



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI
VVR-YL-2014-003**

**AYDIN, İZMİR VE UŞAK YÖRESİNDEKİ ATLARDA
EQUİNE HERPESVİRUS TİP 1 (EHV-1) VE
TİP 4 (EHV-4)'ÜN SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Yunus ÇUKUROVA

**DANIŞMAN
Prof. Dr. M. Tolga TAN**

AYDIN – 2014

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI
VVR-YL-2014-003**

**AYDIN, İZMİR VE UŞAK YÖRESİNDEKİ ATLARDA
EQUİNE HERPESVİRUS TİP 1 (EHV-1) VE
TİP 4 (EHV-4)'ÜN SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Yunus ÇUKUROVA

**DANIŞMAN
Prof. Dr. M. Tolga TAN**

AYDIN – 2014

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Viroloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Yunus ÇUKUROVA tarafından hazırlanan “**Aydın, İzmir ve Uşak Yöresindeki Atlarda Equine Herpesvirus Tip 1 (EHV-1) ve Tip 4 (EHV-4)’ün Serolojik Olarak Araştırılması**” başlıklı tez, / / 2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

Prof. Dr. M. Tolga TAN

Yrd. Doç. Dr. Nural EROL

Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ

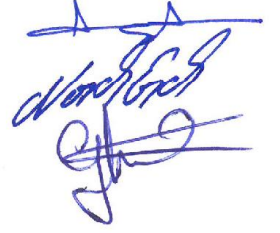
Üniversitesi :

Adnan Menderes Üniversitesi

Adnan Menderes Üniversitesi

Adnan Menderes Üniversitesi

İmzası :



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans Tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Atların solunum sistemi hastalıklarında birçok patojen rol almakta ve sektörel-endüstriyel at yetiştiriciliğinde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Atların solunum sistemi enfeksiyonlarında primer etiyolojik etkenlerin viral ajanlar olduğu kabul edilmektedir (Barrandeguy ve ark., 1999). Viral ajanlar içinde özellikle *Herpesviridae* ailesi çok önemli yer tutmaktadır. Herpesviruslar etkilenen hayvanlarda primer etken olarak abort, meningoensefalitis ve genellikle hazırlayıcı etken olarak solunum sistemi hastalıklarına sebep olmaktadır. Bunun yanında en tehlikeli özellikleri, konak hayvan vücudunda latent enfekte virus olarak kalıp uygun şartlarda aktive olup, hastalığın at popülasyonları arasında virus saçılımı nedeniyle yayılmasını sağlarlar.

Bu çalışmada en önemli viral ajanlardan Equine Herpesvirus-1 (EHV-1) ve Equine Herpesvirus-4 (EHV-4)'ün bölgemizdeki yaygınlığı hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır. Herpesvirusların yakın antijenik ilişkileri nedeniyle teşhisi konvansiyonel yöntemlerle yapılamadığından, çalışmada serolojik olarak ELISA yöntemine başvuruldu.

Çalışma kapsamında Aydın, İzmir ve Uşak illerinde, halk elinde bulunan kayıtsız atlardan koagülanlı kan örnekleri toplanmıştır. Uygun yöntemlerle serumları çıkarılıp test edilerek elde edilen verilerle, atların solunum sistemi hastalık komplekslerinin bu en önemli bileşenlerinin, ülkemizin batısında bulunan bu üç ilindeki serolojik durumu değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonunda ulaşılan veriler, EHV-1 ve EHV-4 gibi iki önemli viral patojenin neden olduğu yavru kayıpları ve performans düşüklüğünün giderilmesine yönelik aşı ve seroepidemiolojik çalışmalara ışık tutacaktır.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Etiyoloji	2
1.1.1. Genom Yapısı ve Gen Fonksiyonları	3
1.1.2. Viral Proteinler ve Antijenik Karakterleri.....	4
1.2. Epidemiyoloji.....	6
1.2.1. EHV-1 EHV-4 Yayılımı.....	7
1.2.2. Latentliğin Oluşumu	8
1.2.3. Reaktivasyon	8
1.3. EHV-1 ve EHV-4 Enfeksiyonlarının Patogenezi.....	10
1.3.1. Solunum Yolu ve İlgili Dokular.....	10
1.3.2. Lökositler Viremi.....	11
1.3.3. Gebe Uterus ve Fötüs.....	12
1.3.4. Merkezi Sinir Sistemi.....	14
1.4. Klinik Semptomlar.....	14
1.4.1. Respratorik Hastalık.....	14
1.4.2. Abortuslar.....	15
1.4.3. Neonatal Tayların Durumu.....	16
1.4.4. Aygırların Durumu.....	17
1.4.5. Nörolojik Bozukluklar.....	17
1.4.6. Okuler Bozukluklar.....	18
1.4.7. Pulmoner Vaskulotropik Enfeksiyon.....	18
1.5. EHV-1 ve EHV-4 Enfeksiyonlarının Patolojisi.....	18
1.5.1. Respratorik Hastalık.....	18
1.5.2. Abortuslar.....	19
1.5.3. Neonatal Tay Sendromu.....	20

1.5.4. Nörolojik Bozukluklar.....	20
1.6. Diagnoz	21
1.6.1. Ayırıcı Tanı.....	23
1.7. Kontrol	24
1.7.1. Yönetimsel Kontrol.....	26
1.7.2. Aşılama İle Kontrol.....	27
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
2.1. Gereç.....	30
2.1.1. Kan Serum Örnekleri.....	30
2.1.2. Enzyme Linked İmmunosorbent Assay (ELISA).....	32
2.2. Yöntem.....	32
2.2.1. Kan Serum Örnekleri.....	32
2.2.2. EHV-1 ve EHV-4 için ELISA.....	32
2.2.2.1. Konjugatın Hazırlanması	32
2.2.2.2. Değerlendirme.....	33
3. BULGULAR.....	34
4. TARTIŞMA.....	37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40
ÖZET.....	41
SUMMARY.....	42
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	51
TEŞEKKÜR.....	52

KISALTMALAR DİZİNİ

CFT:	Komplement Fiksasyon Test (Complement Fixation Test)
CPE:	Sitopatik Efekt (Cytopathic Effect)
DNA:	Deoxyribonucleic Acit
ED:	At Deri (Equine Dermis)
EEL:	At Embriyonik Akciğer (Equine Embryonic Lung)
EFK:	At Fötal Böbrek (Equine Foetal kidney)
EHV:	At Herpesvirus (Equine Herpesvirus)
ELISA:	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Gp:	Glicoprotein
ICP:	Enfekte Hücre Polipeptitleri (Infected Cell Polypeptides)
IFT:	Immunflorasan Test
MDBK:	Madin Darby Bovine Kidney
ORF:	Open Reading Frame
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
RK:	Tavşan Böbrek (Rabbit Kidney)
SPF:	Spesifik Patojenlerden Ari (Specific Pathogen Free)
VN:	Virus Nötralizasyon (Virus Neutralization)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1. EHV-1 ve EHV-4 Laboratuvar Diagnoz Protokolleri.....	25
---	----

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1. Mevkilere Göre Toplanan Örnek Sayıları.....	31
Çizelge 2. İller Bazında Toplanan Örnek Sayıları.....	31
Çizelge 3. Örneklerin Yerleşim Tablosu.....	33
Çizelge 4. Mevkilere Göre EHV-1 ve EHV-4 Seropozitiflik Değerleri.....	34
Çizelge 5. İllere Göre EHV-1 ve EHV-4 Seropozitiflik Değerleri.....	35
Çizelge 6. Çalışma Geneli Cinsiyete Göre EHV-1 ve EHV-4 Seropozitiflik Değerleri.....	35

1.GİRİŞ

Herpes, eski yunancada sürünerek ilerlemek anlamına gelen ‘herpein’ sözcüğünden türemiş latince bir kelimedir. Bu tanım pek çok herpesvirus tarafından oluşturulan kronik, latent ve tekrarlayan enfeksiyonların karakteristiğini açıklar.

Herpesviruslar, omurgalıları grubunun tüm üyelerini ve bazı omurgasızları enfekte edebilir. Yaklaşık 120 kadar herpesvirusun izolasyonu ve identifikasyonu tamamlanmıştır. *Herpesviridae* familyası üç soya ayrılmıştır. Bunlardan, başlıca memelileri ve kuşları etkileyen herpesvirus soyu; doku tropizmi, patojenite ve doku kültürü davranışlarına göre, üç altgruba (α , β ve γ) ayrılır (McGeoch ve ark 2000, Davison ve ark 2002).

Equine herpesviruslar dünyadaki evcil atların (*Equus Caballus*) çoğunun hayatları boyunca en az bir kez karşılaştığı ve onları latent enfekte bıraktığı, solunum sistemi enfeksiyonu ve myeloensefalitis gibi nörolojik bozukluklarla karakterize bir hastalık tablosu oluşturan, neden olduğu sporadik ve endemik abortlar sonucu, ekonomik zararlar oluşturan önemli bir patojendir (Allen ve Bryans 1986).

Equidelere ait sekiz herpesvirus identifiye edilmiş olup, bunların beşi *Alphaherpesvirinae* üçü *Gamaherpesvirinae* alt ailelerine aittir. Atlar alphaherpesvirus tip 1 (EHV-1), 3 (EHV-3 coital exanthemavirus), 4 (EHV-4) ve gammaherpesvirus tip 2 (EHV-2) ve 5 (EHV-5)’in doğal taşıyıcıları iken, eşekler EHV-1 homologu olan asinine herpesvirus tip 3 (AHV-3), EHV-3 homologu olan asinine herpesvirus tip 1 (AHV-1) ve asinine herpesvirus tip 2 (AHV-2)’nin doğal taşıyıcısıdır (Browning ve Studdert 1987, Crabb ve Studdert 1995, Roizman 1996). EHV-1 ve EHV-4 klinik, ekonomik ve epidemiyolojik olarak en önemli patojenlerdir. İki virus arasındaki antijenik farklılıklar 1959 yılında belirlenmesine rağmen, tam olarak ayırımları, moleküler analizlerin gelişmesiyle 1981 yılında gerçekleşmiştir (Sabine ve ark 1981, Studdert ve ark 1981). Günümüzde yaşanan pek çok vakada, abortif ve paralitik formu birlikte seyretmektedir (Allen 2002). Özellikle etkenin neden olduğu abortlar, nörolojik bozukluklar ve solunum sistemi enfeksiyonlarına bağlı olarak şekillen verim kayıpları ve performans düşüklüğünden dolayı yarış atı yetiştiriciliğinde önemli ekonomik zararlar meydana getirmektedir (Gilkerson ve ark 1999).

Virus at endüstrisinde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. At populasyonlarında EHV-1 enfeksiyonlarının yayılma riski büyüktür. Genç atlarda solunum sistemi hastalıkları, gebe kısıraklarda abortlar, neonatal taylarda ölümler ve yetişkin atlarda nörolojik rahatsızlıklara neden olabilmektedir. Bu nedenle EHV enfeksiyonlarının yayılmasının sınırlandırılması ya da önlenmesi için araştırmacılar tarafından pratik ve etkili yollar geliştirilmektedir.

At herpesviruslarının, viserotropik alt gruplarının keşfinden beri, fiziko-kimyasal karakterlerini ve moleküler yapılarını anlamada büyük ilerleme kaydedilmiştir. Herpesviridae familyasının tüm diğer üyeleri gibi EHV-1 ve EHV-4 de tarih boyunca atlarla birlikte değişip gelişerek etkin bir viral patojen haline gelmiştir. Bu durumun gelişmesinde, etkenin atlarda latent kalabilmesinin rolü büyüktür. Biyolojik açıdan, tektırnaklıların respiratorik mukoza epiteline tropizm, latent virus enfeksiyonları, immunsupresyon, antiviral ajanlara duyarsızlık, patojenik potansiyelleri ve at hareketlerindeki olumsuz etkileri dikkate alındığında, dünya at populasyonu açısından bu konunun önemi anlaşılabilmektedir.

EHV-1 ilk olarak, ABD'nin Kentucky eyaletinde kısıraklarda şekillenen abortların etkeni olarak tanımlanmıştır. İlerleyen yıllarda, dünya genelinde yaygın bir enfeksiyon olarak görüldüğü belirlenmiştir (Gilkerson ve ark 1999). Türkiye'de ise, son yıllarda atlarda abort ve ölümlere neden olan EHV salgınları Türk atcılık endüstrisi için sorun olmaya devam etmektedir (Tekelioğlu ve ark 2006). Türkiye'de EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının seroprevalansının araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ataseven ve ark (2009) Türkiye'nin farklı bölgelerinde halk elinde yetiştirilen at, katır ve eşeklerde EHV-1 seroprevalansını sırasıyla %14,5, %37,2 ve %24,2 oranlarında bildirmişlerdir. Aynı çalışmada atlarda EHV-4 seroprevalansı %81,7 olarak bildirilmiştir. Gür ve Yapıcı (2008), Türkiye'nin Orta ve Batı bölgesinde yer alan İzmir, Konya, Afyonkarahisar ve Eskişehir illerinde halk elinde yetiştirilen atlarda yaptıkları çalışmada EHV-1 ve EHV-4 seroprevalanslarını sırasıyla %3,7 ve %56,9 olarak tespit etmişlerdir.

1.1. Etiyoloji

EHV-1 ve EHV-4 evcil tek tırnaklıların herpesviruslarının, *Alphaherpesvirinae* alt ailesinin üyeleridirler. Aynı gruba dahil veteriner hekimlik açısından önemli diğer viruslar;

Bovine Herpesvirus-1 ve 5, Caprine Herpesvirus-1, EHV-3, Felid Herpesvirus-1 ve Suid Herpesvirus-1'dir (Davison ve ark 2000). Virion yapısı ve replikasyon stratejileri diğer tüm herpesviruslar gibidir. EHV-1 ve EHV-4 birbiriyle yakın ilişkilidir; ancak antijenik, genetik ve patojenik açıdan EHV-2, EHV-3 ve EHV-5'den ayrılırlar (Allen ve ark 1997).

EHV-1 ve EHV-4 dış ortamda labil olup enfektivitesi, yağ çözücüler, deterjanlar, ısı ve veteriner pratikte kullanılan genel dezenfektanlarla kolayca ortadan kaldırılır. Buna rağmen deneysel çalışmalarda, ortam ısısında 7 gün ve uygun şartlarda atların kılları üzerinde 35 gün kadar canlı kalabildiği bildirilmiştir (Doll ve ark 1959).

EHV-4'ün doğal konakçı spektrumu atlarla sınırlıyken, EHV-1 evcil sığır ve laboratuvar farelerini de enfekte edebilir (Awan ve ark 1990).

Virus hücre kültüründe sitopatik etki yaparak ürer (Roizman 1996). Etkenin üretilmesi için özellikle Primer at akciğer, böbrek ve testis hücre kültürleri kullanılır. Yapılan deneysel çalışmalarda etken, sığır orjinli Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) ve tavşan orjinli Rabbit Kidney (RK) hücre kültürlerinde üretilebilmiştir (Hasebe ve ark 2002).

1.1.1.Genom Yapısı ve Gen Fonksiyonları

EHV-1 ve EHV-4 genomlarının nükleotid sekansları son zamanlarda determine edilmiştir (Telford ve ark 1998). EHV-1 ve EHV-4 genomu; linear, çift zincirli DNA molekülü olup, sırasıyla, 150.2 ve 145.6 kbp molekül ağırlığında ve G+C oranları sırasıyla %56.7 ve %50.5 dir. Genomlar 76 ORF (open reading frame) bölgesi içerir. EHV-1 genomundaki dört ORF bölgesi (64, 65, 66, 67) ve EHV-4 deki üç bölge (64, 65, 66) tekrarlanan sekanslar içinde eşlenmişlerdir.. Genel olarak bu virusların gen düzeni diğer Alphaherpesvirus'larla benzerdir.

EHV-1 ve EHV-4 genomlarında, diğer herpesvirus sekanslarında homoloğu olmayan beş gen bölgesi (1, 2, 67, 71, 75) bulunur. Bu genlerin fonksiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte, EHV-1 ve EHV-4'ün atlara ve diğer tek tırnaklılara adaptasyonunu sağlayan farklı biyolojik özelliklerinde rol aldıkları tahmin edilmektedir.

