

## TÜRKİYE GENELİNDE SIĞIR PARATÜBERKÜLOZU PREVALANSININ ELISA İLE ARAŞTIRILMASI\*

“Prevalance of paratuberculosis in the Turkish cattle population by using absorbed ELISA”

Nuray ATALA\*\*

Erhan AKÇAY\*\*

Kabul Tarihi: 28.09.2001

### ÖZET

Sığır paratüberkülozu (PTB) dünyada yaygın, yetiştiricilik endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara yol açan, kronik seyirli bir hastalıktır. Ülkemizde bugüne kadar PTB'nin prevalansının saptanmasına yönelik genel bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle hastalığın ülkemizde oluşturduğu kayıplarda bilinmemektedir. Bu çalışmada Türkiye coğrafi özelliklerine göre 9 bölgeye bölünmüştür. Bu bölgelerdeki 2 yaş ve üzeri sığırlardan basit tesadüfi örnekleme ile 8873 kan serum örneği toplanmıştır. Örnekler absorbe ELISA ile test edilmiştir. Örneklerin 409'u pozitif bulunmuştur. ELISA'nın sensitivitesi %44, spesifitesi %96 olarak tespit edilmiştir. Bu değerlere göre bölgelerdeki gerçek bireysel prevalans belirlenmiştir. Sonuçlar 1. bölgeden başlamak üzere sırasıyla %2.2 , %3.6, %3.7, %3.6, %0, %1.2, %9.6, %4.5 ve %4.4.olarak bulunmuştur. Türkiye genelinde gerçek bireysel prevalans %3.7 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada her köy bir sürü olarak kabul edilmiş, buna göre görünen sürü prevalansı belirlenmiştir. Sonuçlar 1. bölgeden başlamak üzere sırasıyla %33.3, %43.6, %27.2, %43.1, %26.6, %38.0, %48.2, %31.8 ve %41.2 olarak saptanmıştır. Sürülerin %17.2'sinde 1 pozitif hayvan, %20.5'inde en az 2 hayvan pozitif bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Sığır, *M. paratuberculosis*, Absorbe ELISA, Prevalans , Türkiye

### SUMMARY

Bovine paratuberculosis, widespread in the world, is a chronicle disease which causes a lot of economical losses in the agricultural industry. In our country there has been no study on estimating the prevalence of PTB so far. For this reason it is not known what losses the disease has caused in Turkey. In this study Turkey was divided into 9 provinces in accordance with the geographical characteristics. 8873 sera samples from the cattle that were at least 2 years old were collected randomly in these provinces. The samples were tested with absorbed ELISA , 409 of samples were positive. The sensitivity and the specificity of the ELISA were 44% and 96% respectively. The true individual – animal prevalence in each province was determined as regards to the sensitivity and specificity mentioned above . The results, starting from the first province was 2.2%, 3.6%, 3.7%, 3.6%, 0%, 1.2%, 9.6%, 4.5% and 4.4% respectively. The average true individual – animal prevalence in Turkey was found 3.7%. In this study each village was assume as a herd and the apparent herd prevalence was determined. The results , starting from the first province was 33.3%, 43.6%, 37.2%, 43.1%, 26.6%, 38.0%, 48.2%, 31.8% and 41.2% respectively. The herds were divided into two groups one of which had 1 positive and the others at least 2 positive cattle. 17.2% of the herds had one positive cattle and 20.5% of the herds had at least 2 positive cattle.

**Key Words:** Cattle, *M. paratuberculosis*, Absorbed ELISA, Prevalance, Turkey

\* TAGEM-HS-98-09-04-029 Projesinden Özetlenmiştir.

\*\* Etlık Merkez Vet. ve Kont. Arast . Enst., ANKARA

## GİRİŞ

Paratüberküloz (PTB, Johne hastalığı) *Mycobacterium paratuberculosis*'in neden olduğu, dünyada yaygın, yetiştiricilik endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara yol açan, kronik seyirli, intestinal granülamatozla karakterize bir hastalıktır (2, 20, 21, 32). Hastalık, başta sığır, koyun ve keçi olmak üzere, vahşi ruminantlar, at, domuz, deve ve alpakalarda görülür (1, 20, 24, 32, 34). İnsanlar da enfeksiyona duyarlıdır. Mikroorganizma insanlarda crohn hastalığının nedenidir (7, 9).

Office International des Epizooties (OIE) de enzootik hastalıklar B kategorisinde yer alan hastalık, ülkemizde ihbarı mevcut hastalıklar arasında yer almamaktadır (20).

1895 yılında İlk olarak Johne ve Frothingham tarafından barsaklarda, tipik aside dirençli mikroorganizma bildirmiştir (14).

Ülkemizde hastalığa ilişkin ilk araştırmalar 1928 yılında Sezginer tarafından yapılmıştır (27).

