

AFYONKARAHİSAR İLİNDE KOYUNLARDA MAVİ DİL VİRUS ENFEKSİYONUNUN KOMPETATİF ELISA İLE ARAŞTIRILMASI

Sibel Gür^{1@}

An Investigation of Blue Tongue Virus Infection Using Competitive ELISA in Afyonkarahisar province

Geliş Tarihi: 01.04.2008

Kabul Tarihi: 03.07.2008

Özet: Mavi Dil Virus (Blue Tongue Virus-BTV) enfeksiyonları koyunların önemli abort etkenleri arasındadırlar. Bu çalışmada, BTV enfeksiyonunun varlığını serolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, Afyonkarahisar ilindeki 4 ilçedeki 7 köyden toplam 568 koyun örneklenildi. Serolojik muayenede ruminant türlerinde tüm BTV serotiplerini belirlemek için geliştirilmiş kompetatif ELISA kullanıldı. Test sonuçlarına göre, 568 örnekten 141'inin (%24.8) BTV antikor pozitif olduğu belirlendi. Köy bazında ise %11.1 ile %42 arasında değişen oranlarda seropozitiflik tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Afyonkarahisar, Antikor, Mavi Dil, seroloji

Summary: Bluetongue Virus (BTV) infection is among the most important abortive agents in sheep. This study was performed for investigate the entity of BTV infection as serologically. For this purpose, total of 568 sheep were sampled in 7 village at 4 different territory in Afyonkarahisar Province. Competitive ELISA which developed to detect all serotypes of BTV in ruminant species was used for serological examination. Test results indicated that, out of 568 samples, 141 (24.8%) were found to be antibody positive for BTV. The proportions were varied among 11.1% and 42% in the village basis.

Key Words: Afyonkarahisar, Antibody, Bluetongue, serology.

Giriş

Mavi Dil Virus (Bluetongue virus, BTV) enfeksiyonu bilinen tüm ruminant türlerinde görülebilen arbovirusların neden olduğu bir viral enfeksiyondur. Etken çift sarmallı, 10 segmentli, RNA genomu içeren Reoviridae familyasındaki Orbivirus'tur (Studdert ve ark., 1966; Verwoerd, 1969; Els ve Verwoerd; 1969). Bugüne kadar BTV'unun 24 serotipi tanımlanmıştır (Mellor ve ark., 2000). BTV enfeksiyonları uluslar arası bir problem olduğundan Office des International Epizooties'in A listesinde yer alır. Dünyada yılda yaklaşık 3 milyar dolarlık ekonomik kayba yol açmaktadır (Tabachnick ve ark., 1996). Sadece Akdeniz havzasında 1998-2001 yılları arasında 300.000'den fazla koyunun ölümüne yol açtığı Mellor ve Wittmann (2002) tarafından bildirilmiştir.

Mavi Dil virusu sperma ve vertikal yolla da bulaşabilmekle birlikte, asıl olarak bir çok arthropod türüyle, özellikle de Culicoides türleri ile (Diptera, Ceratopogonidae spp.) ile yayılmaktadır. Culicoides türlerinin optimal uçuş aktiviteleri için ortalama %60

nem ve 13-14°C'lik bir çevre ısısı gerekmektedir. Enfekte hayvanlardan kan emen Culicoidesler yaşam boyu enfekte kalırlar ve ısırıldığı duyarlı hayvanlara etkeni bulaştırırlar. Culicidae familyasında erkeklerin yaşam süreleri ortalama 15 gün kadar iken, dişiler 1-2 ay kadar yaşarlar, fakat 6 ay kadar yaşayabilen türler de mevcuttur (Dik, 2003). Enfekte olan hayvanların viremi süresi enfeksiyonun devamlılığı açısından son derece önemlidir. BTV'nin koyunlardaki viremi döneminin maksimum 54 gün (Koumbati ve ark., 1999), sığırlarda ise maksimum 112 gün olduğu bildirilmiştir (Du Toit, 1962). Sahada virus sirkülasyonunun devam edebilmesi için virusun kış aylarında da canlılığını koruyabilmesi gerekmektedir. Bu durum; vektörlerin yıl boyu aktivitelerini devam ettirebilmeleri (Mellor ve Boorman, 1995) ve konakçı ruminant türlerinde persiste enfeksiyonun uzun süre devam edebilmesi ile açıklanmaktadır (Takamatsu ve ark., 2003).

