



Araştırma Makalesi

Aydın ve Muğla İllerindeki Sığır, Koyun, Keçi ve Develerde Akabane Virus (AKAV) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması

B. Taylan KOÇ¹, Nural EROL¹

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı (ADÜ Faculty of Veterinary Medicine Department of Virology) 09016 Işıklı-Aydın

Ö Z E T

Öz bilgi/Amaç: Bu çalışmada Muğla ve Aydın illerindeki sığır, koyun, keçi ve develerde Akabane virusuna (AKAV) karşı oluşan spesifik antikorları araştırılarak enfeksiyonunun serolojik olarak varlığının ve yaygınlığının saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Muğla ve Aydın illerinde yetiştirilen 200 sığır, 81 koyun, 49 keçi ve 45 deveye ait toplam 375 adet kan serumu örneği toplandı. Elde edilen serumlarda Akabane virusunun G1 proteinine karşı oluşan antikorların (Anti-G1 antikor) varlığı araştırıldı. Bu amaçla ticari yarışmalı Akabane virus antikor ELISA kiti kullanıldı.

Bulgular ve Sonuç: AKAV'a karşı oluşan spesifik antikor varlığı yönünden tüm kan serumları negatif olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bölge için olumlu olmakla birlikte, AKAV gibi tüm Arboviral enfeksiyonların sezona bağlı salgın artışları göstermesi bu tip hastalıkların sürekli kontrolünü mecburi kılmaktadır. Bu nedenle yapılan çalışmaların saha yaygınlığı ve zaman aralığı çok önemlidir. Ayrıca bu çalışmada ilk defa Türkiye'de develerde AKAV enfeksiyonu serolojik olarak araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Akabane Virus, C-ELISA, Muğla, Aydın, Deve

Serological Investigation of Akabane Virus (AKAV) Infection in Cattle, Sheep, Goats and Camels in Aydın and Muğla Provinces

ABSTRACT

Background/Aim: In this study, it was aimed to investigate the presence and the prevalence of antibodies against the Akabane virus (AKAV) in blood sera taken from cattle, sheep, goat and cattle in the provinces of Muğla and Aydın.

Materials and Methods: Three hundred and seventy five blood serum samples were collected from 200 cattle, 81 sheep, 49 goat and 45 cattle in the provinces of Muğla and Aydın. A commercial competitive Akabane virus antibody ELISA kit was used to screen for the presence of Anti-G1 antibodies in the obtained sera.

Results and Conclusion: No antibodies against AKAV were detected in any of the blood sera. This is a favorable result for this region. However, it is mandatory to continuously monitor AKAV as well as other Arboviral infections because they may present as seasonal outbreaks. Therefore, the field prevalence and time intervals in the studies carried out to monitor these infections are very important. This is the first study serologically investigating AKAV infection in camels in Turkey.

Keywords: Akabane Virus, C-ELISA, Muğla, Aydın, Camel

Correspondence To: B. Taylan KOÇ, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı (ADÜ Faculty of Veterinary Medicine Department of Virology) 09016 Işıklı-Aydın. E-mail:bt koc@adu.edu.tr

Giriş

Akabane virusu (AKAV) *Bunyaviridae* familyası *Orthobunyavirus* genusunda yer alan, sokucu sineklerle bulaşan, sığır, koyun ve keçilerin erişkinlerinde genellikle subklinik enfeksiyon oluşturan, ancak intrauterin enfeksiyonu sonrası fötusta kongenital anomalilere, abortlara, ölümle sonuçlanan zayıf ve güçsüz yavru doğumlarına neden olan bir etkidir (Kirkland, 2015). AKAV, kan emen sineklerle taşınmasından dolayı *Arbovirus* sınıfına da girer. Bulaşma daha çok *Culicoides* türü sivrisinekler tarafından oluşturulur. AKAV'ın ortaya çıkma zamanı *Culicoides* türlerinin üreme safhaları ile bir korrelasyon göstermektedir (Jennings ve Mellor, 1989). Genellikle epizootik veya sporadik bir yayılım gösterse de AKAV özellikle intrauterin enfeksiyon meydana getirir ve yavru hayvanlarda klinik olarak çeşitli patolojilere (brakignati inferior, tortikollis, omurga eğriliği, artrogripoz ve hidranensefali) neden olur (Charles, 1994). *Orthobunyavirus* genusunda yer alan viruslar hemaglutinasyon inhibisyon ve antikor nötralizasyon sonuç ilişkilerine göre 18 serogruba ayrılmışlardır. AKAV, bu 18 serogrup içerisinde en fazla üyeye sahip *Simbu* serogrubunda yer almaktadır.