*Mycobacterium paratuberculosis*, *Mycobacteriaceae* familyasında tek cins olan *Mycobacterium* cinsinde yer almaktadır (32). Küçük (0.5-1.5 µm) sporsuz, kapsülsüz, hareketsiz ve asido-rezistans özelliğe sahip fakültatif hücre içi bir bakteridir. Rekombinant DNA ve RNA teknolojileri *M. paratuberculosis* ile *M. avium* 'un antijenik olarak benzer olduğunu ve DNA'nın büyüklüğü ve RNA'nın homolog oluşu ile açıklanmıştır. Bu nedenle bazı araştırmacılar *M. avium subspecies paratuberculosis* adını vermişlerdir (4).

Sığırlar, *M. paratuberculosis*' le genç yaşta infekte olurlar. Buzağılık döneminde kontamine dışkıyla enfeksiyon yaygındır (17, 20). Diğer bulaşma yolları kontamine süt veya kolostrum, kontamine sperma ve intrauterin bulaşmadır (30). Erken yaşlarında enfeksiyona yakalanmasına karşın enfeksiyon 2 yaş ve yukarısı hayvanlarda görülür (28). Hastalığın sığır ve koyun sürülerinde kontrolü uzun

inkubasyon periyodundan dolayı (Türlere bağlı olarak 1.5-5 yıl) da tanısı zordur. Paratüberkülozun başlıca klinik belirtisi yavaş ilerleyen zayıflama ve ishaldir. İshal başlangıçta aralıklı ve hafifken ilerlemiş olgularda şiddetlidir. (12,20,26, 28, 31). Hastalığa çok süt veren ırklarda daha çok rastlanmaktadır (29).

Sığır paratüberkülozu meydana getirmiş olduğu büyük ekonomik kayıplar nedeniyle birçok ülkede yoğun çalışmalara konu olmakta, hastalık üzerinde teşhis, kontrol ve eradikasyon konusunda çalışma ve araştırmalar yapılmaktadır. ELISA, *M. paratuberculosis*'e karşı serumda oluşan antikorları belirleyen spesifik testlerden birisidir. Klinik vakalarda sensitivitesi CFT ile karşılaştırılabilir. Subklinik vakalarda sensitivitesi CFT den daha yüksektir. ELISA diğer testlere göre ucuz, hızlı, sensitivitesi yüksek sayılabilen ve kolayca uygulanabilen bir test olarak kabul edilmektedir (11, 15, 17,25, 28, 34)

Sığır sürülerinde PTB nin kontrolünün yapılabilmesi, ELISA'nın daha yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip olabilmesi için, şüpheli serumların *M. phlei* ile absorbe edilmesi gerektiğini göstermiştir. Bu şekilde *M. phlei* süspansiyonu ile test serumu absorbe edilerek *Corynebacterium* ve *Nocardia* antijenleri ile çapraz reaksiyon vermesi önlenmektedir (18, 19, 35, 36).

Sığır paratüberkülozunun yaygınlığı ülkelere göre farklılık göstermektedir. Ülkemiz sığırlarında paratüberkülozun prevalansı bilinmemektedir. Bugüne kadar, genellikle Tarım İşletmelerine bağlı çiftliklerde serolojik, allerjik ve bakteriyolojik testler kullanılarak PTB'nin prevalansı sınırlı şekilde tesbit edilmeye çalışılmış, ülkemizde genel bir çalışmaya gidilmemiştir (10, 13).

Paratüberküloz bütün dünyada sığırcılık endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara neden olan bir hastalıktır (17). Hastalığa bağlı



ülkemiz hayvancılık endüstrisinde meydana gelen ekonomik kayıplar bilinmemektedir.

Hastalığın tedavisi zordur. Amikasin sülfatın 1 ay süreyle uygulanması, dışkıyla mikroorganizmanın saçımını azaltsa da ekonomik olarak pahalıya geldiği bildirilmiştir (17).

Paratüberküloza karşı aşılama çalışmalarının hayvanları hastalıktan korumada başarıyla kullanılabilirdiği bildirilmektedir. Ancak aşılı hayvanların diğer tanı testlerine yanlış pozitif reaksiyon göstermesi (örneğin tüberküloza) önemli bir sorundur. Bazı araştırmacılar hastalığa karşı aşılamanın subklinik hayvanlarda sütteki verim düzeyinde düşüşü engelleyemediğini, ancak hastalığın klinik belirtilerini azalttığını belirtmektedir (26, 33).

Bu projede absorbe ELISA ile bölgesel ve ülke genelinde sığır paratüberkülozu prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen veriler çerçevesinde bundan sonra geliştirilecek yeni proje ve programlarla ülkemiz sığır populasyonlarında infeksiyonun meydana getirdiği ekonomik kayıpları önleyebilecek çalışmalara gidilebilecektir.

