

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MANİSA YÖRESİ SÜT SIĞIRLARINDA SUBKLİNİK
PARATÜBERKÜLOZUN SEROPREVALANSI**

MEHMET BERBEROĞLU

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ. DR. TURAN CİVELEK

Tez No:2016-002

2016 Afyonkarahisar

KABUL VE ONAY

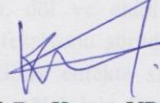
Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

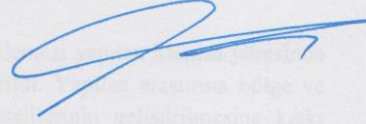
Tez Savunma Tarihi: 22/03/2016



Prof. Dr. Kerem ÜRAL
Adnan Menderes Üniversitesi
Jüri Başkanı



Doç. Dr. Turan CİVELEK
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye



Doç. Dr. Cenker Çağrı CINGI
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye

İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Mehmet BERBEROĞLU'nun "Manisa Yöresi Süt Sığırlarında Subklinik Paratüberkülozun Seroprevalansı" başlıklı tezi 22/03/2016 günü saat 10:30 Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Paratüberküloz klinik, ekonomik ve potansiyel zoonotik karakteri yönüyle halk sağlığı açısından önemi tam olarak anlaşılammış, süt sığırlarının sık görülen bir hastalığıdır. Kondüsyon, yavru, döl ve ciddi süt verimi kayıplarına yol açar. Subklinik enfekte hayvanlar enfeksiyonu sürüdeki gençlere ve sağlıklı hayvanlara bulaştırma eğilimindedir. Subklinik enfekte sığırların başlıca süt ve dışkısı ile çevreye yayılan bu bakteri, insan sağlığı için de olası bir tehdittir.

Bu çalışmada, yoğun süt sığırı bakım ve beslemesi yapılan Manisa yöresinde subklinik paratüberkülozun seroprevalansını araştırıldı. Yapılan araştırma bölge ve ülke genelinde hastalığa karşı etkili kontrol stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Lisanüstü eğitimin boyunca bilgi, birikim ve deneyimi ile bana yol gösteren danışman hocam Doç. Dr. Turan Civelek'e teşekkürlerimi sunarım. Araştırma sürecinde şahsıma önemli katkılar sağlayan Dr. Durmuş F. Başer ve Uzm. Vet. Hekim Mehmet Ali Erfidan'a da ayrıca müteşekkirim.

Desteğini ve ilgisini esirgemeyen, başta biricik eşim olmak üzere, aileme şükranlarımı sunarım.

Bu tezi, araştırma sürecinde yaşamımıza dahil olan oğlum Yunus Emre'ye ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Kabul Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Çizelgeler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	v
1. GİRİŞ	1
1.1. Etiyoloji	2
1.2. Konak Yaygınlığı	2
1.3. Prevalans	3
1.4. Patogenez	3
1.5. Enfeksiyon ve Hastalığın Evreleri	4
1.6. Bulaş	5
1.7. Nekropsi Bulguları	6
1.8. Ekonomik Önem	6
1.9. Tanı	6
1.9.1. Kültür	7
1.9.1.1. Bakteriyolojik İnceleme	7
1.9.1.2. Ziehl-Nielsen Boyama	8
1.9.1.3. Genetik Prob	8
1.9.1.4. Süt Kültürü	9
1.9.1.5. Biyopsi	9
1.9.2. Serolojik Testler	9
1.9.2.1. ELISA	10
1.9.2.2. Komplement Fiksasyon	11
1.9.2.3. Agar Gel Immundifuzyon	11
1.9.3. İmmunite Testleri	12
1.10. Kontrol ve Korunma	12
2. GEREÇ ve YÖNTEM	
2.1. Gereç	14
2.1.1. Hayvan Materyali ve Örnekler	14
2.2. Yöntem	15
2.2.1. Hesaplama	16
2.2.2. Değerlendirme	16
2.2.3. İstatistiki Analiz	16
3. BULGULAR	17
4. TARTIŞMA	19
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	22
ÖZET	24
SUMMARY	25
KAYNAKLAR	26

ÇİZELGELER

Çizelge 3.1. Manisa yöresinde subklinik paratüberkülozun seroprevalansı	Sayfa 18
--	-------------



SİMGELER VE KISALTMALAR

AGID	Agar Gel İmmunodifuzyon
ALT	Alanin Amino Transferaz
CFT	Komplement Fikzasyon
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
HRPO	Horseradishperoksidaz
MAP	<i>Mycobacterium avium subsp. Paratüberkülozis</i>
NC	Negatif kontrol
OP	Dansite
PC	Pozitif
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pTB	Paratüberküloz
TMB	Tetramethylbenzidine
ZN	Ziehl-Nielsen

1. GİRİŞ

Paratüberküloz (Johne's Disease) *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (MAP) tarafından meydana getirilen enfeksiyöz bir hastalıktır. Ruminantlarda kronik ishale neden olur. İnsanlarda Crohn's hastalığının etiolojisindeki rolü nedeniyle bu hastalığın potansiyel zoonoz karakterde olduğu bildirilmiştir (Pickup ve ark., 2004; Nakase ve ark., 2006; Diequez ve ark., 2009; Osterstock ve ark., 2010).

Paratüberküloz (pTB) enfekte sığırlarda uzun süre subklinik seyreder. Dışkı numunelerde etken birçok sığırdaki iki yaşından önce tespit edilemez (Andrews, 1992, Diequez ve ark., 2009; Osterstock ve ark., 2010). Bu evrede, sağlıklı hayvanlara sürüdeki enfekte sığırlar tarafından etkenin bulaşı devam eder (Baumgartner ve Khol; 2006). Enfeksiyonun bu erken döneminde, ruminantlarda klinik semptom gözlenmemektedir (Allaker ve Kapas, 2003; Baumgartner ve Khol, 2006). Hastalığın ilerlemesi ile birlikte MAP bölgesel lenf yumrularına yayılır ve klinik semptomlar ortaya çıkar. Tipik bulgular, kronik ishal ve kilo kaybıdır (Andrews, 1992).

pTB süt sığırı işletmelerinde ekonomik kayıplara neden olan en önemli hastalıklardan biridir (Hasanova ve Pavlik, 2006).

1.1. Etiyoloji

pTB ilk kez enfekte sığırların ince bağırsağında, 1895 yılında tespit edildi (Johne ve Frothingham, 1895). Başlangıçta, mikrobiyolojik yapısı ile tüberküloz basiline benzeyen bu bakteri, tüberkülozun atipik bir formu olarak tanımlandı. 1906 yılında ise MAP'in tüberküloz etkeninden farklı olduğu belirlendi ve *Pseudotüberculosis Enteritis* olarak yeniden adlandırıldı (Bang, 1906). Bu hastalık günümüzde *Paratüberküloz* olarak bilinmektedir.

MAP uygun ortamda yavaş üreyen, asit/faz nitelikte bir bakteridir. Sığır dışkısında bir yıl kadar canlılığını korur. Akarsu, göl ve denizlerde enfektif olarak ortalama 160 gün kalabilmektedir. Sıfırın altında 14°C'de en az bir yıl aktiftir (Baumgartner ve Khol, 2006).

1.2. Konak Yaygınlığı

MAP'in konak dağılımı oldukça geniştir. Başlıca süt sığırlarında görülen bir etken olarak bilinmektedir. Ancak, Muflon (Machackova ve ark., 2004), Manda (Sivakumar ve ark., 2005) ve Deve'lerde de (Selbitz, 2002) bu hastalık rapor edilmiştir. Yanı sıra, ruminant olmayan bazı hayvan türlerinde de bu hastalığa rastlanmıştır (Alvarez ve ark., 2005; Florou ve ark., 2005; Judge ve ark., 2005). Primat ve evcil domuzların, konakçı olarak, etkeni taşıdığı ve klinik semptom göstermediği bilinmektedir (Klee, 2004). Son yıllarda, insanlarda görülen Crohn's hastalığının etkeninin MAP olduğu tespit edilmiştir (Pickup ve ark., 2004; Nakase ve ark., 2006).

