



Şap Hastalığında Taşıyıcılık

Beyhan SAREYYÜPOĞLU^{1,a}

¹Tarım ve Orman Bakanlığı, Şap Enstitüsü Teşhis Bölümü, Seroloji Laboratuvarı, Ankara-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0002-0279-1673

Corresponding author: Beyhan SAREYYÜPOĞLU; E-posta: beyhan.sar@gmail.com

How to cite: Sareyyüpoğlu S. Şap hastalığında taşıyıcılık. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(3):233-240

Öz: Şap virüsü taşıyan hayvan, hastalıktan arı ülkelerde hastalık oluşturma riski bakımından, hastalığın endemik olduğu Türkiye gibi ülkelerde ise hastalık risklerinin azaltılması ve eradikasyonunda kritik öneme sahiptir. Son yıllarda taşıyıcı hayvanların belirlenmesi ve taşıyıcılık ile mücadelede izlenecek yeni metotlar üzerinde tekrar durulmaya başlanmıştır. Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından hastalık eradikasyonu için Şap Hastalığı için Kademeli Kontrol Yolu (PCP-FMD) adı verilen beş aşamalı bir kademeli hastalık eradikasyon planı tasarlanmıştır. Dolayısıyla her aşamada bir sonraki basamağa geçiş için yapılacak faaliyetler bulunmaktadır. Bu faaliyetlerden birisi de sürülerde enfekte (akut veya persiste) hayvanın aşıllardan ayrılması, riskin sıfır (zero risk) olduğunun gösterilmesidir. Bu derlemede şap enfeksiyonu ve persistenliği ile ilgili geçmişten günümüze yapılan çalışmalar değerlendirilerek bu konuyla ilgili önemli bilgiler verilmiştir. Ayrıca gelecekte bu konu ile ilgili yapılması gereken noktalara değinilmiştir.

Anahtar kelimeler: Persiste enfeksiyon, şap hastalığı, taşıyıcılık

Carrier Status in Foot-and-Mouth Disease

Abstract: In the disease endemic countries such as Turkey, a foot-and-mouth disease (FMD) virus carrier animal is critical in reducing the risk of disease and eradication. In recent years, FMD carrier animals, persistence mechanisms, and the fight against carriers have started to be focused on again. A five-stage gradual disease eradication plan called PCP-FMD (Progressive Control Pathway-FMD) was designed by Office International des Epizooties (OIE) and Food and Agricultural Organization United Nations (FAO) for disease eradication. Therefore, at each stage, there are activities to be done to move to the next step. One of these activities is the differentiation of infected animals (acute and persistent) from vaccinated ones in herds showing that the risk is zero (zero risk). In this review, studies related to FMD and persistent infections done so far have been evaluated and important information regarding the subject has been given. In addition, the points that need to be done in the future have been focused on.

Keywords: Carrier, Foot-and-mouth disease, Persistent infection

Giriş

Şap hastalığı (foot-and-mouth disease, FMD), evcil ve vahşi çift tırnaklı hayvanların viral, oldukça bulaşıcı ve yol açtığı ekonomik kayıplar nedeniyle ülke ekonomisine olumsuz etkileri olan bir hastalıktır. Virus, *Picornaviridae* ailesi içinde *Aphthovirus* genusuna ait tek iplikçikli pozitif polariteli bir RNA virüsüdür. O, A, Asia, SAT 1-2-3, C isimleriyle bilinen ve aralarında çapraz bağışıklığın bulunmadığı 7 serotip içerir. Virusun RNA virüsü olması ve çok fazla mutasyon geçirmesi nedeniyle her bir serotip kendi içinde çok sayıda alt tiplere sahiptir (Fry ve ark., 2005). Ülkemizde hastalık mücadelesinde yıllardır düzenli aşılama uygulaması önemli bir yer tutar (Çokçalışkan ve ark., 2017; Sareyyüpoğlu ve ark., 2019). Doğal enfeksiyon geçiren hayvanlarda olduğu gibi aşı uygulanan hayvanlar da şap hastalığına yakalandıktan sonra taşıyıcı

olabilmektedir. Bu nedenle, endemik ülkelerde aşı sürülerde taşıyıcı hayvanların belirlenmesi, hastalık kontrolü bakımından önemlidir.

Bu derlemede şap enfeksiyonu ve taşıyıcılık durumu ile ilgili geçmişten günümüze yapılan çalışmalar değerlendirilmiş, gelecekte bu konu ile ilgili yapılması gereken noktalar üzerinde durulmuştur.

Persiste şap virüsünün özellikleri

Şap hastalığı genel olarak akut seyirli bir enfeksiyon olarak bilinmektedir. Ancak enfeksiyonun kronik bir durum aldığı persiste enfeksiyon seyri de bulunmaktadır. Hastalığa duyarlı, aşısız hayvanlarda akut enfeksiyon; farenks bölgesinde primer virus replikasyonunu takiben, virusun kan dolaşımına katılmasıyla oluşan viremi sonrasında lezyonların görülmesi ve ardından virustan arınma ile son bulur. Akut seyirli şap enfeksiyonu oldukça bulaşıcıdır. Ağız ve ayaklarda şekillenen veziküllere bağlı artan

