

Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) Kapsamındaki Bölgede Sığırlarda Bovine Adenovirus (BAV Tip-1,2 ve 3) Enfeksiyonunun Seroprevalansı

İrfan ÖZGÜNLÜK¹, Sibel GÜR²

¹Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Afyon

Özet: Bu çalışmada, Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) kapsamındaki bölgede halk elindeki sığırlarda Bovine Adenovirus (BAV) tip 1, 2 ve 3 enfeksiyonlarının seroprevalansları araştırıldı. Bu amaçla, GAP kapsamında yer alan 9 ilden (Siirt, Diyarbakır, Batman, Adıyaman, Şanlıurfa, Gaziantep, Kilis, Mardin ve Şırnak) halk elinde yetiştirilen, rastgele seçilmiş 340 adet sığırdan sağlanan kan serumları kullanıldı. Kan serumları BAV tip 1, 2 ve 3 spesifik antikorlar yönünden mikronötralizasyon yöntemi kullanılarak test edildi. Örneklenen popülasyonda BAV tip-1, 2 ve 3 enfeksiyonlarının seroprevalansları sırasıyla %55,5, %34,7 ve %51,7 olarak tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Sığır, Adenovirus, GAP, Seroprevalans

The Seroprevalence of Bovine Adenovirus (BAV type 1,2 and 3) Infection in Cattle in Southeastern Anatolia Project (GAP) Area

Summary: This study was carried out to determine seroprevalences of Bovine Adenovirus (BAV) type 1, 2 and 3 infections in cattle housed in private farms in Southeastern Anatolia Project (GAP) area. For this purpose, 340 sera samples collected from randomly selected cattle, which are found in private farms from 9 provinces (Siirt, Diyarbakir, Batman, Adiyaman, Sanliurfa, Gaziantep, Kilis, Mardin and Sırnak), in GAP area were used. Sera were tested for antibodies against BAV type 1, 2 and 3 using Serum Neutralization (SN) test. Seropositivity rate in sampled population for BAV 1, 2, 3 was detected as 55,5 %34,7 % and 51,7%, respectively.

Key words: Bovine, Adenovirus, GAP, seroprevalence

Giriş

Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP), Türkiye tarihinin bugüne kadar gerçekleştirdiği en büyük ve aynı zamanda en kapsamlı bölgesel kalkınma projesidir. Proje kapsamında bulunan hidroelektrik santraller ile ülkemizin elektrik enerjisinin önemli bir kısmı karşılanırken aynı zamanda baraj ve göletlerdeki sudan tarımsal sulama alanında yararlanılması planlanmış olup, tamamlanma aşamasına gelmiştir. Bölgede küçük aile işletmesi ve meradan faydalanmaya dayalı yapılmakta olan sığır yetiştiriciliğinin, sulu tarıma geçildiğinde bölgede yem bitkileri ve hububat üretimindeki artışa paralel olarak, yöntem değiştirilerek ekstansif sistemden entansif sisteme geçmesi ile kültür ırkı sığırlardan oluşan orta ve büyük çaplı işletmeler oluşması doğal bir beklentidir (Anonim-a, 2011; Anonim-b, 2011).

Sığırların solunum ve sindirim sistemi enfeksiyonlarının önemli viral patojenleri arasında yer alan BAV (Bovine Adenovirus) çift ipçikli bir DNA virusudur. Zarsız, ikozahedral simetriye sahip olan virus, dünyada geniş bir yayılım alanına sahiptir ve memeli hücre kültürlerinde sitopatik etki meydana getirerek ürerler. BAV'ın 2 gruba ayrılmış 10 serotipi vardır. Bu serotiplerin ayrımı mikronötralizasyon testiyle yapılabilmektedir (Cole, 1971; Kahrs, 1986).

Enfeksiyon genellikle büyük sürülerde görülür, gençler daha fazla etkilenirler ve semptomlar daha şiddetli seyreder. Doğal koşullarda inkubasyon periyodu 7-10 gün kadardır (Aldasy ve ark., 1965). Enfekte hayvanlarda pnömonitis, enteritis, konjunktivitis ve keratokonjunktivitis bulguları gözlenir (Darbyshire, 1968; Ide ve ark., 1969; Mattson, 1973) Semptomlar genellikle solunum sistemi

