

Van Yöresindeki Bazı Süt Sığırcılığı İşletmelerinde Rotavirus Enfeksiyonunun Serolojik Araştırılması

Mehmet ÇABALAR

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa

ÖZET

Bu araştırma Van yöresinin farklı yerleşim alanlarında bulunan 10 süt sığırcılığı işletmesine ait 269 erişkin hayvanda rotavirus antikorlarını belirlemek üzere yapıldı. Bu amaçla incelenen 269 serum örneğinden 133 (%49.4)'ü nötralizasyon testi ile pozitif bulundu. Dokuz işletmede rotavirus yönünden seropozitiflik tespit edildi ve bu işletmelerdeki seroprevalansın %7.1 ile %74.2 arasında değişiklik gösterdiği belirlendi. Elde edilen veriler, sürü içindeki seropozitif hayvanların oranının epidemiyolojik açıdan bir gösterge olarak değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: rotavirus, süt sığırtı, seroloji

A serologic study of rotavirus infection in some dairy cattle herds in Van province

SUMMARY

A serological survey was carried out in order to determine the prevalence of rotavirus antibodies in 269 adult cows belonging to 10 dairy cattle herds in Van province. From the 269 serum samples examined, 133 (49.4%) were found positive, using neutralization test. Rotavirus specific antibodies were demonstrated in nine farms and seroprevalence values varied between 7.1% and 74.2% in these herds. According to results obtained, the percentage of seropositive animals in a herd has to be considered as an epidemiological indicator.

Key words: rotavirus, dairy cattle, serology

GİRİŞ

Neonatal buzağı ishalleri, süt sığırcılığı işletmelerinde ekonomik açıdan önemli kayıplara neden olurlar. İshale neden olan faktörler arasında viruslar, bakteriler, protozoalar, kötü hijyen, kolostrum alamama ve yetersiz beslenme yer almaktadır. Bu faktörler tek başlarına ya da birlikte ishal oluşumunun nedeni olabilmektedir. Buzağılarda ishale neden olan viral etkenlerin başında rotaviruslar gelmektedir. Bu viruslar reoviridae familyası içinde bir grubu oluşturmaktadır. Rotaviruslar insan ve birçok hayvan türünün erişkinlerinde subklinik, yeni doğanlarında ise ölümlü sonuçlanabilen enterik enfeksiyonlar meydana getirirler. Rotavirusların çevre şartlarına dayanıklı olması nedeniyle gaita önemli bir bulaşma kaynağıdır. Enfeksiyonun yayılmasında, fekal-oral yolla bulaşma etkilidir (8,12,20).

Rotavirus enfeksiyonunun ishelli buzağılarda teşhisi genellikle gaitada virus veya virus antijeni varlığının saptanması esasına dayanmaktadır. Erişkin sığırlarda ise rotavirus enfeksiyonunun belirlenmesi spesifik antikorların tespiti ile yapılırken, antijen tespiti çoğunlukla tesadüfi saptanabilmektedir. Bu hayvanlar klinik semptom göstermeksizin virüsü aralıklarla saçarak sürü içinde enfeksiyonun devamlılığında rol oynarlar (7,12,14). Dünyanın değişik ülkelerinde ve Türkiye'de rotavirus enfeksiyonunun varlığı virolojik (2,6,8,14) ve serolojik (1,3,5,16) çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Van yöresinde Çabalar ve ark. (9,10) tarafından erişkin sığırtı ve ishal semptomlu buzağuların dışkı örneklerinde rotavirus antijenlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Ancak, erişkin sığırlarda rotavirus enfeksiyonunun serolojik olarak değerlendirildiği bir araştırma bildirilmemiştir. Bu çalışmada, Van

yöresindeki bazı süt sığırcılığı işletmelerinde rotavirus enfeksiyonunun serolojik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Virus: Araştırmada rotavirusun Northern Ireland 75/447 suşu kullanıldı.

Hücre kültürü: Nötralizasyon testinin uygulanmasında ve bu testte kullanılacak rotavirus suşunun üretilmesi ve titresinin hesaplanmasında Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) devamlı hücre kültüründen yararlanıldı.

