

VİBRİOSİS BAKIMINDAN MUCUS - AGLUTİNASYON TESTİYLE ARAŞTIRMA

Mesadet DOĞUER (*)

1960 yılında kısır ineklerde Tampon testle yapılan araştırmaya bazı sebeplerden devam edilememişse de, Brusellosis bakımından laboratuvara gönderilen vajen mayileri Vibriosis bakımından da Mucus - aglutinasyon testine tâbi tutulmuş; aynı zamanda, Ankara Et - Balık Kurumu kesimhanesinden temin edilen materyaller de bu araştırmaya dahil edilmiştir. Sun'i tohumlama bizde de geniş ölçüde tatbik başlatıldığından anzootik steriliteye sebep olan bu hastalığın bilhassa sığır yetiştiren kurumlar için önemi vardır.

Türkiye'de Veteriner tababetde bu konuda yapılmış iki araştırmaya (7,4) tesadüf edilmiş buna mukabil yabancı memleketlerde hastalığın önemi sebebiyle bu hususda geniş araştırmalara yer verilmiştir. Lawsen ve Mackinnon (11) Vajinal - mucus aglutinasyon testini serolojik testlere tercih ettiklerini, yine aynı araştırmacılar Lawsen ve Mackinnon (12) aglutininlerin vajen mayisinde enfeksiyondan 2 - 15 hafta sonra meydana çıktığını, 3090 numunenin muayenesine göre, enfeksiyon esnasında % 41.7 nisbetinde müsbet reaksiyon bulunmasına mukabil, oestrus zamanında alınan numunelerde ise positif nisbetinin % 5.5 olarak tesbit edildiğini, Durusan ve Doğuer (5) sığırların hastalığı ekseriya genital yolla sun'i veya tabii ilkah esnasında aldığını, bununla beraber kontamine yem, su ve direkt temas ile de sirayet edebileceğini, hastalığın ilk safhasında kan serumu testinin, orta ve nihayetine doğru da Tampon testinin bir kıymeti olduğunu, enfektelerde aglutininlerin ekseriya 6 ay içinde kaybolduklarını, Ertürk (7) enfekte sığırların kan se-

(*) Yetiştirme Hast. Lab. Şefi

rumlariyle Komplement - fixasyon, Vaginalmüküs, aglutinasyon testlerini mukayeseli olarak uygulandığını, müsbet vak'aları meydana çıkarmak bakımından aglutinasyon ve C.F reaksiyonları arasında fazla bir fark olmadığını, C.F testinin bakteriolojik ve serolojik muayenelere yardımcı ve destekleyici bir reaksiyon olduğunu, Blom (3) Danimarka adalarından birinde Tampon testle yaptığı bir araştırmada, mevcut sığırların % 97'sini teste tâbi tuttuğunu, 24.905 tampon numunesini muayene ettiğini, Vibrio fetus bakımından aglutinasyon testiyle 188 numuneyi pozitif bulduğunu, 209 numuneyi de şüpheli olarak tesbit ettiğini, 1 ve 6 no'lu suslarla antijeni kendisinin hazırladığını; Laing (10) 42 baş enfekte inekte yaptığı müşahadelere göre enfeksiyondan sonra 14 - 105 günler arasında vajen mayiinde aglutininlere rastlandığını ve bunların 3-10 ay devam ettiğini enfeksiyonu müteakip 5 haftadan evvel numune alınmamasını, titre çok düşük bulunduğundan kronik hastalıklı, yaşlı, ineklerden de numune alınmamasını, oestrus esnasında da alınan numunelerin hayvan enfekte olduğu halde menfi netice verdiğini, misal olarak enfektelerden oestrus zamanında alınan numunelerde % 18 müsbet bulunduğu halde aynı ineklerin başka bir zamanda yapılan muayenelerinde pozitif nisbetinin % 68 olduğunu; Morgan (13) diagnostik bakımından mucus - aglutinasyon testinin, serum aglutinasyon testine nazaran daha güvenilir, spesifik bir test olduğunu, yeni enfektelerden elde edilen vaginal mucusdan Vibrio organizmalarının da izole edilebileceğini; Kenneth (8) Vibriosis'in ineklerde cervicitis, endometritis ve salpingitis'e sebep olduğunu, fakat boğalarda lezyon müşahade edilmediğini, ineklerin gebe kalamamalarına, gebeliğin herhangi bir safhasında embryonic ölümlere, sıkıtlara sebebiyet verdiğini, hastalığın naturel servis veya antibiotikle muamele edilmemiş semen mayii ile yapılan artificial inseminasyon ile yayıldığını, enfeksiyonun boğalara da geçtiğini; Ayalon ve Neeman (2) İsrail hükümetinin Türkiye'den ithâl ettiği ineklerden 104'ünü Mucus - aglutinasyon testine tâbi tuttuklarını, % 20 pozitif ve % 25 şüpheli reaksiyon elde ettiklerini; Doquer (4) muhtelif haralara ait 106 baş kısır ineğe mahallinde hususi bir aletle tampon tatbik edilerek alınan vajen mayii numunelerinin lâboratuvarda teste tâbi tutulduğunu ve 8 şüpheli reaksiyon elde edildiğini; Atılgan (1) Vibriosis'in teşhisinde kan serumu ile aglutinasyon testinin bilhassa düşük yapmış ineklerde % 80 nisbetinde iyi sonuç veren bir metod olduğunu; Elde (6) genital