salivasyon ve topallık en belirgin klinik semptomlardır. Mukozal dokularda epitel kaybı nedeniyle iştahsızlık, süt ve et veriminde düşme gözlenir. Akut seyirli şap hastalığı 14-21 gün arasında değişen sürelerde seyrini tamamlar. Erişkin hayvanlarda mortalite düşük olmasına rağmen genç hayvanlarda kalp kas tutulumu nedeniyle mortalite gözlene bilmektedir (Fry, 2005; Stenfeldt ve Arzt, 2020). Şap persiste enfeksiyonu veya taşıyıcılığı ise viremi yaşanmadan ya da klinik semptomlar gözlenmeden virüsün konakçı bağışıklık yanıtından kaçarak primer replikasyon bölgesi olan farenkste replikasyonunu sürdürmesidir. Farenks bölgesinde replikasyon ve viremi safhasından 28 gün sonra replikasyon yeteneğindeki virüsü farenks bölgesinde hala tutabilen hayvan, persiste enfeksiyon geçiren ya da taşıyıcı hayvan olarak tanımlanır (Salt, 1993). Şap persiste enfeksiyon geçiren bir hayvanın sonunda virüsten arındığı bilinmektedir (Alexandersen ve ark., 2002; Arzt ve ark., 2018; Stenfeldt ve Arzt, 2020).

Persiste virüsün mukozal bariyerleri aşarak farenkste duyarlı epitel hücrelere girdiği bilinmektedir. Şap taşıyıcı hayvanın dolaşım sisteminde şap virüsüne karşı yüksek düzeyde antikor mevcut olmasına rağmen virüs sadece orofarenks bölgesinde canlılığını devam ettirebilmektedir (Sutmoller ve Casas, 2002). Farenks bölgesinde virüs bulunmasına rağmen kemik iliği, lenf bezleri, kas veya meme dokusunda virüs belirlenmemiştir. Virüsün farenks ve yumuşak damağın dorsal yüzeyinde belirlenmesi nedeniyle farenks bölgesinin, özellikle nazofarenks kısmının persiste virüsün ilk lokalizasyon ve replikasyon yeri olabileceğini bildirilmiştir (Stenfeldt ve Arzt, 2020; Pacheco ve ark., 2015). Bu bölgenin boynuzlaşmış kornifiye epitelle kaplı olmaması nedeniyle virüs girişine, dolayısıyla enfeksiyona daha açık olduğu, burada virüsün kendisine sürekli replikasyonunu sağlayacak mevcut programlı hücre bölünmesi yaşayan bazal epitel hücreleri tercih ettiği belirtilmiştir (Alexandersen ve ark., 2002). Yapılan bir çalışmada (Stenfeldt ve ark., 2019) hayvan türleri arasında persiste virüsün yerleşim yeri üzerine inceleme yapılmış, sonuç olarak koyunlarda akut ve persiste enfeksiyon bölgeleri olarak belirlenen dokuların sığırlara göre domuzlarda farklı bir bölge olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma, tür bazında persiste virüsün yerleşim yeri bakımından yeni bilgiler sağlamıştır. O'Donnel ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada ise sığır tiroid persiste enfekte hücrelerinde; virüsün plak oluşturma büyüklüğü, farklı hücre hatlarında üreme kabiliyeti, integrin reseptörü kullanımında değişiklik oluşturabilmesi gibi yeni özellikleri tespit edilmiş, enfekte hücre kültürlerinde virüsün ve hücrenin bir seri evrim geçirdiği belirlenmiştir. Bir başka çalışmada (Han ve ark., 2018) ise persiste virüsün sekansları transkriptik çalışma düzeyinde incelenmiş, persiste yönde

evrimleşmiş hücrelerin normal hücrelere göre daha güçlü bir bağışıklık yanıtı gösterdiği bildirilmiştir.

Persiste şap enfeksiyonunun oluşum mekanizması

Genel olarak persistens, virüs ve konakçıda hücresel gen ekspresyonu ve bağışıklık tepkisinde gerçekleşen çeşitli modifikasyonlar ile oluşur (Oldstone, 2006). Virüsler farklı mekanizmalar kullanarak persiste enfeksiyona yol açabilir ve persistens mekanizması; virüsün replikasyon tipi (lytical, lysogenical), genom tipi (RNA, DNA) ya da hedef hücreye yani konakçıya bağlıdır. Minimum sayıda enfekte hücrenin yaşamaya devam etmesi, viral persistensin kurulması için temel koşuldur. Bu durumda virüs, konakçı olduğu hücreyi öldürmeden ya da aşırı zarar vermeden yaşamayı seçmektedir (Oldstone, 2006). Taşıyıcılık, hücrenin fonksiyonel reseptörlere sahip olduğu ancak bu reseptörlerin düşük etkinlikte kullanıldığı sonuçta hücre içinde viral replikasyonun sınırlandırıldığı bir durumda gerçekleşir (Saiz ve Domingo, 1996). Normalde konak hücre-sini lize eden şap virüsü, persiste enfeksiyon oluşturmak için çok uygun özellikte değildir. Şap virüsünün sitopatik etki göstermeden hücreyi enfekte edebilmesi için virüsün geçirdiği seleksiyona bağlı olarak nonlitik karakterde virüs varyantlarının ortaya çıkmasının etkili olduğu bildirilmiştir (Alexandersen ve ark., 2002; Zhang ve Kitching, 2001). Virüsün konakçı bağışıklık yanıtından kaçabilmesi ise mutasyonların çok sık görülmesi nedeniyle oluşan varyant virüslerin konakçıda farenks bölgesine yerleşip düşük hızda replike olmasıyla açıklanmıştır (Salt, 1993). Ayrıca virulens artıça persistensin daha kolay oluştuğu saptanmıştır (Saiz ve Domingo, 1996; Maree ve ark., 2016).

