

Van İlinde Equine Viral Arteritis Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması

Sibel GÜR^{1*}, Mehmet ÇABALAR², Abdullah KAYA³, Metin GÜRÇAY⁴

^{1*}Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar/TÜRKİYE

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa/TÜRKİYE

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Van/TÜRKİYE

⁴Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Bingöl/TÜRKİYE

ÖZET

Equine viral arteritis (EVA) *Arteriviridae* ailesinde yer alan equine arteritis virus (EAV)'un neden olduğu tek tırnaklıların bulaşıcı viral bir hastalıdır. Dünyanın birçok ülkesinde yaygınlığa sahiptir. Bu çalışmada, Van ilinin kırsal alanlarında yük hayvanı olarak kullanılan atlarda EVA enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla 124 adet yük atından toplanan serum örnekleri enzyim linked immunosorbent assay (ELISA) kullanılarak equine arteritis virusu (EAV) spesifik antikorlarının varlığı için test edildi. Sonuçta, serum örneklerinden 14 adedinin (%11.3) seropozitif olduğu belirlendi. Yük hayvanları ekonomik olarak önemli kabul edilmemektedir, ancak, ihmale gelen salgınların safkan at yetiştiriciliği yapılan işletmeler için önemli ölçüde potansiyel risk taşıdığı göz ardı edilmemelidir.

Anahtar Kelimeler: At, ELISA, Equine Viral Arteritis, Seroloji

•••

Serological Investigation of Equine Viral Arteritis Infection in Van Province

SUMMARY

Equine viral arteritis (EVA) is a contagious viral disease of equids caused by equine arteritis virus (EAV), a virus classified in the family *Arteriviridae*. EAV is present in the horse population of many countries world-wide. The objective of this study was to investigate the serological presence of EVA infection in horses using as working animal in rural areas of Van province. For this purpose, blood samples collected from 124 pack horses were tested against specific antibodies to EAV using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). In conclusion, 14 serum samples (11.3%) were found to be seropositive. Pack horses are not accepted as an economically significant, however, should not be disregarded that neglected epidemics possess significant risk potential for pure bred horse breeding enterprises.

Key Words: Horse, ELISA, Equine Viral Arteritis, Serology

GİRİŞ

Equine viral arteritis (EVA) atlarda abort fırtınası olarak tanımlanan global yaygınlığa sahip viral enfeksiyondur. Doğal enfeksiyona atlardan başka eşek, katır, zebra ve alpaca gibi türler de duyarlıdır (Paweska ve ark. 1995, 1997, Weber ve ark. 2006). EVA etkeni *Arteriviridae* ailesinin arterivirus genusunda sınıflandırılmış olan zarlı, tek ve pozitif iplikcikli RNA virusudur (Cavanagh ve ark. 1994). Equine arteritis virus (EAV) olarak isimlendirilen virusun tek serotipi vardır. Ancak saha izolatları arasında sınırlı da varyasyonlar bulunmaktadır. Bu durum virusun farklı zaman ve yerlerde çıkan salgınların abort potansiyelinde ve prognozun şiddetinde farklılıklar olmasına yol açmaktadır (Timoney ve ark. 1987b, Murphy ve ark. 1992, Eichorn ve ark. 1995, McCollum ve ark. 1995, Del Piero ve ark. 1997, Stadejek ve ark. 1999, Holyoak ve ark. 2008).

Hem doğal şartlarda hem de deneysel enfeksiyonlarda oro-nazal yolla bulaşma en önemli yoldur (McCollum ve ark. 1995). Bunun yanında başka ülke veya bölgelerden alınan aygırlarla çiftleşme yoluyla bulaşmanın da salgınlarda kayda değer bir rolü vardır. Virusun affinitesi olan dokuların başında dolaşım sistemindeki endotel hücreleri gelir (OIE 2008). Salgınlarda yetişkinlerde geçici klinik bulgular ile gebelerde abortuslar görülür. Deneysel enfeksiyonlarda sistemik vasküler nekrozlar, ağır prognoz ve yüksek mortalite vardır. Akciğer, bağırsak, böbrek, solunum sistemi, bazen de plasenta virusun çoğaldığı temel alanlardır. Salgınlarda izlenen bulguların subklinikten şiddetli prognoza kadar değişkenlik gösterebildiği bildirilmiştir (Vaala ve ark. 1992, Paweska ve ark. 1995). İnkubasyon süresi 3-14 gün kadar sürer. Ateş, gözyaşı-burun akıntısı, rinit, konjunktivit, orbita ve uzuvlarda ödem, solunum güçlüğü, öksürük, ishal, ataksi ile abort görülebilir (Doll ve ark. 1957, Vaala ve ark. 1992, Del Piero ve ark. 1997).

