

İki Farklı Koyun ve Keçi Sürüsünde *Brucella* ve *Campylobacter* Ortak Enfeksiyonu

Fatih BÜYÜK *  Özgür ÇELEBİ * Mitat ŞAHİN * Ahmet ÜNVER * Elif TAZEGÜL **

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

** Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TR-36100 Kars - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2010-3134

Özet

Bu çalışmada Kars ilinde koyun ve keçilerde gözlenen yavru atmalar sero-epidemiolojik ve etiyolojik olarak araştırıldı. Bu amaçla, abort olgularının görüldüğü Kars İli merkez Tekneli Köyü ve Kağızman İlçesine bağlı Sağbaşı Köylerinde ekstansif yetiştiricilik yapılan 2 farklı koyun ve keçi sürüsünden kan, süt, vajinal akıntı ve atık fötüs örnekleri alındı. Çalışmada, serolojik amaçlı koyun, keçi ve koçlara ait toplam 204 kan serum örneği ve etiyolojik olarak ise atık yapmış 35 koyun ve 4 keçiye ait 39 süt, 39 vajinal akıntı ile 1 atık fötüs doku örneği incelendi. Serolojik olarak incelenen 204 serum örneğinin 74'ü (%36.27) hem lam aglütinasyon testi (Rose Bengal Plate Test, RBPT) hem de tüp aglütinasyon testi (Serum Agglutination Test, SAT) ile brucella pozitif olarak saptandı. Kültürel amaçlı yapılan çalışmalar sonucu 39 atık yapan hayvandan 11 (%28.2)'inde *Brucella melitensis* ve 4 (%10.25)'ünde *Campylobacter coli* izole ve tanımlandı. *B. melitensis* izole edilen sütlerin alındığı iki koyuna ait vajinal akıntı örneklerinden *C. coli*'de izole ve tanımlandı.

Anahtar sözcükler: Abortus, Koyun, Keçi, *Brucella*, *Campylobacter*, Ortak enfeksiyon

Brucella and *Campylobacter* Mixed Infection in Two Different Sheep and Goat Herds

Summary

In the present study, the abortions observed in sheep and goat in Kars Province were investigated seroepidemiologically as well as aetiologically. For this purpose, blood, milk, vaginal mucus and aborted foetus were taken from two different herds extensively raised in the Tekneli Village and Sağbaşı Village of Kars and Kağızman, respectively. Total of 204 serum samples from sheep, goat and ram were examined for serological purpose. In addition, the bacterial culture was attempted from 39 milk and 39 vaginal mucus from 35 sheep and 4 goats with a history of abortion and one aborted foetus samples. Of 204 blood serum samples, anti-*Brucella* antibodies were detected in 74 (%36.27) analysed by both slide agglutination test (Rose Bengal Plate Test, RBPT) and tube agglutination test (Serum Agglutination Test, SAT). As a result of cultural examination of 39 aborted animals, *Brucella melitensis* in 11 (%28.2) and *Campylobacter coli* in 4 (%10.25) samples were isolated and identified. *C. coli* was simultaneously isolated and identified from vaginal discharge samples of two sheep from which *B. melitensis* was isolated from their milk samples.

Keywords: Abortus, Sheep, Goat, *Brucella*, *Campylobacter*, Mixed infection

GİRİŞ

Koyun ve keçi yetiştiriciliği, Türkiye hayvancılığının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Türkiye'de 2009 yılında koyun popülasyonunun yaklaşık 21 milyon, keçi popülasyonunun ise 5 milyon olduğu bildirilmektedir¹. Bunların 7.5 milyonu her yıl kesilmekte ve yıllık et üretiminin %32'si, süt üretiminin ise %22'si koyunlardan elde edilmektedir². Koyun ve keçi yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerdeki en ö-

nemli problem abort olgularındır ve bu olguların çoğundan bakteriyel etkenler sorumlu tutulmaktadır. Dünyada ve Türkiye'de yapılan birçok çalışmada infeksiyöz koyun ve keçi abortlarının büyük bir çoğunluğunu brusellozis, kampilobakteriyozis, listeriozis, salmonellozis, leptospirozis, klamidiozis ve Q hummasının oluşturduğu ortaya konulmuştur^{3,4}.



