

TÜRKİYE'DE SIĞIR ADENOVİRUSLARININ (TİP 1-2-3) SEROLOJİK OLARAK
TESBİTİ

İbrahim Burgu*

Asuman Toker**

**The preliminary serological study for bovine adenoviruses (Type 1-2-3) infection
in Turkey.**

Summary: *In this study, a total of 288 sera of adult cattle were tested for the existence of adenovirus neutralizing antibody. The animals from which blood were taken, were clinically normal.*

The serologic examination was done by microneutralisation technique in MDBK cell culture. For this purpose, the sera were inactivated by heating at 56°C for 30 minutes before testing, and the samples were diluted by tenfold in Eagle's MEM. Then 100 TCID₅₀/0,05 ml test virus was added to each 0,05 ml of serum sample diluted 1/10.

In this manner, all sera were tested against BAV type 1, BAV type 2, BAV type 3. Final reading was made on the 7 th day after inoculation.

At the end of the tests; 238 (81.6 %), 278 (96.5 %), 276 (95.8 %) out of 288 sera were found positive to BAV type 1-2-3 respectively.

These results shown that, adenovirus infections are widespread in Turkey cattle and probably it is responsible from the numerous undiagnosed disease of cattle characterized by respiratory and gastrointestinal signs.

Özet: *Bu araştırma, Türkiye'de sığır adenovirus (BAV) enfeksiyonlarının varlığını seroepidemiyolojik olarak ortaya koyan ilk ön çalışmadır. Araştırmada Türkiye'nin çeşitli yerlerinden sağlanan 288 sığır serumu kullanılmıştır. Bu serumlar BAV tip 1, BAV tip 2, BAV tip 3'e karşı mikronötralizasyon testi yardımıyla serolojik kontrole alınmışlardır. Serum sulandırma oranı 1/10 olarak kullanılmıştır. Yapılan kontroller sonunda toplam 288 sı-*

* Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Ankara.

** Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Ankara.

ğır serumunun 235'inde (% 81.6) BAV tip 1'e, 278'inde (% 99.5) BAV tip 2'ye ve 276'sında (%95.8) BAV tip 3'e karşı nötralizan antikorlar tesbit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar BAV enfeksiyonlarının hayvancılık işletmelerinde, özellikle, subklinik seyreden üst solunum yolları ve enterik enfeksiyonlar içinde hiç de küçümsenmeyecek düzeyde olduğunu göstermektedir.

Giriş

Sığır adenovirusları (Bovine Adeno Virus-BAV) sığırların solunum yolları enfeksiyonlarında önemli etyolojik ajanlar olup, aynı zamanda, pnömoenteritis olgularına da neden olabilmektedirler (5). Sığırlarda BAV enfeksiyonları, çoğunlukla subklinik şekilde seyretmekte; sekonder bakteriyel enfeksiyonlar, diğer virus enfeksiyonları, rezistans azalması, konstitüsyon, ahır hijyeni, stres, diğer eksojen ve endojen faktörlerin etkisi ile hastalık klinik tabloya dönüşmektedir (15). Hastalık daha çok yetiştiricilik yönünden önem taşımakta ve enfeksiyon sonrası kondisyon kaybı, büyümede gerileme ve sekonder pnömoni nedeniyle ağır ekonomik kayıplar meydana gelmektedir (1). Bazı olgularda, geçici bir iyileşme sonrası semptomlar tekrar ortaya çıkmakta ve sonuçta da çok zayıflayan hayvanlar; genellikle ölmektedirler (1).

BAV'ların serum nötralizasyon testi ile 10 ayrı serotipi saptanmıştır (13). BAV tip 1 ve BAV tip 2 ilk defa sağlıklı görünüşlü hayvanların gaitalarından primer dana böbrek hücre kültürlerinde izole edilmiştir (11, 12). BAV tip 3'ün ilk izolasyonu ise, sağlıklı bir ineğin gözünden alınan konjunktival numuneden primer dana böbrek hücre kültüründe gerçekleştirilmiştir(6).

BAV'ların serolojik teşhisinde, serum nötralizasyon (2, 3, 16), agar-jel presipitasyon (7, 14), hemaglutinasyon-inhibisyon (4, 9) gibi testlerden yararlanılmaktadır.