Klinik muayenede bulgular diğer at hastalıkları ile sıklıkla karışabilir. Yetişkinlerde özellikle sporadik ve enzootik solunum sendromu ile karışır. Yavrularda ise solunum/sindirim sistemi bulguları ile ani ölümler teşhiste değerlendirme yapmayı güçleştirir. Dolayısıyla sıklıkla laboratuvar incelemesine ihtiyaç duyulur. Akut dönemde lökosit, svap ve semen örnekleri antijen (Ag) tespiti için kullanılabilir. Antikor (Ab) teşhisinde ise virus nötralizasyon ve ELISA tercih edilmektedir (Kondo ve ark. 1998,

Turan ve ark. 2007). Paweska ve ark. (1997) at, eşek ve katır serumlarında EVA spesifik antikorların tespitinde ELISA'nın sensisitivite ve spesifitesinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde EAV için yapılan bir filogenetik çalışmada ORF1b gen fragmentinin kısmi sekansında, sirkülasyondaki virusun Kuzey Amerika'da izole edilen virusa yakın olduğu, ancak Avrupa suşlarıyla heterojenite gösterdiği bildirilmiş, ayrıca izolatların homojen olduğu ve ayrı bir grup olarak değerlendirilebileceği ifade edilmiştir (Ataseven ve ark. 2013).

Ülkemizde az sayıda var olan serolojik incelemelerde, at ve eşeklerde %5 ile (Yılmaz ve ark 1996) %23.4 arasında (Bulut ve ark. 2012) değişen oranlarda seropozitiflik bildirilmiştir. Bu çalışmada, Van ilindeki yük hayvanı olarak kullanılan atlarda EVA virus enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Örneklenen Hayvanlar

Bu çalışmada, Van ilinde kırsal alanda yük hayvanı olarak kullanılan 124 adet attan cinsiyet ayrımı yapılmadan kan örnekleri alındı. Araştırmada kullanılan atlarda aşılama yapılmadığı ve örnekleme sırasında klinik olarak herhangi bir bulgu bulunmadığı tespit edildi.

Kan örnekleri vena jugularis'ten silikonlu tüplere alındı. Kısa sürede laboratuvara getirilen örnekler 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildikten sonra serum fraksiyonu stok tüplerine aktarıldı ve testte kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edildi.

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

EVA virus spesifik antikorların tespiti için ticari olarak elde edilen indirekt EVA ELISA doğrulama kiti (ID Vet, France) kullanıldı. Test üretici firmanın önerdiği prosedür doğrultusunda yürütüldü ve 450 nm'de optik dansite (OD) değerleri her bir hayvan için ayrı ayrı hesaplandı.

BULGULAR

ELISA ile kontrol edilen toplam 124 adet at serumunun 14 adedinde (%11.3) EAV spesifik antikor varlığı tespit edildi (Tablo 1).

Tablo 1: Örnek sayıları ve serolojik test sonuçları
Table 1: Number of samples and serologic test results

Virus	Serum Sayısı	Seropozitif Serum Sayısı (n)	Seropozitif Serum Sayısı (%)
EAV	124	14	11.3

TARTIŞMA

İlk kez 1953'te Amerika'da tanımlanan enfeksiyonun (Doll ve ark. 1957), Avrupa, Amerika, Asya ve Afrika kıtalarında varlığı bilinmektedir ancak Japonya ve İzlanda'da tespit edilmemiştir (Timoney ve McCollum 1985). Serolojik incelemelerde %20'lere varan oranlar bildirilmektedir (Eichhorn ve ark. 1995, McCollum ve ark. 1995, Hullinger ve ark. 2001). Yapılan bildirimler EVA'nın yaklaşık son yirmi yıllık süreçte insidensinin ve yaygınlığının dünyanın birçok yerinde arttığını göstermektedir (Holyoak ve ark. 2008, OIE 2008).

