

## **Kars Yöresinde Atık Yapan Koyunların Kan Serumlarında *Chlamydia psittaci*'ye Karşı Oluşan Antikorların Komplement Fiksasyon (CF) ve Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Testleri İle Saptanması<sup>1</sup>**

Ethem BAZ\*

Fuat AYDIN\*\*

<sup>1</sup> Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

\* Erciyes Üniversitesi, Safiye Çıkrıkçıoğlu MYO, Kayseri, TÜRKİYE

\*\* Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, TÜRKİYE

Yayın Kodu: 2006/22-A

### **Özet**

Bu çalışmada, Kars yöresinde atık yapan 273 adet koyuna ait kan serumu, *Chlamydia psittaci*'ye karşı oluşan antikor varlığının saptanması amacıyla serolojik kontrole tabi tutuldu. Bu amaçla CFT ve ELISA yöntemlerinden yararlanıldı ve her iki testin duyarlılıkları karşılaştırıldı.

Çalışmada atık yapan 273 adet koyuna ait kan serumunun CFT ile 52'si (%19.05), ELISA ile de 49'u (%17.95) pozitif olarak değerlendirildi. CFT, ELISA yöntemine göre daha duyarlı bulunurken, ELISA yönteminin de alternatif bir test olarak kullanılabilmesi ancak standart bir ELISA yönteminin geliştirilmesinin gerektiği, Kars yöresinde koyunlarda görülen atık olaylarında *C. psittaci*'nin yol açtığı Koyunların Enzootik Abortusu'nun ihmal edilmemesi, kontrol ve eradikasyon çalışmalarına biran önce başlanması gerektiği sonucuna varıldı.

**Anahtar sözcükler:** *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*), serolojik tanı, CFT, ELISA, koyun, yavru atma.

### **The Detection of Antibodies Against *Chlamydia psittaci* Using Complement Fixation Test (CFT) and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) in Aborted Sheep in Kars District**

### **Summary**

In this study, serum samples from 273 sheep that aborted were subjected to serological control to determine the presence of antibodies against *Chlamydia psittaci* in Kars district. To this end a CFT and ELISA were employed and the sensitivity of both assays was compared.

In the study, sera from 273 sheep that aborted showed seropositivity in 52 samples (19.05%) in the CFT and in 49 samples (17.95%) in the ELISA. The CFT appeared to be more sensitive than the ELISA, whereas it was concluded that the ELISA could be used as an alternative test but a standart ELISA should be improved, Enzootic Abortion Ewes (EAE) in Kars district should not be ignored and immediately investigations in control and eradication of the disease, should be launched.

**Keywords:** *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*), serological diagnosis, CFT, ELISA, sheep, abortion.

---

### **İletişim (Correspondence)**

Phone: +90 352 4375277

e-mail: etembaz@erciyes.edu.tr

## GİRİŞ

Ülkemiz, koyun yetiştiriciliğinde sayısal olarak önemli bir popülasyona sahip olmakla beraber bu sektörde önemli sorunlar yaşanmaktadır. Koyun yetiştiriciliğini olumsuz etkileyen faktörlerden biri de değişik nedenlerden ileri gelen yavru atma (aborts) vakalarıdır<sup>1,2</sup>. Yavru atmayla seyreden bakteriyel infeksiyonlardan biri olan Koyunların Enzootik Abortusu, *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*)'nin neden olduğu, başta Avrupa ülkeleri olmak üzere dünyanın birçok ülkesinde gözlenen ve koyunlarda ekonomik kayıplara yol açan bir zoonozdur<sup>3,4</sup>. Gebe koyunlarda klamidyalardan ileri gelen abort oranı, ülkeden ülkeye değişmektedir. Genellikle %5-10 düzeyinde seyreden abort oranı, bazı sürülerde %30-45'e kadar yükselmektedir<sup>5-7</sup>.

Koyunların Enzootik Abortusu'nun direkt teşhisinde, plasenta ve fetal membranın makroskopik muayenesinden sonra laboratuvar yoklamaları için materyal olarak yavru atan hayvanlardan nekrotik ve ödematöz plasenta, kotiledon, korionik membran, amniotik sıvılar ve vajinal sıvıplar, atıklardan ise akciğer, bağırsak, dalak, karaciğer, kalp ve mide içeriği alınmaktadır<sup>3,5,8</sup>. Yöntemine uygun olarak hazırlanan boyalı preparatlarda kırmızı renkte klamidyal elementer cisimciklerin görülmesi ile teşhis mümkündür<sup>9</sup>. Klamidyaların izolasyonunda en yaygın olarak kullanılan ortamların embriyolu tavuk yumurtası, hücre kültürü ve deneme hayvanları olduğu bildirilmiştir<sup>10-13</sup>.

