

Van İlindeki Koyun Sürülerinde Bovine Herpesvirus-1 Antikorlarının Prevalansı

Mehmet ÇABALAR^{1*}, İrfan ÖZGÜNLÜK¹

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 10.11.2014

Kabul Tarihi: 04.12.2014

Özet: Bu çalışmada, Van il merkezi ve ilçelerinde bulunan 6 adet yerli ırk koyun sürüsünden toplanan 564 adet kan serumu örneğinde bovine herpesvirus-1 (BHV-1) spesifik antikorlarının varlığı ve prevalansı araştırıldı. Virus nötralizasyon (VN) testi kullanılarak yapılan çalışmada serum örneklerinin %1.4 (8/564)'ünde BHV-1'e karşı spesifik nötralizan antikorlar belirlendi. Araştırma verileri, Van ilindeki yerli ırk koyunlarda BHV-1 enfeksiyonu seroprevalansının düşük düzeyde olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Koyun, BHV-1, seroprevalans

Prevalence of Bovine Herpesvirus-1 Antibodies in Sheep Flocks in Van Province of Turkey

Abstract: In the present study, 564 serum samples collected from 6 indigenous bred sheep flocks in provincial centre of Van and its districts were investigated for the presence and prevalence of specific antibodies to bovine herpesvirus-1 (BHV-1). Prevalence of antibodies detected against BHV-1 in sheep was found to be 1.4% (8/564) using virus neutralization (VN) assay. The results of the present study reveal that seroprevalence of BHV-1 infection exists at low levels in indigenous bred sheep in Van province of Turkey.

Keywords: Sheep, BHV-1, seroprevalence

Giriş

Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) sığırlarda yaygın akut veya latent özellikte hastalığa neden olan önemli viral ajanlardan birisidir. Dünyanın birçok ülkesinde varlığı bildirilen BHV-1 enfeksiyonu yetiştiricilik açısından önem taşımakta ve ağır ekonomik kayıplara yol açabilmektedir (Patel ve Didlich, 2008). *Herpesviridae* ailesinin *Alphaherpesvirinae* alt ailesinde yer alan BHV-1, genital veya solunum sistemi enfeksiyonlarını takiben sırasıyla sakral ve trigeminal ganglionlarda latent kalabilmektedir. Latent enfekte hayvanlar özellikle gebelik ve nakil gibi stres faktörleri veya kortikosteroid uygulaması sonrasında reaktif olan virüsü saçabilir. Bu nedenle latent enfekte hayvanlar virus rezervuarı olarak tanımlanırlar (OIE Terrestrial Manuel, 2010). BHV-1 özellikle sığırlar için patojen olmakla birlikte diğer evcil, yabanî ve hayvanat bahçesi ruminatlarında da varlığı saptanmış ve epidemiyolojik açıdan bu hayvanların önemli bir role sahip olabilecekleri bildirilmiştir (Barnard, 1997; Mahmoud ve Ahmed, 2009; Frölich ve ark. 2006). Bu durum sığırlarda BHV-1 kontrol ve eradikasyon programlarının başarıya ulaşabilmesinde bir sorun olarak görülebilir (Patel ve Didlich, 2008; Yeşilbağ ve Dağalp, 2006). Bununla birlikte, BHV-1'in türler arasında taşınma potansiyelinin tam olarak anlaşamadığını (Kalman ve Egyed, 2005) ya da bu taşınmada koyunların minimal düzeyde etkili olabileceğini ileri süren araştırmalar da mevcuttur (Hage ve ark., 1997).

Ülkemizdeki küçük ruminantlarda BHV-1 enfeksiyonuna ilişkin bazı çalışmalar (Albayrak ve ark. 2007; Alpay ve ark. 2014; Yavru ve ark. 1999; Yeşilbağ ve Güngör, 2009) bulunmasına karşın, Van ilinde yetiştirilen koyunlardaki enfeksiyonun prevalansına ilişkin yeterli bilgi (Çabalar ve Ataseven, 1999) bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Van il merkezi ve ilçelerindeki yerli ırk bazı koyun sürülerinde BHV-1 antikorlarının belirlenmesi ve ülkemizde konu ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalara katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmada kullanılan hayvanlar: Araştırma kapsamında Van il merkezi ve ilçelerinde yetiştirilen 6 adet yerli ırk koyun sürüsünde bulunan 1 yaşın üzerindeki hayvanlardan tesadüfi örnekleme yoluyla 564 adet kan örneği elde edildi (Tablo 1). Örnekleme yapılan koyun sürülerinin bulunduğu bölgelerde diğer ruminantların yetiştiriciliği yapılmadığı ve bu sürülerde BHV-1'e veya yakın antijenik özellikler gösteren virüslere karşı aşı uygulaması yapılmadığı teyit edildi. Steril şartlarda silikonlu vakum tüplerine alınan kan örnekleri 2000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra ayrılan her bir serum örneği steril saklama tüplerine aktarıldı. Saklama tüplerine alınan serum örnekleri 56°C'de 30 dakika inaktivasyonu takiben