EVA ile ilgili ülkemizde yapılan ilk araştırma 1996 yılına ait olup 100 atın 5 (%5) adedinde seropozitiflik belirlenmiştir (Yılmaz ve ark. 1996). Kuzeydoğu Anadolu'da yürütülen bir başka çalışmada Kars ve Ardahan illerinde sırasıyla %9.5 ve %8 oranları belirlenmiştir (Kırmızıgül ve ark. 2007). Yakın bir seropozitiflik oranı da (%7.5) Marmara bölgesinde tespit edilmiştir (Hasan 2008). Yıldırım ve ark. (2008) Kars ilinde eşeklerde seropozitifliğin %14.4 oranında tespit edildiği bildirmiştir. Marenzoni ve ark. (2013) İstanbul, İzmir ve Bursa'dan topladıkları örneklerde %16 oranında ve Ün ve ark. (2014) ise Şanlıurfa ilinde %8.4 oranında seropozitiflik saptamışlardır. Bugüne kadar ülkemizde bildirilen en yüksek oran %23.4 olup orta Anadolu'da saptanmıştır (Bulut ve ark. 2012).

Bu çalışmada belirlenen %11.3 (14/124) oran daha önce bildirilen oranlara yakın olarak bulunmuştur. Çalışmada kullanılan atlar Van ili kırsalında münferit olarak yetiştirilen yük atlarıdır. Van ilinin İran ile olan kara sınırı 285km'dir. İlde kontrolsüz hayvan hareketlerinin zaman zaman olduğu düşünülmektedir. İran'da yapılan bir çalışmada 470 at serolojik ve virolojik olarak araştırılmış, sonuçta antijen varlığı %4.46 ve antikor varlığı %4.04 oranında belirlendiği bildirilmiştir (Nejat ve ark.

2015). Türkiye'de EVA oranlarının daha yüksek olduğu anlaşılmıştır.

Saha şartlarında enfeksiyonun saf veya standart ırkların yetiştirme koşullarına bağlı olarak farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir. Saf ırklarda uygulanan doğru yetiştirme teknikleri nedeniyle insidens daha azdır (Timoney ve ark. 1987a). Kırsal alanlarda az sayıda hayvanla yapılan yetiştiricilik bulaşma olasılığının azalmasında bir avantaj olarak değerlendirilebilir. Bu çalışmada kullanılan atlar benzer koşullara sahip olarak yetiştirilmekle birlikte, yük taşıma sırasında dolaşımında olmaları nedeniyle diğer at ve eşekler ile temasları sonucu hastalığın bulaşma riskinin artabileceğini söylemek mümkündür.

Ülkemizde yük hayvanı olarak kullanılan at ve eşek sayısında yaklaşık son 20-25 yılda çarpıcı bir düşüş olsa da, kırsal ve dağlık alanda halen belli avantajları nedeniyle kullanılmaya devam edilmektedir. Küçük aile tipi işletmelerde sayısı genellikle 1-2 olan bu hayvanların düzenli sağlık kayıtları çoğunlukla tutulmamakta ve hastalıklar için koruyucu önlemler ve özellikle enfeksiyonlar açısından koruyucu aşılama uygulamaları neredeyse hiç yapılmamaktadır.

EVA'nın klinik olarak teşhisi, benzer semptomlara sahip başka hastalıkların çokluğu nedeniyle ciddi sorun olabilmektedir. Bunların başlıcaları; Equine Herpesvirus 1 ve 4, Equine Adenovirus, Influenza, Lentiviruslar (Equine Infectious Anemia), Hendravirus, Getahvirus, purpura hemorajika, septic şok ve toksik bitki Berteroa incana sayılmaktadır (Del Piero 2000). Başlıca solunum sistemi bozukları, abortlar ve ödemler başta olmak üzere ortak olan semptomların fazlalığı nedeniyle kesin teşhis için laboratuvar doğrulaması gerekmektedir (OIE 2008). Saha şartlarında en önemli virus rezervuarı enfekte aygırlardır. Dişilerde hastalık akut seyretmekte, antijen saçılımı uzun sürmemekte ve birkaç hafta içinde tam iyileşme ile sonlanmaktadır (Timoney ve McCollum 1985). Ancak aygırlarda akut enfeksiyonu takiben devam eden taşıyıcılık süresi oldukça değişken olabilmektedir. Timoney ve ark. (1986, 1987a, 1987b) 6 yıla kadar, bazen de yaşam boyu devam eden asemptomatik saçılımın görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu nedenle, hastalıkla mücadele amacıyla salgın durumunda sıkı karantina tedbirlerinin uygulanması, sahada virusun devamlılığından sorumlu olan aygırların kontrollü yetiştirilmesi, suni tohumlamada kullanılan semenlerin kontrol altında tutulan damızlıklardan

sağlanması ve uluslararası at semeni transferinde rutin kontrollerin uygulanması gerektiği üzerinde durulmaktadır (Holyoak ve ark. 2008).

