

## Elazığ İlinde Sığırlarda Leptospirosis'in Seroprevalansının Saptanması

Burhan ÇETİNKAYA, H. Basri ERTAŞ, Adile MUZ, Hasan ÖNGÖR  
Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 23119, Elazığ - TÜRKİYE

Hakan KALENDER

Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Elazığ - TÜRKİYE

Vildan ÖZDEMİR

Etilik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 18.02.1998

**Özet:** Leptospirosis'in sığırlardaki seroprevalansını saptamak amacıyla Elazığ ili merkez ve ilçelerinden Haziran-Kasım 1997 aylarında tesadüfi örnekleme ile toplam 395 adet sığırdan alınan kan serum örnekleri *L. hardjo*, *L. grippotyphosa*, *L. pomona* ve *L. icterohaemorrhagiae* antikorları yönünden Mikroskopik Aglutinasyon Testi (MAT) ile incelendi. Bu serumların sekiz (%2.03) tanesinde pozitif reaksiyon elde edildi. Pozitif serumların yedi (%1.77) tanesinin *L. hardjo*, bir (%0.25) tanesinin ise *L. grippotyphosa* antijenleri ile aglutinasyon verdiği görüldü. Leptospirosis'in seropozitiflik oranları, ilçelere göre istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdi ( $p=0.002$ ). Buna karşın yaş ve cinsiyetin Leptospirosis'in görülme sıklığı üzerinde önemli bir etkisi bulunmadı ( $p>0.05$ ). Bu sonuçlara göre, yörede Leptospirosis'in sığırlardaki seroprevalansının yurdumuzun diğer bölgelerine nazaran düşük olduğu ve *L. hardjo* serotipinin dominant olduğu saptandı.

**Anahtar Sözcükler:** Leptospirosis, sığır, Mikroskopik aglutinasyon testi

### Determination of Seroprevalence of Leptospirosis in cattle in Elazığ

**Abstract:** Serum samples collected from randomly-selected 395 cattle between June-November 1997 from the districts and central villages of Elazığ were used to determine the seroprevalence of Leptospirosis in cattle. Microscopic Agglutination Test (MAT) was used to examine serum samples for antibodies to *L. hardjo*, *L. grippotyphosa*, *L. pomona* and *L. icterohaemorrhagiae*. Positive results were obtained from eight (2.03%) samples; seven (1.77%) of which were agglutinated with *L. hardjo* and one (0.25%) with *L. grippotyphosa* antigens. There was a statistically significant difference when the seropositivity rates were compared in different districts ( $p=0.002$ ). Age and sex were not determined to affect the frequency of Leptospirosis significantly ( $p>0.05$ ). According to these results, the seroprevalence of Leptospirosis in cattle was lower in this region when compared to other parts of the country. In addition, *L. hardjo* was the commonest serovar in this region.

**Key Words:** Leptospirosis, cattle, Microscopic agglutination test

### Giriş

Leptospirosis başta insan olmak üzere bütün memeli türlerini tehdit eden oldukça geniş spektrumlu zoonoz bir enfeksiyondür. Leptospira cinsi içerisinde son zamanlarda fenotipik sınıflandırmanın yerini alan genotipik yani DNA benzerliğine dayalı sınıflandırma neticesinde altı patojenik tür ve 200'ün üzerinde farklı serotipin mevcut olduğu bildirilmiştir (1,2). *L. interrogans* insan ve hayvanlar için önemli bir patojen olup dünyada oldukça yaygın olarak bulunan serotipleri *L. interrogans* serovars hardjo, pomona ve grippotyphosa'yı kapsamaktadır (3).

Bu serotipler içerisinde *L. interrogans* serovar hardjo (*L. hardjo*) sığırlarda yavru atma, infertilite, neonatal

ölüm veagalaksi gibi bozukluklara sebep olduğundan ekonomik olarak büyük önem arz etmektedir (4,5). Bu serotipin, dünyanın her tarafında yaygın olduğu özellikle İngiltere, Hollanda, Belçika, Yeni Zelanda ve Avustralya gibi ülkelerde ciddi ekonomik kayıplar oluşturduğu ve zoonotik olarak büyük önem taşıdığı bildirilmektedir (5,6,7,8). Sığırlar, bu mikroorganizmaları genellikle böbrek ve genital organlarında herhangi bir klinik belirti göstermeksizin uzun süre taşımakta ve idrarları yoluyla çevreyi kontamine etmektedirler (8,9). Hatta bazı hayvanların hayatları boyunca taşıyıcı olarak kalabilecekleri bildirilmektedir (8). Enfeksiyonun latent seyretmesi ve taşıyıcı sığırların tespit edilmesinin güç

olması, hem sığır populasyonları, hem hayvan yetiştiricileri ve hem de diğer insanlar için önemli bir tehdit unsuru oluşturmaktadır. Leptospira türlerinin insanlarda da akut ateş, baş ağrısı, kas ağrısı ve ikterus gibi bozukluklara sebep oldukları bilinmekte ve hastalığın kontrolü dolaylı olarak insan sağlığını da ilgilendirmektedir (10,11).

