

**Kırkırelı Yöresi Süt Sığırları Subklinik
Paratüberkülozun Seroprevalansı
BANU KARAKAŞ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
DANIŞMAN
PROF.DR. TURAN CİVELEK
Tez No: 2017-019
2017-AFYONKARAHİSAR**

T.C.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KIRKLARELİ YÖRESİ SÜT SIĞIRLARINDA SUBKLİNİK
PARATÜBERKÜLOZUN SEROPREVALANSI**

VETERİNER HEKİM

BANU KARAKAŞ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

PROF. DR. TURAN CİVELEK

Tez No:2017-019

Afyonkarahisar

KABUL VE ONAY

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27.09.2017

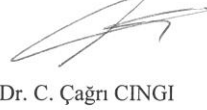
Prof. Dr. Turan CİVELEK

Jüri Başkanı



Prof. Dr. M. Çağrı KARAKURUM

ÜYE



Doç. Dr. C. Çağrı CINGİ

ÜYE

İç hastalıkları anabilim dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Banu KARAKAŞ'IN "Kırklareli Yöresi Süt Sığırlarında Subklinik Paratüberkülozun Seroprevalansı" başlıklı tezi .../.../... Günü saat..... Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Özal ÖZCAN

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Sığır paratüberkülozu (Johne's disease); bulaşıcı, ölümcül, teşhisi zor, tedavi edilmeyen, önemli ekonomik kayıplara neden olan bir hastalıktır. Zoonoz potansiyelinden dolayı, insan sağlığı açısından da, bir tehdit unsuru olarak değerlendirilebilir. Bu nedenle hastalığın ülkemizdeki prevalansının ortaya konması önem arz eder. Ülkemizde paratüberküloz varlığı uzun yıllardır bilinmektedir. Farklı yörelerde bu hastalıkta prevalans tespitine yönelik çalışmalar yürütülmüş olmasına rağmen, Kırklareli yöresi süt sığırlarında paratüberkülozun prevalansını ortaya koyan bir rapora ise rastlanmamıştır (Web of Sci., Scopus). Tarafımızca gerçekleştirilen literatür taraması sonuçları Trakya bölgesinde bugüne kadar gerçekleştirilmiş ve sığırlarda paratüberküloz varlığını (dışkı ve süt örneklerinde) ortaya koyan iki farklı raporun olduğunu ortaya koydu. Bununla birlikte, bu araştırmaların Kırklareli ili ve ilçelerini kapsayan bir nitelikte olmadığı anlaşılmaktadır. Trakya bölgesi 1999 yılında FAO tarafından Avrupa için aşı tampon bölgesi olarak beyan edilmiştir. Bu açıdan stratejik bir öneme sahiptir. Bu bölgeyi kapsayan prevalans çalışmaları önem arz eder. Sunulan çalışmada yoğun süt sığırı bakım ve beslemesi yapılan Kırklareli yöresinde subklinik paratüberkülozun varlığının ortaya konması hedeflendi. Yapılan araştırma, ilgili bölge ve ülke genelinde hastalığa karşı etkili kontrol stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Lisansüstü eğitim hayatım süresince bilgi, birikim ve deneyimi ile bana yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Turan Civelek'e teşekkürlerimi sunarım. Araştırma süresince şahsıma önemli katkılar sağlayan Dr. Durmuş Fatih Başer ve Kırklareli İl Gıda Tarım ve Hayvancılık personeli Veteriner Hekim Hasan Zorlutuna 'ya da ayrıca müteşekkirim. Araştırmam boyunca desteğini ve ilgisini esirgemeyen annem Nebahat Karabaş ve babam Burhan Karakaş'a şükranlarımı sunarım. Bu tezi, eğitimimde bu noktaya kadar gelmemde her koşulda beni destekleyen anneme ve babama ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|-----------|
| Kabul ve Onay | ii |
| Önsöz | iii |
| İÇİNDEKİLER | iv |
| Simgeler ve Kısaltmalar | v |
| Çizelgeler | vi |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Etiyoloji | 2 |
| 1.2. Konak Yaygınlığı | 3 |
| 1.3. Prevalans | 4 |
| 1.4. Patogenezi | 4 |
| 1.5. Enfeksiyon ve Hastalığın Evreleri | 5 |
| 1.6. Bulaş | 6 |
| 1.7. Klinik Tablo | 7 |
| 1.8. Nekropsi Bulguları | 8 |
| 1.9. Ekonomik Önem | 8 |
| 1.10. Tanı | 9 |
| 1.10.1. Kültür | 9 |
| 1.10.2. Serolojik testler | 10 |
| 1.10.3. İmmünite Testleri | 12 |
| 1.11. Kontrol ve Korunma | 12 |
| 2. GEREÇ ve YÖNTEMLER | 15 |
| 2.1. Gereç | 15 |
| 2.1.1. Materyal ve Örnekleme | 15 |
| 2.2. Yöntem | 16 |
| 2.2.1. Hesaplama | 16 |
| 2.2.2. Değerlendirme | 16 |
| 2.2.3. İstatistikî Analiz | 16 |
| 3. BULGULAR | 17 |
| 4. TARTIŞMA | 19 |
| 5. SONUÇ ve ÖNERİLER | 22 |
| ÖZET | 23 |
| SUMMARY | 24 |
| KAYNAKLAR | 25 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-------|--|
| AGID | Agar Gel İmmunodiffüzyon |
| CFT | Komplement Fikzasyon |
| ELISA | Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay |
| MAP | <i>Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis</i> |
| PCR | Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| pTB | Paratüberküloz |
| ZN | Ziehl- Nielsen |

TABLÖLAR

Tablo 3.1. Kırklareli yöresi subklinik pTB seroprevalansı (sayısal)

Tablo 3.2. Kırklareli yöresi subklinik pTB seroprevalansı(%)

1. GİRİŞ

Paratüberküloz (pTB), *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*'in neden olduğu, ruminantların ince barsak epitel hücrelerinde granülomatöz nitelikte yangıya sebep olan kronik bir hastalıktır. Klinik paratüberküloz, barsak çeperlerinde kalınlaşma ve tedaviye yanıt vermeyen kronik tabiatta enteritle karakterizedir. Hayvanlarda diyare, kaşeksi, süt verim kayıpları, infertilite, mastitis ve sonuç olarak ölüme neden olur. Ciddi ekonomik kayıplara neden olan *Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis* (MAP) son derece bulaşıcıdır. Neonatal dönemden itibaren hayvanlar enfekte olabilmekle birlikte, klinik olgulara daha çok 2-6 yaş arasında rastlanır. Hastalık, etkenin bölgesel lenf yumrularına yayılıp klinik belirti vermesiyle teşhis edilir (Alibaşoğlu ve ark, 1969; Çetinkaya ve ark., 1997; Osterstock ve ark., 2010). Enfekte hayvanların %1'i ölürken, %50'si subklinik olarak hayatına devam eder. Bu hayvanlarda dikkati çeken tek bulgu ise verim kaybıdır (Andrews, 1992).

Etken sığır, geyik, lama, deve, koyun ve keçi vb. çift tırnaklılarda hastalığa neden olabilmektedir (Alibaşoğlu ve ark, 1969; Osterstock ve ark., 2010; Çetinkaya ve ark., 1997). Hasta hayvanların sütleri ve dışkılarıyla yaydıkları etkenler dış ortamda uzun süre canlılığını koruyabilir. MAP'ın enfekte hayvanlardan insanlara bulaşık su, et ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle bulaşabileceği rapor edilmiştir. MAP'ın insanlardaki Crohn's hastalığının etiyolojisinde rol aldığı önemle ifade edilmektedir(Pickup ve ark., 2004; Nakase ve ark., 2006).

