.08 ve %29.63 (Burgu ve ark., 1990), %3.06 (Şen ve ark., 1995), %10.63 (Uysal ve ark., 1995), %9.15 (Balmaz ve ark., 1995) arasında değişmektedir. Kars çevresinde yapılan epidemiyolojik çalışmada virusa karşı herhangi bir antikor yanıt bulunamamıştır (Otlu ve ark., 2001). Bölgemizde yakın bir zamanda yapılan daha önceki bir epidemiyolojik çalışmada EBL'un prevelansı %0.5 olarak bulunmuştur (Yılmaz ve ark., 1997). Yapılan bu çalışma sonucunda prevelans %2.6 olarak bulunmuştur. Aynı bölgede yapılan çalışma ile değerlendirildiğinde bu çalışmadaki seropozitiflik daha yüksektir. Önceki çalışmada pozitiflik belirlenen hayvanların büyük kısmının kültür

ırkı oldukları kaydedilmiştir (Yılmaz ve ark., 1997). Bu çalışmada pozitiflik belirlenen 9 hayvanın 8 tanesinin kültür ırkı olması hem infeksiyonun halen kültür ırklarında yaygın olduğuna hem de daha önce seropozitif olan dişi hayvanların üretimde kullanılması sonucunda olabileceğine işaret etmektedir.

Sığır löykemi virus savaşımında birçok yaklaşım bulunmaktadır. Ancak özellikle dişi hayvanların virusu plasental olarak yada kolostrum veya süt yoluyla yavrularına bulaştırması nedeniyle bu dişi hayvanların üretimde daha az kullanılması savaşımında ön plana çıkmaktadır. Ülkemizde; gerek bölgemiz gerekse diğer bölgelerde halk elindeki hayvanlarda insidansın düşüklüğü sevindiricidir. Ancak ülkemizde bu infeksiyonla savaşım için ciddi bir programın olmaması gelecek için kaygı vericidir. Bu çalışmada da işaret edildiği üzere, ülkemizde dişilere yönelik bir planın uygulanması bu virusun insidansının artışı engelleyebileceğini düşündürmektedir.

Teşekkür

Kanların temininde yardımlarını gördüğümüz Fırat Üniversitesi Vet. Fak. Mikrobiyoloji AD öğretim elemanlarına teşekkürü bir borç biliriz.

Kaynaklar

- Agresti, A., Ponti, W., Rocchi, M., Meneveri, R., Marozzi, A., Cavalleri, D., Peri, E., Poli, G. and Ginelli, E. (1993) Use of polymerase chain reaction to diagnose bovine leukemia virus infection in calves at birth. *Am. J. Vet. Res.* 54 (3), 373-378.
- Batmaz, H., Çarlı, K.T., Kahraman, M., Çetin, C. and Kennerman, E. (1995) Serological and haematological diagnosis of enzootic bovine leucosis in cattle in Turkey. *Vet. Rec.* 136, 42-44.
- Blood, D.C. and Radostitis, O.M. (1990) *Veterinary Medicine*, Bailliere Tindal, London, 816-824.
- Burgu, İ., Urman, K.H., Kaaden, R.O., Akça, Y., Alçıgır, G., Berkin, Ş., Alkan, F. ve Atasever, A. (1990) Türkiye'de Enzootik sığır lökozunun seroepidemiolojisi ve patolojisi. *A.Ü. Vet. Fak.* 37 (1), 32-45.
- Coffin, J.M., Hughes, S.H., Varmus, H.E. (1997) *Retroviruses*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA.
- Ghysdeal, J., Bruck, C., Kettmann, R. and Burny, A. (1984) Bovine leukemia virus. *Curr. Top. Microbiol. Im-*

munol. 112, 1-19.

Gutierrez, S.E., Dolcini, G.L., Arroyo, G.H., Rodriguez, D.C., Ferrer, J.F. and Esteban, E.N. (2001) Development and evaluation of a highly sensitive and specific blocking enzyme-linked immunosorbent assay and polymerase chain reaction assay for diagnosis of bovine leukemia virus infection in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 62 (10), 1571-1577.

Johnson, R., Gibson, C.D. and Kaneene, J.B. (1985) Bovine leukemia virus: a herd-based control strategy. *Prev. Vet. Med.* 3, 339-349.

Klintervall, K., Naslund, K., Svedlund, G., Hajdu, L., Linde, N. and Klingeborn, B. (1991) Evaluation of an indirect ELISA for the detection of antibodies to bovine leukaemia virus in milk and serum. *J. Virol. Methods.* 33 (3), 319-333.

Martin, D., Arjona, A., Soto, I., Barquero, N., Viana, M. and Gomez-Lucia, E. (2001) Comparative study of PCR as a direct assay and ELISA and AGID as indirect assays for the detection of bovine leukaemia virus. *Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public. Health.* 48 (2), 97-106.

Meas, S., Usui, T., Ohashi, K., Sugimoto, C. and Onuma, M. (2002) Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. *Vet. Microbiol.* 84 (3), 275-282.

Nguyen, V.K. and Maes, R.F. (1993) Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to bovine leukemia virus in serum and milk. *J. Clin. Microbiol.* 31 (4), 979-981.

Otlu, S., Aydın, F., Genç, O., Güler, M.A. and Gökçe, G. (2001) Serological and haematological investigations on bovine leukaemia virus infections in Kars district. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 25, 105-110.

Şen, A., Ülgen, M., Çarlı, K.T. and Batmaz, H. (1995) Seroprevalance of bovine leukemia virus infection in cattle slaughtered at Bursa Abattoir. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 19 (5), 325-327.

Uysal, A., Bilal, T., Yılmaz, H., Tan, H., Bakirel, U., Zerrin, M. ve Arslan, M. (1995) Trakya Bölgesi halk elindeki sığırlarda enzootik sığır lökozunun teşhisinde hematolojik ve serolojik bulgular üzerine karşılaştırılmalı araştırmalar. *İ.Ü. Vet. Fak. Derg.* 21 (2), 301-312.

Yılmaz, K., Gül, Y., Özdemir, H. ve Bolat Y. (1997) Elazığ ve çevresindeki sığırlarda enzootik sığır lökozunun araştırılması. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 21,115-123.