güncel durumunu ortaya koymak için çeşitli hayvan türlerinden (sığır, koyun, keçi ve tek hörgüçlü deve) örnek alınarak araştırma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada Türkiye'de ilk defa develerde AKAV enfeksiyonunun varlığı ve yaygınlığı araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Örnekler: AKAV enfeksiyonunun varlığını ve yaygınlığını araştırmak amacıyla 2011 ve 2012 sezonunda Aydın ve Muğla illerindeki aile, besi ve süt işletmelerinden tesadüfi örnekleme yoluyla seçilen sığır, koyun, keçilerden toplam 330 adet toplandı. Deve kan örnekleri ise; kesim için Aydın ili İncirliova ilçesi Belediye Mezbahasına, tedavi için Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinikleri'ne getirilen ve yöre halkının elinde bulunan toplam 45 adet tek hörgüçlü deveden (*Camelus dromedarius*) toplandı. Örneklenen hayvanların kan örneği alma işlemi sırasında kulak numaraları, yaş, cinsiyet, sağlık durumları, ebeveynleri hakkındaki bilgiler kayıt edildi. Kanların sahadan toplanması sırasında örnekleme için coğrafik açıdan homojenlik göstermesi için birçok farklı bölgeden

Tablo.1. Aydın ve Muğla'ya bağlı ilçelerden hayvan türüne göre yapılan örnekleme sayısı dağılımı ve ELISA testi sonuçları

	Örneklenen Hayvan Türleri								
	Sığır		Koyun		Keçi		Deve		
	n	Anti-AKAV Ak (%)	n	Anti-AKAV Ak (%)	n	Anti-AKAV Ak (%)	n	Anti-AKAV Ak (%)	
AYDIN	Bozdoğan	10	0.0	3	0.0	4	0.0	15	0.0
	Buharkent	10	0.0	5	0.0	3	0.0	3	0.0
	İncirliova	20	0.0	7	0.0	-	0.0	18	0.0
	Merkez	20	0.0	10	0.0	-	0.0	9	0.0
	Karpuzlu	30	0.0	20	0.0	9	0.0	-	0.0
	Sultanhisar	10	0.0	5	0.0	-	0.0	-	0.0
MUĞLA	Kavaklıdere	8	0.0	9	0.0	8	0.0	-	0.0
	Köyceğiz	10	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0
	Merkez	35	0.0	6	0.0	16	0.0	-	0.0
	Milas	15	0.0	5	0.0	6	0.0	-	0.0
	Ortaca	10	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0
	Ula	10	0.0	7	0.0	3	0.0	-	0.0
Yatağan	12	0.0	4	0.0	-	0.0	-	0.0	
TOPLAM	200		81		49		45		

Bu serogrup Aino, Schamallenberg, Shamonda viruslar gibi ruminant sağlığı açısından en az AKAV kadar tehlikeli viruslar içermektedir (Kinney ve Calisher, 1981; Kirkland, 2015).

AKAV tanısında ELISA, nötralizasyon gibi serolojik testlerin yanısıra moleküler olarak viral genom varlığını teşhis metotları (Polimerase chain reaction; PCR) da kullanılmaktadır. Ancak saha taramasında pratik olması ve oluşan spesifik antikorlar hakkında bilgi vermesi açısından ELISA en sık kullanılan tespit ve araştırma metodudur.

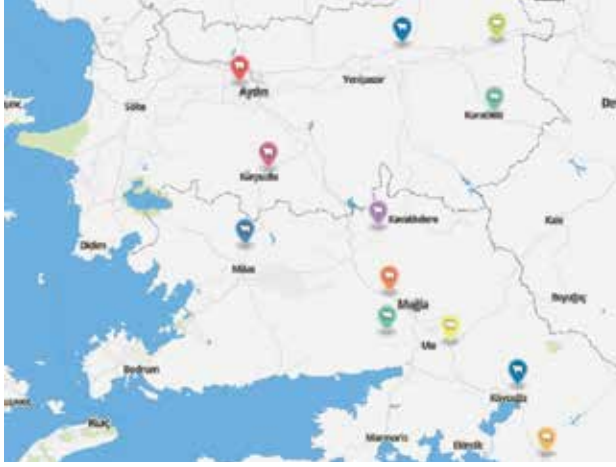
Ülkemizde AKAV'un hem serolojik hem de moleküler olarak varlığı saptanmıştır (Tan ve Dağalp, 2000; Çabalar ve ark., 2006; Karaoğlu ve ark., 2007; Özgünlük ve ark., 2013; Oğuzoğlu ve ark., 2015). AKAV varlığı ilk defa Aydın'da yapılan bir çalışma sonucu ortaya konmuştur (Urman ve ark., 1979). Özellikle Aydın ve çevre illeri *Culicoides* cinsi sokucu sineklerin yoğunluğundan dolayı AKAV açısından da sürekli izlenen bölgeler olmuştur. Her ne kadar AKAV varlığı bölgemizde biliniyor tespit edilmiş olsa da, geniş çaplı bir araştırma yapılmamıştır. Bu nedenle, çalışmamızda AKAV enfeksiyonunun Aydın ve Muğla illerinde