Serum örnekleri: Bu çalışmada, Van ilinin farklı yerleşim birimlerinde bulunan 10 işletmedeki 269 sağlıklı görünen süt sığırtına ait kan serumları kullanıldı (Tablo 1). Örnekleme yapılan hayvanların bulunduğu sürülerde rotavirus aşısı uygulanmadığı belirlendi. Toplanan kan örneklerinden ayrılan serumlar 56 °C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra, testte kullanılabilecek kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

Nötralizasyon testi: Örneklenen serumlarda rotavirus nötralizan antikorlarının araştırılması amacıyla Frey ve Liess (13) tarafından bildirilen mikronötralizasyon yöntemi uygulandı. Bu amaçla, serum örnekleri tabletlerin aynı sırasındaki kuyucuklarına 1/5'den başlamak üzere 2 katlı 6 basamak (1/5, 1/10,...1/160) sulandırıldı. Daha sonra her sulandırma üzerine eşit hacimde rotavirusun Northern Ireland 75/447 suşu (100DKID₅₀: 10^{-3.7}/0.05ml) ilave edildi ve 37 °C'lik CO₂'li etüvde bir saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda her bir kuyucuğa 300.000 hücre/ml olacak şekilde hazırlanan MDBK hücre süspansiyonundan konuldu ve tabletler tekrar etüve kaldırıldı. Test, virus

kontrol kuyucuklarında %100 cpe belirlendiği zaman değerlendirildi.

BULGULAR

Serolojik çalışma sonunda, 269 süt sığırdan 133 (%49.4)'ü rotavirus nötralizan antikoru yönünden pozitif bulundu. Kontrol edilen 10 işletmeden 9'unda rotavirus enfeksiyonu serolojik olarak saptanırken, 7 nolu işletme seronegatif tespit edildi. İşletmelere göre en düşük seroprevalans değerinin %7.1, en yüksek değer ise %74.2 olduğu belirlendi (Tablo 1). Nötralizasyon testinde pozitif bulunan serumların antikor titre değerlerinin (SN₅₀) 1/5 – 1/160 arasında dağılım gösterdiği saptandı (Tablo 2).

Kontrol edilen erişkin sığırlarda rotavirus antikor titrelerinin genel olarak ve işletmeler bazında değerlendirilmesi için geometrik ortalamaları (X_G) hesaplandı. Araştırmada seropozitif tespit edilen tüm sığırların antikor titrelerinin geometrik ortalaması 1/15.6 olarak hesaplanırken, işletmelere göre geometrik ortalamaların 1/10.0 ile 1/21.7 arasında değiştiği belirlendi (Tablo 2).

Tablo 1. İşletmelere göre seropozitiflik sonuçları

İşletme No	Serum Sayısı	Rotavirus Antikoru	
		+	%
01	32	20	62.5
02	21	15	71.4
03	19	13	68.4
04	12	8	66.6
05	13	8	61.5
06	22	8	36.3
07	26	-	-
08	70	52	74.2
09	28	2	7.1
10	26	7	26.9
Toplam	269	133	49.4

Tablo 2. İşletmelere göre antikor titre dağılımları ve ortalamaları

İşletme No	Rotavirus Antikoru (SN ₅₀)						Toplam	X _G
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160		
01	5	7	5	2	1	-	20	1/14.5
02	6	5	3	1	-	-	15	1/13.1
03	4	6	1	2	-	-	13	1/13.3
04	1	1	5	1	-	-	8	1/16.3
05	2	3	3	-	-	-	8	1/11.3
06	3	-	5	-	-	-	8	1/12.5
07	-	-	-	-	-	-	-	-
08	13	18	11	7	2	1	52	1/17.9
09	-	1	1	-	-	-	2	1/10.0
10	1	-	2	4	-	-	7	1/21.7
Toplam	35	40	36	18	3	1	133	1/15.6

TARTIŞMA ve SONUÇ

Buzağı ishallerine neden olan enfeksiyöz etkenler arasında en sık rastlanılan rotaviruslardır. Rotavirusların çevrede uzun süre varlıklarını sürdürebilmeleri ve subklinik enfekte hayvanların bu virüsü aralıklarla etrafa salmaları, yenidoğan buzağılara etkenin bulaşmasında önemli rol oynamaktadır (11,12). Kodituwakku ve Harbour (14) gebe sığırlarda rotavirusun aralıklı olarak saçıldığını göstermişler ve bu yolla yeni doğanların virüsü almaları sonucu klinik enfeksiyon şekillendiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, barınakların dezenfeksiyonuna rağmen daha sonraki dönemlerde kontaminasyon kaynağı olabileceğini belirlemişlerdir.

