

Aydın ve Muğla İllerinde Bovine Ephemeral Fever Virus Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması

Nural EROL¹, Bahattin Taylan KOÇ², Sibel GÜR^{3*}, Veli Özgür ÇAĞLAV⁴, Mehmet Tolga TAN⁵

^{1,2,4,5}Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, 09016, Aydın/TÜRKİYE

³Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, 03200, Afyonkarabisar/TÜRKİYE

#Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: VTF-11020).

ÖZET

Bovine Ephemeral Fever (BEF) sokucu sineklerle bulaşan, akut ateş, kaslarda sertlik, topallık, felç, zayıflama ile karakterize rhabdoviral bir hastalıktır. Bu bulgulara bağlı olarak, özellikle süt endüstrisinde önemli kayıplara yol açabilmektedir. Bu araştırmanın amacı, Ege bölgesinde daha önce de görülmüş olan BEF enfeksiyonunun Aydın ve Muğla İllerinde varlığı ve yaygınlığı konusunda veri elde etmektir. Bunun için, süt sığırcılığı işletmelerinden tesadüfi olarak seçilmiş 225 erişkin inekten kan serum örnekleri alındı (Aydın-125 ve Muğla-100). Alınan serum örnekleri BEF spesifik antikorlar açısından ticari blocking ELISA kit kullanılarak kontrol edildi. Test edilen örneklerin hiç birinde BEF spesifik antikorlar belirlenmedi. Elde edilen seronegatiflik virusun bölgede bir risk potansiyeline sahip olmadığını göstermemektedir. Daha önceki yıllarda Ege ve diğer bazı bölgelerde yürütülmüş olan araştırmalar, klinik bildirimler ile antijen tespit edilmesi, enfeksiyonun zaman zaman ortaya çıktığını göstermektedir. Biyolojik vektörleri açısından son derece uygun iklim şartlarına sahip olan Ege bölgesinde, BEF gibi arboviral enfeksiyonlar devamlı bir risk oluşturur. Dolayısıyla enfeksiyonunun epizootiyolojik dinamiklerinin belirlenebilmesi için geniş çaplı ve periyodik taramalar gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Antikor, Bovine Ephemeral Fever Virus, ELISA, Sığır

•••

A Serological Investigation for Bovine Ephemeral Virus Infection in Aydın and Muğla Provinces

S U M M A R Y

Bovine Ephemeral Fever (BEF) is a rhabdoviral disease transmitted through biting flies, characterized with acute fever, muscle stiffness, lameness, paralysis, and emaciation, relatedly can cause to important losses especially in dairy industry. The objective of this study was to obtain data for presence and prevalence of BEF infection in Aydın and Muğla provinces which previously have been seen in Aegean region. For this purpose, blood serum samples were taken from randomly selected 225 adult cattle from small family type dairy enterprises (Aydın-125 ve Muğla-100). Obtained serum samples were controlled for BEF virus specific antibodies using commercial blocking Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). BEF specific antibody presence was not detected in in any of the tested samples. Determined seronegativity was not shows that the virus has not consistent risk potential. According to the reports on previous years in the Aegean and some other regions, clinical reports and antigen detection depicts the infection have been emerging time to time. In the aspect of BEF like arboviral infection, risk is perpetual for the Aegean region that has relatively suitable climatic conditions for the biological vector of the virus. By the way, large scale and periodic surveys are necessary to reveal the epizootic dynamics of the infection.

Key Words: Antibody, Bovine Ephemeral Fever Virus, ELISA, Cattle

*Corresponding author e-mail: sibelgur@aku.edu.tr

GİRİŞ

Bovine Ephemeral Fever (BEF), rhabdovirüsler tarafından meydana getirilen, yüksek ateş, kaslarda sertlik, topallık, kas titremeleri, felç ve lenf yumrularının şişmesiyle karakterize bir hastalıktır. Hastalık, threeday sickness (sığırların üç gün hastalığı), stiff sickness, dengue fever of cattle, bovine epizootic fever veya lazy man's disease gibi isimlerle de anılmaktadır (Hill ve Schultz 1977, Nandi ve Negi 1999). Salgından etkilenen bölgelerde görülen ciddi ekonomik kayıpların temel nedenleri; et ve süt sığırcılığı işletmelerinde yüksek verimli hayvanlarda kondisyon kaybı, süt veriminde azalma, zayıflama, hayvan hareketlerinde ve ticaretinde meydana gelen aksamalıdır (Nandi ve Negi 1999, Walker 2005).