virus nötralizasyon (VN) testi uygulanana kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

Hücre kültürü ve virus: Araştırmada test virusu olarak BHV-1 Colorado referans suşu kullanıldı. BHV-1 Colorado suşunun üretilmesi, titrasyonu ve virus nötralizasyon (VN) testlerinde Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK) devamlı hücre hattından yararlanıldı. MDBK hücre kültürlerinin üretilmesinde %5 fetal dana serumu içeren Dulbecco's MEM (DMEM) kullanıldı. Virus nötralizasyon (VN) testinin uygulanması amacıyla kullanılan BHV-1 Colorado suşunun titresi DKID₅₀: 10^{-5.25}/0.1 ml olarak hesaplandı.

Virus nötralizasyon (VN) testi: BHV-1 Colorado suşuna spesifik nötralizan antikorların tespiti amacıyla toplanan 564 koyun kan serum örneği Frey ve Liess (1971)'in bildirdiği mikronötralizasyon yöntemine göre test edildi. Bu amaçla, 1:2 oranında DMEM ile sulandırılmış kan serumu örneklerinden mikronötralizasyon tabletinin yan yana bulunan iki gözüne 0.05 ml konuldu. Daha sonra serum örnekleri üzerine eşit hacimde

100DKID₅₀ oranında sulandırılmış BHV-1 Colorado suşu ilave edildi. Mikronötralizasyon tabletleri 37°C'lik %5 CO₂'li ortamda 2 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tabletlerin bütün gözlerine MDBK hücre süspansiyonu (300.000 hücre/ml) konuldu ve tekrar 37°C'lik %5 CO₂'li inkübatöre kaldırıldı. Testin uygulanmasında virus ve hücre kontroller birlikte yürütüldü. Test, 3. gün sonunda hücrelerde meydana gelen sitopatolojik değişikliklere göre invert mikroskopta yapılan kontrollerle değerlendirildi.

Bulgular

Virus nötralizasyon testi ile kontrol edilen toplam 564 adet koyun serumunun 8 adedinde (%1.4) 1:2 titrede BHV-1 spesifik antikorları tespit edildi. Materyal sağlanan 5 farklı sürüdeki seropozitiflik oranları %0.8 ile %3.0 arasında değişkenlik gösterirken, değerlendirmeye alınan yalnızca bir sürü BHV-1 antikorları yönünden negatif bulundu (Tablo 1).

Tablo 1. Örneklemeye yapılan koyun sürüleri ve BHV-1 antikor dağılımları.

Sürü No.	Test Edilen Serum Sayısı	BHV-1 Seropozitif Hayvan	
		Sayısı (n)	%
I	121	1	0.8
II	120	1	0.8
III	80	-	-
IV	50	1	2.0
V	98	3	3.0
VI	95	2	2.1
Toplam	564	8	1.4

Tartışma ve Sonuç

Dünyanın farklı ülkelerinde ve Türkiye'de BHV-1 enfeksiyonunun varlığı çeşitli hayvan türlerinde daha önce yapılmış olan araştırmalarla ortaya konulmuştur (Akça, 1981; Çabalar ve Can-Şahna, 2000; Frölich ve ark., 2006; Fulton ve ark., 1982; Rusenova ve Bochev, 2009). Bir alfaherpesvirus enfeksiyonuna karşı aşılama yapılmamış hayvanlara ait kan serumu örneklerinde bu enfeksiyona karşı spesifik antikorların tespit edilmesi o enfeksiyonun önceden geçirilmiş olduğunu ve bu hayvanların epidemiyolojik açıdan önemli potansiyele sahip olabileceklerini gösterir (Barnard, 1997). Alkan ve ark. (2005) tarafından BHV-1 üzerine sığırlarda gerçekleştirilen geniş kapsamlı serolojik bir çalışmada sürülerin %97'sinde enfeksiyonun varlığı saptanmıştır. Kuzey ve orta İtalya'da yapılan diğer bir serolojik araştırmada (Castrucci ve ark., 1997)

