

AYDIN YÖRESİNDE KOYUNLARDA LİSTERİOSİS VE BRUCELLOSİS'İN SEROPREVALANSI

“Seroprevalence Of Listeriosis And Brucellosis On Sheep In Aydın”

Serdar PAŞA* Selçuk KILIÇ** Cahit BABÜR** Naci ÖCAL*** Serkal GAZYAĞCI***

ÖZET

Bu Çalışma, Aydın yöresinde koyunlarda Listeriosis ve Brucellosis seroprevalansını saptamak amacıyla yapılmıştır. 100 Serum örneği, *Listeria monocytogenes* “O” antikorlarınının saptanması amacıyla Osebold yöntemiyle incelenmiştir. Osebold yönteminde, 1/100 ve üzerindeki titrasyon basamaklarındaki aglütinasyon varlığı pozitif olarak kabul edilmiştir. 100 örneğin 35'inde (%35) çeşitli dilusyonlarda *Listeria monocytogenes* antikorları saptanmıştır. Seropozitif olguların 27'sinde (%27) 1/100 titre, sekizinde (%8) 1/200 titre de aglütinasyon gözlenmiştir. *Brucella* antikorları, Rose Bengal lam aglütinasyonu (RBPT) ve Serum Aglütinasyon Testi (SAT) ile araştırılmıştır. İki örnekte (%2) *Brucella* antikorları pozitif bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Listeriosis, Brucellosis, Koyun, Osebold yöntemi, Serum Aglütinasyon Testi

SUMMARY

This study was undertaken to determine the seroprevalence of listeriosis and Brucellosis in sheep in Aydın provinces. A totally 100 serum samples taken from sheep were examined for the *Listeria monocytogenes* “O” antibody by the Osebold Method. *Brucella* antibodies were investigated by Rose Bengal Plate test (RBPT) and Serum Agglutination Test (SAT). For Listeriosis, the agglutination titer 1/100 and over were accepted as a positive result. Out of 100 sera, 35 (%35) were positive for *L. monocytogenes* antibody at different titers as follows: 27 (27%) with a 1/100 titer; 8 (8%) 1/200 titer. 2 (%2) of 100 serum samples were found seropositive for *Brucella* antibodies.

Key words: Listeriosis, Brucellosis, Sheep, Osebold method, Serum Agglutination Test.

GİRİŞ

Listeriosis, fakültatif, hücre içi patojen bir bakteri olan *Listeria monocytogenes* tarafından oluşturulan zoonotik karakterde bir hastalıktır (3, 20).

L. monocytogenes insan ve hayvanlarda enfeksiyon oluşturan ve doğada yaygın olarak bulunan bir bakteridir. Toprak, su, sebzeler, süt ve süt ürünleri,

mezbaha artıkları, taze ve dondurulmuş kümes hayvanları, kabuklu deniz ürünleri, hayvan yemleri gibi çok farklı kaynaklardan izole edilmiştir (8). Listeriosis, bir çok hayvan türünde enfeksiyon etkeni olarak tanımlanmıştır. Enfeksiyonun, genellikle ocak ile nisan ayları arasında silaj ile beslenen koyunlarda ortaya çıktığı bildirilmektedir (1, 20, 29).

Listeriosis ensefalitis, septisemi ve abortus olmak üzere üç formda görülür (1, 8). Koyunlarda, hastalığın ensefalitis formuna diğer geviş getiren hayvan türlerine göre daha sık rastlanır (1).

Kabul Tarihi: 22.08.2003

* Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Aydın

** Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara

*** Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kırıkkale

Hastalıkta görülebilen başlıca klinik bulgular ateş, iştahsızlık, zayıflama, solunum güçlüğü, keratokonjunktivitis, yüz felci ve kendi etrafında dönmedir (1, 18). Klinik bulguların değişken olmasından dolayı kesin tanı serolojik testlerle (kompleman fikzasyon testi, aglutinasyon testi, immunopresipitasyon, pasif immunohemolysis, enzim linked immunosorbent assay), PCR ve immunohistokimyasal yöntemlerle konulabilmektedir (3, 8, 18, 19, 21, 22, 24, 25, 26, 29).

