

Şanlıurfa'da Safkan Arap Atlarında *Borrelia burgdorferi* Seropozitifliğinin Belirlenmesi*

Ömer DEMİR^{1,a,**}, Oktay KESKİN^{2,b}

¹Tarım ve Orman Bakanlığı Şehitkamil İlçe Müdürlüğü, Gaziantep, Türkiye
²Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Şanlıurfa, Türkiye
^aORCID:0000-0003-2702-2595, ^bORCID: 0000-0002-5977-7872

Geliş Tarihi: 17. 09.2019

Kabul Tarihi: 16.12.2019

Özet: Lyme Borreliozis veya Lyme hastalığı, *Borrelia burgdorferi*'nin neden olduğu kenelerle nakladilen zoonotik bir enfeksiyondur. Hastalığın taşınması, *Ixodes* cinsi kenelerle olmaktadır. Lyme Borreliozis evcil hayvanların (at, sığır, köpek, kedi, koyun vb.) ve insanların çeşitli organ ve sistemlerini etkilemektedir. Hastalık, klinik olarak pek çok hastalığı taklit ettiğinden veteriner hekimler tarafından genellikle gözden kaçırılmaktadır. Etkenin kültüre edilmesi zor olduğundan teşhiste genellikle ELISA ve IFAT gibi serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, Lyme Borreliozis'in Şanlıurfa'daki sağlıklı Safkan Arap atlarında seropozitiflik durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak Eylül 2016- Temmuz 2017 tarihleri arasında halk elinde yetiştiriciliği yapılan pedigrili damızlık Safkan Arap atlarından tesadüfi örnekleme ile 186 kan serum örneği alındı. Serum örneklerinde anti-*B. burgdorferi* IgG antikorları ticari bir ELISA kiti ile araştırıldı. İncelenen 186 serum örneğinin 11'i (%5.9) pozitif, 3'ü (%1.6) şüpheli ve 172'si de (%92.5) negatif bulundu. Bu çalışma ile ilk kez Şanlıurfa ili'nde Safkan Arap atlarında anti-*B. burgdorferi* antikorlarının varlığı gösterilmiştir. Hem etkenin neden olduğu ekonomik kayıplar hem de enfeksiyonun zoonoz karakteri nedeniyle, veteriner hekimler klinik çalışmalarında Lyme Borreliozis'i de dikkate almalıdırlar. Ayrıca, hastalığa karşı gerekli önleyici tedbirler alınmalı ve bölgedeki farklı hayvan türlerinde hastalığın mevcut durumunu araştırmak için daha ileri çalışmalar yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Lyme, At, ELISA, Seroprevalans.

Determination of *Borrelia burgdorferi* Seropositivity in Arabian Thoroughbred Horses in Sanliurfa

Abstract: Lyme Borreliosis or Lyme disease is a zoonotic disease caused by *Borrelia burgdorferi*. The transport of the disease is by the Ixodesticks. The disease affects various organs and systems of humans and domesticated animals (horses, cattle, dogs, cats, sheep, etc.). Veterinarians generally misdiagnose the disease because Lymeborreliosis imitates many diseases clinically. Due to difficulties in culturing of the agent, serological methods such as ELISA and IFAT are widely used for diagnosis of the disease. In this study, it was aimed to determine the seropositivity of Lyme Borreliosis in healthy thoroughbred Arabian horses in Sanliurfa. For this aim, between Autumn 2016 and Spring 2017, 186 serum samples were taken from randomly chosen pedigree purebred Arabian horses owned by the local people. Anti-*Borrelia burgdorferi* IgG antibodies were investigated by a commercial ELISA kit. Of 186 serum samples examined, 11 (5.9%) were found as positive, and three (1.6%) serum samples were found as doubtful. The rest of the serum samples (172, 92.5%) were found to be negative. This study is the first reporting the presence of anti-*B. burgdorferi* antibodies in Sanliurfa province. Due to both economic losses caused by the agent and zoonosis character of the disease, veterinarians should not ignore Lyme Borreliosis in their clinical studies. In addition, necessary preventive measures should be taken against the disease, and further studies should be conducted to search the current status of the disease in different animal species in the region.

Keywords: Lyme Borreliosis, Horse, ELISA, Seroprevalence.