Cancellotti ve ark.(3), mikro nötralizasyon testi ile, İtalya'da Veneto bölgesinde 405 adet değişik yaşlardaki sığırlara ait kan serumlarının % 68.9'unda BAV tip 1'e, % 77.8'inde BAV tip 2'ye ve % 84.4'ünde BAV tip 3'e karşı nötralizan antikorların varlığını tesbit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar (3), bu yüksek düzeydeki pozitiflik oranlarının adenovirusların seroepidemiolojik olarak yaygınlığına işaret olduğunu bildirmişlerdir. Bibrack ve McKercher (2), mikro serum nö-

lizasyon testini kullanarak 5C adenovirus suşu ile Kaliforniya sığırlarında yaptıkları seroepidemiolojik taramada yetişkin sığırların % 35.8'inde, danaların % 17.8'inde antikor tesbit etmişlerdir. Rossi ve ark. (16), tarafından Alabama sığırlarında mikro serum nötralizasyon testi ile 6 aylıkla 15 yaş arasındaki 444 adet sığır serumunda BAV tip 1'e karşı antikor taraması yapılmış ve 6-9 aylık danalarda, sığırlara oranla antikor titresi daha düşük bulunmuştur. İki yaş ve altındaki sığırlarda BAV tip 1'e karşı antikor bulunamamış, ancak 3 yaşındaki veya daha yaşlı sığırlarda dikkate değer bir antikor titresi saptanmıştır (16).

Türkiye'de BAV üzerinde gerçekleştirilen ilk çalışmada Toker (17), BAV tip 1, BAV tip 2 ve BAV tip 3'ün tip ayrımında mikro serum nötralizasyon, komplement fikzasyon ve single radial hemolizis testlerini uygulamış ve denemelerinde BAV tip 2 ve BAV tip 3'ün mikro nötralizasyon testi ile ayırt edilemediğini bildirmiştir. Aynı araştırmacı (17), komplement fikzasyon testinin tip ayrımında kullanılamayacağını tekrarlamış ve single radial hemolizis testinin bu viruslarda uygulanması için ise daha geniş araştırmalar yapılması gerektiğini belirtmiştir.

Bu çalışma Türkiye'de ilk defa BAV tip 1, BAV tip 2 ve BAV tip 3 enfeksiyonlarının insidensini tesbit etmek ve yetiştirme hastalıkları içinde BAV'un durumunu saptamak amacıyla çeşitli bölgelere ait toplam 288 adet sığır serumu üzerinde mikro nötralizasyon testi ile ön seroepidemiolojik tarama şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Metot

Viruslar: Araştırmada Viyana Veteriner Üniversitesi Viroloji Enstitüsü'nden sağlanan BAV tip 1, tip 2 ve tip 3 kullanıldı.

Hücre: BAV tip 1, tip 2 ve tip 3'ün üretilmesinde, virusların enfeksiyözite güçlerinin tesbitinde ve mikro serum nötralizasyon testlerinde Eagle MEM (Eagle Minimum Essential Medium) vasatı ve % 10 inaktif dana serumlu ortamda üretilen MDBK (Madin Darby Bovine Kidney) hücre kültürü kullanıldı.

Serumlar: Araştırmada, Ankara Et Balık Kurumu Mezbasasında kesilen 276 adet sığırdan sağlanan kan serumu (47 adet Kars, 64 adet Ankara Polatlı Devlet Üretim Çiftliği, 47 adet Ankara-Haymana, 63 adet Yozgat-Yerköy ve 55 adet Eskişehir) ile Tarım, Or-

man ve Köy İşleri Bakanlığı, Çukurova Tarım İşletme'sine ait 12 adet sığır kan serumu olmak üzere toplam 288 serum kullanıldı. Kan alma sırasında hayvanların klinik olarak sağlıklı oldukları gözlemlendi.

Serumlar 56°C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra 10 X antibiyotik (100 I.E. penisilin / ml, 100 mcg streptomisin / ml ve 0,005 mg kanamisin / ml) ile muamele edildi, sterilite kontrolleri yapılarak kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandılar.

Virusların üretimi: BAV tip 1, tip 2 ve tip 3'ün MDBK hücre kültüründe ayrı ayrı 12 pasajı yapıldıktan sonra virusların enfeksiyözite güçleri mikro titrasyon metodu ile tesbit edildi. Stok virus elde etmek için 1000 ml.'lik doku kültürü şişelerinde üretilen MDBK hücre kültürlerine her üç virustan ayrı ayrı 1 ml miktarında ekilerek, 24 saat sonra tam bir sitopatolojik efekt oluşumu gözlemlendi. Virus üretme vasatı olarak % 5 fetal dana serumlu ve yarı yarıya karıştırılarak hazırlanmış olan Eagle MEM + Earle vasatı kullanıldı. Stok virusların enfeksiyözite güçleri mikro titrasyon metodu ile tesbit edildi.