Türkiye’de koyunlarda Listeriosis üzerine sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır (12, 17).

Brucellosis, koyunlarda *Brucella melitensis* ve *Brucella abortus* tarafından meydana getirilen zoonotik karakterde bir hastalıktır (18). Enfeksiyon, bakım ve besleme şartları, ırk duyarlılığı, bölgenin coğrafik konumu, hayvanların bir arada sıkışık barındırılmaları gibi nedenlerle %50 oranında artış gösterebilmektedir (27). Türkiye’de koyunlarda Brucellosisin seroprevalansı üzerine sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Son yıllarda Konya, Kayseri, Niğde, Nevşehir, Elazığ, Kars ve Trakya bölgesinde yapılan çalışmalar hastalığın prevalansının %0.6 ile %16.3 arasında değiştiğini göstermiştir (5, 6, 15, 16).

Hastalık koyunlarda akut ve kronik seyirli olup süt veriminde azalma, yavru atma ve kısırılık yapma suretiyle büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır (18).

Diğer canlılarda olduğu gibi koyunlarda da hastalığın tanısı bakteriyolojik, PCR ve serolojik yöntemlerle yapılabilmektedir (2, 11, 28, 30). Başlıca serolojik testler arasında; Rose Bengal Plate Test (RBPT), Tüp (Serum veya Wright) Aglutinasyon test (TAT), Antiglobulin test (Coombs), Mikro Aglutinasyon test (MAT), Kompleman Fikzasyon test (KFT), İndirekt Hemoliz Test (IHT), Radio Immunoassay (RIA)

ve ELISA gibi yöntemler kullanılmaktadır (2, 28, 30).

MATERYAL VE METOT

MATERYAL

Serum Örnekleri: Bu çalışma, Nisan-Mayıs 2002 tarihleri arasında Aydın merkez, Çine, Koçarlı, Yenipazar ve Germencik ilçelerinde bulunan farklı ırktan, 1 ile 2 yaş arasında, tamamı dişi olan toplam 100 koyundan alınan serum örneklerinde gerçekleştirilmiştir. Vena jugularisten vakumlu tüpler aracılığıyla alınan kanlar, 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmış ve çalışma yapılana kadar -20 C’de saklanmıştır. Örneklerde, *L.monocytogenes* “O” antikorları Osebold yöntemiyle ve Brucellosis seropozitifliği ise RBPT ve SAT (23) ile araştırılmıştır.

Antijenler: Osebold yönteminde kullanılan test antijenleri, Refik saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı (RSHM) Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü (SHAM) laboratuvarlarında hazırlanmıştır. İlk olarak, çapraz reaksiyonların önlenmesi amacıyla *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) suşundan tüm hücre antijenleri elde edilmiştir. *L. monocytogenes* 1/2a, 1/2b, 3c, 4ab, 4c ve 4d suşlarından ayrı ayrı antijenleri hazırlanarak, bu antijenlerin birleştirilmesiyle *L. monocytogenes* ortak antijen havuzu elde edilmiştir.

Brucella Antijenleri: *Brucella abortus* kökenli Rose Bengal lam aglutinasyonu (Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İstanbul) ve Serum Aglutinasyon Test antijenleri (RSHM Antijen-Antiserum Üretim Laboratuvarı, Ankara) kullanılmıştır.

METOT

Osebold Aglutinasyon testi: Serum örneklerinin *S.aureus* antijeniyle absorpsiyonu takiben *L.monocytogenes* antijeniyle aglutinasyon testi yapılmıştır. 1/100 ve üzerindeki titrelerde, en az 2 (+)

sonuç veren aglütinasyon pozitif olarak kabul edilmiştir (24-26).