Giriş

Lyme borreliozis veya Lyme hastalığı, *Borrelia burgdorferi* tarafından oluşturulan zoonotik bir enfeksiyondur. Etken evcil hayvanlara *Ixodes* genusunda yer alan keneler (sıklıkla *I. ricinus*, *I. pacificus*, *I. scapulari*) tarafından nakledilmekte ve hayvanların farklı sistem ve organlarını etkilemektedir (Skotarczak, 2002; Stefancikova ve ark., 2002; Stefancikova ve ark., 2008).

Atlarda ilk vaka 1978 yılında Güney Afrika'da rapor edilmiş ve serolojik olarak da ilk kez 1990'lı

yılların başlarında tespit edilmiştir. (Koneman ve ark., 1997; Maurizi ve ark., 2010).

İnfeksiyon evcil çiftlik hayvanlarının çok farklı sistem (kardiyovasküler ve sinir sistemi) ve dokularını (deri ve eklem) etkileyerek çok farklı klinik semptomların ortaya çıkmasına neden olur. Atlarda artritise bağlı topallık ve buna eşlik eden ateş en belirgin klinik tablodur (Manion ve ark., 1998; Stefancikova ve ark., 2002; Stefancikova ve ark., 2008; Agudelo ve ark., 2011).

Hastalığın etkeni *Borrelia* genusunda yer alan Gram negatif ve hareketli bir spirokettir. Bulaşmada sıklıkla *Ixodes* cinsi (*I. ricinus*, *I. dammini*, *I. pacificus*, *I. neotoma*, *I. scapularis*, *I. gibbosus*, *I. frontalis*, *I. hexagonus*, *I. lahuri*, *I. verpertilionis*) içerisinde yer alan keneler rol oynamaktadır (Chomel, 2015; Kolk 2016; Maurizi ve ark., 2010). Dolayısı ile enfeksiyonun coğrafik yayılımı da vektör kenelerin dünyadaki yayılımı ile paralellik göstermektedir. Etkenin izolasyonun zor ve zaman alıcı olması nedeniyle Lyme hastalığının tanısında serolojik testlerden (ELISA, IFA) sıklıkla yararlanılmaktadır. Ancak, diğer spiroketal etkenlerle özellikle *Leptospira* serovarları ile kros-antijenik reaksiyonlardan dolayı pozitif bulunan serolojik test sonuçlarının Western Blotting (WB) gibi duyarlı bir teknikle de doğrulanması gerekmektedir. (Caroline ve ark., 2000; Kiss ve ark., 2011).

Materyal ve Metot

Kan Serum Örnekleri: Eylül 2016-Temmuz 2017 tarihleri arasında Şanlıurfa Merkez ve İlçelerinde halk elinde yetiştiriciliği yapılan pedigrili Safkan Arap atlarından alınan toplam 186 kan serum örneği çalışmanın materyalini oluşturdu. Kan örnekleri *vena jugularis*'ten antikoagülansız tüplere alınarak santrifüj ile serumları ayrılmış ve çalışma yapıncaya kadar da serum örnekleri -20 °C'de saklanmıştır.

ELISA Test Kiti: Çalışmada kullanılan kan serum örneklerinde anti-*B. burgdorferi* IgG antikorlarının araştırılmasında ticari ELISA kiti (Euroimmun – Almanya) kullanıldı. Test üretici firmanın belirttiği şekilde yapıldı ve değerlendirildi. Test sonuçları ELISA okuyucusunda (Molecular Devices, Versamax, ABD) okutularak elde edilen değerler, üretici firmanın test protokolünde geçen formüle göre hesaplanarak negatif, sınır değer ve pozitif olarak belirlendi.

İstatistiksel Analiz: Çalışmada yapılan ELISA sonuçları doğrudan sayım ile belirlendi ve gruplar arası farklılık özel bir istatistik paket programında (SPSS 20.0) Ki-kare analizi ile değerlendirildi.

Bulgular

Çalışmada incelenen 186 at kan serum örneğinin 11'i (%5.9) anti-*B. burgdorferi* antikorları yönünden pozitif bulunurken; 3'ü (%1.6) şüpheli ve 172'si de (%92.5) negatif bulundu. Çalışmada seropozitif bulunan at kan serumlarının 6-21 yaş aralığında, şüpheli reaksiyon veren serum örneklerinin ise 6-16 yaş aralığında olduğu belirlendi. Çalışmada incelenen kan serum örneklerinin alındığı atlara ait bilgiler (yerleşim yeri, cinsiyet, yaş) ile ELISA sonuçları Tablo-1 ve 2'de verilmiştir.