Viruslar kullanılıncaya kadar - 80°C'de saklandılar.

Virusların enfeksiyözite güçlerinin tesbiti: Bu amaçla virusların onar misli sulandırılmaları Eagle vasatı içinde hazırlandı ve Frey ve Liess'in (8) bildirdiği mikro titrasyon metodu ile enfeksiyözite güçleri tesbit edildi. Sonuçlar 7. günde Karber'e (10) göre okunarak değerlendirildi.

Mikro serum nötralizasyon: Kontrolü yapılacak olan serum numuneleri Bibrack ve Mc Kercher'in (2) bildirdiği gibi Eagle MEM içinde 1/10 oranında sulandırıldı. Bu sulandırılan serum numuneleri karşılaştırılacakları virusların 100 DKID₅₀ / 0.05 ml oranları ile (BAV tip 1 100 DKID₅₀ 10^{-3,7} / 0.05 ml, BAV tip 2 100 DKID₅₀ 10^{-3,2} / 0.05 ml ve BAV tip 3 100 DKID₅₀ 10^{-3,2} / 0.05 ml) birleştirilerek Frey ve Liess'in (8) bildirdiği yöntemle mikro nötralizasyon testine alındılar. Her üç BAV tipine ait test sonuçları da 7.nci günde değerlendirildi.

Bulgular

Virusların enfeksiyözite gücü: BAV tip 1, tip 2 ve tip 3'ün mikro titrasyon metodu ile tesbit edilen enfeksiyözite güçleri tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. BAV tip 1, tip 2 ve tip 3'ün enfeksiyözite güçleri.

Virus	DKID ₅₀ / 0.05 ml
tip 1	10 ^{-5.7} / 0.05 ml
tip 2	10 ^{-5.2} / 0.05 ml
tip 3	10 ^{-5.2} / 0.05 ml

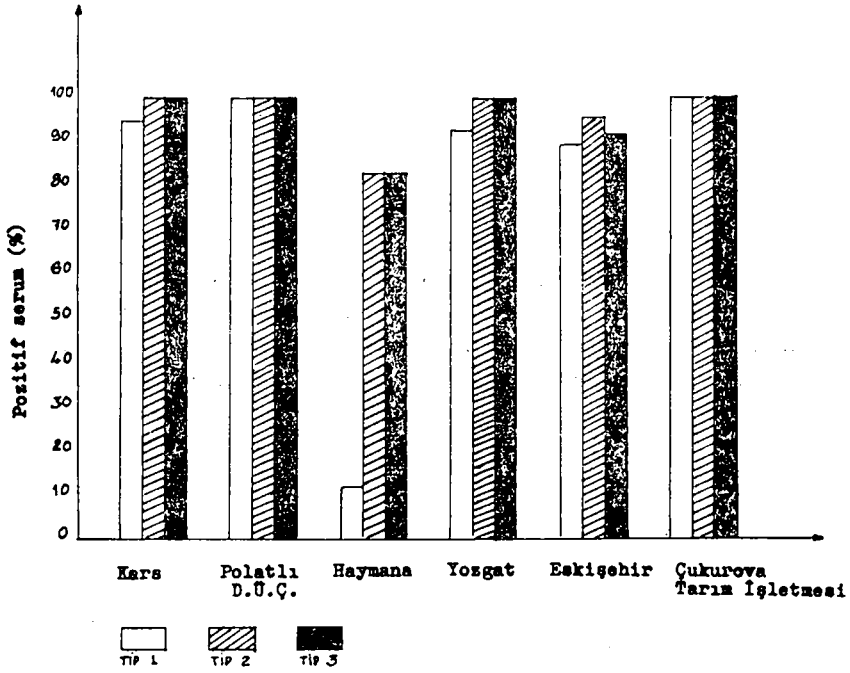
Mikro serum nötralizasyon testi: Test sonucunda Türkiye'de çeşitli bölgelere ait 288 adet sığır serumundan 235 tanesi BAV tip 1'e, 278 tanesi BAV tip 2'ye ve 276 tanesi ise BAV tip 3'e karşı nötralizan antikor yönünden pozitif sonuç vermiştir. Mikro nötralizasyon testinde elde edilen sonuçlar tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Mikro nötralizasyon testi sonuçları.

