



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2013; 27 (1): 39 - 41
http://www.fusabil.org

Engin BERBER¹
İbrahim SÖZDUTMAZ²

¹Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Viroloji Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

²Atatürk Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Viroloji Anabilim Dalı,
Erzurum, TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 18.01.2013
Kabul Tarihi : 08.02.2013

Yazışma Adresi Correspondence

Engin BERBER
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Viroloji Anabilim Dalı
Elazığ - TÜRKİYE

berberengin86@hotmail.com

Elazığ, Malatya ve Tunceli İllerinde Koyunlarda Görülen Abort Vakalarında Pestivirüslerin Rolünün Araştırılması

Bu çalışmada; Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde koyunlardan elde edilen abort örneklerinden pestivirüs (Border disease; BD ve bovine viral diarrhoea virus; BVDV) prevalansının antijen enzim linked immunosorbent assay (ELISA) ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplam 160 örneğin ELISA ile çalışılması neticesinde örneklerin 36 (%22.5)'si pestivirüs antijen varlığı yönünden pozitif tespit edilmiştir. Sonuç olarak, pestivirüslerin Elazığ, Malatya ve Tunceli illerindeki koyunlarda abortların etiolojisinde önemli oldukları belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Koyun, abort, pestivirüs, ELISA.

Investigation of The Role of Pestiviruses in Abort Cases of Sheep at Elazığ, Malatya and Tunceli Provinces

The present study was aimed for determining the prevalence of pestiviruses (Border disease; BD and bovine viral diarrhoea virus; BVDV) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method in samples collected from abort cases in sheep in Elazığ, Malatya and Tunceli. As a result of this study, 36 (22.5%) of 160 animals were found positive for pestivirus. The results indicates that, pestiviruses are important agent in etiology of sheep abortion in Elazığ, Malatya and Tunceli provinces.

Key Words: Sheep, abortion, pestivirus, ELISA.

Giriş

Koyunlarda fetal ve embriyonik ölümler oldukça yaygın görülmekte ve önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Abortların hormonal, beslenme, metabolik, travmatik ve enfeksiyöz kaynaklı birçok nedeni bulunmaktadır. Koyunlarda fetal ve embriyonik ölüm vakaları incelendiğinde bunların yaklaşık %11'inde viral enfeksiyöz etkenler tespit edilmiştir (1-3). Bu viral etkenlerin önemli özelliği sürü içinde hızla yayılması ve gebeliğin farklı evrelerinde intrauterin veya transplasental enfeksiyon sonucu, gelişmekte olan yavruda etkenin alındığı evreye bağlı olarak değişen (embriyonik ölümler, mumifikasyon, maserasyon, anomalili yavru doğumu, zayıf yavru doğumu, persiste enfekte yavru doğumu) bir dizi bozukluklara neden olmalarıdır. Koyunlarda görülen virüs kaynaklı enfeksiyonların başlıcaları; akabane, mavidil, pestivirüs enfeksiyonları ve Rift Vadisi hummasıdır (4-8).

Flaviviridae ailesi pestivirüs genusunda clasiical swine fever virüsü, sınır hastalığı virüsü (Border disease virus; BDV) ve sığırların viral diyare virüsü (Bovine viral diarrhoea virus; BVDV) yer almaktadır. Bu virüsler gerek genom yapısı gerekse antijenik olarak birbirlerine benzer virüslerdir. Bu virüslerden başta BDV olmak üzere, BDV ve BVDV koyunlarda abortların en önemli etkenleridirler (3, 9).

Ülkemizde koyunlarda abort vakaları sıklıkla bildirilmektedir (4, 9-12). Koyun yetiştiriciliğinde, yetiştiriciliğin kârlılığı ve devamlılığı için her koyundan sağlıklı yavru alınması oldukça önemlidir. Bu bakımdan gebeliğin şekillenmesi kadar, gebeliğin devamının sağlanması ve sağlıklı kuzuların elde edilmesi de bir yetiştiricinin en önemli beklentisidir. Viral transplasental enfeksiyonların neden olduğu fetal ve embriyonik ölümler ekonomik bir yetiştiriciliğin devamlılığının sağlanmasının önündeki problemlerin de başında yer almaktadır (1, 3).