EHV-1 ve EHV-4 ORF'lerinin eksprese ettikleri translasyon ürünlerinin tahmini fonksiyonları aşağıda 4 kategoride belirtilmiştir.

- 1- Struktural nukleokapsit polipeptidleri ve tegument
- 2- Virion zarfıyla ilgili transmembran glikoproteinleri
- 3- Transaktivatör ve transkripsiyonel regülör proteinler
- 4- DNA replikasyon ve paketlenmesi için gerekli büyük bir viral proteinler düzeni yeni virionların ekstraselüler çıkışı (Telford ve ark 1992).

EHV-1 ve EHV-4 doğal konaklarında genetik olarak oldukça stabildir. 50 yıllık bir zaman diliminde dünyanın farklı bölgelerinden elde edilen virus izolatlarının genomik mukayesesinde, EHV-1 için çok az sekans varyasyonu olduğu, EHV-4 suşları arasında ise biraz daha fazla genetik varyete olduğu saptanmıştır.

Atlarda, EHV-1 ve EHV-4'ün saha izolatları arasında geniş virulens farklılıkları gözlenmektedir (Mumford ve ark 1994). Ab4 ve Army-183 gibi hipervirulent EHV-1 suşları, atlarda inokulasyondan sonra yüksek endoteliotropik özellik göstermekte, yüksek oranda abort ve nörolojik hasar oluşturmaktadır (Edington ve ark 1991). Virulensteki bu tip farklılıkların genetik temeli henüz bilinmemektedir.

EHV-1 ve EHV-4 arasındaki genetik farklılık, farklı restriksiyon endonükleaz aktivitesine, biyolojik olarakta antijenitelerinde ve atlar için virulens derecelerinde farklılığa sebep olmaktadır.

1.1.2. Viral Proteinler ve Antijenik Karakterleri

Saflaştırılmış EHV-1 ve EHV-4 virionları yapısal olarak oldukça kompleks olup, yaklaşık 30 farklı spesifik polipeptid içerir (Meredith ve ark 1989, Perdue ve ark 1974). Bu polipeptidlerden altısı nükleokapsid ve öz yapıda, yirmisi virion partikülünün amorf tegumentinde lokalize olmuştur. Virion zarı içinde gömülü en az 11 glikozillenmiş polipeptid bulunur. Bunlar pozisyonel ve tahmini fonksiyonları itibariyle Herpes simplex virus'a benzer. EHV-1 ve EHV-4 virionlarında en bol bulunan proteinler arasında, büyük kapsid proteini, tegument proteini (gp10) ve çokça bulunan beş glikoprotein (gB, gC, gD, gM ve gp300) sayılabilir.

EHV-1 ve EHV-4 zar glikoproteinleri hücreye girişte önemli rol oynar. Bunlar aynı zamanda hücre tropizminin, hücreden-hücreye yayılışın, virus patojenitesinin ve konak canlının humoral immun cevabını uyaran kritik determinantlarıdır (Bridges ve ark 1988). Yapılan çalışmalar EHV-1 ve EHV-4 ile enfekte atlarda, serolojik antiviral cevap için immundominant antijen olarak glikoprotein B, C ve D'nin önemini göstermiştir (Allen ve ark 1992).

Beş EHV-1 glikoproteini (gB, gD, gH, gL ve gK) virus replikasyonu için gereklidir. Diğer altısı (gC, gE, gG, gI, gM ve gp300) hücre kültürü virus gelişimi için önemsizdir. Bu önemsiz zarf glikoproteinleri, virulent saha EHV-1 ve EHV-4 izolatlarında görülmekte olup, doğal konaklarındaki viral enfeksiyon prosesleri için önemli olduğuna inanılmaktadır (Matsumura ve ark 1998). Örneğin EHV-1 gE/gI glikoprotein kompleksi, hücreden-hücreye etkili bir virus yayılımı için gereklidir. Ayrıca gM ve gp300'den yoksun viruslarda zarın oluşumunda büyük zararlar görülmektedir (Rudolph ve ark 2002).

EHV-1 ve EHV-4 glikoprotein ve yapısal virion proteinleri, elektroforetik profilleri açısından benzer, fakat identik değildir (Turtinen 1983).

Enfekte hücrelerde otuz EHV-1 polipeptidi belirlenmiştir. Bunlar düzenleyici proteinler, DNA replikasyon enzimleri (DNA polimeraz, Ribonükleotid redüktaz, timidin kinaz vb.), virion morfogenetik fonksiyonlu proteinler ve yapısal proteinlerdir (McGeoch ve ark 1993).

EHV-1 enfeksiyonu sırasında, enfekte hücre polipeptidlerinin sentezi (infected cell polypeptides, ICPs) erken ve geç viral proteinlerin sıralı ekspresyonu şeklinde düzenlenir (Caughman ve ark 1988). Erken viral proteinler transkripsiyonel düzenleyici ve replikasyon faktörlerini içerirler. Geç viral proteinlerin çoğu virion yapısal proteinleri olarak işlev görür.

EHV-1 ve EHV-4 arasındaki antijenik ilişki, antikor kaynağı olarak poliklonal serum kullanılan (Virus Nötralizasyon, ELISA, CF, İmmunblot ve İmmunopresipitasyon) immunolojik testlerdeki kros-reaksiyonları nedeniyle açıktır. Monoklonal antikor kullanılarak identifiye edilen EHV-1 ve EHV-4 glikoproteinlerinin çoğunun, tip-spesifik

prosesleri ve ortak tip serolojik epitopları gösterilebilmektedir (Crabb ve ark 1991). Atlarda tip-spesifik serolojik cevabı ortaya çıkaran glikoprotein G bir istisnadır (Crabb ve ark 1995). Tip-spesifik viral epitopların tanınmasını sağlayan monoklonal antikor kullanılarak yapılan immunojenik testler (İmmunflorasan test vb.) EHV-1 ve EHV-4 izolatlarının in-vitro ayırımında çok uygun yöntemlerdir (Yeargan ve ark 1985).

EHV-1 ve EHV-4 izolatları tek bir nötralizan serotipten oluşur. Çok küçük tip-içi antijenik varyasyon, monoklonal antikor kullanılan detaylı incelemeler sonucu ortaya çıkabilir.

1.2. Epidemiyoloji

Etkene duyarlı türler arasında atlar (*Equus Caballus*) ve eşekler (*Equus Asinus*) ilk sırayı alır. Virusun duyarlı türlerde yayılması nasal akıntı, aerosol yol, enfekte hayvan, yem ve kontamine ekipmanla temas sonucu gerçekleşir. EHV vücuda girdikten sonra burun ve gırtlak epitelinde pasajlanır. Inkubasyon süresi 5-7 gündür (Walker ve ark 1998). Aborte olmuş fötüs materyali büyük miktarda enfektif virus taşır.

Yapılan virolojik çalışmalar, EHV-1'in özellikle kış aylarında yaygın respiratorik sistem epidemilerine yol açtığını ortaya koymuştur (Yasunaga ve ark 1998). Gerek tek başına, gerekse EHV-4 ile ortak oluşturduğu enfeksiyonlar bu güne kadar Avustralya, İngiltere, Japonya, Yeni Zelanda, ABD, Çin ve Kanada başta olmak üzere birçok ülkede tespit edilmiştir (Whalley ve ark 2003).

EHV-1 ve/veya EHV-4 seroprevalansı için farklı at popülasyonlarında yapılan çalışmalar, yetişkin atlarda antikor varlığını göstermiştir (Adeyefa 1992).

EHV-1 ve EHV-4'ün epidemiyolojik döngüsünde etkili unsurlar şunlardır;

- Yaygın genç enfeksiyonu ve düşük klinik belirti gösteren erişkin atlar,
- Latent enfekte, taşıyıcı atların yüksek prevalansı,
- Yeni jenerasyonlara etkili ve devamlı virus geçişine izin veren, taşıyıcı hayvanlardan virus yayılış sıklığı.

EHV-1 ve EHV-4 tarafından oluşturulan primer enfeksiyonun erken safhasında olanlar tam anlamıyla belirlenememektedir. Bu vakalar, ömür boyu virus taşıyacak atların, latent enfeksiyonlarıyla sonuçlanır (Edington ve ark 1985). EHV-1 ve EHV-4 hayvan vücudunda uykudadır. Enfeksiyonların reaktivasyon potansiyeli ve yayılımı, virusların bu hayati özelliği sayesinde. Bir çalışmada, eti için kesilen 40 atın respiratorik sistemini direne eden lenf nodüllerinin %60'ında, latent EHV-1 ve EHV-4 virusuna rastlandığı bildirilmiştir (Edington ve ark 1994). Bu iki virus ile latent enfekte atların varlığı ve yayılımı PCR (Polymerase Chain Reaction) ile kolaylıkla belirlenebilmektedir (Borchers ve ark 1997).

1.2.1. EHV-1 ve EHV-4 Yayılımı

Her iki virus için atlara başlıca giriş yolu, virus barındıran respiratorik sekresyon, hava ve kusmuk ile temas eden üst solunum yollarıdır. Duyarlı hayvanlara virusun bulaşması, akut ya da reaktif EHV respiratorik sistem hastalıklı, virus saçan atlarla veya yoğun enfekte virus taşıyan atık fötüsle teması sonucu gerçekleşir (Burrows 1970). Atların solunum yollarından enfekte virus yayılımı, etkili ve uzun sürelidir. Safkan atlar EHV-1 ve EHV-4'e ilk kez maruz kaldıklarında enfeksiyonu takip eden 15 gün virusu solunum mukusları içinde yayabilirler (Gibson ve ark 1992). Bu şekilde oluşan primer enfeksiyonu takiben, nazal mukus içindeki virus saçılımı, her iki virus için 10^6 pfu / swab kadar olabilir (Burrows ve Goodridge 1972). Daha önce virusa maruz kalmış veya latent virus reaktivasyonlu atların solunum yollarından virus yayılımı daha kısa ve küçük miktardadır (10^2 - 10^5 pfu / swab) (Burrows ve Goodridge 1975). İki virus da oldukça kontagiyöz olup, yakın temasta bulunan hayvanlarda enfeksiyon oranı %100'ü bulabilir.

Tip-spesifik seroepidemiolojik çalışmalar, taylorların hayatlarının ilk yılında virusla karşılaştığını göstermektedir (Edington ve ark 1994). Doğal enfeksiyonlar sıklıkla subklinik. Taylar süttten kesim öncesi veya sonrasında EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarıyla ilk kez karşılaşabilir. EHV-1 enfeksiyonu 30 günlük taylorlarda bile tespit edilmiştir. Bir yaşlı taylorların %30-%60'ının, virusların bir ya da ikisiyle karşılaştığı bildirilmiştir.

1.2.2. Latentliğin Oluşumu

Atların solunum yolu enfeksiyonlarının ilk litik fazından sonra EHV-1 ve EHV-4, lenfositlerde, lenf dolaşımında, lenf nodüllerinde ve aynı zamanda trigeminal gangliyonların duyarlı sinir hücrelerinde latent duruma geçer.

Latent EHV-1, $CD8^+$ T-lenfositler içersinde gizlenir ve periferik mononükleer hücreler arasındaki latent enfekte hücre sıklığı 1/50.000'dir (Chesters ve ark 1997). Diğer Alphaherpesviruslarda olduğu gibi latent EHV-1 ve EHV-4 genomundan transkripsiyon sınırlıdır. Latent enfekte hücreler sadece erken uyarı viral gen (ORF64) ya da erken bir regülatör gen (ORF63) ile transkribe edilir (Baxi ve ark 1995).

EHV-1 ve EHV-4'ün konak hücreleriyle latentlik ilişkilerinin, moleküler ve fizyolojik mekanizmaları bilinmemektedir. Viremik lenfositlerde EHV-1 genomu transkripsiyonel olarak aktiftir. Füzyojenik glikoproteinler üretilir ve hücre yüzeyine salınırlar. Virus içeren bu lenfositler immün sistemin çöküşünde baş aktördürler.

Latent EHV-1 barındıran lenfositlerde viral protein sunumu bulunmayıp, immün savunma mekanizmalarına karşı direnç gösterirler (Chesters ve ark 1997). Latent enfekte lenfositlerde enfektif virus meydana gelmesi zordur ve hücre kültürü pasajlarıyla oldukça uzun uğraş gerektirir (Edington ve ark 1994). Enfeksiyon sonrası latentliğe geçiş bilinmemesine rağmen, viremik lenfositlerde azalma vardır.

Latent EHV-1 ve EHV-4, solunum sistemini direne eden lenf nodülleri, lenf dolaşımı ve trigeminal gangliyonlardan toplanan, uygun indikatör hücrelerin işlenmesi yoluyla araştırılabilir (Slater ve ark 1994). Latent viral DNA aynı dokulardan PCR ile araştırılabilir (Brochers ve ark 1997).

1.2.3. Reaktivasyon

Atlarda latent EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının reaktivasyonu, transport ve süt emme dönemi gibi durumlarda gözlenebilmektedir. Ayrıca deneysel olarak kortikosteroid kullanılarakda başarılabilmektedir. (Browning ve ark 1988). Atların modern yönetim ticari

uygulamalar sonucu, özellikle yarışlar gibi yoğun stres oluşturuıcı durumlara maruz kalması, sık sık latent virus reaktivasyonuna sebep olmaktadır. Reaktivasyon sonrası solunum yolu hastalıkları sık meydana gelmekte ve böyle atlar ‘sessiz virus’ saçıcısı olarak kabul edilmektedir (Edington ve ark 1985). Bu durum yönetim zorluklarını beraberinde getirmekte ve yeni EHV vakalarını indüklemektedir (Burrows ve Goodridge 1984).

Atların T-lenfositleri içindeki latent EHV-1 viruslarının reaktivasyon sürecinde, lenfosit popülasyonuna geçiş adımları, latentliğin oluşumuyla ilgili adımlarla zıttır. Burada, latent EHV-1 genomu taşıyan lenfositlerin küçük bir bölümünde, viral DNA transkripsiyonunun bir örneği canlandırılmıştır. Füziojenik viral glikoproteinler eksprese edilir ve bunlar lenfosit yüzeyinde görülür. Böylece enfektif virusların, viremik lenfositlere geçişı gerçekleşir (Browning ve Bulach 1988). Viral transkripsiyon ile sonlanan çok erken viral genlerin (ORF64) aktivasyonu sürecindeki kusursuz moleküler olaylar bilinmemektedir (Purewal ve ark 1992).

Trigeminal gangliyon ve/veya lenfositlerden, latent EHV-1 veya EHV-4 reaktivasyonu, nazofarenks yüzey epitelinden enfektif virus salınımıyla sonuçlanabilir (Slater ve ark 1994). Bu şekilde virus salınımı ve birikimi, uygun hücrelerle birleşmeyi gerektirmektedir. Viremik lenfositlerin, uygun vasküler endotelial hücrelerle birleşme kapasiteleri, reaktive virus dönüşümü için bir mekanizma sağlar. Nazofarengeal epitelyumun immun durumuna bağlı olarak, litik bir EHV-1 veya EHV-4 enfeksiyonu, reaktivasyondan sonra solunum yolu mukozasında meydana gelebilir. Bu süreç çevresel enfektif virus saçılımıyla sonuçlanabilmektedir (Slater ve ark 1994).

Reaktivasyonu takip eden hücresel viremi, uterusu yayılarak potansiyel abortusa, merkezi sinir sistemine geçerek nörolojik hastalık tablosuyla sonuçlanabilir. Abortlara sebep olan başka bir reaktive EHV-1 kaynağı, uterus endometriumu çevresindeki lenfositlerdir. Bunlar enfektif virusu, uterus endometriumuna direkt transfer edebilir. Böylece aborta sebep olan olaylar silsilesi başlamış olur. Bu yüzden EHV-1 abortusları litik respiratorik enfeksiyon veya hücresel viremi olmadan da meydana gelebilmesi muhtemeldir.