toplanmasına dikkat edildi. Her iki yöreden toplamda 375 kan örneği alındı. Ayrıca örneklerin toplanması esnasında klinik geçmişinde abort ve anomalili yavru doğumu görülmüş sürülerden de kan alınması hedeflendi. Örnekleme yapıldığı hayvan türü sayısı ve ilçelere göre dağılımı Tablo.1'de belirtilmiştir. Örnekleme yapıldığı lokasyonlar ise Şekil.1'de sunulmuştur.

Örneklerin işlenmesi: Kaolinli tüplere toplanan kanlar serumlarının ayrılması amacıyla 3000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası ayrılan serumlar steril tüplere alınarak testin yapılacağı zamana kadar -20°C derecedeki derin dondurucuya kaldırıldı.

Yarışmalı (Competitive) ELISA: Toplanan serumlar, Akabane competition antibody ELISA (IDvet Diagnostic Montpellier, France) kiti kullanılarak Akabane virusunun G1 proteinine karşı oluşan antikorların varlığı yönünden test edildi. ELISA testi, kit üreticisi tarafından sağlanan protokole uygun şekilde yapıldı. " $S \setminus N (\%) = OD_{Sample} \setminus OD_{NK} \times 100$ " formülü uygulandı ve çıkan değerler yarışmalı antikorlar açısından %30'dan küçükse pozitif,

%30 ile %40 arasında şüpheli ve %40'ın üzerinde ise negatif olarak değerlendirildi.



Şekil.1. Aydın ve Muğla illerinde örnekleme yapılan lokasyonlar

Bulgular

Test prosedürüne göre hesaplamalar sonucunda Aydın ve Muğla yörelerine ait toplam 375 serum örneğinin hiçbirinde AKAV'a karşı oluşmuş spesifik anti-G1 antikorunu saptanmadı (Tablo.1). Bu duruma bağlı olarak istatistik analiz uygulanamadı.

Tartışma

AKAV dünyada halen güncelliğini koruyan ve zaman zaman bazı bölgelerde salgınlar halinde görülebilen bir enfeksiyondur. Bu salgınların en çok görüldüğü bölgeler Avustralya, Asya ve Orta Doğu ülkeleri olup, buralarda yaygın bir dağılım göstermektedir. Bu hastalık için epidemiyolojik çalışma önemli olup, OIE tarafından halen asıl teşhis metodu olarak seroloji temelli testler (Nötralizasyon, hemaglutinasyon inhibisyon, antikor ELISA) uygun görülmektedir. Bu kapsamda çalışma sonuçları karşılaştırmak amacıyla bu bölgelerde yapılan son on senedeki bazı seroepidemiolojik çalışmaları incelemek doğru olacaktır. Kore'de 2007 senesinde yapılan çalışmada, AKAV'a karşı antikor saptandığı ve genel seropozitiflik oranının %37,4 olduğu bildirilmiştir (Lim ve ark., 2007). Buna karşın Kore'de 2010 senesinde çıkan salgında Oem ve ark. (2012) tarafından nötralizasyon testi ile yapılan araştırmalar sonucunda alınan serum örneklerinin %85'inde antikor pozitiflik tespit edilmiştir. Bu durum tıpkı ülkemizdeki gibi dönemsel olarak oldukça farklı seropozitiflik oranının söz konusu olduğunu göstermektedir. Kuzeybatı Çin'de yapılan bir diğer çalışmada ise sığırlarda %20 ,3; koyunlarda ise seropozitiflik oranı %18,1 olarak saptamıştır (Jun ve ark 2012). Sudan'da yapılan AKAV seroepidemiolojik çalışmada toplamda antikor varlığı %9,24 oranında olduğu rapor edilmiştir (Elhassan ve ark., 2014).