Koyun yetiştiriciliği Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde önemli bir geçim kaynağıdır. Abortlar koyun yetiştiriciliğinde ekonomik kayıpların en başta gelen sebebidir. Bu nedenle, aborta neden olan virüslerin yaygınlığının tespit edilmesi bölgedeki enfeksiyonlarla mücadelede uygulanacak stratejilerin geliştirilmesinde büyük önem taşıyacaktır.

Bu çalışmada, Elazığ ili ve çevre illerde abort yapan koyunlarda pestivirüslerin (BD ve BVDV) prevalanslarının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Klinik Örnekler: Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinden 2011-2012 yıllarında abort yapan koyunlarda Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirilen 160 koyuna ait doku homojenizati (karaciğer, dalak ve beyin) çalışma kapsamında değerlendirildi. Homojenize edilen doku örnekleri 3000 rpm'de santrifüj edildikten sonra ELISA'da çalışılınca kadar -80°C 'de saklandı. Çalışmada kullanılan abort materyallerinin 68 (%42.5)'ini Elazığ, 42 (%26.25)'sini Malatya ve 50 (%31.25)'sini ise Tunceli illerinden getirilen örnekler oluşturmaktadır.

ELISA Testi: Abort doku örneklerinde ticari ELISA test kiti (Herdchek®BVDV Ag/Serum Plus) kullanılarak, üretici firmanın (IDEXX lab., Switzerland) talimatları doğrultusunda işlendi. Bu test kitinde pleytin tabanına bağlanan monoklonal antikorun (E^{rns} ; anti-BVDV E antikor) hem BVDV hem de BDV enfeksiyonlarının belirlenmesinde uygun olduğu belirtilmiştir (13). Sonuçların değerlendirilmesinde test kitinde bulunan negatif ve pozitif kontrol örneklerin optik dansite değerlerinin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları esas alınmıştır.

İstatistiksel Analizler: Bu çalışmada illere göre ELISA pozitifliğinin istatistiksel analizinde ki-kare testi kullanıldı (14).

Bulgular

Toplam 160 örneğin ELISA ile çalışılması neticesinde örneklerin 36 (%22.5)'sında pestivirüs antijen varlığı tespit edilmiştir. Pozitif sonuçların illere göre dağılımında ise, 36 pozitif örneğin 16 (%44.4)'sı Elazığ, 14 (%38.8)'ü Tunceli ve 6 (%16.6)'sı da Malatya illerinden gelen koyunlardan alınan örnekler şeklinde olmuştur (Tablo 1). Bu sonuçlara göre pozitiflik oranı bakımından iller arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0.05$).

Tablo 1. ELISA ile test edilen koyun örneklerinin illere göre dağılımı, pozitif sayıları ve yüzde oranları

	Test edilen örnekler	Pozitif	Pozitif Yüzdesi (%)
Elazığ	68	16	23.5
Tunceli	50	14	28
Malatya	42	6	14.28
Toplam	160	36	22.5

Tartışma

Ülkemizde koyunlarda görülen abortlarda viral ve bakteriyel etiolojinin araştırılmasına yönelik çalışmalar mevcuttur (4, 9-12, 15-21). Ancak, Elazığ ili ve ilçelerinde koyunlarda görülen abortlarda pestivirüslerin prevalansını belirlemeye yönelik çalışma belirlenmemiştir. Mevcut çalışmada Elazığ ili ve ilçelerinde koyunlarda görülen abort olgularında pestivirüslerin prevalansı araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda test edilen koyunların %22.5'inde pestivirüs antijen varlığı belirlenmiştir. Ülkemizde daha önce bildirilen çalışmalarda daha düşük (22) ve yüksek prevalanslar (4, 23, 24) rapor edilmiştir. Bu çalışmada bildirilen prevalansa kıyasla oldukça yüksek prevalansın (%66.6) bildirildiği Karadeniz Bölgesinde gerçekleştirilen çalışmada sadece 21 koyun abort örneği ile çalışılmıştır. Bu sayı mevcut çalışmada değerlendirilen koyun sayısı ile kıyaslandığında oldukça düşüktür.