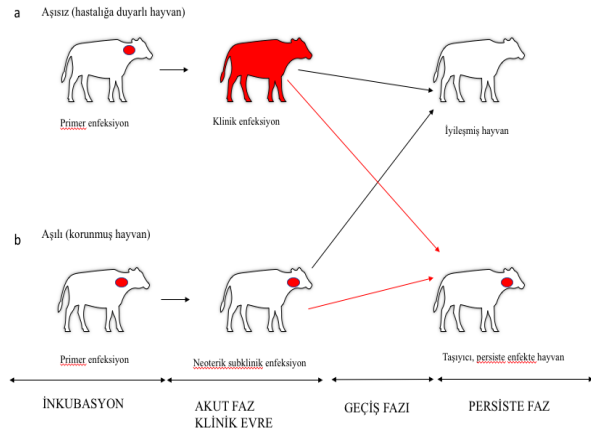
Taşıyıcılık mekanizmasını açıklayan baskın yaklaşım, farenkste şap virüsü persistensi ile ilgili hücrelerin immünolojik olarak ayrıcalıklı oldukları, bu durumun bu hücrelerin geçirdikleri bir reseptör hücre regülasyonuna (down regülasyon) bağlı olduğu şeklindedir (Alexandersen ve ark., 2002; Pacheco ve ark., 2015). Böylece virüs, enfekte ettiği hücrede MHC sınıf I'ler tarafından antijen sunulmasını baskılayarak sitotoksik T lenfositlerinin etkisinden kaçabilir (Childerstone ve ark., 1999). Persistens kurulmasındaki hassas dengede özellikle sitokinlerin önemli rolü olabileceği bildirilmiştir (Alexandersen ve ark., 2002). Bu konuda yapılan bir çalışma (Pacheco ve ark., 2015) sonucunda nazofarengeal mukozada bazı sitokinlerin ekspresyonlarında azalma olduğu gösterilmiştir. Koyun, keçi, sığır ve manda türleri üzerinde yapılan bir diğer çalışmada (Parida ve ark., 2006) ise persistens durumunda hücresel immunitenin baskılandığı bildirilmiştir.

Proteogenomik düzeyde yapılan bir başka çalışmada ise (Pfaff ve ark., 2019), akut ve persiste enfeksiyon sırasında çeşitli farklılıklar tespit edilmiştir. Akut enfeksiyonda, interferon stimule eden genlerin aşırı

ekspresyonu nedeniyle apoptoz ve antiviral aktiviteyi işaret eden proteinlerin üretimi artmış, persiste enfeksiyonda ise tam tersine azalmıştır. Şap persistensi, 1950'li yıllarda tanımlanmasının üzerinden uzun yıllar geçmesine rağmen organizmada şap taşıyıcılığının kurulması ile ilgili mekanizmalar üzerinde hala bilgi boşlukları mevcuttur. Ancak son yıllarda virusun mikro-anatomik düzeyde replikasyon yeri ve persistensin kurulmasını kolaylaştıran konakçı cevabının açıklanması üzerinde oldukça ilerleme kaydedildiği bildirilmiştir (Stenfeldt ve Arzt, 2020). Persiste şap enfeksiyonu sırasında virüsün konakçı hücrelerle etkileşime girdiği, birlikte evrime uğradığı dolayısıyla konakçı hücrelerdeki değişikliklerin persiste enfeksiyonun kurulmasında belirleyici bir rol oynadığı bildirilmiştir (Han ve ark., 2018). Bu nedenle persiste enfeksiyonda şap ile enfekte dokuların konağa özgü cevabının hücresel düzeyde aydınlatılmasının şap persistens mekanizmalarının daha net anlaşılmasına imkan sağlayacağı bildirilmiştir (Stenfeldt ve Arzt, 2020)

Subklinik enfeksiyon ve taşıyıcılık (persistens)

Persiste enfeksiyonla sıkça karıştırılan ve persiste enfeksiyon yerine kullanılan "subklinik enfeksiyon", klinik belirtiler gözlenmeden enfeksiyonun geçirilmesidir. İki çeşit şap subklinik enfeksiyonu vardır. Bunlardan birisi "neoterik subklinik enfeksiyon" diğeri ise "persiste enfeksiyon-taşıyıcılık" olarak adlandırılır. Neoterik kelime olarak çok yeni anlamına gelmektedir. Neoterik subklinik enfeksiyon, akut ve persiste enfeksiyon arasında geçiş fazı olarak tanımlanabilir. Neoterik subklinik enfeksiyon, aşıllı hayvanlardaki (klinik olarak hastalıktan korunmuş hayvan) akut şap enfeksiyonunu ifade etmektedir. Aşıllı hayvanlarda virus, primer replikasyon bölgesi farekste kalır yani viremi yaşanmaz dolayısıyla klinik belirtiler gözlenmez (Sutmoller ve Casas, 2002; Stenfeldt ve Arzt, 2020). Neoterik subklinik enfeksiyonda persiste enfeksiyona göre oronazal sekresyonlar ile daha yüksek virus saçılımı olduğundan neoterik subklinik enfeksiyonda hayvanın enfeksiyonunu daha fazla bulaştırıp yayabildiği öngörülmektedir (Stenfeldt ve Arzt, 2020). Şap hastalığına duyarlı veya aşıllı bir hayvan, geçiş fazı sonrasında iki ayrı enfeksiyon fazı geçirebilir. Buna göre, akut enfeksiyonun hemen ardından virustan arınmanın ve iyileşmenin gerçekleştiği normal seyirli şap enfeksiyonu veya virusun orofarenks bölgesinde uzunca bir süre kaldığı persiste enfeksiyonu geçirebilir (Şekil 1), (Stenfeldt ve Arzt, 2020)