Leptospirosis'in teşhisi zor olup istenilen düzeyde sensitivite ve spesifisiteye sahip bir test mevcut değildir. Bakteriyolojik teşhis en güvenilir olmasına rağmen bazı dezavantajlarından dolayı rutin teşhiste kullanılmamaktadır. Bu dezavantajların başlıcaları testlerin yorucu olması ve uzun zaman almasıdır (3-6 ay) (6,12). Bu nedenle Leptospirosis'in teşhisinde genellikle immunolojik metotlara başvurulmaktadır. İmmunolojik testler içerisinde en yaygın olarak kullanılan ve uluslararası standart test olarak kabul edilen metot Mikroskopik Aglutinasyon Testi (MAT)'dir. Bunun yanı sıra özellikle son zamanlarda ELISA'nın değişik varyasyonları da kullanılmaya başlanmış ve bazı yönleriyle MAT'tan daha avantajlı olduğu bildirilmiştir (13,14). Bu testlerin dışında bazı çalışmalarda Komplement Fiksasyon testi (15,16), İmmunocomb (13) ve İmmunofloresan testi (17) gibi serolojik testler de Leptospirosis'in teşhisinde kullanılmıştır.

Moleküler biyolojide son yıllarda meydana gelen gelişmeler, özellikle DNA problemleri ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)'nin geliştirilmesi tüm mikroorganizmalarda olduğu gibi Leptospirosis'in teşhisinde de yeni bir boyut oluşturmuştur. Ancak bu metotlar pahalılık ve yetişmiş personel eksikliği gibi nedenlerden dolayı henüz rutin olarak kullanılmamaktadır. Ayrıca klinik materyalden DNA ekstraksiyonu için uygun ve etkili bir metodun henüz bulunmaması da bu tekniklerin kullanımını sınırlamaktadır (12).

İngiltere'de yapılan birkaç serolojik çalışmada, sığırlarda *L. hardjo*'ya karşı %30'lardan %60'lara değişen oranlarda seropozitiflik saptanmıştır (13,18). Hollanda, Amerika ve Belçika'da yapılan serolojik çalışmalarda ise sırasıyla %30 (11,19), %22 (20) ve %9.2 (5) oranlarında prevalans değerleri bulunmuştur.

Yurdumuzda Leptospirosis'in varlığı ilk olarak 1922 yılında ortaya konulmuştur (21). Sığırlardan Leptospira izolasyonu ise ilk olarak 1954 yılında Özgen ve Tunus (22) tarafından yapılmıştır. Yine aynı dönemde, başka bir araştırmacı MAT ile teşhisin yanı sıra etken izolasyonunda da başarılı sonuçlar elde etmiştir (23).

Yurdumuzda değişik zaman dilimlerinde ve değişik hayvan gruplarında MAT ile yapılan geniş kapsamlı birkaç serolojik çalışmada %8 'den (24) %20'lere (25,26,27) varan oranlarda pozitiflik bildirilmiştir. Bu çalışmalarda en yaygın olarak saptanan serotipler *L. sejroe-hardjo* prajitno (*L. hardjo*) ve *L. grippotyphosa* olarak rapor edilmiştir. Özdemir (24) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, hastalığın Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde daha yaygın olduğu görülmüş ve incelenen 74 ilden sadece 13 tanesinde müspet reaksiyon saptanamamıştır.

Leptospirosis'in yöremizdeki prevalansı bilinmemektedir. Bu çalışmada hastalığın Elazığ ve ilçelerindeki sığır populasyonlarındaki prevalansının referens test olarak kabul edilen MAT ile araştırılması amaçlandı. Çalışmada dünyada ve yurdumuzda yaygın olarak bulunduğu bildirilen dört farklı serotipe karşı seropozitiflik araştırıldı.

### Materyal ve Metot

**Kan Serumları :** Haziran-Kasım 1997 aylarında Elazığ ili merkez köylerden ve Baskil, Keban, Maden, Sivrice, Palu ve Kovancılar ilçelerindeki değişik yaş ve ırklardaki 395 sığırdan kan serum numuneleri alınarak Leptospira antikorları yönünden incelendi. Örneklerin 237'si dişilerden ve 158'i erkeklerden alındı. Örneklerin 186'sı 0-12 aylık, 96'sı 13-24 aylık ve 113'ü ise 25 aylık ve daha yaşlı hayvanlardan toplandı.