Paratüberküloz uzun dönem bir subklinik evreye sahiptir ve bu sebeple teşhisi zordur. Dış ortamda uzun bir süre canlı kalabilen MAP bir hücre içi patojendir. Etkenler makrofaj hücreler içinde uzun süre canlı kalabilmektedir. Antikor titresi enfeksiyona cevaba bağlı olarak artar. Bu durum ise genellikle iki yaş altı hayvanlarda pTB'nin teşhisini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle,materyal olarak kan

serumunun kullanıldığı prevalans çalışmalarında iki yaşından küçük hayvan kullanımı önerilmez (Çetinkaya ve ark., 2000; Diequez ve ark., 2009). Enfeksiyonun bu erken döneminde enfekte hayvanlarda klinik bulguya da rastlanılmaz. Bu dönemde enfekte hayvanlar sürüdeki gençlere ve sağlıklı bireylere etkeni bulaştırma eğilimindedir (Baumgartner ve Khol, 2006).

pTB süt sığırları işletmelerinde ekonomik kayba neden olan hastalıkların en önemlilerindendir (Hasanova ve Pavlik, 2006). Örnek vermek gerekirse bu hastalık, ABD’de yıllık olarak ortalama 200 ila 250 milyon dolar zarara neden olmaktadır (Sharma ve ark., 2008). Bu nedenle; pTB prevalansının subklinik dönemde tespiti enfeksiyonun yayılmasının önlenmesinde önem arz eder. Buzağılar doğumdan sonra veya anne karnında bulaşık ekipman, kolostrum veya sütle etkeni alabilmektedir. Bu dönem buzağı açısından enfeksiyona en duyarlı zamandır. Ayrıca, etkenin pastörizasyon prosesine dirençli olması, süt ve süt ürünleriyle insana bulaş noktasında subklinik evreyi önemli kılmakta ve bu dönemde teşhisin önemini arttırmaktadır (Çetinkaya ve ark., 1997; Çetinkaya ve ark., 2000; Yıldırım ve Civelek, 2013).

1.1. Etiyoloji

MAP, ilk defa 1895 yılında hastalıklı hayvanların ince bağırsaklarında belirlenmiş (Johne ve Frothingham, 1895) ve mikrobiyolojik yapısından dolayı tüberkülozun atipik formu olarak adlandırılmıştır. 1906 yılında Bang MAP’ın tüberküloz etkeninden farklı olduğunu tespit etmiş ve Pseudotüberküloz enteritis olarak yeniden adlandırmıştır (Bang, 1906). Günümüzde hastalık Paratüberküloz veya Johne’s Disease olarak bilinmektedir. Ülkemizde ise hastalık ilk defa 1928’de sığırlarda (Sezginer, 1928), 1968 yılında koyunlarda (Hakioğlu, 1968) ve 1973 yılında ise keçilerde rapor edilmiştir (Alibaşoğlu ve ark., 1973).

Etken, 0.5x1.5 mikron boyutlarında, kısa-kalın çomak şeklinde, hareketsiz, sporu ve kapsülü olmayan, gram (+), aside dirençli nitelikte, yavaş gelişim gösteren asit-baz bir bakteridir (Alibaşoğlu ve ark., 1969). MAP, pastörizasyon prosesine, *M. Tuberculosis*'e göre, daha dayanıklıdır. Et ürünlerinde etkenin *M. Bovis*'ten 6-7 °C daha yüksek sıcaklıkta yıkıma uğradığı rapor edilmiştir (Merkal ve ark., 1987; El-Zaataria ve ark., 2001). Dondurma ve antimikrobiyellere karşı da son derece dirençlidir (Smith ve Bradford, 2001). Sığır dışkısında bir yıl, yer üstü sularında ise 160 gün canlılığını koruyabilir (Baumgartner ve Khol, 2006).

1.2. Konak Yaygınlığı

Etkenin konak dağılımı geniştir. Hastalık süt sığırlarının dışında Muflon (Machackova ve ark., 2004), Manda (Sivakumar ve ark., 2005), Deve (Selbitz, 2002), evcil veya yabani koyun (Çiftçi ve Hatipoğlu, 1991; Williams ve ark., 1979), keçi (Williams ve ark., 1979; Williams ve ark., 1983), geyik (Williams ve ark., 1983), kuş, rat, tilki, ayı ve tavşanlarda da (Florou ve ark., 2005; Judge ve ark., 2005) bildirilmiştir. Primat ve evcil domuzların etken için taşıyıcı oldukları, ancak klinik semptom göstermediği rapor edilmektedir (Klee, 2004). At ve farelerde deneysel oluşturulan deneysel pTB, klinik belirtilere olur ancak şekillenen morfolojik lezyonlar hafif seyirlidir (Jubb ve ark., 1985). İnsanlarda Crohn's hastalığının etiolojisinde MAP'ın etken olduğu savunulmaktadır (El-Zaataria ve ark., 2001).

1.3. Prevalans

Paratüberküloz olgularına her kıtada rastlanılmakta ve prevalansı bölgesel ve ülkesel olarak farklılık gösterebilmektedir. Avustralya'nın bazı bölgelerinin arı ve İsveç'te ise yaygınlığın nadir olduğu bildirilmiştir. pTB prevalansı Almanya'da %84.7, ABD'de %50, Danimarka'da %47, Kanada'da %43 olarak rapor edilmiştir (Collins ve ark., 1994; Jakobsen ve ark., 2000; Van leeuwen ve ark., 2001; Hacker ve ark., 2004; Holmström ve Stenlund, 2005).

Orta Anadolu'da sığırlarda mikro ve tüp CFT metotları ile yapılan çalışmada paratüberkülozun seroprevalansı sırasıyla %2.3 ve %2.7 olarak ortaya konmuştur(Vural ve Atala, 1988).ELISA yöntemiyle yapılan diğer bir çalışmada ise hastalığın yaygınlığı %4.6 olarak rapor edilmiştir (Atala ve Akçay, 2001).Kars ilinde sığırlar üzerinde yürütülen bir araştırmanın sonuçları prevalansın; %3.5 ve çiftlik bazında ise %41.6olduğunu göstermiştir (Makav ve Gökçe, 2013).Bir diğer çalışmada ise Uşak da süt sığırlarında dışkı ve süt örneklerinde, PCR tekniği ile elde edilen prevalans değerleri sırasıyla %20 ve %17.5 olarak bildirilmektedir (Yıldırım ve Civelek, 2013). Manisa yöresi süt sığırlarında yapılan bir diğer çalışmada ise subklinik paratüberkülozun seroprevalansı %4.6 olarak rapor edilmiştir (Berberoğlu ve Civelek, 2016).

1.4. Patogenez

Etkenin yavaş üremesi ve uzun inkubasyon periyodu gibi sebeplerden dolayı paratüberkülozun patogenezi tam olarak ortaya konamamıştır. pTB ile ilişkili belirtilen patolojik değişimler, bu hastalık için karakteristik olmakla birlikte, diagnostik değildir (Blood ve ark., 2000).Buzağların anne yanında olması ve ilk üç

ay anne sütü ile beslenmesi enfeksiyonun bulaşında önem arz eder (Çetinkaya ve ark., 1997). Klinik paratüberkülozlu hastaların buzağılarının %25'i intrauterin olarak enfekte doğar. Yeni doğan buzağılarda ve yetişkin hastalarda etkenin primer yerleşim yeri ileumdur (Whitlock, 1996).

