

Kars Yöresindeki Sığırlarda *Anaplasma marginale* Seroprevalansı ^[1]

Gürbüz GÖKÇE *  Ali Haydar KIRMIZIGÜL * Yakup YILDIRIM ** Ekin Emre ERKİLİÇ *

[1] Bu makale Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı tarafınca desteklenen 2011-VF-04 kodlu projeden hazırlanmıştır

* Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, TR-36100 Kars - TÜRKİYE

** Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, TR-36100 Kars - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2013-8748

Özet

Bu çalışma Türkiye'nin Kars yöresindeki sığırlarda *Anaplasma marginale* seroprevalansının araştırılması amacıyla yapıldı. Bu amaçla Kars yöresindeki 5 farklı odaktan 188 sığırdan kan serumu örnekleri alındı. *Anaplasma marginale*'ye karşı oluşan antikorların saptanması için ticari Kompetitive-ELISA (C-ELISA) testi kullanıldı. C-ELISA sonuçları serum örneklerinin %52.1'inde *Anaplasma marginale*'ye karşı pozitif antikor bulunduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları Türkiye'nin Kars yöresindeki sığırlarda *Anaplasma marginale* enfeksiyonunun yaygın olduğunu göstermektedir.

Anahtar sözcükler: *Anaplasma marginale*, Sığır, Seroprevalans, Kars, Türkiye

Seroprevalance of *Anaplasma marginale* in Cattle in Kars Region

Summary

This study was conducted to investigate the seroprevalance of *Anaplasma marginale* in cattle in Kars region of Turkey. For this purpose, blood serum samples were collected from 188 cattle from 5 different districts of Kars region. A commercially available Competitive enzyme-linked immunosorbent assay (C-ELISA) were used for determine antibodies to *Anaplasma marginale*. The C-ELISA results showed that 52.1% of serum samples were positive for antibodies to *Anaplasma marginale*. The results of this study show that *Anaplasma marginale* infection in cattle is common in Kars region of Turkey.

Keywords: *Anaplasma marginale*, Cattle, Seroprevalance, Kars, Turkey

GİRİŞ

Sığırlarda anaplazmozis, intraeritrositik riketsiyal bir etken olan *Anaplasma marginale* tarafından oluşturulan ve başlıca anemi ile seyreden enfeksiyöz bir hastalıktır. Anaplazmozis sığırlarda şiddetli anemi, verim kaybı, abort ve mortaliteye yol açtığından dünyanın birçok yerinde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. *Anaplasma marginale*, sığırlardan başka koyun, keçi ve yabani ruminantlarda da intraeritrositik enfeksiyona yol açmaktadır ^{1,2}. Hastalık etkeni, mekanik olarak sivrisinekler, kontamine iğne veya cerrahi malzemelerle bulaşır. Etken biyolojik olarak da kenelerle nakledilir ². *A. marginale* transplasental yolla da bulaşmaktadır ^{3,4}. Biyolojik nakilde çeşitli kene türleri görev yapmaktadır. Bunlar: *Argas persicus*, *Ornithodoros lahorensis*, *Boophilus annulatus*, *B. calcaratus*,

B. decoloratus, *B. microplus*, *Dermacentor albipictus*, *D. andersoni*, *D. occidentalis*, *D. variabilis*, *Hyalomma excavatum*, *H. rufipes*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus bursa*, *R. sanguineus*, *R. evertsi*, *R. sanguineus*, *R. simus*'dir ^{5,6}. Arslan ve ark.⁷, bu kene türlerinden bazılarının Kars yöresinde de bulunduğunu saptamışlardır.

Anaplazmozis özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde olmak üzere, dünyanın değişik bölgelerindeki sığırlarda hastalık yapmaktadır ⁸. Avrupa'da ise Akdeniz çevresindeki ülkelerde yaygındır ^{9,10}. Sığır anaplazmozisi Asya ve Afrika'da endemiktir ^{2,11}. Ülkemizde de anaplazmozisin bulunduğu dair çalışmalar mevcuttur ¹²⁻¹⁴. Ancak Kars yöresinde sığır anaplazmozisi ile ilgili bir çalışmaya rastlayamadık.



