

## BİR İNEKTE BOVİNE LÖKOZİS OLGUSU

Sibel Yavru<sup>®1</sup> Mehmet Kale<sup>1</sup> Atilla Şimşek<sup>1</sup> Oya Bulut<sup>1</sup>

### Bovine Leucosis in a Dairy Cow: a Case Report

**Özet:** Bu çalışma, 5 yaşında Holstein ırkı sütçü bir inekte, klinik, hematolojik ve serolojik muayeneler ile Bovine Lökozis (BL) enfeksiyonunun saptanması amacıyla yapıldı. Klinik muayenede; hayvanın zayıfladığı, boyun ve kavram (plica genus) bölgesindeki lenf yumrularında büyüme ve gözde hafif ekzoftalmus geliştiği tespit edildi. Hematolojik açıdan, total lökosit sayısında artış olduğu belirlendi. Serolojik çalışmada, Agar-Jel Immunodiffüzyon (AGID) ve Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA) serolojik testleriyle BLV'na karşı antikor varlığı tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** İnek, Bovine Lökozis, Hematoloji, AGID, ELISA

**Summary:** In this study, Bovine Leucosis (BL) infection in five-years old Holstein breed cow was investigated clinically, hematologically and serologically. Clinical examinations revealed weakness, lymph nodes enlargements in neck and plica genus and weak exophthalmus in eye. Hematologically, it was determined to increase total leucocytes counts. Serologically, BLV antibodies were detected in blood and milk serum samples by Agar-Gel Immunodiffusion (AGID) and Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

**Key Words:** Cow, Bovine Leucosis, Hematology, AGID, ELISA

### Giriş

Enzootik Bovine Lökozis (EBL), retrovirus grubundan Bovine Leukemia Virus'un (BLV) meydana getirdiği, sığırlarda lenfoid tümörlere neden olan doğal bulaşıcı bir hastalıktır (Johnson ve Kaneene, 1992).

Bovine Lökozis'in sporadik ve enzootik formları vardır. Sporadik formu, 2 yaş ve altındaki genç hayvanlarda, enzootik formu ise, 3 yaş ve üzerindeki hayvanlarda görülür (Crespeau ve ark., 1978; Johnson ve Kaneene, 1992).

BLV ile enfekte sığırların % 30-70'inde Persiste Lenfositozis (PL) ve % 0.1-10'unda ise tümör gelişmektedir (Straub, 1987; Parodi, 1987; Blood ve ark., 1983; Brenner ve Trainin, 1989).

Etken, hasta hayvanlardan sağlam hayvanlara kontakt yolla bulaşır. Özellikle virus lenfositlerde, sütle, kolostyumda ve tümör kitlelerinde bulunur. Hastalığın bulaşmasında, iatrojenik yollar ve insekt vektörler önemli yer tutar (Onuma ve ark., 1979; Van Der Maaten ve Miller, 1990; Romero ve ark., 1984).

Üç yaş ve üzerindeki hayvanlarda PL geliştiğinden, bu durumdaki şüpheli hayvanların perifer kanından yapılan total lökosit ve lenfosit hücre sayımları ile BLV enfeksiyonunun şüpheli teşhisinin yapılabildiği birçok çalışmada belirtilmiştir (Marn-

merickx ve ark., 1976; Ferrer ve ark., 1977). Ancak bu durum diğer viral enfeksiyonlarda da gelişebileceğinden, kesin sonuca ulaşmak için hematolojik teşhisin serolojik metotlarla desteklenmesi gerekmektedir (Brenner ve Trainin, 1989; Kandil ve ark., 1989).

### Olgunun Tanımı:

Bu çalışmada oğuyı, zayıflama, süt veriminde azalma ve lenf bezlerinde şişkinlik şikayeti gösteren Konya-Taşkent ilçesi Avşar beldesinde 5388 kulak no'lu 5 yaşında Holstein kültür ırkı bir inek oluşturdu. Hastanın klinik muayenesi yapıldıktan sonra kontrol amacıyla kan (steril vakumlu tüplere ve EDTA'lı tüplere) ve süt (steril cam tüplere) örnekleri alındı. Kan eritrosit (RBC), lökosit sayıları (WBC), ortalama korpuskuler volüm (MCV) ve hematokrit değerleri özel bir laboratuvarında değerlendirildi. Hasta hayvandan alınan kan ve süt serumu örneklerinin serolojik kontrolleri S.Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Alınan kan serumunda AGID testi, süt serumunda ise ELISA testi ile antikor tespiti yapıldı.