1.3. Prevalans

Buzağuların doğum sonrası anne ile beraber barındırılması ve ilk üç ay anne sütü ile beslenmesi enfeksiyonun geçişinde rol oynar (Çetinkaya ve ark., 1997). Vural ve Atala (1988), sığırlarda pTB'nin seroprevalansını Orta Anadolu bölgesinde, mikro ve tüp komplement fikzasyon (CFT) yöntemiyle yaptıkları çalışmada, sırasıyla %2.3 ve %2.7 olarak saptamıştır. Orta Anadolu bölgesinde, ELISA yöntemiyle yapılan bir diğer çalışmada ise pTB'nin seroprevalansı %4.6 olarak rapor edilmiştir (Atala ve Akçay, 2001).

MAP'ın bölgesel ve ülkesel prevalansı değişiklik göstermektedir. Dünya üzerinde birçok ülkede pTB varlığı tespit edilmiştir. Paratüberküloz prevalansı Almanya için %84.7 olarak rapor edilirken, Avustralya'nın bir bölümünde ise bu hastalığa rastlanmadığı bildirilmektedir. İsveç'te yapılan bir çalışmada ise pTB prevalansının asgari düzeyde olduğu belirtilmiştir. Süt sığırları üzerinde yürütülen araştırmalar paratüberküloz prevalansının Danimarka için %47, Kanada için %43, Amerika Birleşik Devletleri için ise %50 olduğunu ortaya koymuştur (Collins ve ark., 1994; Jakobsen ve ark., 2000; Van leeuwen ve ark., 2001; Hacker ve ark., 2004; Holmström ve Stenlund, 2005).

1.4. Patogenez

Tüm dünyada yaygın olarak görülmesine rağmen hastalığın patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Paratüberküloz hastalığı ile ilişkili belirtilen patolojik değişimler bu hastalık için karakteristik olmakla birlikte diagnostik değildir (Blood ve ark., 2000). MAP'ın uygun laboratuvar koşullarında dahi aşırı yavaş üremesi, inkübasyon

periyodunun uzun olması ve tam olarak sınıflandırılmaması hastalık seyrinin gelişimini etkilemektedir (Blood ve ark., 2000; Osterstock ve ark., 2010).

1.5. Enfeksiyon ve Hastalığın Evreleri

Hastalığın yayılmasındaki en önemli faktör, enfekte hayvanların dışkıları ile bulaşık yem ve suların tüketilmesidir. Hastalığın inkubasyon periyodu oldukça uzundur. MAP genellikle subklinik seyredir. Henüz klinik semptom göstermeyen enfekte hayvanlar, aktif enfeksiyon ortaya çıkmadan yaklaşık 15-18 ay önce etkeni dışkıları ile saçmaya başlar (Smith ve Bradford., 2001).

Besleme hataları, gebelik dönemi ve yüksek süt verimi gibi stres oluşturan faktörler, uzun süreli kortikosteroid uygulamaları pTB'nin klinik formunun ortaya çıkmasında tetikleyici unsurlardır (Andrews, 1992). Hastalığın gelişimi dört evre altında incelenmektedir. *Sessiz enfeksiyon dönemi*; etken, jejunum ve ileum mukozasında fagositik hücreler tarafından alınır. Bu evrede alınan dışkı örneklerinde hastalık tespiti zordur. Fakat sindirim kanalından elde edilen doku kültürlerinde, MAP tespit edilebilir. Bu dönem, iki yaşından itibaren, uzun bir süre devam edebilir (Smith ve Bradford, 2001; Mecitoğlu ve Demir, 2012). *Subklinik hastalık dönemi*; MAP antijenine karşı sitotoksik T lenfositlerin immun yanıt oluşturduğu evredir. Kilo kaybı ve kronik ishal bu evrede gözlenmez (Stricklands ve ark., 2005). Bu dönemdeki enfekte hastalar dışkıları ile enfeksiyonu çevreye yayar. Tüm sürü subklinik dönemde enfekte olabilir. Bu evre, hasta hayvanın immun yanıtına veya vücuttaki MAP yoğunluğuna bağlı olarak birkaç yıl sürebilir (Andrews, 1992). *Klinik form dönemi*; pTB'nin klinik semptomları bu evrede görülür. Kilo kaybı ve şiddetli ishal ile karakteristiktir. Kalp ve solunum frekansları referans aralıktadır. Beden ısısı ise normaldir. Bu evrede gerçekleştirilen dışkı kültürü, serum ELISA ve AGID testleri pozitif sonuç verir (Andrews, 1992). *İlerlemiş Klinik Form dönemi*; hastalar

güçsüz ve aşırı zayıflamıştır. Genellikle projektal ishal gözlenir. Çene altı ödemi birçok hastada görülmektedir. Subklinik dönemdeki enfekte sığırlar, kısa bir sürede bu döneme geçiş yapabilir. Şiddetli ishal ile birlikte hipoproteinemi kaydedilir. Bu hastalarda genel durum hızla kötüleşir. Şiddetli dehidrasyon ve kaşeksi sonucu ölüm meydana gelir (Blood ve ark., 2000).

1.6. Bulaş

Doğum sonrası, anneden yavruya olan fekal ve oral bulaş, hastalığın yayılmasındaki en önemli faktördür. Uzun bir inkübasyon süresi sonrası (Klee, 2004) enfekte sığırlar bakteriyi dışkıları ile yaymaya başlar. Ortalama her gram dışkı ile bir milyon bakteri çevreye yayılır (Whitlock ve ark., 2005). MAP ile enfekte bir sığırda etkenin ortalama bir buçuk yıl sonra dışkı ile yayıldığı bildirilmektedir (Bolton ve ark., 2005). Bununla birlikte; yapılan çalışmalar, genç buzağuların da dışkıları ile bu bakteriyi yayabildiğini ortaya koymuştur (Bolton ve ark., 2005; Weber ve ark., 2005).

MAP enfekte dişi hayvanların sütünde de bulunabilir. Yanı sıra, yeni doğum yapmış sığırların kolostrumunda da MAP etkenine rastlanmıştır. Yeni doğan buzağular etkeni kontamine anne memesinden direk alabilir. Süt ve kolostrumun pastörizasyonu bulaş ihtimalini azaltmaktadır. Fakat MAP yayılımı tam olarak önlenemez (Baumgartner ve Khol, 2006). Evcilleştirilmemiş ruminantlarda ise MAP'ın rezervuar etkileri halen çalışılmaktadır (Philpott, 1993; Ayele ve ark., 2004; Judge ve ark., 2005).

1.7. Nekropsi Bulguları

Aktif enfekte sığırlarda gastrointestinal sistem ve bölgesel lenf nodüllerinde lezyonlar şekillenir. İleum cidarındaki kalınlaşma dikkat çekicidir. Barsak kıvrımlarında şekillenen beyin benzeri görünüm karakteristiktir. Diffuz granümatöz değişiklikler, enteritis ve non-nekrotik fibrozis enfekte sığırlarda sıkça görülmektedir. Ayrıca, vücut boşluklarında biriken seröz effüzyon da pTB’de tipiktir (Osterstock, 2010).

1.8. Ekonomik Önem

pTB ekonomik maliyeti yüksek ve etkin bir tedavisi ise bulunmayan bir hastalıktır. Bu hastalığın infertilite, mastitis ve diğer subklinik problemleri tetiklemesiyle birlikte ekonomik kayıplar daha da artar. Yapılan bir çalışmada, ABD’de enfeksiyonun yıllık kaybının 220-250 milyon dolar olduğu rapor edilmiştir (Sharma ve ark., 2008). Türkiye’de ise farklı çalışmalar yapılmakla birlikte; hastalığın ülke genelindeki prevalansı tam olarak belirlenmemiştir. Dolayısıyla bu hastalığın neden olduğu etkiler ülkemiz açısından net olarak bilinmemektedir (Mecitoğlu ve Demir, 2012).