Bu çalışmada, yakın illerde 2007-2008 yıllarında bildirilen oranlara benzer seviyede bir seropozitiflik belirlenmiş ve Van ilinde ilk kez EVA enfeksiyonuna ait bir veri elde edilmiştir. Elde edilen veriler ve daha önceki bildirimler sağlıklı yorum yapmak için tam olarak yeterli olmasa da, bölgede EVA'nın dikkate değer bir orana (%11.3) sahip olduğu görülmüştür. Yüksek hayvanlarının ekonomik değerinin az oluşu, geniş bir kırsal alanda uygun olmayan yetiştirme teknikleri uygulanması ve klinik bozukluk gösteren hayvanların tedavisine yeterli önemin verilmemesi gibi nedenlerle bildirimler sağlıklı yapılmamaktadır. Ancak, saha şartlarında virus sirkülasyonunun olduğu ve safkan at yetiştiriciliği açısından risk oluşturabileceği göz önünde tutulmalıdır.

KAYNAKLAR

- Ataseven VS, Oğuzoğlu TÇ, Karapınar Z, Bilge-Dağalp S.** Partial sequence of the ORF1b gene fragment of equine viral arteritis viruses detected in Turkey and phylogenetic analysis. *Rev Med Vet*, 2013; 164(2): 67-71.
- Bulut O, Yavru S, Yapıcı O, Kale M, Avcı O.** The serological investigation of equine viral arteritis infection in central Anatolia of Turkey. *J Anim Vet Adv*, 2012; 11: 924-926.
- Cavanagh D, Brien DA, Brinton M, Enjuanes L, Holmes KV, Horzinek MC, Lai MMC, Laude H, Plagemann PGW, Siddell S, Spaan WJM, Taguchi F, Talbot PJ.** Revision of the taxonomy of the Coronavirus, Torovirus and Arterivirus genera. *Arch Virology*, 1994; 135: 227-237.
- Del Piero F, Wilkins PA, Lopez JW, Glaser AL, Dubovi EJ, Schlafer DH, Lein DH.** Equine arteritis virus in newborn foals: clinical, pathological, serological, microbiological and immunohistochemical observations. *Equine Vet J*, 1997; 29: 178-185.
- Del Piero F. Equine Viral Arteritis.** *Vet Pathol*, 2000; 37: 287-296.
- Doll ER, Knappenberger RE, Bryans JT.** An outbreak of abortion caused by the equine arteritis virus. *Cornell Vet*, 1957; 47: 69-75.
- Eichhorn W, Heilmann M, Kaaden OR.** Equine viral arteritis with abortions: serological and virological evidence in Germany. *Zentralbl Veterinarmed B*, 1995; 42: 573-576.
- Hasan S.** Investigations on the frequency and diagnosis of Equine Arteritis Virus (EAV) infection in horses by virus isolation, molecular and serological techniques in the Marmara region. PhD thesis. Istanbul University, Health Science Institute, 2008; Turkey.
- Holyoak GR, Balasuriya UBR, Broaddus CC, Timoney PJ.** Equine viral arteritis: Current status and prevention. *Theriogenology*, 2008; 70: 403-414.
- Hullinger PJ, Gardner IA, Hietala SK, Ferraro GL, MacLachlan NJ.** Seroprevalence of antibodies against equine viral arteritis virus in horses residing in the United States and imported horses. *JAVMA*, 2001; 219: 946-949.
- Kırmızıgül AH, Yıldırım Y, Gökçe G.** Kars ve Ardahan yöresindeki atlarda Equine Viral Arteritis enfeksiyonunun seroprevalansının belirlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2007; 13: 171-175.
- Kondo T, Fukunaga Y, Sekiguchi K, Sugiura T, Imagawa H.** Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for serological survey of Equine Arteritis Virus in racehorses. *J Vet Med Sci*, 1998; 60: 1043-1045.
- Marenzoni ML, Cuteri V, De Parri F, Danzetta ML, Yılmaz Z, Yaramış ÇP, Kennarman E, Or ME, Marchi S, Casciari C, De Mia GM, Valente C, Costarelli S.** A pilot study on the epidemiological status of equine infectious anemia, equine viral arteritis, glanders, and dourine in Turkey. *Turk j Vet Anim Sci*, 2013; 37: 76-80.

