

Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Sığır Adenovirus (Tip-1, 2, ve 3) Enfeksiyonlarının Seroprevalansı

Taner KARAOĞLU¹ Mehmet ÇABALAR² Soydal ATASEVEN²

¹Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı - ANKARA

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı - VAN

ÖZET

Bu araştırmada, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesindeki 5 farklı ilden toplam 471 adet sığır örneği alındı. Bu sığırların serum örnekleri Bovine adenovirus tip-1 (BAV-1), Bovine adenovirus tip-2 (BAV-2) ve Bovine adenovirus tip-3 (BAV-3)'e karşı mikronötralizasyon testi ile incelendi. Toplam 471 adet serum örneğinden 28 adedinin (% 5.9) Bovine adenovirus tip-1'e, 206 adedinin (% 43.7) Bovine adenovirus tip-2'ye ve 12 adedinin (% 2.5) Bovine adenovirus tip-3'e karşı spesifik nötralizan antikor taşıdığı tespit edildi. Yetmişaltı adet (% 16.1) serum örneği hem Bovine adenovirus tip-1 hem de tip-2 ve tip-3'e karşı seronegatif olarak saptanırken, 25 adet (% 5.3) serum örneği ise her 3 virus tipi için seropozitif bulundu.

Anahtar kelimeler: Sığır, Adenovirus, Serum Nötralizasyon.

Seroprevalance of Bovine Adenovirus (BAV) type 1-2 and 3 infections in eastern and southeastern Anatolia, Turkey

SUMMARY

In this research, 471 cattle sera were sampled from 5 different district of eastern and southeastern Anatolia, Turkey. Serum samples were examined for Bovine adenovirus type-1 (BAV-1), Bovine adenovirus type-2 (BAV-2) and Bovine adenovirus type-3 (BAV-3) by microneutralization test. Of the 471 sera, 28 (5.9 %) were seropositive for Bovine adenovirus type-1, 206 (43.7 %) for Bovine adenovirus type-2 and 12 (2.5 %) for bovine adenovirus type-3 specific neutralising antibodies. Twenty five sera (5.3 %) were seropositive for all the Bovine Adenovirus type 1, 2 and 3, whereas 76 serum samples (16.1 %) were detected as seronegative for Bovine adenovirus type-1,2 and 3.

Key words: Bovine, Adenovirus, Serum Neutralization.

GİRİŞ

Sığır Adenovirusları (BAV) bütün dünyada yaygın olarak görülmektedir. Adenoviruslar, insanlarda ve hayvanlarda latent olarak bulunabildiği gibi, klinik enfeksiyona da neden olabilmektedir. Bu nedenle sığır adenovirusları dünyanın birçok bölgesinde, klinik olarak sağlıklı görünümlü sığırlardan izole edilebilmesinin yanında, pneumoni, enteritis, diarreha ve konjunktivitiz olgularından da izole edilebilmiştir (6,11-14).

Sığır adenovirusları iki alt grup içinde, 9 serotip olarak klasifiye edilmiştir (6,21,30). Birinci alt grup içinde serotip 1-2-3 ve 9 yer almakta, 2. alt grubu ise serotip 4-5-6-7-8 oluşturmaktadır. Bu iki alt grubu oluşturan serotiplerin farklı antijenik özellikleri bulunmakta, altgrup-1 içinde yer alan serotipler memeli hücre kültürlerinin birçoğunda çoğalabilmelerine karşın, altgrup-2 içinde yer alan serotipler yalnızca dana testis hücre kültüründe gelişebilmektedir(6). Sığır adenovirusları hücre kültürlerinde yuvarlaklaşma ve intranükleer inklüzyon cisimciği oluşumu (2) ile karakterize sitopatolojik etki (CPE) meydana getirmekte, altgrup-1 tipi viruslar tek tip inklüzyon cisimciği, altgrup-2 virusları ise multiple inklüzyon cisimciği oluşturmaktadır (6).

