

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE’NİN KONYA İL BÖLGESİNDE KLİNİK OLARAK
SAĞLIKLI KOYUN VE SIĞIRLARIN ŞAP HASTALIĞI
YÖNÜNDEN EPİDEMİYOLOJİSİNİN NSP ELISA VE LPBE İLE
ARAŞTIRILMASI**

Ömer Barış İNCE

DOKTORA TEZİ

VİROLOJİ ANABİLİM DALI

**Danışman
Prof. Dr. Feridun ÖZTÜRK**

KONYA-2012

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Ömer Barış İNCE tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Viroloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Sibel YAVRU
Selçuk Üniversitesi



Danışman: Prof. Dr. Feridun ÖZTÜRK
Selçuk Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Hüdaverdi ERER
Selçuk Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Atilla ŞİMŞEK
Selçuk Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Mehmet KALE
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi



ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tevfik TEKELİ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Şap hastalığı, çift tırnaklı hayvanların akut, ateşli ve çok bulaşıcı viral bir enfeksiyonudur. Evcil ve vahşi ruminantlarda verim kayıplarına neden olarak, hastalığın bulunduğu ülkelerde hayvansal ürün üretiminde ciddi ekonomik kayıplara yol açan bir hastalıktır. Şap virusu'nun antijenik olarak 7 farklı serotipi (A, O, C, SAT 1, SAT 2, SAT 3 ve ASIA-1) vardır. Dünya üzerinde en yaygın olan A ve O serotipleridir.

Şap hastalığının kontrolü, ülkenin hastalık kontrol politikaları ve epidemiyolojik durumuna bağlıdır. Türkiye'de A ve O serotipleri endemik olarak görülmektedir. Hastalığın kontrolü amacıyla Türkiye'de karantina ve aşılama yapılmaktadır. Aşılama hastalığın kontrolünde önemli bir araç olmasına rağmen aşılamanın başarısına birçok faktör etki eder ve bu yüzden tek başına hastalığın kontrolünde başarılı olması beklenemez. Aşılama ile birlikte mutlaka hayvan hareketlerinin de kontrol edilmesi ve sınırlandırılması gerekmektedir.

Bu araştırmada İç Anadolu Bölgesi Konya İl'inin güneydoğusunu çevreleyen bölgenin hastalıkla ilgili durumunu ortaya koymak, aktif virus sirkülasyonunu araştırmak ve hastalık riskinin değerlendirilmesi yapılarak; Şap Hastalığı epidemiyolojisinin araştırılması ve epidemiyolojik önemi vurgulanmaya çalışılmıştır.

Bana bu konuda çalışma imkanı sunan ve çalışmanın her aşamasında yardım ve desteklerini gördüğüm Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Sibel YAVRU'ya, danışman Hocam Prof.Dr. Feridun ÖZTÜRK'e, desteklerini eksik etmeyen Prof.Dr. Atilla ŞİMŞEK'e, tüm Viroloji Anabilim Dalı personeline, çalışmayı maddi yönden destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, çalışmalarımın ilgili kısımlarının yürütülmesini sağlayan Şap Enstitüsü Müdürü Dr. Recep ERGÜL'e, Şap Enstitüsü Teşhis ve Epidemiyoloji Bölümü'ne, Dr.Serdar KIZIL'a, katkılarından dolayı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nden epidemiyolog Dr.Mustafa TUFAN'a, Dollvet Veteriner Aşı,İlaç A.Ş. Personeli Dr.Hüseyin ZENGİN'e, Dr.Nilay ÜNAL'a ve daima pozitif yaklaşımı ile amcam Ramazan İNCE'ye ; her zaman gösterdikleri sabır ve anlayışlarından dolayı Eşim ve Oğlum'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÇİZELGELER	vii
ŞEKİLLER	viii
RESİMLER	ix
GRAFİKLER	x
1.GİRİŞ	1
1.1. Etiyoloji	4
1.2. Epidemiyoloji	8
1.2.1. Moleküler Epidemiyoloji	10
1.3. Patogenez ve Patoloji	11
1.4. Klinik Belirtiler	12
1.5. Teşhis	14
1.5.1. Teşhis İçin Marazi Madde Alınması ve Gönderilmesi	16
1.5.2. Ayırıcı Teşhis	17
1.6. Şap Viruslarının Karakterizasyonu	18
1.7. İmmunoloji	19
1.8. Kontrol ve Mücadele	20
1.9. Araştırmanın Amacı	22
2. GEREÇ VE YÖNTEM	23
2.1 Gereç	23
2.1.1. Kan Serum Örnekleri	23
2.1.2. NSP ELISA Kiti	26
2.1.3. LPBE için Mikropleytlar	26
2.1.4. Kimyasallar	26
2.1.5. Biyolojik Maddeler ve Antiserumlar	27
2.2. Yöntem	29
2.2.1. Kan Serum Örneklerinin Hazırlanması	29
2.2.2. NSP ELISA Testi	29
2.2.3. Likit Faz Bloking ELISA Testi	31

3. BULGULAR	38
3.1. NSP ELISA Testi Sonuçları	38
3.2. Likit Faz Bloking ELISA Testi Sonuçları	39
4. TARTIŞMA	50
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	60
6. ÖZET	63
7. SUMMARY	64
8. KAYNAKLAR	65
9. EKLER	75
EK. A: Etik Kurul Raporu	75
10. ÖZGEÇMİŞ	76

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	:	Angstrom
AUG	:	Adenin Urasil Guanin
BEI	:	Binary Ethyleneimine
BHK-21	:	Yavru Hamster Böbrek Hücre Hattı
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
Da	:	Dalton
EDTA	:	Ethylen-Diamin-Tetra-Acetic Acid
ELISA	:	Enzym Linked Immuno Sorbent Assay
FAO	:	Gıda ve Tarım Örgütü
H ₂ O ₂	:	Hidrojen Peroksit
H ₂ SO ₄	:	Sülfirik Asit
HmLu	:	Hamster Akciğer Hücresi
ID	:	İnfektif Doz
IEF	:	İzoelektrik Odaklama Tekniği
Ig	:	İmmunoglobulin
log	:	Logaritma
IBRS	:	Domuz Böbrek Hücresi
IPARD	:	Katılım Öncesi Mali Yardım Kırsal Kalkınma Bileşeni
Kb	:	Kilobaz
KKGM	:	Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü
Km	:	Kilometre
LPBE	:	Likit Faz Bloking ELISA
M	:	Molar
MVPK	:	Fötal Domuz Böbrek Hücresi
ml	:	Mililitre
nm	:	Nanometre

NS	:	Not Significant
NSP	:	Non Structural Protein
Nt	:	Nükleotit
O/P	:	Osefageal-farengeal Sıvısı
OD	:	Optik Dansidite
ORF	:	Okunabilen Baz Çatısı
OIE	:	Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü
OPD	:	Ortho-Phenylenediamine
PAGE	:	Poliakrilamid Jel Elektroforez
PBS	:	Phosphate Buffered Saline
PCR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PD ₅₀	:	Koruyuculuk Dozu
RNA	:	Ribonükleik Asit
rpm	:	Dakika dönüş sayısı
RT-PCR	:	Revers(ters) Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAT	:	South African Territories
SDS	:	Sodium Dodecyl Sulfate
TCID/DKID	:	Doku Kültürü İnfektif Doz
Vpg	:	Viral protein genom
WOAH	:	World Organisation for Animal Health
µl	:	Mikrolitre

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Şap virusunun dayanıklılık süreleri	6
Çizelge1.2.	Şap Virusu Serotipleri	7
Çizelge 2.1.	Kan serum örneklerinin dağılımı (Sığır)	24
Çizelge 2.2.	Kan serum örneklerinin dağılımı (Koyun)	25
Çizelge 2.3.	Örnek ELISA verileri	36
Çizelge 2.4.	Serumların OD değerlerinin, % inhibisyon değerleri	37
Çizelge 3.1.	NSP ELISA pozitif numunelerin dağılımı	38
Çizelge 3.2.	O serotipi dağılımı (Sığır-yaş grupları)	46
Çizelge 3.3.	A serotipi dağılımı (Sığır-yaş grupları)	46
Çizelge 3.4.	O serotipi dağılımı (Koyun-yaş grupları)	46
Çizelge 3.5.	A serotipi dağılımı (Koyun-yaş grupları)	46
Çizelge 3.6.	O serotipi dağılımı (Sığır -cinsiyet)	47
Çizelge 3.7.	A serotipi dağılımı (Sığır -cinsiyet)	47
Çizelge 3.8.	O serotipi dağılımı (Koyun-cinsiyet)	47
Çizelge 3.9.	A serotipi dağılımı (Koyun-cinsiyet)	47
Çizelge 3.10.	O serotipi dağılımı (Sığır -aşı)	48
Çizelge 3.11.	A serotipi dağılımı (Sığır -aşı)	48
Çizelge 3.12.	O serotipi dağılımı (Koyun-aşı)	48
Çizelge 3.13.	A serotipi dağılımı (Koyun-aşı)	49

ŞEKİLLER

Şekil:1.1.	Şap virusunun genomu	6
Şekil 1.2.	Şap virusunun genomu ve translasyon ürünleri	7
Şekil 1.3.	Marazi maddeler için teşhis şeması	17
Şekil 1.4.	Marazi maddeler için akış şeması	17
Şekil 1.5.	Şap Aşısı Üretim Şeması	21
Şekil 2.1.	NSP ELISA çalışma dizaynı görünümü	30
Şekil 2.2.	Serum örneklerinin 8 dilusyon sulandırılması	36

RESİMLER

Resim 1.1.	2009- 2010 yılları arası Dünyada Şap Hastalığı çıkan yerler	3
Resim 1.2.	2011 yılında Türkiye’de çıkan Şap hastalığı	3
Resim 1.3.	Şap hastalığı serotiplerinin Türkiye’ye giriş yolları	4
Resim 1.4.	Şap Hastalığı Lezyonları	13

GRAFİKLER

Grafik 3.1.	Antikorların cinsiyete bağlı dağılımı (Sığır)	42
Grafik 3.2.	Antikorların cinsiyete bağlı dağılımı (Koyun)	42
Grafik 3.3.	Antikorların serotipe özgü dağılımı (Sığır/Koyun)	43
Grafik 3.4.	Genel bağışıklık oranı (Sığır)	43
Grafik 3.5.	Genel bağışıklık oranı (Koyun)	43
Grafik.3.6.	Yaş gruplarına göre bağışıklık oranı (Sığır)	44
Grafik 3.7.	Yaş gruplarına göre bağışıklık oranı (Koyun)	44
Grafik 3.8.	Cinsiyete göre bağışıklık oranı (Sığır)	44
Grafik 3.9.	Cinsiyete göre bağışıklık oranı (Koyun)	45
Grafik 3.10.	Aşılama sayısına göre bağışıklık oranı (Sığır)	45
Grafik 3.11.	Aşılama sayısına göre bağışıklık oranı (Koyun)	45

1. GİRİŞ

Şap hastalığı ülkeler arası canlı hayvan ve hayvansal ürün ticaretini olumsuz yönde etkileyen, ekonomik kayıplara neden olan, çift tırnaklı hayvanların akut ve çok bulaşıcı viral bir hastalığıdır. Hastalığın ilk tanımlaması Fracastorius tarafından İtalya'da 1546 yılında yapılmıştır. Loeffler ve Frosch şap hastalığına filtre edilebilir ve bakterilerden daha küçük özellikte bir ajanın sebep olduğunu 1897 yılında bildirmişlerdir (Samuel ve Knowles 2001, Sutmoller ve ark 2003).

Şap virusu, antijenik olarak değişkenlik gösterir ve 7 farklı serotipi (A, O, C, Asia 1, SAT1, SAT2, SAT3) vardır. Diğer tek iplikçikli RNA viruslarında olduğu gibi şap virusu da doğal şartlarda yüksek mutasyon oranına sahiptir (Sobrino ve ark 1986, Steinhauer ve Holland 1987). Hastalık, süt üretiminde önemli ekonomik kayıplara neden olmakla birlikte canlı hayvan ve hayvan ürünlerinin uluslararası ticaretinide sınırlamaktadır (Ko ve ark 2009).

Antijenik varyasyon en çok A serotipinde olmakla birlikte bunu O ve C serotipleri takip eder (Marquardt ve Freiberg 2000, Araujo ve ark 2002, Sanyal ve ark 2004). Bu farklılık hastalıkla mücadelede aşı kullanımını güçleştiren bir etkidir. Mevcut bulunan aşı suşları, dünyanın farklı bölgelerinde, bazen aynı bölgede mevcut viruslar için etkili bir koruma sağlayamaz (Doel 2003, Sutmoller ve ark 2003).

Avrupa genel olarak şap hastalığından arıdır. İtalya'da 1993, Yunanistan'da 1994, 1996 ve 2000, Bulgaristan'da 1991, 1993 ve 1996, Arnavutluk ve Makedonya'da 1996 ve 1998 yıllarında şap hastalığı çıkmış ve eradike edilmiştir. İngiltere, Fransa, Hollanda ve İrlanda'da 2001 yılında görülen pan-Asya O tipi salgınları, Hollanda'da aşılama, İngiltere, Fransa ve İrlanda'da kesim yöntemleri ile kontrol altına alınmıştır (Leforben ve ark 2002, Sutmoller ve ark 2003).

Zimbabve, Namibya, Botswana ve Güney Afrika Cumhuriyeti hariç geri kalan Afrika ülkelerinin çoğunda şap hastalığı endemik olarak ele alınmaktadır (Hunter 1998, Kitching 1999). Asya'nın birçok ülkesinde (Kamboçya, Tayland ve Vietnam) şap hastalığı yaygın olarak görülmektedir (Mahy 2005, Rweyemamu 2008). Yeni Zelanda'da hastalığın hiç görülmediği bildirilmiştir (Grubman ve Baxt 2004) (Resim 1.1.).

Şap hastalığının Türkiye'deki seyri ve sonuçlarına ait ilk bilgiler 1914 yılında Ziraat İstatistiği'nde yayınlanmıştır (Sütçü ve ark 1978).

Türkiye'de 1914 yılından beri değişik tarihlerde A, O, SAT-1 ve Asia-1 tipleri teşhis edilmiştir. SAT-1 serotipi 1963 yılında saptanmıştır. Asia-1 serotipi ilk defa 1973 yılında saptanmış olup, 1984-1999 yılları arasında sadece doğu illerinde sınırlı sürelerde dolaşımda kalmıştır ve 2002 yılından 2006 yılına kadar görülmemiştir. A ve O serotipleri 1952 yılından beri endemik olarak gözlenmektedir (Aktaş 1998, Tufan 2006) (Resim1.2).

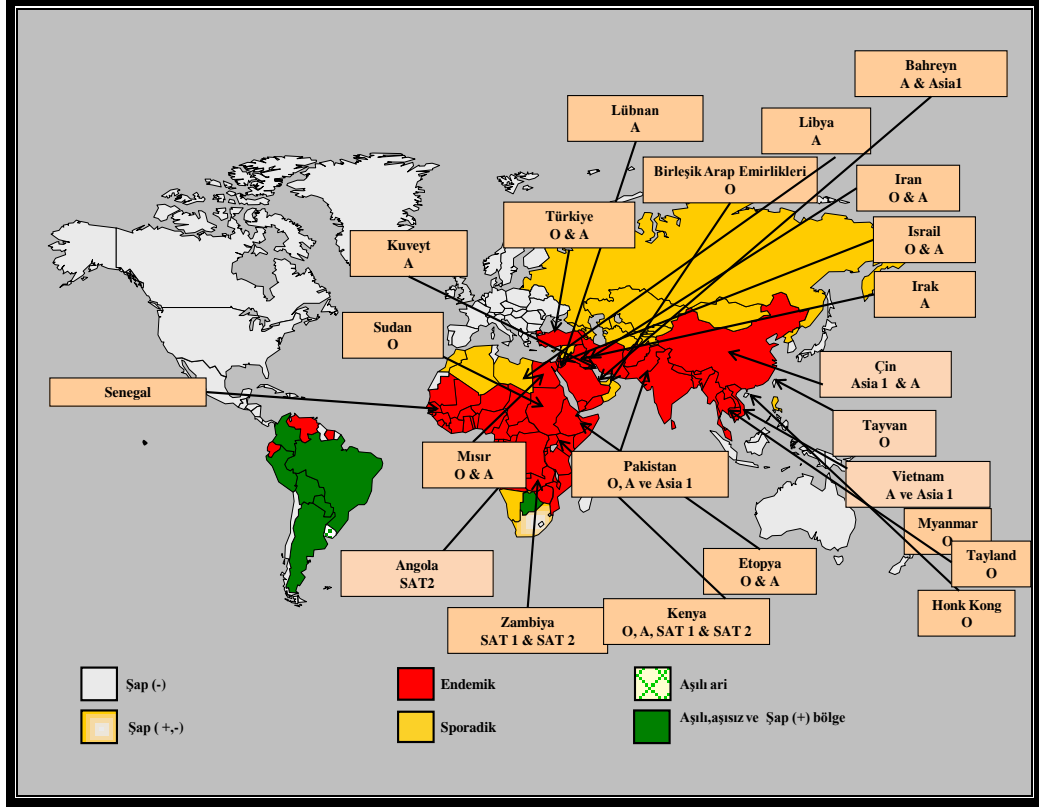
Şap virusu suşları Türkiye'ye doğu ve güneydoğu sınırından hayvan hareketleri ile giriş yapar ve bu bölgelerde hastalık endemik olup yıl boyunca rapor edilmektedir. Türkiye'de şap hastalığı mihraklarında yapılan incelemelerde hastalığın en yaygın bulaşma yolunun aracısız bulaşma olduğu bildirilmiştir (Aktaş 1998) (Resim1.3.).

Şap virusunun ülke içinde kısa mesafeli yayılmasından çok, yerel üretimin karşılayamadığı artan et ihtiyacına bağlı olarak uzun mesafeli kontrolsüz hayvan hareketlerinin baskın risk faktörü olduğu belirtilmekte ve hayvan pazarlarının önemli rolü olduğu düşünülmektedir (Aktaş 1998, Gilbert ve ark 2005, Rweyemamu ve ark 2008).

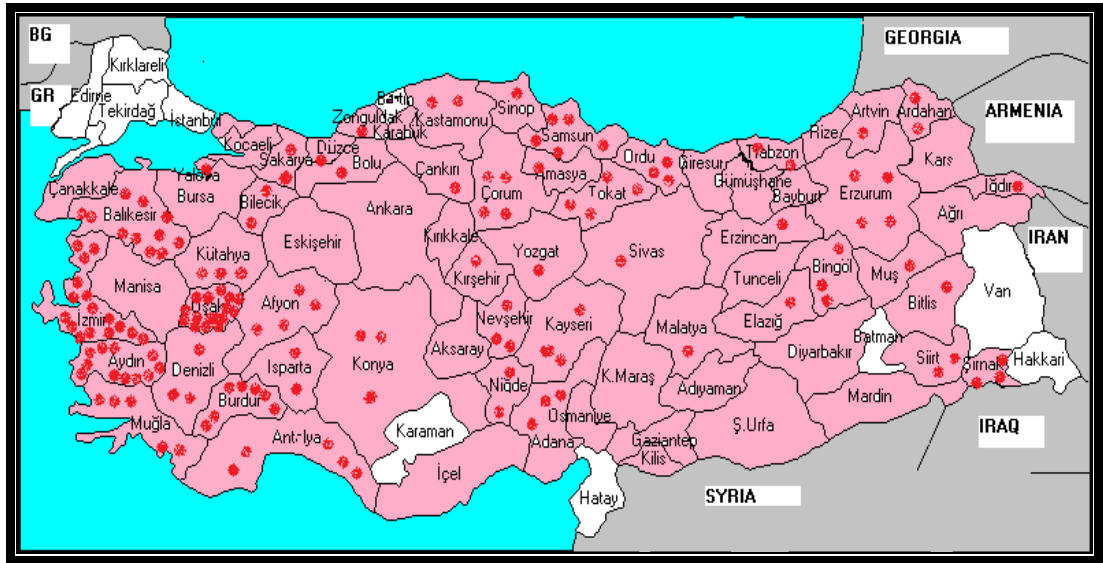
Avrupa Birliği tarafından fonlanan 2008-2011 yılları arası Şap Aşılama Kampanyası ile "Türkiye'de Şap Hastalığı'nın Kontrolü Projesi" başlatılmıştır. Bu proje kapsamında; Türkiye genelinde sığır varlığının yılda iki kez, koyun varlığının ise yılda bir kez olmak üzere üç yıl süre ile yoğun aşılama, hastalığın surveylansının yapılması ile hastalık mihraklarının takibi ve dezenfeksiyonu planlanmıştır (KKGM 2010).

Büyükbaş ruminantlarda Trakya'da ve Anadolu'nun sınır illerinde trivalan şap aşısı, diğer illerde ise bivalan şap aşısı kullanılmaktadır. Hastalık çıkması durumunda karantina yöntemleri uygulanarak bu bölgelerden canlı hayvan ve hayvansal ürünlerin çıkışına izin verilmemesi, Trakya Bölgesi'nde mihraklarda hasta ve hastalıktan şüpheli hayvanlara kesim metodu uygulanması kararlaştırılmıştır (KKGM 2010).

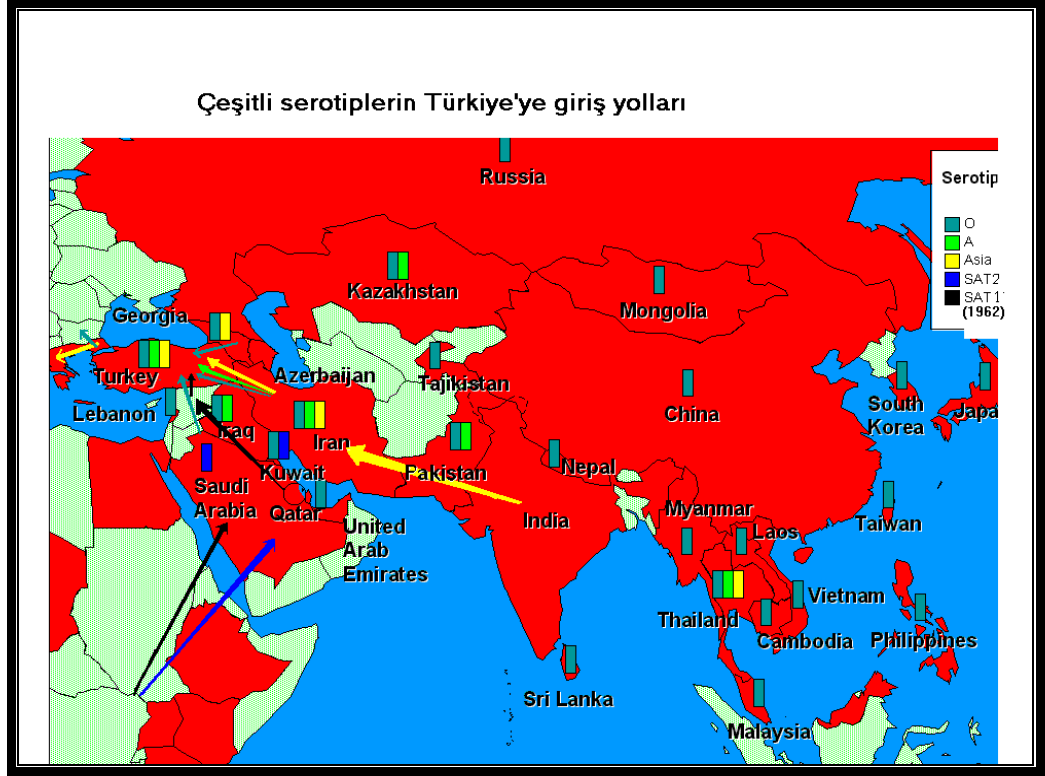
Mayıs 2010 tarihinde Fransa'nın Paris şehrinde düzenlenen OIE Genel Kurulu'nda Türkiye'nin Trakya bölgesi "Şap Hastalığından Aşılı Arılık" statüsü kazanmıştır (KKGM 2010).



Resim 1.1. 2009- 2010 yılları arası Dünyada Şap Hastalığı çıkan yerler (OIE-2010)



Resim 1.2. 2011 yılında Türkiye'de çıkan Şap hastalığı (KKGM 2011)



Resim 1.3. Şap hastalığı serotiplerinin Türkiye'ye giriş yolları(KKGM 2010)

1.1. Etiyoloji

Şap hastalığı etkeni *Picornaviridae* familyasından bir *aphtovirus*'tur. Bilinen 7 serotipi (A, O, Asia, C, SAT1, SAT2, SAT3) ve 67' den fazla alt tipi vardır (Mann ve ark 1990, King ve ark 2000, Triantofilou ve ark 2001).

Virus pH 7-9 arasında ve düşük sıcaklık derecelerinde stabildir, fakat 50°C'ın üzerinde süratle inaktive olur. Ayrıca etken, asit ve alkali şartlara duyarlıdır (Çizelge 1.1.). Şap virusu, pH 7-9 değerleri arasında stabil olmakla beraber virusun en dayanıklı olduğu pH değerleri pH 7.2-7.6 arasındadır ve çeşitli kimyasal maddeler ile asit (asetik, formik, sülfürik asitler) ve alkali (sodyum karbonat, sodyum hidroksit) pH değerlerinde inaktive olur. Şap virusunun saha şartlarında inaktivasyonu için %4'lük sodyum karbonat ve %1'lik sodyum hidroksit kullanılabilir (Shafiyi 1968, Olechnowitz ve ark 1970, Aftosa 2007).

Virus, süt ve bazı süt ürünlerinde de uzun süre aktivitesini koruyabilmekte kemik iliği ve lenf bezlerinde uzun süre canlı kalabilmektedir (Sütçü 1985, Mann ve ark 1990, Reuckert 1990, Sobrino ve ark 2001).

Şap virusu diğer Picornaviruslar gibi zarsız ve ikosahedral yapıdadır. Yaklaşık 40 nm çapındaki kapsit, 42 kapsomerden oluşmuştur (Danes ve ark 1995). Her enfeksiyöz virus partikülü 8.4 kb uzunluğunda tek iplikçikli pozitif genomik RNA içerir ve virus sitoplazmada çoğalır. Çoğalmada virion RNA' sını mRNA olarak rol oynar (Domingo 2002). Şap virusu hücrelere reseptör-aracılı endositoz mekanizması ile girer (Baxt 1990, Mason ve ark 1994, Fry ve ark 1999, Fry ve ark 2005) ve enfekte ettikleri hücrelerde sitoplazmada replike olur. Olgun virus partikülünde dört adet yapısal proteinin (VP1, VP2, VP3, VP4) her birinin 60 kopyası bir araya gelerek ikosahedral bir yapı (kapsid) oluşturur, bu yapı da genomu çevreler ve korur (Fenner 1987, Acharya ve ark 1989, Rueckert 1990, Crowel ve ark 1994, Fry ve ark 2005). Bütün picornaviruslarda VP1, VP2 ve VP3 kapsidin dış yüzeyinde yer alırken, VP4 iç kısımda yerleşmiştir (Acharya ve ark 1989). Şap virusunun temel yapısal proteinleri *Picornaviridae* familyasının diğer viruslarındaki karşılıklarından daha küçüktür (Jackson ve ark 2003).

Şap virusu genomu, yapısal ve yapısal olmayan proteinlerin oluşturduğu tek bir polipeptit yapısındadır. Bu proteinlerden 4 tanesi şap virusunun kapsitini oluşturan yapısal proteinler, 8 tanesi ise yapısal olmayan proteinlerdir (L, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C ve 3D). Yapısal proteinler VP4, VP2, VP3 ve VP1 olarak adlandırılmış olup, VP1, VP2 ve VP3 proteinleri $2,4 \times 10^3$ Da civarında benzer moleküler ağırlıktayken, VP4 daha küçüktür ve $8,5 \times 10^3$ Da molekül ağırlığındadır (Clavijo 2004, Fry 2005) (Şekil 1.1.ve Şekil 1.2.).

Tek iplikçikli, pozitif polariteli, yaklaşık 8000 nükleotid baz içeren şap virusu RNA'sını tek bir okunabilen baz çatısı (ORF, open reading frame) içerir ve iki ayrı kodlanmayan bölgeye ayrılır. VPg, viral RNA'nın 5' ucunda kodlanmayan bölgesinde yer alır. Diğer bölge ise 400 nt'lik PolyC kısmıdır. Translasyon, internal ribozom giriş bölgesinde bulunan 84 nükleotitten oluşan 2 AUG kodonu ile başlar. Bu bölgede farklı RNA alanları ve hücre proteinlerine bağlanmayı sağlayan fonksiyonel yapılar bulunmaktadır (Sobrinho ve ark 2001).