Şekil 1. Aşılı ve aşızsız hayvanlarda şap enfeksiyonunun zamana bağlı ilerleyişi **a)** Hastalığa duyarlı bir hayvanda; virus, fareks bölgesinde primer replikasyonu takiben geçirilen viremi ve buna bağlı olarak klinik belirtilerin görülmesiyle akut enfeksiyon oluşabilir. Enfeksiyon iki şekilde sonuçlanabilir. Hayvan tamamen virustan arınarak iyileşebilir veya virus fareks bölgesinde kalarak hayvan şap virüsü taşıyıcı konuma geçebilir **b)** Aşıllı (korunmuş) hayvanda; virus, fareks bölgesinde primer replikasyonu takiben klinik tablonun gözlenmediği neoterik subklinik enfeksiyon fazını geçirebilir. Bu faz sonrasında, enfeksiyon iki şekilde sonuçlanabilir. Hayvan tamamen virustan arınarak iyileşebilir veya virus fareks bölgesinde kalarak hayvan şap virüsü taşıyıcı konuma geçebilir (Stenfeldt ve Arzt, 2020).

Taşıyıcılık ve konakçı

Şap taşıyıcılığı Afrika mandaları, sığır, koyun ve keçilerde belirlenmiş, domuzlarda ise tespit edilememiştir (Moonen ve Schrijver, 2000; Paton ve ark., 2017). Bu türün enfekte olabilmesi için muhtemelen daha yüksek dozda virusa veya farklı mekanizmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir (Arzt ve ark., 2018). Şap hastalığında virustan arınmada fagositoz ve antikor aracılı mekanizmaların sorumlu olduğu bilirse de virusun hücre içinden temizlenmesinde hücresel immunitenin etkili olduğu düşünülmektedir. Domuz ve sığırdaki hücreli immün yanıt bakımından özellikle hücre içindeki virusun arınma mekanizmaları bakımından farklılıklar olduğu düşünülmektedir (Stenfeldt ve Arzt, 2020). Domuzlarda sığırlara göre virustan hızla arınmada etkili olan daha yüksek titreli ve hızlı nötralizan antikor yanıtı, mukozal bağışıklığın da bu türde efektif olduğunu işaret etmektedir (Francis ve Black, 1983). Mukozal bağışıklığı uyarmak için domuzlarda tek doz aşı yeterliyken, sığırların tekrarlayan aşı uygulamasına gereksinim duyduğu saptanmıştır (Francis ve Black, 1983). Bu nedenle domuzlarda taşıyıcılığın görülmemesi, mukozal bağışıklık ile ilişkilendirilebilmektedir.

Taşıyıcılık süresi

Taşıyıcılık süresi; hayvan türü ve ırkı, aşılama, klinik tablonun durumu, bağışıklık durumu, bireysel farklılıklar, şap virusunun serotipi ve suşuna göre değişebilmektedir. Mandalar 5 yıl, sığırlar 3 yıl ve koyunların ise virüsü 9 ay kadar taşıyabileceği belirtilmiştir (Alexandersen ve ark., 2002; Stenfeldt ve Arzt, 2020). Persistens periyodunda zaman ilerledikçe virusun izolasyonu şansı azalmaktadır (Mooenen ve Schrijver, 2000). Uzun süren taşıyıcılık ayrıca virusun sirkülasyon süresini uzatarak bir sürüde yayılabilmekte ve yeni varyantların çıkışına olanak sağlamaktadır (Ferreira ve ark., 2015; Saiz ve Domingo, 1996). Farooq ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada, 12 ay boyunca otuz farklı süt işletmesinden orofarengal örnekleme yapmışlar, RT-PCR ve sekans analizleri sonucunda klinik hiçbir belirti olmadan yeni virus varyantlarının bölgeye girdiğini belirlemişlerdir. Bu nedenle, taşıyıcılığın şap endemik ülkelerde yeni salgınlara yol açan genetik varyasyonların kökeni olmasının mümkün olduğu düşünülmektedir.

Taşıyıcı hayvanların hastalığın bulaş ve yayılışında rolü

Genel anlamda taşıyıcı hayvan, virusu saçma ve enfeksiyon riski oluşturabilme riski olan hayvandır. Ancak bu tanım şap virusuna tam olarak uymamaktadır. Bu konu ile ilgili yapılan bir grup çalışmayı incelediğimizde, deneysel koşullarda taşıyıcı sığırdan sağlıklı olanlara bulaşın olmadığı bildirilmiştir (Dekker ve ark., 2008; Maree ve ark., 2016; Mooenen ve Schrijver., 2000). Ancak diğer grup çalışmayı incelediğimizde, (Dave 1994 a; Dave 1994b; Farooq ve ark., 2018; Salt, 1993), düzenli aşılanmayan enfeksiyona açık sürülerde ya da hayvan nakillerinde oluşan stres nedeniyle taşıyıcı hayvanların şap virusunu hassas hayvanlara transfer edebildiği bildirilmiştir (Hedger ve Condy, 1985). Bir çalışmada (Parthiban ve ark., 2015), deneysel koşullarda taşıyıcı olarak belirlenen hayvanların arasına aşısız naif hayvanlar katıldığında taşıyıcılardan sağlıklı sığırlara bulaş tespit edilememiştir. Deneysel çalışmalar ile taşıyıcı sığırdan sağlıklı sığıra bulaşın belirlenemediği ancak gerek saha gerekse deneysel koşullarda taşıyıcı Afrika mandalarından sağlıklı sığırlara bulaşın olabileceği yönünde bir fikir birliği mevcuttur (Dave 1994a; Dave 1994b; Hedger ve Condy, 1985). Hastalık ari bir bölgede yeniden arılığın elde edilmesinde belirli bir bekleme süresi belirtilmektedir. Bu sürenin belirlenmesindeki ana neden, sürüde mevcut taşıyıcı hayvanların hastalık bulaş ve yayılımda risk oluşturmalarıdır (Stenfeldt ve Arzt, 2020). Bu nedenle OIE, taşıyıcı hayvanın oluşturabileceği enfeksiyon riskini göz ardı etmemekte ve taşıyıcıların belirlenmesini önemsemektedir (OIE,

2019). Yapılan çalışmalar (Klein ve ark., 2008; Farooq ve ark., 2018) ile aşıları sürülere hiçbir klinik belirti göstermeden yeni enfeksiyon dolayısıyla serotip ve alt grupların girebildiği ve virusun asemptomatik olarak sürüde sirkülasyon gösterdiğini saptanmıştır.