İletişim (Correspondence)



+90 474 2426801/5238



dr-gkce@hotmail.com

Anaplazma etkenleri eritrositler içinde 0.3-1 µm çapında noktalar şeklinde görülen mikroorganizmalardır. Hastalığın şiddetine göre bir eritrosit içinde 6-7 etken bulunabilir¹⁵. Enfektif doza göre değişmek üzere, hastalığın inkubasyon periyodu 21-45 gün arasında değişir¹⁶. Etkenler eritrositler içerisinde çoğalır, ekstrasvasküler hemolizis ve bundan dolayı ilerleyici bir anemiye neden olurlar¹⁷.

Klinik anaplazmozis genellikle 1 yaşından büyük sığırlarda görülür¹⁸. Hastalık perakut, akut ve subklinik formlarda seyredir. Perakut anaplazmozisde klinik semptomlar birkaç saat içinde oluşur ve ölüme sonuçlanır. Perakut seyir genellikle yüksek süt verimli ineklerde görülür^{2,15}. Anaplazmoziste ilk semptom yüksek ateştir. Bu durum eritrositlerin %1'inden azının enfekte olmasından önce başlar. Parazitemi dönemi boyunca ateş 40°C'nin üzerindedir. Ateş ölümden önce normalin altına düşer. Hastalıkta güçsüzlük, zayıflama ve ikterus, süt veriminde azalma, kalp ve solunum frekansında artış ve depresyon oluşur. Hastalığın ilerlemesiyle gastrointestinal atoni, ruminal stazis, konstipasyon ve dehidrasyon gelişir^{2,3}. Hastalık sığırlarda serebral hipoksiye bağlı nörolojik yetersizlikler, dişilerde abort ve infertilite bozukluklarına neden olabilir^{2,15,16}. Hayvanlar yıllarca klinik semptom göstermeden etkeni taşıyabilirler³.

Akut dönemde hastalığın tanısı mikroskopik olarak etkenlerin eritrositlerde görülmesiyle konulabilir. Bu safhadaki laboratuvar değerlerine bakıldığında ciddi hemolitik anemi bulgularını yansıtan hematokrit, eritrosit ve hemoglobin düşüklüğü saptanır^{3,15}. Hastalıkta klinik tanı anamnez, semptomlar, hematolojik analizler, kan frotisi muayeneleri ve nekropsi bulguları ile gerçekleştirilir. Fakat subklinik olgularda her zaman mikroskopik yöntemle tanı konulamaz. Bu nedenle kronik olgularda çeşitli seroloji yöntemleriyle tanı gerçekleştirilir^{2,19}. Ayrıca tanı için moleküler diagnostik yöntemlerle de kullanılmaktadır^{2,20}. Son yıllarda kullanılmaya başlanan kompetitif ELISA yöntemiyle daha güvenilir teşhis konulmaktadır^{19,20}.

Bu çalışmanın amacı Kars ve ilçelerindeki sığırlarda *A. marginale*'ye karşı oluşan antikorların varlığını araştırmaktır. Anaplazmozis, dünyanın birçok bölgesindeki sığırcılıkta büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle yüksek sığırcılık potansiyelinin olduğu Kars bölgesindeki anaplazmozis varlığının araştırılması bilimsel ve ekonomik anlamda önem taşımaktadır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma Alanı

Bu çalışma Kars merkez, Arpaçay, Sarıkamış, Akyaka ve Kağızman ilçelerinden sağlanan sığır kan materyali ile yapıldı. Kars Türkiye'nin kuzeydoğusunda 43:05 E enlem ve 40:36 N boylamları arasında yer alır. Kars'ta rakım 1750 m'dir. Kağızman ortalama rakım 1078 m, Akyaka 1490 m,

Arpaçay 1920 m, Sarıkamış 1668 m'dir. Kars ilinde yaz ayları sıcaklık ortalaması 15.9-19.3°C arasında değişmektedir.

Çalışma Materyali

Çalışmanın hayvan materyalini 1-6 yaşta, farklı ırk ve cinsiyette 188 baş sığır oluşturdu. Bu sığırların 160'ı her odaktan 40'ar olmak üzere Kars merkez, Akyaka, Kağızman ve Sarıkamış'tan, 28'i ise Arpaçay ilçesinden sağlandı. Sığırların vena jugularis'lerinden 10 ml kan örneği alındı. Alınan bu kan örnekleri 3.000 devirde 10 dak. santrifüj edildikten sonra serumları ayrılarak analiz gününe kadar -20°C'de saklandı.