Örnek sayısını belirlemede Leptospirosis'in yöredeki prevalansı bilinmediği için %95 güven aralığında %50 tahmini prevalans ve %5'lik hata payı kriter alındı. Bu işlemler Epi-Info 6 adlı epidemiyolojik bir bilgisayar programında hesaplandı (28). Ayrıca yaş, cinsiyet ve ilçelere göre elde edilen pozitiflik oranlarını karşılaştırmak amacıyla chi squared ( $\chi^2$ ) testi kullanıldı.

**Kültürler:** Canlı antijen hazırlamak amacıyla Kraliyet Tropikal Enstitüsü'nden (Laboratory of Tropical Hygiene, Department of Biomedical Research, Amsterdam-The Netherlands) temin edilen referens *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. grippotyphosa* ve *L. icterohaemorrhagiae* kültürleri kullanıldı.

**Besi Yeri:** Canlı antijen hazırlanmasında EMJH Leptospira vasatı kullanıldı.

**Antijen Hazırlanması:** MAT'ta gerekli olan canlı antijenler Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ndeki Leptospira laboratuvarında üretildi ve

testler bu laboratuvarlarda gerçekleştirildi. Sıvı besi yerine inokule edilen *Leptospira* kültürleri 30-32 °C'de 4-14 gün inkübe edildiler. Yoğunluğu  $1-2 \times 10^8$  bakteri/ml olan *Leptospira* kültürleri antijen olarak kullanıldı. Leptospiraların yoğunluğunun saptanmasında direkt sayım yönteminden yararlanıldı (29).

**Serum Sulandırılması ve MAT'ın Yapılışı:** Öncelikle pozitif serum örneklerinin tespit edilmesi amacıyla, serum örnekleri pozitiflik alt sınırı olarak kabul edilen 1/100 oranında sulandırıldılar. Sulandırma işleminde beşli havuz sisteminden yararlanıldı. Bu yöntemle göre tüpler içerisine 4.5 ml fizyolojik tuzlu su konuldu. Bu tüplerden her birine beş farklı serumdan 0.1 ml alınarak ilave edildi. Son hacim 5 ml'ye ulaştı ve böylelikle her serum numunesi 1/50 oranında sulandırılmış oldu.

Daha sonra her bir serumun 1/50 oranında sulandırıldığı tüplerden 0.2 ml alınarak MAT pleytlerindeki kuyucuklara konuldu ve üzerine yine aynı miktarda canlı *Leptospira* antijeni ilave edildi. Böylelikle serumun son sulandırması 1/100 oldu. Çalışmada 4 farklı serotip araştırıldığı için bu işlem her serotip için ayrı ayrı yapıldı (29).

Pleytler oda ısısında 2-4 saat tutulduktan sonra pleytlerdeki çukurlardan alınan bir öze dolusu sıvı üzeri kapatılmadan karanlık saha mikroskopunda aglutinasyon yönünden incelendi. Ayrıca her pleytte kontrol amacıyla serum ilave edilmemiş antijenler de bulunduruldu.

**Testin Değerlendirilmesi:** Karanlık saha mikroskopunda kontrol çukurlarından ve negatif serum örneklerinin bulunduğu çukurlardan alınan sıvıda mikroskop sahasında bol miktarda serbest halde canlı *Leptospira* bakterilerinin olduğu görüldü. Yer yer parlak tutunmaların bulunduğu ve mikroskop sahasındaki Leptospiraların %50 ve daha fazlasının aglutine olduğu gözlenen numuneler pozitif olarak kabul edildi. Bu tutunmaların az ya da çok oluşuna göre sahadaki *Leptospira* sayısında azalma meydana geldi.

Pozitif olarak değerlendirilen serum sulandırmalarındaki beş serumdan hangi serum örneğinin ya da örneklerinin pozitif olduğunu tespit etmek amacıyla daha önce beşli gruplar halinde yapılan sulandırma işlemi MAT'ta pozitif çıkan gruplardaki her bir serum için tek tek yapıldı.

Bu işlem sonunda pozitif olduğu tespit edilen serum ya da serum örneklerinin antikor titrelerinin tespiti amacıyla bu defa da 1/100'den başlamak suretiyle serumlar daha

yüksek oranlarda sulandırıldılar ve her bir serum sulandırılması için ayrı ayrı MAT yapıldı. MAT'ta karanlık saha mikroskopunda pozitif görüntünün meydana geldiği son serum sulandırılması o serum için *Leptospira* antikor titresini olarak tayin edildi (29).

## Bulgular

Çalışmada incelenen 395 serum örneğinden sekiz (%2.03) tanesinde *Leptospira* antikorları yönünden pozitiflik saptandı. Pozitif olan numunelerden yedi tanesinin (%1.77) *L. hardjo*, bir tanesinin (%0.25) ise *L. grippotyphosa* antijeni ile aglutinasyon verdiği görüldü. Diğer *Leptospira* serotiplerine karşı numunelerin hiçbirisinde seropozitiflik saptanmadı. Pozitif çıkan örneklerde antikor titreleri 1/200 ile 1/1600 arasında bulundu.