BTV enfeksiyonunun konakçı spektrumunda evcil ruminantlar bulunmaktadır. Ancak vahşi ruminant türleri de enfeksiyona duyarlıdırlar. Enfeksiyon yaklaşık

5 ile 20 gün arasında değişen inkubasyon süresinin ardından klinik olarak; ateş, depresyon, aşırı salivasyon, seröz-mukopurulent-kanlı burun akıntısı, yüzde ödem, ağız mukozasında hiperemi ve ülserasyon, koronitis, tırnak düşmesi, abort ve ölüme kadar giden semptomlarla seyreder (Hardy ve Price, 1952; Mertens, 1999).

Afyonkarahisar ili sığır ve koyun sayısı bakımından hayvancılığın en yoğun yapıldığı illerden birisidir. Sert iklim özellikleri bakımından vektörlerle bulaşan enfeksiyonların daha az görüleceği düşünülse bile, sulak alanların fazlalığı ve ildeki sığır varlığının fazlalığı, virusun sahada uzun süre sirkülasyonda kalmasını sağlayabilen önemli faktörler olarak düşünülebilir. İlde daha önce konu ile ilgili herhangi bir çalışma bildirilmemiştir. Bu araştırmada Afyonkarahisar ilinde koyunculunun yoğun olarak yapıldığı yerleşimlerden toplanan kan örneklerinde Mavi Dil Virus (BTV) enfeksiyonunun varlığını ve oranını belirlemek için, indirekt ELISA kullanılarak serolojik tarama yapılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

a. Örneklenen hayvanlar ve serum örnekleri: Araştırmada Afyon ilinde merkeze bağlı bir köy ile üç farklı ilçedeki toplam 7 köyden, yaşları 1 ile 5 arasında değişen ve örnekleme sırasında son iki hafta içerisinde tümü abort yapmış olan toplam 568 koyundan silikonlu tüplere kan örnekleri alındı. (Örneklemenin yapıldığı sürülerde gebe hayvanlarda %25 ile %75 aralığındaki oranlarda abort olduğu sürü sahiplerinden alınan anemnez ile belirlendi. Örnekleme abortların en yoğun olduğu 2 ay süresince (Aralık 2005 ile Ocak 2006) aylarında yapıldı. Soğuk zincir altında laboratuara getirilen örnekler soğutmalı santrifüjde 3000 rpm'de 10dk santrifüj edildikten sonra serumlar stok tüplerine aktarıldı ve testte kullanılmaya kadar

-20°C'lik derin dondurucuda saklandı.

b. Kompetatif ELISA: Elde edilen kan serum örneklerinde Mavi Dil spesifik antikorların tespit edilebilmesi için VMRD (USA) firmasının ürettiği Mavi Dil kompetatif ELISA kiti kullanıldı. Testler üretici firmanın önerdiği prosedüre uygun şekilde yapıldı. Test sonunda pleytler ELISA Reader'da 630nm'de okutulurken elde edilen veriler hesaplandı.

Bulgular

Bu araştırmada, ilçe bazında en yüksek seropozitivite oranı %32.3 (34/105) ile Çay ilçesine bağlı Cumhuriyet köyündeki 4 farklı koyun sürüsünden elde edilen örneklerde belirlenirken, Sultandağı'nda %11.1 (4/36), Merkez-Anıtkaya'da ise %18.3 (11/60) olarak tespit edildi. Emirdağ ilçesindeki Çatallı, Çiftlik, Eskiakören ve Yarıkkaya köylerinde sırasıyla %21.2 (24/113), %16.4 (16/97), %28.9 (31/107) ve %42 (21/50) seropozitiflik oranları belirlendi. Emirdağ ilçesinden elde toplam 367 koyundan 92'sinin (%25) BTV antikor pozitif olduğu tespit edildi.

Örneklenen toplam 7 köydeki 568 koyunun 141'inin (%24.8) Mavi Dil yönünden seropozitif olduğu ve örneklenen hayvanların seropozitiflik oranının köy bazında %11.1 ile 42 arasında değiştiği belirlendi (Tablo 1).

Tartışma ve Sonuç

Mavi Dil Virus enfeksiyonu Türkiye'de ilk kez 1944'de Hatay ilinde ortaya çıkmış ancak mücadele uygulamaları sonucunda 3 yıl içinde eradike edilmiştir (Özgünlük, 2003). Daha sonra 1977'de Ege Bölgesinde Menderes Vadisinde (Aydın) ortaya çıkmış ve ilerleyen yıllarda Akdeniz ve Marmara bölgesini de etkilediği bildirilmiştir (Yonguç ve ark., 1982; Özgünlük, 2003). Enfeksiyonun bugün Türkiye'de oldukça yaygın olduğu birçok serolojik çalışmayla

Tablo 1. Örnekleme yapılan yerler ve Mavi Dil antikor test sonuçları

Table 1. The sampled locations and Bluetongue antibody test results.