İletişim (Correspondence)



+90 474 2426807/1171



fatihbyk08@hotmail.com

Koyun ve keçilerde brusellozis, *B. melitensis* tarafından oluşturulur ve abort olguları özellikle gebeliğin son döneminde şekillenir. Abort ile birlikte ölü doğumlar, güçsüz ve zayıf yavru doğumları da gözlenmektedir^{5,6}. Koyun abortlarının önemli bir kısmından da *Campylobacter* cinsine ait türler sorumlu tutulmaktadır. Keçiler bu enfeksiyona daha dirençlidir ve abort oranı azdır. Koyun ve keçilerde abortlardan sorumlu en önemli tür *Campylobacter fetus* septik abortusun yanı sıra, infeksiyöz infertilite ve diareye yol açmaktadır^{7,8}. *Campylobacter jejuni* ve *C. coli* gibi termofilik kampilobakterler de koyunlarda atıklara neden olabilmektedir^{9,10}.

Bu çalışmada abort olgularının görüldüğü Kars İli'ne bağlı iki farklı koyun ve keçi sürüsünde, aborta neden olan bazı bakteriyel etkenlerin kültürel ve serolojik yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

OLGULARIN TANIMI

Bu çalışmanın materyalini abort olgularının görüldüğü Kars İli merkez Tekneli Köyü ve Kağızman İlçesine bağlı Sağbaş Köylerinde ekstansif olarak yetiştirilen 2 farklı koyun ve keçi sürüsünden alınan kan, atık fötüs, süt ve vajinal svap örnekleri oluşturdu. Çalışmada serolojik amaçlı koyun, keçi ve koçlara ait toplam 204 serum örneği ve kültürel amaçlı atık yapmış hayvanlara (35 koyun ve 4 keçi) ait süt ve vajinal akıntı ile 1 atık keçi fötüs örneği incelendi (Tablo 1). Bakteriyolojik, serolojik ve moleküler yöntemler Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Brucella türlerinin izolasyonu için tüm örneklerin direkt ve Farrel Broth'da ön zenginleştirme sonrası %7 koyun kanı içeren kanlı agar (Merck 110328) ve supplement (Oxoid SR0083) ilaveli %10 serumlu *Brucella* selektif agar (*Brucella* Medium Base, Oxoid CM0169) besiyerlerine ekimleri yapıldı ve 37°C'de aerobik ve mikroaerobik inkübasyona bırakıldı. *Brucella* şüpheli izolatların identifikasyonu Alton¹¹ tarafından bildirilen prosedüre göre yapıldı. *Campylobacter* türlerinin izolasyonu için CCDA selektif supplement (Oxoid SR0155) ilaveli *Campylobacter* Blood-Free Selective Agar (Oxoid CM0739) ve %7 koyun kanı içeren kanlı agar kul-

lanıldı. Ekim yapılan besiyeleri 37°C ve 42°C'de mikroaerobik atmosferde 1-2 gün süre ile inkübasyona bırakıldı ve 25°C, 37°C ve 42°C'de üreme özellikleri, %1.5 NaCl, %1 glisin, nalidiksik asit ve sefalotin duyarlılıkları ile indoksil asetat ve hippurat hidroliz yetenekleri özelliklerine göre cins düzeyinde identifiye edildi¹².