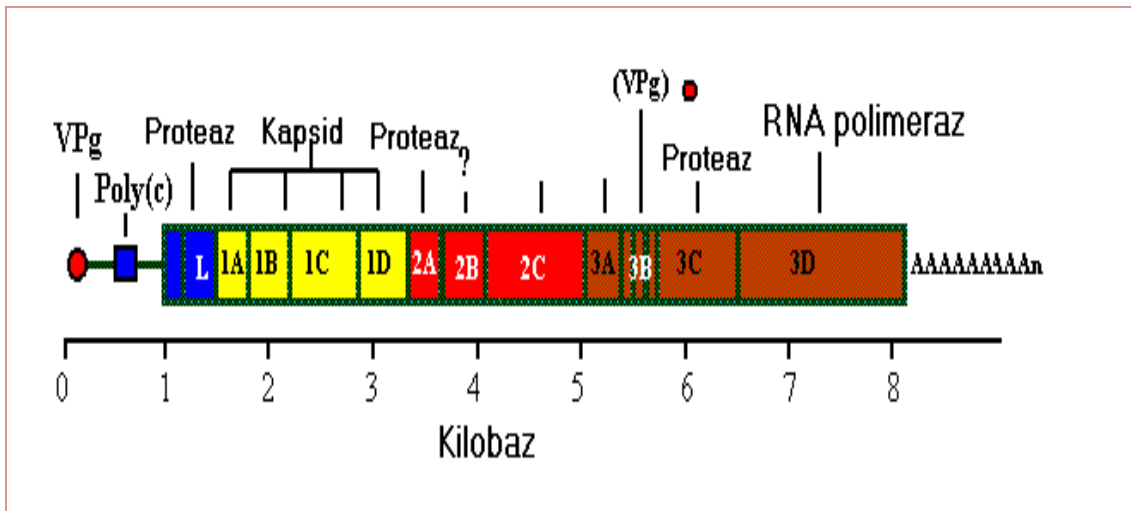
Şap virusunun serolojik testlerle saptanmış olan, antijenik olarak birbirinden farklı 7 serotipi ve bunlarında 65-80 kadar alt tipi vardır. Bunlar, O, A, C, SAT 1-2-3 ve Asia- 1 serotipleridir (Aktaş 1998, Tufan 2006) (Çizelge 1.2.).

Türkiye’de sığırlarda verim düşüklüğü ve ölüm nedeniyle büyük ekonomik kayıplara yol açan, antijenik spektrumu en geniş olan şap virusu tipi O₁ Manisa tipidir (Gürhan 1991).

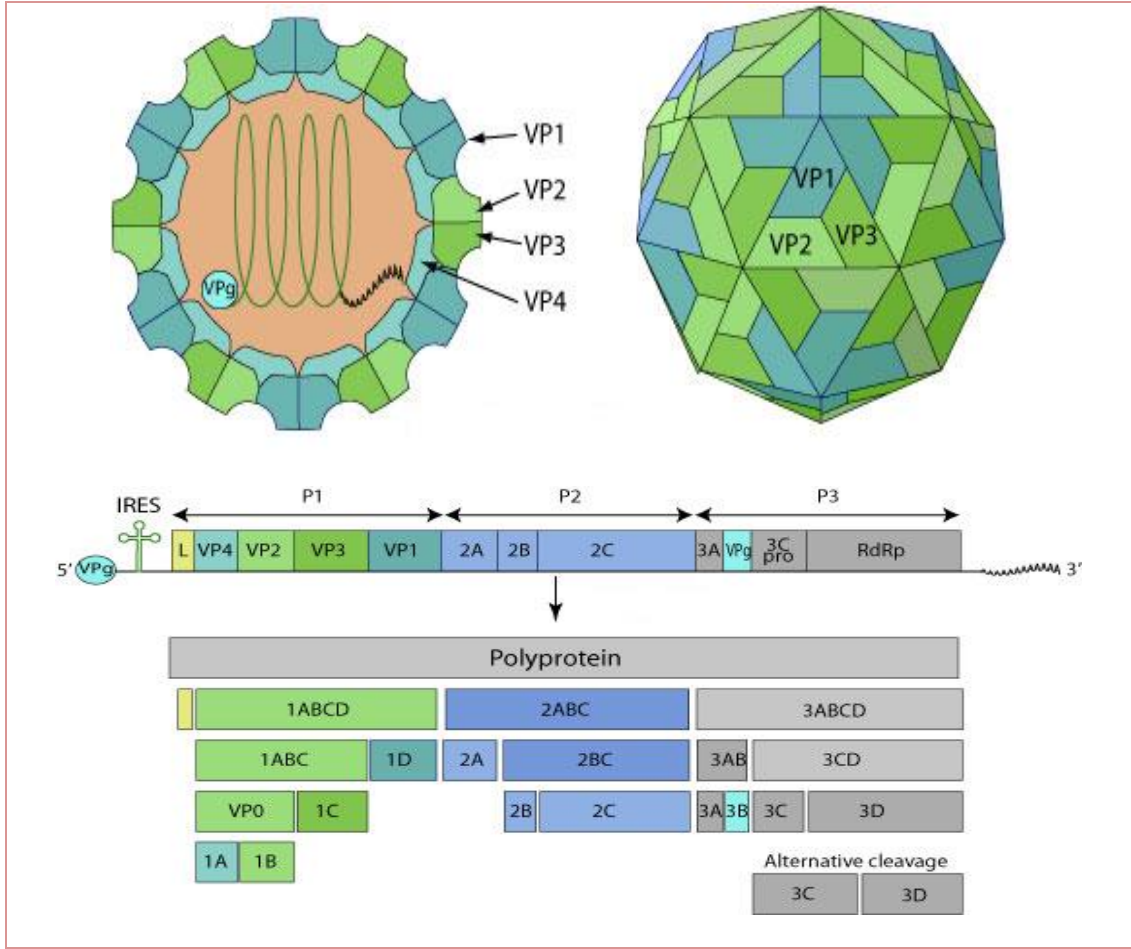
Şap virusu in vivo olarak sığır dilinde, süt emen yavru farelerde, hamsterlerde, kobay ayak tabanlarında ve in vitro olarak dana böbrek, dana tiroid, dana testis, domuz böbrek, kuzu böbrek gibi primer ve BHK 21, IBRS-2, MVPK- 1 HmLu gibi devamlı hücre kültürlerinde üretilmektedir (Swaney 1988, House ve ark 1989, Gürhan 1993). Hastalık ve virus hakkında çok fazla bilgi olmasına rağmen hastalık hala dünyanın büyük bir kısmında etkili olmakta ve en çok yayılan hastalıklardan biri olarak görülmektedir (Sorbino ve ark 2001).

Çizelge 1.1. Şap virusunun dayanıklılık süreleri

pH	Süre	Sıcaklık	süre
2.2	<15 saniye	60°C	5 saniye
4	<15 saniye	56 °C	<30 dakika
6	2 dakika	50°C	1 saat
7	Birkaç hafta	37°C	1 gün
9	Bir hafta	22°C	8-10 hafta
10	14 saat	4°C	4 ay
12.5	<15 saniye	-5°C	1 yıl



Şekil:1.1. Şap virusunun genomu (FAO 2008)



Şekil 1.2.Şap virusunun genomu ve translyasyon ürünleri (İsviçre Biofarmatik Enstitü 2008)

Çizelge1.2. Şap Virusu Serotipleri

Serotip	Bulunduğu Yıl	Bulunduğu Ülke	Bulan Kişiler
0	1922	Fransa	Vallee ve Care
A	1922	Fransa	Vallee ve Care
C	1926	Almanya	Waldman ve Trautwein
SAT 1	1950	Güney Afrika	Brooksby ve Galloway
SAT 2	1951	Güney Afrika	Brooksby ve Galloway
SAT 3	1951	Güney Afrika	Brooksby ve Galloway
ASIA-1	1954	Pakistan	Brooksby ve Galloway

1.2. Epidemiyoloji

Hastalık en çok sığırlarda önemli olmakla beraber koyun, keçi ve domuzlar içinde önemlidir. Bu evcil hayvanların dışında bazı yabani hayvanlarda hastalığa duyarlıdır. Hastalığın doğal epidemiyolojisinde rol oynayanlar içinde sığır, domuz, koyun ve keçi, özellikle Asya ve Güney Amerika'da su bufaloları, Afrika'da Afrika bufaloları, kunduz ve impalalar büyük öneme sahiptirler (Terpstra 1972, Dinter ve Morein 1990, Alexandersen ve Mowat 2005).

Şap hastalığı direkt ve indirekt olarak yayılmaktadır. Hastalığın en belirgin yayılma şekli havada bulunan virusun solunum yolu ile alınmasıyla olmaktadır. Enfekte sığır, koyun ve keçiler inhalasyon yolu ile virus saçarlar. Günlük 10^3 - 10^8 ünite virus saçılır. Klinik belirti gösteren hayvanlar enfeksiyonun ana kaynağı olarak kabul edilir. Bu hayvanlar klinik belirtiler ortaya çıkmadan 4-7 gün önce virus saçmaya başlar ve genellikle enfeksiyonu izleyen iki hafta içerisinde organ ve dokulardan virus temizlenir (Dinter ve Morein 1990, Dekker 1996).

İnkübasyon periyodu, hastalık sırasında dışarı saçılan virus partikül miktarı, virusun hava yolu ile de yayılma özelliği, virusun dışkı ve karkasta canlılığını sürdürebilmesi, taşıyıcılık özelliği ve duyarlı konakçı türünün fazlalığı, hastalığın epidemiyolojisini belirleyen faktörlerdir (Davies 2002).

Hastalığın önemli yayılma yollarından biri hayvan hareketleri, diğer önemli faktör ise kontamine hayvan ürünlerinin naklidir. Veziküllerin oluşmasından önce enfekte hayvanların etrafa virus yaymaları epidemiyolojik yönden önemlidir. Bu süre sığır ve koyunlarda 5, domuzlarda 10 güne kadar uzayabilir. Hastalık ayrıca, enfekte hayvanların dışkıları, araçlar, insanlar ve daha bir çok cansız vektörle yayılabilir. Virusun özellikle deniz üzerinde, rüzgarla 100 km' ye kadar taşınabileceği ileri sürülmüştür (Gürhan 1989). Şap hastalığından etkilenen hayvanlar solunum, deri, sekret ve ekstremleri ile virus saçarlar. Hasta veya inkübasyon periyodundaki hayvanlar dokularında, süt, sperma veya ovumlarında virus bulundururlar. Sperma boğalarda klinik belirti ortaya çıkmadan enfektiftir ve suni tohumlama ile virus yayılabilir (Dinter ve Morein 1990). Süt bezleri önemli bir virus çoğalma odağı olup, klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce sütte virus bulunur (Andersen 1981).

Şap virusu genel olarak enfekte hayvan hareketleri ile, daha az sıklıkta ise kontamine hayvan ürünleri ile yayılır. Duyarlı hayvanlar, şap virusu ile enfekte diğer hayvanlar veya enfekte bir çevre ile aracısız veya aracılı temas sonucunda enfekte olabilirler. Hayvanların şap virusuna temas yolu ile maruz kalmasından sonra subklinik bir enfeksiyon oluşabilir. Enfeksiyondan sonra 4 hafta içerisinde farinkste virus çoğalması gerçekleşir ve virus saçılır. Ancak klinik belirti görülmez (Fondevila ve ark 1996, Alexandersen ve ark 2003).

Taşıyıcı hayvanlarda şap virusu yumuşak damağın dorsalinde stratum germinativumda, farinkste ve tonsillerde persiste kalır, replike olur ve taşıyıcılık süresince devamlı olarak az miktarda saçılır (Kitching 1998). Persistens süresinin virus suşuna ve konakçı özelliğine bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu süre sığırlar için 3 yıl (Kitching 1998), koyunlar için 9 ay (Yadin 1995), Afrika buffaloları için 5 yıldır (Salt 1993).

Salyada virus miktarı 10^9 ID₅₀ /ml den fazla olabilir. Klinik belirtilerin kaybolmasından 10-14 gün sonra salyada virus tespit edilemez (Hyslop 1970). İdrar ve dışkı ile atılan virus miktarı değişken ve düşüktür (Cottral ve Gailunas 1969). Sütte ise virus miktarı log₁₀ 5.5 ID/ml den fazla olabilir (Hyslop 1970). Enfekte bir hayvan günde 10^{14} DKID₅₀ virus saçabilir (Alexandersen ve ark 2003a).

Şap hastalığı mihraklarının yaklaşık %95' inde bulaşma direk temasla olur (Kitching 1995). Birbirlerine çok yakın mesafede bulunan hayvanlar arasında oluşan aerosol bulaşma direkt temasın en önemli yoludur. Şap virusu hayvanların soludukları havada enfeksiyondan beş gün sonrasına kadar bulunabilmektedir. Solunan havada domuzların, sığır ve koyunlara oranla daha fazla virus çıkardıkları tespit edilmiştir (Alexandersen ve ark 2002a, Alexandersen ve Donaldson 2002).

Türkiye'de şap hastalığı mihraklarında yapılan incelemelerde, hastalığın en yaygın bulaşma yolunun direkt bulaşma olduğu bildirilmiştir. Bu bulaşma şeklinde genellikle hayvan hareketleri ve hayvan pazarlarının önemli rolü olduğu düşünülmektedir (Aktaş 1998). Şap hastalığına dirençli köpek ve at gibi hayvanlar hastalığın mekanik olarak taşınmasında rol oynayabilirler (Alexandersen ve Mowat 2005).

1.2.1. Moleküler Epidemiyoloji

Serotip A'nın, Avrupa ve Asya serotipleri içerisinde antijenik olarak en değişken serotip olduğu düşünülmektedir. 70'li yılların başında 32 alt tip bildirilmiştir (Davie 1964, Pereira 1976). Şap viruslarının genetik farklılığını belirlemek amacıyla genetik haritalarının çıkarılmasında antijenik anlamda değişkenlik gösteren genomun VP1 bölgesi kullanılmaktadır (Knowles ve Samuel 2003).

Tosh ve ark (2002) yaptıkları bir çalışmada 1977 ve 2000 yılları arasında Hindistan'dan izole edilmiş 83 A serotipi virus ile daha önceden dizi analizleri yapılmış 37 virus izolatu karşılaştırılmış ve 10 büyük genetik grup (1-10) tanımlanmıştır. Bu 10 genotipten 4 tanesinin halen Hindistan'da dolaşımında olduğu (1, 4, 6 ve 7) ve bu genotiplerden en az ikisinin (6 ve 7) değişik zamanlarda Hindistan'ın değişik eyaletlerinde ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bugüne kadar 500'den fazla A tipi virus izolatının kısmi veya tüm VP1 dizileri karşılaştırılarak birçok genetik grup bildirilmiştir (Aktaş 1998, Marquardt ve Haas 1998, Freiberg ve ark 1999, Marquardt ve Freiberg 2000, Nayak ve ark 2001, Araujo ve ark 2002).

1970 ve 1980'lerde Avrupa'daki birçok mihraktan izole edilen O tipi şap viruslarının, o dönemde kullanılan şap aşısı şuşları ile yakın ilişkili olduklarını göstermişlerdir. Aynı zamanda, aşı virusu ile yakın ilişkili olmayan bazı virus izolatları da tespit edilmiş olup, bu virusların Avrupa dışından geldiği düşünülmüştür. O serotipi şap virusları için A,B,C,D,E,F ve G olarak isimlendirilen 7 farklı genotip bildirilmiştir (Beck ve Strohmaier 1987, Sangare ve ark 2001).

O Serotipi, Dünya Şap Hastalığı Referans Laboratuvarı'nda pozitif klinik örneklerden en yaygın tespit edilen tiptir (Ferris ve Donaldson 1992). O serotipinde antijenik farklılığın az olduğu kabul görmekte ve buna bağlı olarak antijenik farklılıktan daha çok genetik ve coğrafi farklılıklara göre yapılan sınıflandırmalarda O tipinde birçok farklı topotipin varlığından söz edilmektedir (Knowles ve ark 2003, Knowles 2004).

Çeşitli bölgelerden elde edilen genomik bilgiler ile Dünya Şap Virusu Genomu Veri Tabanı oluşturulmuştur (Knowles ve Samuel 2003).

1.3. Patogenez ve Patoloji

Şap virusu öncelikle solunum yolu ile yayılmakta ve hayvanlara respiratorik yoldan girmektedir. Virusun respiratorik bölge duvarından girişi ve primer enfeksiyon oluşumu inhalasyon yolu ile alınan virus miktarına bağlıdır. Yumuşak damağın dorsal yüzü ve nazofarenks birleşme bölgesi, ilk virus girişi ve replikasyonda önemli bölgelerdir (Andersen 1981, Alexandersen ve ark 2001).

Bu yolla virusun giriş ve ilk çoğalma yeri faringeal bölge olup, daha sonra lenfatik sistem ve kan dolaşımı yolu ile virus sindirim sisteminin üst kısmı başta olmak üzere vücudun tüm kısımlarına yayılarak çoğalır (Dinter ve Morein 1990).

Hastalığı atlatan hayvanların kanlarında yüksek düzeyde antikor olmasına rağmen, virus faringeal bölgede barınarak persiste enfeksiyona yol açabilir (Woodbury 1995). Aşılı hayvanlar ile hassas ve hastalığa yakalanmamış hayvanlarda klinik belirti göstermeksizin persiste enfeksiyona maruz kalabilirler (Salt ve Iltott 1996, Kalaycı 1999).

Viral persistens mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte, konakçı içinde defektif virus partiküllerinin üretimini içeren virus değişiminin, ısıya hassas mutantların, rekombinasyon, interferens ve immun sistem hücrelerinin fonksiyon değişikliklerinin, persistent oluşumunda önemli bir rol oynadıkları bildirilmektedir (Salt 1993, Woodbury 1995, Kalaycı 1999).

Deri, makroskopik ve histopatolojik olarak normal görünmesine karşı yüksek miktarda virus içerebilir. İlk histopatolojik değişiklikler boynuzsu tabakalaşmış epitelde balon dejenerasyonu ve hücre içi ödem ile karakterizedir. Sonra nekroz, mononükleer hücre ve granulosit infiltrasyonu başlar. Bu aşamadan sonra lezyonlar gözle görülebilir (Alexandersen ve ark 2003a).

Enfeksiyonun ağır seyrettiği durumlarda, veziküller genişler ve yara şeklini alır. Veziküllerin içi açık renkte seröz sıvı ile doludur. Veziküller genellikle kabuklaşır ve bu kabuklar yaklaşık 24 saat sonra düşer. Kabukların ayrılmasından sonra kırmızı renkte ülserler açığa çıkar. Birkaç gün sonra lezyonlar üzerinde nekrotik epitel parçaları meydana gelir. Özellikle ağız bölgesinde ve dil üzerinde hastalığa özgü granülasyon dokusu oluşur (Alexandersen ve ark 2003a).

Hasta hayvanlarda deride oluşan değişikliklerin yanısıra genç hayvanlarda hastalığın perakut safhasında kalp kasında kaplan derisi manzarasında gri beyaz lekeler görülür (Mann ve Sellers 1990, Aftosa 2007).

Canlı hayvanlarda dil, diş eti, ağız, burun bölgelerinde görülen veziküler lezyonlara ek olarak otopside rumendede vezikül veya ülserler görülebilir. Genç hayvanlarda myokardial dejenerasyon oluşur. Kalp kası iplikçiklerinin dejenerasyonu ve nekrozu sonucu oluşan gri-beyaz lekeler nedeni ile kalp, kaplan derisi görünümünü almaktadır. Benzer lezyonlar iskelet kaslarında görülebilir (Andersen 1981). Pankreas ve diğer glanduler dokularda lezyonlar görülebilir (Woodbury 1995, Mahy 2005).

1.4. Klinik Belirtiler

Şap hastalığı, virusun dozuna, suşuna, giriş yerine ve konakçının bağışıklığına bağlı olarak klinik veya subklinik belirtiler gösterir. Hastalığın inkubasyon süresi virus dozuna bağlı olup (Donaldson 1987, Barnett ve Cox 1999, Hughes ve ark 2002), 2-15 gün arasındadır (Woodbury 1995, Alexandersen 2003, Mahy 2005). Sığırlarda ateş, iştahsızlık, depresyon ve süt veriminde azalma görülür. 24 saat içerisinde salya akışı başlar ve dil, diş etlerinde veziküller şekillenir (Fenner ve ark 1987, Aftosa 2007).

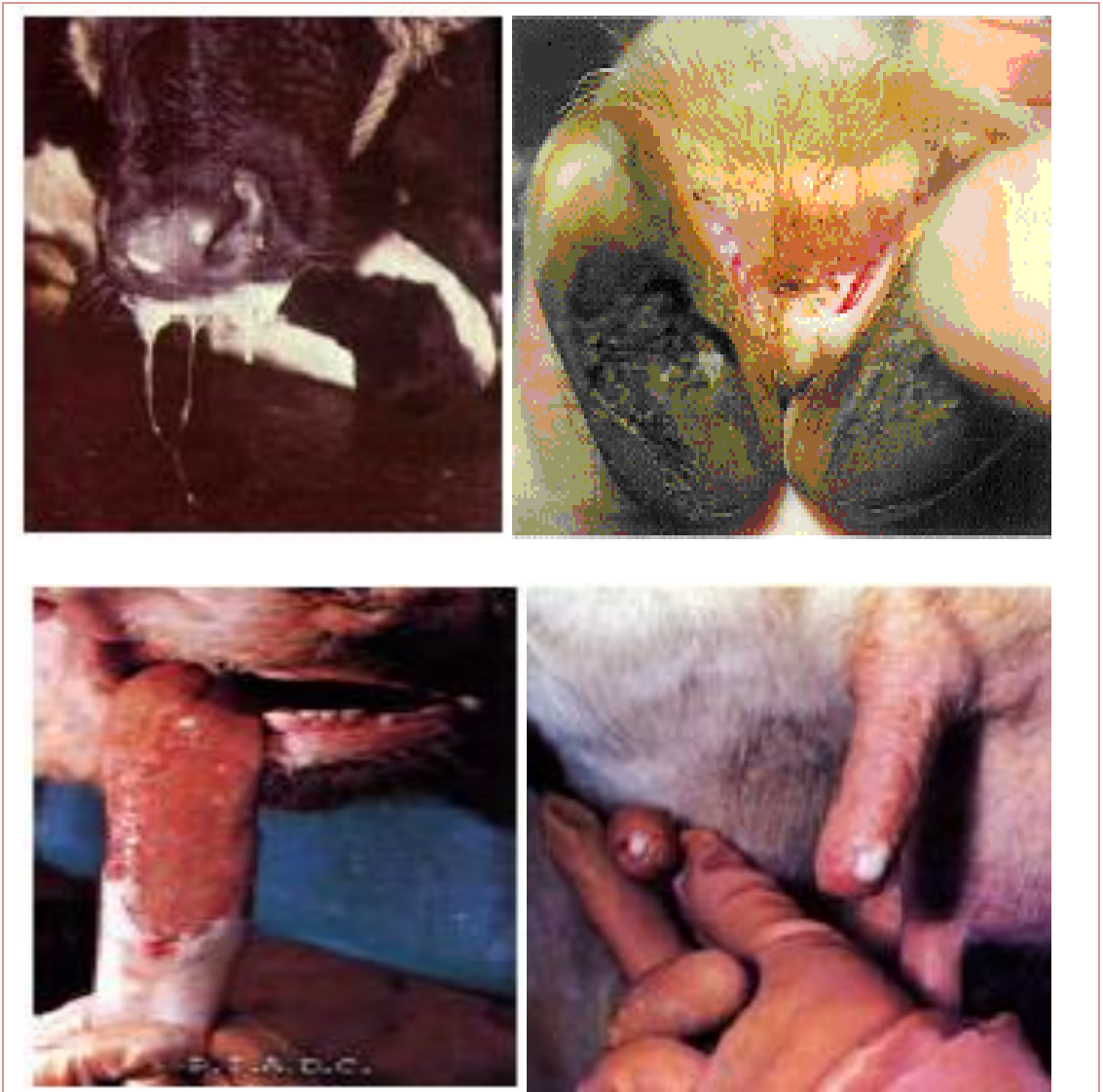
Veziküllerin yırtılmasıyla geniş ülseratif lezyonlar görülür. Dildeki lezyonlar genellikle birkaç günde iyileşir, ancak ayaklardaki ve nazal boşluktaki lezyonlar sıklıkla bakterilerle sekonder enfeksiyona uğrarlar (Fenner ve ark 1987).

Şap hastalığı, hasta hayvanlarda dil ve ağızın müköz zarlarında, ayak çatalı aralığında, burun ve memelerde veziküllerin oluşumu ile karakterize olmaktadır (Sütçü ve ark 1978, Fenner 1987, Alexandersen 2005, Center for Food Security and Public Health 2006) (Resim 1.4.).

Koyun ve keçilerde hastalık sığırlara oranla çok daha hafif seyreder. Hastalık koyunlarda daha çok topallık ile dikkati çeker ve topallık süreklilik gösterir. Topallığa yol açan lezyonlar genellikle arka ayaklarda ön ayaklardan daha erken görülür (Yadin 1995).

Enfekte koyunların %27'sinde vezikül oluşumu gözlenmemektedir (Gibson ve Donaldson 1986). Gebe koyunlarda abort görülebilir. Genellikle koyun ve keçilerde şap hastalığının yol açtığı ekonomik kayıplar sığırlardakinden daha düşüktür ve klinik bulgular ancak dikkatli bir gözlemlerle belirlenebilir, yayılma gözden kaçabilir ve fazla sayıda persiste hayvanla sonuçlanabilir (Yadin 1995).

Persiste enfekte koyunların sekret ve ekstremleri ile saçtıkları enfeksiyöz virus partiküllerinin, sığır ve mandalar için patojenitesinin değişmediği ve şap salgılarının epidemiyolojisinde önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Moonen 2004).



Resim 1.4. Şap Hastalığı Lezyonları: Salya salgısı, Ayak çatal arasında, Dil, Meme uçlarında (Alexandersen 2005).

1.5. Teşhis

OIE tarafından 4 virolojik teşhis metodu tanımlanmıştır. Bu metodlar; virus izolasyonu, antijen ELISA, komplement fikzasyon testi ve nükleik asit tanımlama metodlarıdır (Clercq ve ark 2008). Spesifik antikor yanıtlarının belirlenmesi ile şap hastalığının teşhisinde serolojik metodlarda kullanılmaktadır (Re'mond ve ark 2002).

Subklinik olarak enfekte hayvanların teşhisi, serolojik kontrollerle gerçekleştirilir (Ko ve ark 2009). Koyun ve keçi gibi şap hastalığının klinik belirtilerinin az veya hiç görülmediği hayvan türlerinde ortaya çıkan salgınların araştırılması açısından, serolojik testler oldukça kullanışlıdır (Re'mond ve ark 2002). Şap hastalığının serolojisinde, OIE tarafından tanımlanan, uluslararası testler kullanılmaktadır. Şap virusunun tip tayininin hastalığın teşhisi yanında epizootiolojik olarak ve aşılama açısından da çok büyük önemi vardır. Bu açıdan klinik olarak hastalığın teşhisi yapılsa bile kesinlikle tip tayini için laboratuara numune gönderilmelidir. Ayrıca gelen serumlarda antikor araştırılarak hastalığın teşhisi ve antikor seviye tesbit edilmelidir. Belirlenen antikor düzeyleri ışığında aşılama stratejisi belirlenmelidir (OIE 2004).

Viral enfeksiyonların belirlenmesi için çeşitli teknikler geliştirilmiş olup, bunların bir kısmı ışık mikroskobu ile viral inklüzyonlarının görülmesi veya elektron mikroskobu aracılığı ile direkt olarak viral partiküllerin belirlenmesi temeline dayanmaktadır (Yolken 1985).

Tanı amacı ile hasta hayvanların yırtılmamış veya yeni yırtılmış vezikül sıvısı, epitel dokusu, O/P sıvısı, kan veya sütü, ölen hayvanların ise kalp kası, kan veya diğer organları kullanılabilirse en uygun materyal epitel dokusudur (OIE Manual 1996, OIE 2000).

Şap hastalığının direkt tanısı ve suşların karşılaştırılması amacı ile PCR (Woodbury ve ark 1994), Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Shieh 1997), İn-situ Hibridizasyon (Woodbury ve ark 1995), Nükleotit tanımlama (Marquardt ve ark 1995), izoelektrik odaklanma ve monoklonal antikorlar yardımıyla ELISA (Hamblin ve ark 1985) teknikleri kullanılmaktadır.