Bir popülasyonda taşıyıcıların prevalansı; hayvan türü, hastalığın insidensi ve popülasyonun bağışıklık durumu gibi pek çok faktöre bağlıdır. Genelde bir şap salgını sonrası sürüde hayvanların %50'sinin taşıyıcı olduğu bildirilmiştir. Taşıyıcılığın şap hastalığının duyarlı sığırlarda %11 oranında hiçbir klinik belirti vermeden seyrettiği belirtilmiştir (Sutmoller ve Casas, 2002). Türkiye'de yayınlanan bir çalışmaya göre (Gürhan ve ark., 1993) ise, taşıyıcılık sığır ve koyunlarda sırasıyla %18.4 ve 16.8 oranlarında saptanmıştır.

Taşıyıcılık durumunda bağışıklık

Persiste enfeksiyonda bağışıklık sistemi yanıt oluşturmadan önce, şap virüsü farengal bölgeye yerleşir, replike olur ve bu bölgenin dokusunu enfekte eder. Böylece virus kendini belli bir bölgede sınırlayarak immun sistem savunmasından kaçır. İstisnai durumlar olsa da taşıyıcı hayvanın virüstan tamamen arındığı bilinmektedir. Bu arınmada nötralizan antikorlar yeterli değildir, hücresel ve mukozal immunité etkilidir. Çünkü şap enfeksiyonu geçirmiş ya da aşılanmış hayvanlarda yüksek nötralizan antikor titresi bulunmasına rağmen persiste enfeksiyon geçirebildikleri görülmüştür. Taşıyıcılık durumunda virusun giriş ve replikasyon yeri nazofarengal bölge olduğu için, şap hastalığına karşı oluşan bağışıklıkta mukozal immün yanıt ayrı bir öneme sahiptir. Şap virusuna spesifik mukozal nötralizan antikor yanıtı, enfeksiyon sonrası yedinci günde saptanmıştır (Francis ve Black, 1983). Taşıyıcı hayvanlarda akut şap enfeksiyonu geçiren hayvanlara göre hem serum, hem de orofarengal sıvıdaki nötralizan antikor etkinliği, antijenik uyarımın sürekliliğine bağlı olarak daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Bu durum taşıyıcılıkta immün sistemin her iki kompartımanının (humoral ve hücresel) uyarıldığını göstermektedir (McVicar ve Sutmoller, 1974).

Sığırların tekrarlayan bir şekilde inaktif şap aşısına maruz bırakılmaları durumunda IgA'nın üst solunum yolunun mukozal sekresyonlarında belirlenebildiği bildirilmiştir (Alexandersen ve ark., 2002; Salt, 1993). Bir çalışmada (Francis ve Black, 1983) yağ adjuvanlı aşılarla hayvanları aşılanmış, ancak ikinci aşılamadan sonra farengal sıvıda mukozal antikor yanıtı tespit edebilmişlerdir. Bir diğer çalışmada koyunlara normal dozun altı katı şap aşısı uygulamış ve aşılamadan dokuz gün sonra nazal sıvıda IgA tespit edilmiştir (Gibson ve ark., 1984). Kısacası aşılama ile taşıyıcılığın baskılanmasında aşı kalitesi, aşı uygulama aralığı ve kullanılan adjuvant belirleyici faktörlerdir. Bu nedenle, uygulanma aralığı belirlenmiş, yüksek potensli

aşı uygulamasının şap enfeksiyonlarını ve dolayısıyla taşıyıcılığı baskılayabileceği söylenebilir (Çokçalışkan ve ark., 2017; Doel, 1994; Doel, 2005). Bununla birlikte, aşılama ile sağlanacak mukozal yanıtın enfeksiyon sonrası kazanılacak immün yanıtın biraz farklı olduğu bilinmelidir. Çünkü sadece doğal enfeksiyon veya ancak mukozal yolla (oral ya da nasal) aşılama sonrasında üst solunum ve gastrointestinal sistem sıvılarında lokal bir antikor yanıtı saptanabilmektedir (Archetti ve ark., 1995; Francis ve Black, 1983). Ayrıca aşıyla hayvanda yumuşak damakta enfeksiyon tespit edilmesi, mukozal yanıtın klasik aşılarla desteklenemeyeceğini göstermektedir (Alexandersen ve ark., 2002). Mukozal bağışıklığı uyarmak için domuzlarda tek doz aşı yeterliyken, sığırların tekrarlayan aşı uygulamasına gereksinim duyduğu saptanmıştır (Francis ve Black, 1983).