Klamidyaların neden olduğu infeksiyonların indirekt tanısı ve klamidyaların identifikasyonu amacıyla çeşitli serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır<sup>14-16</sup>. Uzun yıllardan beri *C. psittaci*'ye karşı oluşan antikorları ortaya koymada daha çok Komplement Fiksasyon Testi (CFT) kullanılmaktadır<sup>1,17,18</sup>. Bunun yanında grup spesifik antikorların teşhisinde Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)'ın CFT'den daha hızlı ve duyarlı bir test olduğu bildirilmiştir<sup>19-21</sup>.

Bu çalışmada koyun yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Kars yöresinde, atık yapan koyunlardan alınan kan serumlarında, CFT ve ELISA ile *C. psittaci*'ye karşı oluşan antikor varlığının araştırılması ve hastalığın teşhisinde her iki testin değerlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

**Kan Serumları:** Bu çalışmada Kars Bölgesinde

halk elindeki atık yapmış 273 adet koyuna ait kan örneği laboratuvara getirildi, serumları ayrıldı ve serumlar test edilinceye kadar -20°C'de saklandı. Kan serumlarının alındığı yerler ve sayıları Tablo 1'de verildi.

**Tablo 1.** Kan serumlarının alındığı yerler ve sayıları.

**Table 1.** The numbers and places of the serum samples collected.

| İLÇE          | KÖY        | ADET       |
|---------------|------------|------------|
| Arpaçay       | Tomarlı    | 10         |
| Arpaçay       | Bardaklı   | 9          |
| Arpaçay       | Hasançavuş | 10         |
| Arpaçay       | Kıraç      | 8          |
| Arpaçay       | Aslanoğlu  | 13         |
| Arpaçay       | Taşdere    | 12         |
| Arpaçay       | Carcı      | 9          |
| Arpaçay       | Koçköy     | 26         |
| Arpaçay       | Tepeköy    | 8          |
| Selim         | Kaynarlı   | 10         |
| Merkez        | --         | 17         |
| Merkez        | Halefoğlu  | 10         |
| Merkez        | Subatan    | 12         |
| Merkez        | Başkaya    | 12         |
| Susuz         | --         | 9          |
| Susuz         | Yaylacık   | 12         |
| Susuz         | Ağzıaçık   | 5          |
| Diğor         | Hisarönü   | 70         |
| Diğor         | Türkneşin  | 11         |
| <b>TOPLAM</b> |            | <b>273</b> |

**Standart Suş:** CFT antijeni hazırlamak için Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan *C. psittaci* S 26/3 suşu kullanıldı.

**Komplement Fiksasyon Testi Antijeni:** Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan *C. psittaci* S 26/3 suşu ile infekte edilen embriyolu tavuk yumurtalarının sarı keselerinden hazırlanan süspansiyon antijen olarak kullanıldı.

**Hemolizin:** Çalışmada Behring-Werke (Almanya) firmasından sağlanan Amboseptör 4000 kullanıldı. Hemolizinin 4 Minimal Hemolitik Dozu (MHD) 1/1000 olarak saptandı ve CFT'de bu titrede kullanıldı.

**Komplement:** CFT'de komplement olarak en yüksek etkiyi gösterdiğinden ve daha stabil olduğundan kobay serumları kullanıldı. Kobaylar 12 saat süreyle aç bırakıldı ve kanları alındı. Serumları ayrıldıktan sonra karıştırıldı ve 1'er ml olacak şekilde şişelere taksim edilerek -20°C'de saklandı. Kullanmadan önce +4°C'de bekletildi. Komplementin 4 MHD'u 1/25 olarak saptandı ve çalışmada komplement bu titrede kullanıldı.

**Eritrosit Süspansiyonu:** Aseptik koşullar altında koyunun V. jugularisinden plastik enjektörlerle steril cam boncuklu şişelere alınan kan, defibrinasyon için 20 dakika çalkalandıktan sonra Veronal Buffer ile 1500 devirde 10 dakika santrifüj edilerek yıkandı ve testte %2'lik eritrosit süspansiyonu kullanıldı.

**Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Antijeni:** Moredun Research Institue (MRI)'den (İskoçya) sağlandı (Antijen 1500 ng/ml oranında hazırlanmış ve 1/3 oranında Carbonate Coating Buffer ile dilüe edilmiştir). 5 ml miktarındaki konsantre klamidyal LPS antijeni, 45 ml PBS ile 50 ml'ye tamamlanarak 1/10'luk stok solüsyonu hazırlandı ve +4°C'de saklandı. Çalışma solüsyonu olarak stok solüsyondan 1 ml alındı, coating buffer ile 30 ml'ye tamamlandı ve çalışmada bu 1/30'luk dilüsyonu kullanıldı.

**Pozitif ve Negatif Kontrol Serumları:** ELISA yönteminde *C. psittaci* S 26/3 koyun abort suşuna karşı hazırlanmış pozitif ve negatif kontrol serumları MRI'den sağlandı.