EHV-1, trigeminal gangliyonlar dışında, lenfositlerden reaktive olduğu bilinen, alphaherpesvirusların ilk üyesi olarak tanımlanmıştır. Yapılan invitro çalışmalarda,

lenfositlerden EHV-1 reaktivasyonunun daha hızlı olduğu saptanmıştır (Chesters ve ark 1997). EHV-4'de ise aksine, trigeminal gangliyonlardaki latentlik sũreçleri, diğerk variselloviruslara (Bovine Herpesvirus-1, Suid Herpesvirus-1) benzer şekilde meydana gelir (Brochers ve ark 1997).

Latentlik ve reaktivasyon dũngũsũ, EHV-1 abortlarının epidemiyolojisi açısından çok önemlidir. EHV-1 abortlarının geneli, latent virus reaktivasyonuyla gelişen respiratorik hastalıktan kaynaklanır ve abortların yaşandığı gruplardaki boş kısırakları da etkiler (Doll ve Bryans 1963). Bu şekildeki EHV-1 reaktivasyonları, deneysel intranazal virus inokulasyonunu takip eden hũcre sel viremiden haftalar ya da aylar sonra oluşan abortları da açıklar (Del Piero ve Wilkins 2001).

1.3. EHV-1 ve EHV-4 Enfeksiyonlarının Patogenezi

1.3.1. Solunum Yolu ve İlgili Dokular

EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonu ve replikasyonu ilk önce, enfektif aerosollerin inhalasyonu ve/veya enfekte materyalle teması takiben, ũst solunum yolunun mukoza epitellerinde meydana gelir (Patel ve ark 1982). EHV-1 aynı zamanda tahminen enfekte aerosolle temas sonucu konjunktiva epitellerini de enfekte eder. Virulent EHV-1 ile deneysel intranazal enfeksiyondan en erken 12 saat sonra bronş, trakea ve nazofarenksteki enfekte epitelyal hũcreler immunperoksidaz boyama ve virus izolasyon teknikleriyle belirlenebilir (Kydd ve ark 1994). Solunum sisteminin epitelyal enfeksiyonunun kontrol edilemez ilerleyişi, nazofarengeal mukozada çoklu erozyonların oluşumuyla sonuçlanır ve dejenere epitel hũcreleri, lokal lenfosit, monosit ve nazal damar endotel hũcrelerinden viral antijen ekspresyonu ile sonuçlanır.

EHV-1 solunum sistemi epitelini hızlı bir şekilde geçerek lamina propriadaki hũcrelere yayılır. Bu yũzden 24 saat içinde, solunum yoluyla ilgili lenf nodũllerinin paraneşim ve sinuslarında enfekte mononũkleer lökositler grũlebilir (Kydd ve ark 1994). Viral enfeksiyonun önemli ikinci bir amplifikasyonu, lkositer viremi sonucunda, vaskuler dolaşımdan lenf damarları yoluyla, enfekte lökositlerin ũretildiğı lenf nodũllerinde

gerçekleşir. Enfeksiyon buradan gebe uterus ve merkezi sinir sisteminin damar epitellerini içine alan replikasyon alanlarına yayılır.

Enfeksiyon sonrası 2-13 günler arası akciğerlerdeki lökosit ve endotel hücrelerinde, epitelyal hücre enfeksiyonu gözlenebilir (Kydd ve ark 1994). Nazal ve konjunktival enfeksiyonun başlangıç safhasında, EHV-1'in trigeminal nöronlara geçişi gerçekleşir. Virus enfeksiyon sonrası 48 saatte trigeminal gangliyonlara ulaşır (Slater ve ark 1994). EHV-1 genellikle primer enfeksiyonun üçüncü haftası içinde solunum sisteminde ortadan kalkar (Mumford ve ark 1994).

EHV-4'ün patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak solunum sistemi ve ilgili lenfoid sistemi enfekte eden EHV-1 ile muhtemelen aynı paralellikte olduğu sanılmaktadır. Bununla beraber EHV-4'ün patogenezi, viral replikasyonun uzunluğu ve verdiği doku zararı, EHV-1'den çok daha fazladır. EHV-1'in tersine EHV-4'ün sebep olduğu diseminasyon, lokal lenf nodülleriyle sınırlıdır (Patel ve ark 1982). EHV-4 enfeksiyonlarının pek çoğu, abort ve nörolojik bozukluk için gerekli hücrel viremi ve endotelyal enfeksiyonla sonuçlanmaz. Bununla birlikte bazen hücrel EHV-4 viremisinin görülebildiği de bildirilmektedir (Matsumara ve ark 1992). Yapılan bir çalışmada, bir tayda EHV-4'ün neden olduğu doğal pnömoni vakasına ilaveten aborte fetuslarda EHV-4 endotelyal hücre enfeksiyonu saptanmıştır (Blunden ve ark 1998). EHV-4 virusu genellikle primer enfeksiyonun başlangıcını takip eden 7-24 gün içinde ve enfeksiyonun bitiminden 2-7 gün sonra solunum sisteminden atılır.

1.3.2. Lökositler Viremi

EHV-1 respiratorik enfeksiyonun önemli iki sonucu, lökositler bir viremi gerektiren abort ve nörolojik hastalıklardır. Bunun için virusun solunum sisteminden merkezi sinir sistemine ve reproduktif sisteme taşınması gerekmektedir (Bryans 1969). EHV-1 viremi başlıca CD5⁺/CD8⁺ T-lenfositlerini kapsar (Lunn ve ark 1991). Bu durum, enfekte solunum sistemini direne eden lenf nodüllerinde, EHV-1 replikasyonunun ikincil alanlardan kan ve lenf dolaşımına lenfosit salınımı sonucunda gerçekleşir (Kydd ve ark 1994). Lenfositlerin EHV-1 enfeksiyonuna yatkınlığı, lenfoblastlara aktivasyon sağlayan mutojen veya antijenlerce arttırılabilir (Dutta ve ark 1980). Serbest virus kanda çok nadir

bulunur. Dolaşım sisteminde, enfekte lökositler endotelyal hücrelere (henüz tam olarak bilinemeyen bir biçimde adhezyon molekülleri, sitokinler ve hormonlarca) yapışır (Smith 1998).

Deneysel intranazal EHV-1 inokulasyonunu takiben, geç gebelik dönemindeki predispoze kısırakların yaklaşık %85'inde lenfositer viremi gözlenmiştir (Bryans 1978). Hücresel viremi ise abortlar için bir gerekliliktir. Ancak, gebeliğin son üç aylık periyodundaki kısıraklarda bile, viremiyi takiben abortların oluşması şart değildir. Yapılan bir çalışmada, geç dönem enfekte olan 156 kısırağın sadece %42'nin viremiyi takiben abort yapmıştığı bildirilmiştir (Burki ve ark 1990). Deneysel vakalarda enfeksiyondan 3 gün sonra viremi gelişir ve 22. güne kadar devam edebilir. EHV-1 ile deneysel enfekte gebe kısıraklarda, inokulasyon sonrası 4-10 gün içinde viremi gelişir. Bu şekildeki hayvanlarda vireminin başladığı 5. günler ile abort şekillenen sürecin arası 6-80 gün kadardır. EHV-1 viremisi geçiren atların kanlarındaki enfekte lökositler 10^4 - 10^7 aralığındadır (Mumford ve ark 1994). Vireminin şiddeti ile abort ihtimali arasında korelasyon vardır (Slater ve ark 1994).

EHV-4 enfeksiyonları nadiren l kositer viremi ile sonuçlanır (Matsumura ve ark 1992). Fakat vireminin ne büyüklüğü ne de süresi ölçülemez. Ayrıca ilgili lökosit fenotipi de bilinmemektedir.

1.3.3. Gebe Uterus ve F tus

Oldukça virulent EHV-1 izolatlarının sebep olduğu gebe uterus endotelyal hücre enfeksiyonları, mikrokotiledonların endometrium glanduler tabakasında, özellikle k  k arteriyolları etkileyen vaskulitise sebep olur (Jackson ve ark 1977). Virulent EHV-1 izolatlarıyla yapılan deneysel çalışmalarda, enfeksiyonu izleyen 6-8. günlerde damar endotel hücrelerinde, immunperoksidaz boyama ile viral antijenler saptanabilir. Endotelyal enfeksiyon 9-13. günlerde yaygınlaşır ve kan damarlarını etkileyen mikrotrombozis ile sonuçlanan multifokal vaskulitis meydana gelir. Bu bazen mikrokotiledoner ve interkotiledoner stromaya uzanan trombo-iskemik nekrozis şeklinde yayılır. Endometriumdaki bu vaskuler lezyonlar yaygınsa, transplasental virus geçişi olmadan da f tus aborte olabilir (Smith ve ark 1992). Doğal enfeksiyonları izleyen bu tip abortların insidensi bilinmemektedir. Doğal ya da deneysel enfeksiyonları takip eden abort olaylarında, f tusdan virus genellikle izole edilebilir. Deneysel enfekte kısıraklarda,

enfeksiyon sonrası 14-21 günlerde virus tespit edilebilir. Aborte olan f tus materyallerinde virus antijeni negatif olarak saptanan kısırak uteruslarında, f tuslarında virus antijeni pozitif olduğu bulunan kısırakların uterusuna göre, uterinal vaskulitis ve mikrokotiledoner nekroz oluşumunun daha az olduğu bildirilmiştir (Smith ve Mcgladdery 1997).

Virus-pozitif f tus taşıyan kısıraklarda, muhtemelen virusla enfekte hücrelerin f tusa geçebileceği, uteroplasental bağlantının zayıflığından kaynaklanan fokal mikrokotiledoner infarksiyon alanları bulunmaktadır (Samuel ve ark 1976). Trombozis sonucu, uteroplasental ara yüzeye prostaglandin salınımının, abort prosesinin başlamasında önemli olabileceği düşünülmektedir. Bu hipotezi araştırmaya yönelik fonksiyonel çalışmalar devam etmektedir. EHV-1 enfeksiyonunda, geç gebelik döneminde uterus endotelyal hücre hasarı erken gebeliğe göre daha fazladır. Erken embriyonik ölüm ya da rezorbsiyonların, EHV-1 enfeksiyonuyla ilgisi araştırılmaktadır (Smith ve ark 1996).

EHV-1 pozitif fötusların, allantokoryon ve göbek kordonu damarlarında, endotel hücre enfeksiyonu şekillenir. Plasentadaki enfeksiyon odakları immuno-histokimyasal olarak saptanabilir (Smith ve ark 1993). EHV-1 ile sürekli enfekte fötusların endotelyal hücreleri iyileşebilir. Bu hücreler, parenşimal hücrelere virus yayılımının primer kaynağı olarak kabul edilmektedir. EHV-1 ile enfekte f tusdaki viremi oluşumunu açıklamaya yönelik çalışmalar devam etmektedir. İmmunperoksidaz-pozitif intravaskuler lökositler, EHV-1 nedenli aborte f tusun dokularında gösterilebilir.

Daha az virulent EHV-1 izolatlarının sebep olduğu abortların patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Bu izolatların endotel hücreleri için affinitesinin azaldığı görülmektedir. Son zamanlarda demonstre edilen düşük abort potensiyelli bir EHV-1 izolatı, immunolojik olarak zayıf tayların endotel hücrelerinde replikasyon kapasitesine sahipken, immunokompotent yetişkinlerde aynı başarıyı gösteremediği saptanmıştır (Smith ve ark 1999). Bu durum, viral faktörlere ek olarak, konak yaşı ve immunitesinin, endotel hücrelerindeki enfeksiyonun süresini belirlemede rol oynayabildiğini düşündürmektedir. Endometrial endotelyumun enfeksiyonu, az virulent EHV-1 suşlarının materno-f tal transferiyle bir derece mümkündür. Fakat bu immunohistokimyasal doku boyamalarıyla saptanamamıştır. Az virulent EHV-1 suşlarının sebep olduğu abortların patogenezi için alternatif bir hipotez; latent enfekte lenfositlerle plasentayı geçen virusun konak immün

sisteminden kaçmasıdır. PCR gibi duyarlı moleküler tekniklerin uygulanmasıyla, uterus ve başka yerlerdeki latent viral antijenleri saklayan hücreler araştırılmaktadır.

1.3.4. Merkezi Sinir Sistemi

EHV-1'in sebep olduğu nörolojik sendromun patogenezinde de temel nokta endotelial hücre enfeksiyonu ve buna ek olarak vaskulitistir (Edington ve ark 1986). EHV-1 kökenli merkezi sinir sistemi hastalıklı, doğal veya deneysel enfekte atlarda beyin ve spinal kanalda trombo-iskemik nekroz ve lokal hemorajisinde katılabileceği vaskulitis gelişir. Etken, klinik enfekte atların merkezi sinir sisteminden nadiren izole edilebilmektedir (Little ve ark 1974). Ancak endotelial hücrelerdeki EHV-1 nedenli vaskulitis immunohistokimyasal yöntemlerle gösterilebilir. EHV-1 kaynaklı merkezi sinir sistemi hastalığıyla ilgili nörolojik hasarın, trombo-iskemik vaskulitisli endotelial hücre enfeksiyonu neticesinde, iskemik sinir dokusunun ölümüyle oluştuğuna inanılmaktadır. Diğer hayvan türlerinin nörotrop herpesviruslarının sebep olduğu enfeksiyonların patogenezi, EHV-1 ile aynı değildir. EHV-1 merkezi sinir sistemi enfeksiyonunun patogenezinde, vasküler endotel hücre enfeksiyonuna eşlik eden, immunopatolojik olayların rol oynadığı sanılmaktadır (Wilson 1997). Konakçının enfeksiyona cevabı olarak T-hücre popülasyonu ve virus-spesifik antikor miktarının artması, hastalığın patogenezindeki bir seri olayın merkezini teşkil ederek, endotel hücre enfeksiyonunu takiben, trombo-iskemik prosesin başlamasında aktif rol alırlar.

1.4. Klinik Semptomlar

1.4.1. Respiratorik Hastalık

EHV-1 veya EHV-4 ile deneysel enfeksiyon sonrası respiratorik semptomların ortaya çıkışına kadar geçen inkubasyon periyodu oldukça kısadır (1-3 gün) (Gibson ve ark 1992). Ancak, saha enfeksiyonlarında bu sürenin on güne kadar uzayabildiği bildirilmiştir. Hastalığın gelişimindeki bu farklılığın, muhtemelen virus suşunun patojenitesindeki ve konak immunitesindeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Üst solunum yolu hasarı (rhinofarinitis ve trakeabronşitis), EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının birincil sonuçlarıdır (Allen 2002). Klinik respiratorik semptomlar, minimal etkili ve kısa süreli

olabilir (Kydd ve ark 1994). Respiratorik enfeksiyonlar, yaşı atlarda tamamen asemptomatik olabilir. Latent enfeksiyonunu takip eden vakalarda, klinik bulguya rastlanmasa da, enfektif virus nazofarenksten yayılabilir. Duyarlı hayvanlarda primer enfeksiyonu takiben güçlü respiratorik hastalık gelişir ve bu durum şiddetli klinik semptomlarla sonlanabilir. EHV-1'in virulent Ab4 suşu ile deneysel enfekte spesifik patojen free(spf) taylarda, enfeksiyon sonrası 1-2. günler pik yapan, sonraki 6-7. günlerde tekrar eden bifazik ateş meydana gelir (Gibson ve ark 1992). Enfeksiyonun ilk aşaması kendisini hafif depresyon ve iştahsızlıkla gösterir. Başlangıçta ciddi nazal, oküler akıntı ve konjunktivitis vardır. Nazal akıntının karakteri, enfeksiyon sonrası 5-7. günlerde, sekonder bakteriyel enfeksiyonların etkisiyle, hızlıca muköz ve mukopurulente döner. Özellikle submandibular bazen de retrofarengeal lenf yumrularında, palpe edilebilir büyüme ile sonuçlanan lenfadenopati haftalarca kalabilir. Lenfopeni ve nötropeni, EHV-1 enfeksiyonu sonrası farklı günlerde görülür (Doll ve ark 1954). Enfekte atlarda öksürük görülebilir. Deneysel enfeksiyonlar ve sahadaki gözlemler, öksürüğün süresi, şiddeti ve sıklığının, büyük oranda atların antrenman ve performans aktiviteleri ve barınak hijyeni ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Mumford 1980). Virus enfeksiyonu sonrası, alt solunum yolu hastalığı (bronkopnömoni) gelişen taylarda öne çıkan bulgular hiperpnea ve dispnea olup, şiddetli depresif ve annelerine veya emme olayına ilgisizdirler. EHV-4 klinik olarak EHV-1'den ayırt edilemez. Üst solunum yolu hastalığına ve viral bronkopnömoniye sebep olabilir (Blunden ve ark 1995).