Şap hastalığının epidemiyolojisinde önemli role sahip taşıyıcı durumdaki hayvanların saptanmasında materyal olarak hayvanların O/P sıvı örnekleri veya nasal

swaplar kullanılmaktadır (Yadin 1995). Çünkü Woodbury (1995)'nin bildirdiğine göre, koruyucu düzeydeki humoral antikor seviyesi orofarengeal dokudaki virus replikasyonunu sınırlamakta ve virus başka dokularda persiste olmamaktadır.

Şap hastalığı serolojik olarak spesifik antikor yanıtının saptanmasıyla da belirlenebilir. Serumdaki spesifik antikorları belirlemek amacı ile virus nötralizasyon testi (Hamblin ve ark 1986), ELISA (Ferris 1988) ve indirekt immunofloresans testi (Rakhmanov ve ark 1995) kullanılmaktadır.

Taşıyıcı hayvanlar ile taşıyıcı olmayan hayvanların yapısal olmayan proteinlerine karşı antikor yanıtının Enzim likit immünelektrotransfer blot (Bergman ve ark 1993) ve likit faz bloking ELISA (Haas 1994, O'Donnel ve ark 1996) teknikleri ile araştırılmasına dayanılarak taşıyıcı hayvanların belirlenmesi çalışmalarında umut verici sonuçlar alınmakla birlikte; Kitching (1998), düşük düzeyde enfeksiyonun yapısal olmayan proteinlere karşı antikor üretimini uyarmayabileceğini bildirmiştir.

Şap virusunun yapısal olmayan virus proteinlerine karşı oluşan antikorların tespit edilmesini tanımlamak amacıyla NSP ELISA kitleri hazırlanmıştır. Şap virusunun polipeptit zincirinde yapısal ve yapısal olmayan proteinler bulunmaktadır. Bu proteinlerden yapısal olmayanlar; şap aşılarının hazırlanması sırasında, konsantrasyon işlemi yapılırken elimine olmaktadır. Bu nedenle aşı hayvanlara uygulandığı takdirde yapısal olmayan bu proteinlere karşı herhangi bir immun yanıt oluşmamaktadır. Ancak hayvan şap virusu ile hastalandığı durumda, virusun tüm protein komponentlerine karşı antikor oluşacağından, yapısal olmayan proteinlere karşıda organizmada immun yanıt oluşmaktadır. Bu prensipten hareketle yapısal olmayan proteinlere karşı oluşan antikorları tespit eden NSP ELISA; hastalanmış olan hayvanları, aşılanmış olanlardan ayırt etmek için kullanılmaktadır. NSP ELISA kitleri tip spesifik olmadığından test pozitiflik sonucunda sadece hayvanın şap hastalığını geçirmiş olduğu tespit edilmekte olup virusun serotipleri tespit edilememektedir (Dekker 2003).

NSP ELISA'lar, özellikle epidemiyolojik amaçlı araştırmalarda; hastalık geçirmiş hayvanları aşılanmış hayvanlardan ayırt etmede ve sahadaki taşıyıcılık durumunun tespitine yönelik olarak eradikasyon ve kontrol çalışmalarında kullanılmaktadır (Berkman ve ark 2000, Clavijo ve ark 2004, OIE 2004).

Şap virusunun, yapısal olmayan proteinlerinin farklı prokaryotik ve ökaryotik vektörlerde, in vitro olarak ortaya çıkan virus ürünleri, immunolojik testlerle belirlenebilmektedir. Escherichia coli ve Baculovirus vektörü kullanılan insekt hücrelerinde, füzyon proteini olarak bir dizi yapısal olmayan protein üretilmiştir (Re´mond ve ark 2002). NSP antikor testlerinde, şap virusunun farklı 7 serotipinin antijenlerine ihtiyaç duyulmamaktadır. Testler sadece enfeksiyon için spesifiktir (Dekker ve ark 2003, Parida ve ark 2007).

Bergmann ve ark (1993), rekombinant DNA teknikleri ile Escherichia coli'den üretilen pürifiye NSP'leri kullandıkları immunoelektro-transfer blot analizinde, 3D proteini dışındaki diğer NSP'lerle, enfekte ve aşılı hayvan serumlarının ayırt edilebileceğini bildirmişlerdir (Grubman ve Baxt 2004).

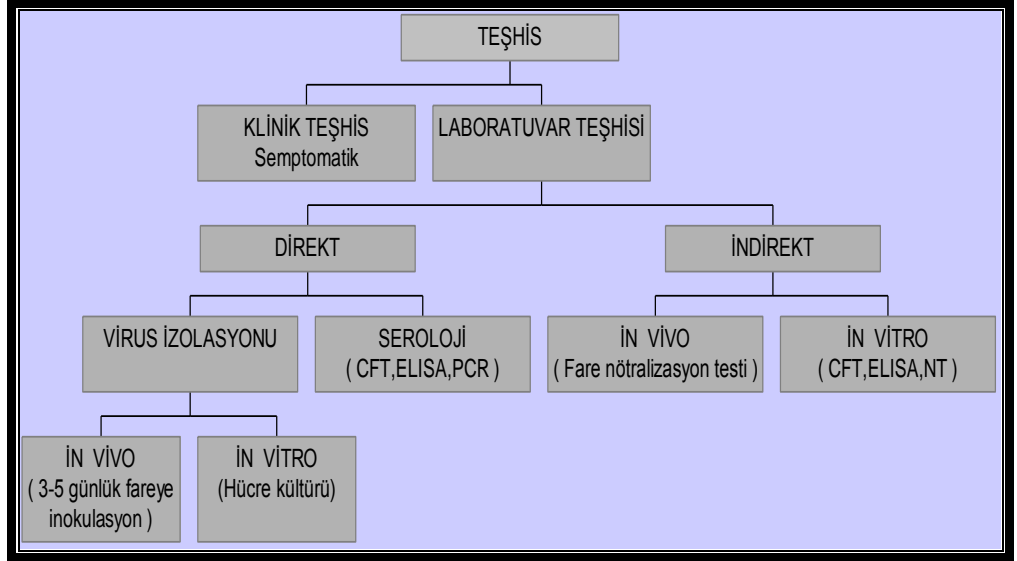
Enfekte ve aşılı hayvanların ayırt edilmesinde, Leader proteaz (L proteini) ve 3ABC protein NSP'leri de yaygın olarak kullanılmaktadır (Re´mond ve ark 2002).

Dünya Referans Laboratuvarı tarafından yıllık yayınlanan verilere göre; İngiltere dışında kalan bölgelerde, pozitif tespit edilen örneklerin % 70-80'i antijen ELISA ile belirlenmektedir (Alexandersen 2003). Son yıllarda yüksek spesifite ve duyarlılığa sahip serotip spesifik PCR teknikleri (Reid ve ark 2000, Reid ve ark 2003) ve duyarlılığı yükseltilmiş Reverse Transkriptaz PCR ELISA tekniği geliştirilmiştir (Alexandersen ve ark 2000).

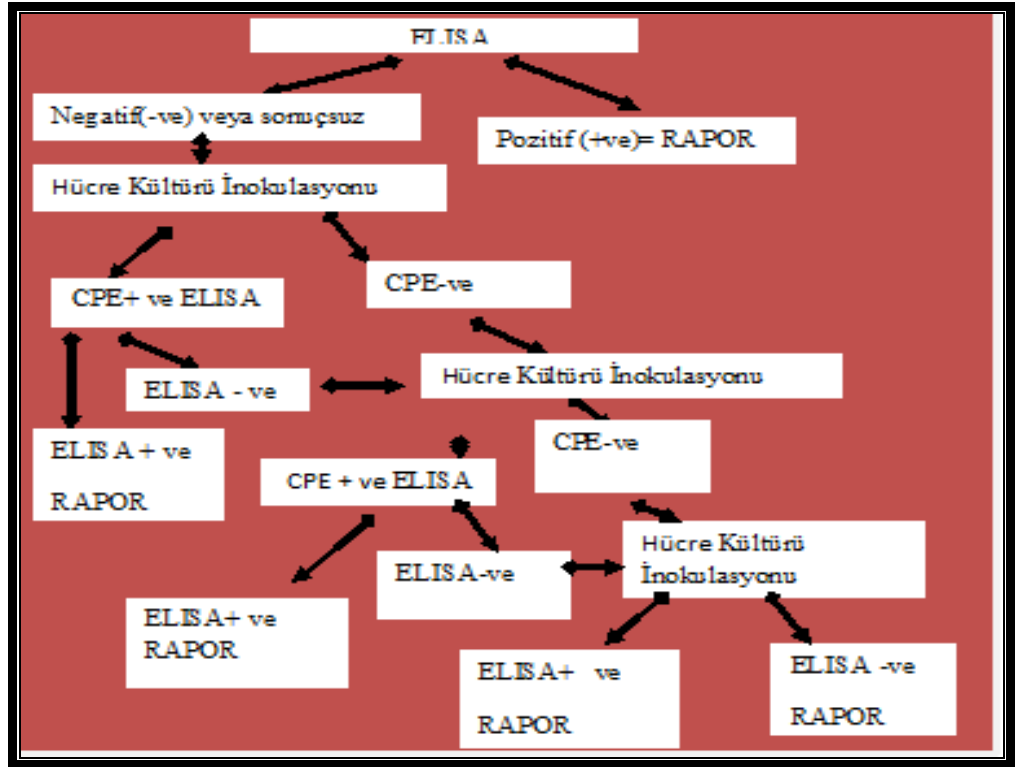
1.5.1. Teşhis İçin Marazi Madde Alınması ve Gönderilmesi

Bütün hastalıklarda olduğu gibi, şap hastalığında da doğru bir teşhis konulabilmesi için prosedüre uygun marazi madde alınması ve gönderilmesi şarttır. Virus tespiti için marazi madde hastalığın klinik belirtilerinin hemen başlangıcında alınmalıdır. Örnekler hastalıktan etkilenmiş sürüyü temsil edecek sayı ve şekilde olmalıdır. Aksi takdirde numune alınan hayvanlarda klinik olarak şap hastalığı seyrettiği halde, laboratuvar sonuçları pozitif sonuç vermeyebilir (Şap Enstitüsü Protokolü 2008) (Şekil 1.3.).

Marazi maddeler direkt ELISA da negatif sonuç verdiği durumlarda, hücre kültürlerinde inokulasyonları yapılarak çoğaltılması gerekir. Bu nedenle bir marazi maddenin raporlamaya kadar test ve inokulasyonla ilgili işlem akışı Şekil 1.4.'de gösterilmiştir (Şap Enstitüsü Protokolü 2008).



Şekil 1.3. Marazi maddeler için teşhis şeması (Şap Enstitüsü Müdürlüğü 2008)



Şekil 1.4. Marazi maddeler için akış şeması (Şap Enstitüsü Müdürlüğü 2008)

1.5.2. Ayırıcı Teşhis

Gerek klinik muayenede gerekse laboratuarda, gönderilen numunedeki şap hastalığı teşhis edilemediği durumlarda şap ile karışan hastalıklar göz önünde bulundurulmalıdır. Mukozal lezyonlar, ayak lezyonları, salivasyon ve burun akıntısı gibi lezyonların görüldüğü vakalarda şap ile karışan hastalıklar göz önüne alınarak

ayırıcı tanı kriterleri gözden geçirilmelidir. Hastalık; Bovine Viral Diyare, sığır vebası, mavi dil, malignant kataral fever ve papuler stomatitis ile meme lezyonları yönündende çiçek ve herpes mamillitisle karışabilir (Dinter ve Morein 1990, Kalaycı 1999, Aftosa 2007).

1.6. Şap Viruslarının Karakterizasyonu

Şap virusu, 7 serotip olarak görüldüğü ve her serotip içinde önemli derecede antijenik farklılık olduğu için, bunların karakterizasyonları ve farklı amaçlar için gruplandırılmaları gerekmektedir. Bir serotip içerisindeki viruslar genetik olarak oldukça farklı olmakla birlikte, antijenik olarak çok yakın ilişkili olabilmektedir (Barnett ve ark 2001) .

Alt tipleri birbirinden ayırt edebilmek için çok çeşitli serolojik ve immünolojik yöntemler kullanılmıştır. Bunlar arasında radyal immünodiffuzyon, komplement fikzasyon, nötralizasyon ve ELISA teknikleri sayılabilir (Blacksell ve ark 1992, Meer Azad ve ark 1995).

Hastalığın endemik olduğu ülkelerde inaktif aşılar ile yapılan aşılama, şap hastalığına karşı bağışıklık oluşmasına yardımcı olur. Aşılama stratejisi, ülkenin daha önceden yapacağı hastalık riskine göre belirlenir. Aşı ve saha suşu arasındaki uyumun sürekli takip edilmesi, aşı hazırlanması için harcanan emek ve maliyetin tutarlı bir biçimde kullanılmasına yardımcı olur. Bu amaçla kullanılan ELISA testi (r_1 ELISA) ve saha suşlarının sekans analizleri, yeni bir suşun saptanmasında önemlidir. Bu nedenle sürekli olarak, bu yöntemler ile şap enfeksiyonlarına yol açan suşların moleküler karakterizasyonlarının belirlenmesi gerekmektedir (Kitching 1988, Sutmoller ve ark 2003, Cottam ve ark 2007, OIE 2010).

ELISA, antijenik karşılaştırmalar için diğer tekniklerin önüne geçmiştir. Saha izolatları ve aşı suşları arasındaki korelasyonun belirlenmesi için ELISA kullanılması önerilmiştir. Sonuç r_1 değeri olarak ifade edilir (Kitching ve ark 1988).

<p style="text-align: center;">Sığır referans serumunun saha izolatına karşı titresi</p> <p>$r_1 =$ _____</p> <p style="text-align: center;">Sığır referans serumunun homolog referans suşa karşı titresi</p>
--

ELISA'nın komplement fikzasyon ve virus nötralizasyon testine karşı suş karakterizasyonu ve aşı seçimindeki üstünlüğü daha önceden bildirilmiştir. ELISA daha duyarlı, daha spesifik, tekrarlanabilir ve aynı zamanda sonuçlar virus nötralizasyon ile alınanlarla doğrudan ilişkilidir. Ayrıca kısa sürede sonuç veren bir yöntem olması nedeniyle önemli avantaja sahiptir (Kitching ve ark 1988, Samuel ve ark 1990). Serolojik testlerin tek başına uygulanması viruslar arasındaki antijenik benzerliği kanıtlamamaktadır. Bu nedenle RNA ve virus proteinlerinde analizi gereklidir. (King ve ark 1983). IEF tekniği ile viral proteinler poliakrilamid jel üzerinde izoelektrik noktalarına göre ayrılabilir (Abu Elzein ve ark 1989).

Şap virusu proteinlerinin PAGE kullanılarak ayrımı, şap virusu antijenik varyantlarının belirlenmesinde uygulanmıştır. Robson ve ark (1979) A serotipine dahil 3 farklı alt tipi incelemişler ve her birinin farklı bir polipeptit düzeni gösterdiğini, bununla birlikte aynı alt tipe ait suşların benzer düzen gösterdiğini bildirmişlerdir.

Antijenik açıdan önemli kapsid proteinlerini, büyüklükleri ve elektrik yüklerine göre jel üzerindeki göçlerini karşılaştıran SDS-Poliakrilamid jel elektroforez tekniğinde; karşılaştırılacak bütün virus izolatlarının aynı jel üzerinde yürütülmesi gerekir ve genom üzerindeki çok küçük bir değişiklik bile, proteinlerin jel üzerindeki göçünde büyük farklılıklar oluşturabilir (Knowles ve Samuel 2003).

Şap virusları için Sanger'in dideoksi metodunu temel alan, direkt RNA dizilim analizi geliştirilmiştir. Bu metot birçok epizootik çalışmada kullanılmıştır. Bu dizilim analizi yöntemi, hücre kültürlerinde izolatların çoğaltılması, ultrasantrifüj ile purifikasyonu, fenol kloroform ile protein kılıfından viral RNA'nın ayrılması işlemlerini kapsar. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun keşfi, hücre kültürlerine virusun adaptasyonu zorluğunu ortadan kaldırarak, çok küçük miktardaki RNA'dan dizilim analizinin yapılabilmesini sağlamıştır (Knowles 1990).

1.7. İmmunoloji

Şap hastalığına karşı 4 şekilde bağışıklık oluşabilir:

1-Tabii bağışıklık: Tek tırnaklılar hastalığa yakalanmazlar, kedi, köpek ve kanatlılar deneysel olarak bile enfekte edilemezler.

2-Spontan olarak kazanılmış bağışıklık: Hastalık geçiren hayvanlar aynı tipe karşı bağışıklık kazanırlar.

3- a-Pasif bağışıklık: Plazma, serum ve hiperimmün serumlarla elde edilir.

b- Aktif bağışıklık: Aşılama ile meydana gelir.

4 -Maternal bağışıklık: Aşılı veya şap hastalığı geçirmiş anneler yavrularına kolostrum vasıtasıyla verdikleri antikorlarla yaklaşık 2 ay kadar süren bağışıklık oluşturabilirler (Sütçü 1985, Şenel ve ark 1989).

Duyarlı sığırlarda şap hastalığında oluşan ilk antikorlar 3–4'üncü günlerde tespit edilmiştir. Bunlar Ig M sınıfı antikorlardır. Enfeksiyondan sonraki 7-10'uncu günlerde Ig G sınıfı antikorlar tespit edilirler, bu antikor titresi 21-28'inci günlerde maksimum düzeye çıkar ve uzun bir süre bu seviyede kalır (Dinter ve Morein 1990, Sobrino ve ark 2001).

Taşıyıcı hayvanlarda salgısal antikor yanıtının daha yüksek düzeyde olduğu ve daha uzun süre devam ettiği kanıtlanmıştır (Salt 1993, Woodbury 1995). Persiste enfekte sığırların sekresyonlarında Ig A'nın baskın olduğu ve virus miktarının azalması ile Ig A titrelerinde düştüğü görülmüştür. Taşıyıcılık periyodunda şap spesifik Ig A salgılanmasına rağmen, virus sürekli faringeal bölgeden salınmaktadır (Salt 1993, Sobrino ve ark 2001).

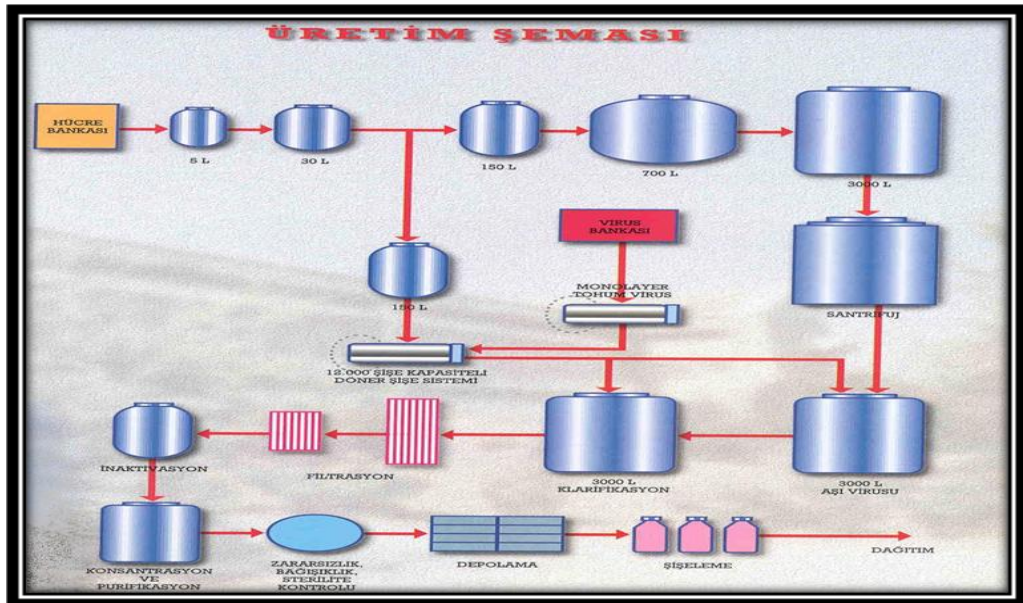
Taşıyıcı hayvanlarda gerçek bir persiste enfeksiyondan sonra, etkisiz immün yanıt ortaya çıktığı belirtilmektedir. Saha sonuçları, bağışıklık düzeyi düşük sürülerde taşıyıcılık oranının daha yüksek olduğunu göstermektedir (Woodbury 1995).

1.8. Kontrol ve Mücadele

Şap hastalığının kontrolünde; enfekte ve taşıyıcı hayvanların kesimi ile şap virusuna duyarlı hayvanların düzenli aşılanmasını kapsayan iki temel strateji vardır (Domingo ve ark 2002). Aşılamanın başarısına birçok faktör etki eder. Aşılama stratejisi, hastalığın kontrol edilmek istenildiği özel bir alandaki virolojik ve epidemiyolojik verilere bağlıdır. İlk inaktif aşı Waldmann ve ark tarafından, 1937' li yıllarda deneysel olarak enfekte edilen sığır dilinden elde edilen veziküler sıvının formaldehit ile inaktive edilmesiyle geliştirilmiştir (Rodriguez ve Grubman 2009).

Günümüzde sıklıkla kullanılmakta olan şap aşuları inaktif komple virustan hazırlanmaktadır. Adjuvan olarak alüminyum hidroksit veya yağ emülsiyonu kullanılmaktadır (Doel 2003) (Şekil 1.5). Aşılamayı takiben oluşan koruyucu bağışıklık, enfeksiyonu takiben oluşandan daha kısa sürelidir. Bu da yılda iki veya daha fazla aşılamayı gerektirir. Aşının hastalığı kontrol yeteneği, üretilen spesifik antikor düzeyi ile orantılıdır. Aşının potensi, aşılama programı, spesifik immun yanıt ve yeniden maruz kalmanın sıklığı ile ilgili olduğu kadar saha ve aşı suşunun antijenik yakınlığı ile de ilişkilidir (Sutmoller ve ark 2003).

Kontrol programlarında kullanılacak ve aşı antijen rezervlerinde saklanacak aşı suşlarının şap virusunun en uygun suşları arasından seçimi, salgınlardan toplanan temsili saha izolatlarının uygun aşı suşları ile eşleştirilmesi temeline dayanır (Rweyemamu ve ark 1978, Rweyemamu 1984, Paton ve ark 2005, Lombard ve Fussel 2007). Uygun aşı suşlarının seçimi, antijenik karakterizasyon ELISA yöntemleri ile yapılmaktadır. Bu testte aşı virusuna karşı üretilmiş serum referans serum olarak kullanılır. Referans serumun aşı virusuna karşı titresinin referans serumun saha virusuna karşı titresine oranı, r_1 değeri olarak ifade edilir. Bu değer 0.4 – 1 arasında ise aşı ve saha suşu arasında yüksek antijenik ilişki, 0.2 – 0.4 arasında ise orta derecede antijenik ilişki olduğu kabul edilir. Bu değer 0.2'nin altında olması ise aşı ve saha virusu arasında antijenik ilişkinin bulunmadığını gösterir (Kitching ve ark 1988).



Şekil 1.5. Şap Aşısı Üretim Şeması (Şap Enstitüsü Müdürlüğü 2008)

1.9. Araştırmanın Amacı

Şap virusunun sahip olduğu özellikler, gerek teşhisi ve gerekse uygun aşuların üretimini ve dolayısıyla hastalıkla mücadeleyi zorlaştıran önemli faktörlerdir. Şap hastalığının kontrolü, ülkenin hastalık kontrol politikaları ve epidemiyolojik durumuna bağlıdır.

Hastalıktan ari ülkelerde kontrol, hastalığın olduğu ülkelerden hayvansal ürünlere yapılan sınırlamalar ile hastalığın ülkeye girişinin önlenmesine yöneliktir. Hastalığın endemik olduğu ülkelerde ise uygun serotipte inaktif aşularla yapılan koruyucu aşulamalar ile sağlık uygulamaları kombine edilerek hastalığın prevalansının düşürülmesine yönelik önlemler alınmaktadır.

Günümüzde salgın hastalıklar ile mücadelede aşılardan çok epidemiyolojik takip ve araştırmaların yapılması ve gerekli olan koruyucu tedbirlerin alınması önem kazanmıştır. Dolayısıyla epidemiyolojik takibi ve araştırmaları destekleyecek hastalığın teşhis olanaklarının araştırılması ve belirlenmesi yönündeki çalışmalarda oldukça önem kazanmaktadır.

Son yıllarda şap hastalığının dünyada hızlı bir yayılım göstermesi ve çok sıkı tedbirler alan ülkelerde bile görülmesi, hastalığın epidemiyolojisinin önemini bir kez daha ortaya çıkarmıştır. Epidemiyolojik çalışmalar hastalığın orijininin belirlenmesi, yayılımının izlenmesi ve gerekli koruyucu tedbirlerin alınma sürecini kısaltmış olacaktır.

Bu çalışma ile İç Anadolu Bölgesi Konya ilinin güneydoğusunu çevreleyen bölgede sığır ve koyunların aşısız, tek aşı, çok aşı, 0-1 ve 1-3 yaş ve erkek, dişi cinsiyet gruplarına göre aşılamaı takiben üçüncü aydan itibaren alınan kan serumlarında, seçilen bölgenin hastalıkla ilgili durumunu ortaya koymak, aktif virus sirkülasyonunu araştırmak; Şap Hastalığının yapısal olmayan proteinlerine karşı oluşan antikorları tespit ederek bölgedeki taşıyıcılık oranını diğer bir deyişle hastalık riskini değerlendirerek, seroprevelansın ortaya çıkarılması ve hayvanların bağışıklık oranı hakkında bilgi edinilmesi amaçlanmıştır.

Böylece, Şap Hastalığının Epidemiyolojisi ve mücadelesinde oluşturulacak eylem planları ve geliştirilecek eradikasyon programlarıyla ilgili politikalar çerçevesinde katkı sağlanabileceği düşünülmektedir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Gereç

2.1.1. Kan Serum Örnekleri

Konya İlinin güneydoğu bölgesinde yer alan aktif virus sirkülasyonunun araştırılması ve şap aşılması sonrası hayvanlarda oluşan bağışıklık oranının tespitine yönelik olarak sığır ve koyunlar, yaş (0-1 yaş, 1-3 yaş) , aşılama sayısı (aşısız, tek aşı, çok aşı) ve cinsiyete göre (dişi, erkek) gruplandırıldı.

Örnekleme ile kan örnekleri hayvanların *V.jugularis*'inden vakumlu kan alma tüplerine her hayvan için ayrı ayrı numaralandırılarak alındı.

Araştırma, Avrupa Birliği Katılım Öncesi Mali Yardım Kırsal Kalkınma Bileşeni (IPARD) ve Optimum İşletme Büyüklüğü ile uyum arz etmesi açısından işletmelerin buldukları hayvan sayıları; minimum 10, maksimum 100 arasında hayvanı olan işletmelerden örnekleme yapıldı.

Bu çerçevede 45 adet sığır işletmesinden 90 adet sığır kan serumu, 50 adet koyun işletmesinden 100 adet koyun kan serumları alındı. Oluşturulan araştırma gruplarının tamamına yakınında hayvan sayıları istatistiki hesaplamalar için ideal iken, aşısız 1-3 yaş aralığında sığır bulmadaki güçlük nedeniyle, çalışma süresince ilgili bölgenin devamlı olarak takibine rağmen ilgili yaş aralığındaki 10 adet aşısız, 1-3 yaş aralığında sığır bulunamadı. Bu nedenle araştırma başlangıcında 100 adet olarak tasarlanırken 90 adet sığır kan serumu alındı (Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2).