**Konjugat:** Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan Donkey anti-sheep Horseradish Peroxidase (HRP) kullanıldı.

### Metot

**Komplement Fikzasyon Testi:** Bu testte Türütöğlü ve ark.<sup>22</sup>'nin bildirdiği mikrokomplement fikzasyon yöntemi uygulandı. Test sonucunda 1/32 ve üstündeki titreler pozitif olarak değerlendirildi.

Antikomplementer olarak değerlendirilen serumların bu özelliğini giderebilmek için Alton ve ark.<sup>23</sup>'nin bildirdiği yöntem kullanıldı. Buna göre, komplement fikzasyon sulandırıcısı içinde kobay serumunun %5'lik solüsyonu hazırlandı. Testte kullanılan serum dilüsyonu, yukarıdaki solüsyonla karıştırılıp (0.2 ml serum + 0.6 ml solüsyon) 37°C'de 30 dakika inkube edildi. Serumlar 60°C'de 1 saat inaktive edildikten sonra CFT'deki işleme devam edildi. Yine antikomplementer çıkanlar ise antikomplementer olarak değerlendirildi.

**Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Yöntemi:** Bu testte Machell<sup>24</sup>'in bildirdiği yöntem uygulandı. Önce ayrı ayrı tüplerde serum dilüsyonları yapıldı. Bunun için bir erlenmayerde 5 gr süt tozu ve 100 ml PBS/Tween ile %5'lik serum dilüenti hazırlandı. Hazırlanan bu dilüentten de ayrı ayrı tüplere 500 µl kondu ve üzerlerine 2.5 µl test serumu ekleyerek

1/200'lük serum dilüsyonları hazırlandı.

Antijenle kaplama işleminde düz tabanlı mikrop-leytin tek sıralı kuyucuklarına 100 µl LPS antijeni, çift sıralı kuyucuklarına da 100 µl Carbonate Coating Buffer kondu. Mikropleytlar 5 dakika ELISA karıştırıcıda çalkalandıktan sonra +4°C'de 1 gece inkubasyona bırakıldı. Ertesi gün mikropleytlar 3 kez PBS/Tween ile yıkandı. Her kuyucuğa 200 µl blok solüsyondan konup 37°C'de 40 dakika inkubasyona bırakıldı (Bunun için 2 cc at serumu ve 36 cc Carbonate Coating Buffer ile %10'luk blok solüsyon hazırlandı). Mikropleytlar yine 3 kez PBS/Tween ile yıkandı. Pozitif kontrol serumunun 1/200'den 1/25600'e kadar olan 8 katlı dilüsyonu hazırlandı ve 1 numaralı mikropleytin A1, A2, B1, B2 kuyucuklarına 100 µl kondu. Yine negatif kontrol serumunun 1/200'lük dilüsyonundan A5, A6, B5, B6 kuyucuklarına 100 µl miktarında kondu. Test serumlarının da hazırlanan 1/200'lük dilüsyonlarından 2 antijenli, 2 antijensiz olmak üzere her 4 kuyucuğa 100 µl miktarında kondu. Pozitif kontrol serumunun 1/1600'lük dilüsyonundan 2 numaralı mikropleytin C3, C4, D3, D4 ve E7, E8, F7, F8 kuyucuklarına 100 µl eklendikten sonra test serumlarının 1/200'lük dilüsyonlarından diğer kuyucuklara yine 100 µl kondu ve pleyt 37°C'de 60 dakika inkubasyona bırakıldı. Aynı anda konjugat dilüsyonundan 1/1000 oranında hazırlanıp 37°C'de 60 dakika inkubasyona bırakıldı (Bunun için de 0.4 ml at serumu ve 39.6 ml PBS/Tween ile %1'lik HSPBS/Tween hazırlandı. Bu solüsyona 40 µl konjugat eklendi. Böylece 1/1000 oranında konjugat dilüsyonu hazırlanmış oldu). Mikropleytlar 3 kez PBS/Tween ile yıkandı ve kuyucuklara hazırlanan konjugattan 100 µl konup 37°C'de 60 dakika inkubasyona bırakıldı. Bu arada hazırlanan ABTS substrat (ABTS substrat hazırlanması: 1 mikropleyt için; 10 cc sitrat buffer + 4 mg ABTS + 4 cc distile su + 100 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) oda ısısında 30 dakika bekletildi. İnkubasyon süresinin bitiminden sonra 3 kez PBS/Tween ile yıkanan mikropleytlere 100 µl ABTS substrat konup oda ısısında ve karanlıkta 15 dakika inkubasyondan sonra her kuyucuğa 100 µl %1'lik SDS konarak reaksiyon durduruldu. Sonuçlar 30 dakika içinde ELISA okuyucusunda (DYNATECH MR 5000) 405 nm dalga boyunda okundu ve negatiflik eşiğinin üstünde kalan reaksiyon pozitif kabul edildi.