Üç ilçeden toplanan toplam 155 numunedan pozitif sonuç bulunmazken, Kovancılar ve Palu'da az sayıda numune (toplam 40) alınmasına rağmen bu ilçelerden sırasıyla %16.66 (2/12) ve %7.14 (2/28) oranlarında seropozitiflik saptandı ve bu oranlar diğer ilçelere göre oldukça yüksek bulundu ( $p=0.002$ ). MAT ile incelenen serum örneklerinden elde edilen pozitif sonuçların ilçelere ve *Leptospira* serotiplerine göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Pozitif sonuçlardan üç tanesi 0-12 aylık yaş grubunda, üç tanesi 13-24 aylık yaş grubunda ve geri kalan iki tanesi de 25 aylık ve daha büyük yaşta sığırlarda saptandı. Test sonuçları cinsiyete göre değerlendirildiğinde, pozitif serumların beş tanesinin dişi ve üç tanesinin ise erkek hayvanlardan alındığı tespit edildi. Değişik cinsiyet ve yaş gruplarında elde edilen pozitiflik oranları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmadı ( $p>0.05$ ). *Leptospirosis*'in seroprevalansının yaş gruplarına ve cinsiyete göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir.

## Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada Elazığ ve ilçelerindeki sığır popülasyonlarını temsil edecek sayıdaki bir örnekten alınan kan numunelerinde dünyada ve Türkiye'de yaygın olduğu bildirilen *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. grippotyphosa* ve *L. icterohaemorrhagiae* serotiplerine karşı MAT ile antikor varlığı araştırıldı. Çalışma kapsamına alınan toplam 395 sığırın %2.03'ünde seropozitiflik saptandı. Bu oranın gerek dünyada ve gerekse yurdumuzda yapılan

İlçe	Serum Sayısı	<i>L. hardjo</i>	<i>L. grippotyphosa</i>	<i>L. pomona</i>	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	Toplam
Merkez	140	1(%0.71)	1 (%0.71)	-	-	2 (%1.42)
Maden	73	-	-	-	-	-
Baskil	60	2(%3.33)	-	-	-	2 (%3.33)
Keban	43	-	-	-	-	-
Sivrice	39	-	-	-	-	-
Palu	28	2(%7.14)	-	-	-	2 (%7.14)
Kovancılar	12	2(%16.66)	-	-	-	2 (%16.66)
Toplam	395	7(%1.77)	1(%0.25)	-	-	8 (%2.03)

Tablo 1. MAT ile incelenen sığır serum örneklerinden elde edilen pozitif sonuçların ilçelere ve Leptospira serotiplerine göre dağılımı.

Yaş grubu (ay)	Serum sayısı		<i>L. hardjo</i>		<i>L. grippotyphosa</i>		Toplam pozitif
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	
0-12	75	111	1 (%1.3)	2 (%1.8)	-	-	3 (%1.61)
13-24	51	45	2 (%3.92)	-	-	1(%2.2)	3 (%3.13)
25-	111	2	2 (%1.8)	-	-	-	2 (%1.77)
Toplam	237	158	5 (%2.11)	2 (%1.26)	-	1(%0.63)	8 (%2.03)

Tablo 2. Leptospirosis'in seroprevalansının yaş gruplarına ve cinsiyete göre dağılımı.

benzer çalışmalarla mukayese edildiğinde düşük olduğu görülmektedir. Ancak bu çalışmaların tamamına yakınında serum örnekleri klinik olarak Leptospirosis şüpheli sürülerden toplanmıştır. Dolayısıyla hastalığın hayvan popülasyonlarındaki gerçek prevalansını yansıtması söz konusu olamaz.

Doğu Anadolu bölgesindeki illerden Erzurum ve Kars'ı da kapsayan bir çalışmada sırasıyla %12 ve %30 oranlarında seropozitiflik bildirilmiştir (26). Bu çalışmada serumların toplanmasında örnekleme tesadüfi olarak yapılmamış ve öncelikli olarak klinik Leptospirosis şüphesi görülen odaklardan numuneler toplanmıştır. Bu illerin ilçeleri tek tek incelendiğinde, bazı ilçelerde çok az sayıdaki örneklerden %40-50'lere varan oranlarda pozitiflik saptanması, enfekte olma ihtimali yüksek olan sürülerden çok sayıda numune alındığını göstermektedir. Bu durum da dolaylı olarak iller bazındaki seropozitiflik oranını etkilemiştir.