Çizelge 2.1. Kan serum örneklerinin dağılımı (Sığır)

İLİ: KONYA						
İlçeler		İşletme sayısı	Numune sayısı	Aşı durumu	Yaş grubu	cinsiyet
EMIRGAZI	Merkez	4	7	Aşısız 1 Tek aşı 1 Çok aşı 5	0-1 yaş:2 1-3 yaş:5	Erkek:3 Dişi:4
	Belkaya	5	6	Aşısız 1 Tek aşı 3 Çok aşı 2	0-1 yaş:4 1-3 yaş:2	Erkek:2 Dişi:4
	Işıklar	3	6	Aşısız 1 Tek aşı 2 Çok aşı 3	0-1 yaş:3 1-3 yaş:3	Erkek:4 Dişi:2
	Kütören	3	6	Aşısız 0 Tek aşı 3 Çok aşı 3	0-1 yaş:3 1-3 yaş:3	Erkek:4 Dişi:2
	Demirci	3	5	Aşısız 0 Tek aşı 4 Çok aşı 1	0-1 yaş:4 1-3 yaş:1	Erkek:2 Dişi:3
EREĞLİ	Merkez	3	6	Aşısız 2 Tek aşı 0 Çok aşı 4	0-1 yaş:2 1-3 yaş:4	Erkek:2 Dişi:4
	Taşagıl	3	5	Aşısız 2 Tek aşı 1 Çok aşı 2	0-1 yaş:3 1-3 yaş:2	Erkek:3 Dişi:2
	Sarıca	2	5	Aşısız 0 Tek aşı 3 Çok aşı 2	0-1 yaş:3 1-3 yaş:2	Erkek:3 Dişi:2
	Sazgeçit	2	6	Aşısız 0 Tek aşı 4 Çok aşı 2	0-1 yaş:4 1-3 yaş:2	Erkek:3 Dişi:3
	Bulgurluk	2	8	Aşısız 0 Tek aşı 4 Çok aşı 4	0-1 yaş:4 1-3 yaş:4	Erkek:4 Dişi:4
KARAPINAR	Merkez	4	7	Aşısız 1 Tek aşı 2 Çok aşı 4	0-1 yaş:3 1-3 yaş:4	Erkek:4 Dişi:3
	Yeşilyurt	4	6	Aşısız 2 Tek aşı 2 Çok aşı 2	0-1 yaş:4 1-3 yaş:2	Erkek:3 Dişi:3
	İslik	3	6	Aşısız 0 Tek aşı 4 Çok aşı 2	0-1 yaş:4 1-3 yaş:2	Erkek:3 Dişi:3
	Ortaoba	2	6	Aşısız 0 Tek aşı 4 Çok aşı 2	0-1 yaş:4 1-3 yaş:2	Erkek:3 Dişi:3
	Sazlıpınar	2	5	Aşısız 0 Tek aşı 3 Çok aşı 2	0-1 yaş:3 1-3 yaş:2	Erkek:2 Dişi:3
TOPLAM		45	90	Aşısız 10 Tek aşı 40 Çok aşı 40	0-1 yaş:50 1-3 yaş:40	Erkek:45 Dişi:45

Çizelge 2.2. Kan serum örneklerinin dağılımı (Koyun)

İLİ: KONYA						
İlçeler		İşletme sayısı	Numune sayısı	Aşı durumu	Yaş grubu	cinsiyet
EMİRGAZI	Merkez	4	8	Aşısız 0 Tek aşı 2 Çok aşı 6	0-1 yaş:3 1-3 yaş:5	Erkek:4 Dişi:4
	Belkaya	4	8	Aşısız 1 Tek aşı 4 Çok aşı 3	0-1 yaş:4 1-3 yaş:4	Erkek:4 Dişi:4
	Işıklar	4	8	Aşısız 0 Tek aşı 4 Çok aşı 4	0-1 yaş:4 1-3 yaş:4	Erkek:4 Dişi:4
	Kütören	4	8	Aşısız 0 Tek aşı 5 Çok aşı 3	0-1 yaş:4 1-3 yaş:4	Erkek:4 Dişi:4
	Demirci	4	8	Aşısız 1 Tek aşı 4 Çok aşı 3	0-1 yaş:4 1-3 yaş:4	Erkek:4 Dişi:4
EREĞLİ	Merkez	2	4	Aşısız 2 Tek aşı 0 Çok aşı 2	0-1 yaş:2 1-3 yaş:2	Erkek:2 Dişi:2
	Taşagıl	2	4	Aşısız 2 Tek aşı 1 Çok aşı 1	0-1 yaş:2 1-3 yaş:2	Erkek:2 Dişi:2
	Sarıca	2	4	Aşısız 0 Tek aşı 2 Çok aşı 2	0-1 yaş:2 1-3 yaş:2	Erkek:2 Dişi:2
	Sazgeçit	2	4	Aşısız 0 Tek aşı 2 Çok aşı 2	0-1 yaş:2 1-3 yaş:2	Erkek:2 Dişi:2
	Bulgurluk	2	4	Aşısız 0 Tek aşı 2 Çok aşı 2	0-1 yaş:2 1-3 yaş:2	Erkek:2 Dişi:2
KARAPINAR	Merkez	4	8	Aşısız 2 Tek aşı 2 Çok aşı 4	0-1 yaş:3 1-3 yaş:5	Erkek:5 Dişi:3
	Yeşilyurt	4	8	Aşısız 4 Tek aşı 2 Çok aşı 2	0-1 yaş:4 1-3 yaş:4	Erkek:5 Dişi:3
	İslik	4	8	Aşısız 2 Tek aşı 4 Çok aşı 2	0-1 yaş:4 1-3 yaş:4	Erkek:4 Dişi:4
	Ortaoba	4	8	Aşısız 3 Tek aşı 3 Çok aşı 2	0-1 yaş:4 1-3 yaş:4	Erkek:3 Dişi:5
	Sazlıpınar	4	8	Aşısız 3 Tek aşı 3 Çok aşı 2	0-1 yaş:6 1-3 yaş:2	Erkek:2 Dişi:6
TOPLAM		50	100	Aşısız 20 Tek aşı 40 Çok aşı 40	0-1 yaş:50 1-3 yaş:50	Erkek:49 Dişi:51

2.1.2. NSP ELISA Kiti

Araştırmada hastalık geçirmiş hayvanları, aşılı hayvanlardan ayırmak amacıyla yapısal olmayan proteinlerin tespiti için hazır elisa kiti (PrioCHECK ® FMDV NS, Prionics Lelystad BV, Hollanda) kullanıldı.

2.1.3. LPBE için Mikropleytlere

İmmunoabsorbant pleyt

LPBE Testinde immunoabsorbant özelliğe sahip düz tabanlı, 96 gözlü mikropleytlere (NUNC immunoplate 1 F96, Maxisorp, Gibco, Life Technologies, Cat.// 4-39454A) kullanıldı.

U Tabanlı taşıyıcı pleyt

LPBE Testinde U tabanlı, 96 gözlü mikropleytlere kullanıldı.

2.1.4. Kimyasallar

Kaplama solüsyonu

Kaplama solüsyonu olarak Karbonat/bikarbonat'ın aşağıda belirtilen formülüne göre hazırlanmış solüsyonu ve alternatif olarak Sodyum Karbonat / Sodyum bikarbonat hazır kapsülü kullanıldı. İçeriği řu şekildedir.

0.05 M karbonat/bikarbonat, pH: 9.6 +/-0.05;

Na₂CO₃ 1.59 g.

NaHCO₃ 2.93 g.

1 L deiyonize/distile suya eklendi.

Phosphate buffered saline (PBS)

1 poşet PBS (Sigma), 1 litre deiyonize suda, PBS 0.01 M ve pH 7.4 olacak şekilde hazırlandı.

ELISA diluenti (Diluent buffer A)

500 ml 0.01 M PBS içine 250 µl %0.05 Tween20 ilave edilip, iyice karıştırılarak hazırlandı.

Bloklama solüsyonu

Şap virusuna karşı spesifik antikor içermeyen tavşan serumundan 100 ml alındı. Üzerine 200 ml Şap virusuna karşı spesifik antikor içermeyen sığır serumu ilave edildi. Hazırlanan karışıma 1 ml Tween 20 ve 40 ml % 2 fenol red eklendi. 0.01 M PBS ile hazırlanan solüsyon 2 000 ml'ye tamamlandı.

Substrat

Hidrojen peroksit tablet (Merck 107201) kullanıldı.

Kromojen

Orthophenilaminediamine (OPD) tabletleri (Sigma P-8412, 30 mg) kullanıldı. Bir OPD tableti 60 ml Sitrat-fosfat buffer içerisinde çözdürüldü.

Durdurma(Stop) solüsyonu

Kromojen reaksiyonunun durdurulması için %98 oranında saf 1.25 M H₂SO₄ kullanıldı.

ELISA pleyt yıkama sıvısı

Bir kısım 0.01 M PBS, 4 kısım distile su içine eklenerek ELISA pleytlerinin yıkanması amacıyla kullanıldı.

2.1.5. Biyolojik Maddeler ve Antiserumlar

Yakalayıcı antikor (Trapping antikor)

Bu serum, Şap virusu 146S antijeninin tavşanlara enjeksiyonu ile elde edilen antiserumdur. ELISA pleytlerinin kaplanmasında kullanıldı. Kullanılan antiserumlar İngiltere Pirbright laboratuvarından temin edildi.

Kontrol antijenleri

Şap virusunun serotip O, A serotipleri (O₁ Manisa, A₂₂ Irak suşları); hücre kültürü orjinli olup, kontrol antijeni olarak kullanıldı. Antijenler Şap Enstitüsü Müdürlüğünden temin edildi.

Kontrol serumları

Bu serumlar, Şap virusu O ve A serotiplerine karşı uygun inhibisyon değerleri

ölçüsünde içerdikleri antikor oranına göre antikor kuvvetli pozitif, antikor zayıf pozitif, antikor negatif olarak kullanıldı. Bu referans serumlar, Pirbright Laboratuvarından temin edildi.

Belirleyici antikor (Detecting antikor)

Bu serum, Şap virusu 146S antijeninin kobaylara enjeksiyonu ile elde edilen antiserumdur. Belirleyici antikor (detecting antikor) olarak kullanıldı. Kullanılan antiserumlar İngiltere Pirbright laboratuvarından temin edildi.

Konjugat

Horseradish peroksidaz enzimine tavşan antikobay antikorları bağlanarak elde edilmiştir. Tıp spesifik değildir ve indikatör olarak kullanılır. Kullanılan konjugat İngiltere Pirbright laboratuvarından temin edildi.

2.2. Yöntem

2.2.1. Kan Serum Örneklerinin Hazırlanması

Serumun kan hücrelerinden arındırılması için, 3000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra her serum örneği 1.8 ml'lik plastik eppendorf tüplerine aktarıldı. Serumlar test yapılincaya kadar -20°C'da muhafaza edildi.

2.2.2. NSP ELISA Testi

Araştırmada yapısal olmayan proteinlerin tespiti amacıyla, Şap hastalığı yönünden şüpheli 90 sığır ve 100 koyun serumu olmak üzere toplam 190 adet kan serum örneği NSP ELISA hazır kiti (PrioCHECK® FMDV NS, Prionics Lelystad BV, Hollanda) kullanma talimatına göre test edildi (Şekil 2.1.).

Bu amaçla; test kitinde hazır olarak bulunan dilüsyon, her pleyt için 5 ml hesap edilip, deiyonize su ile 1/1 oranında sulandırılarak Elisa tamponu hazırlandı. Hazırlanan Elisa tamponuna, 1/10 oranında kitin içinde liyofilize formda olan additive (katkı maddesi) 2.5 ml deiyonize su ile sulandırılarak eklendi.

Kitteki kuvvetli pozitif, zayıf pozitif ve negatif kontrol serumları, antikor kaplı test pleytinin A1, B1 gözlerine negatif; C1, D1 gözlerine zayıf pozitif; E1, F1 gözlerine kuvvetli pozitif serum olmak üzere 20'şer µl eklendi. Pleytin G1 gözünden başlayarak her göze bir test serumu gelecek şekilde 20 µl eklendi. Daha sonra tüm gözlere 80'er µl hazırlanmış elisa tamponundan eklenerek pleytler oda ısısında 16-18 saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyondan sonra pleytler 1/200 oranında deiyonize su ile sulandırılmış yıkama tamponu ile her göze 200-300 µl doldurularak 6 defa yıkandı. Daha önce hazırlanmış Elisa tamponunun içine bu sefer 1/30 oranında kit içinden hazır çıkan konjugat ilave edildi.

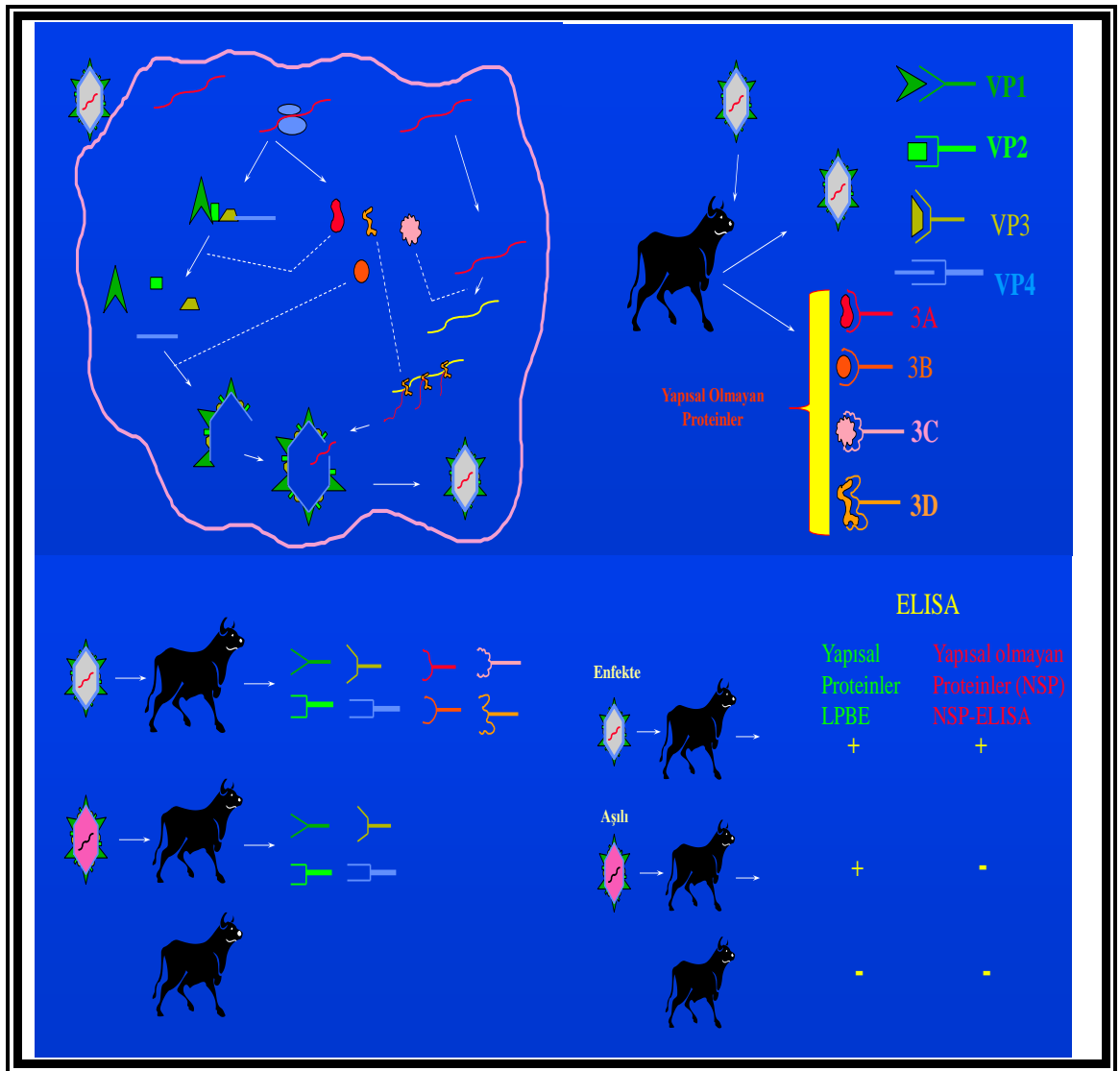
Hazırlanan konjugat 100 µl bütün gözlere ilave edilerek, 1 saat inkübasyonu takiben pleytler yıkanıp tüm gözlere 100 µl kromojen substrat eklendi. 30 dk Karanlık ortamda oda ısısında inkübasyonu takiben, 100 µl durdurma (stop) solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu.

Sonuçlar 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu. Serumların

titrelerinin hesaplanabilmesi için, test sonucunda elde edilen OD değerlerinin % inhibisyon değerleri hesaplandı.

% İnhibisyon değeri hesaplanması için; “ % İnhibisyon Değeri = 100 - (Test Serumları OD / Ortalama OD) x 100 ” formülü kullanıldı.

Ortalama OD değeri ise A1, B1 gözlerindeki negatif serum OD değerlerinin toplanıp ortalaması alınarak hesaplandı. OD değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplandıktan sonra, %50 ve üzeri inhibisyon veren değerler pozitif olarak kabul edildi.



Şekil 2.1. NSP ELISA çalışma dizaynı görünümü (Şap Enstitüsü Müdürlüğü 2008)

2.2.3. Likit Faz Bloking ELISA Testi

Likit Faz Bloking ELISA Testi, OIE'nin kabul ettiği (2009) ve Hamblin ve ark (1986a) tarafından bildirilen yönteme göre gerçekleştirildi.

Test pleytlerinin kaplanması

Test planına göre testin yapılacağı gün için gerekli immunoabsorbant özelliğe sahip mikropleyt sayısı belirlendi. Serumlar O ve A serotipleri için ayrı ayrı kontrol edileceğinden pleyt sayısı her iki serotip için ayrı ayrı hesaplandı. Suya dayanıklı marker kalemlerle pleytlerin sol alt yan köşesine numaraları ve hangi serotipe ait olduğu yazıldı. Test için gerekli olan kaplama solüsyonu hesaplandı. Her bir tip için serotip spesifik olan tavşan antiserumlarının 1/5000 optimal dilusyonu hesaplanarak kaplama solüsyonuna hesaplanan miktarda antiserum ilave edildi. Çok kanallı pipet yardımıyla tavşan antiserumu 50 µl olacak şekilde ilave edildi. Pleytlerin zeri pleyt bandı ile kapatıldı. Pleytler tavşan antiserumlarında bulunan antikorların pleyte absorbe olması için +4°C'da bir gece inkubasyona bırakıldı.

Antijen-Antikor nötralizasyon işlemi

OIE ve şap Enstitüsü Müdürlüğü'nün, Likit Faz Bloking ELISA prosedürüne göre kan serumlarının sulandırma işlemi gerçekleştirildi. şap virusunun yapısal proteinlerine karşı oluşan antikor düzeylerinin belirlenmesi için kan serumlarının 1/16'dan 1/2048 sulandırma basamağına kadar 8 basamaklı log₂ tabanına göre serum sulandırmaları yapıldı. Virus ilavesinden sonra son sulandırma, 1/32 başlangıç sulandırma ile başlayıp, 1/4096 sulandırma basamağına kadar yapıldı. Bu sulandırma işlemi 2 aşamada tamamlandı.

İlk aşamada U tabanlı taşıyıcı pleytlerde serumların 1/8 sulandırması gerçekleştirildi. Bu amaçla tek kanallı pipet ile birinci serumdan 25 µl, pleytin A 1-2 gözlerine konularak, sırasıyla ikinci serum A 3-4; nc serum A 5-6; dördüncü serum A 7-8; beşinci serum A 9-10 olmak üzere; bu işleme, test edilecek serumlar bitinceye kadar devam edildi. Pleytin A/H 11-12 gözleri kontrol serumları için boş bırakıldı. Serumların taşıyıcı pleyte konma işlemi sonrası serumların konulduğu tüm gözlere çok kanallı pipet yardımıyla 175 µl ELISA diluenti ilave edildi. Böylece serumların 1/8 sulandırması yapılmış oldu.

İkinci aşamada ise test edilecek serum örneği sayısı kadar U tabanlı pleyt sayısı hesaplanarak, pleytlerin kontrol gözleri hariç (A/H 11-12) tüm gözlerle (A/H 1-10) 50 µl ELISA diluenti kondu. Çok kanallı pipetle birinci aşamada hazırlanmış olan 1/8'lik test serumu sulandırmasının bulunduğu taşıyıcı pleytin ilk sırasındaki (A 1-10) ilk beş serum sulandırması, O ve A serotipleri için hazırlanmış olan ve gözlerinde 50 µl ELISA diluenti bulunan, U tabanlı ikinci taşıyıcı pleytlerin ilk sırasına (A 1-10) 50 µl aktarıldı. Bu işlem her bir serotip için ayrı ayrı yapıldı.

İlk sıradaki (A 1-10) gözlerde 100 µl 1/16'lık serum sulandırması hazırlandı. İlk sırada en az 8 defa pipetleme yapıldıktan sonra 50µl alındı ve ikinci sıraya (B 1-10) aktarıldı. Her bir defasında bir alt sıraya olmak kaydıyla bu aktarma işlemi 8 sulandırma tekniğinde pleytin H sırasına kadar devam edilerek, serumun 8 basamaklı log₂ tabanına göre sulandırmaları yapılmış oldu. Sulandırma işlemi tamamlandıktan sonra, kontrol gözlerine kontrol serumlarının konulması işlemi yapıldı (Şekil 2.2).

Kontrol serumu olarak şap virusunun, O ve A serotiplerinin Kuvvetli Pozitif, Zayıf Pozitif ve Negatif Serumları kullanıldı. Kontrol serumları, U tabanlı taşıyıcı pleytlerin kontrol gözlerine konulmadan önce ayrı tüplerde tip spesifik olarak ELISA diluenti içerisinde 1/16 sulandırması yapıldı.

Hazırlanan kontrol serum sulandırmalarından pleytteki kontrol gözlerine 50 µl konuldu. Kuvvetli Pozitif serum A/B 11-12; Zayıf Pozitif Serum C/D 11-12 ve Negatif Kontrol serumu ise E/F 11-12 gözlerle konuldu. G/H 11-12 gözleri ise antijen Kontrol gözleri olarak ayrıldı ve sadece her bir göze 50 µl ELISA diluenti konuldu.

Tip spesifik tavşan antiserumlarının 1/5000 optimal sulandırma ile hazırlanan kaplama solüsyonundan pleytin her bir gözüne 50 µl ilave edilerek kaplanan pleytler +4°C'da bir gece inkubasyon sonrası pleytler kontrol edilerek her pleyt PBS ile 3 defa yıkanarak, kurutuldu.

Yıkama kurutma işlemi yapılan pleytlerin tüm gözlerine çok kanallı pipet yardımıyla 50 µl ELISA diluenti konuldu. Her bir virus numunesinden tek kanallı pipetle iki göz olmak kaydıyla 50 µl, A 1-2; A 3-4; A 5-6 şeklinde sırasıyla kondu. Böylece virus numunelerinin 1/2 dilüsyonları yapıldı.

Çok kanallı pipet ile pipetleme yapılarak karıştırma işleminden sonra A sırasındaki 1/2'lik virus sulandırmalarından 50 µl, B sırasındaki 50 µl ELISA

diluenti bulunan gözlere aktarıldı. A sırasından B sırasına aktarma işleminde olduğu gibi pipetleme yapılarak ve her defasında 50 µl virus ve ELISA diluenti karışımı bir alt sıraya aktarılarak bu işleme H sırasına kadar devam edildi.

Sulandırması yapılan test ve kontrol serumlarının içinde bulunan antikorların, antikor-antijen kompleksi oluşturabilmeleri için U tabanlı taşıyıcı pleytlerin kontrol gözleri dahil tüm gözlere ELISA diluenti ile sulandırılmış 50 µl virus ilave edildi. Daha önce 1/16 oranında sulandırılmış olan test ve kontrol serumları üzerine eşit miktarda virus ilave edilerek 1/32 başlangıç sulandırma sağlanmış oldu. Daha sonra U tabanlı taşıyıcı pleytlerin üzeri pleyt bandı ile kapatıldı. +4°C'da shaker ile çalkalanarak bir gece nötralizasyon işlemi için inkubasyona bırakıldı.

Antijen-Antikor kompleksinin aktarılması

Kaplama işlemi için +4°C'da inkubasyona bırakılan düz tabanlı immunoabsorbant ELISA pleytler inkubatörden çıkartılarak pleyt tabanlarında kuruma olup olmadığı kontrol edilerek, ELISA pleyt yıkama cihazında her pleyt PBS ile 3 defa yıkandı. Yıkama esnasında her göze en az 300 µl yıkama sıvısının dolmuş olduğuna dikkat edildi. Yıkanan pleytler gözlerinde solüsyon kalmayacak şekilde kurutuldu.

Bir gece boyunca +4°C'da nötralizasyona bırakılan U tabanlı taşıyıcı pleytler inkubatörden çıkartılarak çok kanallı pipet ile U tabanlı pleytlerde bulunan test serumu-virus karışımından 50 µl içerik, yıkanıp kurutulan ELISA pleytlerinin eşdeğer gözlerine aktarıldı.

Aktarma işlemi sulandırma basamağının tersi istikametinde yani düşük sulandırmalardan yoğununa doğru yapıldı. U tabanlı pleytlerdeki en düşük yoğunluktaki dilüsyon basamağı sırasındaki H 1-10 sırasından, en az 8 defa pipetleme yapıldıktan sonra 50 µl alındı ve ELISA pleytinin aynı sırasına aktarıldı. A 1-10 sırasına kadar bir sonraki basamaktan her defasında pipetlenerek 50µl solüsyon alınarak, eş gözlere aktarıldı.

Test serumlarının aktarılması tamamlandıktan sonra, aynı işlem kontrol serumları içinde yapıldı. U tabanlı pleytlerde bulunan kontrol gözleri içeriğinden 50 µl, ELISA pleytlerinin aynı eşdeğer gözlerine aktarıldı. Tüm pleytler için aktarılma işlemi tamamlandıktan sonra, pleytlerin üzeri pleyt bandı ile kapatılıp, +37° C'da

shakerlı etüvde 1 saat inkubasyona bırakıldı.

Antiserum ilavesi

İnkübasyona bırakılan pleytler etüvden çıkartılarak pleyt tabanlarında kuruma olup olmadığı kontrol edildi. Yıkama cihazında her pleyt, PBS ile 3 defa yıkandı. Hazırlanan 100 ml bloklama solüsyonu içerisinde, kobay antiserumlarının tip spesifik olarak O ve A serotipleri için ayrı ayrı 1/1000 optimal sulandırmaları hazırlandı. Hazırlanan sulandırmadan, pleytlerin her bir gözüne 50 µl ilave edildi. Pleytlerin üzeri pleyt bandı ile kapatılarak, pleytler +37° C'da rutubetli ortamı olan shakerlı etüvde 1 saat inkubasyona bırakıldı.

Konjugat ilavesi

İnkubasyon periyodunun bitiminde yıkama cihazında her pleyt, PBS ile 3 defa yıkandı. Hazırlanan 100 ml bloklama solüsyonunda konjugatın 1/2000 optimal sulandırması yapılarak pleytlerin her bir gözüne 50 µl ilave edildi.

Konjugat tip spesifik olmadığından tüm pleytlere (O ve A serotipleri) aynı konjugat sulandırması ilave edildi. Pleytlerin üzeri pleyt bandı ile kapatılarak, pleytler +37°C'da rutubetli ortamı olan etüvde 1 saat inkubasyona bırakıldı.

Kromojen-substrat ilavesi

İnkubasyon periyodunun bitiminde, yıkama cihazında, her pleyt PBS ile 3 defa yıkandı. 100 ml OPD hazırlandı. OPD'yi aktive etmek için 1/2000 optimal sulandırma oranında H₂O₂, OPD'ye ilave edildi. H₂O₂ ilave edilir edilmez pleytlerin tüm gözlerine 50 µl OPD ilave edilerek pleytlerin üzeri pleyt bandı ile kapatılıp, karanlık bir ortamda 15 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrası reaksiyonun durdurulması için 1.25 M H₂SO₄ durdurma solüsyonu olarak tüm gözlere 50 µl ilave edildi. Pleytler, spektrofotometrede okunmadan önce gözle değerlendirildi. Kontrol ve test serumu gözlerinde beklenen renk oluşumu takip edildi. Beklenmeyen renk oluşumu veya tamamen renksizlik olup olmadığı kontrol edildi. Softmax Pro-312ex programı kullanılarak spektrofotometre ile 492 nm dalga boyunda absorbans kriterlerine uygun olarak okundu ve okuma işlemi sonucunda OD belirlendi.

Testin değerlendirilmesi

Serumların titrelerinin hesaplanabilmesi için, test sonucunda elde edilen OD değerlerinin % inhibisyon değerleri hesaplandı. % İnhibisyon değeri hesaplanması için;

“ % İnhibisyon Değeri = 100 - (Test Serumları OD / Ortalama Antijen Kontrol OD) x 100 ” formülü kullanıldı.

Ortalama antijen kontrol OD değeri ise antijen kontrol gözlerindeki (G/H 11-12) OD değerlerinin toplanarak ortalaması alındı.

OD değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplandıktan sonra, serum titreleri belirlendi. %50 ve üzeri inhibisyon veren değerler pozitif olarak kabul edildi (Çizelge 2.3.).

Ortalama Antijen Kontrol OD değerleri iki şekilde hesaplandı :

- a. Antijen kontrol gözlerindeki (G/H 11-12, Gri bölge) dört gözdeki OD değerleri toplanarak ortalaması alındı.
- b. Antijen kontrol gözlerindeki (G/H 11-12, Gri bölge) dört gözdeki en yüksek ve en düşük değer atıldı. Diğer iki OD toplamının ortalaması alındı. Çizelge 2.4.'de verilen tablodaki en sol üst bölmedeki 1.629 değeri hesaplanmış antijen kontrol OD değerleri ortalamasıdır.