Tablo 1. ELISA sonuçlarının yerleşim yerlerine göre dağılımı

Örneklerin Alındığı Yer	Alınan Kan Serum Örneği Sayısı	Seropozitif n (%)	Şüpheli n (%)	Seronegatif n (%)
Karaköprü	8	2 (25)	0 (0)	6 (3.2)
Haliliye	72	3 (4.2)	0 (0)	69 (37)
Eyyübiye	106	6 (5.7)	3 (2.8)	97 (52.2)
Toplam	186	11 (5.9)	3 (1.6)	172 (92.5)

Tablo 2. ELISA sonuçlarının bölge ve yaşa göre dağılımı.

Örneklerin Alındığı Yer	Seropozitif Atların Yaşı	Sınır Değerdeki Atların Yaşı	Seronegatif Atların Yaş Aralığı
Karaköprü	10, 19	-	6-18
Haliliye	11, 18, 21	-	4-21
Eyyübiye	6, 7, 8, 9, 10, 15	6, 11, 16	5-24

Tartışma ve Sonuç

Lyme Borreliozis Avrupa, Asya ve Amerika kıtasında oldukça yaygın olarak görülen bir zoonotik enfeksiyondur (Bhide ve ark., 2008; Stefancikova ve ark., 2002). Enfeksiyonun atlardaki seroprevalansının coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterdiği bildirilmiş ve farklı ülkelerde farklı prevalans oranları rapor edilmiştir. Enfeksiyonun seroprevalansı Kore'de %5.5 (Kiss ve ark. 2011), Romanya'da %11.9 (Egenvall ve ark. 2001), İsveç'te %6.8 (Egenval ve ark., 2001), İtalya'da %24 (Ebani ve ark., 2012), Polonya'da %26 (Stefancikova ve ark., 2008), Danimarka'da %29 (Hansen ve ark., 2010), Meksika'da %34 (Stefancikova ve ark., 2002), Brezilya'da %9.8-42.8 (Basile ve ark., 2015), Fransa'da %31-48 (Stefanikova ve ark., 2008) olarak bildirilmiştir. Enfeksiyonun seroprevalansı ise Amerika'nın Kuzeydoğu bölgelerinde %45 (Magranelli ve ark., 2000), Güneybatı Virginia'da %33 (Funk ve ark., 2016; Fritz ve Kjemtrup, 2003), Wisconsin ve Connecticut'ta ise sırasıyla %63 ve %84 (Fritz ve Kjemtrup, 2003) olarak rapor edilmiştir. Ancak, Cohen ve ark. (1992) Teksas'ta oldukça düşük (%0.2) seropozitiflik oranı saptadıklarını bildirmişlerdir.

Türkiye'de atlarda enfeksiyonun seroprevalansını belirlemeye yönelik tek çalışma Bhide ve ark. (2008) tarafından yapılmış olup; araştırmacılar ELISA ile %6 Borreliacidal Antibody Test (BAT) ile de %6.3 oranında seropozitiflik belirlemişlerdir.

Türkiye'de evcil hayvanlarda Lyme Borreliozis ile ilgili yapılan sınırlı sayıda çalışmada ilk kez İzgür ve ark. (1996) IFAT ile farklı bölgelerden alınan 111 sığır kan serumunun %13.5'unda, Esenal ve ark. (1996) ise yine IFAT ile Ankara'da 74 sokak köpeğine ait kan serumu örneğinde %78.4 oranında seropozitiflik bildirmişlerdir.

Bu çalışma ile Türkiye'deki at yarışı sektöründe önemli bir yere sahip olan Safkan Arap atlarının önemli bir kısmının yetiştirildiği Şanlıurfa ili merkez ve ilçelerinde halk elinde yetiştirilen atlarda *B. burgdorferi* seropozitifliği ELISA ile ilk defa araştırılmış ve incelenen at serumu örneklerinin %5.9'u *B. burgdorferi* enfeksiyonu yönünden seropozitif olarak saptanmıştır. Bu çalışmada elde edilen seropozitiflik oranı Bhide ve ark. (2008), Egenvall ve ark. (2001), Lee ve ark. (2016) tarafından bildirilen oranlara yakın; Basile ve ark. (2015), Funk ve ark. (2016), Hansen ve ark. (2010), Magnarelli ve ark. (2000), Maurizi ve ark. (2010), Salinas ve ark. (1999) ve Stefancikova ve ark. (2008) tarafından bildirilen oranlardan ise düşüktür. Farklı coğrafik bölgelerde değişen seropozitiflik oranlarının bildirilmesi farklı iklim koşullarına, kene türlerinin dağılımındaki farklılıklara ve enfestasyon