Brucella antikorlarının saptanması: İlk önce RBPT ile tarama yapılmıştır. RBP Test, aglütinasyon kartlarında, 0.03 ml serum örneği aynı miktar antijen ile karıştırılmış, 4 dakika içerisinde oluşan aglütinasyon pozitif olarak kabul edilmiştir. Pozitif bulunan örneklerden SAT ile antikor titresi çalışılmıştır.

Serum Aglütinasyon Testi: %0.5 fenollü FTS ile serumların iki katlı dilüsyonları yapıldıktan sonra *Brucella abortus* antijeni eklenmiştir. Tüpler; 37°C'de 24-48 saat inkübasyonu takiben aglütinasyon açısından değerlendirilmiştir.

BULGULAR

100 koyundan alınan serum örneğinin 35'inde (% 35), 1/100 ve üzerindeki titrelerde anti-*L.monocytogenes* "O" antikorları saptanmıştır. Seropozitif olguların 27'sinde (%27) 1/100 titrede, 8'inde (%8)

1/200 titrede *L. monocytogenes* "O" antikorları saptanmıştır. Seronegatif olarak değerlendirilen toplam 65 örneğin 36'sında 1/50 titrede aglütinasyon saptanmıştır. Aydın yöresinde koyunlarda Osebold yöntemi testi ile saptanan anti-*L. monocytogenes* "O" antikorları pozitifliği sonuçları tablo 1'de gösterilmiştir.

Koyunlarda anti-*L. monocytogenes* "O" antikor pozitifliği ve titrelerin dağılımı tablo 1'de gösterilmiştir.

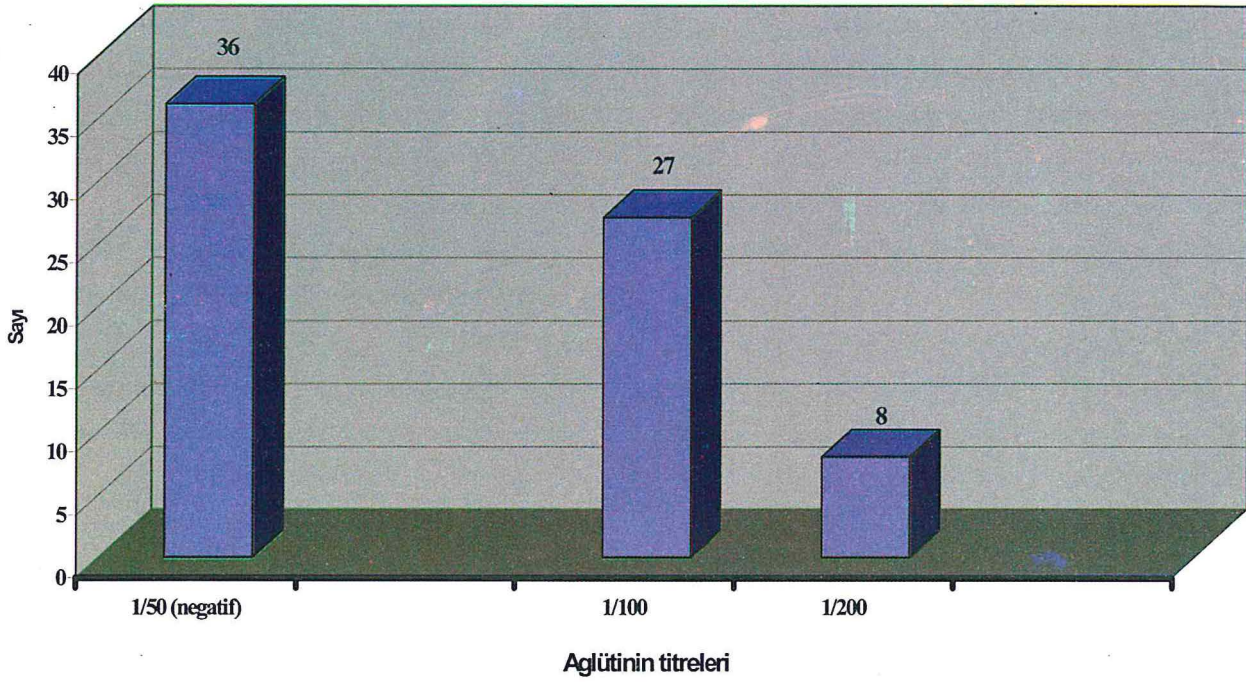
RBPT ile iki örnek (%2) pozitif bulunmuştur. Pozitif olarak saptanan örneklerin SAT ile saptanan titre değerleri tablo 2'de gösterilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi sadece Koçarlı'da iki koyunda *Brucella* seropozitifliği bulunmuş, diğer yerleşim bölgelerinde ise seropozitiflik saptanamamıştır.