ise örneklenen çiftliklerin %84.3'ünde seropozitiflik belirlenmiştir. Bir sığircılık işletmesinde doğal BHV-1 enfeksiyonu sonrası seropozitiflik saptanması, o işletmedeki hayvanların bir kısmının latent enfekte olabileceği ve epidemiyolojik açıdan bu hayvanların virus taşıyıcısı ve saçıcısı olarak kabul edilmeleri gerektiği ifade edilmektedir (Çabalar ve Akça, 1994; Patel ve Didlich, 2008).

BHV-1 özellikle sığırlarda enfeksiyon oluşturmaya karşın, keçi ve koyunları da etkileyebileceği bildirilmiştir (Goyal ve ark., 1988; Taylor ve ark., 1977; Yeşilbağ ve ark., 2003). Alpay ve ark. (2014) hayvan hareketleri bakımından izole ve sığır, koyun ve keçi yetiştiriciliğinin bir arada yapıldığı Gökçeada'da yaptıkları çalışmada sığırlarda BHV-1 için seroprevalans değerini %58.6 ve keçiler için %26.6 olarak belirlerken, koyunlarda

BHV-1 antikorlarının varlığı tespit edilememiştir. BHV-1 enfeksiyonuna keçilerin koyunlardan daha duyarlı oldukları ve spesifik nötralizan antikorların keçilerde koyunlara göre daha yüksek oranda tespit edildiği bildirilmiştir. Farklı keçi sürülerinde yapılan çalışmalarda BHV-1 seropozitifliği %0-38.2 arasında belirlenmiştir (Fulton ve ark., 1982; Lamontagne ve ark., 1985; Mahmoud ve Ahmed, 2009; Yeşilbağ ve Güngör, 2009). Farklı ırktan koyun sürülerinde BHV-1 antikor prevalansını Albayrak ve ark. (2007) %1.74, Goyal ve ark. (1988) %0.5, Lehmkuhl ve ark. (1985) %5.4, Taylor ve ark. (1977) %2.9, Yavru ve ark. (1999) %9.56, Yeşilbağ ve Dağalp (2006) %2.44 oranında tespit ederken, Brako ve ark. (1984) ile Lamontagne ve ark. (1985) seropozitiflik saptanamadığını bildirmişlerdir. Koyun ve keçilerde tespit edilen bu seroprevalans farklılıklarının türler arası duyarlılıktan veya yetiştiricilik yöntemlerinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Taylor ve ark., 1977; Yeşilbağ ve Güngör, 2009). Bu çalışmamızda örneklenen koyunların %1.4 (8/564)'inde BHV-1 spesifik nötralizan antikor saptanmıştır. Bu çalışmadaki verilerin aksine, Çabalar ve Ataseven (1999) aynı bölgede yaptıkları önceki çalışmalarında koyunlarda BHV-1'e karşı seropozitiflik tespit edememişlerdir. Ataseven ve ark. (2010) aynı bölgede keçilerde yaptıkları çalışmada ise örneklenen keçilerin %0.7 (3/407)'inde BHV-1'e karşı nötralizan antikor belirlemiştir. Van bölgesinde örnekleme yapılan alanlardaki küçük ruminantlarda tespit edilen seropozitiflik değerlerinin oldukça düşük bulunması koyunların sığır ve keçilerle temas etme ihtimalinin az olmasıyla ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