OD değerlerinden %İnhibisyon değerleri hesaplandıktan sonra, serum titreleri belirlendi ve %50 ve üzeri inhibisyon veren değerler pozitif olarak kabul edildi. Aynı seruma ait gözlerden sadece birinde 50 ve üzeri % inhibisyon veren son sulandırma basamağı en son sulandırma basamağı olarak kabul edildi.

Aynı seruma ait her iki gözde 50 ve üzeri inhibisyon değeri veren durumda ise, en son 50 ve üzeri sulandırma basamağı ile her iki gözün negatif olduğu ilk basamağın ara değeri serumun endpoint titresi olarak hesaplandı. % İnhibisyon değerlerinin hesaplanmış şekliyle 8 basamaklı sulandırma tekniği kullanılarak yapılmış ELISA test değerleri Çizelge 2.4.'de verilmiştir (şap Enstitüsü Müdürlüğü Protokolü).

Mikroplent şeması (8 li sulandırma)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	ÖRNEK 1		ÖRNEK 2		ÖRNEK 3		ÖRNEK 4		ÖRNEK 5		Kuvvetli (++) serum	
B	ÖRNEK 1		ÖRNEK 2		ÖRNEK 3		ÖRNEK 4		ÖRNEK 5		Zayıf (+) serum	
C	ÖRNEK 1		ÖRNEK 2		ÖRNEK 3		ÖRNEK 4		ÖRNEK 5		Negatif kontrol serum	
D	ÖRNEK 1		ÖRNEK 2		ÖRNEK 3		ÖRNEK 4		ÖRNEK 5		Antijen Kontrol	
E	ÖRNEK 1		ÖRNEK 2		ÖRNEK 3		ÖRNEK 4		ÖRNEK 5			
F	ÖRNEK 1		ÖRNEK 2		ÖRNEK 3		ÖRNEK 4		ÖRNEK 5			
G	ÖRNEK 1		ÖRNEK 2		ÖRNEK 3		ÖRNEK 4		ÖRNEK 5			
H	ÖRNEK 1		ÖRNEK 2		ÖRNEK 3		ÖRNEK 4		ÖRNEK 5			

Şekil 2.2. Serum örneklerinin 8 dilüsyon sulandırılması (Şap Enstitüsü Müdürlüğü)

Çizelge 2.3. Örnek ELISA verileri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,1922	0,1806	0,1181	0,0926	0,1412	0,1228	0,1641	0,1703	0,5258	0,5674	0,134	0,1469
B	0,2708	0,3945	0,2247	0,0919	0,1003	0,1226	0,5277	0,6287	0,9899	0,9047	0,1563	0,1459
C	0,7943	0,8372	0,0995	0,1081	0,1135	0,1041	1,0612	1,12	1,2477	1,3522	0,2151	0,2388
D	1,2733	1,1503	0,123	0,1151	0,127	0,1359	1,4611	1,5391	1,6418	1,7767	0,2402	0,2695
E	1,4583	1,391	0,3826	0,4083	0,4126	0,4822	1,6829	1,7711	1,7195	1,8521	1,6716	1,7418
F	1,5471	1,5622	1,024	1,0088	1,1695	1,278	1,5906	1,8695	1,8019	1,9716	1,6932	1,8929
G	1,7305	1,8593	1,5527	1,4644	1,5571	1,5242	1,7841	1,813	1,8202	2,1279	1,7153	1,7132
H	1,7123	1,9055	1,6752	1,6613	1,7269	1,776	2,0902	1,9148	1,8892	1,5522	1,5154	1,5726

- Kırmızı Renkli A-B, 11-12: Kuvvetli pozitif Kontrol Serum
- Mavi Renkli C-D 11-12 : Zayıf pozitif Kontrol serumu
- Sarı Renkli E-F 11-12 : Negatif Serum
- Gri Renkli G-H 11-12 : Antijen kontrol gözlemlerini ifade eder.

Çizelge 2.4. Serumların OD değerlerinin, % inhibisyon değerleri

1,629	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	88	89	93	94	91	92	90	90	68	65	92	91
	83	76	86	94	94	92	68	61	39	44	90	91
	51	49	94	93	93	94	35	31	23	17	87	85
	22	29	92	93	92	92	10	6	-1	-9	85	83
	10	15	77	75	75	70	-3	-9	-6	-14	-3	-7
	5	4	37	38	28	22	2	-15	-11	-21	-4	-16
	-6	-14	5	10	4	6	-10	-11	-12	-31	-5	-5
	-5	-17	-3	-2	-6	-9	-28	-18	-16	5	7	3

3. BULGULAR

3.1. NSP ELISA Testi Sonuçları

Konya ili güneydoğu bölgesinde 45 adet işletmeden alınan 90 adet sığır kan serumundan Emirgazi ve Karapınar ilçe ve köylerine ait 12'sinin pozitif olduğu tespit edildi.

12 adet pozitif sonucun 6 (%6.6)'sı çok aşılı, 1 (%1.1)'i aşısız, 5 (%5.5)'i tek aşılı, 11 (%12.2)'i dişi, 1 (%1.1)'i erkek, 6 (%6.6)'sı 0-1 yaş, 6 (%6.6)'sı 1-3 yaş aralığında olduğu belirlendi. 50 adet koyun işletmesinden elde edilen toplam 100 adet koyun kan serumunun Emirgazi ilçesinde 1 adedi pozitif olarak tespit edildi. 1 (%1) adet pozitif sonucun aşısız dişi 0-1 yaş aralığında olduğu belirlendi. Pozitif sonuçların orijinine bakıldığında çoğunluğunun Emirgazi ilçesine ait olduğu görüldü (Çizelge 3.1.).

Bu sonuçlara göre toplam serum içinde NSP pozitif hayvanların yüzdesi, sığırlarda %13.3 koyunlarda %1 olarak tespit edildi.

Yapılan NSP ELISA test sonrası NSP pozitif olan işletmelere gidilerek, pozitif sonuçların nedeni ve hastalık riski varlığının araştırılması amacıyla saha araştırması gerçekleştirildi. Bölgedeki veteriner hekimler ve hayvan sahipleri ile görüşmelerde bulunularak pozitif işletmeler incelendi.

Çizelge 3.1. NSP ELISA pozitif numunelerin dağılımı

NSP ELISA pozitif sonuçları dağılımı							
İlçe adı		Aşı durumu	yaş	cinsiyet	Pozitif işletme sayısı	Pozitif numune sayısı	
Emirgazi	Merkez	çok aşılı	1-3 yaş	Dişi	1	4	SİĞİR
		çok aşılı	1-3 yaş	Dişi			
		çok aşılı	1-3 yaş	Dişi			
		çok aşılı	1-3 yaş	Dişi			
	Belkaya	aşısız	0-1 yaş	Dişi	1	4	
		tek aşılı	0-1 yaş	Dişi			
		tek aşılı	0-1 yaş	Dişi			
Karapınar	Merkez	tek aşılı	0-1 yaş	Erkek	1	4	
		tek aşılı	0-1 yaş	Dişi			
		çok aşılı	1-3 yaş	Dişi			
		çok aşılı	1-3 yaş	Dişi			
TOPLAM					3	12	
Emirgazi	Belkaya	aşısız	0-1 yaş	Dişi	1	1	KOYUN
TOPLAM					1	1	

3.2. Likit Faz Bloking ELISA Testi Sonuçları

Kan serumlarında şap virusunun; O ve A serotiplerine karşı gelişen antikor miktarları, LPBE yöntemi ile test edildi. Test sonucunda; pozitiflik \log_2 tabanında 5.49, koruyuculuk \log_2 tabanında 6.58 olarak değerlendirildi.

Verilerin analizinde yüzde frekans tabloları oluşturulmuş ve istatistiksel karşılaştırmalarda pearson ki kare istatistiği ve Fisherın Excat test kullanılarak test sonuçlarının anlamlılık (p değeri) düzeyi yorumlandı. Araştırmada anlamlılık düzeyi $p<0.001$ olarak ele alındı.

Bölgedeki 45 adet işletmeden elde edilen toplam 90 adet sığır kan serumunun LPBE ile incelenmesi sonucu şap hastalığına karşı 18 kan serumunun şap virusu O ve A serotiplerine karşı negatif, 6 kan serumunun serotip A yönünden, 4 kan serumunun serotip O yönünden 62 kan serumunun ise hem serotip O hem de serotip A yönünden pozitif olduğu tespit edildi. 59 adet kan serumunun, 4'ünün serotip O, 6'sının serotip A, 49'unun ise serotip O ve A yönünden koruyuculuk antikor titresine sahip olduğu belirlendi. Genel bağışıklık oranı O serotipi için %58.8, A serotipi için %61.1 bulundu (Grafik 3.3 ve Grafik.3.4).

Bölgede 50 adet işletmeden elde edilen toplam 100 adet koyun kan serumunun LPBE ile incelenmesi sonucu şap hastalığına karşı yapılan aşılardan sonra 28 kan serumunun şap virusu O ve A serotiplerine karşı negatif, 3 kan serumunun serotip A yönünden, 1 kan serumunun serotip O yönünden 68 kan serumunun ise hem serotip O hem de serotip A yönünden pozitif olduğu tespit edildi. 56 adet kan serumunun, 1'inin serotip O, 5'inin serotip A, 50'sinin ise serotip O ve A yönünden koruyuculuk antikor titresine sahip olduğu belirlendi. Genel bağışıklık oranı O serotipi için %51, A serotipi için %55 bulundu (Grafik 3.3 ve Grafik 3.5).

Araştırmada kullanılan hayvanlar yaş gruplarına göre 0-1 ve 1-3 yaş olarak gruplandırıldı. Her gruptaki hayvanlardan elde edilen serumlar; şap virusunun O ve A serotiplerine karşı sahip oldukları antikor miktarlarındaki değişimi belirlemek için LPBE yöntemi ile incelendi.

LPBE testinde; 0-1 yaş aralığındaki sığırlardan elde edilen toplam 50 serumun; 23 (%46)'ü, O serotipine karşı sahip olduğu antikor titresini bakımından koruyuculuk tespit edilirken; A serotipine karşı 50 serumun 23 (%46)'ü koruyucu

değerde antikor miktarına sahip olduğu belirlendi. 1-3 yaş aralığındaki sığırlardan elde edilen toplam 40 serumun; 32 (%80)'si, O serotipine karşı sahip olduğu antikor titresini bakımından koruyuculuk tespit edilirken; A serotipine karşı 40 serumun 34 (%85)'ü koruyucu değerinde antikor miktarına sahip olduğu belirlendi. Sığırların yaş gruplarına göre LPBE testi ile, antikor titre değeri O ve A serotipi "koruyucu" sonuçları arasında anlamlı bir fark bulundu ($p<0.001$) (Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3).

Sığırlarda yaş gruplarına göre koruyucu bağışıklık oranı (OD 96 ve üzeri) O serotipi için 0-1 yaş aralığında %46 ve 1-3 yaş aralığında %80, A serotipi için 0-1 yaş aralığında %46 ve 1-3 yaş aralığında %85 tespit edildi (Grafik 3.6).

LPBE testinde; 0-1 yaş aralığındaki koyunlardan elde edilen toplam 50 serumun; 13 (%26)'ü, O serotipine karşı sahip olduğu antikor titresini bakımından koruyucu tespit edilirken; A serotipine karşı 50 serumun 14 (%28)'ü koruyucu değerinde antikor miktarına sahip olduğu belirlendi. 1-3 yaş aralığındaki koyunlardan elde edilen toplam 50 serumun; 38 (%76)'i, O serotipine karşı sahip olduğu antikor titresini bakımından koruyucu tespit edilirken; A serotipine karşı 50 serumun 41 (%82)'i koruyucu değerinde antikor miktarına sahip olduğu belirlendi. Koyunların yaş gruplarına göre LPBE testi ile antikor titre değeri O ve A serotipi "koruyucu" sonuçları arasında anlamlı bir fark bulundu ($p<0.001$) (Çizelge 3.4. ve Çizelge 3.5.).

Koyunlarda yaş gruplarına göre koruyucu bağışıklık oranı (OD 96 ve üzeri) O serotipi için 0-1 yaş aralığında %26 ve 1-3 yaş aralığında %76, A serotipi için 0-1 yaş aralığında %28 ve 1-3 yaş aralığında %82 olarak tespit edildi (Grafik 3.7).

LPBE yöntemiyle O serotipine karşı incelenen 46 adet erkek sığır serumunun 21 (%45.6)'i, 44 adet dişi sığır serumunun 34 (%77.2)'ünde koruyucu olarak titre elde edildi. Bununla birlikte A serotipine karşı incelenen 46 adet erkek sığır serumunun 22 (%47.8)'si, 44 adet dişi sığır serumunun ise 35 (%79.5)'inde koruyucu olarak titre elde edildi. Sığırların cinsiyetlerine göre LPBE testi ile antikor titre değeri O ve A serotipi "koruyucu" sonuçları arasında anlamlı bir fark bulundu ($p<0.001$) (Çizelge 3.6 ve Çizelge 3.7).

Sığırlarda cinsiyet durumlarına göre koruyucu bağışıklık oranı (OD 96 ve üzeri) O serotipi için dişi hayvanlarda %77.2 ve erkek hayvanlarda %45.6, A serotipi için dişi hayvanlarda %79.5 ve erkek hayvanlarda %47.8 olarak tespit edildi (Grafik

3.1 ve Grafik 3.8).

LPBE yöntemiyle O serotipine karşı incelenen 50 adet erkek koyun serumunun 21 (%42)'i, 50 adet dişi koyun serumunun 30 (%60)'unda koruyucu olarak titre elde edildi. Bununla birlikte A serotipine karşı incelenen 50 adet erkek koyun serumunun 24 (%48)'ü, 50 adet dişi koyun serumunun ise 31 (%62)'inde koruyucu olarak titre elde edildi. Koyunların cinsiyetlerine göre LPBE testi ile antikor titre değeri O ve A serotipi "koruyucu" sonuçları arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.001$) (Çizelge 3.8 ve Çizelge 3.9).

Koyunlarda cinsiyet durumlarına göre koruyucu bağışıklık oranı (OD 96 ve üzeri) O serotipi için dişi koyunlarda %60 ve erkek koyunlarda %42, A serotipi için dişi koyunlarda %62 ve erkek koyunlarda %48 olarak tespit edildi (Grafik 3.2 ve Grafik 3.9).

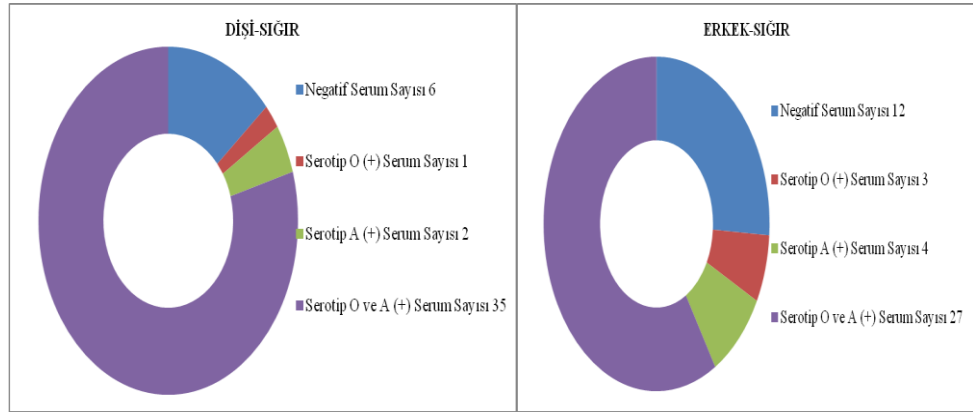
LPBE yöntemi ile şap virusunun O ve A serotiplerine karşı oluşan antikor miktarının aşılama sayısına bağlı değişimi incelendi. O serotipine karşı incelenen 10 adet aşısız sığır serumunun 1 (%10)'i, 40 adet tek aşı sığır serumunun 22 (%55)'si, 40 adet çok aşı sığır serumunun 32 (%80)'sinde koruyucu olarak titre elde edildi. Bununla birlikte A serotipine karşı incelenen 10 adet aşısız sığır serumunun 1 (%10)'i, 40 adet tek aşı sığır serumunun 22 (%55)'si, 40 adet çok aşı sığır serumunun 34 (%85)'ünde koruyucu titre elde edildi. Sığırların aşı durumlarına göre LPBE testi ile, antikor titre değeri hem O hemde A serotipi "koruyucu" sonuçları arasında anlamlı bir fark bulundu ($p<0.001$) (Çizelge 3.10 ve Çizelge 3.11).

Aşı durumlarına göre koruyucu bağışıklık oranı (OD 96 ve üzeri) ise O serotipi için aşısız sığırlarda %10, tek aşı sığırlarda %55 ve çok aşı sığırlarda %80, A serotipi için aşısız sığırlarda %10, tek aşı sığırlarda %55 ve çok aşı sığırlarda %85 olarak tespit edildi (Grafik 3.10).

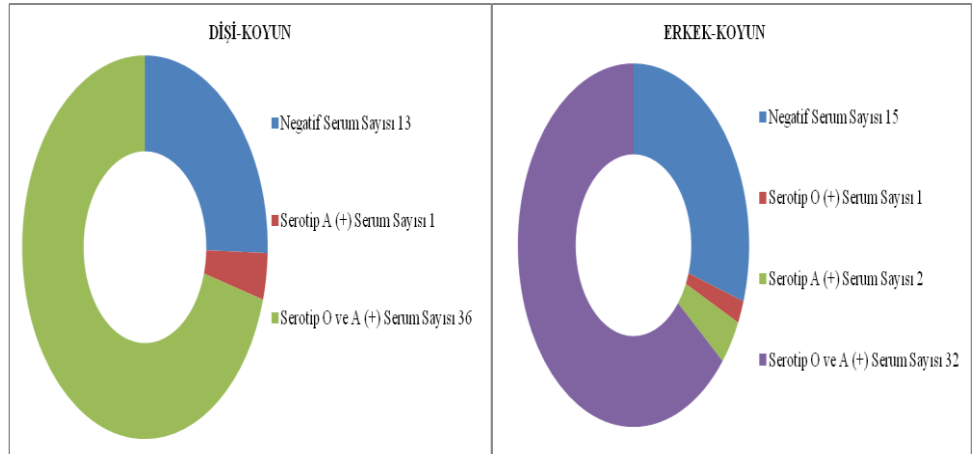
LPBE yöntemi ile O serotipine karşı incelenen 20 adet aşısız koyun serumunun 1 (%5)'i, 40 adet tek aşı koyun serumunun 18 (%45)'si, 40 adet çok aşı koyun serumunun 32 (%80)'sinde koruyucu olarak titre elde edildi. A serotipine karşı incelenen 20 adet aşısız koyun serumunun 1 (%5)'i, 40 adet tek aşı koyun serumunun 20 (%50)'si, 40 adet çok aşı koyun serumunun 34 (%85)'ünde koruyucu titre elde edildi. Koyunların aşı durumlarına göre LPBE testi ile antikor

titre değeri O ve A serotipi “koruyucu” sonuçları arasında anlamlı bir fark bulundu ($p<0.001$) (Çizelge 3.12 ve Çizelge 3.13) .

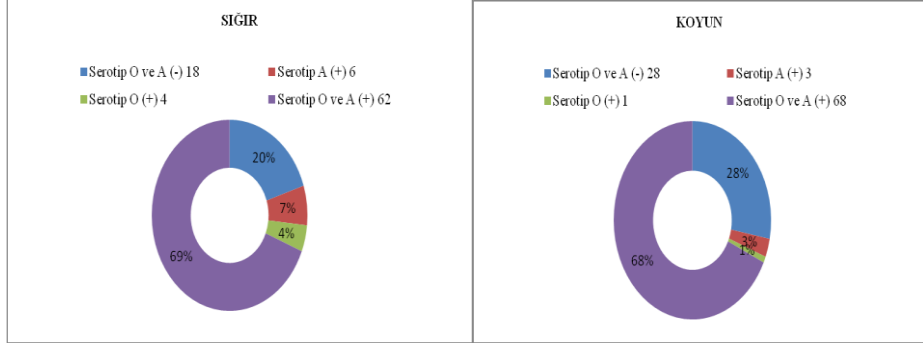
Aşı durumlarına göre koruyucu bağışıklık oranı (OD 96 ve üzeri) ise O serotipi için aşısız koyunlarda %5, tek aşıli koyunlarda %45 ve çok aşıli koyunlarda %80, A serotipi için aşısız koyunlarda %5, tek aşıli koyunlarda %50 ve çok aşıli koyunlarda %85 olarak tespit edildi (Grafik 3.11).



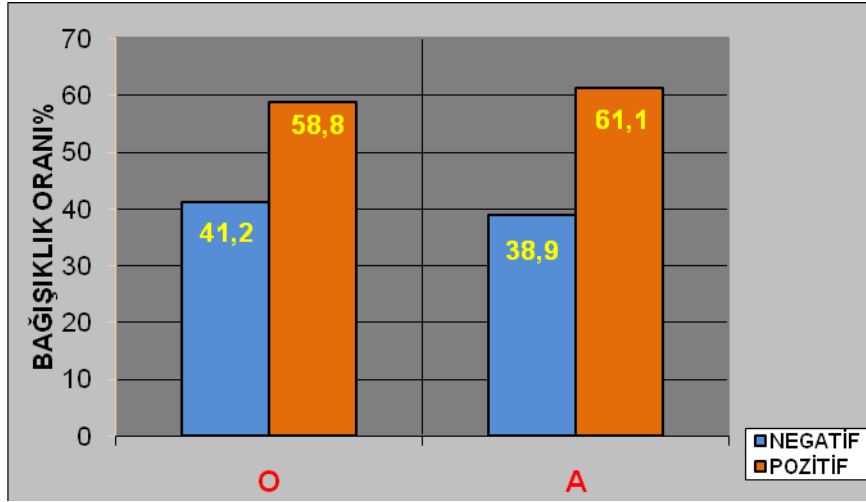
Grafik 3.1. Antikorların cinsiyete bağlı dağılımı(Sığır)



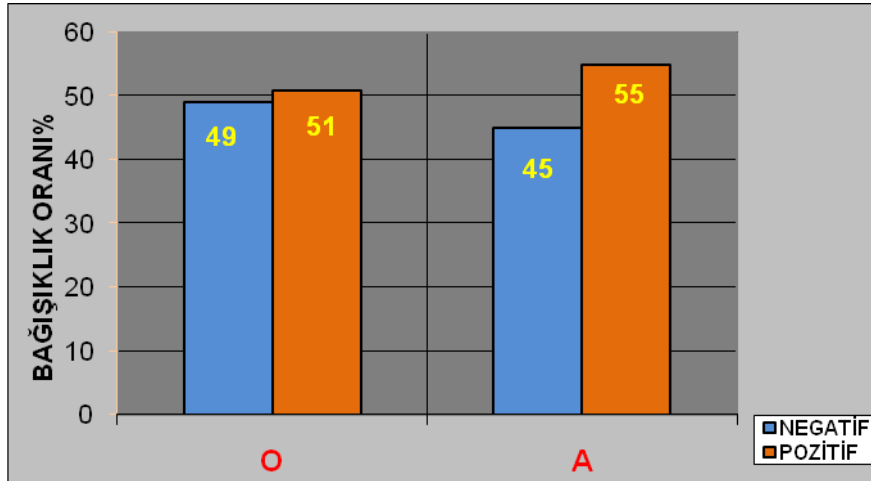
Grafik 3.2. Antikorların cinsiyete bağlı dağılımı(Koyun)



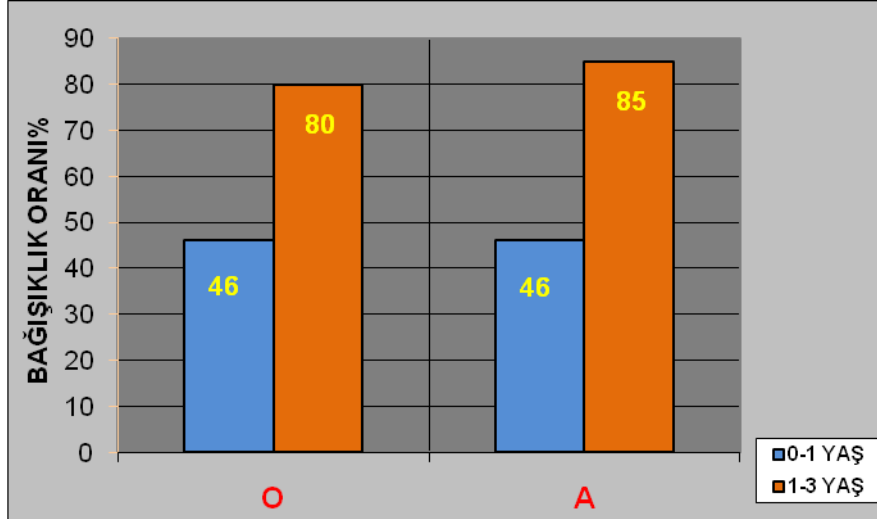
Grafik 3.3. Antikorların serotipe özgü dağılımı (Sığır / Koyun)



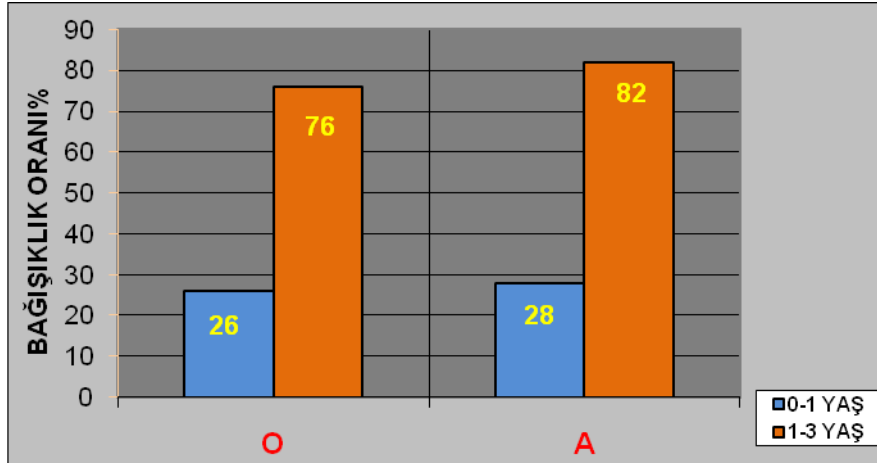
Grafik 3.4. Genel bağışıklık oranı (Sığır)



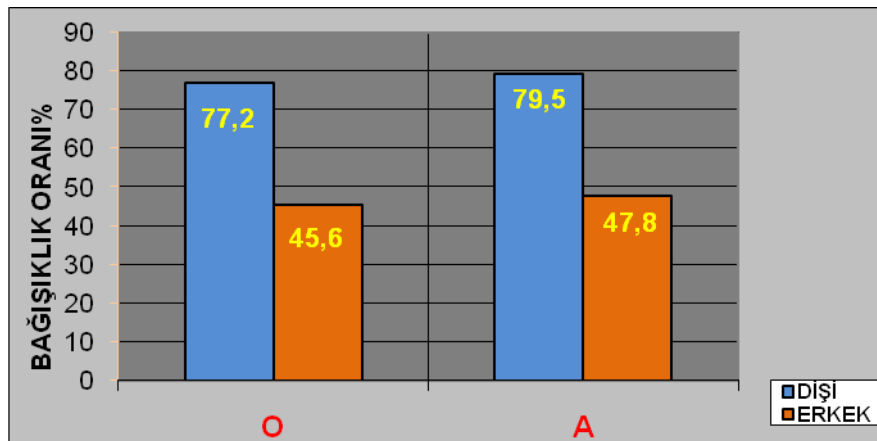
Grafik 3.5. Genel bağışıklık oranı (Koyun)



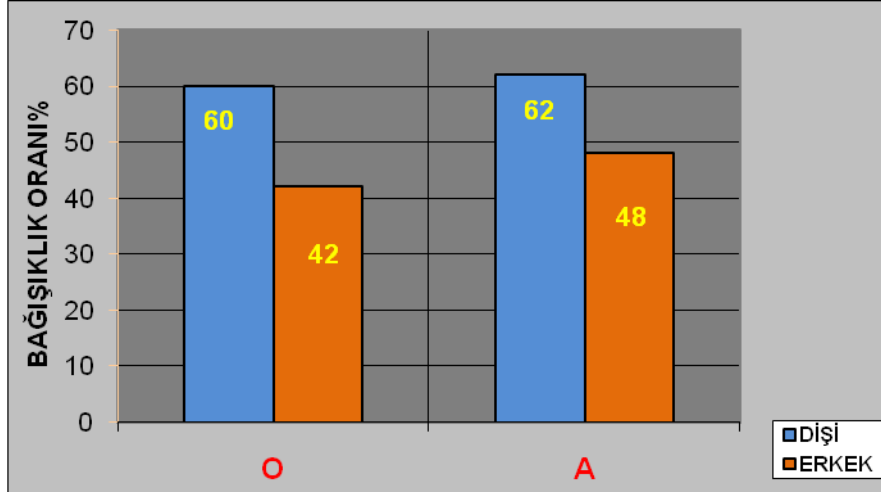
Grafik.3.6. Yaş gruplarına göre bağışıklık oranı (Sığır)