oranlarındaki farklılıklara bağlanabilir. Ayrıca, etkeni vektör olarak taşıyan kene türlerinin Türkiye'deki coğrafi dağılımına bakıldığında Karadeniz, Ege, Marmara ve Akdeniz bölgelerinde yaygın olduğu; Güney Anadolu bölgesinde ise *I. verpertilionis*'in bulunduğu bildirilmektedir (Uslu, 2008). Safkan Arap atlarında saptanan düşük seropozitiflik oranı gerek yarış amacıyla yetiştirilen gerekse de damızlık olarak bakılan Safkan Arap atlarının yarış veya çiftleştirme için yurt içinde farklı bölgelere götürülmesi ve vektör kenelerin göçmen kuşlarla bölgeye taşınması ile açıklanabilir.

Çalışmada seropozitif bulunan serum örneklerin alındığı atlar yerleşim yeri ve yaş aralığına göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı ($p < 0,05$) belirlendi. Benzer şekilde Kiss ve ark. (2011) seropozitiflik oranlarının bölge, yaş, cinsiyet ve yetiştirme yönünden önemli bir korelasyon göstermediğini rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak Şanlıurfa ilinde Safkan Arap atlarında *B. burgdorferi* seropozitifliği %5.9 olarak tespit edilmiştir. Enfeksiyonun zoonotik karakteri ve evcil hayvanlarda neden olduğu ekonomik kayıplar dikkate alındığında bölgede enfeksiyonun epidemiyolojisine yönelik daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Hastalığın pek çok hastalığı taklit etmesi nedeniyle klinisyenler tarafından gözden kaçırılan Lyme borreliozis'in, teşhis açısından unutulmaması gerektiği kanısına varılmıştır. Ayrıca bu çalışmanın atlarda Lyme borreliozis epidemiyolojisi açısından önemli olduğu da düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (HÜBAK) tarafından HÜBAK-17053 proje numarası ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Agudelo CF, Schanilec P, Kybicova K, Kohout P, 2011: Cardiac manifestations of borreliosis in a dog: a case report. *Vet Med-Czech*. 56 (2), 85-92.
- Basile RC, Rivera GG, Del Rio LA, de Bonis TC, do Amaral GP, Giangrecco E, Ferraz G, Yoshinari NH, Canola PA, Queiroz N, 2015: Anaphylactoid reaction caused by sodium ceftriaxone in two horses experimentally infected by *B. burgdorferi*. *BMC Vet Res*, 11, 197.
- Bhide M, Yılmaz Z, Golcü E, Torun S, Mikula S, 2008: Seroprevalence of anti-Borrelia burgdorferi antibodies in dogs and horses in Turkey. *Ann Agric Environ Med*, 15, 85-90.
- Caroline NH, Mayhew IG, Katherine EW, Smith KC, Dorothy C, Chang YF, Novosol V, McDonough SP, Chang CF, Jacobson RH, Divers T, Quimby FW, Shin