Sıra	Örneklenen ilçe ve köyler	Örnek sayısı	Mavi Dil	
			Ab (+)	(%)
1	Merkez-Anıtkaya	60	11	18.3
2	Emirdağ	367	92	25
3	Çay-Cumhuriyet	105	34	32.3
4	Sultandağı-Yenikarabağ	36	4	11.1
	Toplam	568	141	24.8

ortaya konulmuştur. Burgu ve ark. (1992) Güney, Güneydoğu ve Ege bölgelerinde koyun ve sığırlarda yaptıkları çalışmada sırasıyla %25 ve %15.5 oranlarında BTV antikor varlığı tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bulut ve ark. (2006) Konya ilinde %17.1, Burdur ilinde ise %1.5 oranlarında seropozitiflik belirlemişlerdir. Güneydoğu Anadolu'da koyunlarda Bolat (1986) %16.23, Ertürk ise (1994) %0 ile 42 arasında BTV seropozitiflik tespit etmişlerdir. Bugüne kadar ülkemizde BTV tip 4, 9 ve 16 izole edilirken (Urman ve ark., 1979; Yonguç ve ark., 1982; Taylor ve Mellor, 1994; Baylis ve Mellor, 2001), tip 2'nin varlığı ise serolojik olarak ortaya konulmuştur (Burgu ve ark., 1992).

Bu çalışmada örneklenen sürülerde Mavi Dil için tespit edilen antikor oranının (%24.8) daha önce Ege, Güney ve Güneydoğu bölgelerindeki koyunlarda bildirilen oranlara yakın olduğu görülmektedir. Afyonkarahisar ilinin mevsimsel ortalama ısı dağılımının adı geçen bölge illerine oranla bariz olarak daha düşük olmasının prevalans üzerine olumsuz etkiye sahip olacağını düşündürmektedir ancak örneklem yapılan ilçelerden Çay'da Karamık bataklığı, Sultandağı'nda Akşehir Gölü ve iki ilçe arasında Eber Gölü bulunmaktadır. Ayrıca adı geçen ilçelerde küçük ölçekli sulak-bataklık alanlar da mevcuttur. Bu coğrafi yapı, vektörlerin üremesi için uygun ortam oluşturduğundan enfeksiyonun insidensinde önemli payı olabileceği açıktır. Test verilerine göre, Çay'da tespit edilen pozitiflik %32.3 ile çalışmada belirlenen ilçe bazındaki en yüksek değerdir ve örnekler ilçe merkezine bağlı Cumhuriyet Köyündeki 4 sürüden elde edilmiştir. Emirdağ ilçesinde ise 4 farklı köyden elde edilen toplam 367 örneğin 92'sinin antikor pozitif olduğu (%25) belirlenmiş, köy bazındaki en yüksek değer %42 ile Yarıkkaya'da belirlenmiştir. Afyonkarahisar'ın merkeze bağlı Anıtkaya Köyünde %18.3 (11/60) ve Sultandağı'nda %11.1 (4/36) oranlarında seropozitiflik belirlenmiştir.

Türkiye'de *Culicoides* spp. aktivitelerinin mevsimsel dağılımı konusunda ülke profilini çıkarmaya yetecek çalışma bulunmamaktadır (Yılmaz, 1994). Uslu ve Dik (2004), Konya yöresinde yaptıkları bir araştırmada 19 değişik *Culicoides* spp.'nin varlığını belirlemiş, aktivitelerinin ise Nisan ile Ekim ayları arasında devam ettiği, Temmuz-Eylül döneminde pik seviyeye ulaştığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada örneklem Aralık 2005 ile Ocak 2006 aylarında yapılmıştır. Dolayısıyla klinik bulgu gösteren hayvana rastlanmamıştır. Ayrıca sürü sahiplerinden alınan anamnezde, örneklenen sürülerin hiç birinde daha önce abort dışında Mavi Dil'e spesifik her hangi bir bulgunun görülmediği bildirilmiştir. Örneklenen hayvanlar daha önce *Brucella* yönünden incelenmiş ve negatif olduğu belirlenmiş sürülerden seçildi ve sadece abort yapan koyunlardan kan örnekleri elde

edildi.

