

Doğu Anadolu Bölgesinin Bazı İllerinde Bulunan Sığırlarda *Neospora caninum*'un Araştırılması

Münir AKTAŞ, Cem Ecmel ŞAKİ, Kürşat ALTAY, Sami ŞİMŞEK, Armağan Erdem ÜTÜK,
Ergün KÖROĞLU, Nazir DUMANLI

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Elazığ

ÖZET: Bu çalışma Ocak 2003 – Haziran 2004 tarihlerinde Elazığ, Malatya, Muş ve Bingöl illerinde sığırlarda *Neospora caninum*'un araştırılması amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla değişik yaş ve ırkta toplam 513 sığır ile atık yaptığı belirlenen 32 inekten kan örnekleri alınmış ve serumları çıkarılmıştır. Bu serumlarda enzim-linked immunosorbent assay (ELİSA) testi ile *N. caninum*'a karşı şekillenen antikorlar araştırılmıştır. Serumların işlenmesinde ticari kompetitiv ELİSA (cELİSA) kiti (VMRD, Inc., Veterinary Medical Research and Development, Pullman, WA, USA. Product Code 5NO5.20) kullanılmıştır. ELİSA testi ile *N. caninum* antikorları yönünden muayene edilen 513 sığırın 36 (% 7,01)'sı seropozitif bulunmuştur. Seropozitiflik oranının Elazığ'da %15, Malatya'da %4, Muş'ta %4,86 ve Bingöl'de %4,69 olduğu belirlenmiştir. Atık yapan ineklerdeki seropozitiflik oranı ise %3,12 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Neospora caninum*, Sığır, Doğu Anadolu

Survey of *Neospora caninum* in Cattle in Some Provinces in the Eastern Anatolian Region

SUMMARY: This study was carried out in order to investigate the presence of *Neospora caninum* in cattle in the Elazığ, Malatya, Muş and Bingöl provinces from January 2003- May 2004. Blood samples were collected from 513 cattle and 32 aborting cows that were of various breeds and ages in all provinces. Sera were obtained from these animals and antibodies against *N. caninum* were investigated using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). A commercially available competitive ELISA (cELISA) kit (VMRD, Inc., Veterinary Medical Research and Development, Pullman, WA, USA. Product Code 5NO5.20) was used to detect the *N. caninum* antibodies in the sera. Out of 513 cattle in the region, 36 (7.01 %) were found to be seropositive by cELISA. Seropositivity rates obtained by cELISA were 15.00% in Elazığ, 4.00% in Malatya, 4.86% in Muş and 4.69% in Bingöl. One of the 32 aborting cows (3.12 %) was found to be seropositive against *N. caninum*.

Key words: *Neospora caninum*, cattle, eastern Anatolia

GİRİŞ

Neosporosis, ilk defa 1984 yılında köpeklerde toxoplasmosis benzeri bir hastalık olarak keşfedilmiştir. (5). Daha sonra köpeklerdeki bu nörolojik hastalığa neden olan parazitin, yapısal ve antijenik olarak *Toxoplasma gondii*'den farklı olduğu tespit edilmiş ve etkenin *Neospora caninum* olarak adlandırılması teklif edilmiştir. (11). Şu anda bu parazitin protozoon sistematikindeki yerinin kesin olmamakla birlikte, morfolojik ve biyolojik özellikleri itibarı ile Apicomplexa şubesi, Sporozoa sınıfı, Sarcocystidae ailesi olduğu ifade edilmektedir. (2, 10, 14). Heteroksen bir protozoon olan *N. caninum*'un sonkonağı köpek, arakonağı ise sığır, koyun, keçi ve at gibi çiftlik hayvanlarıdır (1, 17).

Sığır neosporosisi ilk defa 1987 yılında Meksika'da sütçü sığır işletmesinde abort salgını şeklinde bildirilmiştir (23). Sonra Conrad ve ark. (6) tarafından atık fütüslerden etken izole edilmiş ve bu izolatın patojenik potansiyeli, gebe sığırlarda ölü doğum ve kongenital enfekte buzağı doğumu ile sonuçlanan bulgularla teyit edilmiştir (3). Daha sonra dünyanın değişik ülkelerinde yapılan araştırmalarda, *N. caninum*'un sığırlardaki yavru atma olaylarında en önemli etken olduğu ileri sürülmüştür (1, 13). Sığırlarda hastalığın bulaşması horizontal ve kongenital taşınma şeklindedir (12).