Rotavirus enfeksiyonunun tanısı virus-antijen tespiti ya da virusa spesifik antikorumun belirlenmesi ile yapılmaktadır. Erişkin sığırlarda enfeksiyonun subklinik seyretmesi nedeniyle virus-antijen tespiti tesadüfi örneklemeler sırasında yapılabilmektedir (7,14). Diğer taraftan, serolojik olarak yapılan araştırmalarda enfeksiyonun dünyada ve Türkiye'de yaygın olduğu gösterilmiştir (4,6,16,18,21). Çabalar ve ark. (9) 312 süt sığırdan örneklenen gaitaların hiç birinde rotavirus tespit edemediklerini, ancak aynı işletmelerde bulunan ishalleri buzağıların birinde rotavirus belirlediklerini bildirmişlerdir. Alkan ve ark. (1) 585 erişkin sığırın gaita örneklerinde rotavirus antijeni belirleyemediklerini, fakat 1265 kan serumundan 554 (%43.8)'inde rotavirus spesifik antikorumun varlığını saptadıklarını bildirmişlerdir. Burgu ve Akça (5) yaptıkları çalışmada seropozitiflik oranını %31 olarak bulmuşlardır. Crouch ve Acres (8) 121 erişkin sığırdan rotavirus saptayamazken, aynı hayvanların 53 (%44)'ünde rotavirus antikor varlığını ortaya koymuşlardır. Schwers ve ark. (19) 493 sığır kan serumunda yaptıkları araştırma sonucunda 325 (%65.9)'inde rotavirus yönünden seropozitiflik saptadığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, sürü içindeki seropozitiflik oranının enfeksiyonun epidemiyolojisinde önemli bir veri olarak değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Schlafer ve Scott (18) 110 süt sığırdan elde ettikleri serum örneklerinin 108 (%98.1)'inde rotavirus nötralizan antikorumun varlığını belirlemişlerdir.

Can Şahna ve Alkan (7) buzağı ishallerinin sık olarak saptandığı bir işletmede yaptıkları çalışma sonucunda, erişkin sığırların doğum öncesi/sonrası günlerde rotavirus saçtıklarını ve buzağıların annelerinden saçılan virüslerle enfekte olduklarını ortaya koymuşlardır. Aynı erişkin hayvanlarda seropozitiflik oranı %54.1 olarak bulunmuştur. Araştırmacılar, kan ve süt serum örneklerinin rotavirus antikoru yönünden kontrolü sonuçlarına dayanarak, doğal enfekte sığırların kolostro/süt ile aktardıkları maternal antikorların doğum sonrası yaşamın ilk günlerinde enfeksiyon oluşumunu, daha sonraki günlerde ise klinik enfeksiyonun gelişimini önlediğini belirlemişlerdir.

Bu araştırmada elde edilen %49.4 oranındaki seropozitiflik Van yöresindeki erişkin sığırlarda subklinik rotavirus enfeksiyonunun varlığını ortaya koymaktadır.

Bu oran, Burgu ve Akça (5) ile Burgu ve ark. (6) tarafından bildirilen oranlardan daha yüksek olmasına rağmen, Alkan ve ark. (1) ile Can Şahna ve Alkan (7)'in bildirdikleri orana yakın bulunmuştur. İşletmelere göre seropozitiflik oranları %7.1 ile %74.2 arasında değişiklik gösterirken, 7 nolu işletme seronegatif tespit edilmiştir. Materyal sağlanan 8 nolu işletmedeki hayvanlarda yüksek oranda seropozitifliğin (%74.2) belirlenmesi, önceki dönemlerde bu işletmede önemli düzeyde neonatal ishal olgularının varlığı ile açıklanabilir. Bu nedenle, epidemiyolojik açıdan erişkin sığırlarındaki rotavirus enfeksiyonları ile yeni doğan buzağılardaki ishal olgularının birlikte değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Rotavirus enfeksiyonları lokal enfeksiyonlardır ve serum antikorlarının korunmada etkinliği yoktur. Bununla birlikte, seropozitif subklinik erişkin sığırlar yeni doğan buzağılar için hem bir enfeksiyon kaynağı hem de kolostrum/süt ile pasif olarak buzağıları enfeksiyondan koruma rolünü üslenirler. Araştırmada rotavirus yönünden seropozitif saptanan tüm sığırların geometrik antikor ortalaması 1/15.6, işletmelere göre ise 1/10.0 ile 1/21.7 arasında olduğu belirlenmiştir. Gerek bireysel gerekse işletmeler bazında elde edilen yüksek olmayan titre değerleri, annelerden yeni doğanlara aktarılacak antikorların enfeksiyona karşı korunmada yeterli olamayacağını düşündürmektedir. Materyal aşılama ile sağlanan bağışıklık sonucunda oluşan yüksek titredeki antikorların yeni doğanlarda enfeksiyon insidensini ve gaita ile etken saçılımını azaltacağı bildirilmiştir (15,17).

Sonuç olarak, bu araştırmada elde edilen seropozitiflik oranı daha önceki çalışmalara benzer şekilde erişkin sığırlarda rotavirus enfeksiyonunun yaygınlığını ortaya koymuştur. Ayrıca, seropozitif subklinik erişkin sığırların enfeksiyonun epidemiyolojisinde bulaşma kaynağı olarak rol oynayabilecekleri düşünülmelidir.