### BULGULAR

#### Komplement Fikzasyon Testi Sonuçları

Atık yapan 273 adet koyuna ait kan serumlarının CFT ile incelenmesi sonucu 52'si (%19.05) pozitif,

34'ü (%12.45) şüpheli, 170'i (%62.27) negatif olarak saptanırken, 17'si (%6.22) antikomplementer özellik gösterdi (Tablo 3).

Bu çalışmada pozitif olarak saptanan 52 serumdan 29'u (%55.77) 1/32'de, 19'u (%36.53) 1/64'de ve 4'ü (%7.69) 1/128'de titre verdi (Tablo-4). Şüpheli olarak saptanan 34 serumdan 16'sı (%47.05) 1/8'de 18'i ise (%52.94) 1/16'da titre verdi. CFT ile kontrolü yapılan

kan serumlarının serolojik sonuçları Tablo 2'de verildi.

#### Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Sonuçları

Atık yapan 273 adet koyuna ait kan serumlarının ELISA ile incelenmesi sonucu *C. psittaci* antikorları yönünden 49'u (%17.95) pozitif, 224'ü (%82.05) ise negatif olarak değerlendirildi. ELISA yöntemi ile kontrolü yapılan kan serumlarının serolojik sonuçları Tablo 2'de verildi.

**Tablo 2.** Atık yapan 273 adet koyun kan serumunun CFT ve ELISA sonuçları.

**Table 2.** The CFT and ELISA results of the 273 aborted sheep sera.

| Kan Alınan Yerler | Serum sayısı | CFT       |           |            |                  | ELISA     |            |
|-------------------|--------------|-----------|-----------|------------|------------------|-----------|------------|
|                   |              | Pozitif   | Şüpheli   | Negatif    | Antikomplementer | Pozitif   | Negatif    |
| Tomarlı           | 10           | 1         | 1         | 6          | 2                | 3         | 7          |
| Bardaklı          | 9            | -         | 2         | 6          | 1                | -         | 9          |
| Hasançavuş        | 10           | -         | 2         | 8          | -                | 1         | 9          |
| Kıraç             | 8            | 1         | 2         | 5          | -                | -         | 8          |
| Aslanoğlu         | 13           | 2         | 3         | 6          | 2                | -         | 13         |
| Taşdere           | 12           | 2         | -         | 7          | 3                | 1         | 11         |
| Carcı             | 9            | -         | 4         | 4          | 1                | 1         | 8          |
| Koçköy            | 26           | 4         | 3         | 18         | 1                | 4         | 22         |
| Tepeköy           | 8            | -         | -         | 7          | 1                | -         | 8          |
| Kaynarlı          | 10           | -         | 2         | 8          | -                | 1         | 9          |
| Merkez            | 17           | 4         | 4         | 9          | -                | 3         | 14         |
| Halefoğlu         | 10           | 6         | -         | 3          | 1                | 7         | 3          |
| Subatan           | 12           | 5         | -         | 6          | 1                | 4         | 8          |
| Başkaya           | 12           | 3         | 2         | 6          | 1                | 3         | 9          |
| Susuz             | 9            | -         | -         | 8          | 1                | 1         | 8          |
| Yaylacık          | 12           | -         | 1         | 10         | 1                | -         | 12         |
| Ağzıaçık          | 5            | -         | -         | 5          | -                | -         | 5          |
| Hisarönü          | 70           | 20        | 6         | 43         | 1                | 16        | 54         |
| Türkmeşen         | 11           | 4         | 2         | 5          | -                | 4         | 7          |
| <b>TOPLAM</b>     | <b>273</b>   | <b>52</b> | <b>34</b> | <b>170</b> | <b>17</b>        | <b>49</b> | <b>224</b> |

**Tablo 3.** CFT'de pozitif, şüpheli, negatif ve antikomplementer reaksiyon veren serumların sayıları

**Table 3.** The numbers of the serum samples giving positive, equivocal, negative and anticomplementer reactions in CFT.

| Tetst Edilen Serum sayısı | Pozitif Serum |       | Şüpheli Serum |       | Negatif Serum |       | Antikomplementer Serum |      |
|---------------------------|---------------|-------|---------------|-------|---------------|-------|------------------------|------|
|                           | n             | %     | n             | %     | n             | %     | n                      | %    |
| 273                       | 52            | 19.05 | 34            | 12.45 | 170           | 62.27 | 17                     | 6.22 |

n: Serum sayısı

**Tablo 4.** CFT'de pozitif bulunan serumların titreler göre dağılımı

**Table 4.** The distribution of the positive sera according to titres obtained in CFT.

| Pozitif Serum |       | Titreler |       |      |       |       |      |       |   |       |   |
|---------------|-------|----------|-------|------|-------|-------|------|-------|---|-------|---|
|               |       | 1:32     |       | 1:64 |       | 1:128 |      | 1:256 |   | 1:512 |   |
| n             | %     | n        | %     | n    | %     | n     | %    | n     | % | n     | % |
| 52            | 19.05 | 29       | 55.77 | 19   | 36.53 | 4     | 7.69 | -     | - | -     | - |