1.9. Tanı

Klinik paratüberküloz tanısı genellikle semptom, anamnez ve nekropsi sonuçları ile konur. Semptom göstermeyen olgularda ise teşhis amaçlı laboratuvar testlerden

faýdalanılmaktadır. Özellikle genç sığırlarda kullanılabilen spesifikite ve sensitivitesi yüksek bir test ise bulunmamaktadır (Baumgartner ve Khol, 2006). Bununla birlikte, pTB tanısında farklı metotlar kullanılabilir. Başlıca; kültür, PCR, immunité testleri ve serolojik testlerden yararlanılarak MAP teşhis edilebilir (Muskends ve ark. 2003; Baumgartner ve Khol, 2006; Civelek ve ark., 2009, Mecitođlu ve Demir, 2012).

1.9.1. Kültür

1.9.1.1. Bakteriyolojik inceleme

Kültür, paratüberküloz teşhisinde yaygın kullanılan ve altın standart kabul edilen bir laboratuvar testidir. Klinik semptom gösteren veya göstermeyen hayvanların tanısı için önemli bir metottur. Testin spesifitesi ve sensitivitesi %100'dür. Bakteriyal kültür testi ile enfekte hayvanlar, klinik semptom göstermeden 1-3 yıl öncesine kadar tespit edilebilir (Muskends ve ark. 2003).

Bakteriyal kültürde MAP için inkübasyon süresi ortalama 8-16 haftadır. Bununla birlikte, yeni uygulanan ekim yöntemleri ile bu süre üç haftaya kadar düşürülmektedir (Blood ve ark., 2000; Muskends ve ark. 2003, Böcher ve Gangl, 2005).

1.9.1.2.Ziehl-Nielsen Boyama

Bu metodta dışkı froti örneği Ziehl-Nelsen (ZN) ile boyanır ve mikroskopik bakı ile etken teşhis edilmeye çalışılır. ZN, veteriner sahada doğrulama amaçlı kullanılan, ucuz ve pratik bir yöntemdir (Nielsen ve ark., 2001; Yıldırım ve Civelek, 2013). Mikroskopik incelemede, asit-faz mikroorganizmaların epitel hücrelerdeki tipik kümelenmesi araştırılır. Bununla birlikte bu yöntem diğer asit-faz mikroorganizmalar ile MAP'in ayrımı noktasında ise duyarlı değildir. Doğru teşhis için birkaç farklı frothinin hazırlanıp incelenmesi gerekir (Muskends ve ark., 2003). ZN mikroskopik incelemenin sensivite ve spesifite oldukça düşüktür ve dışkı kültürüne göre güvenilirliği azdır. Subklinik enfekte hayvanlarda kullanımı uygun görülmemektedir (Smith ve Bradford, 2001).

1.9.1.3. Genetik Prob

Genetik prob olan IS900 MAP için ayrıcı elementtir (Juste ve ark., 2005). Hazır ticari kitler kullanılarak dışkı örneklerinde etken tespiti yapılır. Çalışma prensibi Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)'na benzer. Bununla birlikte, kullanılan bu testin avantajı sensitivitesinin PCR'a göre yüksek oluşudur. Hızlı sonuç verir. Bu test ile etkeni dışkı ile saçan enfekte hayvaların tespiti üç gün içerisinde gerçekleştirilebilir. Maliyetinin yüksek oluşu, özel ekipman gerektirmesi ve sensitivitesinin düşüklüğü ise bu yönteminin başlıca dezavantajlarıdır (Taddet ve ark., 2004).

1.9.1.4. Süt Kùltürü

MAP subklinik hastaların sütlerinden de kùltür ile teŖhis edilebilir (Paolichii ve ark., 2003). Süt bu etken için önemli bir bulaŖ kaynağıdır (Blood ve ark., 2000).

1.9.1.5. Biyopsi

Sensitivite ve spesifitesi yüksek bir metottur. Spesifik bir tanı yöntemidir. İleosekal lenf nodülünden alınan biyopside etken, ekim yapılarak veya histopatolojik olarak kolayca teŖhis edilir (Schleig ve ark., 2005). Öte yandan, dışkı ile yayılımın geç başlaması ve MAP'in bölgesel lenf düğümlerine geç ulaşması nedeniyle sensitivitesi düşüktür (Collins ve ark., 2005).

1.9.2. Serolojik Testler

Serolojik testlerle MAP varlığı hızlıca değerlendirilir ve teŖhis konabilir. Dışkı kùltürüne göre maliyeti düşüktür (Stricklands ve ark., 2005).

Yapılan bir çalışmada, subklinik enfekte sığırlarda komplemet fikzasyon (CFT), Agar gel immunodiffüzyon (AGID) ve ELISA testleri karşılaştırılmıştır. Tanı amaçlı kullanılan bu testlerin spesifitelerinin %95-99 arasında deđiŖtiđi tespit edilmiştir. Karşılaştırması yapılan bu testlerin sensitiviteleri ise, etkeni dışkı ile saçanlarda %40-65, saçmayanlarda ise % 14-47 olarak tespit edilmiştir. Enfeksiyonun sürüdeki prevalansı arttıkça testlerin duyarlılığı da artmaktadır. Buna karşın,

prevalans azaldıkça hassasiyet de azalmaktadır. Bahsedilen çalışma sonucu, kullanılan metotlar arasında en güvenilir testin ELISA olduğunu ortaya koymuştur (Botcherr ve Gangl., 2004).

1.9.2.1. Enzyme-linked Immunosorbent assays (ELISA)

ELISA MAP'a karşı oluşan antikorların belirlenmesini sağlar. Günümüzde bu hastalığın tanısında en yaygın kullanılan metottur (Kalis ve ark., 1999, Jubb ve ark., 2004; Yıldırım ve Civelek, 2013). Örnek analizleri hızlı ve uygulaması son derece kolay bir testtir. Genellikle test amaçlı serum örnekleri kullanılır. Bununla birlikte, teşhiste süt örnekleri de kullanılabilir (Collins ve ark., 2005).

ELISA testlerinin sensitivitesi yüksek, spesifitesi ise düşüktür. Sensivite ve spesifite değerleri ticari test kitlelerine göre değişebilmektedir. Dışkı kültürü pozitif hayvanlarda sensitivite %57 ve spesifite %98.7, klinik semptom gösteren enfekte hayvanlarda sensitivite %87 ve hafif düzeyde etkeni saçan subklinik enfekte hayvanlarda ise %15 olarak bildirilmiştir (Jubb ve ark., 2004). MAP'le enfekte hayvanlarda gelişen geç humoral cevap bu testin başlıca dezavantajıdır. Özellikle genç ve yeni enfekte hayvanlarda antikor düzeylerindeki artışın yavaş oluşu, yanlış negatif sonuç alınmasına neden olabilir (Klee, 2004). Bununla birlikte, ELISA sürü paratüberküloz kontrol programlarında kullanılacak en uygun fiyatlı ve en kolay uygulanabilir yöntemdir.

ELISA testi ile sahada yapılan çalışmalarda, enfekte hayvanların %80'ini klinik semptom göstermeden önce tespit edilmiştir. Etkeni henüz dışkıları ile çevreye saçmayan hayvanların ise %65'inin önceden tespit edildiği rapor edilmektedir (Jubb ve ark., 2004).

ELISA subklinik enfekte hayvanların tespitinde, diğer testlere göre, en güvenilir metoddur (Stricklands ve ark., 2005). Avustralya'da yapılan bir çalışmada ELISA testi CFT ile karşılaştırılmış, CFT'nin subklinik enfekte hayvanların %57'sini, ELISA'nın ise %60'ını tespit ettiği rapor edilmiştir (Jubb ve ark., 2004). ELISA, klinik semptom gösteren hastaların %88'ini doğru olarak teşhis ederken, CFT ise %83'ünü teşhis edebilmiştir. ELISA'nın spesifitesi %99, CFT'nin ise %96 olarak belirlenmiştir (Andrews, 1992).