Taşıyıcı hayvanların belirlenmesinde kullanılan tanı yöntemleri

Taşıyıcı hayvanlar hücre kültürlerine (primer dana tiroid veya böbrek hücre kültürleri) ekim (direkt virus izolasyonu), NSP ELISA testleri, IgA ELISA, Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) ve RT-PCR yöntemleri ile belirlenebilir (Parida ve ark., 2008; Sorensen ve ark., 1998; Zhang ve Alexandersen, 2003). Farenks bölgesinden özel bir alet (probang kabı) ile doku kazıntısı toplayarak elde edilen probang örnekleri, spesifik hücre kültürlerine ekim veya RT-PCR testlerinde kullanılır. Ancak probang örneklerinden virusun izolasyon kapasitesi pek çok faktöre bağlıdır. Orofarengeal sıvıdan virus saçılımının sürekli olmaması nedeniyle belli zaman aralıkları ile deneyimli kişiler tarafından örneklerin toplanması, doğru bir şekilde saklanması ve laboratuvara nakli gerekmektedir (Archetti ve ark., 1995).

Enfekte hayvanların aşıları olanlardan ayırımında kullanılan yapısal olmayan proteinler (NSP) ELISA testleri, aynı zamanda sürüdeki taşıyıcı hayvanları da belirleyebilmektedir (Brocchii ve ark., 2006; Sorensen ve ark., 1998). Şap aşısı üretiminde aşının purifikasyonu aşamasında NSP'ler elimine olmalıdır (OIE, 2019). Aşılı bir hayvanda sadece yapısal proteinlerine (SP) karşı antikor oluşurken, enfekte hayvanda her iki protein (NSP ve SP) grubuna karşı antikor oluşmaktadır (Brocchii ve ark., 2006; Sorensen ve ark., 1998). Bu bilgiden hareket ile NSP ELISA ile Şap virüsünün NSP proteinlerine karşı hayvan serumunda oluşan antikorların tespit edilmesi böylelikle enfekte (akut veya persiste) ve aşıları hayvan ayırımı yapılabilmektedir. NSP testlerin performansını etkileyen en önemli faktör, aşının NSP proteinlerinden ne kadar arı olduğudur (OIE, 2019; Sareyyüpoğlu ve ark., 2020).

Western Blotting testi olan Electrotransfer Immunoblot Assay (EITB) ise enfeksiyon göstergesi olan viral proteinlerin saptanmasında kullanılır (Bergman ve ark., 1993). Bu test, OIE'de tanımlı NSP ELISA testleri

için konfirmasyon testi olarak belirlenmiştir. Ancak testin uzmanlık gerektirmesi, çok sayıda örnekle çalışılmaması ve zaman alıcı olması gibi olumsuz tarafları mevcuttur.

Taşıyıcı hayvanların belirlenmesinde probang örneklerinden RT-PCR testlerinin oldukça başarılı olduğu bildirilmiştir (Farooq ve ark., 2018; Zhang ve Alexandersen, 2003). Ancak probang örneklerinden RT-PCR ile çalışıldığında başarılı sonuçlar almak için, hücre kültürleri ile viral izolasyon kısmında bahsedilen örnekleme yaparken dikkat edilmesi gereken noktalar unutulmamalıdır. Ayrıca PCR pozitif sonucun her zaman canlı virüsü, yani organizmada replike olup enfeksiyon oluşturacak yani bulaş kaynağı olacak virüsü göstermeyeceği bilinmelidir.

Archetti ve ark. (1995), şap spesifik IgA antikorlarının belirlenmesi için probang yerine saliva örnekleri kullanılmasının daha avantajlı olabileceğini bildirmiştir. Çünkü çalışmada probang örneklerine göre saliva örneklerinde şap spesifik IgA antikorlarının oldukça stabil kaldığı belirlenmiştir. Parida ve ark. (2006, 2008) tarafından yapılan çalışmalarda, farenkste şap virusu replikasyonunu belirlemek amacıyla saliva örneklerini solid faz IgA ELISA testi ile çalışmışlardır. Testin yapılan validasyon çalışması sonucunda %98 spesifite ve 89 sensitivitesi olduğu belirlenmiştir. Ancak geliştirildiği yıldan bu döneme IgA ELISA hala ticari kit formuna dönüştürülemezdir. Testin spesifitesini artırmak için 2021 yılında yapılan bir çalışmada (Biswal ve ark., 2021), IgA ELISA'nın NSP ELISA testleri gibi hayvana çok sayıda aşı uygulamasından etkilenmediği bu nedenle NSP ELISA testlerine göre oldukça avantajlı olduğu bildirilmiştir.

Sonuç

Hastalıkla mücadelede aşılamanın kullanıldığı Türkiye gibi endemik ülkelerde aşıları hayvanların enfekte ve taşıyıcı hayvanlardan ayrılması çok önemlidir. Taşıyıcı hayvanlardan olası bulaş ve yayılımı baskılamak için en uygun yolun kaliteli, yüksek potensli aşılarla düzenli aşılamanın yapılmasıdır (Çokçalışkan ve ark., 2017; Doel ve ark., 1994; Doel, 2005). Ancak aşı yeterli antijenik dozlarda uygulanmadığında organizmadan yeterli düzeyde virusun arınması sağlanmayacağından taşıyıcılığın gelişmesine zemin hazırlayabileceği unutulmamalıdır (Doel ve ark., 1994; Doel, 2005).

Hastalık teşhisinde taşıyıcı hayvanların sürüde tespitleri için yeni tanı metotları geliştirmek gerekmektedir. Bunun yanında mukozal aşılar geliştirilmesi, yeni aşı antijenleri ve adjuvantlar araştırılması, taşıyıcılığın önlenmesinde araştırmaya açık temel alanlardır. Ayrıca taşıyıcı hayvanın oluşumunda ilgili konakçı faktörleri, farklı konakçılarda karşılaştırmalı araştırmalar yapılması, konakçı reseptör düzeyinde incelemeler,

hücrel immünite, taşıyıcılıktan sorunlu genlerin belirlenmesi, salgınlar sonrası istatistiki simülasyon ve modelleme çalışmaları yapılarak taşıyıcılık oranları ve hastalık risklerinin daha kapsamlı değerlendirilmesi gibi konular güncel önem arz eden konulardır.