n: Serum sayısı

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Koyun abortlarının etiyojisinde klamidyaların rolü, konakçı direnci ve virulens farklılıklarına bağlı olarak değişmekte, infeksiyon oranı ülkelere ve hatta bölgelere göre de değişiklik göstermektedir<sup>5</sup>. Koyun abortusları yönünden yapılan değişik çalışmalarda klamidyal abortus oranını Markey ve ark.<sup>25</sup> İrlanda'da %11.24, Perez ve ark.<sup>26</sup> İspanya'da %37.61, Apel ve ark.<sup>15</sup> Namibia'da %30, İtalya'da Buonavoglia ve ark.<sup>27</sup> %22.8 ve Valente ve ark.<sup>28</sup> ise başka bir çalışmada %11.1, Amin ve Wilsomore<sup>29</sup> Nijerya'da %3.3, Lin ve ark.<sup>30</sup> Çin'de %1.56 olarak saptadıklarını belirtmişlerdir. Genellikle %5-10 düzeyinde seyreden abort oranı, bazı sürülerde %30-45'e kadar yükselmektedir<sup>5-7</sup>.

Ülkemizde Ataman ve Hakioğlu<sup>31</sup>, infeksiyonun oranını 1954 yılında Eskişehir yöresinde %20-25, Hakioğlu<sup>32</sup>, 1957 yılında Balıkesir yöresinde %15-25 olarak bildirmişlerdir. Daha sonraki yıllarda ülkemizin değişik yörelerinde ve değişik yıllarda yapılan çalışmalarda klamidyal abortus oranını, Arda<sup>33</sup> %3.35, Bay-sal<sup>34</sup> %4.7, Kenar ve ark.<sup>2</sup> %17.3, Karaman ve ark.<sup>35</sup> %1.63, Duman<sup>36</sup> %20, Karaman ve Küçükayan<sup>37</sup> %1.8, Kıran ve ark.<sup>38</sup> %1.7, Türütöğlu ve ark.<sup>22</sup> %10, Öztürk ve ark.<sup>39</sup> %2.8 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir.

Uzun yıllardan beri *C. psittaci*'ye karşı oluşan antikorları ortaya koymada daha çok CFT kullanılmaktadır<sup>18,18</sup>. Seaman<sup>5</sup>, Avustralya'da atık yapan koyunlardan abort tarihinden iki hafta sonra alınan kan serumlarında CFT ile 1/40 ile 1/80 arasında değişen titrelerde klamidyal antikor varlığının saptandığını bildirmiştir. Verma ve ark.<sup>40</sup>, Hindistan'da CFT ile yaptıkları çalışmada infeksiyonun prevalansını %2.4, Martinov ve ark.<sup>41</sup>, yine CFT ile Bulgaristan'da yaptıkları çalışmada prevalansı %34 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Ishida ve ark.<sup>42</sup>, Japonya'da CFT ile atık yapmış 212 koyun kan serumunun 74 (%34.9)'ünde *C. psittaci*'ye karşı antikor saptadıklarını, Perez ve ark.<sup>26</sup>, İspanya'da atık yapmış 2318 koyunun 872'sinin (%37.61) CFT ile pozitif sonuç verdiğini, Buonavoglia ve ark.<sup>27</sup>, İtalya'da 4388 atık yapmış koyun kan serumunda CFT ile %22.8 oranında pozitif titre saptadıklarını belirtmişlerdir. Valente ve ark.<sup>28</sup>, yine İtalya'da atık yapmış 1456 koyuna ait kan serumundan 162'sinin (%11.1) CFT ile pozitif sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

Ülkemizde de Kenar ve ark.<sup>2</sup>, Konya Bölgesi'nde atık yapmış 1063 koyun kan serumunda CFT ile kla-