Competitive- ELISA Testi

Çalışma için ticari kompetitif ELISA (C-ELISA) kiti kullanıldı. C-ELISA testi, üretici firmanın test prosedürüne göre yapıldı (Anaplasma antibody test kit, C-ELISA, catalog number: 282-2VMRD-USA).

ELISA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Test sonucu, spektrofotometrik olarak 650 nm filtre absorbanslarında okunmak suretiyle belirlendi. Bu aşamada negatif kontrol optik dansite (OD) 0.40-2.10 aralığında alındı. Pozitif kontrol ve örneklerin değerlendirilmesinde test prosedüründe belirtilen hesaplama yöntemi kullanıldı. Pozitif kontrol hesaplamalar sonucunda %30'a eşit ve büyük olarak kabul edildi. Örneklerin değerlendirilmesi ise test prosedüründe belirtilen yöntemle hesaplandı ve %30'dan küçük olanlar negatif, bu değerden büyük veya eşit olanlar ise pozitif olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analizler

Bölgeler arası farklılıkların istatistiksel analizi Ki-Kare (X²) testi kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Bu çalışmada Kars ve 5 ilçesinden alınan 188 baş sığır serumu *Anaplasma marginale* antikorları yönünden araştırıldı. Toplam olarak bu serumların %52.1'inde (98/188) antikor pozitif bulundu. Akyaka'daki sığırların %52.5'i (21/40), Kars merkezdeki sığırların %50'si (20/40), Kağızman'daki sığırların %57.5'i (23/40), Sarıkamış'taki sığırların %52.5'i (21/40) ve Arpaçay'daki sığırların %46.4'ünde (13/28) antikor pozitif bulundu (Tablo 1).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada Kars merkez ve bazı ilçelerindeki sığırlarda *A. marginale*'ye karşı oluşan antikorların varlığı araştırıldı. Bu çalışmada *A. marginale* enfeksiyonlarının tanısı için C-ELISA testi kullanıldı. Persistent enfeksiyonlarda, kan froti-lerinde enfekte eritrositlerde hastalık etkeni her zaman saptanamadığından, tanı genellikle çeşitli serolojik

Tablo1. Anaplazma marginale antikorları yönünden pozitif hayvanların bölgelere göre dağılımı**Table1.** Regional distribution of frequency of animals positive for anti-Anaplasma marginale antibodies

Bölgeler	Hayvan Sayısı	Pozitif Hayvan Sayısı (%)
Akyaka	40	21 (%52.5)
Merkez	40	20 (%50.0)
Kağızman	40	23 (%57.5)
Sarıkamış	40	21 (%52.5)
Arpaçay	28	13 (%46.4)
Total	188	98 (%52.1)

Bölgeler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ($\chi^2: 0.904; P>0.05$)

testlerle yapılmaktadır^{5,12}. Bu testlerin içinde C-ELISA'nın yüksek bir sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu ortaya konmuştur^{19,22}.