1.9.2.2. Komplament Fiksasyon Testi (CFT)

MAP etken teşhisinde sıkça kullanılan bir metottur. Yapılan bir çalışmada, klinik semptom gösteren enfekte hayvanlarda, CFT'nin sensitivitesi %90 ve spesifitesi ise %70 olarak tespit edilmiştir. Subklinik enfekte hayvanlarda ise sensitivite ve spesifite değerlerinin düşük olduğu belirlenmiştir (Benedictus ve Kalis., 2003). CFT subklinik enfeksiyonlu hastaların tanısında tek başına kullanılmamaktadır (Paolichii ve ark., 2003). Testin spesifitesi, etkenin ön tanısı için yüksek değerdedir. Pozitif sonuçlar dışkı kültürü ile birlikte değerlendirilmelidir (Botcher ve Gangl., 2004).

1.9.2.3. Agar Gel Immunodifüzyon (AGID)

Klinik semptom gösteren enfekte hayvanlarda kullanılan bir yöntemdir. Subklinik enfekte hayvanlarda tercih edilmez. Hızlı yapılabilen, maliyeti düşük bir testtir. Test sonuçları 48 saat içinde elde edilebilir. Aktif hastalığın teşhisinde sensitivitesi %96 ve spesifitesi ise %94 olarak tespit edilmiştir (Botcherr ve Gangl., 2004).

1.9.3. İmmunite Testleri

Hücre ilişkili immunité testleri olan deri ve intravenöz Johne's testlerinin, düşük spesifite ve sensitivitelere nedeni ile, kullanılması tavsiye edilmemektedir (Blood ve ark., 2000).

Paratüberküloz tanı enstrumanlarında önemli gelişmeler kaydedilmiş olmakla birlikte, özellikle genç sığırlarda ve enfeksiyonun erken devrelerinde konan tanının doğruluğu halen tartışmalıdır. Paratüberküloz tanısında başarıya ulaşmada en önemli anahtar, doğru teşhis enstrumanının seçimi ve birden fazla metodun kombine kullanımı ile sürünün gözden geçirilmesidir (Baumgartner ve Khol, 2006).

1.10 Kontrol ve Korunma

pTB'nin, günümüz koşullarında, kesin tanısı zordur ve etkili bir tedavisi ise bulunmamaktadır. Hastalıktan korunma ve kontrolde, MAP pozitif olduğu tespit edilen hayvanlar sürüden elimine edilmelidir. MAP negatif sürülerde ise olası bir bulaşın önlenmesi için gerekli tedbirler alınmalıdır. MAP şüpheli sürülerde, farklı zamanlarda, birkaç farklı serolojik test ile etken varlığının araştırılması ve olası subklinik vakaların erken teşhisi önerilir (Baumgartner ve Khol, 2006).

Sürülerde PTB varlığı; >1.5 yıl yaşlı hayvanlarda altı ay aralıklarla gerçekleştirilecek ELISA, bakteriyel kültür ve dışkı PCR tarama yöntemi gibi metodlar kullanılarak araştırılmalıdır. PTB şüpheli veya pozitif çiftliklerde ek hijyen tedbirleri alınarak, sürü içi ve dışı yayılımın önüne geçilmelidir. Subklinik enfekte hayvanlar sağlıklılarından ayrılmalı, verim kaybı/klinik semptom gösteren subklinik

enfekte hayvanlar sürüden elimine edilmelidir. Alınacak tedbirler başlıca yeni doğanlara hastalığın bulaşmasını engellemeyi amaçlar. Doğum sırasında uygulanan hijyen prosedürü ve yeni doğan buzağuların anneden ayrılması kontaminasyonu kısmen azaltmaktadır. Ayrıca, antijen ve antikor negatif ve pozitif annelerden doğan yavruların ayrı yerlerde barındırılması ile hastalıktan kısmen de olsa korunulmuş olunur. Yeni doğan beslenmesinde antijen-antikor negatif annelerden alınan kolostrumun kullanılması önerilir. Damızlık amaçlı da negatif bireyler tercih edilmelidir. Eradikasyon programı uygulanan çiftliklerde, ilk iki yıl süresince, besleme sırasında genç ve yaşlı hayvanlar mutlak ayrılmalıdır. Genç sığırlarda kullanılan teknik ekipman ayrı olmalı ve dezenfeksiyon ve biyogüvenlik kurallarına mutlak uyulmalıdır. Hayvan hareketlerine sınır getirilmesi ve mevcut sürülerin pTB varlığı yönünden araştırılması ile MAP'ten arı bölgeler oluşturulabilir ve paratuberküloz yayılımı önlenir (Baumgartner ve Khol, 2006; Yıldırım ve Civelek, 2013). Avusturya klinik paratuberkülozu ihbarı zaruri hastalıklar listesine dahil eden ve semptom gösteren hayvanların itlafını ve bu hastalıkta uygulanacak dezenfeksiyon sürecini kanuni çerçevede belirlemiş ilk ülkedir (Van Leeuwen ve ark., 2001).

pTB süt sığırlarında ciddi verim kayıplarına neden olan en önemli enfeksiyöz nedenlerden biridir. Ülkemizde de pTB ile ilgili çalışmalar yapılmakta ve güncelliğini korumaktadır (Civelek ve ark., 2009, Öztürk ve ark., 2010, Yıldırım ve Civelek, 2013, Makav ve Gökçe, 2013). Mevcut çalışmalar genellikle hastalığın bölgesel yaygınlığını ortaya koymaya yönelik yürütülmüştür (Çetinkaya ve ark., 1999). Subklinik enfekte hayvanların yoğunluğu klinik pTB'nin gözlenme oranı ile direk ilişkilidir. Subklinik pTB'li hayvanlar hastalığı sağlıklı olanlara bulaştırma eğiliminde olmaları nedeniyle önemlidir. Hastalığın zoonotik potansiyeli ve pastörizasyona dayanıklılığı göz önünde bulundurulduğunda, özellikle süt sığırı yetiştiriciliğinin yoğun yapıldığı bölgelerde subklinik enfeksiyon varlığının ortaya konması ayrıca önem arz eder (Yıldırım ve Civelek, 2013).

pTB'nin insanlarda yangısal kalın barsak hastalığı olan "Crohn's disease" ile ilişkili olduğu rapor edilmektedir. Bu bağlamda, subklinik enfekte sığırların başlıca süt ve dışkısı ile dış ortama yayılan enfeksiyöz etkenler insan sağlığı için de olası bir tehdittir. Süt ile yayılan *Mycobacterium paratuberculosis* etkenlerinin kısmi de olsa pastörizasyon sonrası dahi hayatta kalabileceği bildirilmektedir. Enfekte sütlerden yapılan peynirlerin olgunlaşma prosesi sonrası da etken tespit edilmiştir. Bu anlamda subklinik enfekte sığırların prevalansının ortaya konması insan sağlığı açısından da önem taşımaktadır. Zoonotik potansiyeli yönüyle de bu enfeksiyon önem arz eder (Anon, 2000; Pickup ve ark., 2004; Yıldırım ve Civelek, 2013).

Sunulan çalışmada, prevalansın tespitinde sürü MAP kontrol programlarında kullanılabilen en ucuz ve en uygulanabilir test olan ELISA metodu kullanılmıştır. Bu araştırmada yoğun olarak süt sığırı bakım-beslemesi yapılan Manisa yöresinde subklinik paratüberkülozun prevalansının ortaya konması hedeflendi. Araştırmamız ilgili bölge ve ülke genelinde hastalığa karşı etkili kontrol stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. GEREÇ

2.1.1. Hayvan Materyali ve Örnekler

Sunulan araştırmanın hayvan materyali Manisa yöresinde bulunan 40 farklı süt sığırı işletmesinden (Manisa Merkez; 10, Akhisar; 5, Kula; 5, Alaşehir; 2, Turgutlu; 3 ve Salihli; 15) randomize olarak seçildi. Çalışma materyalini; siklik faaliyetleri devam

eden, önceki laktasyon dönemlerinde periparturient hastalık (deplasman, ketosis, retentio, hipokalsemi vd.) geçirmemiş, klinik olarak sağlıklı, yaşları 3.71 ± 1.00 yıl, canlı ağırlıkları 445.42 ± 37.28 kg ve önceki dönem süt verimleri 3576.60 ± 373.82 kg olan toplam 442 multiparoz Holştayn ırkı süt sığırı oluşturdu. Örnek dağılımı; Salihli, n=150; Akhisar, n=50; Kula, n=50; Turgutlu, n=25; Alaşehir, n=25 ve Manisa Merkez, n=142'dir.