EHV-1 ve EHV-4 kaynaklı üst solunum hastalığının iyileşmesinden sonra, bazı atlarda non-spesifik bronşiyal hipersensitivite ile ilgili olduğu tahmin edilen, kronik obstruktif hastalık semptomlarına benzer, "zayıf performans sendromu" tablosu gelişebilir (Mumford 1980). Atların herpesviral respiratorik hastalığı ile ilgili ekonomik kayıplar, sadece veteriner hekimlik masraflarıyla sınırlı kalmayıp, akut enfeksiyon safhasındaki antreman kayıplarını da içerir.

1.4.2. Abortuslar

EHV-1 ile enfekte kısıraklar, normal belirtiler olmadan, aniden abort yapabilirler. Böyle hayvanlarda solunum yolu enfeksiyonu belirtileri genellikle gözlenmez (Bryans ve Allen 1986). Abortlar kısıraklar ayakta olabildiği gibi yattıktan çok kısa bir süre sonra da

olabilir. Plasenta genellikle amniotik membran içinde kılıflı f tus ile birlikte atılır. Ölüm, abort esnasında, endometriumdan plasantanın ani ayrılması ile olup, asfeksiden kaynaklanmaktadır. Bazı fötuslar kısa süre canlılığını sürdürebilir, fakat pulmoner lezyonlar ve solunum yetmezliği nedeniyle kısa sürede ölür. EHV-1 salgınları sonucunda şekillenen abortların gebe kısıraklardaki oranının %75'in üzerinde olduğu saptanmıştır (Mumford 1987).

Bunun yanında EHV-1 abort vakalarının pek çoğu, sadece grup içindeki boş kısıraklara bulaşır (Doll ve Bryans 1963). Tüm EHV-1 abortuslarının neredeyse tamamı, gebeliğin son dört ayı içinde gerçekleşir. Gebeliğin erken döneminde kısıraklar, deneysel enfeksiyonu takiben abortlara dayanıklı görülür (Smith ve ark 1996). Bir kısırak, bir kez abort yapınca onun reproduktif geleceği genellikle etkilenmez. Kısırakların çoğu aborttan sonra, başarılı bir şekilde gebe kalıp doğum yapabilir. Bu tip başarılı bir yıldan sonra kısıraklar nadiren abort yapar (Bryans 1969). Fakat sonradan tekrar enfekte olabilir ve abort yapabilir. EHV-4 bazen aborte f tustan izole edilen tek unsurdur. Bu tip abortların klinik yapısı EHV-1 abortlarına benzer, fakat EHV-4 nedenli abort epidemileri tanımlanmamıştır.

1.4.3. Neonatal Tayların Durumu

Zamanında doğan taylor, hastalık şüpheli doğabilmekte, veya bir –iki hafta içinde hastalanabilmektedir (Campbell ve ark 1993). Tipik olarak hastalığın klinik seyri hızlı ve yoğun, destekleyici veteriner bakımının etkisizliğiyle sonuçlanır. Taylarda, letarji, radyografiler, yaygın intertisyel ve alveoler yoğunluğu gösterir. Konjunktival EHV-1 enfeksiyonu epidemik veya bir abort salgınıyla birlikte oluşabilir. Bu şekildeki taylorların EHV-1 ile uterusu ya da post-partum bir enfeksiyon nedeniyle mi tanıştığı konusunda tartışmalar vardır. Her iki durumda da birkaç gün içinde respiratorik yetmezlik ve  l me sebep olan viral pnömoni çabucak ortaya çıkar. EHV-1, otopside taylorların akciğerlerinden izole edilebilir. Kronik formunda ise lenfoid dokuya yayılım ve purulent bronkopnömoni, sepsisemi ve enterit gibi sekonder bakteriyel enfeksiyonların geliştiiği 5-14.günlerin sonunda ölüm gerçekleşir (Bryans ve ark 1977). Bu son formda herpesvirus inklüzyon cisimcikleri görülmez ve virus dokulardan hızlı bir şekilde izole edilemez. Nadiren EHV-4 de EHV-1'e benzer neonatal hastalıklara sebep olabilir (O'keefe ve ark 1995).

1.4.4. Aygırların Durumu

EHV-1 enfeksiyonu, aygırlar için de reproduktif sonuçlar doğurabilir. Doğal EHV enfeksiyonu salgınları sırasında, aygırlarda skrotal ödem ve libido eksikliği rapor edilmiştir (Greenwood ve Simpson 1980). Ayrıca spermatogeneziste zararlı etkiler oluşturan, uzun süreli ateş görülebilmektedir. Gerçekte, bir aygırın deneysel intranasal enfeksiyonundan sonra, morfolojik olarak normal spermilerin sayısında azalma ve enfektif virusun semen içine yayıldığı gözlenmektedir (Tearle ve ark 1996). Buna rağmen EHV-1 enfeksiyonlarının epidemiyolojisinde, aygırlarca veneral bulaşmanın önemi kesinlik kazanmamıştır.

1.4.5. Nörolojik Bozukluklar

Nörolojik hastalıklar sporadiktir; fakat yıllardır harap edici EHV-1 enfeksiyonu varlığı tanımlanmaktadır. EHV-4 kaynaklı nörolojik bozukluklar nadir fakat izole edildiği vakalar vardır (Meyer ve ark 1987). EHV-1 ile ilgili nörolojik hastalıkların ilk raporlarında gebe veya laktasyondaki kısıraklarda baskın etkiler görülmüştür (Jackson 1971). Bununla beraber EHV-1 nedenli son doğal salgın gözlemleri hastalığın gebelerle, yaş ve cinsiyetle sınırlı değil, tay, aygır ve kısıraklarda da olabileceği ispatlanmıştır (Allen ve ark 1986).

EHV-1 solunum yolu hastalığı ile nörolojik bozukluğun olduğu dönem aralığı genellikle 6-10 gündür. Fakat nörolojik belirtiler, ateşi takiben en erken bir gün sonra görülmektedir (Greenwood ve ark 1980). Klinik belirtiler son derece çeşitli nörolojik lezyonun lokasyonuna ve uzunluğuna bağlıdır. Fakat genellikle başlangıçtan 2-3 gün sonra aniden pik yoğunluğa ulaşır. Nörolojik disfonksiyonun derecesi geçici ateşten, organ yetmezliğine, sallanma, tökezleme ve düşmeye neden olan tam paralize kadar uzanır. Nörolojik düzensizlikler başlıca arka uzuvları etkilenmekte, özellikle quadripleji gözlenmektedir. Sidik kesesinde disfonksiyon ve atoni belirtileri olarak, inkontinensia, üriner retensiyon ve de sinirsel uyarı bozukluğu kaydedilmiştir (Greenwood ve Simpson 1980). Bazı etkili atlarda baş bükülmesi gelişir. EHV-1 nedenli nörolojik hastalıklar sık sık, etkilenmiş gruptaki atların %40'ında salgın şeklinde ortaya çıkar. Bazı vakalarda da, pnömoni, kolik veya üriner ruptur gibi komplikasyonlar gelişir.

1.4.6. Okuler Bozukluklar

EHV enfeksiyonu, uveitis veya korio-retinal lezyonlar olarak belirtilen, okuler hastalıklara da neden olabilir. Uveitis, kısarak ve aygırlardaki EHV -1 nedenli salgın sırasında, taylarda tanımlanmıştır (McCartan ve ark 1995). Solunum yolu enfeksiyonundan 3-5 hafta sonra, uveitisin olmadığı korio-retinal lezyonlar gelişebilir (Slater ve ark 1992). Ayrıca fokal, multifokal ve diffuz olmak üzere üç farklı tip lezyon, son zamanlarda identifiye edilmiştir. Fokal ve multifokal lezyonların büyük görme zararı oluşturmadığı bilinmektedir. Fakat diffuz lezyonlar körlük ve kuvvetli retinal yıkımla sonuçlanabilir.

1.4.7. Pulmoner Vaskulotropik Enfeksiyon

EHV-1 enfeksiyonunu takip eden generalize perakut farklı vakalar, son zamanlarda genç-yetişkin atlarda rapor edilmiştir (Blunden ve ark 1998). Yeni sendrom ‘ Pulmoner Vaskulotropik EHV-1 enfeksiyonu’ olarak isimlendirilen, yüksek ateş, iştahsızlık, şiddetli depresyon, solunum stresi ve yüksek mortalite ile karakterizedir. Nörolojik belirtiler yoktur. Etkilenmiş atlar ölü bulunmuş olabilir. Baskın otopsi bulgusu, özellikle akciğerlerin küçük kan damarlarında göze çarpan, multisistemik vaskulitistir.

1.5. EHV-1 ve EHV-4 Enfeksiyonlarının Patolojisi

1.5.1. Respiratorik Hastalık

EHV-1 ve EHV-4 nedenli doğal respiratorik hastalık vakalarının patolojik çalışmaları, bu formun düşük mortalitesi nedeniyle çok seyrekler. EHV-1 ile deneysel enfekte tayların üst solunum yollarının patolojik incelemesinde hiperemi, vezikülasyon, nekroz ve genellikle siyah-kırmızı miliyer odaklı mukoza ülserasyonları göstermiştir. EHV-1 ile deneysel enfekte yetişkin bir poni sürüsündeki, makroskopik patolojik değişiklikler, lenf nodülleri ve solunum sistemindeki zayıf ve yaygın mikroskopik değişikliklere göre non-spesifik bulunmuştur (Kydd ve ark 1994).

EHV-1 ile doğal veya deneysel enfekte tayların, solunum sistemindeki mikroskopik lezyonların, multifokal nekrotizan veya eksudatif rhinitis, terminal veya alveoler bronşitis

sonucu ortaya çıktığı saptanmıştır. Bronşioler duvarda, nötrofilik infiltrasyon, peribronşioler ve perivasküler bölgelerde mononükleer hücre infiltrasyonu ve de sero-fibrinöz sıvı dolu lokal alveoliler görülmüştür. Faringeal lenf nodülleri hiperplastiktir ve intranükleer inklüzyon cisimcikleri içeren, hücreler bulunan nekroz odakları bulunur. Inklüzyon cisimcikleri, nazal mukoza, konjunktiva ve solunum yollarının dejenere epitel hücrelerinde de bulunabilir. Deneysel enfekte yetişkin ponilerin solunum yollarındaki mikroskopik lezyonlar, nazal ve nazofarengeal mukozadaki multifokal erozyonlara göre, zayıf ve iyi huyludur. Ayrıca akciğerlerde, belli belirsiz bronşiolitis, interstisyel ödem ve perivasküler infiltrasyon olabilir (Kydd ve ark 1994). Benzer şekilde EHV-1 ile enfekte yetişkin atların solunum sistemi lezyonları, taylara kıyasla düşük derecededir (Whitwell ve Blunden 1992). EHV-4 respiratorik hastalığının patolojisi henüz tanımlanmamıştır.

1.5.2. Abortuslar

EHV-1 enfeksiyonu nedenli abort fötuslardaki patolojik değişimler, iyi bilinmektedir (Dimock 1940). Gebeliğin beşinci ayından sonraki aborte fötuslar, genellikle pulmoner ödem, hidrotoraks, hafif asites, değişken ikterus, muköz membran, serozal yüzey ve akciğerlerde peteşiler, subkutenöz ve perirenal ödem, büyümüş lenf foliküllü splenomegali, yumuşamış timus, orta derecede hepatomegali ve miliyer hepatik nekroz odakları gözlenmiştir. Bu makroskopik lezyonların nisbi önemi, vakadan vakaya çeşitlilik arz etmektedir. EHV-1 ile enfekte fötusların sadece küçük bir bölümü, beş aydan önce aborte olur. Fakat bu fötuslar sıklıkla, şidetli otolize uğrar ve spesifik makroskopik lezyonlar az bulunur.

Orta veya geç gebelik döneminde aborte olan fötusların mikroskopik lezyonları; nekrotizan bronşiolitis, pnömoni, dalak, lenf nodülleri ve timusta nekroz, karaciğer ve adrenal bezlerde fokal nekroz odakları şeklindedir. Dejenere ve nekrotik hücrelerde, özellikle karaciğer, akciğer, timus ve dalağın kırmızı pulpasında intranükleer inklüzyon cisimcikleri bulunur. Bazı fötuslarda inklüzyon cisimciği taşıyan, dejenere ve nekrotik enterosit bulunduran, nekrotizan enterit tablosu görülür (Hong ve ark 1993). Erken gebelik döneminde aborte fötusların histolojik çalışmalarında, karaciğer, akciğer ve lenforetiküler dokularında yaygın inklüzyon cisimcikleri gözlemlenir (Doll ve ark 1959).

1.5.3. Neonatal Tay Sendromu

EHV-1 ile enfekte, zamanında doğan taylar tipik olarak siyah, konjeste ve konsolide akciğerlere sahiptir; ki bunların hava yolları sıvı ve köpük doludur (Bryans ve ark 1977). Mikroskopik incelemeler akciğerlerde akut nekrotizan bronşiolitis ve pek çok kollapse alveolün bulunduğu interstisyel ödemi göstermektedir. İnklüzyon cisimcikleri, etkilenen bölgelerdeki ortak bulgudur. Jejunal mukozanın goblet hücrelerinde hiperplazi ve hipertrofi görülür. Doğum sonrası 1-3 gün içinde ölen neonatallerin komplike olmayan EHV-1 hastalığındaki patolojik bulgular, solunum sistemindeki akut viral lezyonlardır (Hartley ve Dixon 1979). 5-14 gün kadar yaşayanlarda bakteriyel süperenfeksiyonlardan kaynaklanan ek lezyonlar görülür (Bryans ve ark 1977).

1.5.4. Nörolojik Bozukluklar

EHV-1 ile enfekte nörolojik semptomlu atlarda, makroskopik lezyonlar çok sık değildir. Buna rağmen fokal hemorajik lezyonlar veya malazi alanları beyin ve spinal kordda görülebilir. Hemorajiler rastgele dağıntıdır, fakat genellikle beyaz maddeyi, özellikle spinal kordun lumbosakral segmentini etkiler (Charlton ve ark 1976).

Nörolojik bozuklukların mikroskopik lezyonları şiddetli ve dağıntıdır; fakat küçük ven ve arterleri etkileyen, ortak bir non-spuratif vaskulitis özelliğine sahiptir (Greenwood ve Simpson 1980). Vaskulitis, endotelyal hücre şişmesi ve piknozuyla, fibrinoid nekroz, tunika media'da nötrofilik/lenfositik infiltrasyon, lenfositik ve lenfoplazmasitik perivasküler manşet ile karakterizedir. Enfekte damarların lumeni fibrin veya fibrinösel trombosit içerebilir. Merkezi sinir sistemindeki perivasküler ödem, hemoraji ve iskemik nekrozlar sıklıkla enfekte damarlar ile ilgilidir. Beyin ve spinal kord bölümlerinin çoklu incelenmesinde bu tip değişiklikler bazen gereklidir. Vaskulitis generalize değildir; ve genellikle akciğer, nazal mukoza, lenf nodülleri, endometrium ve merkezi sinir sistemi'nde ortak gözlemlenir (Edington ve ark 1986). EHV-1 nedenli parezisle doğan olgun taylarda, diyare ile sonuçlanan enterokolitis tanımlanmıştır (Carman ve ark 1993).

1.6. Diagnoz

EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının diagnozu klinik olarak genellikle yapılamaz; diagnostik laboratuvar desteği gerektirir. Bu yöndeki metod şekil 1’de gösterilmiştir (Allen 2000). Bu şunu gösrerir; (1) laboratuara ulaşması gerekli materyal, (2) yapılacak spesifik diagnostik testler ve (3) EHV-4’dan EHV-1 tip-spesifik diferensiasyonu ve virus kimliğini doğrulayıcı, geçerli güncel laboratuvar metodlarıdır. Klinik örneklerin her kategorisi için yapılan laboratuvar testlerinde temel yaklaşım, öncelikle hızlı diagnostik testler (PCR, İmmunflorasan boyama, Komplement Fiksasyon), doğrulayıcı daha uzun süreli testler olan, virus izolasyon, histopatoloji, immunohistokimyasal boyama ve serolojik testlerdir.