Sığır adenovirusları, sığır popülasyonu içinde geniş bir yayılım alanına sahiptir. Hasta sığırlarda solunum ve sindirim sistemi semptomları, ateş ve iştahsızlık gözlenmektedir. Hastalık genellikle solunum sistemi enfeksiyonu semptomları ile başlamakta, nasal ve konjunktival seröz akıntuya öksürük iştirak etmektedir. Sindirim sistemi enfeksiyonu

salivasyon ile başlamakta, hafif sulu gri-sarı renkli ishal görülmekte, sekonder bakteriyel enfeksiyonların iştiraki ile hastalık ağırlaşmakta ve sürü içinde kayıplara neden olmaktadır. Solunum sistemi enfeksiyonu ve pneumoenteritis olgularında önemli bir yer tutan sığır adeno viruslar fütusu transplental olarak enfekte etmekte (3) ve ağır ekonomik kayıplar meydana gelmektedir.

Enfeksiyonun bulaşmasında, nasal, konjunktival sekretler, gaita ve idrar önemli rol oynamaktadır (1,5,6,26). Virus izolasyonu ise bu sekret ve ekskretlerden ve post-mortem olarak da sığırların, baş mukoz membranı, bronş, ince bağırsak, tonsil, akciğer, karaciğer ve testis homojenizatının dana testis hücre kültürü inokulasyonu sonucu yapılabilmektedir. Bunun yanında sığır adenovirus enfeksiyonları, Serum nötralizasyon (SN) (2,4,27), Agar jel immüdifüzyon (AGID) (13,23), Hemaglutinasyon inhibisyon (HAI) (10), Komplemant Fiksasyon (1), İmmunfloresan (IF) (20,28), ELISA (15,29) ve İmmun-elektronmikroskopi (19) teknikleri ile de tespit edilebilmektedir.

Bu çalışma ile yetiştiricilik açısından önem taşıyan ve ağır ekonomik kayıplara neden olabilen sığır adenovirus enfeksiyonunun Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde bazı yerleşim birimlerindeki seroprevalansın tesbiti hedeflenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Virus: Araştırmada serum nötralizasyon testinin uygulanması amacı ile Bovine Adenovirus tip-1 (BAV-1), Bovine Adenovirus tip-2 (BAV-2) ve Bovine Adenovirus tip-3

(BAV-3) kullanıldı.

Hücre kültürü: BAV-1,2 ve 3'ün üretilmesi ile viruslarının enfeksiyözite titrelerinin tesbitinde ve serum nötralizasyon testinin uygulanmasında Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) devamlı hücre kültüründen yararlanıldı.

Serum Örnekleri: Araştırmada, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesindeki 5 farklı ilden toplam 471 adet sığıran örneği toplandı. Örneklemelerin yapıldığı iller ve örneklenen hayvan sayısı tablo 1'de verildi.

Tablo 1. Örneklemelerin yapıldığı iller ve örneklenen hayvan sayısı

Sıra No	İller	Örneklenen Hayvan sayısı
1	Van	269
2	Ağrı	31
3	Ş.Urfa	100
4	Diyarbakır	49
5	G.Antep	22
Toplam		471

Bu hayvanlardan pulverize kaolin içeren tüpleri (Greiner, Nuertingen, Germany) alınan kanların serumu ayrıldıktan sonra steril stok tüplerine aktarıldı ve 56°C'de 30 dakika bekletilerek inaktive edildi. Serum örnekleri test edilinceye kadar -20°C'de saklandı.

Serum Nötralizasyon Testi (SNT): Serum örnekleri, Frey ve Liess'in (16) bildirdiği yöntemle göre mikronötralizasyon testine tabi tutuldu. Bu amaçla 96 gözlü mikropleytlerin (Greiner, Nuertingen, Germany) bütün gözlerine 45µl Eagle's