KAYNAKLAR

1.Alkan F, Bilge-Dağalp S, Oğuzoğlu Ç, Yeşilbağ K, (1999): Rotavirus enfeksiyonunun epidemiyolojisinde erişkin sığırların rolü. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 46: 85 - 92.

2.Alkan F, Pulat H, Yazıcı Z, Burgu İ, (1992): Ters (reverse) pasif hemaglutinasyon (RPHA) testi ile ishalleri buzağıların gaitalarında rotavirusların tespiti. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 39: 238 - 246.

3.Brown DW, Beards GM, Chen GM, Flewett TH, (1987): Prevalence of antibody to group B (atypical) rotavirus in humans and animals. J. Clin. Microbiol., 25: 316 - 319.

4.Brüssow H, Eichhorn W, Sotek J, Sidoti J, (1990): Prevalence of antibodies to four bovine rotavirus strains in different age groups of cattle. Vet. Microbiol. 25: 143 - 151.

5.Burgu İ, Akça Y, (1983): Sığırlarda rotavirus antikorlarının dağılımı üzerinde serolojik araştırmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 30: 35 - 44.

6.Burgu İ, Akça Y, Alkan F, Özkul A, Karaoğlu T, (1995): Yenidoğan ishalleri buzağılarda rotavirusların elektron mikroskopi (EM), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ve polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) teknikleri ile çabuk teşhisi ve antijenik karakterizasyonu. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 42: 491 - 498.

7.Can Şahna K, Alkan F, (2003): Sığırlarda rotavirus enfeksiyonunun epidemiyolojisinde gebeliğin ve maternal antikorların rolü. F.Ü. Sağlık Bil. Derg., 17: 203 - 209.

8.Crouch CF, Acres SD, (1984): Prevalence of rotavirus and coronavirus antigens in faeces of normal cows. Can. J. Com. Med., 48: 340 - 342.

9.Çabalar M, Boynukara B, Gülhan T, Ekin İH, (2001): Prevalence of rotavirus, *Escherichia coli* K99 and O157:H7 in healthy dairy cattle herds in Van, Turkey. Turk J. Vet. Anim. Sci., 25: 191-196.

10.Çabalar M, Voyvoda H, Sekin S, (2000): Virological and serological examinations for rotaviruses in diarrhoeic calves. Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg., 11: 18 - 21.

11.Dhanaraj V, Ramadass P, Raghavan N, (1996): Epidemiological studies on rotaviral infection. Indian Vet. J., 73: 1113 - 1116.

12.Fenner FJ, Gibbs EPJ, Murphy FA, Rott R, Studdert MJ, White DO, (1993): Veterinary Virology, Second Edition, Academic Press, USA.

13.Frey HR, Liess B, (1971): Vermehrungskinetik und vermendbarkeit einer stark mikrotiter-methode. Zbl. Vet. Med. B., 18: 61 - 71.

14.Kodituwakku SN, Harbour DA, (1990): Persistent excretion of rotavirus by pregnant cows. Vet. Rec., 126: 547 - 549.

15.Kohara J, Hirai T, Mori K, Ishizaki H, Tsunemitsu H, (1997): Enhancement of passive immunity with maternal vaccine against newborn calf diarrhea. J. Vet. Med. Sci., 59: 1023 - 1025.

16.McKercher DG, Castrucci G, Frigeri F, Ferrari M, Cilli V, (1984): A serologic survey of bovine rotavirus infection in Italy. Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis., 7: 165 - 169.

17.McNulty MS, Logan EF, (1987): Effect of vaccination of the dam on rotavirus infection in young calves. Vet. Rec., 120: 250 - 252.

18.Schlafer DH, Scott FW, (1979): Prevalence of neutralizing antibody to the calf rotavirus in New York cattle. Cornell Vet., 69: 262 - 271.

19.Schwens A, Mahin L, Pastoret PP, Dewulf M, Mazouz A, Maenhoudt M, Michaux C, (1984): Prevalence of antibody to rotavirus in Moroccan cattle. Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis., 7: 69 - 73.

20.Snodgrass H, Terzolo HR, Sherwood D, Campbell I, Menzies JD, Synge BA, (1986): Aetiology of diarrhoea in young calves. Vet. Rec., 119: 31 - 34.

21.Yazıcı Z, Akça Y, (1993): Buzağılarda rotavirus enfeksiyonlarının seroepidemiyolojisi ve ELISA testi ile rotavirus antijenlerinin identifikasyonu. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 40: 231 - 240.