Bovine Ephemeral Fever Virus (BEFV) ilk kez 1906 yılında Güney Afrika'da tanımlanmıştır. Enfeksiyon Afrika, Avustralya, Asya'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde endemik seyir göstermektedir. Enfeksiyon merkezinin Rusya olduğuna dair serolojik çalışmalar mevcuttur (Sağkan Öztürk 2012). 19. Yüzyılın ortalarına doğru Orta Asya'da, Kenya, Güney Afrika, Endonezya, Hindistan, Mısır, Filistin, Avustralya ve Doğu Afrika'da bildirilmiş olup, 1949 yılında Japonya'da ilk kez rapor edilmiştir.

BEF başlıca *Culicoides spp.* türü sineklerle bulaştığı için coğrafik dağılımı dünyanın tropik ve subtropik bölgelerinde geniş bir alana ulaşmasına neden olmuştur. Bazı ülkelerde çoğu yıllar epizootik vakalar halinde salgınlar görülmüştür. Enfeksiyon batı yarıküre ile Kuzey-Güney Amerika'da da bildirilmiştir. Yeni Zelanda ve Pasifik adalarının ari olduğu bilinmektedir. Güney Afrika, Hindistan, Japonya ve Avustralya'nın bazı bölümlerinde hastalık enzootik seyir göstermektedir (Nandi ve ark 1999).

Ülkemizde ise BEFV enfeksiyonunun varlığı ile ilgili ilk bulgular Girgin ve ark (1986) tarafından rapor edilmiştir. Ülkemizde 4-5 yıl aralıklarla (1999, 2003, 2008, 2012) ortaya çıktığı rapor edilen hastalık, 2008 yılında yaz ve sonbahar aylarında Adana, Osmaniye, Gaziantep, Hatay, Adıyaman ve Şanlıurfa'da görülmüştür (Sağkan Öztürk, 2014). Aynı yıl içerisinde Aydın yöresinde de BEF klinik vakalara rastlanmıştır. Son olarak 2012 yılında Adana ilinde salgın başlamış, Türkiye'nin doğu, güney, batı, karadeniz ve Marmara bölgesi illerinde 20.000 den fazla sığırı etkilediği tahmin edilmiştir (Oğuzoğlu ve ark 2013, Tonbak ve ark 2013, Sağkan Öztürk, 2012). Ancak 2012 salgını esnasında Aydın ve Muğla yöresine ait herhangi bir vaka rapor edilmemiştir.

Aydın ili ve çevresi Mavi Dil, Epizootik Hemorajik Hastalık, Akabane ve BEF gibi virus