### Klinik bulgular:

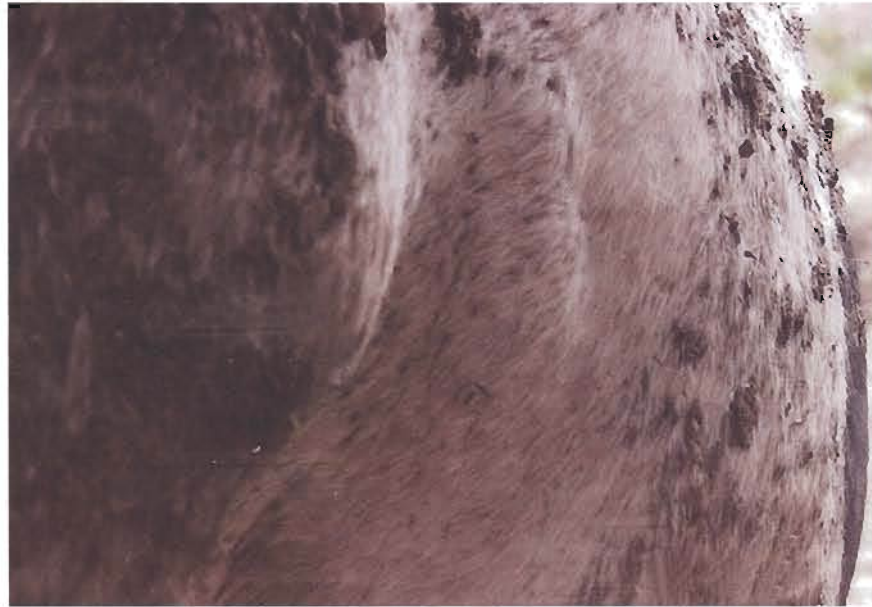
Holstein kültür ırkı 5 yaşındaki ineğin gün geçtikçe zayıfladığı, günlük süt veriminde azalma olduğu belirtildi. Yapılan klinik muayenede hayvanda anoreksi,

inspirasyon-ekspirasyon artıŐı tespit edildi. Beden ısısı, 24 saatlik sũre içinde yapılan lũmlerin ortalamasında 37.6-38°C arasında bulundu. Kalp sesinin derinden ve hafif duyulduğu ve nabız atımının da dũzensiz olduğu belirlendi. Gözlerde hafif ekzoftalmus, boyun ve kav-

ram bölgesi lenf bezlerinin avuç içi kadar bũyũdũėũ, sert kıvamda olduğu tespit edildi (Őekil 1, 2). Ağız mukozası ve göz konjunktivalarının da solgun olduğu saptandı. Yũrũmede dengesizlik, zorlanma ve özellikle arka



Őekil 1. Boyun bölgesi lenf bezinde bũyũme



Őekil 2. Plica genus'da yer alan subiliac lenf yumrusunda Şişkinlik (Inn. subiliaci)

bacaklarda hafif tutukluk gözlemlendi.

### Hematolojik bulgular:

Bu olguda tespit edilen hematolojik bulgular sağlıklı bir inekte bilinen hematolojik parametrelerle birlikte Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Bu vakada ve sağlıklı bir inekte hematolojik parametrelerin değerleri

Parametreler	Normal değerler	Olgunun değerleri
WBC ( $10^3/\text{mm}^3$ )*	4-12	17.2
RBC ( $10^6/\text{mm}^3$ )*	5-10	6.72
Hb (g/dl)*	8-15	8.7
MCV ( $\text{mm}^3$ )*	40-60	39.4
MCH (pg)*	11-17	12.9
MCHC (g/dl)*	30-36	32.9
HCT (%)*	24-36	26.5
RDW (%)*	0	22.7

\*Schalm ve arkadaşları (1975) Veterinary Hematology.