BHV-1 epidemiyolojisinde sığır dışındaki ruminantların hastalığın kontrol ve eradikasyon programlarının başarıya ulaşmasında önemli bir role sahip olabilecekleri bildirilmektedir. (Barnard, 1997; Kalman ve Egyed, 2005; Mahmoud ve Ahmed, 2009). Kalman ve Egyed (2005), BHV-1 tespiti amacıyla 34 koyun ve 44 keçiden alınan lenf yumrusu ve dalak örneklerini PCR yöntemiyle incelemiş ve sırasıyla 34 örnekten 16 (%47)'sında ve 44 örnekten 13 (%29.5)'ünde BHV-1 varlığını belirlemiştir. Aynı araştırmacılar, BHV-1'in türler arasında taşınma potansiyelinin tam olarak anlaşılamadığını bildirmişlerdir. Mahmoud ve Ahmed (2009) yaptıkları çalışmalarında, koyun ve keçilerde VN ve PCR yöntemleri kullanarak BHV-1 prevalansını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda 1096 koyun serumunun %23.8'inde ve 504 keçi serumunun %27.6'sında nötralizan antikor belirlenirken, 9 adet vajinal-nazal svab ve 3 adet akciğer örneğinde PCR yöntemi ile BHV-1 DNA'sı tespit etmişlerdir. Hage ve ark. (1997) yaptıkları deneysel çalışmalarında ise BHV-1 ile latent

enfekte sığırların koyunları kolay olarak enfekte edemeyeceklerini ve diğer taraftan BHV-1 ile latent enfekte koyunların ise sığırlara BHV-1'i taşımada minimal düzeyde etkili olabileceğini belirlemiştir.

Türkiye'de BHV-1 enfeksiyonunun yaygınlığı sığırlara oranla küçük rumunatlarda çok daha düşük olduğu ve keçilerin koyunlara kıyasla BHV-1'e karşı daha duyarlı oldukları yapılan farklı serolojik araştırmalarla ortaya konulmuştur (Alkan ve ark., 2005; Alpay ve ark., 2014; Ataseven ve ark., 2010; Yeşilbağ ve Güngör, 2009). Sığır, koyun ve keçiler arasında BHV-1 taşınmasının mümkün olabilmesi (Hage ve ark., 1997); koyun ve keçilerin, sığırlar açısından bir enfeksiyon kaynağı olabileceğini ve bu nedenle virusun taşınma potansiyelinin daha iyi anlaşılabilmesi için geniş kapsamlı epidemiyolojik araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Akça Y, 1981: Türkiye'de sığır ve koyunlarda enfeksiyöz bovine rhinotracheitis-enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR-IPV) üzerine serolojik araştırmalar. Doktora tezi, Ankara Üniv Sağlık Bil Enst, Ankara.
- Albayrak H, Yazıcı Z, Gümüsova SO, 2007: Seroprevalence to bovine herpesvirus type 1 in sheep in Turkey. *Vet Archiv*, 77(3), 257-263.
- Alkan F, Burgu İ, Bilge Dağalp S, Yıldırım Y, Gencay A, Güngör B, Ataseven VS, Akça Y, 2005: The seroprevalence of BHV-1 infection on selected dairy cattle herds in Turkey. *Rev Vet Med*, 156, 166-169.
- Alpay G, Tuncer P, Yeşilbağ K, 2014: Bir ada ekosistemindeki sığır, koyun ve keçilerde bazı viral enfeksiyonların serolojik olarak araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 61, 43-48.
- Ataseven VS, Başaran Z, Yılmaz V, Dağalp SB, 2010: Van bölgesi keçilerinde parainfluenza virus-3 (PIV-3) ve bovine herpesvirus-1 (BHV-1) enfeksiyonlarının seroprevalansı. *YYÜ Vet Fak Derg*, 21 (1), 7-9.
- Barnard BJH, (1997): Antibodies against some viruses of domestic animals in southern African wild animals. *Onderstepoort J Vet Res*, 64, 95-110.
- Brako EE, Fulton RW, Nicholson SS, Amborski GE, 1984: Prevalence of bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhoea, parainfluenza-3, goat respiratory syncytial, bovine leukemia and bluetongue viral antibodies in sheep. *Am J Vet Res*, 45(4), 813-816.
- Castrucci G, Martin WB, Frigeri F, Ferrari M, Salvatori D, Tagliati S, Cuteri V, 1997: A serological study of bovine herpesvirus-1 infection in selected dairy herds in northern and central Italy. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 20(4), 315-317.
- Çabalar M, Akça Y, 1994: Fertilité problemleri ineklerde enfeksiyöz bovine rhinotracheitis enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR-IPV) virus izolasyonu ve seroepidemiolojisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 41, 337-349.