enfeksiyonlarının taşıyıcısı olan sokucu sineklerin yaşamaları için son derece uygun coğrafik yapı ve iklim koşullarına sahiptir. Aydın yöresinin, sokucu sineklerle nakledilen Mavi Dil enfeksiyonunun, epidemiyolojik odağı olduğu, zaman zaman bölgedeki sığır ve koyunlarda yavru ve verim kayıplarına yol açtığı 1970'li yıllardan beri bilinmektedir (Yonguç ve ark 1982, Mellor ve ark, 1995, Ertürk ve ark 2003). Geçmiş yıllarda Gıda, Tarım ve Orman Bakanlığı araştırma enstitülerinin verdiği rapora göre, Aydın ve Muğla yörelerinde *Culicoides* türleri ile nakledilen 2007 yılından itibaren Epizootik Hemorajik Hastalık, 2008 yılında ise BEF enfeksiyonları bildirilmiştir (Sağkan Öztürk 2012). Yine Bakanlığa bağlı Araştırma Enstitülerinin raporları ve fakültemize gelen olgular, Ege Bölgesi'nin batısında 2010 yılı içerisinde Mavi Dil ve Akabane virus enfeksiyonlarına ve bu enfeksiyonlara bağlı olarak, ölümlere, önemli boyutlarda kongenital anomalili buzağı doğumlarına ve abortlara rastlandığını göstermektedir. Bovine Ephemeral Fever Virus enfeksiyonunun, zaman zaman sözü edilen enfeksiyonlara benzer klinik bulgularla seyretmesi dolayısıyla ayırıcı tanısının kolayca yapılamaması, taşıyıcı sinekler için bölge ikliminin uygun olması virusun bölgemizde sirküle olduğunu ve bölgede önemli oranda yaygın olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışma ile Aydın ve Muğla illerindeki büyük baş hayvan yetiştiren küçük aile işletmeleri ve süt sığırcılığı işletmelerinde BEFV enfeksiyonunun serolojik olarak varlığının ve yaygınlık oranının saptanması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Örneklenen Hayvanlar: Bu çalışmada Aydın ve Muğla illerinde BEFV enfeksiyonunun varlığı ve dağılımı serolojik olarak incelendi. Bu amaçla, söz konusu illerde sığır yetiştiriciliği yapan küçük aile işletmelerinde tesadüfi örnekleme yoluyla seçilmiş toplam 225 adet erişkin hayvandan kan örnekleri alındı (tablo 1). Örnekleme 2011 yılı Ekim, Kasım ve Aralık aylarında gerçekleşti. Aydın yöresinden 125, Muğla yöresinden ise 100 adet kan örneği elde edildi. Örnekleme yapıldığı ilçeler ve hayvan sayıları tablo 1'de gösterilmiştir. Örneklenen hayvanların klinik muayeneleri yapılarak, klinik rahatsızlıkları, daha önceden BEF'e benzer klinik belirti gösterip göstermediği, kulak numaraları, ırkları, yaş, cinsiyet, sağlık durumları, anneleri (genç hayvanlarda) ve annelerinin hastalık geçirip geçirmediği sahiplerinin adresleri kaydedildi.

Serum Örneklerinin Hazırlanması: Vakumlu tüplere alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Elde edilen serumlar stok tüplerine alındı ve teste tabi tutuluncaya kadar -20°C'de saklandı.

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA): Elde edilen serum örneklerinin BEF virus spesifik antikor varlığı yönünden değerlendirilmesi amacıyla ticari competitive Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Virology Laboratory, EMAI, Camden NSW Australia) kullanıldı. Testin yapılışı ve değerlendirmesi üretici firmanın önerdiği şekilde uygulandı.

BULGULAR

Aydın ve Muğla illerindeki küçük aile işletmeleri ve organize sığırcılık işletmelerinden toplanan 225 sığır serumu örneğinde Bovine Ephemeral Fever Virusuna karşı antikor saptanmadı. Örneklem döneminde klinik olarak BEFV enfeksiyonu şüpheli vakaya rastlanılmadı.

Tablo 1. Örnek toplanan yerler, hayvan sayıları ile BEF Antikor sonuçları.

Table 1. Sample collected localisations, animal numbers and BEF Antibody results.

İl	İlçe	Test edilen hayvan sayısı	BEFV Antikor pozitiflik (%)
Aydın	Bozdoğan	10	0
	Buharkent	10	0
	İncirliova	20	0
	Merkez	40	0
	Karpuzlu	35	0
	Sultanhisar	10	0
Muğla	Kavaklıdere	8	0
	Köyceğiz	10	0
	Merkez	35	0
	Milas	15	0
	Ortaca	10	0
	Ula	10	0
	Yatağan	12	0
Toplam		225	0

TARTIŞMA

Bovine Ephemeral Fever, sokucu sineklerle bulaşan (Uren 1989, Mellor 2000, Yeruham ve ark 2007), et ve süt veriminde azalmaya, bunlara bağlı olarak özellikle süt sığırcılığı işletmelerinde büyük ekonomik kayıplara yol açan, ülkemiz için de oldukça önemli bir viral hastalıktır (Uren 1989, Walker 2005).