- S, Lein DH, 2000: Experimental infection of ponies with *Borrelia burgdorferi* by exposure to Ixodesticks. *Vet Pathol*, 37, 68-76.
- Chomel B, 2015: Lyme disease. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 34(2), 569-576.
- Cohen ND, Heck FC, Heim B, Flad DM, Bosler EM, Cohen D, 1992: Seroprevalance of antibodies to *B.burgdorferi* in a population of horses in central Texas. *J Am Vet Med Assoc*, 201, 1030-1034.
- Ebani VV, Bertoloni F, Pinzuati P, Cerri D, 2012: Seroprevalence of *Leptospira* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Italian horses. *Ann Agric Environ Med*, 19(2), 237-240.
- Egenvall A, Franzen P, Gunnarsson A, Engvall EO, Vagsholm I, Wikstrom UB, Artursson K, 2001: Cross-sectional study of the seroprevalence to *Borrelia burgdorferi* sensu lato and granulocytic *Ehrlichia* spp. and demographic, clinical and tick-exposure factors in Swedish horses. *Prev Vet Med*, 49, 191-208.
- Esendal ÖM, İzgür M, Arda M, Akay Ö, Keskin O, 1996: Köpeklerde *Borrelia burgdorferi* antikorlarının floresan antikor tekniği ile saptanması. *I. Uluslararası Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi*, İstanbul, 128-129.
- Fritz CL, Kjemtrup AM, 2003: Lyme Borreliosis. *J Am Vet Assoc*, 223, 1261-1270.
- Funk RA, Pleasant RS, Witonsky SG, Reeder DS, Werre SR, Hodgson DR, 2016: Seroprevalence of *B. burgdorferi* in horses presented for coggins testing in Southwest Virginia an change in positive test results approximately 1 year later. *J Vet Int Med*, 30, 1300-1304.
- Hansen MG, Christoffersen M, Thuesen LR, Petersen MR, Bojesen AM, 2010: Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in Danish horses. *Acta Vet Scand*, 52, 3.
- İzgür M, Arda M, Akay Ö, Esendal ÖM, Keskin O, 1996: Sığır kan serumlarında *Borrelia burgdorferi* antikorlarının floresan antikor tekniği ile saptanması. *I. Uluslararası Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi*, İstanbul, 174-175.
- Kiss T, Cadar D, Krupaci AF, Bordeanu A, Brudasca GF, Mihalca AD, Mircean V, Gliga L, Dumitrache MO, Spin M, 2011: Serological reactivity to *Borrelia burgdorferi sensulato* in dogs and horses from distinct areas in Romania. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 11(9), 1259-1262.
- Kolk VJH, 2016: Lyme borreliosis in the horse. *JEBAS*, 4, 196-202.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, 1997: Lyme disease. color atlas and textbook of diagnostic microbiology, JB Lippincott Company, Philadelphia, 964, 971.
- Lee SH, Yun SH, Choi E, Park YS, Lee SE, Cho GJ, Kwon OD, Kwak D, 2016: Serological detection of *Borrelia burgdorferi* among horses in Korea. *Korean J Parasitol*, 54(1), 97-101.
- Magnarelli LA, Ijdo JW, Van Andel AE, Wu C, Padula SJ, Fikrig E, 2000: Serologic confirmation of *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi* infections in horses from the northeastern United States. *J Am Vet Med Assoc*, 217, 1045-1050.
- Maurizi L, Marié JL, Aoun O, Courtin C, Gorsane S, Chal D, Davoust B, 2010: Seroprevalence survey of equine Lyme borreliosis in France and in sub-Saharan Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 10, 535-537.
- Skotarczak B, 2002: Canine borreliosis – epidemiology and diagnostics. *Ann Agric Environ Med*, 9, 137-140.
- Stefancikova A, Stepanova G, Dardakova M, Pet'ko B, Kysel'ova J, Ciganek K J, Strojny L, Cislakova L, Travnicek M, 2002: Serological evidence for *Borrelia burgdorferi* infection associated with clinical signs in dairy Cattle in Slovakia. *Vet Res Commun*, 6, 601-611.
- Stefanciková A, Adaszek L, Petko B, Winiarczyk S, Dudinák V, 2008: Serological evidence of *Borrelia burgdorferi sensulato* in horses and cattle from Poland and diagnostic problems of Lyme borreliosis. *Ann Agric Environ Med*, 15, 37-43.
- Uslu O, 2008: Köpeklerde Lyme hastalığının araştırılması. Yüksek lisans tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- *Bu araştırma makalesi “Şanlıurfa’da Safkan Arap Atlarında *Borrelia burgdorferi* Seropozitifliğinin Belirlenmesi” isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiştir. I. Uluslararası Gevher Nesibe Sağlık Hizmetleri Kongresi (4-6 Mayıs 2018 Şanlıurfa)'inde sunulmuştur. Çalışma için izin belgesi Döllvet A.Ş. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan alınmıştır.
- **Yazışma Adresi: Ömer DEMİR
Tarım ve Orman Bakanlığı Şehitkamil İlçe Müdürlüğü, Gaziantep, TÜRKİYE
E-mail: ofaruk0227@hotmail.com