Araştırmaya alınan koyunlarda hem *Listeriosis* hem de *Brucellosis* karşı ortak pozitiflik saptanamamıştır.

Tablo 1. Anti-*L monocytogenes* "O" antikor titrelerinin dağılımı.

Yerleşim Alanı	Örnek Sayısı	Pozitif	(%)	Seropozitif titreler	
				1/100	1/200
Aydın Merkez	20	7	35	5	2
Çine	20	7	35	6	1
Koçarlı	20	9	45	7	2
Yenipazar	20	5	25	4	1
Germencik	20	7	35	5	2
Toplam	100	35	35	27	8

Anti-*L.monocytogenes* "O" aglütinin titreleri



Şekil 1: Anti-*L.monocytogenes* "O" antikor titrelerinin dağılımı.

Tablo 2. Brucella antikor pozitifliği ve SAT titreleri

Yerleşim Alanı	Örnek Sayısı	Pozitif	(%)	Seropozitif titreler	
				1/80	1/160
Aydın Merkez	20	-	0	-	-
Çine	20	-	0	-	-
Koçarlı	20	2	10	1	1
Yenipazar	20	-	0	-	-
Germencik	20	-	0	-	-
Toplam	100	2	2	1	1

TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye’de koyun yetiştiriciliğini ve halk sağlığını önemli ölçüde etkileyen Listeriosis ve Brucellosis zoonotik karakterde hastalıklardır.

Listeriosis’in, koyunlarda klinik olarak ensefalitis, abortus ve septisemi şeklinde görülebildiği gibi, subklinik olarak da seyrettiği bildirilmektedir (1, 18). Bu çalışmada, listeria seropozitif olan

koyunlarda hastalığa ait herhangi bir klinik bulguya rastlanmadı.

Hastalığın genellikle ocak ile mayıs ayları arasında görüldüğü bildirilmektedir (20). Bu çalışmada, koyunlardan kan örneklerinin nisan ve mayıs ayları arasında alınması araştırmacıların bildirimleriyle uyumludur. Hastalığın oluşumunda genç hayvanların yaşlılara göre daha duyarlı olduğu bildirilmek-

tedir (8, 9). Çalışmamızda, seropozitif koyunların çoğunluğu bir yaşındaydı. Silajla beslenen koyunlarda hastalığın daha sık görüldüğü belirtilmektedir (20). Bu çalışmada hayvan sahiplerinden aldığımız bilgilere göre bazı yerleşim yerindeki koyunların silajla beslenmeleri araştırmacıların bildirimine paralellik göstermektedir.