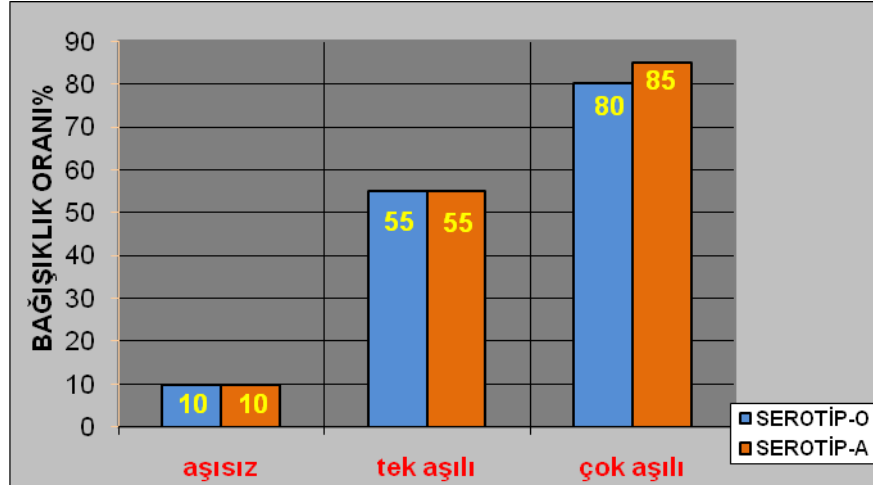
Grafik 3.7. Yaş gruplarına göre bağışıklık oranı (Koyun)



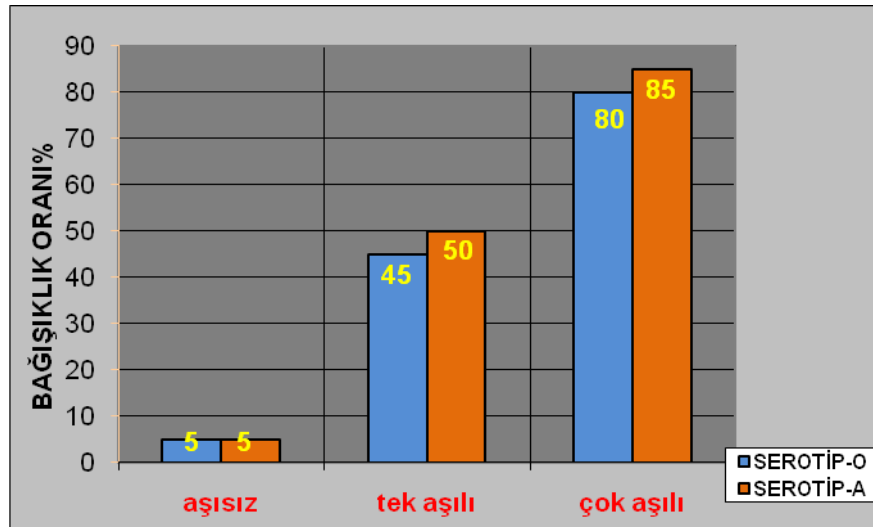
Grafik 3.8. Cinsiyete göre bağışıklık oranı (Sığır)



Grafik 3.9. Cinsiyete göre bağışıklık oranı (Koyun)



Grafik 3.10. Aşılama sayısına göre bağışıklık oranı (Sığır)



Grafik.3.11 Aşılama sayısına göre bağışıklık oranı (Koyun)

Çizelge 3.2. O serotipi dağılımı (Sığır -yaş grupları)

Hayvan türü				Yaş grubu		Toplam	Fisher'in Exact p
				0-1 yaş	1-3 yaş		
Sığır	LPBE, antikor titre değeri-O serotipi (Koruyucu)	Negatif	n	27	8	35	0,001*
			%	77,1%	22,9%	100,0%	
		Pozitif	n	23	32	55	
			%	41,8%	58,2%	100,0%	
	Toplam		n	50	40	90	
			%	55,6%	44,4%	100,0%	

* $p < 0.001$

Çizelge 3.3. A serotipi dağılımı (Sığır -yaş grupları)

Hayvan türü				Yaş grubu		Toplam	Fisher'in Exact p
				0-1 yaş	1-3 yaş		
Sığır	LPBE, antikor titre değeri-A serotipi (koruyucu)	Negatif	n	27	6	33	0,000*
			%	81,8%	18,2%	100,0%	
		Pozitif	n	23	34	57	
			%	40,4%	59,6%	100,0%	
	Toplam		n	50	40	90	
			%	55,6%	44,4%	100,0%	

* $p < 0.001$

Çizelge 3.4. O serotipi dağılımı (Koyun -yaş grupları)

Hayvan türü				Yaş grubu		Toplam	Fisher'in Exact p
				0-1 yaş	1-3 yaş		
Koyun	LPBE, antikor titre değeri-O serotipi (Koruyucu)	Negatif	n	37	12	49	0,000*
			%	75,5%	24,5%	100,0%	
		Pozitif	n	13	38	51	
			%	25,5%	74,5%	100,0%	
	Toplam		n	50	50	100	
			%	50,0%	50,0%	100,0%	

* $p < 0.001$

Çizelge 3.5. A serotipi dağılımı (Koyun -yaş grupları)

Hayvan türü				Yaş grubu		Toplam	Fisher'in Exact p
				0-1 yaş	1-3 yaş		
Koyun	LPBE, antikor titre değeri-A serotipi (koruyucu)	Negatif	n	36	9	45	0,000*
			%	80,0%	20,0%	100,0%	
		Pozitif	n	14	41	55	
			%	25,5%	74,5%	100,0%	
	Toplam		n	50	50	100	
			%	50,0%	50,0%	100,0%	

* $p < 0.001$

Çizelge 3.6. O serotipi dağılımı (Sığır -cinsiyet)

Hayvan türü				Cinsiyet		Toplam	Fisher'in Exact p
				Dişi	Erkek		
Sığır	LPBE, antikor titre değeri-O serotipi (Koruyucu)	Negatif	n	10	25	35	0,009*
			%	28,5%	71,5%	100,0%	
		Pozitif	n	34	21	55	
			%	61,8%	38,2%	100,0%	
	Toplam	n	44	46	90		
	%	48,8%	51,2%	100,0%			

* $p < 0.001$

Çizelge 3.7. A serotipi dağılımı (Sığır -cinsiyet)

Hayvan türü				Cinsiyet		Toplam	Fisher'in Exact p
				Dişi	Erkek		
Sığır	LPBE, antikor titre değeri-A serotipi (koruyucu)	Negatif	n	9	24	33	0,008*
			%	27,2%	72,7%	100,0%	
		Pozitif	n	35	22	57	
			%	61,4%	38,6%	100,0%	
	Toplam	n	44	46	90		
	%	50,0%	50,0%	100,0%			

* $p < 0.001$

Çizelge 3.8. O serotipi dağılımı (Koyun -cinsiyet)

Hayvan türü				Cinsiyet		Toplam	Fisher'in Exact p
				Dişi	Erkek		
Koyun	LPBE, antikor titre değeri-O serotipi (Koruyucu)	Negatif	n	20	29	49	0,109*
			%	40,8%	59,2%	100,0%	
		Pozitif	n	30	21	51	
			%	58,8%	41,2%	100,0%	
	Toplam	n	50	50	100		
	%	50,0%	50,0%	100,0%			

*NS

Çizelge 3.9. A serotipi dağılımı (Koyun -cinsiyet)

Hayvan türü				Cinsiyet		Toplam	Fisher'in Exact p
				Dişi	Erkek		
Koyun	LPBE, antikor titre değeri-A serotipi (koruyucu)	Negatif	n	19	26	45	0,228*
			%	42,2%	57,8%	100,0%	
		Pozitif	n	31	24	55	
			%	56,4%	43,6%	100,0%	
	Toplam	n	50	50	100		
	%	50,0%	50,0%	100,0%			

*NS

Çizelge 3.10. O serotipi dağılımı (Sığır -aşı)

Hayvan türü			Aşı durumu			Toplam	Ki Kare değeri	Sd	p	
			Aşısız	Tek aşıllı	Çok aşıllı					
Sığır	LPBE, antikor titre değeri-O serotipi (Koruyucu)	Negatif	n	9	18	8	35	17,626	2	0,000*
			%	25,7%	51,4%	22,9%	100,0%			
		Pozitif	n	1	22	32	55			
			%	1,8%	40,0%	58,2%	100,0%			
	Toplam		n	10	40	40	90			
			%	11,1%	44,4%	44,4%	100,0%			

* $p<0.001$

Çizelge 3.11. A serotipi dağılımı (Sığır -aşı)

Hayvan türü			Aşı durumu			Toplam	Ki Kare değeri	Sd	p	
			Aşısız	Tek aşıllı	Çok aşıllı					
Sığır	LPBE, antikor titre değeri-A serotipi (koruyucu)	Negatif	n	9	18	6	33	21,531	2	0,000*
			%	27,3%	54,5%	18,2%	100,0%			
		Pozitif	n	1	22	34	57			
			%	1,8%	38,6%	59,6%	100,0%			
	Toplam		n	10	40	40	90			
			%	11,1%	44,4%	44,4%	100,0%			

* $p<0.001$

Çizelge 3.12. O serotipi dağılımı (Koyun -aşı)

Hayvan türü			Aşı durumu			Toplam	Ki Kare değeri	Sd	P	
			Aşısız	Tek aşıllı	Çok aşıllı					
Koyun	LPBE, antikor titre değeri-O serotipi (Koruyucu)	Negatif	n	19	22	8	49	30,972	2	0,000*
			%	38,8%	44,9%	16,3%	100,0%			
		Pozitif	n	1	18	32	51			
			%	2,0%	35,3%	62,7%	100,0%			
	Toplam		n	20	40	40	100			
			%	20,0%	40,0%	40,0%	100,0%			

* $p<0.001$

Çizelge 3.13. A serotipi dağılımı (Koyun -aşı)

Hayvan türü			Aşı durumu			Toplam	Ki Kare değeri	Sd	P	
			Aşısız	Tek aşıllı	Çok aşıllı					
Koyun	LPBE, antikor titre değeri-A serotipi (koruyucu)	Negatif	n	19	20	6	45	35,152	2	0,000*
			%	42,2%	44,4%	13,3%	100,0%			
	Pozitif	n	1	20	34	55				
		%	1,8%	36,4%	61,8%	100,0%				
	Toplam	n	20	40	40	100				
		%	20,0%	40,0%	40,0%	100,0%				

* $p < 0.001$

4. TARTIŞMA

Şap hastalığı evcil ve yabani çift tırnaklı hayvanlarda görülen akut ve çok bulaşıcı viral bir enfeksiyondur (Sütçü 1985, Dinter ve Morein 1990). Mortalitesi düşük olmakla birlikte (%2-5), genç hayvanlarda miyokarditise bağlı olarak bu oran %50-60 civarına çıkabilmektedir. Morbidite oranı ise yüksek olup, hassas populasyonlarda %100'e ulaşabilmektedir. Hastalık, bulaşma derecesinin yüksek olması nedeniyle çiftlik hayvanları arasında çok önemli miktarda ekonomik kayıplara neden olan hastalıklar arasında yer almaktadır (Fenner ve ark 1987, Dinter ve Morein 1990, Barnett 2001).

Şap hastalığının teşhisi, Türkiye gibi hastalığın epidemik olduğu ülkelerde kısa sürede salgının belirlenmesinde ve dolayısıyla salgın yayılımının izlenmesi ve önlenmesinde; hastalığın görülmediği ülkelerde ise hastalık çıkışı halinde salgının belirlenmesine ilave olarak özellikle acil aşılama gerektiren durumlarda önemli katkı sağlamaktadır. Rutin olarak şap virusunun tanı ve tiplendirmesinde indirekt sandwich ELISA, lezyonlu dil epiteli dokusundan hazırlanan süspansiyonda spesifik şap virusunun tespiti amacıyla kullanılmaktadır (Hamblin ve ark 1984, Roeder ve ark 1987, Ferris ve Dawson 1988, Kitching ve ark 1989).

Şap virusunun antijenik olarak farklı 7 serotipi vardır. Bunlar O, A, C, SAT 1, SAT 2, SAT 3 ve Asia-1'dir (Kitching ve ark 1988). Türkiye'de bu virus serotiplerinden O, A ve Asia-1 hastalığa neden olmaktadır ve sığırlarda verim düşüklüğü ve ölüm nedeniyle büyük ekonomik kayıplara yol açan, antijenik spektrumu en geniş olan şap virus tipi, O₁ Manisa tipidir (Gürhan 1993).

Şap Hastalığı, Dünya Referans Laboratuvarı verilerine göre şap virusları içerisinde, dünyada en geniş yayılım gösteren tip O Panasia genotipidir ve O₁/Manisa/69 aşısı suşu Panasia genotipine ait saha izolatları ile iyi derecede antijenik ilişkili bulunmuştur (Valarcher ve ark 2004). Bu şekilde bir yayılma şap virusu suşu için benzersizdir. Bu virus Ortadoğu'dan Tayvan'a kadar bölgede mevcut tüm virus suşlarına karşı bir üstünlük sağlamıştır. Bu duruma, virusun özelliklerinde bir değişikliğin neden olup olmadığı bilinmemektedir. Ancak çok iyi veteriner servisleri olan ülkelerin kontrol mekanizmalarını dahi geçerek yayıldığı bir gerçektir (Knowles ve Samuel 2001).

Aşılama, şap hastalığı ile mücadelede ilk düşünülecek olan önemli bir araçtır. Aşılama yapılan sürülerde hastalıktan korunma sağlandığı gibi, aynı zamanda korunan hayvan sayısı nispetinde aktif virus dolaşımı ve kalıcılığı baskılanacak ve minimuma indirilmesi sağlanacaktır. Burada önemli olan hastalık riskinin kalıcı hale gelmemesi için, aşılama yapılan bölgelere virus kaynağının sokulmamasıdır. Aksi takdirde bölge için, taşıyıcılık riski olarak karşımıza çıkacaktır. Taşıyıcılık hastalıkla mücadelede en önemli problemlerden bir tanesidir.

Son yıllarda şap virusunun yapısal olmayan proteinlerine karşı oluşan antikorları tespit etmede kullanılan birçok ELISA geliştirilmiştir. Bu test aşılanmış hayvanı, hastalanmış olandan ayırt ettiğinden dolayı taşıyıcı hayvanların tespit edilmesinde kullanılmaktadır. Testlerin spesifitesi ve sensitivitesi yönünde yapılan validasyon çalışmaları neticesinde yanlış pozitif verme oranları oldukça aza indirgenmiş ve sonuçlarının güvenilirliği artmıştır.

Veteriner alanında kullanılacak diagnostik testlerin validasyonu için WOAHA bir standart yayınlamıştır. Bu standartta göre tam anlamıyla validasyon, uzun süren ve maliyetli bir süreçtir (OIE, Hahn ve ark 1998, Jacobson 1998, Belak 2003). WOAHA'nın yayınladığı standartta;

Fizibilite çalışması (metot belirleme), kullanılacak kimyasal ve protokollerin seçimi, optimizasyon ve standardizasyonu, testin performans kriterlerinin araştırılması (analitik sensitivite ve spesifite ile diagnostik sensitivite ve spesifite), test performansının sürekli gözden geçirilmesi, testin rutin tanıda kullanılması ve sürekli gözden geçirilmesi gerekliliği, süreçlerini kapsamaktadır. Bu standartta göre yapılan testler sonucunda %100'e yakın doğrulukta netice alınmaktadır.

Avrupa Komisyonu 1991 yılında Avrupa ve dünyanın diğer şap hastalığı görülmeyen bölgelerinde şap virusu taşıyıcılığı riskini azaltmak için aşılama kesmiştir. Hayvanlarda taşıyıcılığın önlenmesi, taşıyıcılık periyodu süresince hassas hayvanlara virus bulaşma riskini azaltarak hastalığın kontrol ve eradikasyonuna hizmet etmektedir (Salt 1993).

Gürhan ve ark (1993) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesinde taşıyıcılık oranının koyunlar için % 16.8 olduğu saptanmış, taşıyıcılık oranının Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerinden kuzeye

ve batıya doğru gidildikçe azaldığı ve bu durumun hastalığın prevalansı ile ilgili olduğu bildirilmiştir.

Fondevila ve ark (1996) tarafından yapılan deneysel bir çalışmada antikor düzeyi düşük küçükbaş hayvanlarda taşıyıcılık oranı %100 olarak saptanırken, antikor düzeyi yüksek hayvanlarda bu oranı %42 olarak belirlemişlerdir.

Balinda ve ark (2009)'nın 2007 yılında Uganda'nın Bushenyi ve Kasese ilçelerinde küçükbaş hayvanlarda şap hastalığının seroprevalansı ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, 272 keçi ve 74 koyun toplam 346 adet kan serum numunesini 3ABC NSP (Ceditest®FMDV-NS) ELISA ile test etmişlerdir. Bushenyi ilçesinde keçi ve koyunlarda hiç prevalans tespit edilmezken; Kasese ilçesinde keçilerde %14, koyunlarda ise %22 prevalans tespit edilmiştir. Bu iki ilçe arasındaki fark'ın muhtemelen Şap hastalığına karşı değişik düzeyde maruz kalma oranlarıyla ve farklı hayvancılık uygulamalarından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Mwiine ve ark (2010) Uganda'nın Bushenyi ve Kasese ilçelerinde sığırlarda şap hastalığının seroprevalansı ile ilgili yaptıkları bir çalışmada toplam 309 kan serum örneği toplanmış ve NSP(Ceditest®FMDV-NS) ELISA ile test edilmiştir. Seroprevalans yönünden Kasase ilçesinde (%61) Bushenyi ilçesinden (%3) çok daha yüksek bulmuşlardır. Bunun, 2006 yılında Kasese'de çıkan Şap hastalığına bağlı olduğu, buna karşın Bushenyi ilçesinin genelde Şap hastalığı salgınına maruz kalmadığından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Megarsa ve ark (2008) Güney Etiyopya'da Şap Hastalığı'nın risk faktörlerini araştırdıkları serosurveyde 3 ABC ELISA kullanılarak yapılan incelemelerde, seroprevalansı, hayvan ve sürü seviyesinde %9.5 -%48.1 bulmuşlardır. Seropozitif sürülerdeki hayvanlarda seropozitiflik olma riski ise oranı %6.7'den 18.6'ya kadar değişmektedir. Genç yaştaki hayvanlar ile (< 3 yaş), 3-4 yaş ve 4 yaş üstü hayvanlar seropozitiflik oranı açısından karşılaştırıldığında yetişkin hayvanların daha yüksek oranda seropozitif olduğu bulunmuştur.

Molla ve ark (2010) Güneybatı Etiyopya'da sığırlar üzerinde yaptıkları epidemiyolojik çalışmada, 770 sığır kan serum örneklerini NSP ELISA kullanarak test etmişlerdir. Genel olarak seroprevalansı %8.18 bulmuşlardır. Bennetsemay ilçesinde %30.2, Malle ve Debub Aari ilçesinde ise %6.3 bulmuşlardır. Bu farklılığın

istatistiksel açıdan önemli bulunmasının sebebi ise, çeşitli risk faktörlerinin analizi, hayvanların yaşı, ilçelerin coğrafi durumu, vahşi hayvanlar ile etkileşim halinde olmaları olarak açıklanmıştır.

Gil (2003) 2001 yılında Uruguay'da çıkan şap hastalığı sonrası yaptığı serosurvey çalışmasında sığırlarda seroprevalans $\%9.3 \pm \%2.3$, koyunlarda ise $\%1.1 \pm \%0.5$ bulmuştur.

Uwizeye ve ark (2010) Rwanda'nın kuzeybatısındaki Nyagatare ve güneybatısındaki Gisagara ilçelerinde sığır kan serum örneklerini NSP ELISA ile test etmişlerdir. Gisagarada prevalans $\%10.8$ (9/83), Nyagatarede $\%53.3$ (104/195) ve genel olarak $\%40.6$ (113/278) prevalans tespit etmişlerdir. Yaş kategorisi açısından 0-1 yaş aralığında $\%50$ (15/30), 1-3 yaş aralığında $\%33.80$ (25/74), 3 yaş üstü ise $\%42$ (101/174) prevalans tespit etmişlerdir. Cinsiyet kategorisi açısından dişi hayvanlarda $\%39$ (97/246), erkek hayvanlarda $\%50$ (16/32) prevalans tespit etmişlerdir. Hayvanları ırk açısından ele aldıklarında Ankole $\%31$ (44/142), Cross $\%50.8$ (67/132), Fressian $\%67$ (2/3), Sahival $\%0$ (0/1) prevalans bulmuşlardır.

Mannan ve ark (2009) Upazila/Bangladesh'de yaptıkları bir çalışmada, sığırlarda Şap hastalığı prevalansını araştırmışlardır. 109 erkek ve 144 dişi hayvan olmak üzere toplam 253 sığır kan serumunu NSP ELISA ile incelemişlerdir. Prevalansı $\%24.51$ tespit etmişlerdir. Hastalığın yaş, cinsiyet, ırk, mevsim ve tarım sistemine etkisini tartışmışlardır. Hastalık, Kasım ($\%34.69$) ve Aralık ($\%36.20$) ayında daha yüksek olduğu; erkek hayvanların ($\%35.77$) dişi hayvanlardan ($\%15.97$) daha fazla daha duyarlı olduğu bulunmuştur. Yetişkin sığırlar ($\%34.18$), düve ($\%23.43$) ve genç hayvanlar ($\%9.72$) ile karşılaştırıldığında daha duyarlı bulunmuştur. Hayvan cinsi açısından, yerli ırkların ($\%39.18$) melez ırklara ($\%15.38$) göre daha duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Berecha ve ark (2011) Etiyopya'nın güneyinde 111 sürüden topladıkları 768 kan serum numunesini 3 ABC ELISA kullanarak test etmişlerdir. Bireysel prevalansı $\%23$ (177/768) ve sürü bazında prevalansı ise $\%58.6$ (65/111) tespit etmişlerdir.

Leon ve ark (2003) Arjantin'de koyun ve sığırlarda şap hastalığının sirkülasyonunu araştırmak amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmalarında ülkeyi üç bölüme (A,B ve C) ayırmışlardır. Sürü bazında prevalansı sırasıyla $\%6.4$, $\%8$, $\%1.3$

sığır bazında (A,B ve C) 6-12 aylık yaş aralığında %0.63, %0.22, %0.16, 12-24 aylık yaş aralığında ise %2.16, %1.49, %0.34 tespit etmişlerdir. Koyunlar için prevalansı A bölgesi için %0.64, C bölgesi için %0 tespit etmişlerdir. B bölgesinde koyunlardan örnek alınmamıştır.

Bu araştırmada Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesinde bulunan Konya İlinin güneydoğu bölgesinde NSP ELISA ile, 0-1 yaş ve 1-3 yaş aralığında; şap aşısına karşı aşısız, tek aşı, çok aşı; cinsiyet durumlarına göre 45 adet sığır işletmesinden 90 adet sığır kan serumu; 50 adet koyun işletmesinden 100 adet koyun kan serumu örneği alınmış ve seroprevalans, sığır bazında %13.3, sürü/işletme bazında %6.6, koyunlarda hem işletme hem hayvan bazında %1 tespit edilmiştir. Belirlenen bu oran, dünyada bildirilen diğer çalışma bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Fakat daha önceden bölgede hastalıkla ilgili herhangi bir çalışma yapılmaması nedeniyle, bu araştırmada elde edilen bölgesel enfeksiyon prevalansındaki değişimler karşılaştırılmamıştır.

Bu sonuçlar, Leon ve ark (2003) tarafından koyun ve sığırlarda şap hastalığının sirkülasyonunu araştırmak amacıyla gerçekleştirdikleri çalışma ile uyumluluk göstermektedir.

Emirgazi ve Karapınar ilçe ve köylerinde sığırlarda çıkan pozitif sonuçların %6.6 çok aşı, %1.1 aşısız, %5.5 tek aşı, %12.2 dişi, %1.1 erkek, %6.6 0-1 yaş, %6.6 1-3 yaş aralığında olduğu tespit edilmiştir. Koyunlarda ise pozitif sonucun %1 aşısız, dişi, 0-1 yaş aralığında olduğu belirlenmiştir.

Bu sonuçlar, Gil (2003) 2001 yılında Uruguay'da ve Mannan ve ark (2009) Upazila/Bangladesh'de yaptıkları çalışmalarla paralellik arz etmektedir.

Epidemiyolojik olarak işletme değerlendirmesi yapıldığından ve test sonuçlarının komşu işletmelerle ilişkisi tespit edilemediğinden; sadece pozitif ve şüpheli olan işletmeler incelemeye alınmıştır. İşletmelerde bulunan hayvanlar Şap Hastalığı açısından tekrar klinik olarak kontrol edilmiştir. Bu işletmelerdeki hayvanlar Erzurum ve Kars yöresinden temin edildiği görülmüştür. Dolayısıyla Doğu Anadolu'dan hayvan girişinin tekrar gerçekleştiği saptanmıştır. Son bir yılda işletmelerde herhangi bir şap vakası olduğuna dair bir bulguya rastlanılmamıştır.

Emirgazi merkezde yapılan incelemede 2005 yılından bu yana hastalık

görülmediği ve bir işletme haricinde dışardan hayvan girişinin olmadığı saptandı. Pozitifliğin nedeni araştırıldığında ve yaşlı hayvanların pozitif çıkmasının normal olduğu kanısına varılmıştır. Dolayısıyla hastalık riski açısından değerlendirilen genç hayvanlarda pozitif sonuç tespit edilememiştir. Ancak Belkaya kasabasında pozitif hayvanların (sığır ve koyun) 0-1 yaş aralığında olması hastalık riski yönünden önem taşıdığı görülmektedir. Emirgazi Merkez ve Belkaya'daki pozitif sonuçların çoğunluğunun küçük tarım işletmelerinin yoğunluğuna, çiftçilerin genel kültür ve mesleki bilgi düzeylerinin yetersizliğine ve hayvan yetiştiriciliğinde, genellikle, gelenek ve göreneklerine bağlı kalınmasının etkili olduğu kanısına varılmıştır.

Genelde süt işletmelerinin yoğunlukta olduğu ve hayvancılık bakımından alt yapının iyi olduğu Karapınar ve köylerinde NSP'ye karşı pozitif sonuç alınan işletmeye gidilmiştir. Yapılan incelemeler neticesinde 2010 yılı başlarında işletmede hastalık çıktığı ancak ilk başta Şap hastalığı olarak algılanmadığı için ihbarda bulunulmadığı tespit edilmiştir. Gerek serum sonuçlarına göre gerekse görüşme neticesinde elde edilen bulgulara göre Karapınar merkezde hastalığın çıktığı ancak hastalığın yayılmadan sadece bir işletme ile sınırlı kaldığı belirlenmiştir.

Bağışıklık düzeyi ile ilgili olarak Psikal ve ark (1995) tarafından yapılan bir çalışmada 20 adedi inaktif trivalan aşı ile aşılanmış, 30 adedi 1 yıldan fazla süredir aşılanmayan hayvanlardan topladıkları 50 adet kan sığır serumunun; şap virusu O, A ve C serotiplerine karşı oluşan antikörleri, LPBE yöntemiyle araştırmışlar ve sırasıyla %58, %66 ve %58 oranında antikör olduğunu tespit etmişlerdir.

Blanco ve ark (1999) yaptıkları çalışmada Morocco'nun merkezi ve doğusunda Şap hastalığı görülen 11 mihraktaki klinik açıdan normal görünümlü 598 adet koyun kan serumunu LPBE yöntemi ile test etmişlerdir. Test sonrası 77 koyunda O Serotipine karşı oluşan antikörler tespit etmişlerdir.

Sil ve ark (1999) yaptıkları çalışmada; 1995-1999 yılları arasında Bangladeş'de şap hastalığı görülen bölgelerde 21563 hayvan üzerinde LPBE testi ile hayvanların % 49.16'sının şap virusu serotip O,A,C ile enfekte olduğunu, enfekte hayvanlar arasında sığırların hastalığa en duyarlı bulunduğunu (%96.43) sığırları, keçi (%2.27), buffola (%1.01) ve koyunların (%0.27) takip ettiğini bildirmişlerdir.