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. Materyal

Sığır paratüberkülozun serolojik tanısında kullanılan örnekler, sığır vebası aşısı sonrası bağışıklık düzeyinin tespiti amacıyla illerden tesadüfi örnekleme metodu ile toplanan serumlardan sağlanmıştır. Toplanan 11.398 serum örneğinden 2 yaş ve yukarısı olan 8.873'ü çalışmada değerlendirilmiştir. Serumlar test edilene kadar -20 °C'de saklanmıştır.

### 2.2. Metod

#### 2.2.1. ELISA

##### 2.2.1.1. ELISA Antijeni

Testte kullanılan antijen OIE'de (20) belirtildiği gibi *M. paratuberculosis* 316F suşundan hazırlanmıştır.

##### 2.2.1.2. Serumların absorbe edilmesi

ELISA da test edilecek serum örnekleri önce *M. phlei* ile absorbe edilmiştir. Serumların absorpsiyonu Yokomizo ve ark. (35) tarafından belirtilen yöntemle yapılmıştır. Buna göre besi yerinde üretilen *M. phlei* otoklav edildikten sonra % 0.85 tuzlu suyla süspanse edilmiştir (5 mg kuru ağırlık / ml). 50 µl serum örneği, 950 µl *M. phlei* süspanسیونu ile karıştırılarak 1 saat oda ısısında bekletildikten sonra süspanسیون 1.200 x g +4 °C'de santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant ELISA'da kullanılmıştır.

##### 2.2.1.3. ELISA'nın yapılışı

ELISA, Milner ve ark. 'nın (19), bildirdikleri yöntemle göre yapılmıştır. Pleytlerin bütün gözlerine karbonat buffer'la sulandırılmış PPD antijeninden 50 µl konulmuştur. Pleytler, +4 °C'de 1 gece inkube edildikten sonra yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkanmışlardır. Her bir göze ikiye bölünmüş % 1 sığır albumini ve %0.5 Tween 20 içeren PBS ile 1/200 oranında sulandırılmış şüpheli serumlardan konulmuştur. Dikey son 4 gözün ikisine pozitif, ikisine negatif referans serumlarından 50 µl konularak nemli ortamda 37 °C'de 1 saat inkube edilmiş süre sonunda pleytler yeniden 3 kez yıkanmıştır. Daha sonra pleytlerin herbir gözüne 50 µl konjugat konulup yeniden inkube edilmiştir. Pleytler tekrar 3 kez yıkandıktan sonra 100 µl substrat solüsyonu konularak 30 dakika oda ısısında bekletilmişlerdir. Reaksiyonu durdurmak için 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konulduktan sonra pleytler 650 nm dalga boyunda okunarak sonuçlar fotometrik olarak değerlendirilmiştir.

##### 2.2.2. Sonuçların değerlendirilmesi

Örneklerin test edilmesinden elde edilen sonuçlar absorbe ELISA'nın, spesifite ve sensitivite değerlerine göre hesaplanarak bireysel gerçek prevalans Marchevsky'nin (16) belirttiği gibi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$TP = \frac{AP + (\text{spesifite}-1)}{\text{Spesifite} + (\text{sensitivite}-1)}$$

TP= Gerçek prevalans

AP= Görünen prevalans  
Türkiye, Devlet İstatistik Enstitüsü'ne (DİE) göre 9 tarımsal bölge kabul edilerek sonuçlar bölgelere göre değerlendirilmiştir. (Çizelge 2.1.).

Çizelge 21. Türkiye'de tarımsal bölgeler

Bölgeler								
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
Ankara	Aydın	Bursa	Adana	Ağrı	Bingöl	Giresun	Adıyaman	Afyon
Bilecik	Balıkesir	Edirne	Antalya	Artvin	Bitlis	Gümüşhane	Amasya	Kayseri
Bolu	Burdur	İstanbul	G. Antep	Erzincan	Diyarbakır	Kastamonu	Elazığ	Konya
Çankırı	Çanakkale	Kırklareli	Hatay	Erzurum	Hakkari	Ordu	Malatya	Nevşehir
Çorum	Denizli	Kocaeli	İçel	Kars	Mardin	Rize	Sivas	Niğde
Eskişehir	Isparta	Sakarya	K. Maraş	Ardahan	Muş	Samsun	Tokat	Aksaray
Kırşehir	İzmir	Tekirdağ	Kilis	Iğdır	Siirt	Sinop	Tunceli	Karaman
Kütahya	Manisa	Yalova	Osmaniye		Ş. Urfa	Trabzon		
Uşak	Muğla				Van	Zonguldak		
Yozgat					Batman	Bayburt		
Kırıkkale					Şırnak	Bartın		
Düzce						Karabük		