Minimal Essential Medium (EMEM) konuldu. Daha sonra her bir serum örneği için 2 göz kullanılmak üzere 5'er µl serum örneği ilave edildi. Bibrack ve Mc Kercher'in (4) bildirdiği gibi 1/10 oranında sulandırılmış olan serum örneklerinin üzerine Frey ve Liess'in (16) bildirdiği yöntemle göre titresi hesaplanan BAV tip-1'den 50 µl konuldu ve pleytler 37°C, % 5 CO₂'li etüvde 1 saat süreyle inkubasyona bırakıldı. Süre sonunda ml'de 300.000 hücre olacak şekilde hazırlanan MDBK hücre süspansiyonundan her göze 50 µl ilave edildi. Bu test prosedürü, aynı serum örneklerine BAV tip-2 ve BAV tip-3 için de tekrarlandı. Pleytlerin üzerleri toksik olmayan bant ile kapatılarak 37°C'lik, % 5 CO₂'li etüve kaldırıldı ve hücrelerde meydana gelen sitopatolojik etki (CPE) doku kültürü mikroskobu (Olympus, Tokyo, Japan) ile değerlendirildi.

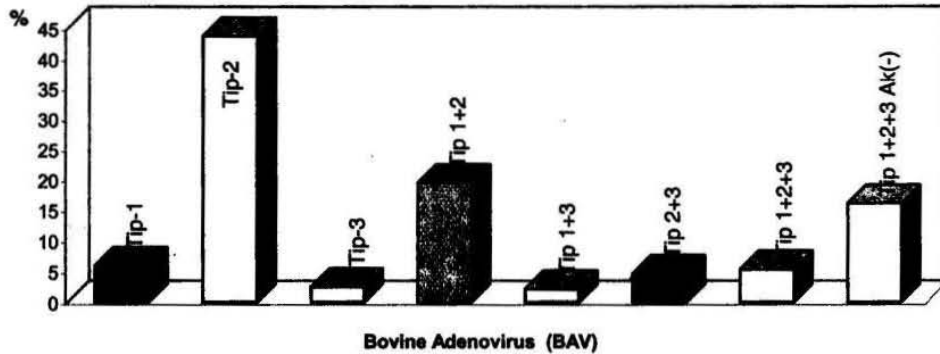
BULGULAR

Araştırmada test edilen 471 adet serum örneğinden 28 adedinin (% 5.9) BAV tip-1'e, 206 adedinin (% 43.7) BAV tip-2'ye ve 12 adedinin de (% 2.5) BAV tip-3'e karşı nötralizan antikor taşıdığı tespit edildi (Tablo 2.).

Araştırmada kullanılan 471 adet serum örneğinin 92 adedinde (% 19.5) BAV tip-1 ve 2'ye karşı, 10 adedinde (% 2.1) BAV tip-1 ve 3'e karşı, 22 adedinde (% 4.6) BAV tip2 ve 3'e karşı, 25 adedinde ise (% 5.3) BAV tip-1,2 ve 3'e karşı antikor varlığı saptandı. Yetmiş altı adet (% 16.1) serum örneğinde ise BAV'a (tip 1-2 ve 3) karşı nötralizan antikor varlığı tespit edilemedi (Tablo 2, Grafik 1).

Tablo 2. Araştırmada kullanılan serum örneklerinin Serum Nötralizasyon testi sonuçları

Sıra No	Örneklenen serum sayısı	BOVINE ADENOVIRUS (BAV)																
		Tip-1 Ak (+) %		Tip-2 Ak (+) %		Tip-3 Ak (+) %		Tip-1+2 Ak (+) %		Tip-1+3 Ak (+) %		Tip-2+3 Ak (+) %		Tip-1+2+3 Ak (+) %		Tip-1+2+3 Ak (-) %		
01	269	18	6.6	96	35.6	11	4.0	64	23.7	5	1.8	17	6.3	11	4.0	47	17.4	
02	31	-	0	24	77.4	-	0	-	0	-	0	1	3.2	-	0	6	19.3	
03	100	-	0	76	76.0	1	1.0	2	2.0	-	0	4	4.0	-	0	17	17.0	
04	49	6	12.2	2	4.0	-	0	22	44.8	5	10.2	-	0	14	28.5	-	0	
05	22	4	18.1	8	36.3	-	0	4	8.1	-	0	-	0	-	0	6	27.2	
Toplam		471	28	5.9	206	43.7	12	2.5	92	19.5	10	2.1	22	4.6	25	5.3	76	6.1



Grafik 1. Serum örneklerinde BAV'a (Tip-1, 2 ve 3) karşı oluşan nötralizan antikorların dağılımı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bütün dünyada sığır adenovirus (BAV) enfeksiyonunun tesbitine yönelik olarak yapılan çalışmalar (9,18,22) sözkonusu enfeksiyonun yaygın olarak görüldüğünü ortaya koymaktadır.