Birdane ve ark.¹² çalışmaları 357 hayvanın 147'sinde eritrositlerin içinde anaplazma etkeni bulamadıklarını, fakat bu hayvanların *A. marginale* antikorları yönünde C-ELISA ile pozitif olduklarını, C-ELISA'nın akut ve kronik anaplazmosisin tanısında etkili bir test olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışmanın sonuçları Kars ve ilçelerindeki sığırların yüksek oranda *A. marginale* ile karşılaşmış olduklarını göstermektedir. Total olarak Kars ve ilçelerindeki sığırlarda *A. marginale* antikorlarının varlığı %52.1 olarak bulundu. Merkez ve ilçeler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamasına karşın, en yüksek oran %57.5 ile Kağızman ilçesinde, en düşük oran %46.4 ile Arpaçay ilçesinde saptandı. Bölgeler arası oransal farklılığın nedeni agroekolojik özellikler, toprağın özellikleri ve iklim koşullarından kaynaklanmaktadır¹¹. Nitekim Kağızman bölgesi Kars'ın en sıcak ilçesidir. Bölgenin rakımı ortalama Kars rakımından daha düşüktür. Dolayısıyla kene ve sinek aktivitesinin daha yüksek olduğu söylenebilir. Ancak bu konuda kesin bir sonucun ortaya konulması için Kağızman yöresinde daha çok sayıda hayvan üzerinde moleküler ve serolojik araştırmaya, akut klinik olguların araştırılmasına, froti incelemelerine ve kene türleriyle diğer bulaşma yollarının araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Birdane ve ark.'nın¹² İç Ege bölgesindeki sığırlarda yaptıkları bir çalışmada; *A. marginale* seroprevalansı 3-4 yaşlı sığırlarda %58.21; >4 yaşlı sığırlarda %82.07 olarak bulunmuştur. Yaptığımız bu çalışmada ise Kars yöresindeki 1-6 yaşlı sığırların %52.1'inde *A. marginale* seropozitif olarak bulundu. Bu sonuçlara bakıldığında İç Ege deki oranın Kars bölgesinde yüksek olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu durum bölgesel iklim ve kene türleri farklılıklarından kaynaklanabilir. Bu çalışmada kan örneği alınan sığırların hiçbirinde klinik anaplazmosis bulguları saptanmasına karşın, yüksek oranda *A. marginale* seropozitifliği saptandı. Bu sonuç sığırların kronik olarak enfekte veya taşıyıcı olduklarını göstermektedir⁶.

Çalışmamızda Kars ve çevresindeki ilçelerde 1-6 yaşlı

sığırlarda *A. marginale* enfeksiyonunun yüksek bir yaygınlık gösterdiği ve bölge için önemli bir sorun olduğu ortaya konulmuştur. Çiftlik sahipleriyle yaptığımız görüşmelerde kenelerle yeterli ve düzenli bir mücadelenin yapılmadığını saptadık. Yetersiz insektisit kullanımının bu yüksek oranda etkili olduğu söylenebilir. Ayrıca diğer hastalıklara karşı yapılan aşılamalar sırasında birçok hayvanda aynı enjektörün kullanımının da bulaşmada etkili olduğu bilinmektedir²¹. Bölgedeki seroprevalans yüksekliğinde bu uygulamaların da rolünün olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca bölgede mera hayvancılığının yaygın olması nedeniyle yabani ruminatlarında hastalığın yayılmasında önemli olabileceğini düşünmekteyiz¹.

Sorunun çözümü için özellikle meraya çıkış döneminde yeterli kene ve sinek mücadelesinin yapılması, aşılama ve diğer uygulamalar sırasında bir hayvanda kullanılan enjektörün diğer hayvanlarda kullanılmaması yönünde duyarlı davranılması ve gerekli hijyen kurallarına önem verilmesi gerekmektedir. Ayrıca anaplazmozise karşı aşılama çalışmalarının yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak bu araştırma, Kars yöresindeki sığırlarda *A. marginale* seroprevalansını ortaya koyan bir ön çalışma niteliğindedir. Bölgedeki bu hastalığı gerçek boyutunun tam olarak ortaya konulması için daha kapsamlı epidemiyolojik, moleküler ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca bölgede ciddi ekonomik kayıplara neden olan, tüm nedenleri ortaya konulamayan sığırlardaki abortların etiolojisinde *A. marginale*'nin de göz önünde bulundurulmasını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Kuttler KL:** Anaplasma infections in wild and domestic ruminants: A review. *J Wildlife Dis*, 20, 12-20, 1984.
- Kocan KM, Fuente J, Blouin EF, Coetzee:** The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet Parasitol*, 167, 95-107, 2010.
- Bundza A, Samagh BS:** Acute Anaplasmosis in imported cattle. *Can Vet J*, 23, 337-339, 1982.
- Potgieter FT, Van Rensburg LJ:** The persistence of colostral *Anaplasma* antibodies and incidence of in utero transmission of *Anaplasma* infections in calves under laboratory conditions. *Onderstepoort J Vet Res*, 54, 557-560, 1987.
- OIE:** Bovine anaplasmosis, OIE terrestrial manual, p1-12,2012.http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.01_bovine_anaplasmosis.pdf, Accessed: 23.01.2013.
- Kocan KM, Blouin EF, Barbet AF:** Anaplasmosis: Control, past, present, and future. *Ann N Y Acad Sci*, 916, 501-509, 2000.
- Arslan MÖ, Umur Ş, Aydın L:** Kars yöresi sığırlarında Ixodidae türlerinin yaygınlığı. *Türkiye Parazitoloj Derg* 23, 331-335, 1999.
- Rodgers SJ, Welsh RD, Stebbins ME:** Seroprevalance of bovine anaplasmosis in Oklahoma from 1977 to 1991. *J Vet Invest*, 6, 200-206, 1994.
- de la Fuente J, Lutz H, Meli ML, Hofman-Lehmann R, Shkap V, Molad T, Mangold AJ, Almazan C, Naranjo V, Gortazar C, Torina A, Karacappa S, Garcia-Perez AL, Barral M, Oporto B, Ceci L, Carelli G, Blouin EF, Kocan KM:** Genetic diversity of *Anaplasma* species major surface proteins and implications for anaplasmosis serodiagnosis and vaccine development. *Anim Health Res Rev*, 6, 75-89, 2005.
- Cringoli G, Otranto D, Testini G, Buono V, Di Giulio G, Traversa D,**