Abort örneklerinde farklı doku ve örneklerde pestivirüslerin varlığı bildirilmiştir (4). Bu organlar içinde öncelikle beyin ve karaciğerin kullanılması önerilmektedir. Ancak, pestivirüs olgularında virüs, mumifiye organ ve dokularda görülmektedir (12). Mevcut çalışmada örneklerin büyük kısmını beyin, karaciğer ve akciğer örneği oluşturmuştur. Ancak mumifiye olguların görüldüğü vakalarda tüm iç organ homojenatları ile çalışılmıştır.

Uzun yıllar koyunlarda aborta sebep olan pestivirüsler belirlendiğinde BDV ve sığırlarda abort vakalarında belirlenen pestivirüsler ise BVDV olarak değerlendirilmiştir (1, 6). Ancak, son yıllarda yapılan çalışmaların (25, 26) ışığında, bu virüslerin sadece tür spesifik hastalık oluşturmaları ve heterolog türlerde de yüksek oranda enfeksiyonlara yol açabildikleri belirlenmiştir. Bu virüslerin ayırımında en doğru ve güvenilir yaklaşım reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile çoğaltılan virüslerin belirli gen kısımlarının sekans sonuçlarının değerlendirilmesidir (1, 7, 20). Bu çalışmada sadece ELISA kullanıldığından, mevcut çalışmada koyunlarda belirlenen virüsler BDV veya BVDV olarak değil de pestivirüsler olarak kaydedilmiştir.