1.5. Enfeksiyon ve Hastalığın Evreleri

Kontamine yem ve suların alımı hastalığın bulaşında en önemli faktördür. Enfekte hayvanlar, inkubasyon periyodunun uzun olması sebebiyle, klinik belirti göstermeden 15-18 ay önce dışkı ile etkeni yaymaya başlar (Smith ve Bradford, 2001). Hayvanların birçoğu, enfekte oldukları halde, yaşamları boyunca klinik belirti göstermeyebilir. Bakım ve beslenme sorunları, stres, gebelik, yüksek süt verimi, uzun süreli kortikosteroid kullanımı gibi nedenler hastalığın klinik forma dönmesine sebep olur (Andrews, 1992). Hastalığın gelişimi sessiz enfeksiyon dönemi, subklinik hastalık dönemi, klinik form dönemi ve ilerlemiş klinik form dönemi olmak üzere dört evrede incelenebilir.

Sessiz enfeksiyon dönemi: Etken jejunum ve ileum mukozasında fagositik hücreler tarafından tutulur ve lenf yumrularına dağılır. Bu evrede, alınan dışkı örneklerinde etken teşhisi zordur. Ancak sindirim kanalından elde edilen doku kültürü, nadiren de olsa, MAP teşhisinde kullanılabilir. Bu dönem; iki yaşından itibaren, 2-10 yıl kadar devam eder (Smith ve Bradford, 2001; Mecitoğlu ve Demir, 2012).

Subklinik hastalık dönemi: MAP antijenine karşı sitotoksik T lenfositleri immun yanıt oluşturur. Bu evrede enfekte hayvanda ishal ve kilo kaybı görülmez (Stricklands ve ark., 2005). Bu dönemde pTB'li hayvanlar dışkılarıyla etkeni saçıp

bütün sürüyü enfekte eder. Bazı hastaların dışkı kültürleri pozitif olabilir. Bu evre hastanın immun yanıtına veya vücuttaki MAP yoğunluğuna göre birkaç yıl sürebilir (Andrews, 1992).

Klinik form dönemi: Şiddetli kilo kaybı ve ishale karakterizedir. İntermitent ishal birkaç hafta devam eder. Solunum ve kalp frekansları ve vücut ısısı normal aralıktadır. Bu evrede gerçekleştirilen dışkı kültürü, serum ELISA ve AGID testleri pozitif sonuç verir (Andrews, 1992).

İlerlemiş klinik form dönemi: Hayvanlar aşırı zayıf ve hatta kaşektiktir. Projektil ishal gözlenir. Subklinik evreden bu evreye geçiş, haftalar içinde ve hızlı bir şekilde olabilir. Bu evrede çene altı ödemi karakteristiktir. Şiddetli ishal sonucu hipoproteinemi görülür. Şiddetli dehidrasyon ve kaşeksi sonucu ölüm gerçekleşir (Blood e ark., 2000).

1.6. Bulaş

Fekal-oral bulaş pTB'nin yayılımında en önemli etmendir. Hastalığın ortalama 10 yılı bulan uzun inkubasyon süresi sonunda (Klee, 2004) enfekte sığırlar MAP'ı dışkılarıyla yaymaya başlar. Bir gram dışkı ile ortalama bir milyon bakteri çevreye yayılır (Whitlock ve ark., 2005). Enfekte hayvanların, 1.5 yaşından önce, etkeni dışkılarıyla yaymadığı düşünülmektedir. Fakat son dönemlerde yapılan çalışmalarda, genç buzağların etkeni dışkı yoluyla yayabildiği ve diğer buzağlara enfeksiyonu bulaştırdığı rapor edilmiştir (Bolton ve ark., 2005).

Doğumhanelerin ve memenin fekal kontaminasyonu sonucu yeni doğan buzağılar etkeni oral yolla alır. Asemptomatik hayvanların kolostrum ve sütlerinde de MAP etkenine rastlanmıştır. Emen buzağılara bulaş bu yolla da olabilir (Baumgartner ve Khol, 2006). Tohumlama ve embriyo transferi ile kontaminasyon ve evcilleştirilmemiş ruminantların rezervuar etkileri ise net olarak ortaya konabilmiş değildir (Philpott, 1993; Judge ve ark., 2005).

Yapılan bir araştırmada 10^7 düzeyinde kontamine sütlerde etkenin yavaş pastörizasyonunda %96, çabuk pastörizasyonunda ise %85 düzeyinde canlı kaldığı, bu sayının 10^4 düzeyinde kontamine edilen sütlerde sırasıyla %50 ve %58 olduğunu belirtilmektedir (Grant ve ark., 1996). İngiltere’de marketlerde satılan sütlerde %1.7 oranında etken izole edildiği rapor edilmiştir (Taylor ve ark., 1998). Süt ve kolostrum pastörizasyonu bulaş ihtimalini azaltır, ancak tamamen ortadan kaldırmaz.

1.7. Klinik Tablo

Hastalıkta subklinik paratüberküloz/sessiz enfeksiyon döneminde klinik bulgu gözlenmez. Etken yavaş yayılım göstermektedir. Bu nedenle bir sürünün enfekte olarak tanımlanabilmesi için yıllar geçmesi gerekir. Yönetimi iyi olan sürülerde enfeksiyon oranının nispeten daha düşük olduğu söylenebilir. Sığırlarda klinik pTB olgularının çoğuna 3-6 yaş aralığında rastlanılır (Baumgartner ve Khol, 2006).

Enfekte ruminantlarda hastalığa ilişkin ilk bulgu çoğunlukla doğum sonrası ortaya çıkar (Klee, 2004). Bu ilk bulgu kronik ve aralıklı, zaman zaman normalleşen diyaredir. İştah normaldir, fakat yemden yararlanma azalır. Zamanla kronik kilo kaybı ortaya çıkar. Yanı sıra, kıl yapısında kabalaşma, deride kuruma ve döküntü görülür. İlerleyen evrelerde mandibula düzeyinde ödematoz şişlikler ve süt

veriminde şekillenen azalma dikkat çekicidir. Hastalığın son döneminde ise kaşeksi ve Projektil ishal tipiktir. Bu hastalığın bilinen bir tedavisi yoktur (Baumgartner ve Khol, 2006).

1.8. Nekropsi Bulguları

Sindirim sistemi ve bölgesel lenf nodüllerinde şekillenen lezyonlar, ileum cidarında kalınlaşma ve bağırsaklardaki kıvrımların beyin görünümü alması hastalık için karakteristiktir. Diffuz granümatöz değişiklikler, enteritis ve non-nekrotik fibrozis teşhis edilir. Vücut boşluklarında seröz effüzyon gözlenir. Hasta hayvan oldukça zayıflamış ve yağ depoları atrofiye uğramıştır (Osterstock ve ark., 2010).

1.9. Ekonomik Önem

pTB süt sığırlarında gözlenen ekonomik maliyeti yüksek, yaygın ve tedavisi olmayan bir hastalıktır. Klinik paratüberkülozda kaçınılmaz son ölüm olmakla birlikte; yaşanan verim kayıpları, tedavi maliyetinin yüksekliği ve ilişkili infertilite, mastitis, vb. subklinik hastalıklar nedeniyle pTB ekonomik açıdan önem arz eder. Ayrıca yetiştiricilerin hastalığı kabul etmemesi ve şüpheli olguları gizlemesi nedeniyle gerçek prevalans bilinmemektedir. Whitlock ve arkadaşlarının 2005'te yaptıkları çalışmada ABD'nin bu hastalık nedeni ile yıllık yaşadığı ekonomik kayıp 1.5 milyar dolar olarak ortaya konmuştur (Whitlock ve ark., 2005). Sharma ve arkadaşları (2008) ise bu kaybın 220-250 milyon dolar olduğunu belirtmektedir (Sharma ve ark., 2008). Türkiye'de bu alanda farklı çalışmalar yapılsa da, etkenin ülkemize yaptığı etkiler net olarak belirlenmiş değildir (Mecitoğlu ve Demir, 2012).