Kaynaklar

- Alexandersen S, Zhang Z, Donaldson AI. Aspects of the persistence of foot-and-mouth disease virus in animals-the carrier problem. *Microbes Infect* 2002; 4(10): 1099-110.
- Archetti, IL, Amodori M, Donn A, Salt J, Lodetti E. Detection of foot and mouth disease virus infected cattle by assesment of antibody response in oropharyngeal fluids. *J Clin Microbiol* 1995; 33(1): 79-84.
- Arzt J, Belsham GJ, Lohse L, Botner A, Stenfeldt C. Transmission of foot-and-mouth disease from persistently Infected carrier cattle to naive cattle via transfer of oropharyngeal fluid. *Clinic Sci and Epid* 2018; 3(5): e00365-18.
- Bergman IE, Mello PA, Neitzert E, Beck E. Diagnosis of persistent aphthovirus infection and its differentiation from vaccination response in cattle by use of enzyme-linked immune electro transfer blot analysis with bioengineered nonstructural viral antigens. *Am J Vet Res* 1993; 54(6): 825-31.
- Biswal K, Nardo AD, Taylor G, Paton DJ, Parida S. Development and validation of a mucosal antibody (IgA) test to identify persistent infection with foot-and-mouth disease virus. *Viruses* 2021; 13(5): 814.
- Brocchi E, Bergmann IE, Dekker A, Paton DJ, Sammin DJ, Greiner M, Grazioli S, Simone DeF, Yadin H, Haas B, Bulut N, Maliat V, Neitzert E, Goris N, Parida S, Sorensen K, De Clercq K. Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine* 2006; 24(47-48): 6966-79.
- Childerstone AJ, Baron CI, Foster-Cuavaz M, Parkhouse RM. Demonstration of bovine CD8⁺ T-cell responses to FMDV. *J Gen Virol* 1999; 80: 663-9.
- Çokçalışkan C, Türkoğlu T, Uzunlu E, Sareyyüpoğlu B, Hancı İ, İpek A, Arslan A, Babak A, İldeniz G, Gülyaz V. Influence of vaccine potency and booster administration of foot-and-mouth disease vaccines on the antibody response in calves with maternal antibodies. *J Vet Sci* 2017; 18(S1): 315-22.
- Dawe PS, Flanagan F, Madekurozwa RL, Sorensen KJ, Anderson EC, Foggin CM, Ferris NP, Knowles NJ. Natural transmission of foot-and-mouth-disease virus from African buffalo to cattle in a wildlife area of Zimbabwe. *Vet Rec* 1994a;134(10): 230-2.
- Dawe PS, Sorensen K, Ferris NP, Barnett ITR, Armstrong RM, Knowles NJ. Experimental transmission of foot-and-mouth-disease virus from carrier African buffalo to cattle in Zimbabwe. *Vet Rec* 1994b; 134(9): 211-215.
- Dekker TA, Vernooij H, Bouma A, Stegeman A. Rate of FMDV transmission by carriers quantified from experimental data. *Risk Anal* 2008; 28(2): 303-9.
- Doel TR. Natural and vaccine induced immunity to FMD. Mahy BW. ed. In: *Foot-and-Mouth Disease Virus*. Switzerland, Springer, 2005; pp.103-31.
- Doel TR, Williams L, Barnett PV. Emergency vaccination against FMD rate of development of immunity and its implications for the carrier state. *Vaccine* 1994; 12(7): 592-600.
- Farooq U, Ahmed Z, Naeem K, Bertram, M, Brito B, Stenfeldt C, Pauszek SJ, Larocco M, Rodriguez L, Arzt J. Characterization of naturally occurring, new and persistent subclinical foot-and-mouth disease virus infection in vaccinated Asian buffalo in Islamabad Capital Territory, Pakistan. *Transbound Emerg Dis* 2018; 65(6):1836-50.
- Ferreira DC, Pauszek HC, Ludi A, Huston CL, Pacheco VT, Lep T, Nyugen HH, Buit D, Nyugen T, Ngod T, Dol H, Arzt R. An integrative analysis of foot-and-mouth disease virus carriers in Vietnam achieved through targeted surveillance and molecular epidemiology. *Transbound Emerg Dis* 2015; 64(2):547-63.
- Francis MJ, Black L. Antibody response in pig nasal fluid and serum following foot-and-mouth disease infection or vaccination. *J Hyg (Lond)* 1983; 91(2): 329-34.
- Fry EE, Stuart DI, Rowlands DJ. The structure of foot -and-mouth disease virus. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005; 288: 71-101.
- Gibson CF, Donaldson, AI, Ferris NP. Response of sheep vaccinated with large doses of vaccine to challenge by airborne foot and mouth disease virus. *Vaccine* 1984; 2(2): 157-61.
- Gürhan SI, Gürhan B, Öztürkmen A, Candas A. Anadolu'da şap ile persiste enfekte sığır ve koyunlarda taşıyıcılık oranları. *Etlık Vet Mikrobiyol Derg* 1993; 7(4): 52-59.
- Han L, Xiu X, Wang H, Li J, Hao Y, Wang M, Zheng C, She C. Cellular response to persistent foot-and-mouth disease virus infection is linked to specific types of alterations in the host cell transcriptome. *Sci Reports* 2018; 8(1): 5074.