EHV-1 ve EHV-4 belirleyici hızlı testler, atların şiddetli epidemik hastalıklarında ve kritik yönetim stratejileri için, etkili ajanın hızlı bir şekilde identifikasyonunda çok kullanışlıdır. İmmun-assay ve PCR (Polymerase Chain Reaction) gibi bazı testlerin yeni bir jenerasyonu son zamanlarda geliştirilmiş ve EHV-1 ve EHV-4 için hızlı diagnostik araçlar olarak kullanımı araştırılmıştır. Bu yöntemlerin geleneksel yöntemlerin yerine kullanılabileceği anlaşılmıştır.

Polimeraz zincir reaksiyonu, klinik veya patolojik örneklerin diagnostik teşhisi ve hızlı amplifikasyonu ile parafine edilmiş arşivsel dokuların veya inokule hücre kültürlerinin araştırılması için kullanılabilmektedir (Azmi ve Field 1993).

EHV-1 veya EHV-4 diagnozundaki virus izolasyon teknikleriyle PCR arasında uyum %85-90 arasındadır. Polimeraz zincir reaksiyonu, EHV-1 ve EHV-4 viruslarını saptamada geçerli yöntemlerin önemli bir bölümünü kapsar.

Direkt immunflorasan (İF) yöntemi herpesvirus abortlarının başlangıcında kullanılabilecek hızlı bir metoddur. Materyal olarak aborte fötusdan taze olarak ayrılmış, EHV-1 veya EHV-4 antijenleri içeren doku bölümleri kullanılır. Abort vakalarında İF ve hücre kültürü izolasyon tekniklerini kıyaslırsak, fötal dokulardan direkt İF boyama ile diagnostik bir güvenilirlik sağlanır.

Yıllardır, EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının laboratuvar diagnozunda altın standart, virus izolasyonu için hücre kültürü inokulasyonudur. EHV-1 çeşitli hücre hatlarından izole edilebilir. Bu amaçla Equine dermis (ED), Equine foetal kidney (EFK), Equine embryonic lung (EEL), Rabbit kidney (RK-13) ve Madin darby bovine kidney (MDBK) hücre kültürleri kullanılabilir. EHV-1 ve EHV-4'ün hücre kültürlerinde sebep olduğu sitopatik efektler (CPE, cytopathic effect) erken gelişir, hızlıca ilerler ve karakteristik olarak herpetik görünüştedir. Normal şartlarda EHV-1 veya EHV-4 izolasyonu 2-4 gün içinde başarılabılır. Kör pasajlar izolasyon için genellikle gerekli değildir.

Nörolojik hastalıklar atlardan veya aborte fötuslardan alınan, parafine edilmiş, formalin ile fiske edilmiş dokuların histopatolojik incelemesi, EHV-1 enfeksiyonunun klinik tipinin laboratuvar diagnozunun gerekli bir bölümüdür.

Aborte fötuslarda, tipik olarak, hepatik nekroz alanlarının periferi veya bronşiyoller epitelyumdaki hücrelerde bulunan eozinofilik intranükleer inklüzyon cisimcikleri, EHV-1 enfeksiyonunun patognomonik semptomlarıdır. EHV-1 ile ilgili karakteristik makroskopik lezyonlar, beyin ve spinal kordaki küçük kan damarlarında, dejeneratif sıklıkla trombotik vaskulitistir.

Enzim immunohistokimyasal (immunperoksidaz) boyama, enfekte atlardan, parafine edilmiş EHV-1 ve EHV- 4 antijenlerinin araştırılması prosedürleri son zamanlarda gelişmiştir (Schultheiss ve ark 1993). EHV-1 veya EHV-4 antijenlerini ayırmada kullanılan immuno-enzimatik boyama teknikleri ve geleneksel laboratuvar metodlarının, virus belirlemede başarılı sonuçları ortaya çıkmıştır.

EHV-1 ve EHV-4'ün farklı suşlarının identifiye edilebilmesi; tip-spesifik PCR, izole viral DNA, sınırlı endonükleaz analizleri veya enfekte hücre kültürlerinden tip-spesifik monoklonal antikor kullanılarak yapılan İF boyama yöntemleriyle başarılabilmektedir.

Serolojik diagnoz, birincisi akut hastalık evresinde, ikincisi üç hafta sonraki konvelasan evrede olmak üzere, alınan iki serum örneğinde virus-spesifik antikorların aranması ile başarılı olabilir. EHV-1 veya EHV-4'e karşı oluşan antikorların aranması için

uygun olan serolojik testler; virus nötralizasyon (VN), ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ve komplement fiksasyon (CF) testlerini içerir (Allen 2000).

EHV-1 ve EHV-4'e karşı oluşan antikorların ayırt edilmesinde, tip – spesifik ELISA son zamanlarda geliştirilen bir yöntemdir; ve ticari olarak tercih edilebilmektedir (Crabb ve ark 1995).

Latent EHV-1 veya EHV-4 genel diagnostik metodlarla araştırılamamıştır. Atlarda post-mortem latent enfeksiyonların araştırılması nested-PCR veya trigeminal gangliyon, submandibular, retrofarengeal ve bronşiyal lenf nodüllerinden otopside, aseptik olarak alınan doku örneklerinin kültüre edilmesiyle, güvenilir bir şekilde başarılmıştır (Borchers ve ark 1997).

Latent EHV-1 veya EHV-4 enfeksiyonlarında aynı tekniklerin kullanılması, dolaşımda latent- enfekte lökositlerin daha az bulunması nedeniyle çok sorunludur (Chesters ve ark 1997). Latent enfeksiyonların belirlenmesinde daha hassas teknikler RT-PCR ve lökositlerden eksprese edilen proteinlerin immunohistokimyasal araştırılmasıdır (Smith ve ark 1998).

1.6.1. Ayırıcı Tanı

EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının klinik belirtileri çeşitli ve çoğunlukla non-spesifiktir. Ayrıca diğer etiyolojik etkenlerin sebep olduğu, benzer durumlarla karışabilir. Bu zorlıklardan dolayı, şüpheli vakalar uygun laboratuvar araştırmalarıyla doğrulanmalıdır.

EHV-1'in neden olduğu fötal kayıplar, diğer enfektif ve non-enfektif ajanların yaptıklarından ayırt edilmelidir. Abortlara diğer viruslar (Equine arteritis virus), bakteri (Leptospira spp., Streptococcus spp. ve nokardia benzeri actinomycetesler) veya protozoanlar (equine babesiosis), ve pek çok non-enfektif şartlar da (plasenta torsiyonu, doğmasal anomali, kısarak reproduktif kayıp sendromu (MRLS) ve distoşia nedenli perinatal asfeksi) sebep olabilir (Hong ve ark 1993).

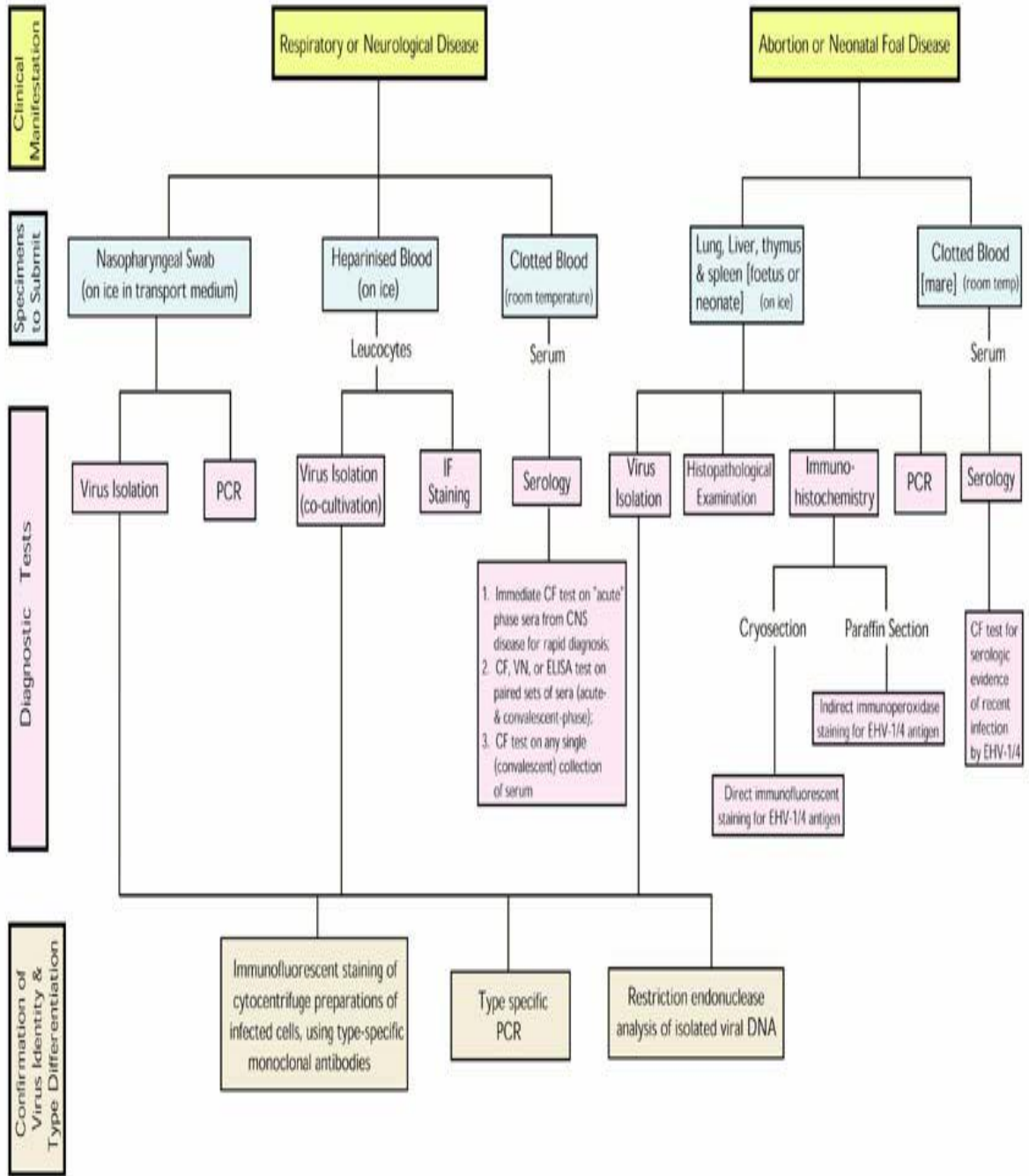
EHV-1 veya EHV-4'ün neden olduğu respratorik belirtiler diğerk respratorik patojenlerin (equine influenza, equine arteritis virus, equine rhinovirus, equine adenovirus, Rodococcus equi, mycoplasma spp., streptococcus equi zooepidemicus) yaptıklarına benzer (Powell 1991). Bu nedenle ayırıcı etiyolojik diagnoz için laboratuvar desteğine ihtiyaç vardır.

EHV-1 enfeksiyonuyla ilgili nörolojik belirtiler non-spesifiktir; ve atların diğerk merkezi sinir sistemi düzensizlikleriyle karışabilir (equine protozoal myeloencephalopathy, travma, cervical vertebral malformation, equine motor neuron disease, equine degenerative myeloencephalopathy, arboviral encephalitis, borna disease, botulism, rabies, küflü mısır zehirlenmesi) (De Lahunta 1978). Aygırlarda EHV-1 miyeloensefalitislerinin erken safhalarında oluşan, ateş, skrotal ödem ve libido eksikliği equine viral arteritis ile karıştırılabilmektedir.

Pulmoner vaskulotropik EHV-1 enfeksiyonu hızlı ilerlemesi ve şiddetli respiratorik distressi nedeniyle, African Horse Sickness ve Hendra virus respiratorik sendrom gibi diğerk perakut respiratorik enfeksiyonlarla karışabilir.

1.7.Kontrol

EHV-1 ve EHV-4 nedenli ekonomik ve hayvan refahı konularındaki sıkıntıları minimize edici pratik önlemler; hastalıkların klinik şiddetini veya insidensini ve de herpesvirus salgınları sırasında viral enfeksiyon yayılımını kontrol etmeye yöneliktir. Bu önlemlerin başarıya ulaşması için sürekli bir profilaktik immunizasyon ile başarılı hara yönetim pratiklerinin bir arada olması gerekir (Allen 2002). Sık ve ortak karşılaşılan bir sorun, hara yöneticileriyle at sahipleri arasındaki anlaşmazlıklardır. EHV-1 ve EHV-4 için gerekli güncel aşılar mevcuttur. Bunlar etkili yönetim pratiklerini destekleyen sadece basit birer adımdır.



Şekil 1. EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının laboratuvar diagnoz protokolü

1.7.1. Yönetimsel Kontrol

Yıllardan beri atların herpesviral hastalıklarıyla ilgili yönetimsel tecrübeler, at çiftliklerinde işletilen prosedürlerin gelişmesini, EHV-1 ve EHV-4 yayılımının önlenmesi, veya sınırlandırılmasında etkili tedbirleri ortaya çıkarmıştır. EHV-1 nedenli nörolojik hastalık ve/veya abort vakalarında, bu ölçüler tedbirsel eylemler olarak optimize edilmiştir (Allen 2002). Bazı ülkelerde (Avustralya, İngiltere) tavsiye edilen eylemler “codes of practice” adıyla resmileştirilmiştir (Australian equine veterinary association 1994).

Pratikte EHV-1 epidemilerinin kontrolünde, tavsiye edilen yönetim prosedürleri, nörolojik hastalık veya abort salgını olasılığının azaltılması veya önlenmesi (1) ve diğer grup ve haralara hastalık yayılışının sınırlandırılması (2) şeklinde formüle edilmiştir.

Damızlık kısıraklarda, nörolojik hastalık veya abortların önlenmesi için tavsiye edilen rasyonel yönetim prosedürleri “SISS” olarak aşağıda belirtilmiştir.

- Segregasyon (Ayrım) : Gebe kısırak popülasyonunun diğer at ve barınaklarından, özellikle süt emenler, yaşına girenler, gidecek olanlar ve yeni gelenlerden ayrılmasını,
- Isolation (İzolasyon) :Haraya yeni gelen kısırakları en az üç hafta kadar, harayı terk edip, satış ve tekrar doğum amacıyla geri dönen hayvanlardan izole edilmesini,
- Subdivision (Alt bölüm) : Gebe kısırakların, gebelik süresince; yaş fiziksel ve sosyal yapılarına göre alt bölümlere ayrılmasını,
- Stress Reduktion (Stres azaltımı) : Kısırakların; transport, zayıf beslenme, ağır parazit yükü, diğer hastalıklar, kötü hava şartları ve kabaca yapılan sütle besleme teknikleri gibi stres faktörlerinden mümkün olduğunca korunmasını ifade eder.

EHV-1 nörolojik hastalık veya abort salgınlarını takiben amaç, daha fazla virus yayılımını sınırlamak olmalıdır. Epidemik durumlarda tavsiye edilen ve “DISH” olarak tanımlanan ölçüler şunlardır.

- Disinfektion (Dezenfeksiyon) : Plasental membran ve aborte ftus nedeniyle, virus kontamine alanlar dezenfekte edilmelidir.
- Isolation (İzolasyon) : Abort yapan kısırakların diğerklerinden ayrılmasını ifade eder.
- Submission (Sunum) : Laboratuvar diagnozu için ftus içeren klinik numunelerin hazırlanmasıdır.
- Hygien (Hijyen) : Enfektif hastalık kontrolü için tanımlanan standart hijyenik prosedürler uygulanmalıdır.