Yukarıda belirtilen bölgelerde yer alan her ildeki her bir köy bir sürü olarak kabul edilmiş ve buna göre gerçek bireysel prevalans Boelear ve ark.'nın (3) belirttiği gibi hesaplanmıştır. Buna göre her ilde saptanan seropozitif sürülerdeki seropozitif hayvan sayısı, sürü prevalansı ile çarpılarak toplam hayvan sayısına bölünmüştür

### 3. SONUÇLAR

#### 3.1. ELISA

##### 3.1.1. Negatiflik kriterlerinin belirlenmesi

ELISA'da negatif ve pozitif ayırımının yapılabildiği en uygun serum sulandırma değerinin 1/200 olduğu saptanarak, bu sulandırma oranı testte kullanılmıştır. Ayırım değeri (cut-off) OIE'ye göre (20) negatif kontrollerin ortalama optik dansite (OD) değerine 0.100 eklenmesi ile tespit edilmiştir.

Çizelge 3.1. ELISA'da test edilen örneklerin ve test sonuçlarının yaşlara göre dağılımı

Yaş	Örnek sayısı	Pozitif		Negatif	
		N	%	N	%
2- 5	6485	330	5	6155	95
> 5	2388	79	3	2309	97

Cut off değeri her pleyt için ayrı bulunmuştur. Saptanan bu değer üstünde OD değerine sahip örnekler ELISA'da pozitif olarak değerlendirilmiştir.

##### 3.1.2. Testin Sensitivite ve spesifite değerlerinin belirlenmesi

Negatif ve pozitif serumlarla yapılan örnek çalışmada testin sensitivitesi %44 , spesifitesi %96 olarak belirlenmiştir.

##### 3.1.6. ELISA sonuçları

Test edilen 8873 örneğin 409 adeti pozitif bulunmuştur. ELISA 'da 2-5 yaş arasındaki hayvanların % 5' i, 5 yaşından büyük hayvanların % 3'ü pozitif bulunmuştur. (Çizelge 3.1). Pozitif bulunan 409 hayvanın % 81'inin 2-5 yaş arasında, %19'unun 5 yaşından daha büyük olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.2.).



Çizelge 3.2. Pozitif sonuçların yaşlara göre dağılımı

Yaş	Pozitif	
	N*	%
2- 5	330	81
> 5	79	19

\* Pozitif hayvan sayısı (409)

Çizelge 3.3. Pozitif sonuçların ırklara göre dağılımı

İrk	Örnek sayısı	Pozitif		Negatif	
		N	%	N	%
Montofon	896	47	5	849	95
Holştayn	2698	125	5	2573	95
Simental	117	5	4	112	96
Jersey	202	16	8	186	92
Melez	2243	61	3	2182	97
Yerli	2717	155	6	2562	94

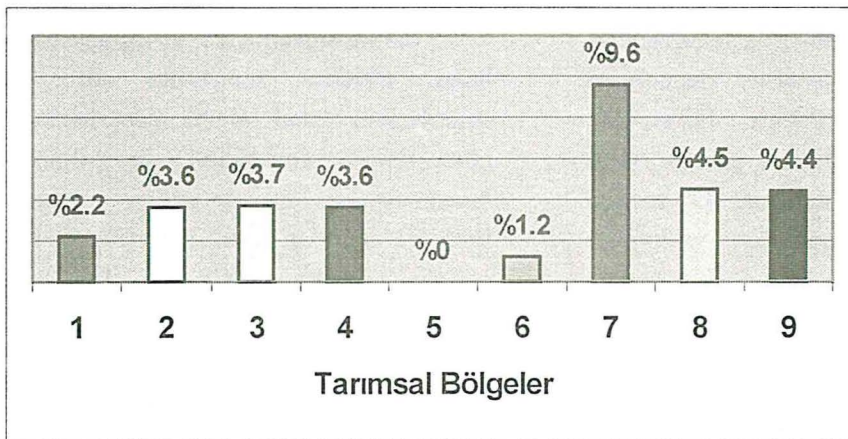
Serum örnekleri, Türkiye DİE'ce belirlenmiş 9 tarımsal bölgeye göre ayrı değerlendirilmiştir. Değerlendirmede uygulanan testin spesifite ve sensitivite

değerlerine göre gerçek bireysel prevalans saptanmış ve bu oranın % 0-9.6 arasında değiştiği görülmüştür (Çizelge 3.4., Şekil 3.1.).