WBC: Akyuvar kan hücreleri

RBC: Akyuvar kan hücreleri

Hb: Hemoglobin

MCV: Ortalama eritrosit hacmi

MCHC: Ortalama hemoglobin konsantrasyonu

HCT: Hematokrit değeri

RDW: % Retikülosit

EDTA'lı tüpe alınan kan numunesinde yapılan inceleme sonucu total lökosit (WBC) miktarının normal değerlerden yüksek, diğer kan parametrelerinin normal sınırlar içinde olduğu tespit edildi. 5 yaşlı ineklerde  $\text{mm}^3$ 'teki total lökosit miktarına göre çeşitli araştırmacılar (Straub, 1987) ve Avrupa Ekonomik Topluluğu'nun (EC) belirlediği standartlar içinde, bu olguda belirlenen  $\text{mm}^3$ 'teki total lökosit miktarına göre ineklerin lökemik olabileceği kanısına varıldı.

### Serolojik bulgular:

Vena jugularis'ten steril vakumlu tüplere alınan kan örneği, 2500-3000 devirde 15-20 dakika santrifüj edilerek kan serumu elde edildi. Kan serumunda enfeksiyona karşı presipitan antikor varlığı AGID testi ile araştırıldı. Test, ticari BLV (kan)-AGID test (Bommeli AG, Bern, İsviçre) kitinin prosedürüne göre uygulandı. AGID testi için petri kutusunda özel hazırlanmış agar da (noble agar+AGB solusyonu) periferde bulunan çukurlara; test edilecek kan serum örneği, ticari BLV-pozitif kontrol serum ve BLV-negatif kontrol serum, merkezde bulunan çukura ise ticari BLV-antijeni kondu. Petri kutuları 22-23 °C'de nemli bir etüvde inkübasyona bırakıldı. Sonuçlar, 72. saatte ışık

kaynağı altında agarda gelişen presipitin bantlarına göre değerlendirildi. Buna göre, hem BLV-pozitif kontrol serum ile antijen arasında hem de test serum örneği ile antijen arasında presipitin hattı gözlemlendi.

Aynı hayvana ait süt örneği, temizlenen meme ucundan steril tüplere alınarak 1 saat etüvde bekletildi. 3000 devirde 20 dakika santrifüj edilerek süt serumu çıkartıldı. Süt serumunda enfeksiyona karşı antikor varlığı ELISA testi ile araştırıldı. Test, ticari BLV (süt)-ELISA test (Idexx, Maine, USA) kitinin prosedürüne göre uygulandı. Süt serum örneği ELISA testi uygulaması sonucunda antikor yönünden pozitif bulundu.

### Tartışma ve Sonuç

Sütçü ineklerde, BLV enfeksiyonunun yaygın olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Klintevall ve ark., 1991, Forschner ve ark., 1989). Özellikle etkenin kan, süt ve kolostrumla geçtiği bilinmektedir (Brenner ve Trainin, 1989). Şimdiye kadar yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğunda enfeksiyonun teşhisinde serolojik testler kullanılmasına rağmen bazı araştırmacılar teşhisde hematolojik testlerinde kullanılabileceğini, hatta mümkünse her ikisinin birarada yapılması gerektiğini bildirmektedirler (Mammerickx ve ark., 1976, Ferrer ve ark., 1976). Kandil ve ark.(1989), BLV enfeksiyonunu serolojik ve hematolojik yöntemler kullanılarak araştırmışlar ve çalışmalarında inceledikleri 100 adet hayvandan 28 adedini serolojik testlerle seropozitif olarak tespit ederlerken, 17 adedini ise hematolojik testlerle lökemik bulduklarını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, bu sonuçlara göre her iki uygulama yönteminin beraber kullanılarak hastalığın teşhisinin yapılmasını önermişlerdir. Bu olguda ise tespit edilen hematolojik ve serolojik bulgular paralellik göstermektedir.