Materyali oluşturan her bir sığırdan düz biyokimya tüpüne kan örnekleri alındı. Çıkarılan serumlar analiz zamanına kadar -20 °C saklandı.

2.2. YÖNTEM

Hastalığın teşhisinde ve seroprevalansın belirlenmesinde ELISA [Idexx Paratuberculosis Screening Ab Test, Part Number P07130-5 (5 plate)] metodu kullanıldı. Uygulanan ELISA test protokolü aşağıdaki gibidir:

Serum örnekleri ve bütün test kiti reagentları oda ısısına getirildi. Pozitif, negatif kontrol serumları ve test edilecek serumlar, 1/20 oranında numune sulandırma sıvısı (yeşil) ile sulandırıldı. Örnekler karıştırılarak 1 saat oda ısısında inkübasyonu gerçekleştirildi.

İnkübasyon sonrası, 100 µl sulandırılan kontrol ve test serumları çalışma mikroyeşillerine aktarıldı. Pozitif ve negatif kontrol serumları için ikişer çukur kullanıldı. Mikroyeşiller 45 dk oda ısısında inkübe edildikten sonra üç kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Horseradishperoksidaz (HRPO) konjugat, 1/100 oranında konjugat sulandırma sıvısı (mavi) ile sulandırıldıktan sonra yıkanan mikroyeşil

çukurlarına 100 µl aktarıldı. Konjugat eklenen mikropleytler 30 dk oda ısısında inkübe edildikten sonra yıkama işlemi tekrarlandı. Tüm çukurlara 100 µl 3,3',5,5',-Tetramethylbenzidine (TMB) substrat eklenerek karanlık ortamda, oda ısısında 10 dk inkübe edildi. Süre sonunda tüm çukurlara 100 µl stop solüsyonu eklendi. Mikropleytler BIOTEK ELX800, USA marka ELISA okuyucu cihazda 450 nm dalga boyunda değerlendirildi.

2.2.1. Hesaplama

Pozitif (PC) ve negatif (NC) kontrol serumlarına ait optik dansite (OP) değerlerinin aritmetik ortalaması (mean PC, mean NC) hesaplandı. Her bir serum örneği için S/P değeri; $S/P = (\text{Örnek OD} - \text{mean NC}) / (\text{mean PC} - \text{mean NC})$ formülü ile değerlendirildi.

2.2.2. Değerlendirme

Hesaplanan S/P oranları;

$S/P \leq 0.60$; Negatif, $S/P \geq 0.70$; Pozitif ve $S/P = 0.6-0.7$; Şüpheli olarak değerlendirildi.

2.2.3. İstatistik Analiz

Yaş, canlı ağırlık ve bir önceki laktasyon süt verimi değerlerinin hesaplanmasında non-parameterik 1 Sample (K-S) testi (SPSS 16.0 for Windows) kullanıldı.

3. BULGULAR

Elde edilen veriler Manisa yöresinde test edilen bütün sürülerde pTB enfeksiyonunun varlığını göstermektedir. Bu bağlamda sunulan çalışmada, her bir ilçede örnekleme yapılan sığırlar tek bir sürü olarak değerlendirildiğinde, MAP'in sürü sero-prevalansı %100 olarak tespit edildi. Sürü içi seroprevalans ise %21.72 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.1.).

Bu çalışma kapsamında; Manisa Merkez ilçede toplam beş süt sığırı işletmesinde, randomize olarak 142 multiparoz süt sığırından örnek toplandı. 19 sığırda seropozitivite belirlendi. Manisa Merkez için subklinik paratüberküloz seroprevalansı %13 olarak tespit edildi. Turgutlu ilçesinde toplam üç işletmede, randomize olarak 25 multiparoz süt sığırından örnek alındı. Yedi sığır seropozitif bulundu. Turgutlu ilçesi için subklinik paratüberküloz seroprevalansı %28 olarak tespit edildi. Alaşehir ilçesinde toplam üç işletmede 25 multiparoz süt sığırında örnekleme yapıldı. Beş sığır seropozitif olarak değerlendirildi. Alaşehir ilçesi için subklinik paratüberküloz sero-prevalansı %20'dir. Kula ilçesinde toplam dört ahırdan randomize olarak 50 multiparoz süt sığırından örnek alındı. 19 sığırda seropozitivite belirlendi. Kula ilçesi için subklinik paratüberküloz seroprevalansı %38 olarak tespit edildi. Akhisar ilçesinde toplam dört ahırda, randomize olarak 50 multiparoz süt sığırından örnek alınmış ve 13 sığır seropozitif olarak değerlendirilmiştir. Akhisar ilçesi için subklinik paratüberküloz seroprevalansı %26 olarak tespit edildi. Salihli ilçesinde ise toplam 19 süt sığırı işletmesinde, randomize olarak 150 multiparoz süt sığırından örnek alındı. 33 sığır seropozitif olarak belirlendi. Salihli ilçesi için subklinik paratüberküloz %22 olarak tespit edildi. Genel bir değerlendirme yapıldığında sunulan çalışmada; Manisa yöresinde test edilen klinik olarak sağlıklı 442 süt sığırında, subklinik pTB seroprevalansı %21.72 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Manisa yöresi bölgelere göre MAP seroprevalansı

Manisa Yöresi	Hayvan Sayısı	MAP+	%
Manisa Merkez	142	19	13.38
Turgutlu	25	7	28
Akhisar	50	13	26
Alaşehir	25	5	20
Salihli	150	33	22
Kula	50	19	38
Toplam	442	96	21.72



4. TARTIŞMA

pTB özellikle süt sığırı işletmelerinde önemli ekonomik kayıplara neden olur (Moghadam ve ark., 2010). Ülkemizde bu hastalığın varlığı uzun süredir bilinmekle birlikte, pTB'nin yaygınlığı üzerine yürütülmüş bilimsel araştırma sayısı sınırlıdır (Fırat, 1978; Vural ve Atala, 1988; Çetinkaya ve ark., 1999; İkiz ve ark., 2005; Civelek ve ark., 2009, Öztürk ve ark., 2010, Makav ve Gökçe, 2013; Yıldırım ve Civelek, 2013). Sunulan çalışmada yoğun olarak süt sığırı yetiştiriciliği yapılan Manisa yöresinde subklinik pTB'nin prevalansı araştırıldı.

Sunulan çalışmada MAP, serum örneklerinde, ELISA yöntemi ile belirlendi. Çalışma için optimal süt verimine ve canlı ağırlığa sahip, klinik olarak sağlıklı yaşları 2-6 arasında değişen 442 multiparoz Holştayn süt sığırı seçildi.

MAP güçlü bir hücre içi patojendir. Makrofaj hücreleri içerisinde uzun süre canlılığını kaybetmez. Kan antikor seviyesi, enfeksiyonun gelişmesine ve verilen cevaba bağlı olarak artar. Bu durum genellikle iki yaşın altındaki sığırlarda pTB'nin teşhisini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle teşhis materyali olarak kan serumun kullanıldığı prevalans çalışmalarında, materyal olarak iki yaşından küçük hayvanlar tercih edilmemektedir. İki yaşın altındaki sığırlarda pTB seroprevalansının düşük çıkması bu durumu desteklemektedir (Çetinkaya ve ark., 2000; Diequez ve ark., 2009). Yanı sıra, <2 yaşlı sığırlarda ELISA testinin sensitivite ve spesifitesinin düşük olduğu da bildirilmektedir (Nielsen ve Toft., 2009; Woodbine ve ark., 2009; Öztürk ve ark., 2010). Sunulan çalışmada, hedef popülasyon olarak >2 yaşlı süt sığırları seçildi.