İzolatların PZR ile tür düzeyinde identifikasyonunda izolatlara ait DNA ekstraksiyonu önceden bildirilen¹³ kloroform ekstraksiyon yöntemi modifiye edilerek yapıldı. *Brucella* etkenlerinin PZR ile cins ve tür düzeyinde identifikasyonu sırasıyla *Brucella* Genius PCR Detection Kiti (FC Biotek, Code: 0303) ve *Brucella* PCR Detection Kiti (Multiplex) (FC Biotek, Code:0301) ile yapıldı. *Campylobacter* izolatlarının cins düzeyinde identifikasyonu biyokimyasal özelliklerine göre, tür identifikasyonu Misawa ve ark.¹⁴ tarafından bildirilen primerler ve amplifikasyon şartları kullanılarak yapıldı. Brusellozisin serolojik tanısı için Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünden sağlanan lam ve tüp aglutinasyon test antijenleri kullanıldı.

Bu çalışmada abort olgularının epidemiyolojik ve klinik özellikleri incelendiğinde, iki sürüde de identifiye edilen spesifik etkenlere yönelik geçmiş yıllarda veya yakın zamanda bir aşı uygulamasının yapılmadığı, her iki odakta ve bu odakların bulunduğu yerleşim yerlerinde geçen yıllara ait abort olgularının olmadığı, olgularının tümünün yaklaşık 20 gün gibi kısa bir periyotta ve 2 veya 3'er günlük aralıklarla abort sağanakları şeklinde ortaya çıktığı, abort yapan hayvanların genellikle 2 veya 3. gebelikleri olduğu, olguların çoğunun gebeliğin son iki ayında gerçekleştiği, örneklemeden sonra da devam eden abort olgularının oranının %25'e ulaştığı ve abortun yanı sıra güçsüz, zayıf kuzu ve oğlak doğumları olduğu gözlemlenmiştir.

İzolasyon çalışmalarında atık yapan 35 adet koyuna ait süt örneklerinin 10 (%25.64)'undan ve atık yapan keçilerden birine ait fötüs mide içeriğinden *Brucella* spp. izole edildi. Koyunlara ait vajinal svap örneklerinden ve atık yapan 4 adet keçiye ait süt ve vajinal svap örneklerinden *Brucella* izolasyonu yapılamadı. Koyunlara ait vajinal svap örneklerinin 4 (%11.42)'ünden *Campylobacter* spp. izole edildi. *Brucella* spp. izole edilen süt örneklerinin alındığı 2 koyunun vajinal svap örneklerinden aynı zamanda

Tablo 1. Atık yapmış sürülerde odaklara ve hayvan türlerine göre örnek sayıları

Table 1. The number of samples according to focuses and animal species in aborted herds

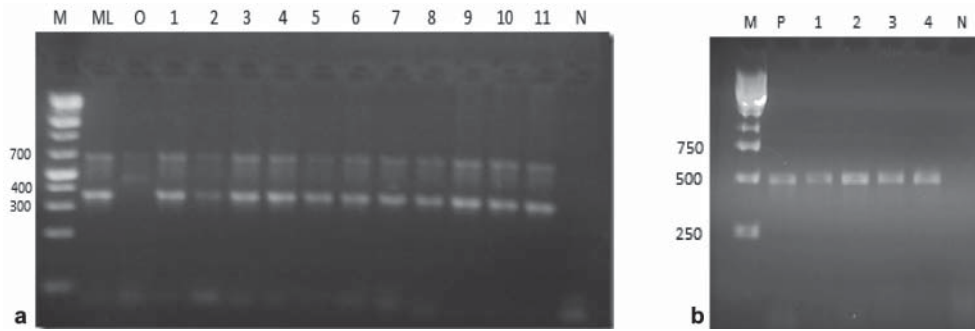
Odak	Hayvan Türü ve Sayısı			Atık Sayısı		Örnek Türü ve Sayısı								
						Koyun				Keçi				
	Koyun	Keçi	Koç	Koyun	Keçi	Fötüs	Süt	V. svap	Kan	Fötüs	Süt	V. svap	Kan	
Tekneli	76	12	3	20	1	-	10	20	79	1	1	1	12	
Sağbaş	108	3	2	15	3	-	15	15	110	-	3	3	3	
Toplam	184	15	5	35	4	-	35	35	189	1	4	4	15	
	204			39			259				24			
Genel Toplam	243						283							