Hematolojik bulgularda sadece total lökosit (WBC) miktarının yüksek olması, bu virusun lenfositlerde bulunmasına bağlanmaktadır. Özellikle BLV enfeksiyonu üzerine yapılan çalışmalarda lökosit ve lenfosit ( $6000 < \text{ve } \%75$ ) sayısında artış gözlemlendiği bildirilmiştir (Straub, 1987). Bu olguda ise total lökosit miktarı  $17.200 \text{ adet}/\text{mm}^3$  olarak belirlenirken, diğer kan parametrelerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. BLV ile yapılan hematolojik çalışmalarda RBC, Hb, MCV, MCH, MCHC, HCT ve RDW parametreleri üzerine detaylı bir bilgi verilmediği için bu olguda elde edilen değerler BLV enfeksiyonu için yorumlanamamıştır. Ancak yapılan bazı araştırmalarda, differansiyel lökosit sayıları, T lenfosit, B lenfosit ve null hücrelerinin belirlendiği, histokimyasal enzim boyamaları ile enfeksiyonun varlığının ortaya konulabileceğini bildirilmiştir (Williams ve ark., 1988, Takashima ve ark., 1977., Kajikawa ve ark., 1983). Kajikawa ve ark.(1983) yaptıkları bir çalışmada, histokimyasal Alfa-naftil asetat esteraz enzim boyama

yöntemini kullanarak, araştırılan hayvanlarda B lenfosit sayısında tespit ettikleri artış ile enfeksiyonun teşhisinin yapılabileceğini bildirmişlerdir.

Olgudaki klinik bulgular, tipik BLV enfeksiyonun belirtileridir. Bununla birlikte, BLV enfekte hayvanlarda diyare, konstipasyon, kardiyovasküler bozukluklar, posterior paresis, ayakta duramama, etkilenen iç organlarda disfonksiyon ve tümör gelişimi de gözlenebileceği bildirilmiştir (Roberts ve Carter, 1981; Johnson ve Kaneene, 1992).

Bu olguda BLV enfeksiyonunun serolojik teşhisinde AGID ve ELISA testleri kullanılmıştır. Yapılan karşılaştırılmalı birçok çalışmada ELISA testinin süt ve kan serumlarında enfeksiyona karşı antikor tespiti yönünden, AGID testine göre daha çok hassas olduğu bildirilmiştir (Forschner ve ark., 1989; Mammerickx ve ark., 1984; Klintevall ve ark., 1991). Bu olguda kullanılan serolojik metotlardan AGID ve ELISA testleri arasında elde edilen sonucun pozitifliği ile bir uyum gözlenmiş olmasına rağmen, bir olgu incelendiğinden testlerin hassasiyeti yönünden bir yorum yapılamamıştır.

BLV enfeksiyonunun eradikasyonu için belirli peyriyotlarda sürü kontrollerinin yapılması gerekliliği göz önünde tutulacak olursa, saha şartlarında serolojik testlere göre daha kolay uygulanabilen hematolojik metotların BLV enfeksiyonlarının belirlenmesinde bir ön fikir verebileceği ve hastalığın teşhisini kolaylaştırabileceği açıktır. BLV enfeksiyonu ile ilgili Türkiye'de herhangi bir koruma, kontrol ve eradikasyon programı henüz belirlenmemiştir. Bu nedenle serolojik, hiç değilse sahada hematolojik kontrollerin yapılması ve elde edilen pozitifliğin serolojik kontrollerle viroloji laboratuvarlarında mutlaka onaylanması ve fazla gecikmeden BLV enfeksiyonuna karşı önlemler alınmasının faydalı olacağı kanısındayız.

### Kaynaklar

Blood, D.C., Radosits, O., Henderson, J.A. (1983). Bovine Viral Leucosis (BVL): Bovine Lymphosarcoma, Enzootic Bovine Leucosis. In "Veterinary Medicine". Bailliere Tindall, London.

Brenner, J., Trainin, Z. (1989). Bovine Leukosis Virus-a review, with emphasis on Israeli aspects. *Isr. J. Vet. Med.*, 45, 95-105.

Crespeau, F., Sarat, J.P., Vuillaume, A., Levy, D., Parodi, A.L. (1978). A two years seroepidemiological survey of Bovine Leukemia Virus (BLV) infection in a high incidence area of the south-west of France. *Ann. Rech.Vet.*, 9, 747-754.