Vibriosis'in teşhisinde Vaginal - mucus aglutinasyon ve Komplement - fixasyon testlerinin çok kullanıldığını, serum aglutinasyon testinin ise pek az bir kıymeti olduğunu, Vaginal - mucus testinin daha ziyade sürü muayeneleri bakımından bir değeri olduğunu, aglutininlerin vaginal mayide teşekkülü bakımından servisten sonra beş haftadan evvel numunelerin alınmamasını, enfeksiyona yakalandıktan sonra 5 - 16'ıncı haftalar içinde en yüksek titre elde edilebileceğini, oustrus esnasında toplanan numunelerden negatif, kanlı numunelerden ise yanlış pozitif neticeler alındığını; Young (15) 1104 ineğe ait vaginal mucus numuneleriyle aglutinasyon testi yapıldığını, pozitif reaksiyon nisbetinin % 3 - 28 arasında değiştiğini; Murth ve arkadaşları (14) üç nevi antijenle vaginal mayileri aglutinasyon testine tâbi tuttuklarını, 121 numuneyi müsbet ve şüpheli bulduklarını bildirmişlerdir.

1960 dan sonraki yıllar içinde de hastalığın önemi dolayısıyla çalışmalara devam edildiğini yukarıda belirtmiştik. Bundan başka bu araştırmaya devam edilmesinin diğer bir sebebi de, Ayalon ve Neeman (2) nın, İsrail hükümetinin Türkiye'den ithâl ettiği sığırları Mucus - aglutinasyon testiyle muayene ederek % 20 nisbetinde reaktör tesbit ettiklerini bildirmeleridir. Enfeksiyon nisbetinin yüksek oluşu, lâboratuvarımızda bu hastalığın teşhisinde de çalışmamızı lüzumlu kılmıştır. Yazıda bu araştırmadan elde edilen neticelerden ve ilgili literatürden bahsedilmiştir.

M A T E R Y A L V E M E T O D

Test'de kullanılan vajen mayii numuneleri üç şekilde temin edilmiştir :

1 — Dr. Blom'un orijinal âletine göre hazırlanan cam çubuklarla alınan materyal adedi 312 dir.

2 — Ankara Et - Balık Kurumu kesimhanesine getirilmiş olan ineklerden, hayvan sahiplerinin rıza göstermemeleri sebebiyle vajen mayii alınamadığından, ineklerin kesimden sonra atılan genital organları emaye kovalarda lâboratuvara getirilerek, uterusları açılmış, mucoza cam bagetlerle kazınarak luzuci mayi ufak kavanozlarda toplanmıştır. Bu şekilde elde edilen numune adedi 502 dir.

3 — Hara ve bilhassa Şeker şirketlerine ait kurumlardan lâboratuvara Brusellosis bakımından muayene için gönderilen 151 adet inek vajen mayii aynı zamanda Vibriosis bakımından da muayeneye tâbi tutulmuştur.

Üç şekilde elde edilen yekûn numune adedi 965 dir.