- Lia R, Rinaldi L, Veneziano V, Puccini V:** Epidemiology of bovine tick-borne diseases in southern Italy. *Vet Res*, 33, 421-426, 2002.
- 11. Tembue AA, Silva JB, Silva FJM, Pires MS, Baldani CD, Soares CO, Massard CL, Fonseca AH:** Seroprevalance of IgG antibodies against *Anaplasma marginale* in cattle from South Mozambique. *Rev Bras Vet Jaboticabal*, 20 (4): 318-324, 2001.
- 12. Birdane FM, Sevinç F, Derinbay Ö:** *Anaplasma marginale* infections in dairy cattle: Clinical disease with high seroprevalence. *Bull Vet Inst Pulawy*, 50, 467-470, 2006.
- 13. Çakmak A:** Ankara yöresinde bir sığır sürüsünde hemoparazitlerin insidensinin araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 37, 633-645, 1990.
- 14. Göksu K:** Yurdumuzun çeşitli bölgelerinde sığırlarda Piroplasmida enfeksiyonları (Piroplasmosis, Babesiosis, Theileriosis) ve Anaplasmosis'in yayılış durumları. *Türk Vet Hek Dern Derg*, 40, 29-39, 1970.
- 15. Sevinç F:** Sığırlarda Anaplasmosis. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 1, 113-118, 2004.
- 16. Lincoln SD:** Infectious causes of hemolytic anemia: Anaplasmosis, In, Smith BP (Ed): Large Animal Internal Medicine (Diseases of Horses, Cattle, Sheep and Goats). 2nd ed., pp. 1214-1217, Mosby-Year Book, Baltimore, 1996.
- 17. Gale KR, Mimmock CM, Gartside M, Leatch G:** *Anaplasma marginale*: Detection of carrier cattle by PCR-ELI. *Int J Parasitol*, 26, 1103-1109, 1996.
- 18. Jones EW Brock WE:** Bovine anaplasmosis: Its diagnosis, treatment, and control. *JAVMA*, 149, 1624-1633, 1966.
- 19. Ekici ÖD, Sevinc F:** Comparison of cELISA and IFA tests in the serodiagnosis of anaplasmosis in cattle. *African J Microbiol Res*, 5, 1188-1191, 2011.
- 20. Shebish E, Vemulapalli R, Oseto C:** Prevalance and molecular detection of *Anaplasma marginale* and *Babesia bigemina* in cattle from Puntarenas Province, Costa Rica. *Vet Parasitol*, 188, 164-167, 2012.
- 21. Barros SL, Madruga CR, Araujo FR, Menk CF, O de Almedia MA, Melo EPS, Kessler RH:** Serological survey of babesia bovis, babesia bigemina, and *Anaplasma marginale* antibodies in cattle from semi-arid region of state of Bahia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Jenerio*, 100 (6): 513-517, 2005.
- 22. Torioni De Echaide S, Knowles DP, McGuire TC, Palmer GH, Suarez CE-McElwain TF:** Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in aregion of endemicity by nested PCR and a competitive enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant major surface protein 5. *J Clin Microbiol*, 36, 777-782, 1998.