Özellikle önemli olan, gebelerin aborte ftus membran ve sularıyla temasının önlenmesidir. Enfekte grup içine veya dışına hayvan hareketlerinin sınırlandırılmasıdır. Diğerk önemli konu, klinik belirti göstermeyen enfekte atların hareketleridir. Fiziksel olarak farklı hayvanların karışımının, aynı veya farklı ahırlardaki, klinik olarak sessiz hayvanlarca, generalize enfeksiyon yayılımına ve olağın dışı yüksek salgın oranlarına sebep olduğu kanıtlanmıştır (Barrendeguy ve ark 2002).

1.7.2. Aşılama ile Kontrol

EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarında, güçlü koruyucu bir immunit gelişir (Allen ve Bryans 1986). İmmunit reenfeksiyonlara karşı güçlü bir direnç oluşturur. Enfeksiyon sonrası 3-6 ay kadar, atlarda lkositer viremi gelişmez. Bazı araştırmalarda, gebeliğın erken döneminde enfekte olan gebe kısırakların %85'inin, EHV-1 ile geç gebelik döneminde enfekte olduğunda, abortlara karşı immün sistemiyle cevap verebildiğı görülmüştür (Doll ve ark 1955). Anti-viral immün efektör mekanizmaların karakterizasyonu; (1) virus nötralizan antikorların derecesi, (2) viral antijen sunan CD4 T-lenfosit proliferatif aktivitesi, (3) virus-spesifik CD8 sitotoksik T-lenfosit prokrsrleri, (4) natural killer lenfosit aktivitesi ve (5) virus- spesifik antikora bağımlı hücrel sitotoksik aktivite (ADCCA) şeklinde identifiye edilmiştir (Allen ve ark 1992). Yoğın çalışmalara rağmen, EHV-1 ve EHV-4'e karşı selüler ve serolojik immün cevapların birbirine üstünlükleri aydınlatılamamıştır (Mumford ve ark 1994).

Son kırk yıldır, doğal enfeksiyonların sebep olduğu hastalıklara direncin, benzer aşamalarının atlarda oluşturma girişimleri yapılmaktadır. Böylece atlarda, bu iki patojenin sebep olduğu etkinin azaltılması amaçlanmıştır.

Bu aşı çalışmaları sonucunda, EHV-1 ve EHV-4 nedenli hastalıkların kontrolünde pek çok ticari aşı geliştirilmiştir (Allen 2002). İmmunolojik denemelerde, yetişkin atların virüslerle karşı, bu ticari aşılarla yüksek serum antikor titrelerine sahip olduğu gösterilmiştir (Bryans 1980). Postvaksinyal daha az antikor cevabı, gençlerde ve safkan atlarda ortaya çıkabilir. Ayrıca maternal antikora sahip taylarda, aşılama sonrası oluşan serolojik cevap anlaşılamayabilir (Breathnach ve ark 1999). Keşfedilmelerinden sonraki yetmiş yılda, evcil atların ekonomik olarak en büyük patojenleri arasındaki herpesvirus enfeksiyonları, etkili aşılar konusundaki gelişmelerle azalmaktadır (Barrandeguy ve ark 2002). Yapılan bu aşı çalışmaları, diğer hayvan ve insanlardaki herpesviruslara karşı aşı hazırlanması ve uzun dönem korunma sağlanmasında bir ayna vazifesi görmektedir.

Etkili yönetim pratiklerine bağlı olarak aşılama, genç çiftlik hayvanlarındaki respiratorik hastalıkların şiddetini düzenlemede ve abortların ortaya çıkışını ve şiddetini sınırlamada etkili olabilir.

EHV-1 ve EHV-4'e karşı son jenerasyon aşılarından beklentiler realistik olarak, minimize edilmiş klinik sonuçlar ve enfeksiyon yayılışıyla sonuçlanan popülasyonlar arası enfeksiyon geçiş riskinin azaltılmasıdır. Aşılamalarda birinci faydalı etki genç hayvanlardaki respiratorik hastalık şiddetinde ve damızlık çiftliklerindeki abort salgınları sırasındaki fetal kayıpların azaltılmasıdır. Bazı çalışmalarda bu sıkıntıların %75 azaltıldığı rapor edilmiştir.

Nörolojik hastalıklara karşı korunmanın sağlanmasında, aşılama programlarının bir faydası henüz ortaya konmamıştır ve tartışmalıdır. Ayrıca, aşılama ile EHV-1 antijenlerine immunizasyonun, nörolojik komplikasyonları arttırdığına yönelik inanışlar da vardır. Çünkü EHV-1 ve EHV-4 için aşılamayla sağlanan immün direnç kısa ve çoklu aşı dozlarıyla yıllık tekrar gerektirmektedir. Sonuç olarak, aşılama ile taylarda latentliğin oluşmasında veya kısraklarda latent virus reaktivasyonunun önlenmesiyle, virüsün genç hayvanlara geçiş döngüsünün bloke edileceğine dair yeterli kanıt yoktur.

Bu çalışma ile ülkemizdeki at yetiştiriciliğinin gelişimini olumsuz etkileyen viral ajanlardan, atlarda ve diğer tek tırnaklılarda abort ve solunum sistemi enfeksiyonlarına neden olan Equine Herpesvirus tip 1 ve tip 4 (EHV-1, EHV-4)'ün bölgemizdeki varlığı ve yaygınlığının saptanıp, bu enfeksiyonlar ile mücadelede kullanılan kontrol yöntemlerine veri oluşturarak katkıda bulunulacaktır.

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Kan Serum Örnekleri

Bu çalışmada, atlarda EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının serolojik olarak araştırılması amacıyla, tesadüfi örnekleme yoluyla Aydın, İzmir ve Uşak illerinde farklı mevkilerde halk elinde bulunan yük ve binek amaçlı aşısız ve kayıtsız, 2 ile 30 yaşları arasında (ortalama 12,4 yaş) toplam 290 attan 10 ml'lik koagülanlı tüplere kan örnekleri alındı. Örnekleme hayvanların sahiplerinin isimleri, köy adları, hayvanlara ait yaş ve cinsiyet bilgileri kaydedildi.

Çalışmada, İzmir Tire Akçaşehir mevkiinden 5-30 yaşları arasında, 1 erkek, 10 dişi olmak üzere toplam 11, İzmir Tire Akyurt mevkiinden 2-20 yaşları arasında, 23 erkek, 18 dişi olmak üzere toplam 41, İzmir Tire Kemerdere mevkiinden 2-25 yaşları arasında, 101 erkek, 28 dişi olmak üzere toplam 129, İzmir Torbalı mevkiinden 6-20 yaşları arasında, 5 erkek, 6 dişi olmak üzere toplam 11, Uşak Hacıkadem mevkiinden 7-15 yaşları arasında, 4 erkek, 2 dişi olmak üzere toplam 6, Uşak Güre mevkiinden 4-18 yaşları arasında, 9 erkek, 7 dişi olmak üzere toplam 16, Uşak Ormandanı mevkiinden 7-15 yaşları arasında, 3 erkek, 2 dişi olmak üzere toplam 5, Uşak Çamyuva mevkiinden 8-20 yaşları arasında, 6 erkek, 3 dişi olmak üzere toplam 9, Uşak Merkez mevkiinden 8-23 yaşları arasında, 8 erkek, 5 dişi olmak üzere toplam 13, Aydın Kocagür mevkiinden 3-20 yaşları arasında, 18 erkek, 16 dişi olmak üzere toplam 34, Aydın Işıklı mevkiinden 5-20 yaşları arasında, 1 erkek, 3 dişi olmak üzere toplam 4, Aydın Davutlar mevkiinden 5-15 yaşları arasında, 5 erkek, 6 dişi olmak üzere toplam 11 attan örnekleme yapıldı (Çizelge 1. Mevkilere göre toplanan örnek sayıları).

Çizelge 1. Mevkilere göre toplanan örnek sayıları

Mevki	Yaş Aralığı	Örnek sayısı		
		Erkek	Dişi	Toplam
İzmir Tire Akçaşehir	5-30	1	10	11
İzmir Tire Akyurt	2-20	23	18	41
İzmir Tire Kemerdere	2-25	101	28	129
İzmir Torbalı	6-20	5	6	11
Uşak Hacıkadem	7-15	4	2	6
Uşak Güre	4-18	9	7	16
Uşak Ormandamı	7-15	3	2	5
Uşak Çamyuva	8-20	6	3	9
Uşak Merkez	8-23	8	5	13
Aydın Kocagür	3-20	18	16	34
Aydın Işıklı	5-20	1	3	4
Aydın Davutlar	5-15	5	6	11
Toplam	2-30 (ort.12,4)	184	106	290

Toplanan örnek sayıları iller bazında ele alındığında, İzmir'den 2-30 yaşları arasında, 130 erkek, 62 dişi olmak üzere toplam 192, Uşak'tan 4-23 yaşları arasında, 30 erkek, 19 dişi olmak üzere toplam 49, Aydın'dan 3-20 yaşları arasında, 24 erkek, 25 dişi olmak üzere toplam 49 at örnekleme yapıldı (Çizelge 2. İller bazında toplanan örnek sayıları).

Çizelge 2. İller bazında toplanan örnek sayıları

İl	Yaş Aralığı	Numune sayısı		
		Erkek	Dişi	Toplam
İzmir	2-30	130	62	192
Uşak	4-23	30	19	49
Aydın	3-20	24	25	49
Toplam	2-30 (ort.12,4)	184	106	290

Çalışma Geneline ise yaşları 2-30 arasında değişen (ort. 12,4), 184 erkek ve 106 dişi olmak üzere toplam 290 at örnekleme yapıldı (Çizelge 2).

2.1.2. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Atlarda EHV-1 ve EHV-4 spesifik antikorlarının ayırt edilmesine yönelik olarak geliştirilmiş olan ticari ELISA kiti (Svanovir®, Svanova Biotech AB, İsveç) kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Kan Serum Örnekleri

Kan örnekleri soğutmalı santrifüjde +4°C’de 2000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildikten sonra, üstteki serum tabakası steril stok tüplerine alınarak ELISA uygulamaları için -20°C’lik derin dondurucularda saklandı.

2.2.2. EHV-1 ve EHV-4 için ELISA

Atlarda EHV-1 ve EHV-4 spesifik antikorlarının ayırt edilmesine yönelik olarak geliştirilmiş olan ticari ELISA kiti (Svanovir®, Svanova Biotech AB, İsveç) kullanıldı. ELISA, üretici firmanın bildirdiği prosedür doğrultusunda gerçekleştirildi. Bu amaçla, serum örnekleri dilüsyon buffer ile 1:100 oranında sulandırıldı. Önce serumlar, daha sonra pozitif ve negatif kontrol serumlar kendilerine ait gözlere 100’er mikrolitre konuldu (Bknz. Örnek yerleşim tablosu). Oda ısısında shaker üzerinde 2 saat inkubasyonu takiben pleytler 4 defa PBS-Tween buffer ile yıkandı. Tüm gözlere 100 mikrolitre konjugat (1:100.000’lik, Bknz. Konjugatın hazırlanması) eklenerek oda ısısında shaker üstünde 1 saat inkubasyona bırakıldı. Süre sonunda 4 defa PBS-Tween buffer ile yıkanan pleytler iyice kurutulduktan sonra tüm gözlere substrat eklendi. Oda ısısında 10 dk inkubasyonu sonrası tüm gözlere 50 mikrolitre stop solüsyon eklenerek 10 dk beklendi ve ELISA okuyucuda 450 nm’de OD sonuçları elde edilerek değerlendirildi.

2.2.2.1. Konjugatın Hazırlanması

Konjugatın, dilüsyon buffer ile 1/100.000 sulandırması hazırlanır.

5 µl saf konjugat + 495 µl DB = 500 µl (1:100’lük sulandırma)

10 µl 1:100’lük konjugat + 990 µl DB = 1 ml (1:10.000’lik sulandırma)

1 ml 1:10.000’lik konjugat + 9 ml DB = 10 ml (1:100.000’lik sulandırma)

Çizelge 3. Örneklerin yerleşim tablosu

	EHV-1	EHV-4	KONTROL ANTİJEN	EHV-1	EHV-4	KONTROL ANTİJEN
	1	2	3	4	5	6
A	Kontrol A	Kontrol A	Kontrol A	Örnek 6	Örnek 6	Örnek 6
B	Kontrol B	Kontrol B	Kontrol B	Örnek 7	Örnek 7	Örnek 7
C	Kontrol C	Kontrol C	Kontrol C	Örnek 8	Örnek 8	Örnek 8
D	Örnek 1	Örnek 1	Örnek 1	Örnek 9	Örnek 9	Örnek 9
E	Örnek 2	Örnek 2	Örnek 2	Örnek 10	Örnek 10	Örnek 10
F	Örnek 3	Örnek 3	Örnek 3	Örnek 11	Örnek 11	Örnek 11
G	Örnek 4	Örnek 4	Örnek 4	Örnek 12	Örnek 12	Örnek 12
H	Örnek 5	Örnek 5	Örnek 5	Örnek 13	Örnek 13	Örnek 13

EHV-1 gözleri : 1, 4, 7, 10

EHV-4 gözleri : 2, 5, 8, 11

Kontrol Antijen : 3, 6, 9, 12

Kontrol A: EHV1/EHV4 Pozitif Kontrol Solüsyon

Kontrol B: EHV1/EHV4 Negatif Kontrol Solüsyon

Kontrol C: EHV4 Pozitif Kontrol Solüsyon

2.2.2.2. Değerlendirme

$$OD_{\text{corr}}: OD_{\text{antijen}} - OD_{\text{kontrol antijen}}$$

* Pozitif Kontroller için aşağıda hesaplanacak sonuçlar 0.6'dan büyük olmalıdır.

EHV-1 için.....Kontrol A1-Kontrol A3

EHV-4 için.....Kontrol C1-Kontrol C3

* Negatif Kontroller için aşağıda hesaplanacak sonuçlar 0.1'den küçük olmalıdır.

NK için.....Kontrol B1-Kontrol B3

* Şüpheli Serumlar için:

OD>0.2 pozitif

OD 0.1-0.2 şüpheli (10-14 gün sonra yeni örnek tekrar test edilmeli)

OD< 0.1 negatif

EHV-1 için.....Örnek 1... Örnek D1-Örnek D3

EHV-4 için.....Örnek 1... Örnek D2- Örnek D3

3.BULGULAR

Araştırmada İzmir Tire Akçaşehir mevkiinde örneklenen 11 attan 2 adedi (%18,2) EHV-1, 10 adedi (%90,9) EHV-4, İzmir Tire Akyurt mevkiinde örneklenen 41 attan 4 adedi (%9,8) EHV-1, 36 adedi (%87,8) EHV-4, İzmir Tire Kemerdere mevkiinde örneklenen 129 attan 18 adedi (%14) EHV-1, 108 adedi (%83,7) EHV-4, İzmir Torbalı mevkiinde örneklenen 11 attan 4 adedi (%36,4) EHV-1, 4 adedi (%36,4) EHV-4, Uşak Hacıkadem mevkiinde örneklenen 6 attan 1 adedi (%16,7) EHV-1, 6 adedi (%100) EHV-4, Uşak Güre mevkiinde örneklenen 16 attan 2 adedi (%12,5) EHV-1, 12 adedi (%75) EHV-4, Uşak Ormandamı mevkiinde örneklenen 5 attan 2 adedi (%40) EHV-1, 5 adedi (%100) EHV-4, Uşak Çamyuva mevkiinde örneklenen 11 attan 2 adedi (%18,2) EHV-1, 10 adedi (%90,9) EHV-4, Uşak mevkiinde örneklenen 13 attan 1 adedi (%7,7) EHV-1, 10 adedi (%76,9) EHV-4, Aydın Kocagür mevkiinde örneklenen 34 attan 3 adedi (%8,8) EHV-1, 30 adedi (%88,2) EHV-4, Aydın Işıklı mevkiinde örneklenen 4 attan 0 adedi (%0) EHV-1, 4 adedi (%100) EHV-4, Aydın Davutlar mevkiinde örneklenen 11 attan 0 adedi (%0) EHV-1, 9 adedi (%81,8) EHV-4 yönünden seropozitif bulundu (Çizelge 4. Mevkilere göre EHV-1 ve EHV-4 seropozitiflik değerleri).