BEFV Enfeksiyonu, bugüne kadar Avustralya, Japonya, Afrika, Asya ve Ortadoğu'da bildirilmiştir (Walker 2005). Türkiye'nin komşusu İran'da Momtaz ve ark (2012)'nin yaptıkları bir çalışmada 302'si dişi 98'i erkek olan toplam 400 sığır ile 66'sı erkek, 134'ü dişi olan 200 adet su bufalosundan yaptıkları bir çalışmada sığırlarda % 29, su bufalolarında ise % 17 pozitiflik saptanmıştır. Araştırmacılar dişilerin erkeklerden daha fazla etkilendiklerini gözlemlemişlerdir.

Ülkemizdeki sığırlarda yapılan araştırmalarda bu enfeksiyonunun seropozitiflik dağılımları bölgelere ve illere göre farklı oranlarda bulunmuştur. Mellor ve ark. 1995'te yaptıkları bir çalışmada Türkiye'nin Güney, Güneydoğu ve Batı illerinde 13 tip *Culicoides* sokucu sinek türü belirlemişler ve sığırlarda BEF enfeksiyonunun seroprevalansını ELISA testi ile sırasıyla % 2,3, %12,3, %9,2 olarak tespit etmişlerdir. Albayrak ve Ozan (2010) 2007 yılında Karadeniz Bölgesi'nde yer alan beş ilde (Samsun, Sinop, Ordu, Amasya ve Tokat) 200 sığırdan topladıkları örneklerde BEF virus enfeksiyonuna karşı seropozitiflik oranını % 13,5 olarak saptamışlardır. Araştırmacılar en yüksek seropozitiflik oranlarının Sinop (%37,5) ve Amasya (%27,5) illerinde olduğunu bildirmişlerdir. Bu bağlamda enfeksiyonun hem nemli ve ılıman hem de karasal iklimin olduğu illerde görülmesi buna karşın benzer durumdaki diğer illerde hiç görülmemesi vektörün her iki iklim kuşağında bulunmasına karşın popülasyon dinamiğinde mikroklimanın etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (Albayrak ve Ozan 2010). Karaoğlu ve ark. (2007) Edirne, Kırklareli, Tekirdağ, İstanbul ve Çanakkale'de yaptıkları bir çalışmada BEFV enfeksiyonunun illere göre yaygınlığını sırasıyla % 15,3, %13, %6,6, %2,8, %2,5 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar genel olarak bu bölge için BEF'in seroprevalansını %8,04 olarak bulmuşlardır.

Ege ve Akdeniz bölgeleri ülkemizde *Culicoides* türleri açısından ülkemizdeki en yüksek popülasyona sahip bölgeler olup, birçok önemli viral enfeksiyonun bulaşmasında rol oynamaktadırlar. Aydın yöresinin sokucu sineklerle nakledilen ve hayvancılıkta büyük kayıplara yol açan enfeksiyonlardan olan Mavi Dil enfeksiyonunun resmi olarak 1977'de ilk bildirildiği yöre olması ve yine Akabane Virüsü (AKAV)'nun 1980'de Türkiye'de ilk izole edildiği bölge olması

dolayısıyla bölgemiz arboviruslar yönünden yüksek potansiyele sahip olduğu bilinmektedir. Bu enfeksiyonların zaman zaman bu bölgedeki hayvanlarda yavru ve ciddi verim kayıplarına yol açtığı birçok çalışmayla ortaya konulmuştur (Urman ve ark 1980, Ertürk ve ark 2003, Taylor ve Mellor 2004). Ancak Türkiye'nin çeşitli yörelerinde BEFV enfeksiyonunun varlığının bilinmesine karşın bölgemizdeki varlığı ve yaygınlığı konusundaki araştırmalar nispeten eski ve sınırlıdır.