bozukluklarıyla başlar, seröz gözyaşı ve burun akıntısı, öksürük, pnömonitis; sindirim sistemiyle ilgili bulgular salivasyon, sulu sarı-yeşil renkli dışkılama ile karakterize olup anoreksi ve ateş genel bulgulardandır (Mattson, 1973; Burki ve ark., 1980). Danalarda BAV tip-3 ile yapılan deneysel enfeksiyonlarda şiddetli nekrotik bronşitis, bronşiolitis, alveolitis ve akciğerlerde yangısal hücre infiltrasyonu ve BAV tip-2'de pnömositlerin sayısında artış meydana gelmiştir (Narita, 2002). Sekonder bakteriyel enfeksiyonların da olguya karıştığı durumlarda klinik tablo daha ağır seyreder. Adenoviral pneumoenteritis salgını durumunda danalarda ölümler, ölmeyenlerde ise sindirim sistemi bozuklukları sonucunda zayıflama ve gelişim geriliği nedeniyle ağır ekonomik kayıplar meydana gelebilmektedir (Mattson, 1973; Burki ve ark., 1980).

Sığırlarda Adenovirus enfeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak görülmekte (Rossi ve ark., 1973; Cancellotti ve ark., 1976; Lehmkuhl ve ark., 1998) ve Türkiye'de de yaygın olduğu farklı araştırmacılar

tarafından ortaya konulmuştur (Burgu ve ark., 1991; Burgu ve Tokar, 1985; Alkan ve ark., 1997).

Bu çalışmada, GAP projesiyle ilgili beklentiler göz önünde bulundurularak, bölge kapsamındaki illerde halk elindeki sığırlarda BAV tip1-2-3 enfeksiyonlarının seroprevalansının araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Hücre Kültürü: Araştırmada BAV tip 1-2-3 viruslarının üretilmesi, enfeksiyözite gücü tayini, serum nötralizasyon ve serum nötralizasyon (SN₅₀) testi aşamalarında MDBK (Madine Derby Bovine Kidney) hücre kültürü, vasat olarak da DMEM (Dulbecco's Minimal Essential Medium) ve %10 FDS (Fötal Dana Serumu) kullanıldı.

Virus: Çalışmada Bovine adenovirus tip 1-2-3 virusları kullanıldı, virusun doku kültürü enfektif dozu Kaerber (1964) metoduna göre hesaplandı, Bovine adenovirus tip 1-2-3 için titreler sırasıyla DKID₅₀: 10⁵/0,1ml, 10^{3,5}/0,1ml, 10^{4,5}/0,1ml olarak tespit edildi.

Tablo 1: BAV tip 1 -2-3 enfeksiyonlarının mikronötralizasyon testi sonuçları
Table 1: Result of microneutralization test for BAV type 1 -2-3 infection

İller	Numune Sayısı	BAV -1		BAV -2		BAV -3	
		Ab(+)	(%)	Ab(+)	(%)	Ab(+)	(%)
Diyarbakır	44	27	61,3	18	40,9	22	50,0
Batman	52	27	51,9	26	50,0	26	50,0
Adıyaman	35	22	62,8	8	22,8	18	51,4
Şanlıurfa	34	18	52,9	3	8,8	26	76,4
Gaziantep	43	26	60,4	8	18,6	11	25,5
Kilis	34	17	50,0	3	8,8	18	52,9
Mardin	35	20	57,1	18	51,4	17	48,5
Şırnak	32	11	34,3	17	53,1	22	68,7
Siirt	31	20	64,5	18	58,0	16	51,6
Toplam	340	188	55,2	119	35,0	176	51,7

Serumlar: GAP kapsamında bulunan 9 ilden (Adıyaman, Batman, Diyarbakır, Gaziantep, Mardin, Kilis, Siirt, Şanlıurfa ve Şırnak) küçük aile işletmelerinde yetiştirilen 340 adet bir yaş üzeri değişik ırk ve cinsiyette sığırdan kan örnekleri (Tablo 1). Steril kan tüplerine (Greiner, 187246, Almanya) alınan kan örnekleri +4°C'de 3000 rpm'de santrifüj edildikten sonra üstte kalan serum kısmı steril stok tüplere aktarıldı ve 56°C'de 30 dakika inaktivasyonu takiben kullanılmaya kadar -20°C'de saklandı.