Ferrer, J.F., Piper, C.E., Donald, A., Marshak, R.R. (1977). Diagnosis of Bovine Leukemia Virus infection: Evaluation of serologic and haematologic tests by a direct infectivity detection assay. *Am. J. Vet. Res.*, 38, 1977-1980.

Forschner, E., Bünger, I., Krause, H.P., Küttler, D. (1989). Brucellosis and Leucosis control of field free dairy cattle herds using bulk milk samples in combination with ELISA. *Dtsch.Tierarztl.Wschr.*, 96, 475-486.

Johnson, R., Kaneene, J.B. (1992). Bovine Leukemia Virus and Enzootic Bovine Leukosis. *Vet. Bull.*, 62, 287-312.

Kajikawa, O., Koyama, H., Yoshikawa, T., Tsubaki, S., Saito, H. (1983). Use of alpha-naphthyl acetate esterase staining to identify T lymphocytes in cattle. *Am. J. Vet.Res.*, 44, 1549-1552.

Kandil, M., Metin, N., Aksakal, M. (1989). Güney ve Güneydoğu Anadolu'da sığır löykozu: serolojik ve hematolojik araştırmalar. *Fırat Üni. Derg.*, 3, 15-25.

Klintevall, K., Naslund, K., Svedlund, G., Hajdu, L., Linde, N., Klingeborn, B. (1991). Evaluation of an indirect ELISA for the detection of antibodies to Bovine Leukaemia Virus in milk and serum. *Journal of Virological Methods*, 33, 319-333.

Mammerickx, M., Portetelle, D., Bruck, C., Burny, A. (1984). Use of an ELISA involving monoclonal antibody for the detection of antibodies against Bovine Leukemia Virus in a herd with a high incidence of Enzootic Bovine Leukosis. *Zbl.Vet.Med.B.*, 31, 210-218.

Mammerickx, M., Portetelle, D., Kettmann, R., Ghysdael, J., Burny, A., Dekegel, D. (1976). Diagnostic tests of Bovine Leukemia: Comparison between an haematological test and the serological diagnosis. *Europ.J.Cancer*, 12, 433-439.

Onuma, M., Ishihara, K., Ohtani, T., Honna, T., Mikami, T., Izawa, H. (1979). Seroepizootiological survey on antibodies against Bovine Leukemia Virus in Japanese Black Cattle. *Jap. J. Vet. Sci.*, 41, 601-605.

Parodi, A.L. (1987). Pathology of Enzootic Bovine Leukosis. Comparison with Sporadic Form. In "Enzootic Bovine Leukosis and Bovine Leukemia virus", Ed., A.Burny and M. Mammerickx, Martinus Nijhoff Publishing, Boston.

Roberts, A.W., Carter, G.R. (1981). "In Essential of Veterinary Virology". Michigan State University Press, USA.

Romero, C.H., Abaracon, D., Rowe, C.A. (1984). Bovine Leukosis Virus infectivity in *Boophilus microplus* ticks. *Vet. Rec.*, 115, 440-441.

Schalm, O.W., Jain, N.C., Carroll, E.J. (1975). "Veterinary Hematology". Lea and Febiger Press, Philadelphia.

Straub, O.C. (1987). Detection of Bovine Leukemia Virus infection by non-specific methods; Haematology and tumour screening. In "Enzootic Bovine Leukosis and Bovine Leukemia virus", Ed., A.Burny and M. Mammerickx, Martinus Nijhoff Publishing, Boston.

Takashima, I., Olson, C., Driscoll, D.M. (1977). B lymphocytes and T lymphocytes in three types of bovine lymphosarcoma. *J. Natl. Cancer Inst.*, 59, 1205-1209.

Van Der Maaten, M.J., Miller, J.M. (1990). Bovine Leukosis Virus. In "Virus Infections of Ruminants". Edited by Z.Dinter and Morein B., Elsevier Science Publishers, New York.

Williams, D.L., Amborski, G.F., Davis, W.C. (1988). Enumeration of T and B lymphocytes in bovine leukemia virus-infected cattle, using monoclonal antibodies. *Am. J. Vet. Res.*, 49 (7), 1098-1103.