Çizelge 4. Mevkilere göre EHV-1 ve EHV-4 seropozitiflik değerleri

Mevki	Örnek Sayısı	Seropozitif bulunan örnek sayısı (%)	
		EHV-1	EHV-4
İzmir Akçaşehir	11	2 (%18,2)	10 (%90,9)
İzmir Tire Akyurt	41	4 (%9,8)	36 (%87,8)
İzmir Tire Kemerdere	129	18 (%14)	108 (%83,7)
İzmir Torbalı	11	4 (%36,4)	4 (%36,4)
Uşak Hacıkadem	6	1 (%16,7)	6 (%100)
Uşak Güre	16	2 (%12,5)	12 (%75)
Uşak Ormandamı	5	2 (%40)	5 (100)
Uşak Çamyuva	9	1 (%11,1)	7 (%77,8)
Uşak Merkez	13	1 (%7,7)	10 (%76,9)
Aydın Kocagür	34	3 (%8,8)	30 (%88,2)
Aydın Işıklı	4	0	4 (%100)
Aydın Davutlar	11	0	9 (%81,8)
Toplam	290	38 (%13,1)	241 (%83,1)

Seropozitiflik değerleri iller bazında incelendiğinde; İzmir’den alınan 192 at serum örneğinin 28 adedi (%14,6) EHV-1, 158 adedi (%82,3) EHV-4, Uşak’tan alınan 49 at serum örneğinin 7 adedi (%14,3) EHV-1, 40 adedi (%81,6) EHV-4, Aydın’dan alınan 49 at serum örneğinin 3 adedi (%6,1) EHV-1, 43 adedi (%87,8) EHV-4 enfeksiyonları yönünden seropozitif bulundu (Çizelge5. İllere göre EHV-1 ve EHV-4 seropozitiflik değerleri).

Çalışma genelinde ise toplanan toplam 290 at kan serumu örneğinin 38 (%13,1) adedi EHV-1, 241 adedi (%83,1) EHV-4 enfeksiyonları yönünden seropozitif bulundu.

Çizelge 5. İllere göre EHV-1 ve EHV-4 seropozitiflik değerleri

İl	Örnek Sayısı	Seropozitif bulunan örnek sayısı (%)	
		EHV-1	EHV-4
İzmir	192	28 (%14,6)	158 (%82,3)
Uşak	49	7 (%14,3)	40 (%81,6)
Aydın	49	3 (%6,1)	43 (%87,8)
Toplam	290	38 (%13,1)	241 (%83,1)

Çalışma genelinde elde edilen seropozitiflik değerleri cinsiyete göre değerlendirildiğinde, erkek hayvanlardan toplanan toplam 184 kan serum örneğinin 23 adedinin (%12,5) EHV-1, 149 adedinin (%81) EHV-4, dişi hayvanlardan toplanan toplam 106 kan serum örneğinin 15 adedinin (%14,2) EHV-1, 92 adedinin (%86,8) EHV-4 enfeksiyonları yönünden seropozitif bulundu (Çizelge 6. Çalışma geneli cinsiyete göre EHV-1 ve EHV-4 seropozitiflik değerleri).

Çizelge 6. Çalışma geneli cinsiyete göre EHV-1 ve EHV-4 seropozitiflik değerleri

Mevki	Örnek Sayısı	Seropozitif bulunan örnek sayısı (%)	
		EHV-1	EHV-4
Erkek	184	23 (%12,5)	149 (%81)
Dişi	106	15 (%14,2)	92 (%86,8)
Toplam	290	38 (%13,1)	241 (%83,1)

Araştırmada EHV-1 enfeksiyonu yönünden seropozitif olduğu saptanan toplam 38 örnekten 2 adedi (%5,3) tekli EHV-1 enfeksiyonu olarak bulunurken, EHV-4 enfeksiyonu

yönünden seropozitif olduğu saptanan toplam 241 örnekten 205 adedi (%85,1) tekli EHV-4 enfeksiyonu olarak belirlendi.

Araştırmada örneklenen toplam 290 kan serumun 243 (%83,8) adedinin EHV-1, EHV-4 ya da her ikisi yönünden seropozitif olduğu saptanırken, 47 adedi (%16,2) hem EHV-1 hem de EHV-4 enfeksiyonları yönünden seronegatif bulundu. Pozitiflik saptanan toplam 243 örneğin 36 adedinin her iki enfeksiyon yönünden de seropozitif olduğu saptandı.

4.TARTIŞMA

EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonları dünyadaki tüm at populasyonlarında bulunmaktadır. EHV-1 ve EHV-4 spesifik antikorlarının araştırılması, at populasyonları içindeki asemptomatik taşıyıcıların yanında, bu tip Alfaherpesvirusların epidemiyolojik olarak çalışılmasında önemli bir indikatör olmasından dolayı önem taşımaktadır (Nordengrahn ve ark 1999).

Bu çalışmanın amacı, çalışma bölgesindeki EHV-1 ve EHV-4 varlığını ve oranını tespit etmektir. Yoğun yetiştiriciliğin yapıldığı bölgelerdeki bulaşma riski nedeniyle bireysel yetiştirilen atlar tercih edilmiştir. Toplam 290 serum örneği Batı Anadolu'nun üç ilindeki aile tipi küçük işletmelerden toplanmıştır. Serum örnekleri ELISA tekniği ile kontrol edildi ve EHV-1 ve EHV-4 için seropozitivite sırasıyla %13,1 ve %83,1 olarak bulundu.

Dünyada farklı epidemiyolojik araştırmalarda, EHV-1 ve EHV-4 seroprevalans oranları sırasıyla %8 ve %85,2 arasında rapor edilmiştir (Gilkerson ve ark., 1999, Doll ve Bryans, 1963). Türkiye'de EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının seroprevalansının araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ataseven ve ark (2009) Türkiye'nin farklı bölgelerinden halk elinde yetiştirilen at, katır ve eşeklerde EHV-1 seroprevalansını sırasıyla %14,5, %37,2 ve %24,2 oranlarında bildirilmişlerdir. Aynı araştırmada atlarda EHV-4 seroprevalansı %81,7 olarak bildirilmiştir. Gür ve Yapıcı (2008), Türkiye'nin Orta ve Batı bölgesinde yer alan İzmir, Konya, Afyonkarahisar ve Eskişehir illerinde halk elinde yetiştirilen atlarda yaptıkları araştırmada EHV-1 ve EHV-4 seroprevalanslarını sırasıyla %3,7 ve %56,9 olarak tespit etmişlerdir. Aynı araştırmada EHV-1 için illere göre %4,5-6,9; EHV-4 için ise %48,4-65,7 arasında seropozitiflik saptanmıştır. EHV-1 için, Eskişehir ilinde seropozitif at tespit edilmemesine karşın, İzmir (%5,7) ve Afyonkarahisar (%6,9) illerinde düşük seropozitiflik belirlenmiştir. EHV-4 seropozitifliği ise %65,7 ile en yüksek İzmir, %48,4 ile en düşük Eskişehir illerinde belirlenmiştir. EHV-1 ve EHV-4 seroprevalansına yönelik Ataseven ve ark (2010)'nın Doğu Anadolu Bölgesinde yük atlarında yaptıkları çalışmada EHV-1 ve EHV-4 seroprevalansı sırasıyla %23,2 ve %78 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada, illere göre EHV-1 ve EHV-4 için en yüksek seropozitiflik Van ilinde (sırasıyla %29,5 ve %87,2), en düşük seropozitiflik ise EHV-1 için Muş (%5,1), EHV-4 için Erzurum (%52,9) illerinde saptanmıştır. Çalışmada, EHV-1

ve EHV-4 antikorlarını ayırtedici ELISA kiti kullanılarak, Ege Bölgesinin batısında yer alan İzmir, Uşak ve Aydın illerindeki iş atlarında (yük ve çekim) EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının seroprevalansı araştırıldı. Bu çalışmada, EHV-1 ve EHV-4 seropozitiflikleri sırasıyla %13,1 ve %83,1 oranlarında tespit edildi. İllere göre, EHV-1 ve EHV-4 için seropozitiflik oranlarının sırasıyla, İzmir ilinden örneklenen atlarda %14,6 ve %82,3; Uşak ilinde %14,3 ve %81,6; Aydın ilinde %6,1 ve % 87,8 olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada EHV-1 ve EHV-4 için elde edilen genel seropozitiflik oranları, önceki araştırma sonuçları (Ataseven ve ark 2009; Ataseven ve ark 2010; Gilkerson ve ark 1999; Gür ve Yapıcı 2008; Nordengrahn ve ark 1999) ile uyumlu olarak EHV-4 seroprevalansının EHV-1 seroprevalansına göre daha yüksek olduğunu doğrulamaktadır. Ancak, Gür ve Yapıcı (2008) tarafından yapılan araştırma dikkate alındığında, İzmir ilinde her iki enfeksiyonun seropozitiflik oranının yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın, bu çalışmada örneklenen hayvanların yaş ortalamalarının yüksek olması nedeniyle enfeksiyonlara maruziyet olasılığının artışına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Daha önceki EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarıyla ilgili serolojik sorvey çalışmalarında, komplement fiksasyon ve virus nötralizasyon teknikleri kullanılmıştır. Fakat bu testlerde, iki serotipi ayırmada aralarındaki kuvvetli kros – reaktivite nedeniyle yeterli başarı sağlanamamıştır. Ancak 1990'ların ortalarında monoklonal antikorlar kullanılarak yapılan tip – spesifik ELISA tekniğinin geliştirilmesiyle bu serotiplerin diyagnozu kolaylaşmıştır (Crabb ve Studdert 1993). Bugün artık ELISA, diğer tekniklere göre pratik avantajları ve yüksek duyarlılığı nedeniyle kabul gören test tekniğidir (Crabb ve Studdert 1993, Yasunaga ve ark 2000, Hartley ve ark 2005).

Örneklenen hayvanların detaylı sağlık kayıtlarına ulaşamadı ve çalışmanın öncesi ve sonrasında çalışılan enfeksiyonlarla ilgili klinik semptomların varlığı hakkında bilgi edinilemedi. Fakat hayvan sahiplerinden, örneklenen atların EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonları için aşılanmadığı öğrenildi. Çalışmada alınan sonuçların geçirilen doğal enfeksiyonları gösterdiğine kanaat getirilmiştir.

Bu çalışmada bulunan sonuçlar EHV-1 ve EHV-4 yaygınlığı yönünden, dünyanın Kanada (Carman ve ark 1997), Yeni Zelanda (Jolly ve ark 1986), Avusturalya (Gilkerson ve ark 1994), ABD (Mumford ve ark 1998), Japonya (Matsumura ve ark

1992) ve Çin (Mason ve ark 1989) gibi ülkelerinde yapılan çalışmalarla benzerlik göstermiştir.

EHV-1 enfeksiyonu genellikle kış mevsiminde görülmekte ve hastalık için en yüksek insidens 3 yaş civarı atlarda tespit edilmiştir. Fakat EHV-4 için mevsimsel farklılık rapor edilmemiş ve bu enfeksiyon atlarda tüm yıl boyunca bulunabilmektedir (Matsumura ve ark 1992). Bu çalışmadaki serum örnekleri 2011 ile 2014 yıllarında mevsim gözetmeksizin karışık olarak toplanmıştır.

ABD’de Gilkerson ve ark (1994) kısıraklarda ve taylarda EHV-4 için seropozitiflik oranını %99 olarak bulurken EHV-1 için kısırak ve taylarda sırasıyla %26.2 ve %11.4 olarak tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada Crabb ve Studdert 1994’de iki yaş üstü aşılammamış atlardaki seropozitiflik oranlarını EHV-1 için %30 olarak bulurken, EHV-4 için çalışılan tüm hayvanları pozitif olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi yapılan tüm prevalans çalışmalarında, EHV-4 prevalansı EHV-1’den çok daha fazla bulunmaktadır. EHV-4 enfeksiyonlarının daha yaygın görülmesinin sebebi olarak, aerojen yolla ve damlacık enfeksiyonu tarzında yayılması, EHV-1’in ise genellikle genital sistem dokularında lokalize olması ve abort olaylarına yol açması ve de daha az vireminin görülmesi düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışmada cinsiyete bağlı seropozitivite ve enfeksiyon oranlarının birbirine yakın olduğu saptandı.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızda, Batı Anadolu'nun Aydın, İzmir ve Uşak illerindeki halk tipi işletme sahiplerinin hayvanlarından toplam 290 adet serum örneği toplanmıştır. Toplanan at serumları ELISA tekniği ile EHV-1 ve EHV-4 spesifik antikorları yönünden incelendi. EHV-1 spesifik antikorları test edilen atların %13,1'nde, EHV-4 spesifik antikorları ise %83,1'nde pozitif olarak bulundu.

EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının latent yapısı nedeniyle (Welch ve ark 1992, Slater ve ark 1994), viruslar bağışıklık sistemini etkileyen, immunosupresif tedavi, stres, gebelik ve eşlik eden diğer hastalık gibi sebeplerden reaktif olabilir. Hastalığın kontrolü için, immunoprofilaksi gibi etkili tedbirler gereklidir. İnaktif aşılar kullanımda olsa da, uzun zaman için korumada etkili bulunmamıştır. Ancak bunlar solunum sistemi sorunlarının şiddetini azaltırlar (Zhang ve ark 1998). Canlı aşılar, humoral ve hücrel immun yanıtı uyarmada daha etkili görünse de latent enfeksiyon riski taşırlar. Türkiye'de bu viruslar için aşılama, büyük sürüler ve yarış atları hariç sahada rutin olarak henüz uygulanmamaktadır.

Bu çalışmada EHV-1 ve EHV-4 için ulaşılan seropozitiflik oranları sırasıyla %13,1 ve %83,1, pek çok ülkede yapılan çalışmalarla (Crabb ve Studdert 1994, Gilkerson ve ark 1994) karşılaştırıldığında düşük bulundu, ancak çalışılan virus tiplerinin potansiyel sağlık riski oluşturabileceği açıktır.

Sonuçta, bu çalışmada Batı Anadolu'nun Aydın, İzmir ve Uşak illerindeki EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonları serolojik olarak ilk kez araştırıldı. EHV-4 pek çok çalışmada olduğu gibi daha yaygın olarak bulundu. Atlarda solunum ve üreme sistemleri ile ilgili hastalıkların kompleks etiyolojik nedenleri arasında EHV-1 ve EHV-4'ünde göz önüne alınması, farklı bölgelerde serolojik ve moleküler düzeyde yapılacak biyotip çalışmalarının yapılmasının uygulanabilir kontrol stratejilerinin oluşturulmasında gerekli olduğu sonucuna varıldı

ÖZET

Aydın, İzmir ve Uşak Yöresindeki Atlarda Equine Herpesvirus Tip 1 (EHV-1) ve Tip 4 (EHV-4)'ün Serolojik Olarak Araştırılması

Bu araştırmada, Türkiye'nin Ege bölgesinde yer alan 3 ilinde kullanılan lokal ırk atlarda, at herpesvirus tip-1 (EHV-1) ve 4 (EHV-4)'e karşı oluşmuş antikorların varlığının belirlenmesi amaçlandı.

Aydın, İzmir ve Uşak illerindeki aşılınmamış toplam 290 attan toplanan kan örnekleri ticari bir ELISA kiti ile test edildi. Test edilen serumların 38 adedi (%13,1) EHV-1, 241 adedi ise (%83,1) EHV-4 antikorları yönünden pozitif bulundu. İllere göre EHV-1 seropozitiflik oranları; Aydın'da %6,1, İzmir'de %14,6 ve Uşak'da %14,3 olarak tespit edilirken, EHV-4 için seropozitiflik oranları; Aydın'da %87,8, İzmir'de %82,3 ve Uşak'da %81,6 olarak saptandı. Bu araştırma, EHV-1 ve EHV-4 enfeksiyonlarının Türkiye'nin Ege bölgesinde yer alan 3 ilindeki lokal at popülasyonlarında oldukça yaygın olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, yüksek EHV-4 seropozitifliği geçirilen doğal enfeksiyonlara ve örneklenen hayvanların yüksek yaş ortalamasına bağlandı. Çalışmada cinsiyete bağlı oransal farklılık gözlenmedi.