Listeriosisın tanısında kullanılan Osebold yönteminin diğer aglutinasyon testlerinden daha duyarlı olduğu bildirilmektedir (4). *L. monocytogenes* "O" antikorlarının saptanmasında kullanılan Osebold yönteminde, serum örnekleri *L. monocytogenes* ile en önemli antijenik yapı benzerliği olan *S.aureus*'un tüm hücre antijenleriyle muamele edilerek, *S.aureus*'a karşı serumda var olan antikorlar uzaklaştırılmaktadır. Ayrıca, *L. monocytogenes* antijeninin hazırlanmasında tripsin enzimiyle işlem yapılmasının çapraz reaksiyonları azalttığı da gösterilmiştir. Hem tripsinleme ile antijen hazırlanması hem de *S.aureus* antijeniyle absorpsiyon yapılması aglutinasyon testinin duyarlılığını artırmaktadır. Osebold yönteminde çapraz reaksiyonların önlenmesiyle elde edilen aglutinasyon sonuçlarının, serovar antijenlerinin tek tek kullanıldığı aglutinasyon testlerine göre daha anlamlı olduğu bildirilmiştir (4, 24-26).

Bu çalışmada 100 koyunun 27'sinde 1/100 ve 8'inde 1/200 titreler pozitif olarak saptanmıştır. Türkiye'de *L. monocytogenes* üzerine yapılan çalışma sayısı sınırlıdır. Hasöksüz ve Ilgaz (12), Marmara bölgesinde yaptıkları çalışmada koyunlarda ELISA ile listeriolsin O antikorunu %3.6 tespit ederlerken, serotip 1/2a antikorunu %11.5 ve serotip 4b antikorunu ise %10.4 oranında pozitif olarak bulmuşlardır. Kennerman ve ark. (18) Bursa bölgesinde 62 koyunun 16'sında (%25.80) ve bunların içinde ensefalitis belirtileri gösteren 18 koyunun 5'inde (%27.7) ELISA yöntemi ile seropozitiflik saptamışlardır. Aydın yöresinde %35 olarak bulunan

anti-*L. monocytogenes* "O" aglütinin oranı, Kennerman ve ark (18) tarafından yapılan çalışma ile uyumlu bulunmuştur.

Türkiye'de koyun Brucellosisi üzerine; 1952-1963 yılları arasında Devlet çiftliklerinde yapılan çalışmalarda koyun Brucellosis seropozitifliği, %2.6 ve Karacabey harasında 1960-1970 yılları arasında yapılan çalışmalarda ise %5 olarak saptanmıştır (7). Demiröz ve ark. (5) Trakya bölgesinde yaptıkları bir çalışmada, prevalansı %0.6 olarak bulmuşlardır. Kenar ve ark. (16) Konya yöresinde yapmış oldukları bir seroepidemiolojik çalışmada, hastalığın prevalansını %16.3 olarak saptamışlardır. Kenar (15), Konya, Niğde, Nevşehir ve Kayseri yöresinde yaptığı seroepidemiolojik çalışmalarda hastalığın prevalansını Konya'da %1.18, Niğde'de %3.06, Nevşehir'de %1.67, Kayseri'de %0.9 olarak saptamıştır. Dumanlı ve ark. (6) Elazığ yöresinde yaptıkları çalışmada, seroprevalansı %3.8 olarak bildirmişlerdir. Demiröz ve ark. (5) Kars yöresinde yaptıkları seroepidemiolojik çalışmada hastalığın prevalansını %0.93 olarak bulmuşlardır.

Gül ve ark. (10) Elazığ yöresinde yaptıkları çalışmada hastalığın seroprevalansını %0.3 olarak tespit etmişlerdir. İyisan ve ark. (14) Aydın yöresinde koyunlarda yaptıkları sero epidemiolojik çalışmada hastalığın prevalansının %3.7 olduğunu belirlemişlerdir.

Bu çalışmada incelenen toplam 100 koyundan 2 (%2)'nin seropozitif olduğu belirlenmiş (Tablo 2) ve prevalansın 1952-1963 yılları arasında Devlet çiftlikleri (7) koyunlarında, Konya (15), Nevşehir (15), Niğde (15), Elazığ (6) ve Aydın (14) yöresindeki koyunlarda bildirilen enfeksiyon oranlarına yakın olduğu görülmüştür.