1.10. Tanı

Klinik pTB olgularında tanı; semptom, anamnez ve nekropsi sonuçları ile konulur. Asemptomatik paratüberkülozda ise tanıda laboratuvar testlerden yararlanılır. Bununla birlikte, özellikle genç hayvanlarda tanıda kullanılabilecek spesifitesi ve sensitivitesi yüksek bir test ise bulunmamaktadır (Baumgartner ve Khol, 2006). Etkenin tanısında; kültür, PCR, immunité testleri ve serolojik testlerden yararlanılmaktadır (Muskends ve ark., 2003; Baumgartner ve Khol, 2006; Civelek ve ark., 2009).

1.10.1. Kültür

Semptomatik/aseptomatik paratüberküloz teşhisinde altın standart olarak kabul edilir. Klinik bulgular ortaya çıkmadan önce (1-3 yıl) etken tespitine imkân tanır (Muskends ve ark., 2003). Etkenin ortaya konması için ortalama 8-16 haftalık bir inkubasyon süresine ihtiyaç duyulur. Likid besi yeri kullanımı bu süreyi 3 haftaya kadar indirmektedir (Böttcher ve Gangl, 2005). MAP'ı diğer Mycobacterium türlerinden ayırt eden başlıca özellik, yavaş üremesi ve üremesi için mycobactin'e ihtiyaç duymasıdır (Andrews, 1992; Muskends ve ark., 2003). Bununla birlikte; fekal yayılımın geç başlaması ve etkenin bölgesel lenf yumrularına geç ulaşması nedeniyle kültürün sensitivitesi düşüktür. Maliyeti azaltmak ve daha yüksek spesifite ve sensitivite için aynı yaştaki en az beş hayvandan alınan dışkı örnekleri karıştırılarak elde edilecek örnek havuzu bakteriyel ekim amacıyla kullanılabilir. Bu yöntemle elde edilen sonuçların spesifitesi %86 ve sensitivitesi ise %96 olarak rapor edilmektedir (Collins ve ark., 2005).

Teşhiste kullanılabilecek bir diğer yöntem ise Ziehl-Nielsen boyamadır. Boyanan dışkı froti örneğinde ZN teşhis edilir. Bu yöntem veteriner sahada kullanılan ucuz ve pratik bir yöntemdir (Nielsen ve ark., 2001; Yıldırım ve Civelek, 2013). Sensitivitesi düşük olması nedeniyle subklinik olgularda kullanımı uygun değildir. Yanı sıra, dışkı kültürüne göre güvenilirliği de azdır (Smith ve Bradford, 2001). Frothin mikroskopik bakısında asit-faz mikroorganizmaların epitel hücrelerindeki tipik kümelenmesi araştırılır. Yöntem MAP'ın diğer asit-faz mikroorganizmalar ile ayrımı konusunda duyarlı değildir. Teşhisin doğruluğunu sağlamak için aynı örnekten birkaç froti hazırlanıp incelenmelidir (Muskends ve ark., 2003).

MAP için spesifik olan insertion sekans 900 (IS 900) tespiti bu hastalığın teşhisine yeni bir sayfa açılmasını sağlamıştır. Genetik prob olan IS900 etken için ayırıcı elementtir (Juste ve ark., 2005). PCR yönteminde hazır ticari test kitleri kullanılır. Hızlı sonuç veren bir yöntemdir. Sensitivitesi yüksektir (Murray ve ark., 1989; Van der Giessen ve ark., 1992). PCR, kültür sonuçlarını doğrulama ve etkenin spesifik IS900 sekansını belirlemek amacıyla süt, kan ve doku örneklerinde kullanılabilir. Bu yöntemde canlı ve cansız MAP hücrelerinin ayrımı yapılamaz. Yüksek maliyet, teknik personel ve özel ekipman gerekmesi testin dezavantajıdır (Kalis ve ark., 1999; Taddet ve ark., 2004).

1.10.2. Serolojik Testler

MAP varlığı serolojik olarak da teşhis edilebilir. Serolojik testlerin maliyeti kültüre göre daha düşüktür (Stricklands ve ark., 2005). Yapılan bir çalışmada, Agar gel İmmunodiffüzyon (AGID), Komplement Fiksasyon (CFT) ve ELISA testleri subklinik enfekte sığırlarda tanı amaçlı karşılaştırılmıştır. Araştırma sonuçları kullanılan bu testlerin spesifitelerinin %95-99 ve sensitivitelerinin ise etkeni dışkı ile

saçanlarda %40-65, saçmayanlarda ise %14-47 arasında değiştiğini ortaya koymuştur. Bu metotların arasında en güvenilir olanı ELISA'dır (Botcherr ve Gangl, 2004).

ELISA; MAP'a karşı gelişen özel antikorların tespiti ile paratüberküloz teşhisinde en yaygın olarak kullanılan yöntemdir (Kalis ve ark., 1999). Ticari test kitlerine göre değişmekle birlikte; spesifitesi %84.7-99.8 ve sensitivitesi %27.8-44.5 arasında değişir. Test amaçlı genellikle serum örnekleri tercih edilse de, süt örnekleri de kullanılabilir (Collins ve ark., 2005; Khol ve ark., 2005). Dışkı kültürü pozitif hayvanlarda ELISA'nın sensitivitesi %57 ve spesifitesi %98.7 olarak belirlenmiştir. Etkeni saçan asemptomatik hayvanlarda sensitivite %15 iken, klinik semptomlu vakalarda %87 olarak rapor edilmiştir (Jubb ve ark., 2004). Enfekte hayvanlarda humoral cevabın geç oluşması nedeniyle, yeni enfekte hayvanlarda ELISA sonucu yanıltıcı olabilir. Bu durum ELISA metodunun başlıca dezavantajıdır (Klee, 2004).

Günümüzde bir sürüde paratüberküloz kontrolü amacıyla kullanılacak en kolay ve maliyeti en düşük yöntem ELISA'dır. Bu metotla, sahada yapılan çalışmalarda, enfekte hayvanların %80'inin daha klinik semptom göstermeden teşhis edildiği ettiği rapor edilmektedir. Yöntem, henüz dışkılarıyla etkeni saçmayan hayvanların ise %65'ini tespit etmiştir (Jubb ve ark., 2004). Diğer yöntemlere göre ELISA, subklinik enfekte hayvanlarda en güvenilir metottur (Stricklands ve ark., 2005). Avustralya'da yapılan bir çalışmada, ELISA ve CFT karşılaştırılmış, sonuç olarak klinik semptom gösteren hastaların ELISA ile %88 ve CFT ile ise %83'ü doğru olarak teşhis edilmiştir (Jubb ve ark., 2004).

Komplement Fikzasyon testi paratüberkülozun teşhisinde sık başvuru alan bir diğer yöntemdir. Yapılan çalışmalar, klinik semptom gösteren hayvanlarda testin sensitivitesini %90 ve spesifitesini ise %70 olarak rapor etmektedir. Subklinik hayvanlarda ise bu değerler oldukça düşüktür (Benedictus ve Kalis, 2003). Subklinik enfeksiyonlu hastaların tanısında CFT tek başına kullanılmamaktadır (Paolichii ve ark., 2003).

Agar gel İmmunodiffüzyon yöntemi klinik semptom gösteren hayvanlarda kullanılmaktadır. Maliyeti düşüktür ve 48 saat içerisinde sonuç alınabilir. Sensitivitesi %96 ve spesifitesi %94 olarak belirlenmiştir (Botcherr ve Gangl, 2004).

1.10.3. İmmunite Testleri

Deri ve intravenöz Johne's immunité testlerinin, sahip oldukları düşük spesifite ve sensitivite nedeni ile kullanımı önerilmemektedir (Blood ve ark., 2000). Paratüberküloz teşhis yöntemleri, büyük ilerlemeler kaydedilse de, enfeksiyonun erken döneminde konan tanının doğruluğu tartışmalıdır. Kesin tanı için, doğru metot seçimi ve/veya uygun yöntemlerin kombine edilerek kullanımı önerilir (Baumgartner ve Khol, 2006).