Sil ve ark (2000) yaptıkları bir diğer araştırmada, 3-18 aylık hayvanların şap

hastalığına karşı duyarlılıkları, LPBE ile incelenmiş ve bu hayvanların hastalığa çok duyarlı oldukları ve aşılama ile zayıf bir immun yanıt geliştiğini bildirmişlerdir. 0-3 aylık buzağılarda, şap hastalığına karşı korunma düzeyinin %26.35, 3-6 aylık danalarda % 97.36, 6-12 aylık düvelerde %82.28, 12-18 aylık ineklerde %83.94, 18 aylıktan büyük hayvanlarda %36.02 düzeyinde olduğunu tespit etmişlerdir. Aşılamayı takiben bir ay sonra topladıkları sığır kan serumlarında; 4 aylık buzağılarda ve 6 aylıktan küçük danalarda O serotipine karşı oluşan antikorların daha fazla olduğunu, düvelerde O ve A serotipine karşı eşit oranda antikorlar bulunduğunu, inek ve boğalarda ise A serotipi antikorlarının daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Hayvanların yaşı arttıkça, şap virusu serotiplerine karşı oluşan antikor miktarının arttığını, ancak C serotipine karşı oluşan antikor miktarının diğer serotiplere karşı oluşan antikor miktarlarından daha az olduğunu bildirmişlerdir.

Arjantin’de Smitsaart ve ark (1998) tarafından yapılan bir çalışmada, aşılamaı takiben 3.ayda, 2 ayrı yerleşim yerindeki büyükbaş ruminantlardan kan serumları toplanmış, bunlar yaşlarına göre 0-1 yaş, 1-2 yaş ve 2 yaş üstü olarak gruplandırılmış ve LPBE yöntemi kullanarak şap virusunun O ve A serotiplerine karşı oluşan antikor düzeyleri saptamışlardır. 0-1 yaş aralığındaki hayvanların aşısız veya 1 kez, 1-2 yaş aralığındaki hayvanların 2 veya 3 kez, 2 yaş üstü hayvanların ise en az 4 kez aşılandığını varsaymışlardır. Çalışmada %75’den düşük antikor miktarlarına sahip sürüler düşük bağışıklık, %75- %85 arası orta seviyeli ve %85 üzeri yüksek seviyeli bağışık sürüler olarak değerlendirilmiştir. Yaşları 0-1 arasında değişen 379 sığırdan alınan serumların; O serotipi yönünden 56’sının orta seviyeli, 290’nın yüksek seviyeli, A serotipi yönünden ise 45’nin orta seviyeli, 313’nün yüksek seviyeli bağışıklığa sahip olduğunu belirlemişlerdir. Yaşları 1-2 arasında değişen 360 sığırdan alınan serumların; O serotipi yönünden 24’nün orta seviyeli, 355’nin yüksek seviyeli, A serotipi yönünden ise 21’nin orta seviyeli, 368’nin yüksek seviyeli bağışıklığa sahip olduğunu tespit etmişlerdir. 2 yaşından büyük 398 sığırdan alınan serumların; O serotipi yönünden 13’nün orta seviyeli, 379’nun yüksek seviyeli, A serotipi yönünden ise 7’sinin orta seviyeli, 389’nun yüksek seviyeli bağışıklığa sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Şap hastalığının endemik olarak görüldüğü bölgelerde uygulanan rutin aşılamaların taşıyıcılık insidensini azalttığı belirtilmiştir. Kenya’ da aşılanmış bir bölgede taşıyıcılık prevalansı %0.49 olarak saptanırken, aşılanmamış bir bölgede bu

oran %3.34 olarak tespit edilmiştir (Woodbury 1995).

Grindharan ve ark (2005), yaptıkları çalışmada ELISA ile 181 adet örneğin 143 adedini (%79) Şap Hastalığı yönünden pozitif bulmuşlardır. Reid ve ark (1998), ise %49.6 düzeyinde pozitiflik (80/161) tespit etmişlerdir. Reid ve ark (2000)'nın yaptıkları bir başka çalışmada ise, sadece enfekte saha materyalini incelediklerinde %62' sinde pozitiflik tespit etmişlerdir.

Woodbury (1995), çalışmasında şap virusunun farklı serotipleri ile miks enfeksiyonların ortaya çıkabileceği deneysel olarak buzağılarda O ve A serotipleri, sığırlarda O, A, ve C serotipleri ve kobaylarda O ve A serotipleri ile miks enfeksiyonlar oluşturulduğu, doğal şartlar altında Suudi Arabistan'da O ve Asia serotipleri ile miks enfeksiyonlar görüldüğü ve O serotipinin daima baskın olduğunu bildirmiştir.

Habiela ve ark (2010) Sudan'da yaptıkları bir çalışmada 472 adet sığır, 305 adet koyun ve 98 adet keçi kan serumu toplamışlar ve bunu LPBE ile test etmişlerdir. Sırasıyla %79.24, %22.95 ve %28.57 pozitif bulmuşlardır. Çalışmada ayrıca sığırlarda serotip A'nın (%78.1) koyunlarda serotip O'nun (%27.5), keçilerde ise serotip O'nun (%27.5) daha yaygın olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu araştırmada, sığırlarda yaş gruplarına göre koruyucu bağışıklık oranı O serotipi için 0-1 yaş aralığında %46 ve 1-3 yaş aralığında %80, A serotipi için 0-1 yaş aralığında %46 ve 1-3 yaş aralığında %85 olarak tespit edilmiştir. Koyunlarda yaş gruplarına göre koruyucu bağışıklık oranı ise, O serotipi için 0-1 yaş aralığında %26 ve 1-3 yaş aralığında %76; A serotipi için 0-1 yaş aralığında %28 ve 1-3 yaş aralığında %82 olarak tespit edilmiştir. Bu bulgular, Smitsaart ve ark (1998) tarafından, aşılınmış 0-1,1-2 ve 2 yaş üstü yaşlardaki sığırlardan elde edilen serumlardaki antikor miktarlarının LPBE ile belirlendiği Arjantin'deki çalışma ile uyumluluk göstermektedir. Sığırlarda 1-3 yaş aralığındak grupta şap virusunun A serotipine karşı oluşan bağışıklığın, O serotipine karşı oluşan bağışıklıktan daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Koyunlarda ise sığırlardakine benzer olarak farklı yaş grupları arasında şap virusunun A serotipine karşı oluşan bağışıklığın, O serotipine karşı oluşan bağışıklıktan daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca yaşla birlikte orantılı olarak şap virusunun O ve A serotiplerine karşı

koruyucu düzeyde antikora sahip olma oranının arttığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar, Sil ve ark (1999) tarafından yapılan çalışmada elde edilen sonuçlarla da paralellik teşkil etmektedir.

Yaş grupları açısından, O ve A tiplerine karşı sırasıyla sığırlarda %46, %80 - %46, %85 ve koyunlarda %26, %76 - %28, %82 bulunmuştur. Bunun yanında ilk defa aşılansmış 0-1 yaş grupta ise beklenildiği gibi oranlar genel ortalamasının altında bulunmuştur. Bu gruptaki genç hayvanlar ilk defa aşılansmış olmaları ve rapel aşılansmasının yapılmamış olması dolayısıyla bağışıklık düzeyinin düşük çıkması normal kabul edilmiştir.

Bu araştırmada, sığırlarda cinsiyet durumlarına göre koruyucu bağışıklık oranı O serotipi için dişi hayvanlarda %77.2 ve erkek hayvanlarda %45.6, A serotipi için dişi hayvanlarda %79.5 ve erkek hayvanlarda %47.8 tespit edilmiştir. Koyunlarda cinsiyet durumlarına göre koruyucu bağışıklık oranı ise O serotipi için dişi koyunlarda %60 ve erkek koyunlarda %42, A serotipi için dişi koyunlarda %62 ve erkek koyunlarda %48 olarak tespit edilmiştir.

Elde edilen bu sonuçlar, Sil ve ark (2000) nın yaptığı çalışmada şap hastalığına karşı dişi hayvanların(%68.56) erkek hayvanlardan (%64.45) daha dirençli oldukları tespiti ile paralellik göstermektedir.

Şap hastalığının oldukça bulaşıcı, geniş konakçı spekturumuna sahip olması ve çok sayıda tip ve alt tiplerinin bulunması ve kompleks bir antijenik yapıya sahip olması nedeniyle, aşılama kampanyaları diğer kontrol önlemleri ile beraber uygulandığı takdirde başarılı olunabilir. Ayrıca uygulanan aşının kısa dönem bağışıklık sağlaması nedeniyle, uygun bağışıklığın sağlanabilmesi için gereken aşılama kuralları ve programına uyulması gerekmektedir.

Konya bölgesinde yapılan bu araştırmada aşının etkinliğinin ölçülmesi ikinci amaç olarak planlanmıştır. Birinci amaç için 0-1 yaş ve 1-3 yaş aralığındaki sığır ve koyunların aşılansmadan sonra üçüncü aydan itibaren toplanan serumlar test edilerek aşının etkinliği ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre, aşılama sonrası üçüncü aydan itibaren genel olarak O ve A tiplerine karşı sırasıyla sığırlarda %58.8- %61.1 ve koyunlarda %51-%55 oranında koruyucu bağışıklık tespit edilmiştir. Bu bulgular, Habiela ve arkadaşlarının (2010) yaptıkları araştırma ile uyumluluk göstermektedir.

İlk bakışta bu oranlar düşük gözükmele beraber, araştırmanın iki yaş altı hayvanları ve aşısız hayvanları kapsamış olması, özellikle bunların yarısının ilk defa aşılanmış olması nedeniyle bu oranların aşılama sonrası üçüncü ay ile uyumlu koruma düzeyine sahip olduğu gözlenmiştir. Bu grup içerisinde birden fazla aşılanmış 1-3 yaş grubu hayvanların sonuçları değerlendirmeye alındığında bu oranların daha da arttığı görülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırma ile Konya İli'nin güneydoğu bölgesindeki sığır ve koyunların şap hastalığına karşı sahip oldukları antikör düzeyleri, Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü tarafından kabul edilmiş serolojik testler arasında yer alan NSP ELISA ve LPBE testleri ile belirlenmiştir. Sığırlarda genel bağışıklık oranı O serotipi için %58.8, A serotipi için %61.1 bulunmuştur. Koyunlarda genel bağışıklık oranı O serotipi için %51, A serotipi için %55 bulunmuştur. Hastalığın prevalansı sığır bazında %13.3, sürü/işletme bazında %6.6, koyunlarda hem işletme hemde hayvan bazında %1 olarak tespit edilmiştir. Bölgede uygulanan aşının yeterli düzeyde bağışıklık sağladığı ve özellikle düzenli aşılanmış hayvanlarda %60'ın üzerinde ve genel olarak ise yeterli düzeyde sürü bağışıklığı tespit edilmiştir.

Bölgede normal oranda pozitiflik tespit edilmiş özellikle Emirgazi ilçesi haricinde aktif virus sirkulasyonu yönünden bulguya rastlanılmamıştır. Ancak, Emirgazi de yıl içinde geçirilmiş hastalık tespit edilmiş, dolayısıyla diğer bölgelere göre daha yüksek prevalans başka bir deyişle yüksek risk bulunmuştur. Riskin temel kaynağının ise gerek Kurban Bayramı esnasında gerekse diğer zamanlarda gerçekleşen legal veya illegal hayvan hareketlerinin olduğu kanaatine varılmıştır. Bu nedenle, prevalansın normal olmasına rağmen, bölge için hastalık riskinin büyük olduğu düşünülmektedir. Bu duruma neden olan sorunlara çözüm bulunmadan bölgenin hastalık yönünden aşılama ya rağmen yüksek risk altında olmaya devam edeceği düşünülmektedir.

Konya genelinde prevalans %13.3 olarak bulunmuştur ki bu rakam bölgenin hastalık riskinin normal olduğunu göstermektedir. Ancak prevalansın böyle çıkması riskin bittiği anlamına gelmemektedir. Tam aksine bölgeye hala dışardan hastalık taşıyabilecek hayvan girişinin devam ettiğini göstermektedir. Bunun sonucu olarakta aktif hastalık mihrakları oluşabileceği gibi, virus kaynağı ile karşılaşan bağışık durumdaki hayvanların taşıyıcı konumuna geçmiş olması da muhtemeldir. Her iki durumda, bölge için çok ciddi risk olarak düşünülmelidir.

Elde edilen pozitif sonuçların incelenmesi amacıyla pozitif işletmelerin bulunduğu bölgelerde saha araştırması yapılmıştır. Pozitifliklerin yoğun olduğu Emirgazi İlçesinde 2005 başlarında hastalık çıktığı ve hastalığın bildirilmediği tespit edilmiştir. Hastalığın bölgeye girişinde bölgeye legal veya illegal giren hayvanlar

temel riski oluşturmaktadır.

Diğer bölgelerde olduğu gibi bölge için de Kurban Bayramı esnasında başlayan hayvan hareketleri esas riski oluşturmaktadır. Gerek Emirgazi ilçesinde çıkan hastalıkla ilgili veriler gerekse diğer bölgelerde çıkan hastalık bilgileri ışığında; bölgenin temel sorununun hayvan hareketleri olduğu düşünülmektedir. Bölgeye kontrollü olsun olmasın her ne şartta hayvan girişi engellenmedikçe bölge için şap hastalığı riski her zaman devam edecektir.

Bölgede Kurban Bayramı öncesi ve sonrası hayvan dönüşlerine kesin çözüm bulunmalı; hatta Kurban Bayramı ile ilgili olarak hastalığın yayılmasına katkısı göz önüne alınarak yeni politikalar geliştirilmelidir.

Tüm bölgelerde olduğu gibi bölge için de hastalığın yayılmasında risk olmaya devam eden celep faktörü konusunda da çözümler üretilmelidir. Celeplik meslek olarak tanımlanmalı ve ruhsatlandırılmalıdır. Bu konuda eğitim almış ve mesleği celep olarak ruhsatlandırılmış kişiler haricindeki kişilere hayvan alım satım ve nakli yasaklanmalıdır.

Ayrıca Türkiye’de nüfus yoğunluğunun çok, hayvan sayısının az olduğu batı bölgelerine doğu bölgelerinden hayvan naklinin kontrol edilebilmesi oldukça güçtür. Bu şartlar, şap hastalığının bölgeden bölgeye yayılımını kolaylaştırmaktadır.

Enfeksiyonda subklinik enfekte hayvanların virus saçılımında aktif rol oynadığı göz önüne alındığında, hayvanların sağlıklı görünse bile enfeksiyonu devam ettirdiği ve zaman içinde problemler yaratacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu araştırmadan elde edilen verilerle Konya İlinin güneydoğu bölgesinde Şap hastalığının epidemiyolojisi ortaya konuldu. Bölgenin Aksaray ve Karaman ile komşu olduğu düşünüldüğünde, kontrolsüz hayvan hareketlerinin engellenmesi önem kazanmaktadır. Bunun yanı sıra virus yayılımına neden olan diğer etkenlerin de araştırılmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Özellikle hastalığın çok hızlı yayıldığı ve bulaştığı dikkate alındığında, hayvanların hastalık yönünden rutin kontrollerinin yapılması ve serum antikor titrelerinin göz önünde tutulması faydalı olacaktır. Ayrıca hastalıkla mücadelede, rapel aşı uygulamalarının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Şap hastalığının kontrolü, ülkenin hastalık kontrol politikaları ve epidemiyolojik durumuna bağlıdır. Hastalıktan arı ülkelerde kontrol, hastalığın var olduğu ülkelerden yapılan hayvan ve hayvansal ürünlere uygulanan sınırlamalar ile virusun ülkeye girişinin önlenmesine yöneliktir. Bu ülkelerde bir salgının görülmesi durumunda, zorunlu kesim yada karantina ve çevre aşılması uygulanır. Hastalığın endemik olduğu ülkelerde ise uygun serotipte inaktif aşılarla yapılan koruyucu aşılama ile sağlık uygulamaları kombine edilerek hastalığın insidensinin düşürülmesine yönelik önlemler kullanılmaktadır. Aşılama hastalığın kontrolünde önemli bir araç olmasına rağmen aşılamının başarısına birçok faktör etki eder ve bu yüzden tek başına hastalığın kontrolünde başarılı olması beklenemez. Aşılama ile birlikte mutlaka hayvan hareketlerinin de kontrol edilmesi ve sınırlandırılması gerekmektedir.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Türkiye'nin Konya İl Bölgesinde Klinik Olarak Sağlıklı Koyun ve Sığırların Şap Hastalığı Yönünden Epidemiyolojisinin NSP ELISA ve LPBE ile Araştırılması

Ömer Barış İNCE

Danışman

Prof.Dr. Feridun ÖZTÜRK

Viroloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2012

Şap virusunun sahip olduğu özellikler gerek teşhisi ve gerekse uygun aşuların üretiminde önemli etmendir. Şap hastalığının kontrolü, ülkenin hastalık kontrol politikaları ve epidemiyolojik durumuna bağlıdır. Hastalığın endemik olduğu ülkelerde uygun serotipte inaktif aşularla koruyucu aşılama yapılmakta ve hastalığın prevalansının düşürülmesine yönelik önlemler alınmaktadır. Son yıllarda şap hastalığının dünyada hızlı bir yayılım göstermesi ve çok sıkı tedbirler alan ülkelerde bile görülmesi, hastalığın epidemiyolojisinin önemini bir kez daha ortaya çıkarmıştır.

Bu çalışmada, Konya ilinin güneydoğusunu çevreleyen bölgede klinik olarak sağlıklı koyun ve sığırların aşısız, tek aşı, çoklu aşı, 0-1 ve 1-3 yaş ve erkek, dişi cinsiyet gruplarına göre aşılama yapıldıktan üçüncü aydan itibaren toplam 100 koyun, 90 sığır kan serumu örneği toplanmıştır.

Çalışmada, seçilen bölgenin hastalıkla ilgili durumunu ortaya koymak, aktif virus sirkülasyonunu araştırmak ve Şap Hastalığının yapısal olmayan proteinlerine (NSP) karşı oluşan antikorları tespit ederek bölgedeki taşıyıcılık oranını ve hastalık riskinin değerlendirilmesi ve hayvanların bağışıklık oranı hakkında bilgi amaçlanmıştır.

Bu amaçla prevalans ve hastalık risk değerlendirilmesi NSP ELISA ile, hayvanların bağışıklık durumunun aşı, yaş ve cinsiyet gruplarına göre nasıl değişiklik gösterdiği LPBE yöntemi ile değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak; Hayvancılık işletmesi bazında %6.6 ve bireysel olarak sığırlarda %13.3 koyunlarda ise %1 oranında seroprevalans tespit edilmiştir. Konya genelinde seroprevalans %13.3 olarak bulunmuştur. Sığırlarda genel bağışıklık oranı O serotipi için %58.8; A serotipi için %61.1; koyunlarda ise O serotipi için %51, A serotipi için %55 bulunmuştur. Sığırlarda aşı, yaş ve cinsiyet durumlarına göre farklılık önemli ($p<0.001$) olarak saptanmıştır. Koyunlarda ise aşı ve yaş gruplarına göre önemli ($p<0.001$) bulunmuştur.

Kontrolsüz hayvan hareketleri nedeniyle A ve O serotipi şap viruslarının zaman zaman salgınlara sebep olduğu ortaya çıkmıştır. Bölgede uygulanan aşının yeterli düzeyde bağışıklık sağladığı ve özellikle düzenli aşılanmış hayvanlarda %60'ın üzerinde ve genel olarak ise yeterli düzeyde sürü bağışıklığı tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular Şap Hastalığı Epidemiyolojisi ile ilgili yapılabilecek başka çalışmalara bilgi sağlayacaktır.

Anahtar Sözcükler: Şap Hastalığı; Epidemiyoloji; Risk Değerlendirmesi; NSP ELISA; LPBE.

7. SUMMARY

Investigate the Epidemiology of FMD of Clinical Healthy Sheep and Bovine with NSP ELISA and LPBE in Konya region, Turkey

Characteristics of Foot and Mouth Disease Virus (FMDV) are a significant factor both for the diagnosis and for the production of suitable vaccines. Control of Foot and Mouth Disease depends on the disease control policies and epidemiological status of the country. In countries where the disease is endemic, protective vaccinations are performed with inactive vaccines of suitable serotype and measures are taken in order to reduce the prevalence of the disease. Rapid spreading of Foot and Mouth Disease and its occurrence even in countries which take strict measures in recent years has once more brought forward the importance of the epidemiology of the disease.

In this study, a total of 100 sheep and 90 bovine blood samples were collected from clinically healthy sheep and bovine in the surrounding region of the southeast of Konya province that were classified as non-vaccinated, single-vaccinated, multiple vaccinated, aged 0-1 and 1-3 and male and female starting from the third month following the vaccination.

In the study aimed to show the disease-related status of the selected region, to investigate the active virus circulation and determine the antibodies formed against the nonstructural proteins (NSP) of Foot and Mouth Disease and evaluation the carrier rate in the region and the risk of infection and given information on the immune ratio of the animals.

For this purpose, immune systems of the animals were assessed by prevalence and disease risk assessment with NSP ELISA and LPBE method was used to assess how they change to demonstrated by groups' vaccine, age and gender.

As a result, prevalence was observed to be 6.6% for breeding enterprises, 13.3% in bovine animals and 1% in ovine animals individually. Prevalence was found 13.3% throughout Konya. Generic immune ratio in bovine animals was found 58.8% for serotype O and 61.1% for serotype A; and in sheep, 51% for serotype O and 55% for serotype A. Difference was detected to be significant ($p<0.001$) in bovine by groups' vaccine, age and gender. It was significant in sheep varying by groups vaccine-age ($p<0.001$).

It was demonstrated that, due to uncontrolled animal movements, FMD viruses of serotypes A and O caused outbreaks from time to time. It was determined that the vaccine administered in the region provided sufficient immunity and, herd immunity was observed to be above 60% in regularly vaccinated animals in particular and on a sufficient level in general. Finding obtained shall provide information for other studies that may be conducted on the Epidemiology of Foot and Mouth Disease.

Keywords: Foot and Mouth Disease; Epidemiology; Risk Assessment; NSP ELISA; LPBE.

8. KAYNAKLAR

1. Abu elzein EM, Newman JW, Newman BJ. The isoelectrofocusing technique in comparison of some Sudanese type SAT-1 foot-and-mouth disease viruses. *Rev Elev Med Vet Pays Trop.* 1989;42: 327-329.
2. Acharya R, Fry E, Stuart D, Fox G, Rowlands D, Brown F. The three-dimensional structure of foot-and-mouth disease virus at 2.9 Å resolution. *Nature* 1989;337: 709-716.
3. Aftosa F. Foot and Mouth Disease. The center for Food Security & Public Health. 2007 Erişim:http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/foot_and_mouth_disease.pdf Erişim Tarihi:05.09.2010
4. Aktas S. Molecular Epidemiology of foot and mouth disease types O and A in Turkey. Reading University, London, UK, PhD Thesis, 1998.
5. Alexandersen S, Forsyth MA, Reid SM, Belsham GJ. Development of reverse transcription-PCR (oligonucleotide probing) enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis and preliminary typing of foot-and-mouth disease: a new system using simple and aqueous-phase hybridization. *J Clin Microbiol* 2000;38: 4604-4613.
6. Alexandersen S, Oleksiewicz MB, Donaldson AI. The early pathogenesis of foot-and-mouth disease in pigs infected by contact: a quantitative time-course study using TaqMan RT-PCR. *J Gen Virol* 2001;82: 747-755.
7. Alexandersen S, Brotherhood I, Donaldson AI. Natural aerosol transmission of foot-and-mouth disease virus to pigs: minimal infectious dose for strain O1 Lausanne. *Epidemiol Infect* 2002a;128: 301-312.
8. Alexandersen S, Donaldson AI. Further studies to quantify the dose of natural aerosols of foot-and-mouth disease virus for pigs. *Epidemiol Infect* 2002;128: 313-323.
9. Alexandersen S, Quan M, Murphy C, Knight J, Zhang Z. Studies of quantitative parameters of virus excretion and transmission in pigs and cattle experimentally infected with foot-and-mouth disease virus. *J Comp Pathol* 2003a; 129: 268-282.
10. Alexandersen S, Zhang Z, Donaldson AI, Garland AJ. The pathogenesis and diagnosis of foot-and-mouth disease. *J Comp Pathol* 2003b;129: 1-36.
11. Alexandersen S, Mowat N. Foot-and-mouth disease: host range and pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005;288: 9-42.
12. Andersen A. Vertebrate Animal and Related Viruses Comparative Diagnosis of Viral Disease Vol IV, London, Academic Press, 1981.
13. Araujo JP, Montassier HJ, Pinto AA. Extensive antigenic and genetic variation among foot-and-mouth disease type A viruses isolated from the 1994 and 1995 foci in Sao Paulo, Brazil. *Vet Microbiol* 2002;84: 15-27.
14. Balinda SN, Masembe C, Tjørnehøj K, Sangula A, Mwiine F, Ayebazibwe C, Ademun R, Alexandersen S, Siegismund H, Muwanika V. Sero-prevalence of foot-and-mouth disease in small ruminants under contrasting husbandry practises in Uganda Enreca Project 2009 Erişim: http://www.fao.org/docs/research_group/erice Erişim tarihi: 11.08.2010
15. Barnett PV, Cox SJ. The role of small ruminants in the epidemiology and transmission of foot-and-mouth disease. *Vet J* 1999;158: 6-13.

16. Barnett PV, Samuel AR, Statham RJ. The suitability of the 'emergency' foot-and-mouth disease antigens held by the International Vaccine Bank within a global context. *Vaccine* 2001;19: 2107-2117.
17. Baxt B, Vakharia V, Moore DM, Franke AJ, Morgan DO. Analysis of neutralizing antigenic sites on the surface of type A12 foot-and-mouth disease virus. *J Virol* 1989;63: 2143-2151.
18. Baxt B, Becker Y. The effect of peptides containing the arginine-glycine-aspartic acid sequence on the adsorption of foot-and-mouth disease virus to tissue culture cells. *Virus Genes* 1990;4, 73-83
19. Blacksell SD, Gleeson LJ, Chamnanpood C, Nakarungkul N, Megkamol C. A comparison of type O foot and mouth disease virus field isolates from northern Thailand. *Rev Sci Tech* 1992;11: 761-767.
20. Beck E, Strohmaier K. Subtyping of European foot-and-mouth disease virus strains by nucleotide sequence determination. *J Virol* 1987;61: 1621-1629.
21. Belak S, Thoren M, Hakhverdyan M. Advances in diagnostic techniques. 4th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases, 2003; June 29th-July 2nd, Rome.
22. Bergman B, Mello AP, Neitzert E, Becke GI. Diagnosis of persistent aphthovirus infection and its differentiation from vaccination response in cattle by use of enzyme linked immunoelectrotransfer blot analysis with bioengineered non-structural viral antigens. *Am J Vet Res* 1993;6: 825-831
23. Bergmann IE, Malirat V, Neitzert E, Beck E, Panizzutti N, Sanchez C, and Falczuk A. Improvement of a serodiagnostic strategy for foot-and-mouth disease virus surveillance in cattle under systematic vaccination: a combined system of an indirect ELISA-3ABC with an enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay. *Archives of Virology* 2000;145: 473-489
24. Berecha B, Gelagay A, Moses K, Yasmin J, Esayas G. Study on seroprevalence, risk factors, and economic impact of foot-and-mouth disease in Borena pastoral and agro-pastoral system, southern Ethiopia, *Tropical Animal Health and Production* 2011;43(4):759-766
25. Clavijo A, Write P, and Kitching P. Developments in diagnostic techniques for differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease. *The Veterinary Journal* 167: 9-22, 2004.
26. Clavijo A, Zhou E-M, Hole K, Galic B, and Kitching P. Development and use of a biotinylated 3ABC recombinant protein in a solid-phase competitive ELISA for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. *Journal of Virological Methods* 120: 217-227, 2004.
27. Clercq K, Goris N, Barnett PV, MacKay DK. The Importance of Quality Assurance/Quality Control of Diagnostics to Increase the Confidence in Global Foot and Mouth Disease Control. *Transboundary and Emerging Diseases* 2008; 55:35-45.
28. Crowell RC, Tomko RP. Receptors for picornaviruses. *Cellular Receptors for Animal Viruses* 1994;6: 75-99.
29. Center for Food Security and Public Health 2006 Erişim: <http://www.cfsph.iastate.edu/> Erişim Tarihi :01.04.2010

30. Cottam WJ, Shaw AE, Rowlands RJ, Goatley L, Maan S, Maan NS, Mertens PP, Ebert K, Li Y, Ryan ED, Juleff N, Ferris, NP, Wilesmith JW, Haydon DT, King DP, Paton DJ, Knowles NJ. Transmission pathways of FMDV in the UK. *Plos Pathog* 2007;18 (4): 1-8.
31. Cottral GE, Gailiunas P. Urine pH changes in cattle infected with foot-and-mouth-disease virus. *Cornell Vet* 1969;59: 249-258.
32. Danes M, Gruia M, Borca M. FMD Primary Diagnosis. Comparative data on the use of sandwich ELISA, complement fixation and cell culture isolation. *The Journal of the Pasteur Institute Romania Studies and Research in Veterinary Medicine* 1995;1: 28-32
33. Davie J. A Complement Fixation Technique for the Quantitative Measurement of Antigenic Differences between Strains of the Virus of Foot-and-Mouth Disease. *J Hyg (Lond)* 1964;62: 401-411.
34. Davies G. Foot and mouth disease. *Research in Vet Sci* 2002;73: 195-199.
35. Dekker A. Foot and mouth disease airborne transmission prediction model. Rep of the Sess of the Stand Tech Comm Eur Comm for the Cont of FMD, 1996 Israel
36. Dekker A, Moonen P, vd Linde EM. Comparison of commercial ELISAs for antibodies against FMDV non-structural proteins. Session of the research group of the European commission for the control of foot-and-mouth disease, 16-19 September 2003 Gerzensee, Switzerland
37. Dinter Z, Morein B, *Virus Infections of Ruminants*, Elsevier Science Publishers BV 1990;506-508
38. Doel TR. FMD vaccines. *Virus Res* 2003;91: 81-99.
39. Domingo E, Escarmis C, Sevilla N, Moya A, Elena S F, Quer J, Novella IS, Holland JJ. Basic concepts in RNA virus evolution. *Faseb J* 1996;10: 859-864.
40. Domingo E. Quacispecies theory in virology. *J Virol* 2002;76: 463-465.
41. Donaldson AI, Gibson CF, Oliver R, Hamblin C, Kitching RP. Infection of cattle by airborne foot-and-mouth disease virus: minimal doses with O1 and SAT 2 strains. *Res Vet Sci* 1987;43: 339-346.
42. Fenner F, Bachmann PA, Gibbs EPJ, Murphy FA, Studdert MJ, White DO. *Veterinary Virology*, California, Academic Press Inc, 1987;ISBN 0-12530-55-1
43. Ferris NP, Dawson M. Routine application of enzyme-linked immunosorbent assay in comparison with complement fixation for the diagnosis of foot-and-mouth and swine vesicular diseases. *Vet Microbiol* 1988;16: 201-209.
44. Ferris NP, Donaldson AI. The World Reference Laboratory for Foot and Mouth Disease: a review of thirty-three years of activity (1958-1991). *Rev Sci Tech* 1992;11: 657-684
45. Freiberg B, Rahman MM, Marquardt O. Genetical and immunological analysis of recent Asian type A and O foot-and-mouth disease virus isolates. *Virus Genes* 1999;19: 167-182.
46. Fry EE, Lea SM, Jackson T, Newman JW, Ellard FM, Blakemore WE, Abughazaleh R, Samuel A, King AM, Stuart DI. The structure and function of a foot-and-mouth disease virus-oligosaccharide receptor complex. *EMBO J*, 1999;18: 543-554.