Subklinik dönemde pTB'li hayvanlar hastalığı sağlıklı olanlara bulaştırma eğilimindedir. Etken başlıca dışkı ve süt ile yayılım gösterir (Moghadam ve ark.,

2010). Bu nedenle pTB seroprevalansının subklinik dönemde belirlenmesi, sürü yönetimi ve sağlığı için son derece önem arz eder (Nielsen ve Toft., 2009; Öztürk ve ark., 2010, Yıldırım ve Civelek, 2013). Yanı sıra, MAP etkeni yenidoğan buzağılara doğumdan hemen sonra veya neonatal dönemde de bulaşabilir. Bu dönem, buzağuların enfeksiyona karşı en duyarlı oldukları zaman dilimidir. Kontamine meme başı, kolostrum veya süt etkenin buzağı tarafından alımında rol oynar (Çetinkaya ve ark., 1997, Çetinkaya ve ark., 2000, Yıldırım ve Civelek, 2013).

MAP aynı zamanda zoonotik potansiyeli olduğu varsayılan bir etkidir. İnsanlarda Crohn's hastalığının etiolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir (Anon, 2000). Isı ve pastörizasyona dirençli olan MAP, süt ve süt ürünleri ile insanlara bulaşabilir. Bu hastalığın zoonoz şüphesi taşınması süt sığırlarının subklinik dönemde tanısını, yani erken tanıyı önemli kılar (Çetinkaya ve ark., 1997; Çetinkaya ve ark., 2000; Yıldırım ve Civelek, 2013).

Orta Anadolu bölgesinde sığırlar üzerinde yürüttükleri çalışmada Vural ve Atala (1988) pTB'nin seroprevalansını mikro ve tüp CFT testi ile değerlendirmişler ve sırasıyla %2.3 ve %2.7 olarak belirlemişlerdir. Aynı bölgede, Atala ve Akçay (2001) ELISA yöntemiyle gerçekleştirdikleri taramada pTB'nin seroprevalansını %4.6 olarak rapor etmiştir.

Yıldırım ve Civelek (2013) Uşak bölgesinde dışkıda subklinik pTB'nin prevalansını; ZN boyama ile %17, Outher PCR tekniği ile %9.5, Nested PCR tekniği ile %20 olarak tespit etmiştir. Süt örneklerinde ise prevalans; ZN boyama ile %15.5, Outher PCR tekniği ile %5.5, Nested PCR tekniği ile %17.5 olarak belirlenmiştir.

Elazığ yöresinde Çetinkaya ve ark. (2000) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, süt örneklerinde, PCR yöntemi ile pTB'nin seroprevalansı %5 olarak tespit edilmiştir. Bakteriyel kültür yöntemi ise prevalansı %3.4 olarak ortaya koymuştur.

Kars yöresinde serum örneklerinde ELISA testi ile gerçekleştirilen taramada pTB seroprevalansı %3.5 olarak tespit edilmiştir (Makav ve Gökçe 2013).

Trakya bölgesinde, Outer Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile alınan dışkı örnekleri taranmış ancak MAP etkenine rastlanılmamıştır (İkiz ve ark., 2005).

İklim, beslenme ve barınak koşulları pTB'nin görülme sıklığında etkili olan faktörlerdir (Çetinkaya, 1996). Bu nedenle pTB prevalansı değişik bölgelerde farklılık gösterebilir.

Türkiye'de pTB ile ilgili yürütülen çalışmalarda çiftlik prevalansının pek de dikkate alınmadığı görülmektedir. pTB'nin bir işletmede tek bir sığırdan bile tespit edilmesi bulaş riskini oldukça artırmaktadır. Burdur ili ve çevresinde yapılan çalışmada pTB'un çiftlik prevalansı %58 (Öztürk ve ark., 2010) ve Kars ili ve çevresinde ise %41.6 olarak tespit edilmiştir (Makav ve Gökçe, 2013). Bu veriler, bir genelleme yapılırsa, değerlendirme yapılan bölgelerde neredeyse her iki işletmeden birinde paratuberkülozun görüldüğünü göstermektedir. Avrupa ülkelerinde yürütülen farklı çalışmalarda ise pTB'nin çiftlik prevalansının %0 ile %75 arasında değiştiği rapor edilmektedir (Diequez ve ark., 2009, Nielsen ve Toft., 2009, Woodbine ve ark., 2009, Pozzato ve ark., 2011). Çiftlikteki hayvan sayısı arttıkça, pTB prevalansının arttığı bildirilmektedir (Nielsen, 2008; Öztürk ve ark., 2010, Pozzato ve ark., 2011).

Sunulan araştırmaya dahil edilen tüm işletmede subklinik pTB varlığına rastlandı. Manisa yöresi süt sığırlarında subklinik pTB prevalansı %21.72 olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte; her bir ilçe tek bir çiftlikmiş gibi ele alınırsa, test edilen bütün sürülerde enfeksiyon görüldüğü için, bu çalışma verileri dahilinde çiftlik seroprevalansı %100 olarak değerlendirilebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Manisa yöresi süt sığırlarında subklinik paratüberküloz seroprevalansının %21.72 olarak belirlenmesi ve örnekleme yapılan tüm çiftliklerde seropozitivite tespit edilmiş olması, yoğun olarak süt sığırı yetiştiriciliği yapılan bu bölgemiz açısından son derece önemlidir.

Subklinik enfekte hayvanların birçoğu yaşamları boyunca pTB'ye ilişkin bir klinik bulgu ortaya koymaz. Bir sürüdeki subklinik enfekte hayvanların ancak %5-10'unda klinik tablo görülür (Baumgartner ve Khol, 2006). Bununla birlikte bu hayvanlar, etkenin diğer hayvanlara yayılmasında ve hastalığın bulaşında rol oynar. Subklinik hayvanların tespiti hastalığı sağlıklı olanlara bulaştırma eğilimlerinden dolayı önemlidir. Ayrıca, bu hastalığın zoonotik potansiyeli ve etkenin pastörizasyona karşı dayanıklılığı da göz önünde bulundurulduğunda (Chiodini ve Hermon-Taylor, 1993; Grant ve ark., 1996) sığırlardaki subklinik pTB'nin halk sağlığı açısından da önem arz ettiği söylenebilir.

Türkiye'de yürütülmüş ve daha önce rapor edilmiş araştırmalarla karşılaştırıldığında, bu çalışmada belirlenmiş olan yüksek seroprevalans değerleri, Manisa yöresinin paratüberküloz bulaş potansiyeli açısından yüksek risk taşıdığını ortaya koydu. Yapılan bu çalışma, Manisa yöresinde bu hastalıkla ilgili ekonomik kayıpların tahmin edilmesi ve yanı sıra paratüberkülozun Türkiye prevalansının belirlenmesi yönüyle ülke hayvancılığına ve ekonomisine katkı sağlayacaktır. Verilerimiz Paratüberkülozun hayvan sağlığı ve ekonomisi açısından bu yöremizde göz önünde tutulması gereken bir hastalık olduğuna vurgu yapmaktadır.

Sunulan araştırma sonuçları ayrıca, subklinik pTB'nin ülke süt sığırı popülasyonundaki varlığının ve ülke ekonomisine reel zararlarının ortaya konmasına

yönelik ulusal düzeyde bir çalışma yürütülmesi gerekliliğini de bir kez daha ortaya koymuştur. Yürütülecek bu tarz bir araştırma, ülke genelinde bu hastalığa karşı etkili kontrol stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Sonuç olarak; sunulan araştırmada Manisa yöresi süt sığırlarına subklinik paratüberkülozun seroprevalansı %21.72 olarak belirlendi.