Özdemir (24) tarafından gerçekleştirilen ulusal bazdaki bir çalışmada, tesadüfi örnekleme ile 74 ilden toplanan 15.596 sığır serumunun %8'inde müspet reaksiyon elde edilmiş ve bu çalışmada saptanan serotiplerin %82'sinin *L. hardjo* ve %18'inin ise *L. grippotyphosa* olduğu bildirilmiştir. Adı geçen çalışmanın kapsamına giren Elazığ ilinde, 185 serumda yedi farklı

Leptospira serotipine karşı antikorlar araştırılmış ve 5 örnekte (%2.7) sadece *L. hardjo*'ya karşı seropozitiflik bulunmuştur (V. Özdemir: yayınlanmamış veriler). Bizim çalışmamızda da bu orana yakın bir seroprevalansın (%2.03) elde edilmesi ve yukarıdaki serotiplerin saptanması bu ulusal çalışma ile paralellik göstermektedir. Ancak Özdemir'in (24) çalışmasında elde edilen total seropozitiflik oranı (%8) bizim çalışmamıza göre yüksektir.

Yurdumuzun diğer bölgelerine nazaran yöremizde Leptospirosis'in seroprevalansının düşük olması bölgesel farklılıklardan kaynaklanabilir. Bölgesel faktörler içerisinde önemli olarak iklim, toprak yapısı ve hayvan yetiştirme farklılıkları ya da diğer epidemiyolojik faktörlerin rolü söz konusu olabilir. Almanya, Hollanda ve İsviçre gibi ülkelerde yapılan çalışmalarda bu faktörlerin rolünün altı çizilmiştir (19,30,31). Belçika'da yapılan bir çalışmada hastalığın daha fazla yağış alan ülkenin güneyinde kendini gösterdiği rapor edilmiştir (5). Ancak epidemiyolojide önemli yer tutan konakçı, etken ve çevre arasındaki ilişki ve dolayısıyla bu ilişkiyi etkileyen determinantların bu hastalığındaki rollerinin kantitatif olarak ortaya konması ile Leptospirosis'in oluşum mekanizmasını anlamak ve dolayısıyla hastalığa karşı etkili kontrol stratejileri geliştirmek mümkün olabilecektir.

Bütün bunlara rağmen, bu çalışma ile yurdumuzda yapılan diğer çalışmalar arasındaki farklılıkların temel nedeninin örneklemeden kaynaklandığı kanaatindeyiz.

Bu çalışmada, çalışma popülasyonu yavru atma durumları ve diğer klinik belirtiler göz önüne alınmaksızın görünüşte sağlıklı olan sığırlardan tesadüfi örnekleme metodu ile seçildi. Numuneler Elazığ merkeze bağlı köylerden ve altı ilçeden temin edildi. Pozitif sonuçların iki tanesi merkez köylerden ve geri kalan altı müspet sonuç toplam üç ilçeden elde edildi. Leptospirosis'in seroprevalansı ilçelere göre önemli ölçüde farklılık gösterdi ( $p=0.002$ ). İlçelerden Kovancılar ve Palu'da toplam 40 numunenin dört (%10) tanesinde seropozitiflik saptanması birbirine çok yakın olan bu ilçelerde Leptospirosis'in önemli bir potansiyele sahip olduğu kanısını doğurmaktadır. Bu ilçelerde hayvan bakım, besleme ve barındırma koşullarının diğer ilçelere nazaran oldukça kötü olduğu bilinmektedir ve bu kötü hijyen koşullarının diğer pek çok hastalıkta olduğu gibi Leptospirosis için de uygun ortam oluşturması muhtemeldir. Ancak bunu kanıtlamak için bu ilçelerden daha kapsamlı incelemeler yapmak gerekmektedir.

Serum örnekleri alınan sığırların yaş ve cinsiyetleri ile ilgili veriler de kayıt edildi. Pozitif sonuçların yaş ve cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde yaş ve cinsiyete göre pozitiflik yönünden istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmedi ( $p>0.05$ ). Ancak pozitif sayısının çok az olması istatistiksel olarak güçlü ve güvenilir bir karşılaştırma ve değerlendirme yapılmasını engellemektedir. Her ne kadar yaş ya da cinsiyetin Leptospirosis'e etkisi ile ilgili somut bir çalışma mevcut değilse de genel olarak diğer enfeksiyöz hastalıklarda olduğu gibi genç hayvanların daha duyarlı olması normaldir. Ancak bunu kantitatif olarak gösterebilmek için yeterli sayıda pozitif sonucun elde edilerek yaşa göre dağılımını incelemek gerekir. Bununla birlikte diğer hayvan türlerinde (köpek) yapılan çalışmalarda cinsiyetin ve yaşın Leptospirosis'te önemli rol oynadığı vurgulanmış ve dişilerin erkeklere nazaran (32), yaşlıların da gençlere nazaran daha duyarlı oldukları ileri sürülmüştür (32,33).