- Hedger RS, Condy JB. Transmission of FMD from African Buffalo virus carriers to bovines. *Vet Record* 1985; 117(9): 205.
- Klein J, Hussain M, Ahmad M, Afzal M, Alexandersen S. Epidemiology of foot-and-mouth disease in Landhi dairy colony, Pakistan, the world largest Buffalo colony. *Virology* 2008; 5: 53.
- Maree F, De Klerk-Lorist LM, Gubbins S, Zhang F, Seago J, Martin EP, Reid L, Scott K, Schalkwyk LV, Bengis R, Charleston B, Juleff N. Differential persistence of foot-and-mouth disease virus in African buffalo is related to virus virulence. *J Virol* 2016; 90(10): 5132-40.
- McVicar JM, Suttmoller P. Neutralizing activity in the serum and oesophageal-pharyngeal fluid of cattle after exposure to foot-and-mouth disease virus and subsequent re-exposure. *Arch Virol* 1974; 44(2): 173-6.
- Moonen P, Schrijver R. Carriers of foot-and-mouth disease: a review. *Vet Q* 2000; 22(4): 193-7.
- O'Donnell V, Pacheco JM, Lorocco M, Gladue DP, Pauszek G, Smoliga G, Krug PW, Borca MV, Rodriguez L. Virus-host interactions in persistently FMDV-infected cells derived from bovine pharynx. *Virology* 2014; 468-470:185-96.
- Oldstone MBA. Viral persistence: Parameters, mechanisms and future predictions. *Virology* 2006; 344(1): 111-8.
- Pacheco JM, Smoliga GR, O'Donnell V, Brito BP, Stenfeldt C, Rodriguez LL, Arzt J. Persistent foot-and-mouth disease virus infection in the nasopharynx of cattle; tissue-specific distribution and local cytokine expression. *PLoS ONE* 2015; 10(5): e0125698.
- Parida S, Anderson J, Cox SJ, Barnett PV, Paton DJ. Secretory IgA as an indicator of oro-pharyngeal foot-and-mouth disease virus replication and as a tool for post vaccination surveillance. *Vaccine* 2006; 24(8): 1107-16.
- Parida S, Fleming L, Oh Y, Mahapatra M, Hamblin P, Gloster J, Paton DJ. Emergency vaccination of sheep against foot-and-mouth disease: Significance and detection of subsequent sub-clinical infection. *Vaccine* 2008; 26(27): 3469-79.
- Parthiban AB, Mahapatra B, Gubbins S, Parida S. Virus excretion from foot-and-mouth disease virus carrier cattle and their potential role in causing new outbreaks. *PLoS ONE* 2015; 10: e0128815.
- Paton D, Gubbins S, King DP. Understanding the transmission of foot-and-mouth disease virus at different scales. *Curr Opin Virol* 2017; 28: 85-91.
- Pfaff F, Hagglung S, Zoli M, Blaise BS, Laloy E, Koethe S, Zühlke D, Riedel K, Stephan Z, Kassimi LB, Valarcher JF, Höper D, Beer M, Eschabaumer M. Proteogenomics uncovers critical elements of host response in bovine soft palate epithelial cells following in vitro infection with foot-and-mouth disease virus. *Viruses* 2019; 11(1): 53.
- Saiz JC, Domingo E. Virulence as a positive trait in viral persistence. *J Virol* 1996; 70(9): 6410-3.
- Salt JS. The carrier state in foot-and-mouth disease-an immunological review. *Br Vet J* 1993; 149(3): 207-23.
- Sareyyüpoğlu B, Çokçalışkan C, Çoşkuner A, Gulyaz V. Determination of non-structural protein level for Turkey foot-and-mouth disease vaccine antigens during in-process. *Clin Exp Vaccine Res* 2020; 9(2): 97-101.
- Sareyyüpoğlu B, Gulyaz V, Çokçalışkan C, Unal Y, Çökülgen T, Uzunlu E, Gürcan S, İlik O. Effect of FMD vaccination schedule of dams on the level and duration of maternally derived antibodies. *Vet Immunol and Immunopathol* 2019; 217: 109881.
- Sorensen KJ, Madsen KG, Madsen ES, Salt JS, Nqindi J, Mackay DK. Differentiation of infection from vaccination in foot and mouth disease by the detection of antibodies to the non-structural proteins 3D, 3AB and 3ABC in ELISA using antigens expressed in baculovirus. *Arch Virol* 1998; 143(8): 1461-76.
- Stenfeldt C, Arzt J. Carrier conundrum: a review of recent advances and persistent gaps regarding the carrier state of FMDV. *Rev Pathogens* 2020; 9(3): 167.
- Stenfeldt C, Pacheco JM, Singanallur NB, Vosloo W, Rodriguez L, Arzt J. Virulence beneath the fleece; a tale of foot-and-mouth disease virus pathogenesis in sheep. *Plos One* 2019; 31;14(12): e0227061
- Suttmoller P, Casas OR. Unapparent foot and mouth disease infection (sub-clinical infections and carriers): implications for control. *Rev Sci Tech* 2002;21(3): 519-29.
- World Organisation for Animal Health (OIE). Infection with foot-and-mouth disease virus. [http:// www.oie.int/en/disease/foot-and-mouth-disease/#ui-id-2](http://www.oie.int/en/disease/foot-and-mouth-disease/#ui-id-2). Erişim tarihi: 27.07.2021.
- Zhang Z, Alexandersen S. Detection of carrier cattle and sheep persistently infected with foot-and-mouth disease virus by a rapid real-time RT-PCR assay. *J Virol Methods* 2003;111(2): 95-100
- Zhang ZD, Kitching RP. The localization of persistent foot and mouth disease virus in the epithelial cells

of the soft palate and pharynx. *J Comp Pathol*
2001; 124(2-3): 89–94.