1.11. Kontrol ve Korunma

Paratüberkülozun etkili bir tedavisi yoktur. Bu nedenle sürü enfeksiyon yönünden sürekli kontrol edilmelidir. Hastalıktan korunma ve kontrolde, sürüdeki pozitif hayvanların elden çıkarılması ve şüpheli olanların ise farklı dönemlerde kombin test

metotları ile kontrol edilmesi önem arz eder. Bu şekilde muhtemel subklinik vakaların önüne geçilmeye çalışılmalıdır. Sürüdeki 1.5 yaşını geçmiş her hayvan altı aylık dönemlerde ELISA, bakteriyel kültür ve/veya dışkı PCR yöntemleriyle enfeksiyon yönünden taranması önerilir (Baumgartner ve Khol, 2006; Yıldırım ve Civelek, 2013).

Paratüberküloz pozitif çıkan sürülerde alınacak olan ek hijyen tedbirleriyle hastalığın başta buzağılara ve sürüye dışarıdan gelen yeni hayvanlara bulaşı önlenmelidir. Yeni doğan yavrular MAP ile enfekte olduğu bilenen anneden ayrılmalı ve negatif annelerin sütüyle beslenmelidir. Paratüberkülozlu hayvanların buzağısı ile negatif olduğu bilinen hayvanların buzağısı da ayrılmalı ve farklı yerlerde barındırılarak sürü içi bulaşın önüne geçilmelidir. Damızlık amaçlı kullanılacak hayvanların negatif olması tercih edilmelidir. Eradikasyon programının en başında yaşlı ve genç hayvanlar birbirinden ayrılmalıdır. Hayvanların bakım, besleme ve diğer işlerde kullanılan ekipmanları da, yaş gruplarına göre, ayrı olmalıdır (Baumgartner ve Khol, 2006; Yıldırım ve Civelek, 2013).

Çiftlik hayvan hareketlerine sınırlama getirilmeli ve sürülerin paratüberküloz yönünden teste tutulmalıdır. Paratüberkülozdan arı çiftlik ve bölgelerin oluşturulması önem arz eder. Genel dezenfeksiyon ve biyogüvenlik kurallarına uyulmalıdır. Su kaynaklarına yakın tarlalarda hayvan gübresi tercih edilmemelidir (Baumgartner ve Khol, 2006; Yıldırım ve Civelek, 2013).

Klinik paratüberkülozu ihbarı mecbur hastalıklar listesine dâhil ederek, pozitif hayvanların itlafı ve dezenfeksiyon işlemlerini kanuni çerçevede belirleyen ilk ülke Avusturya'dır (Van Leeuwen ve ark., 2001). Ülkemizde paratüberkülozla ilgili çalışmalar yapılmakta ve güncelliğini korumaktadır (Civelek ve ark., 2009; Öztürk ve ark., 2010; Yıldırım ve Civelek, 2013; Berberoğlu ve Civelek, 2016). Yapılan

çalışmalarda amaç; hastalığın bölgesel yayılımını rapor etmektir (etinkaya ve ark., 1999). Subklinik paratberklozlu hayvan yoğunluğu ile klinik paratberklozlu vaka gözlenme oranı ilişkilidir. Hastalığın zoonotik şüpheli olması ve etkenin pastörizasyona karşı dayanıklılığı nedeniyle, özellikle süt sığırı yetiştiriciliği yapılan yörelerde enfeksiyon varlığının ortaya konması gerekir (Yıldırım ve Civelek, 2013).

Subklinik paratüberküloz yayınlılığının ortaya konması, verimle ilişkili ekonomik kayıplar yönüyle ve yanı sıra, insan sağlığı açısından da önem taşır. Etkenin pastörizasyon sonrasında dahi canlı kalabileceği rapor edilmiştir. Enfekte sütlerle yapılan peynirlerde de etkene rastlanılmıştır. İnsanlarda gözlenen yangısal kalın bağırsak hastalığı Crohn's Disease ile paratüberküloz arasında bağlantı olduğu bildirilmektedir. Bu sebeple enfekte hayvanların süt ve dışkılarıyla etrafa yayılan etkenler insan sağlığı açısından da önemli bir tehdit oluşturmaktadır (Anon, 2000; Pickup ve ark., 2004; Yıldırım ve Civelek, 2013).

Sunulan alışmada Kırklareli yöresinde ELISA metodu kullanılarak subklinik paratüberkülozun prevalansının ortaya konması hedeflendi. Araştırmamız ilgili bölge ve ülke genelinde hastalığa karşı etkili kontrol stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Ayrıca; subklinik pTB teşhisi, bu hastalığa bağlı uzun dönemde gelişebilecek olası verim kayıplarının önüne geçilmesini de sağlayacaktır. Bu durum ekonomik açıdan önem arz eder.

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. GEREÇ

2.1.1. Materyal ve Örneklem

Sunulan araştırmanın hayvan materyali, Kırklareli il merkezi ve ilçelerinde (Kırklareli Merkez; 3, Babaeski; 3, Lüleburgaz; 3, Vize; 4, Demirköy; 2, Pehlivanköy; 4, Kofçaz; 1, Pınarhisar; 3) süt sığırı yetiştiriciliği yapılan 23 işletmeden rastgele örneklem yöntemiyle seçildi.

Çalışma materyalini; siklik faaliyetleri devam eden, önceki laktasyon dönemlerinde periparturient hastalık (deplasman, ketosis, retentio, hipokalsemi vb.) geçirmemiş, paratüberküloz yönünden aşılanmamış, klinik olarak sağlıklı, yaş, canlı ağırlık ve günlük süt verim ortalamaları sırasıyla; 3.65 ± 0.48 yıl, 600.53 ± 34.88 kg ve 27.55 ± 2.75 lt. olan 400 multiparoz Holştayn ırkı süt sığırı oluşturdu.

Örnek dağılımı; Kırklareli Merkez, n=84; Lüleburgaz, n=50; Babaeski, n=60; Vize, n=45; Pehlivanköy, n=43; Pınarhisar, n=50; Kofçaz, n=40; Demirköy, n=28'dir.

Materyali oluşturan her bir sığırdan düz biyokimya tüpüne kan örnekleri alındı ve santrifüj edilerek kan serumları çıkarıldı. Elde edilen örnekler analiz zamanına kadar -20°C de saklandı.

2.2. YÖNTEM

Seroprevalans tayini ELISA [Idexx Paratuberculosis Screening Ab Test, RefPO7130-5] metodu kullanılarak gerçekleştirildi. Örnekler BIOTEK ELX800, USA marka ELISA okuyucu cihazda 450 nm dalga boyunda değerlendirildi.

2.2.1. Hesaplama

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

2.2.2. Değerlendirme

$S/P \leq 0.60$ ise örnek negatif, $S/P \geq 0.70$ ise örnek pozitif ve $S/P = 0.6-0.7$ arasında ise örnek şüpheli olarak değerlendirildi.

2.2.3. İstatistik Analiz

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

3. BULGULAR

Bu çalışma kapsamında; Kırklareli yöresinde, merkez ilçe dâhil 8 farklı ilçede faaliyet gösteren 23 süt sığırı işletmesinde randomize olarak toplam 400 multiparoz süt sığırından kan örnekleri toplandı.

Totalde 6 sığır pozitif, 6 sığır şüpheli ve 388 sığır negatif olarak belirlendi. Pozitif ve şüpheli hayvan oranları %1.5 ve negatif hayvan oranı ise %97 olarak hesaplandı.