Sığır neosporosisinin teşhisi klinik bulgular, immuno-histokimyasal metodlar, serolojik testler, doku kültürü ve moleküler teknikler ile yapılmaktadır. Hastalığın serolojik tanısında, yaygın olarak kullanılan ELISA ve IFA testi gibi metodlarla *N. caninum* taşıyıcı antijenlerine karşı reaksiyon veren spesifik antikorlar aranır (10, 15, 16, 19, 20). Bu

Geliş tarihi/Submission date: 14 Ocak/14 January 2005

Kabul tarihi/Accepted date: 14 Şubat/14 February 2005

Yazışma /Corresponding Author: Münir Aktaş

Tel: (+90) (424) 237 00 00/6184 Fax: -

E-mail: maktas@firat.edu.tr

metodlarla yapılan serolojik çalışmalarda İngiltere’de %12,5, Kanada’da %30, İspanya’da %18 ve Hollanda’da %39,4 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (8, 10, 18, 27).

Türkiye’de *N. caninum*’un varlığını gösteren bir kayıt yoktur. Ancak serolojik olarak köpek, sığır ve keçilerde *N. caninum* antikorları belirlenmiştir (4, 7, 21). Sığırlarda İç Anadolu bölgesinde retrospektif bir çalışmada %5,10 - 32,72 arasında değişen oranlarda, Şanlıurfa yöresinde ise %7,5 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (4, 22).

Bu çalışma ile, Elazığ, Malatya, Bingöl ve Muş illerinde sığırlarda *N. caninum*’un varlığının ELİSA ile araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Ocak 2003 – Haziran 2004 tarihlerinde Elazığ, Malatya, Muş ve Bingöl yörelerinde değişik ırk ve yaşta sığırlar üzerinde yapılmıştır. Bu illerden sırası ile 120, 100, 144 ve 149 olmak üzere rasgele seçilen toplam 513 sığırdan kan alınmıştır. Bu hayvanların 142’sini bir yaştan altındaki buzağular, 155’ini 1-2.5 yaşındaki düveler, 216’sını ise 3 yaştan üzerindeki inekler oluşturmuştur. Bunlara ilave olarak aynı illerde, atık yaptığı belirlenen 32 inekten de kan alınmıştır. Bu kanlardan usulüne uygun olarak 545 serum örneği elde edilmiş ve bu serumlar, *N. caninum* antikorları yönünden incelenene kadar -20 °C’de saklanmıştır.

Serumlarda, *N. caninum*’a karşı şekillenen antikorları belirlemek amacıyla ticari kompetitif ELİSA (cELİSA) kiti (VMRD, Inc., Veterinary Medical Research and Development, Pulman, WA, USA. Product Code 5N05.20) kullanılmıştır. Serumlar, kitle belirtilen prosedüre göre işlenmiş ve 620 nm dalga boyunda, ELİSA okuyucusunda (Medispec ESR 200, ELISA reader) okutulmuştur. İnhibisyonun %30 ve daha fazla olduğu örnekler pozitif, diğerleri ise negatif olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Materyal alınan illerde ELİSA testi ile *N. caninum*’a karşı elde edilen pozitiflik durumu Tablo 1’de verilmiştir. Tablo 1’den izleneceği gibi cELİSA testi ile *N. caninum* antikorları yönünden muayene edilen sığırların Bingöl’de 4,69’u, Elazığ’da %15’i, Malatya’da %4’ü ve Muş’ta %4,86’sı seropozitif bulunmuştur. Doğu Anadolu’nun büyük bir kısmını kapsayan bu 4 ilde muayene edilen toplam 513 sığırın 36 (%7,01)’sının *N. caninum* antikoru taşıdığı tespit edilmiştir.

Atık yapan ve yapmayan ineklerdeki seropozitiflik durumu Tablo 2’de verilmiştir. Tablo 2’den anlaşılacağı gibi atık yapan 32 ineğin 1 (3,12)’i, atık yapmayan 216 ineğin ise 20 (9,25)’si seropozitif bulunmuştur. Gruplar arasındaki sonuçlar pozitiflik yönünden karşılaştırılmış ve ortaya çıkan farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (P>0.05).