ÖZET

Manisa yöresi süt sığırlarında subklinik paratüberkülozun seroprevalansı

Bu çalışmanın amacı; Manisa yöresi süt sığırlarında subklinik paratüberkülozun seroprevalansını tespit etmektir. Araştırmada; Manisa Merkez dahil altı farklı ilçede, 40 farklı ahırda örnekleme yapıldı. Çalışma materyalini klinik olarak sağlıklı 442 multiparoz Holştayn süt sığırı oluşturdu. Canlı ağırlıkları, bir önceki laktasyon süt verimleri ve yaşları kaydedildi. Toplanan serum örneklerinde seroprevalans ELISA yöntemi ile belirlendi. Hastalık seroprevalansı Manisa Merkezde %13, Turgutlu'da %28, Alaşehir'de %20, Kula'da %38, Akhisar'da %26 ve Salihli'de %22 olarak tespit edildi. Örnek toplanan tüm ahırlarda enfeksiyon belirlenmiştir. Sonuç olarak; Manisa yöresi süt sığırlarında genel prevalans %21.72 olarak tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Johne hastalığı, Tüberküloz, ELISA, Ege bölgesi

SUMMARY

Seroprevalence of Subclinical Paratuberculosis in Dairy Cattle in Manisa Region of Turkey

The purpose of the study is to determine seroprevalence of subclinical paratuberculosis in dairy cattle in Manisa region of Turkey. Within this research, sampling was performed in a total of six districts including the central district of Manisa and 40 different cowsheds. The study material consisted of 442 clinically healthy multiparous Holstein dairy cattle. Live weights, the previous lactation milk yield, and age of the animals were recorded. Seroprevalence was determined by ELISA in the collected serum samples. The seroprevalence of the disease was found to be 13% in the central district of Manisa, 28% in Turgutlu, 20% in Alasehir, 38% in Kula, 26% in Akhisar, and 22% in Salihli. Infection was determined in all samples collected from all cowsheds. The results of the study have revealed that seroprevalence of subclinical paratuberculosis in dairy cattle in Manisa region of Turkey is 21.72%.

Keywords: Aegean region, ELISA, Johne's disease, Tuberculosis.

6. KAYNAKLAR

- ALLAKER, R.P., KAPAS, S. (2003). Adrenomedullin expression by gastric epithelial cells in response the infection. *Clin Diagn Lab Immunol*, **10**:546-551.
- ALVAREZ, J., De JUAN, L., ARANAZ, A. (2005). A survey on paratuberculosis in wildlife in Spain. In:8th International Colloquium on Paratuberculosis. Copenhagen, Denmark.
- ANDREWS, A.H. (1992). Bovine Medicine: Blackwell Scientific Publication London.
- ATALA, N., AKCAY, E. (2001). Türkiye genelinde sığır paratuberkulozu prevalansının ELISA ile araştırılması, *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, **12**: 39-48.
- AYELE, W.Y., BARTOS, M., SVASTOVA, P. (2004). Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in organs of natural infected bull-calves and breeding bulls. *Vet Microbiol*, **103**: 209-17.
- BANG, B. (1906). Chronische pseudotiberkulöse darmentzündung beim Rind. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr*; **22**: 759-63.
- BAUMGARTNER, W., KHOL, J.L. (2006). Paratuberculosis (johne disease) in ruminants ongoing story. *Slow Vet Res*, **43**: 5-10.
- BENEDICTUS, G., KALIS, C.J. (2003). Paratuberculosis eradication, control and diagnostic methods. *Acta Vet Scand*, **44**: 231-41.
- BLOOD, D.C., RADOSTITS, O.M., GAY, C.C. (2000). Johnes Disease (Paratuberculosis) In: Veterinary Medicine 9 th ed. pp 920-933. Saunders, London.
- BOLTON, M.W., GROOMS, D.L., KANEENE, J.B. (2005). Faecal shedding of Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis in calves: implication for disease control and management. In: 8th International Colloquium on Paratuberculosis. Copenhagen, Denmark.

- BOTCHER, J., GANGL, A. (2004). Mycobacterium avium ssp. Paratuberculosis combined serological testing and classification of individual animals and herds. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, **51**: 443-8.
- BOTTCHER, J., GANGL, A. (2005). Value of bulk milk serology for control of Johne's disease. In: 8th International Colloquium on Paratuberculosis. Copenhagen, Denmark.
- CETINKAYA, B. (1996). An epidemiological study of clinical and subclinical Johne's disease (Paratuberculosis) in cattle, (PhD thesis). *Dept Vet Clin Sci*, Univ. Bristol, England.
- CETINKAYA, B., ERGAN, K., HARBOUR, D.A., MORGAN, K.L. (1999). An abattoir-based study of the prevalence of subclinical Johne's disease in adult cattle in south west England. *Epidemiol Infect*, **116**: 373-379.
- CHIODINI, R.J., HERMON-TAYLOR, J. (1993). The thermal resistance of Mycobacterium paratuberculosis in raw milk under conditions simulating pasteurization. *J Vet Diagn Invest*, **5**: 629-631.
- CIVELEK, T., CELİK, H.A., OZENC, E., AVCI, G., KAV, K., CINGI, C.C., YILMAZ, O. (2009). Effects of PCR-confirmed subclinical paratuberculosis on retinol and β -carotene levels in dairy cattle. *Arch Med Vet*, **41**: 281-284.
- COLLINS, M.T., SOCKET, D.C., GOODGER, W.J. (1994). Herd prevalence and geographic distribution of, and risk factors for bovine paratuberculosis in Wisconsin. *J Am VetMed Assoc*, **204**: 636-41.
- COLLINS, M.T., WELLS, S.J., PETRINIL, K.R. (2005). Evaluation of five antibody detection tests for diagnosis of bovine paratuberculosis. *Clin Diagn Lab Immunol*, **12**: 685-92.
- ÇETINKAYA, B., ERDOGAN, H.M., MORGAN, K.L. (1997). Risk factors for Bovine Paratuberculosis. II. The multiple analysis of risk factors for Bovine Paratuberculosis. *Turk J Vet Anim Sci*, **21**: 303-306.

- ÇETINKAYA, B., MUZ, A., EERTAS, H.B., ONGOR, H., SEZEN, İ.Y., GULCU, H.B. (2000). Süt ineklerinde Paratüberküloz prevalansının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile saptanması. *Turk J Vet Anim Sci*, **24**: 371-379.
- DIEQUEZ, F.J., GONZALES, A.M., MENENDEZ, S., VILAR, M.J., SANJUAN, M.L., YUS, E, ARNAIZ, I. (2009). Evaluation of four commercial serum ELISA for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in dairy cows. *Vet J*, **180**: 231-235.
- FIRAT, G. (1978). Sığırlarda paratüberkülozun serolojik olarak teşhisi üzerine araştırmalar. *Pendik Vet Bak Ser Enst Dergi*, **x**: 18-23.
- FLOROU, M., LEONTIDES, L., BILLINIS, C. (2005). Isolation of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from non -ruminant wildlife in Greece. In: 8th International Colloquium on Paratuberculosis. Copenhagen, Denmark.
- GRANT, I.R., BALL, H.J., NEIL, S.D., ROWE, M.T. (1996). Inactivation of *Myobacterium paratuberculosis* in cows milk at pasteurazition temperatures. *Appl Environ Microbiol*, **62**: 631-636.
- HACKER, U., HUTTNER, K., KONOE, M. (2004). Untersuchungen zur serologischen Prävalenz und zu Risikofaktoren der Paratuberkulose in Milchviehbetrieben in Mecklenburg Vorpommern. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr*, **117**: 140-4.
- HOLMSTROM, A., STANLUND, S. (2005). Control of paratuberculosis in live cattle and semen imported to Sweden 1995-2004. In: 8th International Colloquium on paratuberculosis. Copenhagen, Denmark.
- İKİZ, S., BAGCIGİL, A.F., AK, S., OZGUR, N.Y., LOAZ, A. (2005). Paratuberculosis in cattle in Turkey detected by PZR. *Medycyna Wet*, **61**: 881-883.
- JAKOBSEN, M.B., ALBAN, L., NIELSEN, S.S. (2000). A cross-sectional study of paratuberculosis in 1155 Danisch dairy cows. *Prev Vet Med*, **46**: 15-27.
- JOHNE, H.J., FROTINGHAM, J. (1895) Ein eigentümlicher Fall von Tuberculose beim Rind. *Dtsch Z Tiermed Pathol*, **21**: 438-54.