Kırklareli merkezde üç işletmede toplam 84 süt sığırında örnekleme yapıldı. Bir hayvan pozitif, bir hayvan şüpheli ve 82 hayvan negatif olarak belirlenmiştir. Pehlivan köyü'nde dört işletmede 43 hayvandan örnek toplandı. Bu ilçede seropozitif veya şüpheli olguya rastlanmadı. Pınarhisar'da üç süt sığırı işletmesinden toplanan 50 örnekte iki seropozitif ve bir şüpheli vaka tespit edildi. Vize'de faaliyet gösteren dört farklı işletmede 45 süt sığırında gerçekleştirilen randomize örnekleme sonuçları bir hayvanda pozitif ve iki hayvanda ise şüpheli sonuç ortaya koydu. Babaeski'de üç işletmede 60 süt sığırından toplanan örneklerde pozitif veya şüpheli subklinik pTB vakasına rastlanmadı. Lüleburgaz'da üç işletmeden 50 örnek alındı. Benzer şekilde bu ilçede de pozitif sonuç tespit edilmemiştir. Bir olgu ise şüpheli olarak kaydedildi. Kofçaz'da bir işletmeden alınan 40 örnekte bir şüpheli, bir pozitif ve 38 negatif sonuç belirlendi. Demirköy'de ise toplam iki işletmede 28 süt sığırından örnek alınmış ve sadece bir olguda seropozitivite tespit edilmiştir.

Tablo 3.1. Kırklareli yöresi subklinik pTB seroprevalansı (sayısal)

| İlçe | (n) sayısı | (+) | (?) | (-) |
|--------------|------------|----------|----------|------------|
| Pehlivanköy | 43 | - | - | 43 |
| Pınarhisar | 50 | 2 | 1 | 47 |
| Merkez | 84 | 1 | 1 | 82 |
| Vize | 45 | 1 | 2 | 42 |
| Babaeski | 60 | - | - | 60 |
| Lüleburgaz | 50 | - | 1 | 49 |
| Kofçaz | 40 | 1 | 1 | 38 |
| Demirköy | 28 | 1 | - | 27 |
| TOTAL | 400 | 6 | 6 | 388 |

n; Hayvan sayısı, (+); pozitif olgu sayısı, (-); negatif olgu sayısı, (?); şüpheli olgu sayısı

Tablo 3.2. Kırklareli yöresi subklinik pTB seroprevalansı(%)

| İlçe | (+) % | (?) % | (-) % |
|--------------|-------------|-------------|------------|
| Pehlivanköy | %0 | %0 | %100 |
| Pınarhisar | %4 | %2 | %94 |
| Merkez | %1.9 | %1.19 | %97.62 |
| Vize | %2.22 | %4.44 | %93.33 |
| Babaeski | %0 | %0 | %100 |
| Lüleburgaz | %0 | %2 | %98 |
| Kofçaz | %2.5 | %2.5 | %95 |
| Demirköy | %3.57 | %0 | %96.43 |
| TOTAL | %1.5 | %1.5 | %97 |

n; Hayvan sayısı, (+); pozitif olgu %'si, (-); negatif olgu %'si, (?); şüpheli olgu %'si

4. TARTIŞMA

Paratüberküloz ve neden olduğu verim kayıpları, yanı sıra sağlık açısından potansiyeli bilinmesine rağmen ülkemizde bu hastalığın yaygınlığı üzerine yürütülmüş bilimsel araştırma sayısı sınırlıdır (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 araştırmada yoğun olarak süt sığırları bakım ve beslemesi yapılan Kırklareli yöresinde subklinik paratüberkülozun prevalansı araştırıldı. Serum örneklerinde etken tayini ELISA yöntemiyle gerçekleştirildi. Çalışmamızda, hedef popülasyon olarak iki yaş üstü süt sığırları seçildi. MAP güçlü bir hücre içi patojen olup, makrofaj hücreleri içerisinde uzun süre canlı kalabilir. Enfeksiyonun gelişmesiyle birlikte kandaki antikor seviyesi artar. Enfeksiyonun ilerlemesi uzun zaman aldığından dolayı, iki yaşın altındaki sığırlarda etken teşhisi zordur. Bu sebeple; teşhis için özellikle kan serumunun kullanıldığı prevalans çalışmalarında, iki yaşından küçük hayvanlar tercih edilmez. Yapılan çalışmalar iki yaşından küçük sığırlarda ELISA testinin spesifitesi ve sensitivitesinin düşük olduğunu ortaya koymuştur. İki yaşın altındaki sığırlarda pTB seroprevalansının düşük çıkması bu durumu destekler bir bulgudur (Çetinkaya ve ark., 2000; Diequez ve ark., 2009; Nielsen ve Toft, 2009; Öztürk ve ark., 2010).

Başlıca dışkı ve süt ile yayılım gösteren MAP subklinik dönemde sağlıklı hayvanlara bulaşma eğilimindedir (Moghadam ve ark., 2010). Yanı sıra enfeksiyon doğumdan hemen sonra veya neonatal dönemde de bulaşabilir. Bu dönem buzağların enfeksiyona karşı en duyarlı oldukları zaman dilimidir. Kontamine meme başı, süt ve kolostrum etkenin bulaşmasında rol oynar (Çetinkaya ve ark., 1997; Çetinkaya ve ark., 2000; Yıldırım ve Civelek, 2013). Bu nedenle paratüberkülozun

seroprevalansının subklinik dönemde belirlenmesi sürü yönetimi ve sağlığı açısından son derece önemlidir (Nielsen ve Troft, 2009; Öztürk ve ark., 2010; Yıldırım ve Civelek, 2013).

Orta Anadolu bölgesinde sığırlar üzerinde yapılan bir çalışmada paratüberkülozun seroprevalansı mikro CFT ve tüp CFT yöntemleri ile değerlendirilmiş ve sırasıyla %2.3 ve %2.7 olarak belirlenmiştir (Vural ve Atala, 1988). Aynı bölgede, ELISA yöntemiyle gerçekleştiren diğer bir çalışmada ise paratüberkülozun seroprevalansı %4.6 olarak bulunmuştur (Atala ve Akçay, 2001). Uşak bölgesinde yürütülen bir diğer araştırmada ise dışkıda subklinik paratüberkülozun prevalansı; ZN boyama ile %17, Outher PCR ile %9.5, Nested PCR ile %20 olarak tespit edilmiştir. Süt örneklerinde ise prevalans; ZN boyama ile %15.5, Outher PCR ile %5.5, Nested PCR ile %17.5 olarak rapor edilmiştir (Yıldırım ve Civelek, 2013). Elazığ yöresinde ise seroprevalans süt örneklerinde PCR ile %5 olarak tespit edilmiştir. Bakteriyel kültür yöntemi ise prevalansı %3.4 olarak ortaya koymuştur (Çetinkaya ve ark., 2000). Manisa ve Kars yörelerinde serum örneklerinde ELISA testi ile yapılan taramada subklinik paratüberküloz seroprevalansı sırasıyla %21.72 ve %3.5 olarak rapor edilmiştir (Berberoğlu ve Civelek, 2016; Makav ve Gökçe, 2013). İklim, besleme ve barınak koşulları MAP etkeninin görülme sıklığında etkili olan faktörlerdir. Bu nedenle paratüberküloz varlığı bölgelere göre değişiklik göstermektedir (Çetinkaya ve ark., 1997).