Sekiz örnekten yedisinin *L. hardjo* olarak belirlenmesi, bu serotipin dünyada ve ülkemizin değişik kesimlerinde olduğu gibi yöremizde de en yaygın serotip olduğunu göstermektedir. *L. hardjo*'nun başta yavru atma olmak üzere düşük süt verimi ve infertilite gibi hayvanların elden çıkarılmasında en önemli nedenleri teşkil eden bozukluklara sebep olması ekonomik etki bakımından

dikkate alınmaya değerdir. Bu çalışmada saptanan diğer serotip, *L. grippotyphosa* da ülkemizde daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (26). *L. grippotyphosa*'nın insanlarda ciddi enfeksiyonlara sebep olduğu ve özellikle Asya kıtasının bazı kesimlerinde kendini yaygın olarak gösteren ikterusun nedeni olduğu bilinmektedir (10). Bu serotiplerin yanı sıra çalışmada araştırılan diğer iki serotipe tesadüf edilmedi.

Test edilen serumlardaki antikor titreleri göz önüne alındığında pozitif örneklerin tümünde 1/200 ve üzerinde olduğu görüldü. Bu bulgu seropozitif olarak tespit edilen hayvanlarda enfeksiyonun henüz akut safhada olduğunu akla getirmektedir. Zaten serolojik incelemelere dayalı olarak yapılan kesit (cross-sectional) çalışmalarda, ki bu çalışma ve Türkiye'de şimdiye kadar Leptospirosis ile ilgili yapılan çalışmaların hepsi bu tür bir çalışmadır, ancak enfeksiyona yeni yakalanmış bireylerin saptanmasının mümkün olabileceği bildirilmiştir (18). Bu sebeple serolojik incelemelerle hem eski (kronik) ve hem de yeni (akut) enfekte olmuş bireyleri saptamak için longitudinal (kohort) çalışmaların yapılmasının daha güvenilir olduğu ortaya çıkmaktadır.

Leptospirosis'in teşhisinde referans test olarak kullanılan MAT'ın sensitivitesi ve spesifitesi iyi olmakla beraber uzun süreli enfeksiyonlarda sensitivitesinin %50'den bile düşük olduğu bildirilmiştir (34). Son zamanlarda özellikle bazı ELISA varyantlarının Leptospirosis'e başarıyla uyarlanması MAT'ın referans test olarak uygunluğunun sorgulanmasına yol açmıştır. Canlı antijen kullanılması ve kronik enfeksiyonlarda testin sensitivitesinin çok düşük olması MAT'ın önemli dezavantajları olarak kendini göstermektedir. Bunun yanı sıra MAT'ta serotipler arasında kros reaksiyonların olabileceği de bildirilmiştir (35). MAT ile ELISA'nın karşılaştırılmasına yönelik olarak yapılan çalışmalarda iki test arasındaki korrelasyonun %74 ile %90 arasında değiştiği bildirilmiştir (36,37). ELISA'nın MAT'a karşı önemli avantajları olarak canlı antijen kullanılmaması ve IgG ve IgM'ye spesifik olarak uygulanabildiği için enfeksiyonun zamanının, yani akut veya kronik olduğunun belirlenebilmesidir. Ayrıca ELISA'nın MAT'tan daha sensitif olduğu da yapılan birkaç çalışmada ortaya konmuştur (13,14). Bütün bu özellikler MAT'ın aleyhine olmakla birlikte bu test halen referans olarak hem bireysel hem de sürü bazında kullanılmaya devam etmektedir. Bu testin halen önemini koruması belki de bir enfeksiyonda rol alan serogrupların belirlenmesinin epidemiyolojik olarak büyük önem taşımasındandır (35).

Srivastava (38), MAT'ın teşhisteki etkinliğini artırmaya yönelik olarak yaptığı bir çalışmada özellikle serumların test öncesi ısı ile inaktivasyonunun (56°C'de 30 dak) MAT titrelerini önemli ölçüde artırdığını saptamıştır. Isının olumlu etkisinin reaksiyonda etkili olan ve sonuçların yorumlanmasını güçleştiren komplementin inaktivasyondan kaynaklandığı bildirilmiştir (39).

Sonuç olarak, Leptospirosis'in yöremiz sığır popülasyonunda, yurdumuzun diğer bölgelerine göre daha düşük bir prevalansa sahip olduğu ortaya

çıkılmaktadır. MAT ve ELISA gibi serolojik testler, Leptospirosis'in teşhisinde önemli avantajlara sahip olmakla beraber, klinik belirti göstermeksizin hastalığın yayılmasında potansiyel tehlike oluşturan taşıyıcı hayvanların saptanmasında yetersiz kalmaktadır. Hastalığın başarılı bir şekilde kontrolü için hastalığın latent seyrettiği hayvanları tespit edebilecek daha güvenilir metotlara ihtiyaç vardır. Son yıllarda geliştirilen PCR gibi moleküler teknikler bu konuda favori alternatif olabilir.