Metot

Mikronötralizasyon testi: BAV enfeksiyonunun için

seroepidemiolojik kontrollerde mikronötralizasyon testi başarıyla kullanılmaktadır (Bibrack ve McKercher, 1971). Elde edilen kan serumlarında BAV tip 1-2-3 spesifik nötralizan antikorları tespit edebilmek amacıyla Frey ve Liess'in (1971) bildirdiği yöntemden yararlanıldı. Bu amaçla 1/5 oranında yapılan serum sulandırılmaları 96 gözlü mikropleytin iki gözüne 50µl konuldu. Üzerlerine eşit hacimde 100 DKID₅₀/0,05ml oranında sulandırılan virus ilave edildi, daha sonra mikropleyt tabletleri 37°C'deki %5 CO₂'li etüvde 1 saat nötralizasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm gözlemlere 50µl MDBK hücre süspansiyonu (300.000 hücre/ml) konuldu

ve etüve kaldırıldı, 5-6 gün sonra doku kültürü mikroskobunda değerlendirmeye tabi tutuldu.

Serum Nötralizasyon testi (SN₅₀): Nötralizasyon testi sonucunda antikor varlığı tespit edilen numunelerdeki antikor düzeylerini belirlemek amacıyla serum örneklerinin Log2 tabanına göre sulandırılmaları (1/5, 1/10, 1/20.....1/160) hazırlandı ve mikronötralizasyon testi uygulandı.

Bulgular

Virusun enfeksiyözite gücü: BAV tip 1-2-3 viruslarının enfeksiyözite güçleri sırasıyla DKID₅₀: 10⁵/0,1 ml, 10^{3,5}/0,1ml ve 10^{4,5}/0,1ml olarak belirlenmiştir.

Tablo 2: BAV tip 1-2-3 enfeksiyonlarının dağılımı

Table 2: Distribution of BAV type 1-2-3 infections

Toplam koyun sayısı	Seropozitif koyun sayısı							Toplam
	Tek enfeksiyon			İki enfeksiyon			Üç enfeksiyon	
	Tip-1	Tip-2	Tip-3	Tip-1-2	Tip-1-3	Tip-2-3	Tip-1-2-3	
	61(% 17,9)	26(%7,6)	44(%12,9)	28(% 8,2)	67(% 19,7)	33(% 9,7)	32 (% 9,4)	
340	131 (% 38,5)			128 (% 37,6)			32 (% 9,4)	291(% 85,6)

bireylerin 131 (% 38.5) tanesinde bu üç virusun birine, 128 (% 37.6) numunede iki ve 32 (%9.4) numunede ise her üç enfeksiyona karşı da antikor taşıdıkları saptanmıştır (Tablo 2).

Serum Nötralizasyon-50 (SN₅₀) testi: Mikronötralizasyon testi sonucunda seropozitif olduğu belirlenen numunelere antikor düzeylerinin saptanması amacıyla Serum Nötralizasyon-50 (SN₅₀) testi uygulandı ve veriler Tablo 3'te özetlendi. BAV tip 1 enfeksiyonu için seropozitif bulunan 188 numunenin antikor titreleri 1/5 ile 1/160, BAV tip 2 enfeksiyonu için seropozitif bulunan 119 örneğin antikor titreleri 1/10 ile 1/160, BAV tip 3 enfeksiyonu için seropozitif bulunan 176 numune antikor titreleri 1/20 ile 1/160 arasında tespit edildi. Ancak her üç tip için antikor seviyelerinin yüksek olduğu ve 1/40 ile 1/80 oranlarında yoğunlaştığı gözlemlendi (Tablo 3).

Tablo 3: BAV tip 1-2-3 antikor titre dağılımı

Table 3: Distribution of antibody titers for BAV type 1-2-3

Dilüsyon	Antikor titre dağılımı (%)		
	BAV 1	BAV 2	BAV 3
1/5	2,1	0,0	0,0
1/10	7,4	5,0	0,0
1/20	16,4	17,0	7,5
1/40	28,0	29,6	38,0
1/80	24,8	31,4	31,8
1/160	21,2	17,0	22,7

Mikro Serum Nötralizasyon testi: Dokuz ilden toplanan toplam 340 kan serumu BAV tip 1-2-3 spesifik nötralizan antikor varlığı yönünden test edildi ve sonuçlar Tablo 1'de özetlendi. BAV tip 1-2-3 için sırasıyla % 55,5, % 34,7 ve % 51,7 seropozitif oranlar elde edildi. BAV tip 1 enfeksiyonu için % 34,3 (Şırnak) ile % 64,5 (Siirt), BAV tip 2 enfeksiyonu için % 8,8 (Şanlıurfa, Kilis) ile % 58 (Siirt), BAV tip 3 enfeksiyonu için ise % 25,5 (Gaziantep) ile % 76,4 (Şanlıurfa) arasında değişen oranlarda farklılık gösteren değerler tespit edildi.