Mavi dil enfeksiyonu Türkiye'de ilk kez görüldüğünde ağır bir prognoz ve yüksek mortalite ile seyrettiği (Özgünlük, 2003), ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda yüksek antikor oranları tespit edilen sürülerde bile klinik semptom görülmediği, aynı şekilde dünyadaki salgınların çoğunluğunun da subklinik olduğu Mellor (1994) tarafından bildirilmiştir. Çalışılan ilde elde edilen %24.8'lik antikor varlığına rağmen, alınan ayrıntılı anamnezlerde enfeksiyonun klinik olarak varlığına dair bir veriye rastlanmamış olması da aynı şekilde hastalığının subklinik veya "sessiz" forma dönüştüğünü göstermektedir. Ancak BTV serotipleri arasında çapraz reaksiyon bulunmadığından, bölgeye yeni serotip/serotiplerin girişi söz konusu olduğunda klinik tablonun gelişimine ve ölümlere bağlı olarak ciddi ekonomik kayıpların gerçekleşebileceği olası olarak kabul edilmelidir.

Ekim 1998'den beri BTV enfeksiyonu Avrupa kıtasında kuzeye doğru yayılım göstermektedir (Toussaint ve ark, 2006). Hollanda, Belçika, Almanya, Fransa ve İngiltere dahil olmak üzere toplam 12 ülkede 6 serotip tespit edilmiş ve enfeksiyon Ocak 2007 sonrasında İsviçre ve İskandinavya'da duyarlı hayvan popülasyonlarında ciddi bir sorun olarak ortaya çıkmıştır (Toussaint ve ark, 2006). Bu yayılımın en önemli sebebi, küresel ısınmaya bağlı olarak değişen iklim şartlarında vektörlerin kış aylarında yaşamlarını önemli ölçüde sürdürebilir hale gelmeleri olarak açıklanmaktadır (Mertens, 1999; Wittmann ve ark, 2001; Purse ve ark. 2006). Vektör yayılımının artışına bağlı olarak BTV serotiplerinin sirküle ettikleri alanlar da genişlemektedir. Mellor ve ark. (2000) enfeksiyonun dünyada *Culicoides* spp.'lerinin yoğun olarak bulunduğu 35oS ve 40oN enlemleri arasında yaygın olarak görüldüğü ve kuşağın 50°N kadar ulaşabildiğini bildirmişlerdir. Son yıllarda Avrupa ülkelerindeki bildirimler (Wittmann ve ark, 2001; Szmargd ve ark., 2007; Saegerman ve ark., 2008), enfeksiyonun 50oN de ötesine geçtiğini ve farklı serotiplerin de yayılımından etkilenmelerinin ciddi bir olasılık olarak ortaya çıktığını göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışma ile Afyonkarahisar ilinde BTV enfeksiyonuna yönelik ilk veriler elde edildi ve bu seropozitivite oranının (%24.8) Ege bölgesinde daha önce bildirilen veriye yakın olduğu tespit edildi. Etiyolojiye yönelik bir tedavisi olmayan bu enfeksiyondan korunmada; karantina, modifiye canlı virus aşılı ve vektör kontrolü önerilmekte ancak pratik anlamda sirkülasyondaki virus tiplerine spesifik aşılıların kullanılması en etkili yöntem olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle enfeksiyon durumunun gözlem altında tutulması ve sirkülasyondaki serotiplerin belirlenmesi için yeni araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Teşekkür: Bu çalışmayı destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Komisyonuna (BAP/02.VF. 04) teşekkürlerimi sunarım.