## Kaynaklar

1. Kmetz, E. and Dikken, H.: Classification of the species *Leptospira interrogans* and history of its serovars. Groningen, University Press, 1993; 1-8: 89-96.
2. Yasuda, P.H., Stigerwalti A.G., Sulzer, K.R., Kaufmann, A.F., Rogers, F. and Brenner, D.J.: Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1987; 37, (4): 407-415.
3. Faine, S.: Guidelines for the control of Leptospirosis. WHO offset publication, No:67, Geneva, World Health Organization 1982; 20: 43.
4. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B. and Carter, G.R.: *Clinical Veterinary Microbiology*, Wolfe Publishing, Mosby-Year Book Europe Limited, Spain, 1994; p 296.
5. Dom, P.P., Haesebrouck, F., Vandermeersch, R., Descamps, J. and Van Ommeslaeghe, K.: Prevalence of *Leptospira interrogans* serovar hardjo antibodies in milk in Belgian dairy herds. *The Veterinary Quarterly*, 1991; 13, (2): 118-120.
6. Smith, C.R., Ketterer, P.J., McGowan, M.R. and Corney, B.G.: A review of laboratory techniques and their use in the diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in cattle. *Aust. Vet. J.*, 1994; 71, (9): 290-294.
7. Corney, B.G., McClintock, C.S., Colley, J. and Elder, J.K.: Genotypes of *Leptospira* isolated from Queensland cattle. *Aust. Vet. J.*, 1996; 73, (2): 75-76.
8. Ellis, W.A., Songer, J.G., Montgomery, J. and Cassells, J.A.: Prevalence of *Leptospira interrogans* serovar hardjo in the genital and urinary tracts of non-pregnant cattle. *Vet. Rec.*, 1986; 118: 11-13.
9. Thiermann, A.B.: Experimental leptospiral infections in pregnant cattle with organisms of the hebdomadis serogroup. *Am. J. Vet. Res.* 1982; 43, (5): 780-784.
10. Abdollahpour, G., English, A.W. and Tasler, J.: Isolation of *Leptospira interrogans* serovar grippotyphosa from a heifer in New South Wales. *Aust. Vet. J.*, 1996; 73, (3): 109-110.
11. Hartman, E.G., Franken, P., Bokhout, B.A. and Peterse, D. J.: *Leptospire bij runderen; melkerskoorts bij de veehouders (Leptospirosis in cattle and 'milker's fever' in dairy farmers)*. *Tijdschrift-voor-Diergeneeskunde*, 1989; 114, (3): 131-135.
12. Gerritsen, M.J., Olyhoek, T., Smits, M.A. and Bokhout, B.A.: Sample preparation method for Polymerase Chain Reaction-based semiquantitative detection of *Leptospira interrogans* serovar hardjo subtype hardjobovis in bovine urine. *J. Clin. Microbiol.*, 1991; 29, (12): 2805-2808.
13. Woodward, M.J., Swallow, C., Kitching, A., Dalley, C. and Sayers, A.B. *Leptospira hardjo* serodiagnosis: a comparison of MAT, ELISA and Immunocomb. *Vet. Rec.*, 1997; 141: 603-604.
14. Thiermann, A.B. and Garrett, L.A.: Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to *Leptospira interrogans* serovars hardjo and pomona in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 1983; 44, (5): 884-887.
15. Hodges, R.T. and Weddell, W.: Adaptation of a complement fixation test for large scale serological diagnosis of bovine leptospirosis. *NZ Vet. J.*, 1977; 25, (10): 261-262.
16. Hodges, R.T. and Day, A.M.: Bovine leptospirosis: the effects of vaccination on serological responses as determined by complement fixation and microscopic agglutination tests. *NZ Vet. J.*, 1987; 35, (5): 61-64.
17. Dhaliwal, G.S., Murray, R.D., Dobson, H., Montgomery, J., Ellis, W.A. and Baker, J.R.: Presence of antigen and antibodies in serum and genital discharges of heifers after experimental intrauterine inoculation with *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *Res. Vet. Sci.*, 1996; 60, (2): 157-162.
18. Hathaway, S.C., Little, T.W.A. and Pritchard, D.G.: Problems associated with the serological diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in bovine populations. *Vet. Rec.*, 1986; 119: 84-86.
19. Bokhout, B.A., Peterse, D.J., Koger, P.L. and Terpstra, W.J.: Het voorkomen van hardjo-positieve melrunderen in Noord-Nederland. Een orientierend serologisch onderzoek (Preliminary serological survey for hardjo-positive cows in the northern Netherlands). *Tijdschrift-voor-Diergeneeskunde*, 1989; 114, (3): 123-130.