Cancellotti ve ark. (9), farklı yaşlardaki 405 adet sığır serumuna uyguladıkları mikronötralizasyon testinde, 278 adet örneğin (% 68.9) BAV tip-1'e, 315 adet örneğin (% 77.8) BAV tip-2'ye ve 341 adet örneğin (% 84.4) BAV tip-3'e karşı nötralizan antikor taşıdığını tespit etmiştir. Klein ve ark. (18) örnekledikleri 40 adet kan serumunun 35 adedinde (% 87.5) BAV'a karşı nötralizan antikor varlığını tespit etmiştir. Mohanty (22) yaptığı çalışmada sığırlarda BAV tip-1'e karşı % 38, BAV tip-3'e karşı % 45 oranında seropozitiflik saptamış, sahadaki sığır popülasyonlarında adenovirus enfeksiyonunun oldukça yaygın olarak görüldüğünü bildirmiştir.

Ülkemizde de sığır adenovirus enfeksiyonunun varlığının tesbitine yönelik olarak çeşitli serolojik çalışmalar (7,8,24, 25,31) yapılmıştır.

Burgu ve Akça (7) 1982 yılında Gelemen Devlet Üretme çiftliği sığırlarında yaptıkları taramada 60 adet serum örneğinin 23 adedinde (% 28.3) BAV tip-1'e, 42 adet serum örneğinden 28 adedinde (% 66.6) BAV tip-2'ye ve 52 adet serum örneğinden 37 adedinde (% 71.1) BAV tip-3'e karşı nötralizan antikor varlığı saptamışlardır. Burgu ve Toker (8) tarafından 1985 yılında yapılan diğer bir çalışmada ise Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden sağlanan 288 kan serumu örneği BAV tip-1, tip-2 ve tip-3'e karşı mikronötralizasyon testine tabi tutulmuş, test edilen serum örneklerinin 235 adedinde (% 81.6) BAV tip-1, 278 adedinde (% 99.5) BAV tip-2 ve 276 adedinde (% 95.8) BAV tip-3'e karşı nötralizan antikor tespit edilmiştir.

Öztürk ve Toker (24), Konya Tarım İşletmesinde BAV tip-1, tip-2 ve tip-3 enfeksiyonlarının varlığını araştırmak amacıyla 214 adet sığır kan serumunu mikronötralizasyon testine tabi tutmuşlar, serum örneklerinin 153'ünde (% 71.4) BAV tip-1'e, 179'unda (% 83.6) BAV tip-2'ye ve 191'inde (% 89.2) BAV tip-3'e karşı nötralizan antikor saptamışlardır. Yavru ve Öztürk (31) yine Konya bölgesinde örnekledikleri 1150 adet kan serumunun 194'ünde (% 16.8) BAV tip-1'e karşı nötralizan antikor tespit etmişlerdir. Öztürk ve ark. (25) Konya bölgesinde yaptıkları başka bir çalışmada sığır adenovirus (BAV) tip-2 enfeksiyonunun varlığını serolojik olarak araştırmışlar ve örnekledikleri 950 adet sığır kan serumundan 247'sinde (% 26.0) BAV tip-2'ye karşı nötralizan antikor varlığını belirlemişlerdir.