- JUBB, T.F., SERGEANT, E.S., CALLINAN, A.P., GALVIN, J. (2004). Estimate of the sensitivity of an ELISA used to detect johnes's disease in Victorian dairy cattle herds. *Aust Vet j*, **82**: 569-73.
- JUDGE, J., KYRIAZAKIS, I., GREIS, A. (2005). Clustering of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in rabbits and the environment: how hot is a hot spot? *Appl Environ Microbiol*, **71**: 6033-8.
- JUSTE, R.A., GARRIDO, J.M., GEIJO, M., ELGUEZABAL, N., ADURIZ, G., ATXAERANDIO, R.I. (2005). Comparison of blood polymerase chain reaction and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis infection in cattle and sheep. *J Vet Diagn Invest*, **17**: 354-9.
- KALIS, C.H.J., HESSELINK, J.W., BARKEMA, H.W. (1999). Comparison of culture of individual and strategically pooled bovine faecal samples for *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis. In: Manning EJB, Collins MT, eds. Proceedings of the 6th International Colloquium on Paratuberculosis. pp 344-8. Madison, Wisconsin.
- KLEE, W. (2004). Paratuberkulose (Johnesche Krankheit). In: Dirksen HD, Stöber M, eds. *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. 4 Aufl. pp 586-91. Blackwell, Berlin.
- MACHACKOVA, M., SVASTOVA, P., LAMKA, J. (2004). Paratuberculosis in farmed and free-living wild ruminants in the Czech Republic. *Vet Microbiol*, **101**: 225-34.
- MAKAV, M., GOKCE, E. (2013). Kars yöresi sığırlarında subklinik paratüberkülozun seroprevalansı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, **19 (5)**: 913-916.
- MECITOGLU, Z., DEMİR, G. (2012). Sığırlarda paratüberkülozun tanısına ilişkin problemler. *J Fac Vet Med*, **1**: 19-23.
- MOGHADAM, M.T., SARV, S., MOOSAKHANI, F., BADIIE, A. (2010). Detection of *Mycobacterium avium* Subspecies paratuberculosis in Milk and faecal Samples in Dairy Cattle by PCR and Nested-PCR. *Journal of Animal Veterinary Advances*, **9(24)**: 3055-61.

- MUSKENDS, J., MARS, M.H., ELBERS, A.R., VAN MAANEN, K., BAKKER, A.D. (2003). The results of using faecal culture as confirmation test of paratuberculosis seropositive dairy cattle. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, **50**: 231-41.
- NAKASE, H., NISHIO, A., TAMAKI, H. (2006). Specific antibodies against recombinant protein of insertion element 900 of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in Japanese patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, **12**: 62-9.
- NIELSEN, S.S. (2008). Transitions in diagnostic tests used for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Vet Microbiol*, **132**: 274-282.
- NIELSEN, S.S., NIELSEN, K.K., HUDA, A. (2001). Diagnostic techniques for paratuberculosis. *Bull Int Dairy Fed*, **362**: 5-15.
- NIELSEN, S.S., TOFT, N. (2009). A review of prevalences of paratuberculosis in farmed animals in Europe. *Prev Vet Med*, **88**: 1-14.
- OSTERSTOCK, J.B., SINHA, S., SEABURY, C.M., COHEN, N.D. (2010). Effect of classifying disease states in genetic association studies for paratuberculosis. *Prev Vet Med*, **95**: 41-49, 2010.
- OZTURK, D., PEHLIVANOGLU, F., TOK, A.A., GUNLU, S., GULDALI, Y., TURUTOGLU, H. (2010). Seroprevalence of paratuberculosis in the Burdur province (Turkey), in dairy cattle using the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Israel J Vet Med*, **65**: 53-57.
- PAOLICHII, F.A., ZUMARRAGE, M.J., GIOFFRE, A., ZAMORANO, P., MORSELLA, C., VERNA, A., CATALDI, A., ALITO, A., ROMANO, M. (2003). Application of different methods for the diagnosis of paratuberculosis in a dairy cattle herd in Argentina. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, **50**: 20-6.
- PHILPOTT, M. (1993). The danger of disease transmission by artificial insemination and embryo transfer. *Br Vet J*, **149**: 339-69.
- PICKUP, R.W., RHODES, G., ARNOTT, S. (2004). *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in the catchment area and water of the river Taff in 11. South

Wales, United Kingdom, and its potential relationship to clustering of Crohn's disease in the city of Cardiff. *Appl Environ Microbiol.* **71**: 2130-9.

POZZATO, N., CAPELLO, K., COMIN, A., TOFT, N., NIELSEN, S.S, VICENZONI, G., ARRIGONI, N. (2011). Prevalence of paratuberculosis infection in dairy cattle in Northern Italy. *Prev Vet Med*, **102**: 83-86.

SCHLEIG, P.M., BUERGELT, C.D., DAVIS, J.K., WILLIAMS, E., MONIF, G.R., DAVIDSON, M.K. (2005). Attachment of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis to bovine intestinal organ cultures; method development and strain differences. *Vet Microbiol*, **108**: 271-9.

SELBITZ, H.J. (2002). Bakterielle Krankheiten der Tiere. In: Rolle M, Mayr A, eds. Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 7. Aufl. Enke Verlag, pp 562-3, Stuttgart.

SIVAKUMAR, P., TRIPATHI, B.N., SINGH, N. (2005). Detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in intestinal and lymph node tissues of water buffaloes (*Bubalis bubalis*) by PCR and bacterial culture. *Vet Microbiol*, **108**: 263-70.

SMITH, S., BRADFORD, P. (2001). Johnes Disease In: Large Animal Internal Medicine 3rd Ed, pp 779-782, London.

STRICKLANDS, J., SCOTT, H.M., McJORDAN, E.R. (2005). Effects of seasonal climatic conditions on the diagnosis of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in dairy cattle. *J Dairy Sci*, **88**: 2432-40.

TADDET, S., ROBBI, C., CESENAC, ROSSI, I., SCHIANO, E., ARRIGONI, N., VICENZINI, G. (2004). Samples comparison of three polymerase chain reaction based diagnostic tests with a conventional culture method. *J Vet Diagn Invest*, **16**: 503-8.

Van LEEUWEN, J.A., KEEFE, G.P., TREMBLAY, R. (2001). Seroprevalence of infection with *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis, bovine leukemia virus and bovine viral diarrhoea virus in Maritime Canada dairy cattle. *Can Vet J*, **42**: 193-8.

- VURAL, B., ATALA, N. (1988). Serological study on bovine paratuberculosis in central Anatolia using the microcomplement fixation and tube complement fixation tests. *Etlik Vet Mikrobiol Derg*, **6**: 87-97.
- WEBER, M.F., KOGUT, K., De BREE, J. (2005). Evidence for Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis shedding in young stock. In: 8th International Colloquium on Paratuberculosis. pp 126. Copenhagen, Denmark.
- WOODBINE, K.A., SCHUKKEN, Y.H., GREEN, L.E., VILLAESCUSA, R.A., MASON, S., MOORE, S.J., BILBAO, C., SWANN, N., MEDLEY, G.F. (2009). Seroprevalence and epidemiological characteristics of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis on 114 cattle farms in south west England. *Prev Vet Med*, **89**: 102-109.
- YILDIRIM, D., CIVELEK, T. (2013). Prevalence of subclinical paratuberculosis in dairy cattle in Uşak Region. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, **19(1)**: 121-126.