Türkiye'de farklı bölgelerde yapılan seroepidemiolojik çalışmalarda koyun Brucellosisin prevalansının değişik oranlarda olması, enfeksiyonun bazı sürülerde lokal olarak yaygın görülmesi ile ilgi-

li olabildiği gibi, hastalıkla yapılan mücadelenin yeterli olmamasına bağlanabilmektedir (13).

Sonuç olarak, Listeriosis ve Brucellosis'in yöremizde görülmesi nedeniyle yörede görev yapan Veteriner Hekim ve halkın bu konuda eğitilmesi ve ileri çalışmaların yapılmasının gerekli olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Al Dughaym MA, Elmula Fadl A, Mohamed EG, Hegazy AA, Radwan AY, Housawi TMF, Gameel AA (2001): *First report of an outbreak of ovine septicaemic listeriosis in Saudi Arabia*. Rew Sci TechOff Int Epiz, 20 (3): 777-783.
2. Arda M, Bisping W, Aydın N, İstanbulluoğlu E, Akay Ö, İzgür MN, Karaer Z, Diker S (1987): *Antiologische untersuchungel über der Abort bei schafen unter besonderer berücksichtigung des nachweises van Brucella, Campylobacter, Salmonellen, Listerian, Leptosporen und Chlamydien*. Brel Münch Tierärztl Wschl, 100: 405-408.
3. Barbuddhe BS, Chaudhari PS, Malik SV (2002): *The occurence of pathogenic Listeria monocytogenes and antibodies against Listeriolysin-O in Buffaloes*. J Vet Med B, 49: 181-184.
4. Bhunia AK (1997): *Antibodies to L. Monocytogenes*. Crit Rew Microbiol, 23:77-107.
5. Demiröz K, Çelik M, İyisan AS, Özdemir Ü, Erdenlig S (1996): *Trakya Bölgesinde Brucellosis'in seroepidemiolojisi*. Pendik. Vet Mikrobiyol Derg, 27(1): 79-100.
6. Dumanlı N, Kılıç S.S, Felek S, Akbulut A, Yılmaz H (1992): *The investigation of Brucella antibodies in sheep*. İnfeksiyon Derg, 6(3): 199-201.
7. Eroğlu M (1989): *Uluslararası Brucellosis sempozyumu*. Pendik Hayv Hast Merk Araşt Enst Yay, 9: 28-35.
8. Gray ML, Killinger HA (1966): *Listeria monocytogenes and listeric infections*. Bacteriol Rev, 30: 309-382.
9. Gudding L, Nesse L, Gronstol H (1989): *Immunisation against infections caused by Listeria monocytogenes in sheep*. Vet Rec, 125: 111-114.
10. Gül Y, Yılmaz K, Gülcü B, Özdemir H, Dabak M (1998): *Elazığ ve çevresindeki Sığır ve Koyun Brucellosis'in seroprevalansı*. Bülten Dif Veteriner Bült, 10: 10-13.
11. Hamdy ME, Amin AS (2002): *Detection of Brucella species in the milk of infected cattle, sheep, goats and camels by PCR*. Vet J, 163(3): 299-305.
12. Hasöksüz M, Ilgaz A (2000): *Marmara bölgesindeki sağlam koyunların kan serumlarında ELISA yöntemi ile Listeria monocytogenes'e karşı oluşan antikorların saptanması ve Listeriosis üzerinde etiyolojik-epizootolojik çalışmalar*. Vet Fak Derg, İstanbul. 26: 157-174.
13. İnci A, Aydın N, Babür C, Çam Y, Akdoğan C, Kuzan Ş (1999): *Kayseri yöresinde sığır ve koyunlarda Toxoplasmosis ve Brucellosis üzerine seroepidemiolojik araştırmalar*. Pendik Vet Mikrobiyol Derg, 30(1): 41-46.
14. İyisan SA, Akmaz Ö, Düzgün Gökçen S, Ersoy Y, Eskizmirliler S, Güler L, Gündüz K, Işık N, İçyerioğlu KA, Kalender H, Karaman Z, Küçükdoğan U, Özcan C, Seyiyoğlu Ş, Tuna İ, Tunca T, Üstünadın K, Yurtalan S (2000): *Türkiye'de sığır ve koyunlarda Brucellosisin seroepidemiolojisi*. Pendik Vet Mikrobiyol Derg, 31(1): 21-75.
15. Kenar B (1990): *Konya, Niğde, Nevşehir ve Kayseri illerinde koyun ve sığır Brucellosis'inin*