- Çabalar M, Ataseven VS, 1999: Van yöresinde koyunlarda PI-3, BHV-1 ve RSV enfeksiyonlarının serolojik olarak araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniv Sağ Bil Enst Derg*, 5, 73-78.
- Çabalar M., Can-Şahna K, 2000: Doğu ve güneydoğu Anadolu bölgesinde süt sığırlarında parainfluenza virus-3, bovine herpes virus-1 ve respiratory syncytial virus enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 11(2), 101-105.
- Frey HR, Liess B, 1971: Vermehrungskinetik und vermendbarkeit einer stark zytopathogenen VDMD virusstammes für diagnostische unter suchungen mit der mikrotiter-methode. *Zbl Vet Med B*, 18, 61-71.
- Frölich K, Hamblin C, Parida S, Tuppurainen E, Schettler E, 2006: Serological survey for potential disease agents of free-ranging cervids in six selected national parks from Germany. *Journal of Wildlife Diseases*, 42(4), 836-843.
- Fulton RW, Downing MM, Hagstad HV, 1982: Prevalence of bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhea, parainfluenza-3, bovine adenoviruses-3 and -7 and goat respiratory syncytial viral antibodies in goats. *Am J Vet Res*, 43(8), 1454-1457.
- Goyal SM, Khan MA, McPherson SW, Robinson RA, Boylan WJ, 1988: Prevalence of antibodies seven viruses in a flock of ewes in Minnesota. *Am J Vet Res*, 49(4), 464-467.
- Hage JJ, Vellema P, Schukken YH, Barkema HW, Rijsewijk FAM, Van Oirschot JT, Wentink GH, 1997: Sheep do not have a major role in bovine herpesvirus 1 transmission. *Vet Microbiol*, 57, 41-54.
- Kalman D, Egyed L, 2005: PCR detection of bovine herpesviruses from nonbovine ruminant in Hungary. *Journal of Wildlife Diseases*, 41(3), 482-488.
- Lamontagne L, Descoteaux J-P, Roy R, 1985: Epizootiological survey of parainfluenza-3, reovirus-3, respiratory syncytial and infectious bovine rhinotracheitis viral antibodies in sheep and goat flocks in Quebec. *Can J Comp Med*, 49, 424-428.
- Lehmkuhl HD, Cutlip RC, Bolin SR, Brogden KA, 1985: Seroepidemiologic survey for antibodies to selected viruses in the respiratory tract of lambs. *Am J Vet Res*, 46(12), 2601-2604.
- Mahmoud MA, Ahmed SA, 2009: Prevalence of bovine herpesvirus-1 in sheep and goats in Egypt. *Global Veterinaria*, 3(6), 472-479.
- OIE Terrestrial Manual, 2010: Infectious bovine rhinotracheitis / Infectious pustular vulvovaginitis. NB: Version adopted by the world assembly of delegates of OIE, Chapter 2.4.13.
- Patel, JR, Didlich S, 2008: Epidemiology, disease and control of infections in ruminants by herpesviruses-An overview. *J S Afr Vet Ass*, 79(1): 8-14.
- Rusenova N, Bochev I, 2009: Comparison of the seroprevalence against some respiratory viruses in mixed sheep-goat herds in two regions of Bulgaria. *Trakia J of Sci*, 7(4), 58-62.
- Taylor WP, Okeke ANC, Shidali NN, 1977: Prevalence of bovine viral diarrhea and infectious bovine rhinotracheitis antibodies in Nigerian sheep and goats. *Trop Anim Health Prod*, 9, 171-175.
- Yavru S, Öztürk F, Gürhan İ, Şimşek A, Ünver G, Duman R, Yapkiç O, 1999: Koyunlarda solunum yolu viruslarının serolojik olarak araştırılması. *Hayvancılık Araş Derg*, 9, 53-60.
- Yeşilbağ K, Dağalp SB, Gümüsova SO, Güngör B, 2003: Studies on herpesvirus infections of goats in Turkey: prevalence of antibodies to bovine herpesvirus-1. *Revue Vet Med*, 154(12), 772-774.
- Yeşilbağ K, Dağalp SB, 2006: Koyunlarda bovine herpesvirus-1 enfeksiyonunun seroprevalansı. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 53, 141-143.
- Yeşilbağ K, Güngör B, 2009: Antibody prevalence against respiratory viruses in sheep and goats in North-Western Turkey. *Trop Anim Health Prod*, 41, 421-425.

***Yazışma Adresi:** Mehmet ÇABALAR
Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Viroloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.
e-mail:mcabalar@harran.edu.tr