Campylobacter spp. de izole edildi. Toplamda 39 atık yapan hayvanın 11 (%28.2)'inden *Brucella* spp. ve 4 (%10.25)'ünden *Campylobacter* spp. izole edildi. İzole edilen *Brucella*'ların tamamı *B. melitensis*, *Campylobacter*'lerin ise *C. coli* olduğu belirlendi. Bu bulgular *Brucella* cins ve tür spesifik multipleks PZR ve *Campylobacter* tür spesifik single-step PZR yöntemleri ile de doğrulandı (Şekil 1a ve 1b).

Brusellozisin serolojik tanısında sürüdeki 184 koyun, 15 keçi ve 5 koça ait tüm kan serum örnekleri değerlendirildi ve 74'ü (%36.27) lam ve tüp aglütinasyon testi (Serum Agglutination Test, SAT) ile pozitif saptandı. Vajinal akıntı ve fetal mide içeriği örneklerinden *Listeria* ve *Salmonella* izolasyonu yapılamadı.

de endemik olarak seyretmesi gerçeğine dayandırılabilir.

Kültürel çalışmalarda ^{3,15,16} *B. melitensis* %20-30, *C. fetus* %0.1-5 oranında izole edilmiştir. Bu çalışmada ise 11 (%28.2) *B. melitensis* ve 4 (%10.25) *C. coli* izole ve tanıya edildi. Bu sonuçlar yapılan diğer çalışmaların ^{3,15,16} sonuçları ile farklılık göstermektedir. Kültürel çalışmalarda, süt örneklerinden %28 gibi yüksek oranda *Brucella* izolasyonunun nedeni olarak atığı takiben ilk 6 haftalık periyotta aşırı miktarda bakteri saçılımı gerçeği ve örnekleme ilk atıktan sonra 18 gün gibi çok kısa sürede yapılması şeklinde açıklanabilir. *Brucella* türleri için ön zenginleştirmenin yapılması da izolasyon oranının yüksek olmasının nedeni olarak gösterilebilir. Ayrıca, *Brucella* ve *Campylobacter* dı-



Şekil 1. *Brucella* ve *Campylobacter* izolatlarının PZR sonuçları

Fig 1. PCR results of *Brucella* and *Campylobacter* isolates

M; Moleküler ağırlık marker (sırasıyla 100 bp ve 1 kb DNA ladder, Fermentas, Litvanya) **N**; negatif kontrol, **a**: *Brucella* multiplex PZR sonuçları, **ML**; pozitif kontrol (*B. melitensis*) **O**; pozitif kontrol (*B. ovis*), 1-11 nolu kolonlar; izolatlar, **b**: *Campylobacter* single-step PZR sonuçları, **P**; pozitif kontrol (*C. coli*), 1-4 nolu kolonlar; izolatlar

M; molecular weight stand (100 bp and 1 kb DNA ladder, respectively, Fermentas, Lithuania) **N**; negative control, **a**: Results of *Brucella* multiplex PCR, **ML**; positive control (*B. melitensis*) **O**; positive control (*B. ovis*), 1-11 columns; isolates, **b**: Results of *Campylobacter* single-step PCR, **P**; positive control (*C. coli*) 1-4 columns; isolates

TARTIŞMA ve SONUÇ

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de *Brucella* ve *Campylobacter* türlerinin meydana getirdiği hastalıklar hayvan yetiştiriciliği ve halk sağlığı açısından önemli bir sorun teşkil etmektedir. Bu etkenlerin insan ve hayvanlarda oluşturduğu hastalıkların teşhis ve tedavisinde harcanan paralar ülke ekonomisine büyük zararlar vermektedir. Bu etkenlere yönelik etkin koruyucu önlemlerin alınması ve eradikasyon planlarının kısa sürede hazırlanması için bu infeksiyonların epidemiyolojisinin kapsamlı bir biçimde ortaya konması gerekir. Bu amaçla hem dünyanın birçok ülkesinde hem de Türkiye'de koyun ve keçilerde yavru atmalar üzerinde serolojik ^{3,15} ve kültürel ^{3,4,16} çok çeşitli araştırmalar yapılmıştır.