Çizelge 3.4. Tarımsal bölgelere göre hayvan sayısı ve saptanan gerçek bireysel prevalans

Tarımsal Bölgeler	Hayvan sayısı	Pozitif	
		N	%
1.	1210	42	2.2
2.	1513	79	3.6
3.	755	30	3.7
4.	1379	67	3.6
5.	789	21	0
6.	832	32	1.2
7.	1070	79	9.6
8.	772	31	4.5
9.	553	28	4.4
Türkiye Geneli	8873	409	3.7

Şekil 3.1. Tarımsal bölgelere göre gerçek bireysel prevalans



Çalışmada test edilen örneklerin temin edildiği köylerin her biri 1 sürü olarak kabul edilerek sürü sayısının 545 olduğu varsayılmıştır. Buna göre görünen sürü prevalansının, 1 pozitif hayvan saptanan sürülerde %10.2 - 24.1 arasında , 2

ve daha yukarısı pozitif hayvan saptanan sürülerde ise % 11.1- 29.4 arasında olduğu görülmüştür. Bölgelere göre görünen sürü prevalansı çizelge 3.5. de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.5. Tarımsal bölgelere göre görünen sürü prevalansı**

Tarımsal Bölgeler	Sürü sayısı	1+		≥2+			
		N	%	N	%	N	%
1.	78	15	19.2	11	14.1	26	33.3
2.	108	19	17.6	28	26.0	47	43.6
3	59	6	10.2	10	17.0	16	27.2
4.	77	17	22.1	16	21.0	33	43.1
5.	45	7	15.5	5	11.1	12	26.6
6.	42	7	16.6	9	21.4	16	38.0
7.	58	14	24.1	14	24.1	28	48.2
8.	44	5	11.4	9	20.4	14	31.8
9.	34	4	11.8	10	29.4	14	41.2
<b>Genel</b>	<b>545</b>	<b>94</b>	<b>17.2</b>	<b>112</b>	<b>20.5</b>	<b>206</b>	<b>37.7</b>

#### 4. TARTIŞMA

Günümüzde sığır paratüberkülozunun tanısı ve kontrolü en önemli problemler arasında yer almaktadır. Tanıda kullanılan testlerin yeterli sensitivite ve spesifiteye sahip olmaması hastalığın takibini oldukça zorlaştırmaktadır (5, 19, 22).

Yapılan araştırmalar (3, 6, 28), sığır paratüberkülozunun epidemiyolojik olarak incelenmesinde ELISA' nın başarı ile kullanılabileceğini göstermektedir. Yine bu konuda yapılan araştırmalarda (19, 35) örnek serumların *M.phlei* ile absorbe edilmesinin testin sensitivite ve spesifite değerlerini yükselttiğini de bildirmektedir. Ülkemizde sığır paratüberkülozunun prevalansının tespitini amaçlayan bu çalışma da seçilen ELISA' nın bu amaç için uygun olduğunu göstermektedir.

Paratüberkülozun tanısında kullanılan hiçbir test %100 sensitivite ve spesifite değerine sahip değildir (3, 18). Bu çalışmada kullanılan ELISA'nın , sensitivite ve spesifite

değerleri istenilen düzeyde olmaması sonuçların doğru olarak hesaplanmasında bazı zorluklara neden olmaktadır. Ridge ve ark (23) absorbe ELISA'nın sensitivitesinin klinik olgularda %88.2 subklinik olgularda %48.8 olduğunu spesifitesinin ise %99.8 olduğunu bildirmektedir. Milner ve ark (31), absorbe ELISA'da test sensitivitesinin %57 spesifitesinin ise %98.9 oranında olduğunu belirtmektedir. Sweeney ve ark (31), dışkıyla düşük miktarda mikroorganizmayı saçan hayvanlarda absorbe ELISA'nın sensitivitesini % 15 olarak saptamıştır. Bu amaçla kullanılan hazır kitlerin sensitivite ve spesifite değerlerinin lokal olarak hazırlanan kitlere göre üstün olmadıkları da bilinmektedir. Araştırmacılar hazır kitlerde sensitivitenin %45 ve daha yüksek, spesifitenin ise %99 olduğu bildirilmektedir (6). Bu çalışmada bulunan testin % 44 sensitivitesi, % 96 spesifitesi diğer çalışmalarda saptanan değerlerle paralellik göstermektedir. Kullanılan ELISA'nın yeterli sensitiviteye sahip



olmaması, bu çalışmada elde edilen, özellikle 1 pozitif hayvan bulunan sürülerde çıkan sonucun doğruluğunun tartışılmasına neden olmaktadır. Düşük test sensitivitesi, prevalansın doğru tahmin edilmesini de güçleştirmektedir. Ayrıca sürülerde kayıt sisteminin bulunmaması sürülerin özgeçmişlerinin bilinmemesine neden olmaktadır.