47. Fry EE, Stuart DI, Rowlands DJ. The structure of foot-and-mouth disease virus. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005;288: 71-101.
48. Fondevila N, Sanchez A, Smitsaart E, Schudel AA. Studies of the persistence of FMD virus in bovines, ovines and llamas, Rep. of the Sess.of Res. Gr. Of the Stand. Tech. Comm. Eur. Comm. For the Cont. of FMD, 1996 Israel.
49. Gibson C F, Donaldson AI. Exposure of sheep to natural aerosols of foot-and-mouth disease virus. *Res Vet Sci* 1986;41: 45-49.
50. Gil AD. Experience in Post-vaccinal Surveillance (PVS) following the 2001 FMD. Epidemic in Uruguay 2003. Erişim:http://www.fao.org/research_group/switz/app02.pdf Erişim tarihi 05.02.2011
51. Gilbert M, Aktaş S, Mohammed H, Roeder P, Sumption K, Tufan M, Slingerbergh J. Patterns of spread and persistence of foot-and-mouth disease types A,O and Asia-1 in Turkey: a meta-population approach. *Epidemiol. Infect.*, 2005;133: 537- 545.
52. Grindharan P, Hemadri D, Tosh C, Sanyan A, Bondyopadhyay SK. Devolopment and evaluation of MULTİPLEKS PCR for differantiation of foot-and-mouth disease virus strains nativa to India. *J Virol Methods* 2005;126:1-11.
53. Grubman MJ, Baxt B. Foot-and-mouth disease *Clin Microbiol Rev* 2004;17(2): 465-469.
54. Gürhan Sİ. şap hastalığının epidemiyolojisi, *Vet Hek Derg* 1989;99 -106
55. Gürhan Sİ, Control of FMD in Turkey, First International FMD Symposium 6-8 th June 1989, Ogun Kardeşler Matbaası. Ankara 1991;ISBN 975-407 001-6
56. Gürhan Sİ, Gürhan B, Öztrkmen A, Aynagz G, Candaş A, Kizil S. Establishment of the prevalance of persistently infected cows and sheep in Anatolia with FMDV, *Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 1993;7-4: 52-60
57. Haas B. Application of the FMD liquid-phase blocking sandwich ELISA. Problems encountered in import/export serology and possible solutions. Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease, Vienna 19-22 September 1994; 124-127.
58. Habiel M, Alamin MG, Raouf Y, Ali Y. Epizootiological study of foot and mouth disease in the Sudan: the situation after two decades. *Vet Arhiv* 2010;80: 11-26
59. Hahn CM, Berdirg C, Kuhn C. Critical level and detection limit:performance measures for PCR based assays. *J Virol Methods* 1998;74: 139-148.
60. Hamblin C, Armstrong R, Hedger RS. A rapid enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of foot-and-mouth disease virus in epithelial tissues. *Vet Microbiol* 1984; 9: 435-443.
61. Hamblin C, Crowther JR, Baber D, Knowles NJ, Cahon D. Recent approaches to the characterisation of strains of foot and mouth disease virus. . Rep of the Sess of the Res Gr of the Stand Tech Comm of the Europ Comm for the Cont of FMD Rio de Janeiro, Brasil, 1985;15-18 Oct.
62. Hamblin C, Barnett ITR, Crowther JR. A new enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. II. Application. *Journal of Immunological Methods* 1986b;93:123-129.

63. Hamblin C, Barnett ITR, Hedger RS. A new enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. I. Development and method of ELISA. *Journal of Immunological Methods* 1986a;93:115-121,
64. Hughes GJ, Mioulet V, Haydon DT, Kitching RP, Donaldson AI, Woolhouse ME. Serial passage of foot-and-mouth disease virus in sheep reveals declining levels of viraemia over time. *J Gen Virol* 2002;83: 1907-1914.
65. Hyslop NS. The epizootiology and epidemiology of foot and mouth disease. *Adv Vet Sci Comp Med* 1970;14: 261-307.
66. Jackson T., King AMQ, Stuart DI, Fry E. Structure and receptor binding. *Virus Research*, 2003;91: 33-46.
67. Kalaycı G. Batı Anadolu Tampon Bölgesinden İzole Edilen Şap viruslarının ELISA ve Komplement Fiksasyon Testlerine Alternatif olarak Koagülünasyon Test ile Serotiplendirilmesi ve Persiste Enfekte Hayvanların Saptanması Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi 1999.
68. King AM, Mccahon D, Newman JW, Crowther J R, Carpenter WC. Electrofocusing structural and induced proteins of aphthovirus. *Curr Top Microbiol Immunol* 1983;104: 219-233.
69. King AM, King AMQ, Brown F, Christian P, Hovı T, Hyypiä T, Knowles NJ, Lemon SM, Minor PD, Palmenberg A, Skern T, Stanway G. *Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee for the Taxonomy of Viruses". Picornaviridae. New-York, San Diego, R.B. Academic Pres 2000: 657-673.*
70. Kitching RP, Rendle R, Ferris NP. Rapid correlation between field isolates and vaccine strains of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine* 1988;6: 403-408.
71. Kitching RP, Knowles NJ, Samuel AR, Donaldson AI, Development of FMDV strain characterization –a review: *Tropical Animal Health and Production* 1989;21:153-166.
72. Kitching, RP. A recent history of foot-and-mouth disease. *J Comp Pathol* 1998;118: 89-108.
73. Knowles NJ. A method for nucleotid sequence of foot and mouth disease virus RNA for epidemiological studies. In: Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-mouth Disease, Lindhom, Denmark, 1990 FAO, Rome.
74. Knowles NJ, Samuel AR, Davies PR, Kitching RP, Donaldson AI. Outbreak of foot-and-mouth disease virus serotype O in the UK caused by a pandemic strain. *Vet Rec* 2001;148: 258-259.
75. Knowles NJ, Samuel AR. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus. *Virus Res* 2003;91: 65-80.
76. Knowles NJ, Davies PR, Rebecca JM, Valarcher JF. Identification of a ninth foot-and-mouth disease virus type O toptype and evidence for a recombination event in its evolution. Report of the session of the Research Group of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease. Appendix 2004;24: 163-172. Chania, Crete, Greece 12-15 October 2004. FAO Rome.

77. Ko YJ, Jeoung HY, Lee HS, Chang BS, Hong SM, Heo EJ, Lee KN, Joo HD, Kim SM, Park JH, Kweon CH. A recombinant protein-based ELISA for detecting antibodies to foot-and-mouth disease virus serotype Asia 1. *Journal of Virological Methods* 2009;159: 112–118.
78. Leforben Y, Gerbier G. Review of the status of foot and mouth disease and approach to control/eradication in Europe and Central Asia. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 2002;21;477-492.
79. León EA, Duffy SJ, Späth EA, Cané B, Combessies A, Dotta J, Cosentino B, Funes G, Bottini R, Periolo O, Robiolo B. Estimation of the degree of circulation of foot-and-mouth disease virus in Argentina. 2003
Erişim:http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/ganaderia/bovinos/sanidad/piel_muco/ISVEELeon.pdf Erişim tarihi:10.08.2009
80. Lombard MF, Fussel AE. Antigen and vaccine banks: technical requirements and the role of the European antigen bank in emergency foot and mouth disease vaccination. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 2007;26(1): 117-134.
81. Mann J, Sellers, Dinter Z, Moren BI. Editors *Virus Infections of Ruminants Volume:3* AE Amsterdam. Elsevier Science Publishers BV:1990;503-511.
82. Mannan MA, Siddique MP, Uddin MZ, Parvaz MM. Prevalence of foot and mouth disease (FMD) in cattle at Meghna upazila in Comilla in Bangladesh *J. Bangladesh Agril Univ* 2009;7(2): 317-319.
83. Mahy BWJ. Introduction and history of foot-and-mouth disease virus. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005;288: 1-8.
84. Marquardt O, Straub OC, Ahl R, Haas B. Detection of foot and mouth disease virus in nasal swabs of asymptomatic cattle by RT-PCR within 24 hours. *J Virol Methods* 1995;53, 55-63.
85. Marquardt O, Haas, B. VP1-coding sequences of recent isolates of foot-and-mouth disease virus types A, O and Asia 1. *Virus Genes* 1998;16: 185-193.
86. Marquardt, O, Freiberg B. Antigenic variation among foot-and-mouth disease virus type A field isolates of 1997-1999 from Iran. *Vet Microbiol* 2000;74: 377-386.
87. Mason PW, Rieder E, Baxt GD. Sequence of foot-and-mouth disease virus is essential for infecting cells via the natural receptor but can be bypassed by an antibody-dependent enhancement pathway. *Proc Natl Acad Sci* 1994;91: 1932-6.
88. Meer H, Srinivasan VA, Crowther JR. Serological study of type A Indian foot-and-mouth disease virus isolates. *Acta Virol* 1995;39: 193-196.
89. Megersa B, Beyene B, Abunna F, Regassa A, Amenu K, Rufael T. Risk factors for foot and mouth disease seroprevalence in indigenous cattle in Southern Ethiopia: the effect of production system *Tropical Animal Health Production* 2008;V41(6):891-898.
90. Molla B, Ayelet G, Asfaw Y, Jibril Y, Ganga G, Gelaye E. Epidemiological Study on Foot-and-Mouth Disease in Cattle: Seroprevalence and Risk Factor Assessment in South Omo Zone, South-western Ethiopia *Transboundary and Emerging Diseases* 2010; V 57(5): 340–347.
91. Moonen P, Linde E, Chenard G, Dekker A. Comparable sensitivity and specificity in three commercially available ELISAs to differentiate between cattle infected with or vaccinated against foot-and-mouth disease virus. *Vet Microbiol* 2004; 99: 93- 101.

92. Mwiine FN, Ayebazibwe C, Olaho-Mukani W, Alexandersen S, Tjornehoj K. Prevalence of Antibodies Against Foot-and-Mouth Disease Virus in Cattle in Kasese and Bushenyi Districts in Uganda International Journal of Animal and Veterinary Advance 2010;2(3): 89-96.
93. Nayak B, Pattnaik B, Tosh C, Sanyal A, Hemadri D, Patil SS, Venkataramanan R. Genetic and antigenic analysis of type A foot-and-mouth disease viruses isolated in India during 1987-1996. Acta Virol 2001;45: 13-21.
94. OIE (Office International des Epizooties/World organization for Animal Health). 2000. Foot and Mouth Disease Erişim: www.oie.int Erişim tarihi:12.06.2005
95. OIE (Office International des Epizooties/World organization for Animal Health). 2004. Foot and Mouth Disease, In: OIE Standarts Commission, Ed: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Erişim: www.oie.int Erişim tarihi:06.09.2009
96. Olechnowitz AF, Engler E. pH inactivation of the foot-and-mouth disease virus. Arch Exp Veterinarmed 1970;24: 461-471.
97. Parida S, Fleming L, Gibson D, Hamblin PA, Grazioli S, Brocchi E, Paton DJ. Bovine serum panel for evaluating foot-and-mouth disease virus nonstructural protein antibody tests. J Vet Diagn Invest 2007;19:539–544.
98. Paton DJ. 36th General Session of EUFMD. 27-29 April 2005, FAO,2005, Rome.
99. Pereira HG. Subtyping of foot-and-mouth disease virus. Dev Biol Stand 1976;35: 167-174.
100. Psikal I, Zendulková D, Franz J, Lencuchová L, Ferris NP. Comparative between-laboratory trials of the liquid-phase blocking sandwich ELISA for the detection of antibodies to foot-and-mouth disease virus. Vet Med (Praha) 1995;40:1-5.
101. Rakhmanov AM, Zhuckova LG, Zakharov VM. The results of studies on differentiation of FMDV antibodies induced by infection and vaccination, . Rep of the Sess of Res Gr of the Stand Tech Comm Eur Comm For the Cont of FMD, 1995Vienna.
102. Reid SM, Forsyth MA, Hutchings GH, Ferris N. Comparison of reverse transcription polymerase chain reaction, enzyme linked immunoabsorbent assay and virus isolation for the routine diagnosis of foot-and-mouth disease. J Virol Methods 1998;70: 213-217.
103. Reid SM, Ferris NP, Hutchings GH, Samuel AR, Knowles NJ. Primary diagnosis of foot-and-mouth disease by reverse transcription polymerase chain reaction. J Virol Methods 2000;89: 167-176.
104. Reid SM, Grierson SS, Ferris NP, Hutchings GH, Alexandersen S. Evaluation of automated RT-PCR to accelerate the laboratory diagnosis of foot-and-mouth disease virus. J Virol Methods 2003;107: 129-139.
105. Re´mond M, Kaiser C, Lebreton F. Diagnosis and screening of foot and mouth disease. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases 2002; 25: 309–32.
106. Reuckert RR. Picornaviridae and their replication. In Virology, Second edition, Raven Press Ltd, New York, 1990; 507-548.
107. Robson KJ, Crowther JR, King AM, Brown F. Comparative biochemical and serological analysis of five isolates of a single serotype of foot-and-mouth disease virus. J Gen Virol 1979;45: 579-590.

108. Roeder PL, Smith LB. Detection and typing of FMDV by ELISA a sensitive rapid and reliable technique for primary diagnosis. *Research in Veterinary Science* 1987;43: 225-232.
109. Rweyemamu MM, Booth JC, Had M, Pay TW. Microneutralization tests for serological typing and subtyping of foot-and-mouth disease virus strains. *J Hyg (Lond)* 1978;81(1): 107-123.
110. Rweyemamu MM, Ouldrige EJ, Head M, Purse F. Evaluation of antigenic variation within type A foot and mouth disease virus isolates from Asia. *J of Biol Stand*, 1984;12: 191-194.
111. Rweyemamu MM, Roeder P, Mackays D, Sumption K, Brownlie J, Leforban Y, Valarcher J F, Knowles NJ, Saraiva V. Epidemiological Patterns of Foot-and-Mouth Disease Worldwide. *Transboundary and Emerging Diseases* 2008;55: 57-72.
112. Salt JS. The carrier state in foot and mouth disease-an immunological review, *Br Vet J*, 1993;149: 207-223.
113. Salt JS, Ilott MC. Virus titres in development of FMDV persistence in cattle. Rep of the Sess of Res Gr of the Stand Tech Comm Eur Comm For the Cont. of FMD, 1996;Israel.
114. Samuel AR, Knowles NJ. Foot-and-mouth disease virus: cause of the recent crisis for the UK livestock industry. *Trends Genet* 2001;17: 421-424.
115. Samuel AR, Knowles NJ. Foot-and-mouth disease type O viruses exhibit genetically and geographically distinct evolutionary lineages (topotypes). *J Gen Virol* 2001;82: 609-621.
116. Samuel AR, Ouldrige EJ, Arrowsmith, AE, Kitching RP, Knowles NJ. Antigenic analysis of serotype O foot-and-mouth disease virus isolates from the Middle East, 1981 to 1988. *Vaccine* 1990;8: 390-396.
117. Sangare O, Bastos AD, Marquardt O, Venter EH, Vosloo W, Thomson GR. Molecular epidemiology of serotype O foot-and-mouth disease virus with emphasis on West and South Africa. *Virus Genes* 2001;22: 345-351.
118. Sanyal A, Hemadri D, Tosh C, Bandyopadhyay SK. Emergence of a novel subgroup within the widely circulating lineage of foot-and-mouth disease virus serotype Asia 1 in India. *Res Vet Sci* 2004;76: 151-156.
119. Shafyi A. pH resistance of foot-and-mouth disease virus and its complement-fixing antigen. *Am J Vet Res* 1968;29: 1469-1478.
120. Sil BK, Taimur MFJA. Elisa Based Techniques For The Identification Of Foot-And-Mouth Disease Virus And Vaccine Evaluation Proceedings of a final Research Co-ordination Meeting in Phnom Penh, 22-26 February 1999, Cambodia.
121. Singh M, Mohan BM, Suryanarayana VV. Serological and molecular analysis of serotype O foot-and-mouth disease virus isolated from disease outbreaks in India during 1987-91. *Virus Res* 1996;43: 45-55.
122. Smitsaart EN, Zanelli M, Rivera I, Fondevila N, Compaired D, Maradei E, Bianchi T, O'Donnell V, Schudel AA. Assessment using ELISA of the herd immunity levels induced in cattle by foot-and-mouth disease oil vaccines. *Preventive Veterinary Medicine* Volume 33, Issues 1-4, January 1998; 283-296
123. Sobrino F, Palma EL, Beck E, Davila M, De La Torre JC, Negro P, Villanueva N, Ortin J, Domingo E. Fixation of mutations in the viral genome during an outbreak of foot-and-mouth disease: heterogeneity and rate variations. *Gene* 1986;50: 149-159.

124. Sobrino FM, Saiz M, Jimenez-Clavero M, Nunez JI, Rosas M, Baranowski E, Ley V. Foot-and-mouth disease virus: a long known virus, but a current threat. *Vet Res* 2001;32(1): 1-30.
125. Steinhauer DA, Holland JJ. Rapid evolution of RNA viruses. *Annu Rev Microbiol* 1987;41: 409-433.
126. Suttmoller P, Barteling SS, Olascoaga RC, Sumption KJ. Control and eradication of foot-and-mouth disease. *Virus Res* 2003;91: 101-144.
127. Switzerland Biopharma Institute 2008 Erişim http://expasy.org/viralzone/all_by_protein/33.html
Erişim tarihi:12.06.2010
128. Sütçü M. Şap Hastalığı. Ogun Kardeşler Matbaası. Ankara 1985.
129. Şap Enstitüsü Müdürlüğü 2009 Erişim: <http://www.sap.gov.tr/page.php> Erişim Tarihi: 12.05.2009
130. Şap Enstitüsü Müdürlüğü 2008 Erişim: <http://www.sap.gov.tr/>. Erişim Tarihi: 16.09.2008
131. Şap Hastalığı, Hayvan Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele Programı Kitapçığı, 2010;16-21
132. Şenel EC, Ulutürk S, Boz C. Buzağılarda şap aşısı ile aşılama zamanının tespiti. Uluslar arası Şap Sempozyumu Ankara, 6-8 Haziran 1989, sayfa 45.
133. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü Raporları 2009,2010,2011
134. Terpstra C. Pathogenesis of foot and mouth disease in experimentally infected pigs. *Bull Off Int Epiz* 1972;77: 859-874.
135. Triantafilou K, Takada Y, Triantafilo, M. Mechanism of integrin-mediated virus attachment and internalization process. *Critical ReviewsTM in Immunology* 2001;21 (4): 311-322.
136. Tosh C, Sanyal A, Hemadri D, Venkataramanan R. Phylogenetic analysis of serotype A foot-and-mouth disease virus isolated in India between 1977 and 2000. *Arch Virol* 2002;147: 493-513.
137. Tufan M. Animal health authorities and transboundary animal diseases in Turkey. *J Vet Med* 2006; 53: 35-37.
138. Valarcher JF, Knowles NJ, Fernandez R, Davies PR, Midgley RJ, Statham B, Hutchings G, Newman, BJ, Ferris NP, Paton DJ. Global Foot-and-Mouth Disease Situation 2004;2003-2004.
139. Woodbury EL, Samuel AR, Knowles NJ, Hafez SM, Kitching RP. Analysis of mixed foot and mouth disease virus infections in Saudi Arabia prolonged circulation of an exotic serotype . *Epidemiol Infect* 1994;112: 201-211.
140. Woodbury EL, Iott MC, Brown CC, Salt J. Optimization of an insitu hybridization technique for detection foot and mouth disease virus in bovine tissue using digoxenin system. *Journal of Virological Methods*. 1995;91:89-94.
141. Uwizeye A, Muridahabi MM, Gafarasi IM. Study of Seroprevalence of Foot and Mouth Disease in Nyagatare And Gışagara Districts Of Rwanda Rwanda Animal Resources Development Authority 2010 (RARDA) Erişim :<http://www.rarda.gov.rw/> Erişim tarihi 05.02.2011
142. Yadin H. Small ruminants as FMD virus carriers. Rep. Of the Sess. Of the Stand. Tech. Comm. Eur. Comm. For the Cont. Of FMD, 1995;20-22 Sep, Vladimir, Russia.

143. Yolken RH. Solid phase immunoassays for the detection of viral disease. In: *Immunochemistry of viruses. The Basis for serodiagnosis and vaccines*. Ed. MHV van Regenmortel and A:R:Neutrath. Elsevier Science Publishers. 1985;9:121-138

Etik Kurul Raporu



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ
ETİK KURUL (SÜVFEK) KARARLARI



Toplantı Tarihi	27.11.2008	Toplantı Sayısı	2008/10	Karar Sayısı	2008/080
<p>Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Feridun ÖZTÜRK ve Veteriner Hekim Ömer Barış İNCE tarafından sunulan "Konya İlinin Güneydoğusunda Klinik Olarak Sağlıklı Koyun ve Sığırların Şap Hastalığı Yönünden Seroepidemiolojisinin Araştırılması ve Epidemiyolojik Önemi" başlıklı tez projesi beş üyenin katılımı ile yeniden değerlendirildi.</p> <p>Araştırmada Konya ili'nin güneydoğu bölgesinden aşısız, tek aşı, çok aşı, 0-1 ve 1-3 yaşlı erkek ve dişi cinsiyet gruplarına göre 500 büyükbaş ve 500 küçükbaş olmak üzere toplam 1000 adet çift tırnaklı hayvandan kan örnekleri alınacağı; araştırma süresinin 18 ay süreceği ve araştırma sonunda hayvanların yaşamlarına devam edeceği bildirilmektedir.</p> <p>Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Yönergesinin 12nci Maddesinde belirtilen "etik kurallara uygunluk esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.</p> <p>SÜVFEK Yönergesinde belirtilen "Araştırmacıların Sorumlulukları" ve "Hayvan Deneyleri ile İlgili Etik İlkeler" başlıkları altında yer alan kurallar saklı kalmak koşulu ile, projenin hazırlanmasında "Etik Kurul Yönergesi İlkelerine Uyulduğuna", ancak "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliğin" 13-1/b-c ve 13-3 Maddesi gereği özel yetiştiricilerden temin edilecek 1.000 adet çift tırnaklı ile ilgili olarak "işletme sahiplerinin 15-20 Kasım 2008 tarihli yazıları" ile hayvanlarının araştırma kapsamında kullanımına izin verdikleri de dikkate alınarak ve projenin hayvan kullanım etiği açısından "Uygun" olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.</p>					
 Prof. Dr. Aşkın YAŞAR Başkan		 Prof. Dr. İsmail ŞEN Başkan Yardımcısı			
 Prof. Dr. Feyzullah GÜÇLÜ Üye		Katılmadı Prof. Dr. Sevim KARAASLAN Konya Doğayı ve Hayvanları Koruma Derneği Üyesi			
 Prof. Dr. Vahdettin ALİ UNOK Üye		 Doç. Dr. H. Derya UMUCALILAR Üye		Katılmadı N. Dilek TOKUŞ Sivil Üye	

10. ÖZGEÇMİŞ

Ömer Barış İNCE 1979'da Karapınar/KONYA'da doğdu; ilk ve orta öğrenimini babasının öğretmen oluşu sebebiyle Acıpayam ilçesi ve Denizli merkezde tamamladı. Konya Veteriner Sağlık Lisesini birincilikle bitirerek “Veteriner Sağlık Teknisyeni” ünvanını ile mezun oldu. 1997 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesine girdi. 1999 yılında yatay geçişle Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesine geçerek 2002 “Veteriner Hekim” ünvanı ile mezun oldu. 1998 yılında Iğdır Tuzluca İlçe Tarım Müdürlüğünde Veteriner Sağlık Teknisyeni olarak memuriyet hayatına başladı. Sırasıyla Ankara İl Tarım Müdürlüğü, Personel Eğitim Merkezi ve Ziraî Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Konya İl Tarım Müdürlüğü, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Kütüphane ve Dokümantasyon Dairesi Başkanlığında teknisyen olarak çalışmıştır. Denizli Kale İlçesinde ve Şap Enstitüsü Müdürlüğünde veteriner hekim olarak çalışmıştır. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Dış İlişkiler ve AB Dairesi Başkanlığının 2005 yılında açmış olduğu Avrupa Birliği Uzman Yardımcılığı sınavını kazanarak 2008 yılında “AB Veteriner Harcamaları ve Çiftlik Hayvanlarının Salgın Hastalıklarında Risk Finansman Modeli” tezi ile Avrupa Birliği Uzmanı olmuştur. 2009 yılında Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumunun açtığı Uzmanlık sınavını kazanmıştır. 2010 yılında ise Tarım Bakanlığı Personeli görevde yükselme sınavını kazanarak Kontrol Şube Müdürü ünvanını kazanmış olup Iğdır İl Tarım Müdürlüğü Kontrol Şube Müdürü olarak görev yapmıştır. Halen Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumu Afyon İl Koordinatörlüğünde Uzman olarak çalışmaktadır. Hollanda Wageningen Üniversitesinde “Hayvan Sağlığı” eğitim kursuna katılmıştır. Merkezi Finans ve İhale Birimi, Kalkınma Ajanslarında ve Ulusal Ajans'da Bağımsız Proje Değerlendiricisi olarak görev almaktadır. Proje Hazırlama ve Uygulama Eğitimi Eğiticisi, Uzman Tarım Danışmanı ve Avrupa Birliği Uzmanı olarak Sivil Toplum Örgütlerinde çalışmaktadır. İyi derecede İngilizce bilmektedir. Evli ve bir çocuk babasıdır.

ADRES BİLGİLERİ

Adres: Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumu

Afyonkarahisar İl Koordinatörlüğü

Karaman İş Merkezi A Blok Kat :3 AFYONKARAHİSAR-TÜRKİYE

Tel : 0 272 214 10 88

Faks : 0 272 214 15 37

E-posta: incebaris@gmail.com