- sero-survey epidemiyolojik araştırması. Veterinarium, 1(1): 17-20.*
16. Kenar B, Erganiş O, Kaya O, Güler E (1990): *Konya bölgesinde koyunlarda atıklara sebep olan brucella, Campylobacter, Salmonella ve Chlamydia'ların bakteriyolojik ve serolojik incelenmesi. Veterinarium, 1(1): 17-20.*
17. Kenerman E, Erdoğan NM, Şentürk S, Gölcü E (2001): *Bursa bölgesindeki koyunlarda listeriosis'in ELISA ile serolojik tanısı. II. Ulusal Buiatrik Kongresi, 111-112.*
18. Kimberling VC (1988): *Jensen and Swift's diseases of sheep. Tird edition. Philadelphia.*
19. Lhopital S, Marty J, Pardan P, Berche P (1993): *Kinetics of antibody production against listeriolysin-O in sheep with listeriosis. J Clin Microbiol, 31: 1537-1540.*
20. Low JC, Donachie W (1997): *A review of Listeria monocytogenes and listeriosis. Vet J, 153: 9-29.*
21. Manterola L, Tejero-Garcés A, Ficapal A, Shopayeva G, Blasco JM, Marin CM, Lopez-Goni I (2003): *Evaluation of a PCR test for the diagnosis of Brucella ovis infection in semen samples from rams. Vet Microbiol, 92(1-2): 65-72.*
22. Marco A, Ramos JA, Dominguez L, Domingo M, Gonzalez L (1988): *Immunocytochemical detection of Listeria monocytogenes in tissue with the peroxidase-antiperoxidase technique. Vet Pathol, 25(5): 385-387.*
23. Muhammed IS, Mohammadi H, Nam-Saadi H (1980): *A comparison of counter-immunoelectrophoresis with the rose bengal and the serum tube agglutination test in the diagnosis of brucellosis in sheep. Vet Microbiol, 5(3): 223-228.*
24. Oosebold JW, Njoku-Obi A, Abare JM (1959): *Acquired resistance of sheep to Listeria monocytogenes and pilot studies on vaccination. Am J Vet Res, 30: 966-972.*
25. Oosebold JW, Aalund O, Chrusp CE (1965): *Chemical and immunological composition of surface structures of Listeria monocytogenes. J Bacteriology, 89: 84-86.*
26. Osebold JW, Aalund O (1968): *Interpretation of serum agglutinating antibodies to Listeria monocytogenes by immunoglobulin differentiation. J. Infect Dis, 118: 139-148.*
27. Papadopoulus O (1984): *Plan of the national survey for ovine of caprine brucellosis in Greece. In Brucella melitensis CEC seminar, Brussels (14-15 November): 139-146.*
28. Şeyda T, Aydın F, Genç D, Güler MA, Boz E (1997): *Sığır serumlarında mikroaglutinasyon testi (MAT) ile Brucella antikorlarının araştırılması. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 3(1): 7-11.*
29. Wiedman M, Arvik T, Bruce JL, Neubauer J, Del Piero F, Smith MC, et al (1997): *Investigation of listeriosis epizootic in sheep in New York State. Am J Vet Res, 58:733-737.*
30. Yardımcı H, Esendal Ö, Aydın N (1996): *Sığır Brucellosisinin Serum Aglutinasyon, Komplemant Fikzasyon ve Immunocomb testleriyle teşhisi. Etlik Vet Mikrobiyol Derg, 8(3): 24-32.*