Ülkemizde hastalığın prevalansının önceden bilinmemesi nedeniyle test edilecek örnekler belirlenen tahmini bir prevalansa göre toplanmamıştır. Ayrıca her köyden toplanan örnek sayısında farklılıklar bulunmaktadır. Bunun sonucu olarak iller düzeyinde test edilen toplam hayvan sayısında değişiklikler görülmektedir. Buna ek olarak ülkemizde kayıt sisteminin olmayışı, hayvan hareketlerinin sıklığı ve sürülerin paratüberküloz yönünden geçmişlerinin bilinmemesi hastalığın prevalansının tahminini zorlaştırmıştır. Ayrıca bu çalışmada ülkemizdeki bireysel yetiştiricilik nedeniyle sürü hesaplamaları iller bazında her bir köydeki hayvanlar bir sürü olarak kabul edilerek yapılabilmektedir. Ülkemiz DİE'ye göre aynı toprak ve hayvancılık koşullarına sahip 9 bölgeye ayrılarak bu bölgelerin kapsadığı illerde yer alan hayvan ve sürü sayılarına göre prevalans tahminleri yapılabilmektedir.

Paratüberküloz hastalığının progresif bir hastalık olması inkubasyon süresinin uzun oluşu nedeniyle temin edilen 11.398 örnek yaş gruplarına göre 2 yaş altı, 2 yaş ve üstü olarak ayrılmıştır (28). Buna göre hastalığın tespit edilebildiği 2 yaş ve üzeri olan 8873 örnek değerlendirmeye alınmıştır. Bu ayırım nedeniyle illerde değerlendirilen örnek sayısında farklılıklar oluşmuştur.

Bu çalışmada test edilen 2 yaş ve üzeri 8873 örnekten 409' u pozitif bulunmuştur. ELISA' da test edilen örneklerde, 2-5 yaş arası hayvanlarda 330 (%5) pozitif, 5 yaş ve üstü hayvanlarda 79 (%3) pozitif sonuç elde

edilmiştir. Toplam 409 pozitif hayvanın %81'i 2-5 yaş arasında, %19'u 5 yaş ve yukarısında yer almaktadır. 2-5 yaş arasında hastalığın yüksek olarak saptanması, hastalığın klinik formunun görüldüğü dönemde test sensitivitesinin yüksekliği olarak yorumlanabileceği gibi yukarı yaşlarda hayvanların anejrik duruma geçmesi de düşünülebilmektedir.

Çalışmada örneklerin belli ırk gruplarına (eğci, sütçü, karma gibi) göre seçilmemesi ırklara göre yapılacak hesaplamaları zorlaştırmaktadır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların hayvan ırkları düzeyinde ayrılması ile belirli bir ölçüde değerlendirilmeye gidilebilmiştir. Bu verilere göre montofon ve holştayn ırklarında % 5, simental' de % 4, melez ırklarda % 3, yerli ırklarda %6, jersey ırkında %8 oranında hastalık saptanmıştır. Stableforth (29) Jersey ırkı sığırlarda hastalığın daha fazla görüldüğünü bildirmektedir. Bu çalışmadaki sonuçlar araştırmacı ile paralellik göstermektedir.

Ülkenin 9 bölgeye göre ayrılarak test sonuçlarının değerlendirilmesinde 1. bölgeden başlamak üzere sırasıyla gerçek bireysel prevalans %2.2, %3.6, %3.7, %3.6, %0, %1.2, %9.6, %4.5, ve %4.4 olarak saptanmıştır. Ağrı, Artvin, Erzincan, Erzurum, Kars, Ardahan ve Iğdır illerini içine alan 5. bölgede hastalığın gerçek prevalansının istatistiksel olarak önemsiz olmayacak düzeyde olduğunu göstermektedir. Bu bölgenin sert ve uzun kış iklim koşullarına sahip olması, ahır besiciliği hastalığın yayılmasını önleyebilmektedir. Diğer bir yaklaşımla kültür ırkının bu bölgede daha az oluşu, bireysel prevalansın düşük bulunmasına neden olabilmektedir. Bununla birlikte adı geçen illerde yapılacak yeni bir çalışma ile iller düzeyinde sonuçların yeniden değerlendirilmesi yerinde olacaktır. Giresun, Gümüşhane, Kastamonu, Ordu, Rize, Samsun, Sinop, Trabzon, Zonguldak, Bayburt, Bartın ve Karabük illerini kapsayan 7. bölgede en

yüksek sürü ve bireysel prevalansa rastlanmaktadır. Adı geçen illerin içinde bulunduğu iklim koşulları ve hayvan ırkları düşünüldüğünde 1. Nemli ve güneşin direkt etkisinin az hissedildiği bu bölgede mikroorganizmanın doğada uzun süre canlı kalmasını sağlamakta ve bulaşmayı kolaylaştırmaktadır. 2. Jersey gibi duyarlı sütçü ırkların varlığı prevalansın yüksek çıkmasına neden olabilmektedir. Diğer bölgelerde tespit edilen prevalanslar %1.2 - 4.5 arasındadır. Bu da ülkemizin her bölgesinde hastalığın var olduğunu göstermektedir. Ülke genelinde saptanan gerçek bireysel prevalans 2 bölge (5. ve 7.) dışında Boelaert ve ark.'nın (3), saptadığı prevalansın yüksek bulunmuştur.