Serolojik çalışmalarda ^{3,16} brusellozisin seroprevalansı %11-15, kampilobakteriyozisin %2-8 olarak saptanmıştır. Brusella antikorları yönünden incelenen bu çalışmada ise örneklerin 74'ü (%36.26) pozitif olarak saptandı. Sonuçlar serolojik amaçlı yapılan diğer çalışmaların ^{3,16} sonuçları ile farklılık göstermektedir. Bunun nedeni hastalığın bu bölge-

şında diğer etkenlerin izole edilememesinin nedeni; abort etkenlerinin coğrafik dağılımı, örnekleme şekilleri ve izolasyon yöntemlerindeki farklılıklar olabileceğini düşündürmektedir. Vajinal svap örneklerinden *Campylobacter* izole edilmiş olması koyunların rezervuar rolü üstlenebileceğini göstermektedir. *C. fetus*, *C. jejuni* ve *C. coli*'nin koyun ve keçilerde safra kesesi ve bağırsak içeriğinde varlığını gösteren birçok çalışma ^{17,18} mevcuttur. *C. fetus* ve *C. jejuni*'nin sebep olduğu koyun ve keçi abort olguları da bildirilmiştir ^{3,7,16,18}. Fakat kültürel yöntemler ile belirlenen *C. coli* ilişkili koyun ve keçi abort bildirileri oldukça azdır ^{19,20}. Bu çalışmada vajinal svapların yaklaşık %10'undan *C. coli* izole edilmesi kampilobakterlerin bu yolla saçılımının yüksek olduğunu göstermektedir. Süt örneklerinden *Brucella* spp. izolasyonunun yapıldığı iki koyunun aynı zamanda vajinal akıntılarında kampilobakter izole edilmiştir. Bu durum infeksiyöz ajanlar arasında ortak infeksiyon potansiyelini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, araştırmada Kars bölgesinde koyun ve keçilerin atık olgularında brusellozis ve kampilobakteriyozisin varlığı ortaya konulmuştur. Atık olgularından *C. coli* izole edilmesi kampilobakter saçılımının ve düzeyinin be-

lirlenmesine yönelik epidemiyolojik araştırmaların anlamlı olacağını ortaya koymaktadır. Bu infeksiyöz ajanların önemli zoonoz etkenler olduğu düşünöldüğünde, koyun ve keçilerin et ve süt ürünlerinin uygun olmayan şartlarda üretimi ve kullanılmasının yanı sıra, temas sonucu insanlara da bulaşabileceği ve bu nedenle bu infeksiyonların üzerinde ciddiyle durulması ve kontrol altına alınması gerekliliği bir kez daha ortaya çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