Ülkemizde ise AKAV varlığına yönelik yapılan çalışmalar mevcut olmakla beraber oldukça sınırlı sayıdadır. Çalışmamızda keçilere ait sonuçlar, Tan ve Bilge (2000)'nin aynı bölgedeki keçilerde yapmış olduğu serolojik tarama sonuçları ile karşılaştırıldığında, bu çalışmada elde edilen sonuçlarla çelişmediği görülmektedir. Tan ve Bilge (2000) Aydın'dan toplanan 90 kan serumundan sadece bir örnekte seropozitiflik (%1,1) tespit etmiş, Muğla'dan toplanan 90 kan serumunda ise AKAV yönünden herhangi bir seropozitifliğe (%0) rastlamamışlardır. Karaoğlu ve ark. (2007) ise Trakya bölgesinde yaptığı seroprevalans çalışmasında %0,14 oranında antikor pozitifliği belirlemişlerdir. Albayrak ve Özcan (2010)'nin Karadeniz bölgesindeki sığırlarda yaptığı

çalışmada tespit ettikleri %22 oranındaki yüksek bir antikor pozitiflik hastalığın değerlendirilmesi bakımından önemlidir. Aydın yöresinde yapılan bir çalışmada ise bazı büyükbaş işletmelerinden alınan kan serumlarının mikronötralizasyon ile test edilmesi sonucu %9,24'lük seropozitiflik saptanmıştır (Özgünlük ve ark., 2013). Şimdiye kadar Aydın bölgesinde en yüksek oranda seropozitiflik saptanan bu çalışmada örnekleme yapılan bölgelerin ve sezonun belirtilmemesi karşılaştırma açısından yeterli veri içermemektedir. Son olarak yakın zamanda Doğu Anadolu Bölgesi'nde 326 sığır ile yapılan seroprevalans çalışmasında ise AKAV antikor oranı ELISA ile %2 saptanmıştır (Yıldırım ve ark., 2015).

Ayrıca bu çalışma Türkiye'de develerde yapılan ilk AKAV seroepidemiolojik çalışmadır. Bu çalışma dışında küresel anlamda dünya üzerinde develerde AKAV'a ait seroepidemiolojik çalışmalar ve bu konu hakkındaki diğer bilgiler oldukça sınırlıdır. Develer hakkında en son çalışma Mohammed ve ark. (2013) tarafından Arap yarımadasında yapılan serolojik çalışmadır. Araştırmacılar, develerde %7,7 oranında AKAV antikor varlığı tespit etmişlerdir.

Dünya çapında ve ülkemizde yapılan çoğu çalışma AKAV'ın genellikle sporadik bir görünüm sergilediği anlaşılmaktadır. Bu çalışmamızda da bu sonuçlara paralel olarak 375 hayvanda seropozitiflik saptanmamıştır ve AKAV'una karşı oluşan antikorların hayvanlarda iki yıl kadar kalabildiği göz önüne alınacak olursa virusun bölgede en az iki yıldır sirküle olmadığını işaret etmektedir. Bu durum bölgemiz açısından olumlu bir sonuç olmakla beraber, düzenli seroprevalans çalışmalarının ne kadar önemli olduğunu da göstermiştir. Bölgede oluşabilecek olası bölgesel epidemik bir durumun bu çalışmalar ile öngörülmesi sağlanabilir ve yoğun vektör mücadelesi, uygun korunma metodlarıyla en az zararlı atlatılması mümkün olabilecektir. Ayrıca ülkemizin Güneybatı-Güney-Güneydoğu bölgeleri, *Culicoides* cinsi sivrisineklerin hareket yoğunluğundan dolayı daha detaylı incelenmesi gerekliliği söz konusudur.

Sokucu sinekler ile nakledilen Mavi Dil enfeksiyonunun 1946'da ilk görüldüğü yöre olması ve AKAV'ın 1980'de Türkiye'de ilk izole edildiği bölge olması sebebiyle, Aydın ve Muğla illeri arboviruslar yönünden yüksek risk potansiyeline sahiptir (Urman ve ark 1979, Özgünlük ve ark 2013). Bu yüzden, bu bölgede, AKAV ve diğer arboviral enfeksiyonların düzenli bir şekilde seroprevalanslarının araştırılması, bu enfeksiyonlarla mücadele ve kontrol programı geliştirilmesi açısından kritik bir önem arz etmektedir. Bu bağlamda, önümüzdeki dönem araştırmalarda AKAV seroprevalansının Muğla ve Aydın illerinde yine çeşitli hayvan türlerinde daha detaylı olarak incelenmesi ve antijenik testlerle bulguların desteklenmesi planlanmaktadır.