Tablo 1. Elazığ, Malatya, Muş ve Bingöl illerinde ELİSA testi ile *Neospora caninum*’a karşı elde edilen pozitiflik durumu.

İller	Sığır sayısı	Serolojik muayene (cELİSA)	
		Pozitif sığır sayısı	%
Bingöl	149	7	4,69
Elazığ	120	18	15,00
Malatya	100	4	4,00
Muş	144	7	4,86
Toplam	513	36	7,01

Tablo 2. Atık yapan ve yapmayan ineklerdeki seropozitiflik durumu.

Gruplar	Hayvan sayısı	Seropozitif hayvan sayısı	%
Atık yapan	32	1	3,12
Atık yapmayan	216	20	9,25

Tablo 3. Yaş gruplarına göre seropozitiflik dağılımı.

Yaş grupları	Sığır sayısı	cELİSA	
		Pozitif sığır sayısı	%
<1	142	8	5,63
1-2.5	155	8	5,16
>3	216	20	9,25
Toplam	513	36	7,01

Tablo 4. Sığır ırklarına göre seropozitiflik dağılımı.

Sığır ırkları	Sığır sayısı	cELİSA	
		Pozitif sığır sayısı	%
Yerli	106	8	7,54
Melez	51	5	9,80
Holstein	88	6	6,81
Montofon	201	10	4,97
Simental	67	7	10,44
Toplam	513	36	7,01

Kan serumları *N. caninum* antikorları yönünden cELİSA testi ile incelenen 513 sığırın seropozitiflik durumunun yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 3’te verilmiştir. Tablo 3’ten anlaşılacağı gibi bir yaştan altındaki 142 buzağının 8’i (%5,63), 1-2.5 yaş arası 155 düvenin 8’i (%5,16) ve 3 yaştan büyük 216 ineğin 20’si (%9,25) seropozitif bulunmuştur. Yaş grupları arasında seropozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada ortaya çıkan farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (P>0.05).

Sığır ırklarına göre serolojik muayene sonuçları Tablo 4’te verilmiştir. Tablo 4’te görüldüğü gibi yerli 106 sığırın 8’inin (%7,54), melez 51 sığırın 5’inin (%9,80), Simental 67 sığırın 7’sinin (%10,44), Holstein 88 sığırın 6’sının (6,81) ve Montofon 201 sığırın 10’unun (%4,97) *N. caninum* antikoru taşıdığı belirlenmiştir. Sığır ırkları arasında pozitiflik

yönünden yapılan karşılaştırmada ortaya çıkan farklılık, istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($P>0.05$).

TARTIŞMA

İlk defa 1987 yılında Meksika'da bir sığır işletmesinde atık salgını şeklinde ortaya çıkan sığır neosporosisi, başta ABD, Kanada, Avustralya ve Avrupa Birliği ülkeleri olmak üzere dünyanın 6 kıtasında birçok ülkede sığırlarda verim kaybı ve yavru atma suretiyle önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (1, 13). Hastalığın serolojik tanısında ELISA ve IFA testi yaygın olarak kullanılmaktadır (10, 15, 16, 19, 20). Bu metotlarla yapılan serolojik çalışmalarda İngiltere'de % 12,5, İspanya'da % 18 ve Hollanda'da % 39,4 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (8, 10, 18, 27). Türkiye'de serolojik olarak köpek, sığır ve keçilerde bu parazite karşı şekillenen antikorlar belirlenmiştir (4, 7, 21, 22). İç Anadolu bölgesinde sığırlarda yapılan retrospektif bir çalışmada, %5,10-32,72 arasında değişen oranlarda seropozitiflik tespit edilirken (4), Şanlıurfa yöresinde seroprevalansın %7,5 oranında olduğu bildirilmiştir (22). Bu çalışmada, Elazığ, Malatya, Muş ve Bingöl illerinde toplam 513 normal sığır serumu cELISA testi ile *N. caninum*'a karşı şekillenen antikorlar yönünden incelenmiş ve %7,01 oranında pozitiflik saptanmıştır. Bu sonuç, Türkiye'nin değişik yörelerinde yapılan yukarıdaki araştırma (4, 22) sonuçları ile paralellik göstermektedir. Gerek bu çalışmada elde edilen sonuç (%7,01) ve gerekse ülkemizin diğer yörelerinde yapılan araştırmalarda (4, 22) elde edilen sonuçlar, Avrupa'nın bir çok ülkesinde olduğu gibi, Türkiye'de de sığırlarda *N. caninum*'un serolojik olarak varlığını ortaya koymaktadır.