Bu çalışmada, büyük baş hayvan yetiştiriciliği yapan küçük aile işletmeleri ve süt sığırcılığı işletmelerinde bulunan tesadüfi olarak seçilmiş Aydın ilinde 125 Muğla ilinde ise 100 adet sığır örneklenerek kompetitive ELISA ile BEF spesifik antikorlar yönünden test edildi. Tüm örneklerin negatif olduğu belirlendi. Her ne kadar elde edilen sonucun olumlu olduğu düşünülse de, virusun ülkedeki genel durumu ve çalışılan bölgenin iklimik şartları göz önüne alındığında önümüzdeki dönemler için risk oluşturmadığını söylemek mümkün görünmemektedir.

Bu güne kadar elde edilen veriler değerlendirildiğinde, bölgede BEF ve benzer şekilde bulaşan enfeksiyonların zaman zaman ortaya çıktığı bilinmektedir. Virusun biyolojik vektörü olan sokucu sineklerin bölgede sürekli var olması riskin devam etmesini sağlamaktadır. Enfeksiyonun serolojik olarak saptanmaması, virusun sürekli sirkülasyonda olmadığını fakat zaman zaman bölgeye çeşitli yollarla nakledildiğini düşündürmektedir. Araştırmadan birkaç yıl önce yörede BEF vakalarının varlığı popülasyonda virusa karşı antikorların uzun süre var olmadığını göstermektedir. Bilimsel çalışmalar BEFV'na spesifik antikorların sığırlarda 16 aydan fazla kalabildiğini göstermektedir (Aziz-Boaron ve ark 2013). Bu nedenle örnekleme öncesinde virusun bölgede yaklaşık iki yıldır sirküle olmadığı söylenebilir. Bu durum BEFV enfeksiyonu ile mücadelede olumlu bir bilgi kaynağı olabilir. Aydın ve Muğla yörelerinde 2012 yılındaki salgın esnasında BEF bildiriminin bulunmaması (Tonbak ve ark 2013, Oğuzoğlu ve ark 2013) da bu çalışmanın sonuçlarını destekler konumdadır. Ancak bölgenin neden etkilenmediği ise tartışmaya açık bir konudur. Bu çalışmanın yapıldığı zaman dilimi içerisinde BEFV enfeksiyonuna ait klinik vakalara da rastlanılmamış, bildirim bulunduğu dair bir bilgiye ulaşılmamıştır. Bu nedenle virusa yönelik daha ayrıntılı olarak çalışmalar (virus izolasyonu, virusun spesifik gen bölgelerini saptama, elde edilen bu virusların gen dizi analizi ile moleküler karakterizasyonu vb.) bu dönem içinde yapılmamıştır. Bu çalışma kapsamında, yetiştiriciler enfeksiyon ve hayvanların bu

enfeksiyondan korunma önlemleri konusunda bilgilendirilmiştir.

Salgın sonrasında oluşan bağışıklığın ortadan kalkmasıyla birlikte hayvan hareketleri, rüzgârlar ve sinekler vasıtasıyla virusun yeniden sorun yaratması, virusun rutin döngüsü içinde beklenen bir durumdur. Dolayısıyla, devam eden yıllarda kontrol çalışmalarında BEFV'un saha dinamiklerinin dikkatle değerlendirilmesi önemlidir. Rutinde kullanılan etkili bir aşının henüz bulunmaması, korunma ve mücadele noktasında yapılabilecekleri ciddi şekilde sınırlandırması da ayrı bir sorun olarak ortada durmaktadır. Ayrıca bölgemizde klinik olarak benzer hastalıkların bulunması tanıyı ve mücadeleyi güçleştirdiği için söz konusu enfeksiyonun ve diğer benzer enfeksiyonların bölgedeki durumunun düzenli ve geniş çaplı serolojik-virolojik taramalarla saptanması mücadele programlarının geliştirilmesinde temel teşkil edecek, olası risk faktörlerinin ve koruyucu tedbirlerin doğru değerlendirilmesine olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Albayrak H, Ozan E.** Orta Karadeniz Bölgesinde ruminant ve tek tırnaklılarda kan emici sineklerle nakledilen bazı arboviral enfeksiyonların seroprevalansı. Kafkas Üniv. Vet Fak Derg. 2010; 16(1):33-36.
- Aziz-Boaron O, Leibovitz K, Gelman B, Kedmi M, Klement E.** Safety, Immunogenicity and Duration of Immunity Elicited by an Inactivated Bovine Ephemeral Fever Vaccine. PLOS One. 2013; 8(12):e82217.
- Ertürk A, Kabaklı Ö, Çizmeci SG, Barut FM.** Current Situation Of Bluetongue in Turkey. 3. OIE Bluetongue International Symposium. 26-29 October 2003, Taormina Italy, Abstract book, s. 19.
- Girgin H, Yonguc AD, Akçora A, Aksak E.** Türkiye'de ilk bovine ephemeral fever salgını. Etlık Vet Mikrobiyol Enst Derg. 1986; 5:5-14.
- Hill MW, Schultz K.** Ataxia and paralysis associated with bovine ephemeral fever infection. Aust Vet J. 1977; 53(5):217-221.
- Karaoğlu T, Özgünlük İ, Demir B, Özkul A, Burgu İ.** Seroprevalence of culicoides-borne disease in cattle in European