Teşekkür

Çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri tarafından VTF-12033 kodlu proje olarak desteklenmiştir. Araştırma, Bahattin Taylan KOÇ'un Yüksek Lisans Tez çalışmasından hazırlanmıştır.

Kaynaklar

- Albayrak H, Özcan E. (2010). Seroprevalence of some arboviral infections transmitted by blood sucking insects in ruminants and equids in the middle Black Sea region in Turkey Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 16(1): 33-36.
- Charles JA (1994). Akabane virus. Vet Clin North Am Food Anim Pract, 10(3): 525-546.
- Çabalar M, Dagalp SB, Zemljčić B (2006). Seroprevalence of Bluetongue and Akabane diseases in dairy cattle in South-East Turkey. In Slovenian Vet Res, 43(10): 296-297.

- Elhassan AM, Mansour ME, Shamon A, El Hussein MA (2014). Serological Survey of Akabane Virus Infection in Cattle in Sudan. *ISRN Vet. Sci*, 1–4.
- Jennings M, Mellor PS (1989). Culicoides: Biological vectors of akabane virus. *Vet Microbiol*, 21(2):125–131.
- Jun Q, Qingling M, Zaichao Z, Kuojun C, Jingsheng Z, Minxing M, Chuangfu C (2012). A serological survey of Akabane virus infection in cattle and sheep in northwest China. *Trop Anim Health Prod*, 44(8): 1817-1820.
- Karaoğlu T, Özgünlük İ, Demir A, Özkul A, Burgu I (2007). Seroprevalence of culicoides-borne disease in cattle in European Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 54: 121-125.
- Kinney RM, Calisher CH (1981). Antigenic relationships among Simbu serogroup (Bunyaviridae) viruses. *Am J Trop Med Hyg*, 30: 1307–1318.
- Kirkland PD (2015). Akabane virus infection. *Revue Sci Tech (International Office of Epizootics-OIE)*, 34(2), 403-410.
- Lim SI, Kweon CH, Tark DS, Kim SH, Yang DK (2007). Sero-survey on Aino, Akabane, Chuzan, bovine ephemeral fever and Japanese encephalitis virus of cattle and swine. *Korea J Vet Sci*, 8(1): 45-49.
- Mohammed OB, Alagaili AN, Mohamed AS, Omer SA, Elamin MH, Elzein EMA (2013). Serosurveillance for some diseases in livestock living within protected areas designated for wildlife reintroduction in Saudi Arabia. *African J Microbiol Res*, 7(16): 1574-1578.
- Oem JK, Lee KH, Kim HR, Bae YC, Chung JY, Lee OS, Roh IS (2012). Bovine epizootic encephalomyelitis caused by Akabane virus infection in Korea. *J Comp Pathol*, 147(2): 101-105.
- Oğuzoğlu TÇ, Toplu N, Koç BT, Doğan F, Epikmen ET, İpek E, Akkoç AN (2015). First molecular detection and characterization of Akabane virus in small ruminants in Turkey. *Arch Virol*, 160(10): 2623-2627.
- Özgünlük İ, Yıldırım Y, Gür S, Tan MT (2013). Aydın Yöresindeki Sığırlarda Akabane Virus (AKAV) ve İbaraki Virus (IBAV) Enfeksiyonlarının Seroprevalansı. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 2(1): 36-41.
- Tan MT, Bilge S (2000). Serological investigation of Akabane infection in goat with congenital abnormalities in Turkey. *Pendik Vet Mik Derg*, 31(2): 65-66.
- Urman HK, Milli Ü, Mert N, Berkin S, Kahraman MM, Yüce H, Avvuran H (1979). Türkiye’de buzağılarda konjenital epizootik arthrogriposis ve hydranencephalie olayları. *Ank Univ Vet Fak Derg*, 26: 287-292.
- Yıldırım Y, Gökçe G, Kirmizigül H., Erkiliç EE, Yılmaz V, Tan MT, Özgünlük İ (2015). Molecular and Serological Investigation of Akabane Virus Infection in Cattle in Kars-Turkey. *Israel J Vet Med*, 70: 3.