Sığır Paratüberkülozunun sürülerde, görünen prevalansın 1 pozitif çıkan sürülerde 1. bölgeden başlamak üzere %19.2, %17.6, %10.2, %22.1, %15.5, %16.6, %24.1, %11.4, %11.8, 2 ve daha fazla pozitiflik saptananlarda ise sırasıyla %14.1, %26, %17, %21, %11.1, %21.4, %24.1, %20.4 ve %29.4 olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, bireysel prevalansın yüksek çıktığı bölgelerle paralellik göstermektedir (3, 8).

Ülke çapında sığır paratüberkülozunun tespiti amacıyla yapılan bu çalışma sonuçları, hastalığın ülkemizin her bölgesindeki hayvanlarda bulunduğunu, doğu illerinde hastalığın prevalansının düşük, diğer bölgelerde yaygın olduğunu göstermektedir.

#### LİTERATÜR

1. ALİBAŞOĞLU M, ERTÜRK E, YÜCEL N (1973). Türkiyede rastlanan ilk keçi paratüberküloz olayları üzerinde patolojik incelemeler. *A Ü Vet Fak Derg*, XX, 1, 43-63.
2. ARDA M, MİNBAŞ A, LELOĞLU N, AYDIN N, AKAY Ö. (1992). Özel Mikrobiyoloji. *Atatürk Üniv Yay*, 741, 279-311.
3. BOELAERT F, WALRAVENSK, BIRONT P, VERMEERSCH J P, BERKVEN D, GODFROID J (2000). Prevalence of paratuberculosis (Johne's disease) in the Belgian cattle population. *Vet Microbiol*, 77, 269-281.
4. CAMPHAUSEN R T, JONES R L, BRENNAN P J (1988). Antigenic relationship between Mycobacterium paratuberculosis and Mycobacterium avium. *Am J Vet Res* 49,8,1307-1310.
5. COLGROVE G S, THOEN C O, BLACKBURN B O, MURPHY C D (1989). Paratuberculosis in cattle: a comparison of three serologic tests with results of fecal culture. *Vet Microbiol* 19, 2, 183-187.
6. COX J C, DRANE D P, JONES S L, RIDGE S, MILNER A R (1991). Development and evaluation of a rapid absorbed enzyme immunoassay test for the diagnosis of Johne's disease in cattle. *Aust Vet J*, 68,157-160.
7. ÇETINKAYA B, ERDOĞAN H M, MORGAN K L (1997). Mycobacterium paratuberculosis infections: classification, pathogenesis, immunology and relationship with Crohn's disease. *Veterinarian*, 8,1-2,89-98.
8. ÇETINKAYA B, ERDOĞAN H M, MORGAN K L (1998). Prevalence, incidence and geographical distribution of Johne's disease in cattle in England and the Welsh borders. *Vet Rec*, 143,265-269.
9. DANIEL T M and DEBANNE S M (1987). The serodiagnosis of tuberculosis and other Mycobacteriel diseases by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Am Rev Respir Dis* 135, 1137-1151.
10. DEMİRER F, YÜCEL N (1964). Çifteler Haraası ile Alpu'daki Mesut Zeytinoğluna ait çiftlikteki sığırların gaitasından M.paratuberculosis (Johne's) in