Trakya bölgesinde pTB prevalansı ile ilişkili bugüne kadar yürütülmüş iki farklı araştırma raporuna rastlanmıştır. İkiz ve ark., (2005) iki yaş ve üzeri sığırlardan rastgele örnekleme yöntemi ile seçilmiş 96 dışkı örneğini Outher PCR yöntemi ile taramış ve Trakya bölgesinde paratüberküloz etkenine rastlanmadığını rapor etmişlerdir. Bu araştırmada dışkı örneklerinin Trakya bölgesindeki farklı çiftliklerden toplandığı rapor edilmiş olmakla birlikte kesin coğrafi yer bildirimi (il, ilçe vb.) yapılmamıştır. Özpinar ve ark (2015) ise araştırmalarını Edirne ili Keşan ilçesi köylerinde yürütmüşlerdir. Çalışmada 30 süt işletmesinden iki yaş ve üzeri sığırlarda

270 dışkı örneği ve köylerdeki süt tanklarından 45 süt örneği toplanmıştır. İlgili araştırma sonuçları alınan örneklerde MAP genomuna rastlanmadığını bildirmektedir. Tarafımızca sunulan araştırmada ise Kırklareli Merkez ilçe dâhil olmak üzere sekiz farklı ilçede 23 farklı çiftlikten randomize olarak seçilmiş 400 süt sığırından serum örnekleri toplanmış ve ELISA yöntemi ile subklinik pTB varlığı yönünden analiz edilmiştir. Sunulan çalışma sonuçları; Kırklareli yöresi süt sığırlarında subklinik paratüberkülozun seroprevalansını %1.5 olarak ortaya koymuştur. Yanı sıra; total değerlendirmede altı hayvan şüpheli (%1.5) ve 388 hayvan ise negatif (%97) olarak değerlendirildi.

Yapılan araştırmalarda çiftlik prevalansına yeteri kadar önem verilmediği görülmektedir. Bir işletmede tek bir hayvanda bile etkenin tespit edilmiş olması bulaş riskini oldukça arttırmaktadır. Bu çerçevede Öztürk ve ark. (2010) Burdur yöresinde yaptıkları çalışmada hastalığın çiftlik prevalansını %58 olarak rapor etmişlerdir. Makav ve Gökçe (2013) ise Kars yöresinde yürüttükleri araştırmada çiftlik prevalansını %41.6 olarak ortaya koymuştur. Bu verilere göre bir genelleme yapılırsa, değerlendirilme yapılan işletmelerin yaklaşık yarısında paratüberkülozun görüldüğü söylenebilir. Avrupa ülkelerinde ise bu hastalığın çiftlik yaygınlığı %0 ila 75 arasında değişmektedir (Diequez ve ark., 2009; Nielsen ve Toft, 2009; Pozzato ve ark., 2011). Paratüberkülozun prevalansının artması çiftlikteki hayvan sayısıyla doğru orantılıdır (Nielsen, 2008; Öztürk ve ark., 2010; Pozzato ve ark., 2011). Sunulan araştırmada toplam 23 farklı çiftlikten örnekleme yapılmış olup, 4 çiftlikte bir hayvanda ve bir çiftlikte ise iki hayvanda etken tespit edilmiş olup, sadece pozitif sonuç veren hayvanlar bazında, Kırklareli bölgesi için çiftlik prevalansı %21.74 olarak belirlendi.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan çalışma sonuçları, subklinik paratüberkülozun ülke ekonomisi ve insan sağlığına neden olduğu zararların ortaya konmasına yönelik ulusal düzeyde bir çalışma gerektiğine vurgu yapmaktadır. Yürütülecek bu tarz bir araştırma, ülke genelinde bu hastalığa karşı etkili kontrol stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Bununla birlikte, süt sığırlarında MAP'ın ortaya konmasında birkaç farklı metodun kombinasyonu ile daha değerli veriler elde edilecektir.

Subklinik hasta hayvanların tespiti, hastalığı sağlıklı hayvanlara bulaştırma eğiliminden dolayı önemlidir. Etkenin pastörizasyona karşı direnci ve zoonotik potansiyeli göz önünde bulundurulduğunda (Chiodini ve Her-Taylor, 1993; Grant ve ark., 1996) subklinik paratüberkülozun halk sağlığı açısından önem arz ettiği de söylenebilir.

Trakya aşı tampon bölgesi olması nedeniyle ülkemiz hayvancılığı açısından stratejik bir öneme sahiptir. Türkiye genelinde daha önce rapor edilmiş prevalans araştırmaları ile karşılaştırıldığında, bu çalışmada elde edilen sonuçlar; Kırklareli yöresinde seropozitif hayvan sayısının (%1.5) oldukça düşük olduğunu ortaya koydu. Bununla birlikte; hastalığın yaygınlığının düşük olması paratüberkülozun bu yörede tehdit oluşturduğu gerçeğini değiştirmemektedir.

Hastalıktan ari çıkan ilçelerin korunması ve seropozitif bölgelerin hastalıktan elimine edilmesi adına çalışmaların yapılması insan sağlığı, ülke ekonomisi ve süt sığırcılığının kalitesi açısından önem arz etmektedir.

ÖZET

Paratüberküloz, *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*'in neden olduğu başlıca sığırları etkileyen kronik seyirli, bulaşıcı ve ölümcül bir hastalıktır. Uzun dönem bir subklinik evreye sahiptir. Bu dönemde etken hasta hayvanlar tarafından sağlıklı hayvanlara bulaştırılabilir. Hastalık süt sığırı işletmelerinde önemli ekonomik kayıplara neden olur. Yanı sıra paratüberküloz zoonotik karakterde olup, insanlarda gözlenen Crohn's hastalığının temelinde rol oynadığı bildirilmektedir. Türkiye de hastalığın varlığı uzun yıllardır bilinmektedir. Farklı yörelerde paratüberkülozun yaygınlığının ortaya konması amacıyla araştırmalar yapılmıştır. Bununla birlikte, bildiğimiz kadarıyla, Kırklareli yöresini kapsayan gerçekleştirilmiş bir prevalans çalışması ise bulunmamaktadır. Sunulan çalışmada süt sığırı yetiştiriciliği açısından önem arz eden Kırklareli yöresinde subklinik paratüberküloz prevalansının belirlenmesi hedeflendi. Etken tespiti serum örneklerinde ELISA yöntemiyle yapıldı. Çalışma materyalini optimal süt verimine ve canlı ağırlığa sahip, klinik olarak sağlıklı, yaşları 3-4 arasında değişen, 400 multiparoz Holştayn süt sığırı oluşturdu. Çalışma kapsamında, Kırklareli merkez dahil olmak üzere, sekiz farklı ilçede toplam 23 işletmeden randomize örnekleme gerçekleştirildi. Sunulan araştırma sonucunda, Kırklareli yöresi süt sığırlarında subklinik paratüberküloz seroprevalansı %1.5 pozitif, %1.5 şüpheli ve %97 negatif olarak tespit edildi.

SUMMARY

Paratuberculosis is a contagious, chronic and deadly disease affecting the primary cattle produced by *Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis*. It has a long-term subclinical phase. In this period, the disease can be transmitted to healthy animals by the patients. It raises important economical losses in dairy cattle farms. It is also reported that paratuberculosis is zoonotic and plays a key role in Crohn's disease observed in humans. The condition of the disease in Turkey has been known for many years. Researchs have been conducted in order to determine the prevalence of paratuberculosis in different regions. However, as far as we know, there is no actual prevalence study covering the Kırklareli region. Purpose of this study was to define the prevalence of subclinical paratuberculosis in Kırklareli region which is important in terms of milk cattle breeding. Agent detection was done by ELISA in serum samples. The research animal material consisted of 400 multiparous Holstein dairy cattle with optimal milk yield and live weight, clinically healthy, aged 3-4 years. Within the scope of the study, a total of 23 farms were randomly sampled in eight different districts, including the Kırklareli center. As a result of the present study, the seroprevalence of subclinical paratuberculosis was 1.5% positive, 1.5% suspected and 97% negative in Kırklareli region in dairy cattle.