1. **Türkiye İstatistik Kurumu:** Hayvansal Üretim İstatistikleri 2009. http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=46&ust_id=13. Eriřim tarihi: 07.10.2010.
2. **Anonim:** Tarım alanında güncel sorunlar, temel yaklaşımlar ve uygulanan projeler. <http://web1.mmg.org.tr/index.php/Subelerimiz/MMG>, Eriřim tarihi: 07.10.2010.
3. **Muz A, Ertaş HB, Öngör H, Gülcü HB, Özer H, Eröksüz H, Dabak M, Başbuğ O, Kalender H:** Elazığ ve çevresinde koyun ve keçilerde abortus olgularının bakteriyolojik serolojik ve patolojik olarak incelenmesi. *Tr J Vet Anim Sci*, 23 (Ek Sayı 1): 177-188, 1999.
4. **Sharma M, Batta MK, Katoch RC, Andersen AA:** A field investigation of bacterial etiology of abortions among migratory sheep and goats in North-West hill states of India. *Veterinarski Arhiv*, 78 (1): 65-71, 2008.
5. **Robert B, Moeller Jr:** Bacterial Abortions of Sheep and Goats. California Animal Health & Food Safety Laboratory, University of California, Tri County Goat News, p. 3, January 2009.
6. **OIE:** Ovine and Caprine Brucellosis: *Brucella melitensis*. BRUM_A2009. http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/brucellosis_melitensis.pdf. Accessed: 05.10.2010
7. **Varga J, Mezes B, Fodor L, Hajtos I:** Serogroups of *Campylobacter fetus* and *Campylobacter jejuni* isolated in cases of ovine abortion. *J Vet Med B*, 37, 148-152, 1990.
8. **Mannering SA, West DM, Fenwick SG, Marchant RM, Perkins NR, O'Connell K:** Pulsed-field gel electrophoresis typing of *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* isolated from sheep abortions in New Zealand. *N Z Vet J*, 52, 358-363, 2004.
9. **Penner JL:** The Genus *Campylobacter*: A decade of progress. *Clin Microbiol Rev*, 1, 157-172, 1988.
10. **Gurturk K, Ekin IH, Aksakal A, Solmaz H:** Detection of *Campylobacter* antibodies in sheep sera by a Dot-ELISA using acid extracts from *C. fetus* ssp.*fetus* and *C. jejuni* strains and comparison with a complement fixation test. *J Vet Med B*, 49, 146-151, 2002.
11. **Alton GG, Jones ML, Angus RD, Verger JM:** Techniques for the brucellosis laboratory. p 192, INRA Publications, Paris, France, 1988.
12. **Skirrow MB, Benjamin J:** Differentiation of enteropathogenic *Campylobacter*. *J Clin Pathol*, 33 (11): 1122, 1980.
13. **Unver A, Atabay Hİ, Güneř V, Çitil M, Erdoğan HM:** Kars Yöresinde sığır tüberkülozunun yaygınlığının post mortem PCR analizi ile belirlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 13, 27-31, 2007.
14. **Misawa N, Kawashima K, Kawamoto H, Kondo F:** Development of a Combined Filtration-Enrichment Culture Followed by a One-Step Duplex PCR Technique for the Rapid Detection of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in Human Faecal Samples. *J Med Microbiol*, 51, 86-89, 2002.
15. **Karaman Z, Güler E, Küçükayan U:** Ankara bölgesinden toplanan ve değişik yörelerden gelen atık yapan koyun kan serumları ve materyallerinin serolojik ve mikrobiyolojik yoklaması üzerine çalışmaları. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 7, 60-73, 1993.
16. **Küçükayan U, Dakman A, Ülker U, Müřtak K:** Koyun kan serumları ve fetuslarının bakteriyel atık etkenleri yönünden incelenmesi. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 18, 11-16, 2007.
17. **Salihu MD, Junaidu AU, Oboegbulem SI, Egbu GO:** Prevalence and Biotypes of *Campylobacter* Species Isolated from Sheep in Sokoto State, Nigeria. *J Anim Vet Adv*, 1 (1): 6-9, 2009.
18. **Raji MA, Adekeye JO, Kwaga JKP, Bale JOO:** Bioserogroups of *Campylobacter* species isolated from sheep in Kaduna State, Nigeria. *Small Rumin Res*, 37, 215-221, 2000.
19. **Diker KS, Sahal M, Aydın N:** Ovine abortion associated with *Campylobacter coli*. *Vet Rec*, 122 (4): 87, 1988.
20. **Allsup TN, Ansfield M:** Fourth International Workshop on *Campylobacter* Infections, Göteborg, Abst No. 234, 1987.