Tek bir tip veya birden fazla tip yönünden seropozitif oranlar değerlendirildi. Seropozitif olan

Tartışma ve Sonuç

Bovine Adenovirüsler tüm dünyada yaygın olan enfeksiyonlardır. Lehmkuhl ve ark. (1998) 2-5 aylık danalarda BAV 1-2-3'ü izole etmişlerdir. Mikronötralizasyon testi ile yapılan serolojik çalışmalarda İtalya'da 405 sığırdan BAV 1-2-3 enfeksiyonları için sırasıyla % 68,9, % 77,8, % 84,4 (Cancelotti ve ark., 1976), Amerika'da BAV-1'e karşı yapılan serosurveyde 3 yaş üstündeki sığırlarda antikor dağılımının daha genç hayvanlara göre çok daha yüksek olduğu bulunmuştur (Rossi ve ark., 1973).

Türkiye'de BAV tip 1-2-3 enfeksiyonları ilk kez Burgu ve Toker (1985) tarafından tespit edilmiş olup, 288 sığırdan yapılan çalışmada sırasıyla % 81,6, % 96,5 ve % 95,8 oranlarını tespit etmişlerdir. Yavru ve Öztürk (1990) BAV tip 1 için erişkinlerde % 17,3, yavruarda ise % 10,7, Öztürk ve ark. (1992) BAV tip 2 için % 26 seropozitiflik tespit etmişlerdir. Alkan ve ark., (1997) BAV tip 1-2-3 için sırasıyla % 23,7, % 35,2 ve % 12,0 oranlarını bulmuşlardır.

Bu çalışmada GAP kapsamındaki 9 ilden toplanan 340 numune BAV Tip 1-2-3 için mikronötralizasyon testiyle değerlendirildi. BAV tip 1 enfeksiyonu için tespit edilen en düşük ve en yüksek oranlar % 34,3 (Şırnak) ile % 64,5 (Siirt) arasında olup ortalama % 55,5 (189/340) olarak bulundu (Tablo 1).

BAV tip 2 için % 8,8 (Şanlıurfa) ile % 58 (Siirt) arasında değişen ve ortalamada % 34,7 (118/340), BAV tip 3 için ise % 25,5 (Gaziantep) ile % 76,4 (Şanlıurfa) arasında değişen ve ortalama % 51,7 (176/340) olarak tespit edildi. Tespit edilen bu değerlerin Türkiye'de daha önce yapılan çalışmalarda bulunan değerlere yakın olduğu saptanmıştır. Örnekleme yapılan illerdeki sürülerin hiçbirinde BAV 1-2-3 enfeksiyonuna karşı tümüyle seronegatiflik saptanmadı. Seropozitif olduğu belirlenen bireyler SN₅₀ testine tabi tutuldular, sonuç olarak 1/5 ile 1/160 arasında değişen ancak yoğunlukla 1/40-1/80 sulandırılmada yoğunlaşan antikor titreleri belirlendi (Tablo 3). BAV 1-2-3 enfeksiyonlarının aynı bireyde gerek tek tek, gerek ikili ve gerekse üçlü olarak aynı hayvanda bulunduğu, tekli ve ikili enfeksiyonun oldukça yüksek olduğu belirlendi (Tablo 2).

Elazhary ve Derbyshire (1979) virusun bulaşma şartlarını 6-32°C ve % 30-90 nem aralığında araştırmışlar ve düşük ısı ve yüksek nem ortamında virusun daha hızlı bulaştığını saptamışlardır. Key ve Derbyshire (1984) sonbahar ve ilkbaharda doğan danalarda BAV tip 3 enfeksiyonunu araştırmışlar ve sonbaharda doğanlarda enfeksiyonun insidensini daha yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmada örneklerin toplanma mevsimi yaz olmasına rağmen elde edilen seropozitiflikler oldukça yüksek bulunmuştur. BAV enfeksiyonunun bulaşma şeklinin aerosol yolla da rahatlıkla olabileceği göz önüne alınırsa enfeksiyonun seroprevalansının yüksekliği açıklanabilir.

Sığırların en önemli solunum ve sindirim sistemi patojenleri arasında yer alan Bovine Adenovirüsler ekonomik yetiştiriciliğin başlıca sorunları arasında yer almaktadır. Enfeksiyonla mücadelede sürü sağlığının korunması için gerekli hijyen tedbirlerinin alınması, uygun ve yeterli beslemeye önem verilmesi, hayvanların stres faktörlerinden mümkün olduğunca korunması, düzenli serolojik kontrollerin yapılması ve ayrıca sürüye yeni katılacak hayvanların kontrolden geçirilmesi büyük önem taşımaktadır. Ülkemizde adı geçen enfeksiyonun yaygınlığı göz önünde bulundurulduğunda sayılan tedbirlere ilave olarak sahada sirküle olan biyotiplere karşı aşılama yapılması pratik yararlılık açısından önemle tavsiye edilmektedir.