Neospora caninum'un sığırlardaki en önemli etkisi yavru atmaya sebep olmasıdır. Conrad ve ark. (6) tarafından atık fütüslerden etken izole edilmiş ve bu izolatuın patojenik potansiyeli, gebe sığırlarda ölü doğum ve kongenital enfekte buzağı doğumu ile sonuçlanan bulgularla teyit edilmiştir (3). Daha sonra dünyanın değişik ülkelerinde yapılan araştırmalarda, *N. caninum*'un sığırlardaki yavru atma olaylarında en önemli etken olduğu, hatta bazı bölgelerde yavru atma olaylarının %42,5'inin bu hastalığa atfedildiği ileri sürülmüştür (1, 13). Normal doğum yapan inek serumları ile atık yapan inek serumlarında ELISA testi ile yapılan çalışmalarda, seropozitiflik oranının atık yapanlarda daha yüksek olduğu, iki grup arasında pozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada ortaya çıkan farklılığın istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu bildirilmiştir (25, 26). Bu çalışmada, 32 atık yapmış inek serumunun birinde (%3,12), 216 normal inek serumunun 20'sinde (%9,25) ELISA testi ile pozitiflik belirlenmiş, iki grup arasında pozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada ortaya çıkan farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Yukarıdaki araştırma (25, 26) sonuçları ile çelişen bu durum, Doğu Anadolu bölgesinde sığırlarda yapılan bu çalışmada, atık yapan gruptaki materyal sayısının az olmasıyla açıklanabileceği gibi, bu hayvanlardaki

atık nedeninin *N. caninum*'dan kaynaklanmadığı şeklinde de açıklanabilir. Bunun aydınlığa kavuşturulması için atık fütüslerde etken izolasyonuna gidilmesi gerekir.

Neosporosis ile ilgili epidemiyolojik çalışmalarda, seropozitiflik oranının sığırların yaş ve ırkları açısından ilişkisi incelenmiş ve sığırlardaki seropozitiflik oranı ile yaş arasında bir ilişkinin bulunmadığı, ırklara göre ise seropozitiflik oranında değişikliklerin olabileceği ancak bunun ırk özelliklerinden değil, farklı yetiştirme ve barınak şartlarından kaynaklandığı ifade edilmiştir (9, 18, 24). Doğu Anadolu bölgesinde yapılan bu çalışmada, buzağı, düve ve ineklerde sırası ile %5,63, %5,16 ve %9,25 oranlarında pozitiflik tespit edilmiş olup, pozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada aradaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Yine bu çalışmada, teste tabi tutulan yerli, melez, simental, holştein ve montofon ırkları arasında seropozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Sonuç olarak, ELISA testi ile neosporosisin seroprevalansının Elazığ, Malatya, Bingöl ve Muş illerini kapsayan Doğu Anadolu bölgesi sığırlarında %7,01 oranında olduğu, seropozitiflik oranında hayvanın yaş ve ırkının önemli olmadığı, hastalığın Doğu Anadolu bölgesinde sığırlarda serolojik olarak bulunduğu ancak bunun atık fütüslerden etken izolasyonu yapılarak desteklenmesi, özellikle sığırlarda atıkların nedenlerinin araştırıldığı çalışmalarda neosporosisin de dikkate alınması gerektiği kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA, 2000. Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, 60-61: 417-431.
- 2- Atkinson R, Harper PAW, Reichel MP and Ellis JT, 2000. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. *Parasitol Today*, 16: 110-114.
- 3- Barr BC, Rowe JD, Sverlow KW, Bondurant RH, Ardans AA, Oliver MN, Conrad PA, 1994. Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. *J Vet Diagn Invest*, 6: 207-215.
- 4- Bıyıkoglu G, Aksoy E, Bozkır M, Küçükayan U, Ertürk A, 2001. İç Anadolu Bölgesi sığırlarında *Neospora caninum*'un varlığının araştırılması. 12. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Elazığ.
- 5- Bjerkas I, Mohn SF, Presthus J, 1984. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenkd*, 70: 271-274.
- 6- Conrad PA, Barr, BC, Sverlow KW, Anderson ML, Daft B, Kinde H, Dubey JP, Munson L, Ardans A, 1993. In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. *Parasitol*, 106: 239-249.
- 7- Coşkun ŞZ, Aydın L, Bauer C, 2000. Seroprevalence of *Neospora caninum* in domestic dogs in Turkey. *Vet Rec*, 146: 649.