Son iki yılda bölgemizde klinik ve patolojik olarak pestivirüs şüpheli vakaların arttığı kaydedilmiştir. Yapılan viroloji çalışma sonuçları bu şüpheleri doğrulamıştır. Mevcut çalışmada tespit edilen %22.5'lik bir prevalans oranı abort etiyojisi düşünüldüğünde oldukça yüksek bir orandır. Gelecek çalışmalarda, bu soruların sebeplerinin araştırılmasında ve tespit edilen pozitif klinik olgularda izole edilecek virüslerin genomik kimliklendirilmesinde yarar görmekteyiz. Elde edilecek sonuçlara göre de pestivirüsler için koruma, kontrol ve mücadele stratejilerinin tespitinin faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Garcia-Pérez AL, Minguijón E, Barandika JF, et al. Detection of Border disease virus in fetuses, stillbirths, and newborn lambs from natural and experimental infections. *J Vet Diagn Invest* 2009; 21: 331-337.
2. Givens MD, Marley MS. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogen* 2008; 70: 270-285.
3. Menzies PI. Control of important causes of infectious abortion in sheep and goats. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2011; 27: 81-93.
4. Albayrak H, Gumusova SO, Ozan E, Yazici Z. Molecular detection of pestiviruses in aborted foetuses from provinces in northern Turkey. *Trop Anim Health Prod* 2012; 44: 677-680.
5. Horner GW, Tham KM, Orr D, et al. Comparison of an antigen capture enzyme-linked assay with reverse transcription-polymerase chain reaction and cell culture immunoperoxidase tests for the diagnosis of ruminant pestivirus infections. *Vet Microbiol* 1995; 43: 75-84.
6. Hurtado A, Sanchez I, Bastida F, et al. Detection and quantification of pestivirus in experimentally infected pregnant ewes and their progeny. *Virology* 2009; 6: 189.
7. Kobayashi T, Yanase T, Yamakawa M, et al. Genetic diversity and reassortments among Akabane virus field isolates. *Virus Res* 2007; 130: 162-171.
8. Maclachlan NJ, Drew CP, Darpel KE, Worwa G. The pathology and pathogenesis of bluetongue. *J Comp Path* 2009; 141: 1-16
9. Burgu I, Oztürk F, Akca Y, et al. Investigations on the occurrence and impact of bovine viral diarrhoea (BVD) virus infections in sheep in Turkey. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 1987; 94: 292-294.
10. Çetinkaya B, Öngör H, Muz A, et al. Detection of brucella species DNA in the stomach content of aborted sheep fetuses by PCR. *Vet Rec* 1999; 144: 239-240.
11. Duman R, Durak Y. Investigations on chlamydia psittaci infections causing abortion in sheep in Konya district using complement fixation test. *Turk J Vet Anim Sci* 1998; 22: 511-516.
12. Erganiş O, Kaya O, Hadimli LL, Güler L. Rapid diagnosis of ovine brucella, campylobacter and salmonella infections from fetal stomach contents by coagglutination test. *Small Rum Res* 2002; 45: 123-127.
13. Gripshover EM, Givens MD, Ridpath JF, et al. Variation in E^{ms} viral glycoprotein associated with failure of immunohistochemistry and commercial antigen capture ELISA to detect a field strain of bovine viral diarrhoea virus. *Vet Microbiol* 2007; 125: 11-21.
14. Kalaycı Ş. SPSS Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistik Teknikleri. 2. Baskı, Ankara: Asil Yayın, 2006.
15. Güler L, Hadimli H, Erganiş O, et al. Field evaluation of a PCR for the diagnosis of chlamydial abortion in sheep. *Vet Rec* 2006; 159: 742-745.
16. Güler L, Gündüz K, Ok Ü. Comparison of polymerase chain reaction and bacteriological culture for the diagnosis of sheep brucellosis using aborted fetus samples. *Vet Microbiol* 2003; 93: 53-61.
17. Gür S. A investigation of border disease virus in sheep in Western Turkey. *Trop Anim Health Prod* 2009; 41: 1409-1412.
18. Muz A, Özer H, Eröksüz H, et al. Bacteriologic, serologic and pathologic studies on abortus cases of goats and sheep in Elazığ and its vicinity. *Turk J Vet Anim Sci* 1999; 23: 177-188.
19. Oguzoglu TC, Tan MT, Toplu N, et al. Border disease virus (BDV) infections of small ruminants in Turkey: a new BDV subgroup? *Vet Microbiol* 2009; 135: 374-379.
20. Öngör H, Çetinkaya B, Açık MN, Karahan M, Bulut H. Detection of chlamydia abortus in ovine milk by immunomagnetic separation-polymerase chain reaction. *J Vet Med B* 2004; 50: 43-45.
21. Sareyyüpoğlu B, Diker S, Güngördü S. Koyunlarda abortif bakteriyel enfeksiyonların tanısında multiplex-PCR tekniklerinin geliştirilmesi. TÜBİTAK TOVAG Proje 104O237 2008: 1-61.
22. Hisarcioglu S, Kale M, Acar A. Investigation of pestiviruses infections in aborted sheep and goats in Burdur region. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2009; 15: 163-167.
23. Azkur AK, Gazyagcı S, Aslan ME, Unal N. Molecular and serological characterization of pestivirus infection among sheep in Kirikkale, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2011; 17: 83-92.
24. İssi M, Gül Y, Gürçay M, Gök T. Elazığ yöresindeki koyunlarda saptanan pestivirus enfeksiyonu. *FÜ Sağ Bil Vet Derg* 2012; 26: 165-169.
25. Juliá S, Craig MI, Jiménez LS, Pinto GB, Weber EL. First report of BVDV circulation in sheep in Argentina. *Prev Vet Med* 2009; 90: 274-277.
26. Mishra N, Pitale SS, Rajukumar K, et al. Genetic variety of bovine viral diarrhoea virus 1 strains isolated from sheep and goats in India. *Acta Virol* 2012; 56: 209-215.