Serumun alındığı yer	Serum sayısı	tip 1		tip 2		tip 3	
		Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
Kars	47	45	2	47	—	47	—
Polatlı Devlet Üretim Çif.	64	64	—	64	—	64	—
Haymana	47	6	41	39	8	39	8
Yozgat	63	59	4	63	—	63	—
Eskişehir	55	49	6	53	2	51	4
Çukurova Tarım İşletmesi	12	12	—	12	—	12	—
Toplam	288	235	53	278	10	276	12

Tablo 2'de görüldüğü üzere Polatlı Devlet Üretim Çiftliğine ait 64 serumun ve Çukurova Tarım İşletmesine ait 12 serumun tümünde BAV tip 1, tip 2 ve tip 3'e karşı nötralizan antikor tesbit edilmiştir.

Testte pozitif olduğu tesbit edilen serumların yüzde oranları ile alındığı yerlere göre dağılımları grafik 1'de gösterilmiştir.



Grafik 1: BAV tip 1, tip 2 ve tip 3'e karşı pozitif serumların oranı (%)

Tartışma ve Sonuç

Bibrack ve McKercher (2), sığır serumlarındaki BAV nötralizan antikorlarının tesbitinde mikro serum nötralizasyon testinin güvenilir olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmada da çeşitli bölgelerden toplanan 288 serumun BAV tip 1, tip 2, tip 3'e karşı nötralizer antikor taşıyıp taşımadığı mikro serum nötralizasyon testi ile aranmış ve BAV enfeksiyonlarının seroepidemiolojik kontrollerinde başarı ile kullanılabileceği görülmüştür.

Cancellotti ve ark. (3) ile Rossi ve ark. (16), mikro serum nötralizasyon testinde virüsü 100 DKID₅₀ oranında, Bibrack ve McKercher (2) ise 25 DKID₅₀ oranında sulandırmışlardır. Bu araştırmada ise sığır adenovirus tip 1, tip 2 ve tip 3 Cancellotti ve ark. (3) ile Rossi ve ark. (16) tarafından uygulandığı şekilde 100 DKID₅₀ oranında kullanılmıştır.

Bibrack ve McKercher (2), Sığır adenovirusları ile yapılan mikro serum nötralizasyon testinde 1/10 ve daha yukarı titreli serumların enfeksiyon yönünden pozitif olarak kabul edilebileceğini bildirmişlerdir.

Araştırmada da BAV tip 1, tip 2 ve tip 3'e karşı antikor taramasında, serumlar 1/10 oranında sulandırılarak nötralizasyon testine tabi tutulmuş ve 1/10 sulandırmada sonuç alınan serumlar pozitif olarak kabul edilmiştir.

Türkiye'de sığır adenoviruslarının varlığını seroepidemiolojik yönden ortaya koyan bu ilk araştırmada 288 serumun % 81.6'sı BAV tip 1'e, %96.5'i BAV tip 2'ye ve %95.8'i BAV tip 3'e karşı pozitif sonuç vermiştir. Polatlı Devlet Üretim Çiftliğine ait 64 serumun ve Çukurova Tarım İşletmesine ait 12 serumun hepsinde BAV tip 1, tip 2 ve tip 3 nötralizan antikorları tesbit edilmiştir. Ankara Haymana'ya ait 47 serumun sadece % 12.8'inde BAV tip 1'e karşı, bunun aksine % 83'ünde BAV tip 2 ve tip 3'e karşı antikor bulunmuştur. Diğer serumların ise % 89'u ile % 100'ü arasında değişen oranlarda BAV tip 1, tip 2 ve tip 3'e karşı antikor bulunmuştur. Özellikle, Polatlı Devlet Üretim Çiftliği ve Çukurova Tarım İşletmesine ait hayvanlarda BAV tip 1, tip 2 ve tip 3'e karşı antikor varlığının % 100 oranında tesbiti, bu kurumlarda mevcut kültür ırkı hayvanların BAV enfeksiyonlarına yüksek düzeyde duyarlı olduklarını göstermektedir. Tesbit edilen sonuçlar BAV enfeksiyonlarının Türkiye'de varlığını ortaya koymaktadır.

Türkiye'nin çeşitli yörelerinde sığır adenovirusların seroepidemiolojik yönden taranması şeklinde gerçekleştirilmiş başka herhangi bir çalışmanın mevcut olmaması sebebiyle, bu araştırmada elde edilen sonuçların karşılaştırılması mümkün olmamıştır.

Yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre; Türkiye'de sığırlarda üst solunum yolu enfeksiyonları ile pnömoenteritislere neden olan BAV'un hiç de küçümsenmeyecek düzeyde olduğu ortaya konulmuş olup, sığır yetiştiriciliği yönünden üzerinde durulması gerekli enfeksiyonlardan biri olarak kabul edilmelidir. Bir ön çalışma olarak plânlanan ve gerçekleştirilen bu araştırma sonuçlarına göre, BAV enfeksiyonları üzerinde geniş kapsamlı bir seroepidemiolojik araştırmanın yapılması ve özellikle devlete ait hayvancılık işletmelerinde bulunan ve kültür ırkı olan hayvanlarımızın BAV enfeksiyonları yönünden kontrolleri gerekmektedir. Böylece hem sebebi anla-

şılamayan bazı üst solunum yolu enfeksiyonları ile diyare olayları üzerinde teşhis yönünden önemli bir adım atılacak ve hem de ülke hayvancılığında yetiştirme hastalıklarından biri olan BAV enfeksiyonlarının eradikasyonuna gidilebilecektir.

Kaynaklar

- 1- **Aldasy, P., Csontos, L. and Bartha, A.** (1964). *Pneumo-enteritis in calves by adenoviruses.* Acta Vet. Hung., 15: 167-175.
- 2- **Bibrack, B. and Mc Kercher, D.G.** (1971). *Serologic evidence for Adenovirus infections in California cattle.* Am. J. Vet. Res., 32 (1): 805-807.
- 3- **Cancellotti, F., Turilli, C. and Gagliardi, G.** (1976). *Serological investigation on type 1, 2 and 3 bovine adenoviruses in Veneto.* Atti della Societa Italiana di Buiatria, 8: 189-194.
- 4- **Ceccarelli, A., Farina, R. and Mani, P.** (1979). *First seroepidemiological and virological observations on cattle adenoviruses in intensive breeding in Italy.* Arch. Vet. Ital., 30 (1-2): 28-32.
- 5- **Daryshire, J.H.** (1968). *Bovine adenovirus.* J.A.V.M.A., 152 (6): 786-794.
- 6- **Darbyshire, J.H., Dawson, P.S., Lamont, P.H., Osler, D.C. and Pereira, H.G.** (1965). *A new adenovirus serotype of bovine origin.* J. Comp. Path., 75: 327-330.
- 7- **Eisa, M. and El Amin, M.A.G.** (1972). *Adenovirus antibodies in sera of some animals in the Sudan.* S.J.Vet. Sci. and Anim. Husband., 13 (2): 45-51.
- 8- **Frey, H.R. and Liess, B.** (1971). *Vermehrungs kinetik und Verwendbarkeit einer stark Zytotoxigenen VD-MD Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotiter-Methode.* Zbl. Vet. Med., 18: 61-71.
- 9- **Inaba, Y., Tanaka, Y., Sato, K., Ito, H., Y., Omori, T. and Matumoto, M.** (1968). *Bovine adenovirus. II. A Serotype, Fukuroi, Recovered from Japanese Cattle.* Japan J. Microbiol., 12 (2): 219-229.
- 10- **Karber, G.** (1964). *In diagnostic procedures for virus and rickettsial disease.* Public Health Assn. (New-York), 3:48-50.
- 11- **Klein, M., Early, E. and Zellat, J.** (1959). *Isolation from cattle of a virus related to human adenovirus.* Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 102: 1-4.
- 12- **Klein, M., Zellat, J. and Michalson, C.** (1960). *A new bovine adenovirus related to human adenovirus.* Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 105: 340-342.
- 13- **Mohanty, S.B.** (1971). *Comparative study of bovine adenoviruses.* Am. J. Vet. Res., 32 (12): 1899-1905.
- 14- **Obi, T.U. and Taylor, W.P.** (1984). *Serological survey of adenovirus antibodies in domestic animals in Nigeria.* Comp. Immunol. Microbiol. and Inf. dis., 7 (1): 63-68.
- 15- **Rolle, M. und Mayr, A.** (1978). *Microbiologie, Infektions- und Seuchenlehre.* Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
- 16- **Rossi, C.R., Kiesel and Emrick, V.R.** (1973). *Distribution of Antibody to bovine adenovirus type 1 in Alabama cattle, as determined by micro serum-neutralization test.* Am. J. Vet. Res., 34: 841-842.
- 17- **Toker, A.** (1983). *Siğır adenoviruslarında (tip 1, tip 2, tip 3) serolojik reaksiyonlarla tip ayrımı üzerinde araştırmalar.* A.Ü. Vet. Fak. Derg., 30 (2): 247-258.