midyoz yönünden %17.3 oranında pozitiflik belirlediklerini ve diğer etkenlere oranla klamidyal abortların birinci sırada yer aldığını bildirmişlerdir. Karaman ve ark.<sup>35</sup>, 1989-1992 yılları arasında Ankara Bölgesi'nde 4658 atık yapmış koyun kan serumunu CFT ile incelediklerini ve 76 tanesinin (%1.63) klamidyozise karşı antikor taşıdıklarını bildirmişlerdir. Yine Karaman ve Küçükayan<sup>37</sup>, 1993-1997 yılları arasında atık yapmış koyunlara ait 4890 adet kan serumunun klamidyozis yönünden CFT ile incelenmesi sonucu, 88'inin (%1.8) pozitif olduğunu açıklamışlardır. Kıran ve ark.<sup>38</sup>, 1995-1996 yıllarında atık yapmış koyunlardan alınan 1119 adet kan serumunu CFT ile incelemişler, klamidyozis oranını %1.7 olarak saptamışlardır. Türütöğlu ve ark.<sup>22</sup>, atık yapan koyunlardan alınan 725 kan serumu örneğini mikrokomplement fizyasyon yöntemi ile incelemişler, serumların 73 tanesinin (%10) pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Öztürk ve ark.<sup>39</sup>, İstanbul Bölgesi'ndeki koyunlarda *C. psittaci* infeksiyonunun prevalansının saptanması amacıyla alınan 927 adet kan serumunun CFT ile incelenmesi sonucu 26'sinin (%2.8) pozitif olarak saptandığını açıklamışlardır. Arda<sup>33</sup>, 1980-1986 yılları arasında Türkiye'de koyun ve keçi abortusları yönünden CFT ile yapılan incelemelere göre 6679 serum örneğinden %3.35'inin klamidyozis yönünden pozitif olduğunu bildirmiştir. Duman<sup>36</sup>, Konya yöresinde atık yapan koyunlardan alınan 224 kan serumunu CFT ile incelemiş ve 45'inde (%20) komplemanı fikze eden antikorların saptandığını bildirmiştir.

Bu çalışmada atık yapan 273 koyuna ait kan serumlarının CFT ile incelenmesi sonucu 52'si (%19.05) pozitif olarak saptanmıştır. Bu sonuç, Kenar ve ark.<sup>2</sup>'nin saptadıkları %17.3 ve Duman<sup>36</sup>'ın saptadığı %20 gibi pozitiflik oranına yakın bulunmaktadır. Ancak ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmesi, infeksiyon oranlarının ülkelere ve bölgelere göre değiştiği savını doğrulamaktadır.

Grup spesifik antikorların teşhisinde ELISA'nın CFT'den daha hızlı ve duyarlı bir test olduğu bildirilmiştir<sup>19,21</sup>. Lombard ve ark.<sup>43</sup>, Fransa'da yapılan çeşitli serolojik çalışmaların, ruminantlardaki abortların nedeni olarak klamidyozisin önemini gösterdiğini, CFT'nin Fransa'da standart bir yöntem olduğunu, bunun yanında klamidyal infeksiyonların teşhisinde ELISA'nın da son derece yararlı ve güvenilir bir test olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Riordan ve ark.<sup>20</sup>, *C. psittaci*'nin teşhisinde Immunofluoresan ve ELISA yöntemlerinin hızlı sonuç veren oldukça duyarlı testler olduğunu bildirmişlerdir. Ancak klamidyaya in-

feksiyonları için standartlaştırılmış bir ELISA yöntemi mevcut değildir<sup>44</sup>.

Pepin ve ark.<sup>45</sup>, *C. psittaci*'nin abort suçundan hazırlanan antijen ile 204 keçi serum örneğinin ELISA ve CFT ile karşılaştırmalı olarak incelendiğini, sonuçların %80 uyumlu olmakla beraber ELISA yönteminin IgG'leri saptamada daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Vitu ve ark.<sup>46</sup>, 57 gebe koyuna ait 476 kan serumunda CFT ve ELISA ile yaptıkları çalışmada her iki test arasında %88 oranında uyum olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada da atık yapan 273 adet koyuna ait kan serumunun serolojik incelenmesinde CFT ile 52, ELISA yöntemi ile 49 serum pozitif olarak saptanmış ve sonuçların birbirine yakın olduğu görülmüştür. Bu çalışma göstermiştir ki, Koyunların Enzootik Abortusu'nun indirekt teşhisinde uzun yıllardan beri kullanılmakta olan CFT'nin yanında ELISA yöntemi de alternatif bir test olarak kullanılabilir. Ancak ELISA için standart bir test yönteminin geliştirilmesi gerekmektedir.