- McCollum WH, Timoney PJ, Tengelsen LA.** Clinical, virological and serological responses of donkeys to intranasal inoculation with the KY-84 strain of equine arteritis virus. *J Comp Pathol*, 1995; 112: 207-211.
- Murphy TW, McCollum WH, Timoney PJ, Klingeborn BW, Hyllseth B, Golnik W, Erasmus B.** Genomic variability among globally distributed isolates of equine arteritis virus. *Vet Microbiol*, 1992; 32: 101-115.
- Nejat S, Momtaz H, Yadegari M, Nejat S, Safarpour Dehkordi F, Khamesipour F.** Seasonal, Geographical Age and Breed Distribution of Equine Viral Arteritis in Iran. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2015; 21(1): 11-116.
- OIE Terrestrial Manuel.** Equine viral arteritis. 2008; Chapter 2.5.10: 904-918.
- Paweska JT, Aitchison H, Chirnside ED, Barnard BJ.** Transmission of the South African asinine strain of equine arteritis virus (EAV) among horses and between donkeys and horses. *Onderstepoort J Vet Res*, 1996; 63: 189-196.
- Paweska JT, Binns MM, Woods PS, Chirnside ED.** A survey for antibodies to equine virus in donkeys, mules and zebra using virus neutralisation (VN) and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Equine Vet J*, 1997; 29: 40-43.
- Paweska JT, Volkmann DH, Barnard BJH, Chirnside ED.** Sexual and In-contact of Asinine strain of equine arteritis virus among donkeys. *Journal of Clinical Microbiol*, 1995; 33: 3296-3299.
- Stadejek T, Bjorklung H, Bascunana CR, Caibatti IM, Scicluna MT, Amaddeo D, McCollum WH, Autorino GL, Timoney TJ, Paton DJ, Klingeborn B, Belak S.** Genetic diversity of equine arteritis virus. *J General Virol*, 1999; 80: 691-699.
- Timoney PJ, McCollum WH, Murphy TW, Roberts AW, Willard JG.** The carrier state in equine arteritis virus infection in the stallion with specific emphasis on the venereal mode of virus transmission. *J Reprod Fert Suppl*, 1987a; 35: 95-102.
- Timoney PJ, McCollum WH, Roberts AW, McDonald MJ.** Equine viral arteritis status of Kentucky for 1985. *J Am Vet Med Assoc*, 1987b; 191: 36-39.
- Timoney PJ, McCollum WH, Roberts AW.** Detection of the carrier state in stallions persistently infected with equine arteritis virus. *Proc Am Assoc Equine Pract*, 1986; 32: 57-65.
- Timoney PJ, McCollum WH.** Equine viral arteritis. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 1993; 9: 295-309.
- Timoney PJ, McCollum WH.** The epidemiology of equine arteritis virus. *Proc Am Assoc Equine Pract*, 1985; 31: 545-551.
- Turan N, Ekici H, Yılmaz H, Kondo T, Hasöksüz M, Sato I, Tuchiya K, Fukunaga Y.** Detection of the antibodies to equine arteritis virus in horse sera using recombinant chimaeric N/G(L) protein. *Vet Rec*, 2007; 161:352-354.
- Ün H, Özgünlük İ, Çabalar M.** Şanlıurfa ilinde equine viral arteritis enfeksiyonunun serolojik araştırılması. XI. Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi, Kemer/Antalya, 21-24 Ekim 2014; 308-309.
- Vaala WE, Hamir AN, Dubovi EJ, Timoney PJ, Ruiz B.** Fatal, congenitally acquired infection with equine arteritis virus in a neonatal thoroughbred. *Equine Vet J*, 1992; 24: 155-158.
- Weber H, Beckmann K, Haas L.** Case report: equine arteritis virus (EAV) as the cause of abortion in alpacas? *DTW*, 2006; 113: 162-163.
- Yıldırım Y, Kırmızıgül AH, Tan MT, Gökçe E, Irmak K.** Seroprevalence of Equine Viral Arteritis in donkeys in Kars district, Turkey. *J Anim Vet Adv*, 2008; 7: 1110-1112.
- Yılmaz H, Özgür NY, Ilgaz A.** Serological investigation on the equine viral arteritis. 1st international Veterinary Microbiology Congress, September 25-27, 1996; İstanbul/Turkey.