Test'de kullanılan antijen, Kopenhag Devlet Veteriner Enstitüsünde Vibriosis lâboratuvarı şefi Dr. E. Blom'un lâboratuvarında hazırlanmış olan Cellular antijendir. İmâl tarzını gördüğümüz bu antijen catalase pozitif 1 ve 6 No'lu iki Vibrio fetus suşunun (Viriden S. 37 ve Old Terpstra) Thiol vasatında ve CO₂ atmosferi altında üretilen dört günlük kültüründen ibarettir. Kesif antijen Mc. Farland 2'e göre dilüe edildikten ve içine % 0.2 formol ilâvesinden sonra referens serumlarla titre edilir. Konsantre antijen bir kaç yıl aktivitesini muhafaza etmektedir.

BİRİNCİ METODDA KULLANILAN ALET

İneklerden vajen mayii almak için Dr. Blom çok ucuza mal olan bir defa kullanıldıktan sonra atılan âleti : 40 cm. uzunluğunda parafine emdirilmiş mukavvadan 1-1.5 cm. kutruna iki ucu açık bir boru ile, ucuna 20 x 13 cm. eb'adında kesilip katlanmış gazlı bez iliştirilmiş 50 cm. uzunluğunda ince bir değnekten ibarettir. Tampon renksiz keten iplikle bağlı olarak sopanın ucuna iliştirilmiştir. Kullanılan ipliğin boyu, vajenin dışından tutulup çekilmesi için bir metreye yakındır. Biz bu kalın kartonu temin edemediğimizden cam boru ile bu âleti yapmak zorunda kaldık. Ucu aynı şekilde gazlı bezden tampon iliştirilmiş olan tahta çubuk, ucu dışarda kalmıyacak şekilde cam boruya sokulur ve kâğıda sarılı olarak tâkim edilir.

ALETİN TATBİKİ

Bu takım, aseptik şartlarda vajene sokulup cervix uteriye kadar itilir. Bu esnada tamponun kirlenmemesi için çubuk cam borunun içinde muhafaza edilir. Tampon, Cervix uteriye bırakıldıktan sonra cam boru içindeki çubukla birlikte dışarı alınır, **kuyruğa sarılmaması için ipliğin sarkan ucunun fazlası kesilir.** Takriben 1 g. ağırlığındaki tampon yarım saat kadar içerde bırakıldıktan

sonra ipliğin ucundan tutulup dışarı çekilir. El değmeden ağzı geniş, steril bir şişeye konarak lâboratuvara gönderilir.

GAZLI BEZİN SULANDIRILMASI

Vajen mayiini emmiş olan bezin üzerine 6 ml. fenollü fizyolojik su ilâve edilip + 4 C da bir gece bekletildikten sonra tampon şişe içindeyken pensle sıkıştırılarak elde edilen luzucî mayi bir tüpde toplanarak santrifüje edilir.

MUCUS - AGLUTİNASYON TESTİ

Santrifüj tüpünün üst kısmındaki mayiden 0.5 ml. alınıp iki aglutinasyon tüpüne 0.25 ml. miktarında tevzi edilip, üzerlerine iki çeşit antijenden 1 ml. ilâve edilerek 37°C da 18-24 saat bırakılır. Bir vajen mayii numunesi için iki çeşit antijen kullanıldığından iki seri tüp hazırlanır. Her takıma ayrıca pozitif, negatif ve muhtelif titrelerde şüpheli reaksiyon veren vajen mayii numunelerinin, aynı zamanda spontan aglutinasyonun kontrolü için de iki tüp ilâvesi uygun olur. Mucus az da olsa bir depo yaptığından tüpler sallanmadan okunmalıdır. Su berraklığındaki bir reaksiyon + + + + lik reaksiyonu gösterir, ondan sonrakiler + + +, + + ve + olarak kıymetlendirilir. % 50 nisbetindeki reaksiyonlar ve yukarısı pozitif, % 25 lik reaksiyonlar ise şüpheli kabul edilir. İlk tüpte + + + lik bir reaksiyon bile aktif enfeksiyonu gösterir. Pozitif reaksiyonlarda yukarı dilisyonlarla da çalışılarak nihaî titre tesbit edilir.