KAYNAKLAR

- ALİBAŞOĞLU, M., DEMİRER, F., YÜCEL, N. (1969). Paratüberkülozda Alerjik Reaksiyonların Patolojik Bulgularla Uygunluk Derecesi Üzerine Araştırma. A.Ü. Vet. Fak. Derg, 16: 236-256.
- ALİBAŞOĞLU, M., ERTÜRK, E., YÜCEL, N. (1973). Türkiye’de Rastlanan İlk Keçi Paratüberküloz Olayları Üzerinde Patolojik İncelemeler. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 20: 43-63.
- ANDREWS, A.H. (1992). Bovine Medicine: Blackwell Scientific Publication London.
- ANON, (2000). Possible links between Crohn’s disease and Paratuberculosis. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare, European Commission, 76 pp.
- ATALA, N., AKCAY, E. (2001). Türkiye genelinde sığır paratüberkülozu prevalansının ELISA ile araştırılması, *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 12: 39-48.
- BANG, B., (1906). Chronische pseudotuberculöse 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.
- BERBEROĞLU, M., CİVELEK, T. (2016). Seroprevalence of Subclinical Paratuberculosis in Dairy Cattle in Manisa Region of Turkey. *Kocatepe Vet J*, 9(3):194-196.
- 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*. 128.

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.

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.

CİVELEK, 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 Vet Med Assoc*, 204: 636-41.

COLLINS, M.T., WELLS, S.J., PETRINI, K.R. (2005). Evaluation of five antibody detection tests for diagnosis of bovine paratuberculosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 12: 685-92.

ÇETINKAYA, B., ERDOĞAN, 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., 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.

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.

ÇİFTÇİ, M.K. ve HATİPOĞLU, F. (1991): Dört olguda gözlenen koyun paratüberkülozu olayları üzerine patolojik incelemeler. *Veterinarium*, 2: 32-36.

- 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.
- EL-ZAATARİA, F.A.K., OSATOB, M.S., GRAHAM, D.Y. (2001). Etiology of Crohn's disease: the role of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Trends in Molecular Medicine*, 7: 247-252.
- FLOROU, M., LEONTİDES, L., BILLINIS, C.(2005). Isolation of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from non -ruminant wildlife in Greece. In: 8th International Colloquium on Paratuberculosis. Copenhagen, Denmark. 134.
- GRANT, I.R., BALL, H.J., NEĞLL, S.D., ROWE, M.T.(1996). Inactivation of *Mycobacterium paratuberculosis* in cows milk at pasteurization 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.
- HAKİOĞLU, F. (1968). Bir Koyunda Tespit Edilen Paratüberküloz Vakası. *Pen. Vet. Kont. Arş. Ens. Derg.*, 1: 144-145.
- HASANOVA, L., PAVLIK, L. (2006). Economic impact of paratuberculosis in dairy cattle herds. *A review, Vet. Med.-Czech*. 51: 193-211.
- 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., BAĞCIGİL, A.F., AK, S., ÖZGÜR, N.Y., LOAZ, A. (2005). Paratuberculosis in cattle in Turkey detected by PCR. *Medycyna Wet.*, 61: 881-883.
- JAKOBSEN, M.B., ALBAN, L., NIELSEN, S.S. (2000). A cross-sectional study of paratuberculosis in 1155 Danish 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, K.V.F., KENNEDY, P.C. and PALMER, N. (1985): Pathology of Domestic Animals. Third Edit, Vol. 2, Academic Press. Inc., Orlando, Florida.
- 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.
- KHOL, J.L., DAMOSER, J., BAUMGARTNER, W. (2005). Hygienemaßnahmen zur Bekämpfung der Ausbreitung von Paratuberkulose in Rinderbetrieben. *Klauentierpraxis*, 13: 137-8.
- 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., GÖKÇE, E. (2013). Kars Yöresi Sığırlarında Subklinik Paratüberkülozun Seroprevalansı. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 19(5): 913-916.

- MECİTOĞLU, Z., DEMİR, G. (2012). Sığırlarda paratüberkülozun tanısına ilişkin problemler. *J Fac Vet Med*, 1: 19-23.
- MERKAL, R.S., WHIPPLE, D.L., SACKS, J. and SNYDER, G.R. (1987). Prevalence of *Mycobacterium paratuberculosis* in ileocecal lymph nodes of cattle culled in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190: 676-680.
- 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 Avances*, 9(24):3055-3061.
- MURRAY, A., MORIARTY, K.M., SCOTT, D.B. (1989). A cloned DNA probe for the detection of *Mycobacterium paratuberculosis*. *N.Z. Vet. J.*, 37: 47-50.
- 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 recominant 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. A (2009). Reivew of prevalence 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.

- 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.
- ÖZPINAR, H., TEKİNER, İ.H., KARAMAN, O. ve KURT, Y. (2015). Investigation of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis (MAP) in Fecal and Bulk Milk Samples from Dairy Farms in Thrace Region of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 21(2): 247-252.
- 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.
- 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.
- SEZGİNER, R.I. (1928). Sığırların Paratüberkülozu. *Ehli Hayvanlarda İntani Hastalıklar*, 11: 252-259.
- SHARMA G, SINGH SV, SEVILLA I, SINGH AV, WHITTINGTON RJ, JUSTE RA, KUMAR S, GUPTA VK, SINGH PK, SOHAL JS, VIHAN VS (2008). Evaluation of

- indigenous milk ELISA with m-culture and m-PCR for the diagnosis of bovine Johne's Disease (BJD) in lactating Indian dairy cattle. *Res Vet Sci*, 84: 30-37.
- SIVAKUMAR, P., TRIPATHI, B.N., SINGH, N. (2005). Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in intestinal and lymph node tissues of water buffaloes (*Bubalis bubalo*) by PCR and bacterial culture. *Vet Microbiol*, 108: 263-70.
- SMITH, S., BRADFORD, P. (2001). *Johne's Disease* In: *Large Animal Internal Medicine* 3rd Ed, pp 779-782, London.
- STRICKLANDS, J., SCOTT, H.M., Mc JORDAN, 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.
- TAYLOR, L.H., BARES, N., CLARKE, C. et al. (1998). *Mycobacterium paratuberculosis* cervical lymphadenitis, followed five years later by terminal ileitis similar to Crohn's disease. *British Medical Journal*, 316: 449-453.
- VAN DER GIESSEN, J.W.B., EGER, A., HAAGSMA, J., HARING, R.M., GAASTRA, W., VAN DER ZEIJST, B.A.M. (1992). Amplification of 16S rRNA sequences to detect *Mycobacterium paratuberculosis*. *J.M. Microbiol.*, 36: 255-263.
- VAN LEEUWEN, J.A., KEEFE, G.P., TREMBLAY, R. (2001). Seroprevalence of infection with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, bovine leukemia virus and bovine viral diarrhea 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. Microbiol Derg*, 6: 87-97.
- WHITLOCK, R. (1996). *Johne's disease*. In: Smith BP, ed. *Large animal internal medicine*. 2nd ed. St. Louis: Mosby. 899-904. WHITLOCK, R.H., SWEENEY

- WHITLOCK, R.H., SWEENEY, R.W., FYOCK, T.L. (2005). MAP Super shedders: another factor in the control of Johne's disease. *In: 8th International Colloquium on Paratuberculosis. Copenhagen, Denmark.* 42.
- WILLIAMS, E.S., SNYDER, S.P. and MARTIN, K.L. (1983). Pathology of Spontaneous and Experimental Infection of Northn American Wild Ruminants with Mycobacterium Paratuberculosis. *Vet. Path.*, 20:274-291.
- WILLIAMS, E.S., SPRAKER, T.R., SCHOONVELD, G.G. (1979): Paratuberculosis (Johne's Disease) in Bighom Sheep and Rocky Mountain Goat in Colorado. *J. Wildl. Dis.*, 15: 221-227.
- YILDIRIM, D., CİVELEK, T. (2013). Prevalence of subclinical paratuberculosis in dairy cattle in Uşak Region. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19(1): 121-126.