Kaynaklar

- Baylis, M., Mellor, P.S. (2001). Bluetongue around the Mediterranean in 2001. *Vet. Rec.*, 149, 659.
- Bolat, Y. (1986). Elazığ, Diyarbakır ve Şanlıurfa illerinde koyunların mavidil hastalığının yayılması üzerine serolojik araştırmalar. *Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 1, 103-112.
- Bulut, O., Yavru, S., Yapkiç, O., Şimşek, A., Kale, M., Avcı, O. (2006). Serological investigation of bluetongue virus infection by serum neutralization test and ELISA in sheep and goats, *Bull. Vet. Inst. Pulawy.*, 50, 305-307.
- Burgu, İ., Urman, H.K., Akça, Y., Yonguç, A., Mellor, P.S., Hamblin, D.C. (1992). Serologic survey and vector surveillance for Bluetongue in Southern Turkey. In "Bluetongue, African Horse Sickness and related Orbiviruses", Ed. Walton, T.E., Osburn, B.I. *Crs. Pres Inc, Boca Raton, Fla.*
- Dik, B. (2003). *Culicidae*. *Veteriner Entomoloji*, sayfa 95-105, Konya.
- Du Toit, R.M. (1962). Bluetongue-recent advances in research. The role played by bovines in the transmission of bluetongue in sheep. *J. South Afr. Vet. Med. Assoc.*, 33, 483-490.
- Els, H.L., Verwoerd, D.W. (1969). Morphology of bluetongue virus. *Virology*, 38, 213-219.
- Ertürk, A. (1994). Çeşitli serumlarda (koyun, keçi, sığır) mavidil antikorlarının agar-jel presipitasyon testi ile araştırılması. *Etilik Vet. Mikrobiol. Derg.*, 7, 1-19.
- Hardy, W.T., Price, D.A. (1952). Soremuzzle of sheep. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 120, 23-25.
- Koumbati, M., Mangana, O., Komikou, K., Mellor, P.S., Papadoupoulos, O. (1999). Duration of bluetongue viraemia and serological responses in experimentally infected European breeds of sheep and goats. *Vet. Microbiol.*, 4, 277-285.
- Mellor, P.S. (1994). Bluetongue. *State Vet. J.*, 4, 7-10.
- Mellor, P.S., Boorman, J. (1995). The transmission and geographical spread of African horse sickness and bluetongue viruses. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 89, 1-15.
- Mellor, P.S., Boorman, J., Baylis, M. (2000). *Culicoides* biting midges: Their role as arbovirus vectors. *Ann. Rev. Entom.*, 45, 307-340.
- Mellor, P.S., Wittmann, E.J. (2002). Bluetongue virus in the Mediterranean Basin 1998-2001. *Vet. J.*, 164, 20-37.
- Mertens, P.P.C. (1999). Orbiviruses and Coltiviruses. In "Encyclopedia of Virology", Ed. Granoff, A., Webster, R.G. Academic Press, San Diego, California.
- Özgünlük, İ. (2003). Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) kapsamındaki bölgede sığırlarda mavidil, akabane ve Ibaraki enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi. Ankara Üniv. Sağ. Bil. Enst., Doktora Tezi.
- Purse, B.V., Mellor, P.S., Rogers, D.J., Samuel, A.R., Mertens, P.P., Baylis, M. (2006). Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nat. Rev. Microbiol.*, 3, 171-181.
- Saegerman, C., Berkvens, D., Mellor, P.S. (2008). Bluetongue in the European Union. *Emerg. Infect. Dis.*, 14, 539-544.
- Studdert, M.J., Pangborn, J., Addison, R.B. (1966). Bluetongue structures. *Virology* 29:509-511.
- Szmaragd, C., Wilson, A., Carpenter, S., Mertens, P.P., Gubbins, S. (2007). Mortality and case fatality during the recurrence of BTV-8 in northern Europe in 2007. *Vet. Rec.*, 161, 571-572.
- Takamatsu, H., Mellor, P.S., Mertens, P.P., Kirkham, P.A., Burroughs, J.N., Parkhouse, R.M. (2003). A possible overwintering mechanism for bluetongue virus in the absence of the insect vector. *J. Gen. Virol.*, 84, 227-235.
- Tabachnick, W.J., Robertson, M.A., Murphy, K.E. (1996). *Culicoides variipennis* and bluetongue disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 791, 219-226.
- Taylor, W.P., Mellor, P.S. (1994). Bluetongue virus distribution in Turkey 1978-1981. *Epidemiol. Infect.*, 112, 623-633.
- Toussaint, J.F., Vandebussche, F., Mast, J., De Meester, L., Goris, N., Van Dessel, W., Vanopdenbosche, E., Kerkhofs, P., De Clercq, K., Zientara, S., Sailleau, C., Czaplicki, G., Depoorter, G., Dochy, J.M. (2006). Bluetongue in northern Europe. *Vet. Rec.*, 159, 327.
- Urman, H.K., Milli, U., Mert, N., Berkin, S., Kahraman, M.M., Yüce, H., Avvuran, H. (1979). Türkiye'de buzağılarda congenital epizootik arthrogriposis ve hidranencephalie olayları. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 26, 287-292.
- Uslu, U., Dik, B. (2004). Konya yöresinde *Culicoides* türlerinin Diptera: Ceratopogonidae) mevsimsel

Dağılımları. Vet. Bil. Derg., 20, 5-10.

Verwoerd, D.W. (1969). Purification and characterisation of bluetongue virus. *Virology*, 38, 203-212.

Yılmaz, H. (1994). Elazığ yöresinde bulunan culicoides (Diptera:ceratopogonidae) türleri üzerine araştırmalar. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

Yonguc, A.D., Taylor, W.P., Csonton, L., Worhall, E. (1982). Bluetongue in western Turkey. *Vet. Rec.*, 111, 144-146.

Wittmann, E.J., Mellor, P.S., Baylis, M. (2001). Using climate data to map the potential distribution of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in Europe. *Rev. Sci. Tech.*, 20, 731-40.

BOŞ SAYFA