Çalışmada elde edilen sonuçlar, Kars yöresindeki koyunlarda görülen yavru atma olaylarında *C. psittaci*'den ileri gelen Koyunların Enzootik Abortusu'nun ihmal edilmemesi gerektiğini, serolojik araştırmaların kültürel yoklamalarla birleştirilmesinin yararlı olacağını, infeksiyonun prevalans ve insidensinin saptanarak, kontrol ve eradikasyon çalışmalarına başlanması gerektiğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- Aytuğ CN, Alaçam E, Yalçın BC, Gökçen H, Özkoç Ü, Türker H: Koyun Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği. No:2, TÜM VET Hayvancılık Hizmetleri Yayını, Bursa, 1990.
- Kenar B, Erganiş O, Kaya O, Güler E: Konya Bölgesinde koyunlarda atıklara sebep olan *Brucella*, *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Chlamydia*'ların bakteriyolojik ve serolojik incelenmesi. *Veterinarium*, 1(1): 17-19, 1990.
- Aitken ID, Clarkson MJ, Linklater K: Enzootic abortion of ewes. *Vet Rec*, 126, 136-137, 1990.
- Anderson IE, Herring AJ, Jones GE, Low JC, Greig A: Development and evaluation of an indirect ELISA to detect antibodies to abortion strains of *Chlamydia psittaci* in sheep sera. *Vet Microbiol*, 43, 1-12, 1995.
- Seaman JT: *Chlamydia* isolated from abortion in sheep. *Aust Vet J*, 62(12): 436, 1985.
- Thiele D, Wittenbrink MM, Fischer D, Krauss H: Evaluation of the polymerase chain reaction (PCR) for detection of *Chlamydia psittaci* in abortion material from ewes. *Zbl Bakt*, 277, 446-453, 1992.
- Wilsmore AJ, Parsons V, Dawson M: Experiments to demonstrate routes of transmission of ovine enzootic abortion. *Br Vet J*, 140, 380-391, 1984.
- Griffiths PC, Philips HL, Dawson M, Clarkson MJ: Antigenic and morphological differentiation of placental and intestinal isolates of *Chlamydia psittaci* of ovine origin. *Vet Microbiol*, 30, 165-177, 1992.
- Souriau A, Rouzic EL, Bernard F, Rodolakis A: Differentiation of abortion-inducing and intestinal strains of *Chlamydia psittaci* isolated from ruminants by the microimmunofluorescence test. *Vet Rec*, 132, 217-219, 1993.
- Huang HS, Tan TW, Buxton D, Anderson IE, Herring AJ: Antibody response of the ovine abortion strain of *Chlamydia psittaci*. *Vet Microbiol*, 21, 345-351, 1990.
- Rodolakis A, Bernard F, Souriau A, Layachi K, Buzoni-Gatel D: Relationship between virulence of *Chlamydia psittaci* strains and establishment of persistent infection of McCoy Cells. *Vet Microbiol*, 19, 65-73, 1989.
- Anon. Enzootic abortion of ewes (Ovine Chlamydiosis) OIE Manual, 3rd ed. 384-388, Paris, 1996.
- Schachter J: Chlamydiae. In: Balows A, Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HA, Shadomy HJ (Eds): Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. 1045-1053, American Society for Microbiology, Washington DC, 1991.
- Anderson IE: Comparison of some ovine *Chlamydia psittaci* isolates by indirect immunofluorescence. *Vet Microbiol*, 13, 69-74, 1987.
- Apel J, Hübschle OJB, Krauss H: Seroprevalence of *Chlamydia psittaci*-specific antibodies in small stock in Namibia: Epidemiological study with an Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). *J Vet Med*, 36, 447-458, 1989.
- Herring AJ: Typing *Chlamydia psittaci*: A review of methods and recent findings. *Br Vet J*, 149, 455-475, 1993.
- Jones GE, Low JC, Machell J, Armstrong K: Comparison of five tests for the detection of antibodies against chlamydial (enzootic) abortion of ewes. *Vet Rec*, 141, 164-168, 1997.
- Martin PK: A complement-fixation, Enzyme-linked Immunosorbent Assay as an aid in the serological investigation of enzootic abortion in ewes. *Res Vet Science*, 58, 193-194, 1995.
- Fukushi H, Hayashi Y, Okuda Y, Shimakura S, Hirai K: An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the detection of antibodies to *Chlamydia psittaci* in animal sera. *Res Bull Fac Agr Gifu Univ*, 50, 265-270, 1985.
- Riordan T, Lewin I, Oliver MH: Rapid diagnosis of psittacosis. *Lancet*, 335, 471, 1990.
- Sting R, Mandl J: Chlamydia psittaci -Antikörperrnachweis beim Rind im ELISA. *Tierarztl Umschau*, 48, 512-517, 1993.
- Türütöğlü H, İyisan AS, Duru A, Altinel C: Koyunlarda *Chlamydia psittaci* infeksiyonunun Mikrokomplement Fiksasyon Testi ile saptanması. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg*, 26 (1): 67-78, 1995.
- Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verder JM: Techniques for the Brucellosis Laboratory. pp. 112-113, Paris, 1988.
- Machell J: Indirect ELISA for Ovine Antibodies to Chlamydial LPS (Ovalps ELISA). Moredun Research Institute (MRI), Edingburgh, Scotland, 1997.
- Markey BK, McNulty MS, Burns K: *Chlamydia psittaci* infection, in sheep in Northern Ireland. *Vet Rec*, 132, 389, 1993.
- Perez M, Fernandez A, Verde MT, Sanz MC, Saez T, Hernandez H: Seroprevalence of ovine chlamydiosis in the Zaragoza province, Spain. *Investigacion Agraria. Produccion y Sanidad Animales*, 9 (3): 277-285, 1994.
- Buonavoglia D, Montagno C, Giuratrabacchetti G, Prestera G: Serological survey of chlamydiosis in sheep and goats in Potenza province. *Acta Med Vet*, 40 (1): 37-40, 1994.