- memeleketimizde ilk izolasyonu. *Türk Vet Hek Derg*, 34,3-4,170-171.
11. DIMECH W (2000). Automation of an absorbed enzym immunoassay for the detection of Mycobacterium paratuberculosis antibodies for an eradication program. *Vet Microbiol*, 77,351-355.
  12. ELLIS TM, CARSON BA , KALKHOVEN MJ , MARTIN PAJ (1998). Specificity of two absorbed ELISA's for surveys of Mycobacterium paratuberculosis in cattle. *Aust Vet J*,76,497-499.
  13. EMRE MN (1967). Yurdumuz sığırlarında paratüberkülozun teşhis metodları üzerinde mukayeseli araştırmalar ve değişik M.paratüberküloz suşlarının bazı antiseptiklere karşı hassasiyetlerinin tayini. *Güven Matbaası*, ANKARA.
  14. GRIFFITH AS, TYTLER WH, CUMMIS SL, MCINTOS J, WHITBY LEH, BILLOCH W , FLEMING A , OKELL CC, GLOYNE SR (1930). Johne's diseases. In: A System of Bacteriology in Relation to Medicine. *Majesty's Stationery Office, London*, p.:333--344.
  15. JACOBE HB, CARRIGAN M, COCKRAM F, CORNER LA, GILL IJ, HILL JF , JESSEP T , MILNER AR, WOOD PR (1992). A comparison of the interferon gamma assay with the absorbed ELISA for the diagnosis of Johne's disease in cattle. *Aust Vet J*. 69,25-28.
  16. MARCHEVSKY N (1974). Errors in prevalence estimates in population studies: A practical method for calculating real prevalence. *Zoonosis*. 16, 98-109.
  17. MERKAL R S (1984). Paratuberculosis: Advances in cultural, serologic, and vaccination methods. *JAVMA*, 184, 8, 939-943.
  18. MILNER AR, MACK WN, COATES KJ, HILL J, GILL I, SHELDRIK P (1990). The sensitivity and specificity of a modified ELISA for the diagnosis of Johne's disease from a field trial in cattle. *Vet Microbiol*.25,193-198.
  19. MILNER A R , MACK W N , COATES K , WOOD P R SHELDRIK P , HILL J , GILL I (1989). The absorbed ELISA for the diagnosis of Johne's disease in cattle. *Vet Bul* 158-163.
  20. OIE (1996). World Organisation for Animal Health, Manuel of standards for diagnostic tests and vaccines, 267-275.
  21. ÖKTEM Z (1967). Mycobacterium. İç.: Tıbbi Bakteriyoloji. II. Cild, *Menteş Kitabevi, İstanbul*, p.: 604-673.
  22. REICHEL MP, KITTELBERGER R, PENROSE ME, MEYNELL RM, COUSINS D, ELLIS T, MUTHARIA LM, SUGDEN EA, JOHNS AH, DE LISLE GW (1999). Comparison of serological tests and faecal culture for the detection of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection in cattle and analysis of the antigens involved. *Vet Microbiol*, 66,135-150.
  23. RIDGE SE, MORGAN IR, SOCKETT DC, COLLINS MT, CONDRON RJ, SKILBECK NW, WEBBER JJ (1991). Comparison of the Johne's absorbed EIA and the complement-fixation test for the diagnosis of Johne's disease in cattle . *Aust Vet J*, 68,253-257.
  24. RINGDAL G (1963). Johne's disease in pigs. *Nord Vet Med*,15, 217-238.
  25. RINGDAL G (1965). Studies on Johne's disease in a single herd during a few year period. *Nord Vet Med*, 17, 73-96.
  26. SCHAİK G, KALIS CHJ, BENEDICTUS G, DIJKHUIZEN AA, HUIRNE RBM (1996). Cost-benefit analysis of vaccination against paratuberculosis in dairy cattle. *Vet Rec* 139,624-627.
  27. SEZGİNER FR (1928). Ehli hayvanlarda intani hastalıklar. *Hilal Matbaası, İstanbul*, 252-259.

28. SOCKETT DC (2000). Johne's disease diagnosis and control. *Wisconsin Animal Health Lab.-Madison*,
29. STABLEFORTH AV (1961). The control of Johne's disease. *Tijdschrijf Voor Diergeneeskunde 86 E Deel AFL*, 25, 1744-1750.
30. SWEENEY RW, WHITLOCK RH, ROSENBERGER AE (1992). Mycobacterium paratuberculosis isolated from foetuses of infected cows not manifesting signs of the disease. *Am J Vet Res*,53,4,477-480.
31. SWEENEY RW, WHITLOCK RH, HAMIR AN, ROSENBERGER AE, HERR SA (1992). Isolation of Mycobacterium paratuberculosis after oral inoculation in uninfected cattle. *Am J Vet Res*, 53,8,1312-1314.
32. WAYNE LG , KUBICA GP (1986). The Mycobacteria. In: Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology. *Williams & Wilkins, Baltimore*, p.:1435-1457.
33. WENTING GH, BONGERS JH, VOS JH, ZEEUWEN AA PA (1993). Relationship between negative skin test with Johnin after vaccination and post mortem finding. *Vet Rec*,132,38-39.
34. WILLIAMS ES, DEMARTINI JC, SNYDER SP (1985). Lymphocyte blastogenesis, complement fixation, and faecal culture as diagnostic tests for paratuberculosis in North American wild ruminants and domestic sheep. *Am J Vet Res*, 46,11,2317-2321.
35. YOKOMIZO Y (1986). Evaluation of an enzym-linked immunosorbent assay (ELISA) using Mycobacterium phlei-absorbed serum for the diagnosis of bovine paratuberculosis in a field study. *Jpn Agric Res*,20, 59-67.
36. YOKOMIZO Y, YUGI H and MERKAL RS (1985). A method for avoiding false-positive reactions in an enzym-linked immunosorbent assay (ELISA) for the diagnosis of bovine paratuberculosis. *Jpn J Vet Sci*, 47, 111-119.