Çeşitli araştırmacılar (11,17) Nötralizasyon testinin, adenoviruslara karşı oluşan spesifik nötralizan antikorların tesbiti için uygulanabilecek en duyarlı teşhis metodlarından biri olduğunu ileri sürmektedirler. Bibrack ve Mc Kercher (4), sığır adenovirus enfeksiyonunun tesbitinde uygulanacak serum nötralizasyon testinde, serum örneklerinin 1/10 oranında sulandırılmasını, 1/10 ve daha yukarı titrede antikor içeren serum örneklerinin seropozitif olarak değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada da serum örnekleri 1/10 oranında sulandırılmış ve adenovirus enfeksiyonlarına karşı oluşan spesifik nötralizan antikorların tesbiti için mikro nötralizasyon testi uygulanmıştır. Nötralizasyon testi sonucunda, örneklenen

toplam 471 adet serum örneğinin 28 adedinde (% 5.9) sığır adenovirus tip-1'e, 206 adedinde (% 43.7) sığır adenovirus tip-2'ye ve 12 adedinde (% 2.5) sığır adenovirus tip-3'e karşı spesifik nötralizan antikor varlığı tespit edilmiştir. Araştırmada kullanılan serum örneklerinin 92 adedinde (% 19.5) BAV tip-1 ve 2'ye karşı, 10 adedinde (% 2.1) BAV tip-1 ve 3'e karşı, 22 adedinde (% 4.6) BAV tip-2 ve 3'e karşı ve 25 adedinde ise (% 5.3) BAV tip-1,2 ve 3'e karşı antikor varlığı saptanmıştır. Her üç serotipe karşı seronegatif olarak tespit edilen serum örneği ise 76 adet (% 16.1) olarak belirlenmiştir.

Araştırma sonucunda elde edilen bulgular, örneklemelerin yapıldığı Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesindeki bazı yerleşim merkezlerinde sığır adenoviruslarının birlikte veya tek başlarına solunum ve sindirim sistemi enfeksiyonu olgularında önemli rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır. Özellikle yetiştiricilik açısından önem taşıyan ve ekonomik kayıplara neden olabilen adenovirus enfeksiyonlarına karşı gerekli kontrol ve korunma önlemlerinin alınmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1-Aldasy, P., Csontos, L. and Bartha, A. (1965): Pneumo-enteritis in calves caused by adenovirus. Acta Vet. Acad. Sci. Hung., 15:167-175.
- 2-Bartha, A. (1969): Proposal for subgrouping of bovine adenoviruses. Acta Vet. Acad. Sci. Hung., 19:319-321.
- 3-Bartha, A. and Mate, S. (1983): Transplacental transmission of bovine adenoviruses. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis., 6:189-192.
- 4-Bibrack, B. and Mc Kercher, D. G. (1971): Serologic evidence for Adenovirus infections in California cattle. Am. J. Vet. Res., 32(1):805-807.
- 5-Burki, F., Schlerka, G., Burtscher, H. and Hinardy, B. (1980): Infektionsversuche an Mastkalbern mit dem bovinen Adenovirus type-4. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr., 87: 80-88.
- 6-Burki, F. (1990): Bovine Adenoviruses. Virus Infections of Vertebrates 3, Virus Infectious of Ruminants, 161-169.
- 7-Burgu, İ., Akça, Y. (1982): Gelemen Devlet Üretme Çiftliği sığırlarında bazı viral enfeksiyonlara karşı serolojik araştırmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 29(3-4):506-512.
- 8-Burgu, İ., Toker, A. (1985): Türkiye'de sığır adenoviruslarının (Tip-1,2,3) serolojik olarak tesbiti. Ank. Üniv. Vet. Fak. Derg., 32 (1): 223-230.
- 9-Cancellotti, F., Turilli, C. and Gagliardi, G. (1976): Serological investigation on type 1,2 and 3 bovine adenoviruses in Veneto. Atti della Società Italiana di Buiatria, 8:189-194.
- 10-Ceccarelli, A., Farina, R. and Mani, P. (1979): First seroepidemiological and virological observations on cattle adenoviruses in intensive breeding in Italy. Arch. Vet. Ital., 30 (1-2): 28-32
- 11-Cole, A.M. (1971): Experimental adenovirus pneumonia in calves. Aust. Vet. J., 47:306-311.
- 12-Darbyshire, J.H. (1968): Bovine adenovirus. J.A.V.M.A., 152 (6):786-794.
- 13-Eisa, M. and El Amin, M.A.G. (1972): Adenovirus antibodies in sera animals in the Sudan. S.J.Vet.Sci. and

Anim. Husb., 13(2):45-51.