Kaynaklar

Aldasy P, Csontos L, Bartha A, 1965: Pneumo-enteritis in calves caused by adenoviruses. Acta Vet Acad Sci Hung, 15,167-175.

- Alkan F, Özkul A, Karaoğlu MT, Bilge S, Akçay, Burgu İ, Yeşilbağ K, Oğuzoğlu TÇ, 1997: Sığırlarda viral nedenli solunum sistemi enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 44,73-80.
- Anonim, 2011a: <http://www.gap.gov.tr/gap> Erişim tarihi: 05.11.2011
- Anonim, 2011b: <http://www.gap.gov.tr> Erişim tarihi: 05.11.2011
- Bibrack B, McKercher, DG 1971: Serologic evidence for Adenovirus infections in California Cattle. Am J Vet Res,32,805-807.
- Burgu I, Akca Y, Sahal M, 1991: First isolation of bovine adenovirus type-3 in Turkey. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 98,237.
- Burgu İ, Toker A, 1985: Türkiye'de sığır Adenoviruslarının (Tip 1-2-3) serolojik olarak tespiti. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 32, 223-230.
- Burki F, Schlerka G, Burtscher H, Hinaidy B, 1980: Infektionsversuche an Mastkalbern mit dem bovinen Adenovirus Typ 4. Dtsch Tierarztl Wochenschr, 87,80-88.
- Cancelotti F, Turilli C, Gagliardi GG, 1976: Indagine sierologica nei confronti degli adenovirus bovini tipo 1, 2 e 3 nel veneto. Atti Soc. It. Buiatria. 8:189-194.
- Cole AM, 1971: Experimental adenovirus pneumonia in calves. Aust Vet J, 47,306-311.
- Darbyshire J, 1968: Bovine Adenoviruses. J Am Vet Med Assoc, 152, 786-792.
- Elazhary MA, Derbyshire JB, 1979: Aerosol stability of bovine Adenovirus type 3. Can J Comp Med, 43,305-312.
- Ide PR, Thomson RG, Ditchfield WJB, 1969: Experimental adenovirus infection in calves. Can J Comp Med, 33,1-9.
- Kaerber G, 1964: In diagnostic procedures for virus and rickettsial disease. Public Health Assn, 3, 48-50.
- Kahrs RF, 1986: Viral Disease of Cattle. The Iowa State University Press, Iowa.
- Key DW, Derbyshire JB, 1984: Serological studies of parainfluenza type 3 virus, bovine adenovirus type 3 and bovine respiratory syncytial virus infection in beef calves. Vet Microbiol, 9, 587-592.
- Lehmkuhl HD, Briggs RE, Cutlip RC, 1998: Survey for antibodies to bovine adenoviruses in six- to nine-month-old feedyard cattle. Am J Vet Res, 59, 579-80.
- Mattson DE, 1973: Naturally occurring infection of calves with bovine adenovirus. Am J Vet Res, 34, 623-629.

Narita M, Yamada T, Tsuboi T, Kawashima K, 2002: Immunohistopathology of calf pneumonia induced by endobronchial inoculation with bovine adenovirus 3. *Vet Pathol*, 39,565-571.

Öztürk F, Yavru S, Duman R, Şimşek A 1992: Konya bölgesi sığırlarında sığır adenovirus tip-2 enfeksiyonlarının serum nötralizasyon ile araştırılması. *Vet Bil Derg*, 8, 70-73.

Rossi CR, Kiesel GK, Emrick VR, 1973: Distribution of antibody to bovine adenovirus type 1 in Alabama cattle, as determined by micro-serum-neutralization test. *Am J Vet Res*, 34, 841-2.

Yavru S, Öztürk F, 1990: Konya Bölgesi sığırlarında sığır adenovirus tip-1 üzerinde nötralizasyon ve agar jel presipitasyon testi ile karşılaştırmalı araştırmalar. *Veterinarium*, 1, 28-32.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. İrfan ÖZGÜNLÜK
Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji A.B.D.
Eyyübiye Yerleşkesi 63 200 Şanlıurfa
e-mail: ozgunluk@yahoo.com