20. Behymer, D.E., Riemann, H.P., Utterback, W., D-Elmi, C. and Franti, C.E.: Mass screening of cattle sera against 14 infectious disease agents, using an ELISA system for monitoring health in livestock. *Am. J. Vet. Res.*, 1991; 52, (10): 1699-1705.
21. Şerif, H.: The morbus well cases İstanbul. İstanbul seririyatı, 2:101. (Cited by Hakiöğlü), 1922.
22. Özgen, H. ve Tunus, M.: Türkiye'de ilk olarak *Leptospira bovis* suşunun kültürel geliştirilmesi. *Türk. Vet. Hekim. Derg.*, 1954; 24, (98-99): 1865-1874.
23. Hakiöğlü, F.: Uzun Köprü sığırlarında serolojik ve kültürel metodlarla tespit edilen *Leptospirosis* hastalığı. *Türk. Vet. Hek. Der. Derg.*, 1956; 26, (114-115): 2767-2796.
24. Özdemir, V.: Türkiye'de *Leptospirosis*'in dağılımı ve serotiplendirmesi üzerine bir çalışma. I. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 27-29 Eylül, Ankara, 1994; p 34.
25. Bulu, A.A. ve Ergün, O.: Yurdumuz sığır *Leptospirosis*'ine karşı etkin bir aşı hazırlanması üzerinde çalışmalar. *Etlık Vet. Mik. Enst. Derg.*, 1987; 6, (1): 23-24.
26. Bulu, A.A., Dörterler, R., Özkan, Ö. ve Hoştürk, F.: Doğu Anadolu'nun bazı illerinde (Kars, Artvin, Gümüşhane, Erzurum) sığır ve koyunlarda *Leptospirosis* vakaları, yayılışı ve serotipleri üzerine araştırma. *Etlık Vet. Mikrob. Enst. Derg.*, 1990; 6, (6): 49-60.
27. Vardar, T.: 1963-1974 yılları arasında yurdumuz evcil hayvanlarında görülen *Leptospirosis* olayları. *Etlık Vet. Bakt. Enst. Derg.*, 1976; 4, (5-10): 147-162.
28. Dean, A.G., Dean, J.A., Coulombier, D., Brendel, K.A., Smith, D.C., Burton, A.H., Dicker, R.C., Sullivan, K.M., Fagan, R.F. and Amer, T.G.: Epi-Info, Version 6: A word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. Center for disease control and prevention, Atlanta, Georgia, U.S.A., 1994.
29. Faine, S.: Guidelines for the control of *Leptospirosis*. World Health Organisation, Geneva, 1982.
30. Corboz, L., Leisi, V., Bertschinger, H.V.: Epidemiology of *Leptospirosis* in Switzerland-Regional prevalence of antibodies to *L. hardjo* in the bovine population. *Isr. J. Vet. Med.*, 1987; 43: 323-326.
31. Schonberg, A., Brem, S.: Serological reactions in cattle and sheep to *Leptospira interrogans* serogroup sejeoe. *Isr. J. Vet. Med.*, 1987; 43: 310-312.
32. Ülgen, M., Çetin, C., Özdemir, V. and Büyükçoban, M.: Bursa ilindeki sokak köpeklerinde *Leptospirosis*'in seroprevalansı. *Etlık Vet. Mik. Derg.*, 1997; 9, (1): 108-114.
33. Arimitsu, Y., Fukumura, K. and Shingaki, Y.: Distribution of *Leptospirosis* among stray dogs in the Okinawa islands, Japan: comparison of the microcapsule and microscopic agglutination tests. *Br. Vet. J.*, 1989; 145: 473.
34. Blackmore, D.K.: In proceedings of Immunology in Clinical Practice, edited by B.S. Cooper, Foundation for Continuing Education of New Zealand Veterinary Association, Palmerston North, New Zealand, 1985; p:236.
35. Brown, P.D. and Levett, P.N.: Differentiation of *Leptospira* species and serovars by PCR-restriction endonuclease analysis, arbitrarily primed PCR and low-stringency PCR. *J. Med. Microbiol.*, 1997; 46: 173-181.
36. Staak, C., Mekapratreep, M., Kampe, U., Schonberg, A.: Serological reactions of *Leptospirosis*-positive (MAR and CFT) bovine sera in ELISA. *J. Vet. Med. Series-B.*, 1990; 37, (8): 581-586.
37. Bercovich, Z., Taajjke, R., Bokhout, B.A.: Evaluation of an ELISA for the diagnosis of experimentally induced and naturally occurring *Leptospira hardjo* infections in cattle. *Vet. Microbiol.* 1990; 21, (3): 255-262.
38. Srivastava, S.K.: Factors affecting anti-leptospira agglutinin titres in sera of animals and man. *Indian J. Anim. Sci.*, 1988; 58, (6): 632-634.
39. Malkin, K.: Enhancement of *Leptospira hardjo* agglutination titre in sheep and goat serum by heat inactivation. *Can. J. Comp. Med.*, 1984; 48: 208-210.