14-Fenner, F., Bachman, P.A., Gibbs, E.P.J., Murphy, F.A., Studdert, M.J. and White, D.O. (1987): Veterinary Virology.

15-Florent, G. and Marneffe, C. (1986): Enzyme Linked Immunosorbent Assay used to monitor serum anti-bodies in cows and calves vaccinated against adenovirus infection. Veterinaria Moskov, USSR, 5:38-42.

16-Frey, H.R., und Liess, B. (1971): Vermehrungs kinetik und Verwendbarkeit einer stark Zytopathogenen VD-MD Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotiter-Methode. Zbl.Vet.Med., 18:61-71.

17-Kahrs, R.F. (1986): Viral disease of cattle. The Iowa State University Press/Ames, Iowa, 61-70.

18-Klein, M., Early, E., Zellat, J. (1959): Isolation from cattle of a virus related to human adenovirus. Proc.Soc. Exp. Biol. and Med.,102:1-4.

19-Luton, P. (1973): Rapid Adenovirus typing by immunoelectronmicroscopy. J.Clin.Path., 26:914-917.

20-Majewska,H., Kryszkowska,D.S. and Baczynski,Z. (1975): Differential diagnostics of mixed infectious with pneumotropic and enterotropic bovine viruses. III detection of mixed infectious by immuno-fluorescence test using different fluorochromes. Bull.Vet.Lust.Pulawy, 19:14-21.

21-Mattews, R.E.F. (1982): Classification and nomenclature of viruses. Fourth report of the International Committee on Taxonomy of viruses. Basel, Switzerland: S. Karger, 59-61.

22-Mohanty, S.B. (1968): Comments on bovine adenoviruses. J.A.V.M.A., 152(6):792- 794.

23-Obi, T.U. and Taylor, W.P. (1984): Serological survey of Adenovirus antibodies in domestic animals in Nigeria. Comp. Immunol. Microbiol and Inf. Dis., 7(1):63-68.

24-Öztürk, F., Toker, A.(1988):Konya Tarım İşletmesine ait sığırlarda sığır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3'ün serolojik olarak saptanması. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg., 4(1):213-218.

25-Öztürk, F., Yavru, S., Duman, R., Şimşek, A.(1992): Konya bölgesi sığırlarında sığır adenovirus tip-2 enfeksiyonlarının serum nötralizasyon testi ile araştırılması. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg., 8(2):70-73.

26-Rondhuis, P.R. (1970): Bovine Adenoviruses. A comparative, serological and experimental study. Central Diergeneeskundig Instituut, afdeling Rotterdam. Drukkerij-Uitgeverij G. Van Dijk, Breukelen, 83 pp.

27-Rossi, C.R., Kiesel, G.K. and Emrick, V.R. (1973): Distribution of antibody to bovine adenovirus type-1 in Alabama cattle, as determined by micro-serum neutralization test. Am.J.Vet.Res., 34:841-842.

28-Sabiravic, M., Bajrovic, T., Bajalo, N. and Sola, J. (1987): Use of Indirect Immunofluorescence in adenovirus diagnosis Primijera, Veterinarski Glasnik,41(11-12):1006-1008.

29-Schwarzmaier, J.(1983): Detecting antibodies against reoviruses and adeno- associated viruses in the fowl by Elisa. Inaugural Dissertation, Fachbereich Veterinarmedizin der Freien Universität, Berlin, 80.

30-Wigard, R., Bartha, A., Dreizin, R.S., Esche, H., Ginsberg, H.R., Green, M., Hierholzer, J.C., Kalter, S.S., McFerren, J.B., Petterson, U., Russell, W.C. and Wodell, G. (1982): Adenoviridae: Second Report. Intervirology, 18: 169-179.

31-Yavru, S., Öztürk, F. (1990): Konya bölgesi sığırlarında sığır adenovirus tip-1 üzerinde Nötralizasyon ve Agar Jel Presipitasyon testi ile karşılaştırmalı araştırmalar. Veterinarium 1(2):28-32.