Turkey. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2007; 4:121-125.

Mellor PS, Jennings DM, Hambling C, Burgu I, Urman HK, Akça Y, Hazıroğlu R, Alkan F, Yonguç AD, Özkul A, Eren H (1995): Control of Akabane disease and surveillance of bluetongue and ephemeral fever. 24. United Nations Development Programme, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Mellor PS, Boorman J, Baylis M. Culicoides biting midges: their role as arbovirus vectors. *Ann Rev Entomol.* 2000; 45:307–340.

Mellor PS. Replication of arboviruses in insect vectors. *J Comp Path.* 2000; 123:231-247.

Momtaz H, Nejat S, Moazeni M, Riahi M. Molecular epidemiology of bovine ephemeral fever virüs in cattle and buffaloes in İnan. *Revue Méd Vét.* 2012; 163:8-9:415-418.

Nandi S, Negi BS. Bovine ephemeral fever: a review. *Comp Immun Microbiol Infect Dis.* 1999; 22:81-91.

Oğuzoğlu TC, Ertürk A, Çizmeci SG, Koç BT, Akça Y. A report on Bovine Ephemeral Fever Virus in Turkey: Antigenic Variations of Different Strains of EFV in the 1985 and 2012 Outbreaks Using Partial Glycoprotein Gene Sequences. *Transbound Emerg Dis.* 2013; doi: 10.1111/tbed.12187.

Sağkan Öztürk A. Bovine Ephemeral Fever (Sığırlarda Üç Gün Hastalığı). *AVKAE Derg.* 2012; 2(2):26-30.

Taylor WP, Mellor PS. The distribution of Akabane virus in the Middle East. *Epidemiol Infect.* 1994; 113:175-185.

Tonbak S, Berber E, Yoruk MD, Azkur AK, Pestil Z, Bulut H. A Large-Scale Outbreak of Bovine Ephemeral Fever in Turkey, 2012. *J Vet Med Sci.* 2013; 75(11):1511–1514.

Uren MF. Bovine ephemeral fever. *Aust Vet J.* 1989; 66(8):233-236.

Urman HK, Milli Ü, Mert N, Berkin Ş, Kahraman MM, Yüce H, Avvuran H. Türkiye’de buzağlarda kongenital epizootik arthrogryposis ve hydranencephalie olayları. *Ankara Univ Vet Fak Derg.* 1980; 26:287-925.

Walker PJ. Bovine ephemeral fever in Australia and the world. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2005; 292:57-80.
Yeruham I, Gur Y, Braverman Y. Retrospective epidemiological investigation of an outbreak of bovine ephemeral fever in 1991 affecting dairy cattle herds on the Mediterranean coastal plain. *Vet J.* 2007; 173:190–193.

Yonguc AD, Taylor WP, Csontos L, Worrall E. Bluetongue in western Turkey. *Vet Rec.* 1982; 111(7):144-146.