MUCUS MAYII ALMAK İÇİN DİĞER BİR ŞEKİL

İneklerden vajen mayii almak için bir ucu eğri, diğer pamuk tıkalı ucuna ince lâstik bir boru ilâve edilmiş olan uzun cam boru kullanılmaktadır. Lâstik borunun boş olan ucuna yani ağza alınan kısmına ayrıca ufak bir cam boru takılmıştır. Mayi emilerek alınmaktadır. Bu usulle fazla miktarda materyal elde etmek mümkünse de tehlikeli olması sebebiyle kullanılmamaktadır. Bir tüpe aktarılan materyalin bir volumuna dört volem fenollü fizyolojik su ilâve edilip yine bir gece soğukda bırakıldıktan ve santrifüje ettikten sonra iki ufak tüpe 0.5 ml. aktarılıp iki nev'i antijenden 0.5

ml. ilâve edilerek 37°C da bir gece bekletilir. Evvelce de bahsedildiği gibi maximal titrenin tesbiti için dilisyonların katları hazırlanarak ayrıca muayeneye tâbi tutulur.

S O N U Ç V E T A R T I Ş M A

Resmi kayıtlara göre, muayene edilen 965 adet inek vajen mayininin bir kısmı kısır ineklere aittir. Yukarda bahsedilen metodlarla muayene edilen 965 numuneden ancak 5 pozitif, 15 şüpheli reaksiyon elde edilebilmiştir. Müsbet reaktör oranı % 0.51 dir.

Lâboratuvarımızda bugüne kadar atık koyun ceninlerinin mide muhteviyatlarından dalak ve karaciğerlerinden yine resmî kayıtlara göre 29 adet *Vibrio* fetus suşu izole etmiş olmamıza mukabil ineklere ait atık ceninlerden hiç üretemediğimiz gibi bugüne kadar Türkiye'de ineklerden *Vibrio* organizmalarının üretildiği hususunda ancak bir neşriyata (9) rastlanılmış, manda ve keçilerden ise hiç üretilmemiştir.

Buna mukabil 1958 yılında Ayalon ve Neeman'ın neşriyatında bizden ithâl edilen ineklerin *Vibriosis* bakımından yapılan muayenelerinde Mucus - aglutinasyon testiyle % 20 nisbetinde reaktör bulmalarına, teşhis metodlarında, antijenlerde ve kabul edilen pozitif kriterlerdeki farklar sebep gösterilebilir. Bununla beraber izole edilen 29 *Vibrio* suşunun Türkiye'nin muhtelif bölgelerine (Çukurova, Sivrihisar, Kırşehir, Haymana, Ankara, Bâla, Nevşehir, Çubuk, Ayaş, Sivas, Malatya) ait sürülerdeki sıkıt vak'alarından ayrılmış olması, hastalığın memleketimizde koyunlar arasında yaygın olduğunu göstermektedir.

Vibrio fetus kültürlerinde tesbit ettiğimiz Kolonial varyasyondan, S,R karakterindeki koloni tiplerinden ve bunların mutantlarından ayrı bir yazıda bahsedilecektir.

Bilindiği üzere *Vibriosis*, epizootik sıkıtlara, kısırılığa, gayri muntazam kızgınlığa, mükerrer servislere ve güç doğumlara sebep olduğundan yetiştirme kurumlarında Brusellosis'den sonra önemli ekonomik zararlar tevhit eden bir hastalıktır. Yabancı memleketlerde bu enfeksiyonla çeşitli mücadelelere girişildiği halde bizde sığır ve koyunlar arasında hastalığın umumî durumu meçul olduğundan henüz Veteriner Hayvan Sağlık Zabıtası Kanununa da-

hil edilmemiştir. Hastalığın epidemiolojisinin ve filyasyonunun teşbitinden sonra elde edilecek neticeye göre profilaktik, hijyenik tedbirlerin, terapötik hususların ve mücadele metodlarının kararlaştırılması Vivriosis'in eradikasyonunda muvaffakiyeti sağlayacaktır. Bu araştırma ile kesin bir netice elde edilmiş değildir. Bu çalışma ancak bir başlangıçtır. Diğer meslekî problemlerimiz gibi bu ilgi çekici konunun da genç meslektaşlarımız tarafından kısa zamanda ele alınacağını ümit etmekteyiz.

Ö Z E T

965 baş ineğe ait vajen mayii numuneleri Danimarka metoduna göre MUCUS-aglutinasyon testiyle muayene edilmiş olup, 5 müsbet 15 şüpheli reaksiyon elde edilmiştir.