- 28 **Valente C, Gialletti L, Cuteri V, Battistacci L, Bonofiglia T:** Ovine chlamydiosis: serological survey. *Arch Vet Ital*, 44 (2): 51-54, 1993.
- 29 **Amin JD, Wilsmore AJ:** A serological survey of some abortifacient diseases of sheep and goats in the Maiduguri area of Nigeria. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*, 41 (2): 123-128, 1993.
- 30 **Lin ZY, Huang MR, Zhang ZZ, Liang DJ:** Serological investigation in domestic animals in Shaoanxi, China. *China Vet J Science Technol*, 21 (7): 17-19, 1991.
- 31 **Ataman B, Hakioglu F:** Eskişehir Bölgesinde enzootik koyun virüsü abortusu bakımından araştırmalar. *Vet Hek Dern Derg*, 110-111, 2531-2535, 1955.
- 32 **Hakioglu F:** Koyunların virüsü abortusu. *Vet Hek Dern Der*, 10-18, 77-84, 143-144, 1958.
- 33 **Arda M:** Koyunlarda önemli yavru atma hastalıkları ve korunma yolları. Koyun Yetiştiriciliği ve Korunma Yolları Sempozyumu, 11-12 Mayıs, Konya, 1987.
- 34 **Baysal T:** Konya Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nün koyun hastalıkları ve yavru atma yönünden yaptığı çalışmalar. Koyun Yetiştiriciliği ve Korunma Yolları Sempozyumu, 11-12 Mayıs, Konya, 1987.
- 35 **Karaman Z, Güler E, Küçükayan U:** Ankara bölgesinde toplanan ve değişik yörelerden gelen atık yapan koyun kan serumları ve materyallerinin serolojik ve mikrobiyolojik yoklaması üzerinde çalışmalar. *Etlık Vet Mikrob Derg*, 7, 60-73, 1993.
- 36 **Duman R:** Konya Bölgesindeki Koyunlarda Atıklara Neden Olan Chlamydia İnfeksiyonlarının Serolojik Araştırılması. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 1996.
- 37 **Karaman Z, Küçükayan U:** Etlık Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne 1993-1997 Yılları Arasında Getirilen Atık Yapan Koyun Kan Serumları ve Materyallerinin Serolojik ve Mikrobiyolojik Yoklama Sonuçları. Ulusal Sığır ve Koyun Yavru Atma Sempozyumu, 06-08 Ekim, Pendik-İstanbul, 1998.
- 38 **Kıran M.M, Baysal T, Gözün H, Güler L, Gündüz K, Kuyucuoglu Ö, Küçükayan U:** Konya yöresinde koyun abortusları üzerinde patolojik, bakteriyolojik ve serolojik çalışmalar. *Etlık Vet Mikrob Derg*, 9 (2): 109-128, 1997.
- 39 **Öztürk M, Nadas ÜG, Türütoęlu H:** İstanbul bölgesindeki koyunlarda *Chlamydia psittaci* infeksiyonunun prevalansının saptanması. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg*, 29 (1-2): 72-80, 1998.
- 40 **Verma SP, Bhardwaj RM, Gautam OP:** Seroprevalence of Toxoplasma antibodies in aborted ewes. *Indian Vet J*, 8 (2): 132-133, 1988.
- 41 **Martinov S, Scholiev C, Popov G:** Chlamydial abortion among sheep in Bulgaria. *Mh Vet Med*, 44 (11): 374-375, 1989.
- 42 **Ishida T, Kirisawa R, Onuma M, Mikami Y, Imazu Y, Kawakami Y:** Isolation and serological survey of *Chlamydia psittaci* in sheep in Hokkaido. *Japan Vet J Science*, 50 (4): 894-899, 1988.
- 43 **Lombard M, Precausta P, Tixier G, Chomel B:** The application of the ELISA technique to the serology of chlamydiosis in goats: statistical evaluation of a method. *J Biol Stand*, 15, 293-304, 1987.
- 44 **Markey BK, McNulty MS, Toood D:** Comparison of serological tests for the diagnosis of *Chlamydia psittaci* infection of sheep. *Vet Microbiol*, 36, 233-252, 1993.
- 45 **Pepin M, Bailly L, Souriau A, Rodolakis A:** An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the detection of Chlamydial antibodies in caprine sera. *Ann Rech Vet*, 16 (4): 393-398, 1985.
- 46 **Vitu C, Russo P, Giauffret A:** Use of ELISA test for the serological diagnosis of Chlamydia infections in sheep and goats. Comparative study with the complement fixation test. *Bulletin-d Information des Laboratoires des Services Veterinaires, Abstract*, 13, 55-69, 1984.