- 8- Davison HC, Otter A, Trees AJ, 1999. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalance in normally calving cattle and aborting cattle. *Int J Parasitol*, 29: 1189-1194.
- 9- Davison HC, French NP, Trees AJ, 1999. Herd-specific and age-specific seroprevalence of *Neospora caninum* in 14 British Dairy herds. *Vet Rec*, 144: 547-550.
- 10- Dijkstra T, Barkema HW, Eysker M, Wouda W, 2001. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. *Int J Parasitol*, 31: 209-215.
- 11- Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A, 1988. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 192: 1269-1285.
- 12- Dubey JP, Lindsay DS, Anderson ML, Davis SW, Shen SK, 1992. Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. *J Am Vet Med Assoc*, 201: 709-713.
- 13- Dubey JP, 1999. Recent advanced in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol*, 84, 349-367
- 14- Dubey JP, Hill DE, Lindsay DS, Jenkins MC, Uggla A and Speer CA, 2002. *Neospora caninum* and *Hammondia heydorni* are separate species. *Trends Parasitol*, 18: 66-69.
- 15- Jenkins MC, Caver JA, Björkman C, Anderson TC, Romand S, Vinyard B, Uggla A, Thulliez P, Dubey JP, 2000. Serological investigation of an outbreak of *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in southeastern United States. *Vet Parasitol*, 94: 17-26.
- 16- Jenkins M, Baszler T, Björkman C, Schares G, Williams D, 2002. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Int J Parasitol*, 32: 631-636.
- 17- McAllister M, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire A, 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol*, 28: 1473-1478.
- 18- Quintanilla- Gozalo A, Pereira-Bueno J, Tabares E, Innes EA, Gonzales-Paniello R, Ortega-Mora LM, 1999. Seroprevalance of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. *Int J Parasitol*, 29: 1201-1208.
- 19- Sanderson MW, Gay JM, Baszler TV, 2000. *Neospora caninum* seroprevalance and associated risk factors in beef in the northwestern United States. *Vet Parasitol*, 90: 15-24.
- 20- Schares G, Rauser M, Söndgen P, Rehberg P, Barwald A, Dubey JP, Edelhofer R, Contraths FJ, 2000. Use of purified tachyzoite surface antigen p38 in an ELISA to diagnose bovine neosporosis. *Int J Parasitol*, 30: 1123-1130.
- 21- Sevgili M, Çımtay İ, Keskin O, 2003. Şanlıurfa yöresinde keçilerde *Neospora caninum* enfeksiyonunun seroprevalansı. *T Parazitol Derg*, 27 (4): 249-251.
- 22- Sevgili M, Altaş M, Keskin O, 2004. Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in the province of Şanlıurfa. *Turk J Vet Anim Sci*. (baskıda).
- 23- Thilsted JP, Dubey JP, 1989. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J Vet Diagn Invest*, 1: 205-209.
- 24- Thurmond MC, Hietala SK, 1996. Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *Am J Vet Res*, 57: 1559-1562.
- 25- Václavěk P, Koudela B, Modrý D and Sedlák K, 2003. Seroprevalence of *Neospora caninum* in aborting dairy cattle in the Czech Republic. *Vet Parasitol*, 115: 239-245.
- 26- García-Vázquez Z, Cruz-Vázquez C, Medina-Espinoza L, García-Tapia D, Chavarria-Martinez B, 2002. Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Aguascalientes, Mexico. *Vet Parasitol*, 106: 115-120.
- 27- Waldner CL, Janzen ED, Ribble CS, 1998. Determination of the association between *Neospora caninum* infection and reproductive performance in beef herds. *J Am Vet Med Assoc*, 213: 685-690.