Yine resmî lâboratuvar kayıtlarına göre, Türkiye'nin muhtelif mıntıklarına ait koyun sürülerinde vukua gelen anzootik sıkıt vak'alarından, atık ceninlerin mide muhtevilerinden dalak ve karaciğerlerinden 29 adet Vibrio fetus suşu elde edilmiş olması memleketimizde koyunlar arasında Vivriosis'in yaygın olduğunu göstermektedir. Buna mukabil bugüne kadar ineklerden, manda ve keçilerden henüz Vibrio organizmleri izole edilememiştir.

S U M M A R Y

STUDIES ON THE MUCUS - AGGLUTINATION TEST FOR VIBRIOSIS

According to the official records of our laboratory, 965 samples of the vaginal - mucus collected from the cattle were examined for screening purpose by Danish Mucus - agglutination method. We have obtained only 5 positive and 15 suspected reactions by Danish method.

Up to date, we have isolated 29 Vibrio fetus strains from the anzoootical abortion cases among the sheep in different parts of Turkey. These results show that Vibrio fetus infection has been widespread among the sheep in our country. But we have not yet obtained any Vibrio strain from cows, water buffaloes or goats.

**Çalışmalarımızın devamı müddetince yardımlarını esirgemi-
yen Enstitümüz idaresine ve lâboratuvarımızın teknik elemanla-
rından Cemile Savüktekin'le, Ahmet Güldürmez'e teşekkürlerimizi
bildiririz.**

KAYNAKLAR

- 1 — **Atilgan, T. (1963)** : Vibriosis. Bornova Vet. Enst. Derg. 118 - 130.
- 2 — **Ayalon, N and Neeman, L. (1958)** : Vibriosis in dairy cattle in İsrail. Vet. Mld. Ass., 15,3, 146 - 148.
- 3 — **Blom, E. (1956)** : A five year field experiment for controlling the occur-
rence of Vibrio fetus reactors. Statens Vet. Ser. Lab. Copenhagen. 322.
- 4 — **Doğuer, M. (1960)** : Kısır ineklerde Tampon testiyle Vibriosis bakımından
araştırma. Vet. Hek. Dern. Derg. 30, 160 - 161, 616 - 618.
- 5 — **Durusan, R. ve Doğuer, M. (1955)** : Vibriosis. FAO/WHO Bruselloşis
merkezi : Etlik Bakt. ve Seroloji Enst. Yeni Desen Matbaası Ankara
- 6 — **Erde, G.W. (1964)** : Laboratory technigques for detecting genital Vibriosis
and Trichomoniasis. FAO, NEAH Handbook 1.
- 7 — **Ertürk, Ö. (1956)** : Siğırlarda Vibriosis. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 3,
1 - 2, 16 - 33.
- 8 — **Kenneth, M. (1958)** : New aspects of Vibriosis in cattle. Dept. of Path
and Bact. Vet. Coll. Ithaca, New York, 20 - 28.
- 9 — **Küngerü, M. (1970)** : Bir jersey ineğinde Vibrio fetus'dan mütevellit
yavru atma vak'ası ilk tebliğ. Samsun Vet. Kont. Araş. Enst. Derg. 1,1.
- 10 — **Lang, J.A. (1956)** : Vibrio fetus infection of cattle. FAO Agri. Studies,
32, Rome.
- 11 — **Lawsen, J.R. and Mackinnon, D.J. (1952)** : Vibrio fetus infection in catt-
le. Vet. Res. 64, 763 - 773.
- 12 — **Lawsen, J.R. and Mackinnon, D.J. (1953)** : Experimantal transmission of
Vibrio fetus. Reprinted from the Vet. Weybridge Inst, England, 182, 3 - 8.
- 13 — **Morgan, B., Melrose, D., Stewart, D. (1957)** : The control of bovine Vib-
riosis. Vet. Rec. 69, 51, 1429 - 1432.
- 14 — **Murth, B.S.K., Soderlind, O., Settergren, I. (1969)** : The serological and
bacteriological diagnosis of Vibrio fetus infection in Indian cattle and
buffaloes. Vet. Bull. 39,6.
- 15 — **Young, S.S., and Yeh, Y.C. (1968)** : Survey of the distribution of bovine
Vibriosis antibody in Taiwan. Vet. Bull. 39,7.