Araştırma, EHV-1 ve EHV-4 seroepidemiolojisine yönelik yörede yapılan ilk çalışma olup, elde edilen veriler ileride yapılacak olan moleküler karakterizasyon ya da aşı çalışmalarına ışık tutacaktır.

Anahtar Kelimeler: Antikor, at herpesvirus tip-1, at herpesvirus tip-4, Türkiye

SUMMARY

A Serological Investigation of the Equine Herpesvirus Type 1 (EHV-1) and Equine Herpesvirus Type 4 (EHV-4) in Horses in Aydın, İzmir and Uşak Regions

The objective of this research was to determine the presence of equine herpesvirus types 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) antibodies in local horses from three provinces in the Western Anatolia region of Turkey.

Blood samples were collected from 290 nonvaccinated horses living in Aydın, Uşak and İzmir provinces, and were analyzed via a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). EHV-1 and EHV-4 antibodies were detected in (%13,1) and (%83,1) of the 290 tested sera, respectively. The seropositivity percentages for EHV-1 and EHV-4 specific antibodies by province were as follows: 6,1% - 87,8% in Aydın, 14,3% - 81,6% in Uşak and 14,6% - 82,3% in İzmir.

The present investigation demonstrated that, EHV-1 and EHV-4 infections were more prevalent in the indigenous horse population from three provinces in the Western Anatolia region of Turkey. In addition, high EHV-4 seropositivity was linked to natural infection being passed and high average age of the sampled animal. In this study, no significant differences related to gender proportional.

This research is the first study in the region for the EHV-1 and EHV-4 seroepidemiology, also obtained data shed light on the molecular characterization or vaccine studies which will be held in the future.

Key Words : Antibody, equine herpesvirus type-1, equine herpesvirus type-4, Turkey.

KAYNAKLAR

- Adeyefa CA (1992) Serological evidence of equine herpesvirus type 1 (EHV-1) activity in polo horses in Nigeria. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, Reiche B, 39,628-630.
- Allen GP (2000) Equine Rhinopneumonitis. in: O.I.E. Manuel of Standarts for Diagnostic Tests and Vaccines, 4th edition. Paris: Office International des Epizooties (O.I.E.) Press, pp.565-575
- Allen GP (2002) Respiratory Infections by Equine Herpesvirus Type 1 and 4 in: LEKEUX P. Equine Respiratory Disease (online publication) Ithaca: International Veterinary Information Service (http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/allen)
- Allen GP (2002) Epidemic Disease Caused by Equine herpesvirus-1: Recommendations for Prevention and Control Equine Veterinary Education (in press).
- Allen GP, Bryans JT (1986) Molecular Epidemiology, Pathogenesis and Prophylaxis of Equine herpesvirus-1 infections. *Progress in Veterinary Microbiology and Immunology*, 2, 78-144.
- Allen GP, Coogle LD, Ostlund EN, Yeargan MR (1992) Molecular dissection of two major equid herpesvirus-1 glycoprotein antigens (gB and gC) that elicit humoral immune responses in the horse. in: Plowright W, Rossdale PD, Wade JF p
- Allen GP, Kydd JK, Slater JD, Smith KC (1999) Advances in understanding of the epidemiology, pathogenesis and immunological control of equid herpesvirus-1 VIII. Newmarket (Suffolk): R-W publication, p.129-146.
- Allen GP, O'Callaghan DJ, Randall CC (1977) Genetic relatedness of equine herpesvirus type 1 and 3. *Journal of Virology*, 24, 761-767.
- Ataseven VS, Bilge-Dağalp S, Güzel M, Başaran Z, Tan MT, Geraghty B (2009). Prevalence of equine herpesvirus-1 and equine herpesvirus-4 infections in equidae species in Turkey as determined by ELISA and multiplex nested PCR. *Research in Veterinary Science* 86, 339-344.
- Ataseven VS, Bilge-Dağalp S, Başaran Z, Keskin S, (2010) Seroepidemiology of equine herpesvirus-1 and equine herpesvirus-4 infections in working horses from the eastern Turkey. *Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi Dergisi* 57, 39-42.
- Australian Equine Veterinary Association (1994) Guidelines for the Control of Equine Herpesvirus 1 Abortion
- Awan AR, Chong YC, Field HJ (1990) The pathogenesis of equine herpesvirus infection. *Journal of General Virology*, 71, 1131-1140.
- Barrandeguy ME, Lascombes F, Lorante J, Houssay H, Fernandez F (2002) High case-rate equine herpesvirus 1 abortion outbreak in vaccinated polo mares in Argentina, *Equine Veterinary Education* (in press)

- Baxi MK, Efsthathiou S, Lawrance G, Whalley JM, Slater JD, Field HJ (1995) The detection of latency-associated transcripts of equine herpesvirus 1 in ganglionic neurons. *Journal of General Virology*, 76, 3113-3118.
- Blunden AS, Smith KC, Binns MM, Zhang L, Gover SM, Mumford JA (1995) Replication of equid herpesvirus 4 in endothelial cells and synovia from a field case of viral pneumonia and synovitis in a foal. *Journal of Comparative Pathology*, 112, 133-140.
- Blunden AS, Smith KC, Whitwel KE, Dunn KA (1998) Systemic infection by equid herpesvirus-1 in a Grevy's zebra stallion (*Equus grevyi*) with particular reference to genital pathology. *Journal of Comparative Pathology*, 119, 485-493.
- Brochers K, Wolfinger U, Lawrenz B, Schellenbach A, Ludwig H (1997) Equine herpesvirus 4 DNA in trigeminal ganglia of naturally infected horses detected by direct in situ PCR. *Journal of General Virology*, 78, 1109-1114.
- Breathnach CC, Allen GP, Holland RE, Conboy HS, Berry DB, Chambers TM (1999) Problems associated with against equine herpesvirus-4 (EHV-4) and the role of anti-EHV-4 antibodies. In: Wernery U, Wade JF, Mumford JA, Kaaden OR, *Equine Infectious Disease VIII*. Newmarket (suffolk) : RW publications, pp. 426-427.
- Bridges CG, Ledger N, Edington N (1988) The characterization of equine herpesvirus-1 infected cell polypeptides recognized by equine lymphocytes. *Immunology*, 63, 193-198.
- Browning GF, Ficorilli N, Roy EA, Thorp BH, Studdert MJ (1988) Latency of equine herpesvirus 4 (Equine rhinopneumonitis virus). *The Veterinary Record*, 123, 518-519.
- Bryans JT (1969) On immunity to disease caused by equine herpesvirus-1. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 155, 294-300.
- Bryans JT (1978) Immunization of pregnancy mares with an inactivated equine herpesvirus 1 vaccine. In: Bryans JT, Gerber H (Ed.) *Equine Infectious disease IV*. Princeton: Veterinary Publications, pp.83-92.
- Bryans JT (1980) Serologic responses of pregnant thoroughbred mares to vaccination with an inactivated equine herpesvirus 1 vaccine. *American Journal of Veterinary Research*, 41, 1743-1746.
- Bryans JT, Allen GP (1986) Equine viral rhinopneumonitis. *Revue Scientifique et Technique, Office International des Epizooties*, 5, 837-847.
- Bryans JT, Swerczek TW, Darlington RW, Crowe MW (1977) Neonatal foal disease associated with perinatal infection by equine herpesvirus-1. *Journal of Equine Medicine and Surgery*, 1, 20-26.
- Burki F, Rossmanith W, Nowotny N, Palan C, Mostl K, Lussy H (1990) Viremia and abortions are not prevented by two commercial equine herpesvirus-1 vaccines after experimental challenge of horses. *Veterinary Quarterly*, 12, 80-86.

Burrows R (1970) The general virology of the herpesvirus group. In: Bryans JT, Gerber H, Equine Infectious Disease II. Basel: Karger, pp.1-12.

Burrows R, Goodridge D (1972) In vivo and in vitro studies of equine rhinopneumonitis strains. In: Bryans JT, Gerber H, Equine Infectious Disease III. Basel: karger, pp.306-321.

Burrows R, Goodridge D (1975) Experimental studies on herpesvirus type 1 infections. Journal of Reproduction and Fertility, supplement, 23, 611-615.

Burrows R, Goodridge D (1984) Studies of persistent and latent equid herpesvirus-1 and herpesvirus-3 infections in the pirbright pony herd. In: Wittmann G, Gaskell RM, Rziha HJ Latent Herpesvirus Infection in Veterinary Medicine. The Hague: Martinus Nijhoff, pp.307-319.

Campbell TM, Studdert MJ (1983) Equine herpesvirus type 1. Veterinary Bulletin, 53, 135-146.

Carman S, Nagy E, Caldwell D, Van Dreumel TA (1993) Equine herpesvirus type 1 neurological disease and enterocolitis in mature standardbred horses, Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 5, 261-265.

Caughman GB, Robertson AT, Gray WL, Sullivan DC, O'callghan DJ (1988) Characterization of equine herpesvirus type 1 immediate early proteins. Virology, 163, 563-571.

Charlton KM, Mitchell D, Girard A, Corner AH (1976) Meningoencephalomyelitis in horses associated with equine herpesvirus 1 infection. Veterinary Pathology, 13, 59-68.

Chesters PM, Allsop R, Purewal A, Edington N (1997) Detection of latency-associated transcripts of equine herpesvirus 1 in equine leukocytes but not in trigeminal ganglia. Journal of Virology, 71, 3437-3443.

Crabb BS, Allen GP, Studdert MJ (1991) Characterization of the major glycoproteins of equine herpesvirus 4 and 1 and asinine herpesvirus 3 using monoclonal antibodies. Journal of General Virology, 72, 2075-2082.

Crabb BS, Macpherson CM, Reubel GH, Browning GF, Studdert MJ, Drummer HE (1995) A type-specific serological test to distinguish antibodies to equine herpesvirus 4 and 1. Archives of Virology, 140, 245-258.

Davison A, Eberle R, Desrosiers RC, Fleckenstein B, McGeoch DJ, Pellet PE, Roizman B, Studdert MJ (2000) Herpesviridae. In: Van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes EB, Lemon SM, Maniloff J, Mayo MA, McGeoch DJ, Pringle CR, Wickner RB, Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of viruses. Orlando: Academic Press, pp.114-127.

De Lahunta A, (1978) Diagnosis of equine neurological problems. Cornell Veterinarian, 68, Suppl.7, 122-132.

Del Piero F, Wilkins PA (2001) Pulmonary vasculotropic EHV-1 infections in equid. *Veterinary Pathology*, 38, 474-475.

Dimock WW (1940) The diagnosis of virus abortion in mares. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 96, 665-666.

Doll ER, Bryans JT (1963) Epizootiology of equine viral rhinopneumonitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 142, 31-37.

Doll ER, Crowe MW, Bryans JT, McCollum WH (1955) Infection immunity in equine virus abortion. *Cornell Veterinarian*, 46, 68-82.

Doll ER, McCollum WH, Bryans JT, Crowe MW (1959) Effect of physical and chemical environment on the viability of equine rhinopneumonitis virus propagated in hamsters. *Cornell Veterinarian*, 44, 75-81.

Dutta SK, Myrup A, Bumgardner MK (1980) Lymphocyte responses to virus and mitogen in ponies during experimental infection with equine herpesvirus 1. *American Journal of Veterinary Research*, 41, 2066-2068.

Edington N, Bridges CG, Huckle A (1985) Experimental reactivation of equid herpesvirus 1 following the administration of corticosteroids. *Equine Veterinary Journal*, 17, 369-372.

Edington N, Bridges CG, Patel JR (1986) Endothelial cell infection and thrombosis in paralysis caused by equid herpesvirus-1: equine stock. *Archives of Virology*, 90, 111-124.

Edington N, Chesters P, Azam H, Welch H, McGladdery A, Purewal A (1994) Profiles of alphaherpesviruses in circulating leukocytes from thoroughbred mares and foals using PCR and co-cultivation. In: Nakajima H, Plowright W *Equine Infectious Disease VII*. Newmarket (Suffolk): R-W publications, pp.251-254.

Edington N, Smyth B, Griffiths L (1991) The role of endothelial cell infection in the endometrium, placenta and foetus of equid herpesvirus 1 (EHV-1) abortions. *Journal of Comparative Pathology*, 104, 379-387.

Edington N, Welch HM, Griffiths L (1994) The prevalence of latent equid herpesvirus in the tissues of 40 abattoir horses. *Equine Veterinary Journal*, 26, 140-142.

Gibson JS, O'Neill T, Thackray A, Hannant D, Field (1992) Serological responses of specific pathogen free foals to equine herpesvirus-1: primary and secondary infections and reactivations. *Veterinary Microbiology*, 32, 199-214.

Gibson JS, Slater JD, Awan AR, Field HJ (1992) Serological responses of specific pathogen free foals to equine herpesvirus-1: primary and secondary infections and reactivations. *Archives of Virology*, 123, 351-366.

Gilkerson JR, Whalley JM, Drummer HE, Studdert MJ, Love DN (1999) Epidemiology of EHV-1 and EHV-4 in the mare and foal populations on a hunter Valley stud farm: Are mares source of EHV-1 for unweaned foals. *Veterinary Microbiology*, 68, 27-34.

Greenwood RE, Simson AR (1980) Pathological observations on an outbreak of paralysis in broodmares. *Equine Veterinary Journal*, 12, 118-126.

Greenwood RE, Simson AR (1980) Clinical report of a paralytic syndrome affecting stallions, mares and foals on a thoroughbred studfarm, *Equine Veterinary Journal*, 12, 113-117.

Gür S, Yapıcı O (2008). Equine herpesvirus type 1 and 4 individually reared horses in Central and Western Turkey. *Acta Vet. Brno*, 77: 609-613.

Hartley W, Dixon RJ (1979) An outbreak of foal perinatal mortality due to equine herpesvirus type 1. *Equine Veterinary Journal*, 11, 215-218.

Hasebe R, Kimura T, Nakamura K, Okazaki K, Ochiai K, Wada R, Umemura T (2002) : Passage of equine herpesvirus in suckling Mouse brain enhances extraneural virus growth and subsequent hematogenous neuroinvasion. *J.Vet. Med. Science*, 10:907-912.

Hong CB, Donahue JM, Giles RC, Petrites Murphy MB, Poonacha KB, Roberts AW, Smith BJ, Tramontin RR, Tuttle PA, Swerczek TW (1993) Equine abortion and stillbirth in central Kentucky during 1988 and 1989 foaling seasons. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 5, 560-566.

Jackson TA, Kendrick JW (1971) Paralysis of horses associated with equine herpesvirus 1 infection. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 158, 1351-1357.

Jackson TA, Osburn BI, Cordy DR, Kendrick JW (1977) Equine herpesvirus 1 infection of horses: studies on the experimentally induced neurologic disease. *American Journal Veterinary Research*, 38, 709-719.

Kydd JH, Smith KC, Hannant D, Livesay GJ, Mumford JA (1994) Distribution of equid herpesvirus-1 in the respiratory tract of ponies: implications for vaccination strategies. *Equine Veterinary Journal*, 26, 466-469.

Little PB, Thorsen J, Moran K (1974) Virus involvement in equine paresis. *The Veterinary Record*, 95, 575.

Lunn DP, Holmes MA, Gibson JS, Field HJ, Kydd JH, Duffus WPH (1991) Haematological changes and equine lymphocyte subpopulation kinetics during primary infection and attempted re-infection of specific pathogen free foal with EHV-1. *Equine Veterinary Journal*. supplement 12, 35-40.

Matsumura T, Kondo T, Sugita S, Damiani AM, O'callghan DJ, Imagawa H (1998) An equine herpesvirus type 1 recombinant with a deletion in the gE and gI genes is avirulent in young horses. *Virology*, 242, 68-79.

Matsura T, Sugiura T, Imagawa H, Fukunaga Y, Kamada M (1992) Epizootiological aspects of type 1 and type 4 equine herpesvirus infections among horse populations. *Journal of Veterinary Medical Science*, 54, 207-211.

- McCartan CG, Russell MM, Wood JL, Mumford JA (1995) Clinical, serological and virological characteristic of an outbreak of paresis neonatal foal disease due to equine herpesvirus-1 on a studfarm. *The Veterinary Record*, 136, 7-12.
- McGeoch DJ, Barnett BC, Maclean CA (1993) Emerging functions of alphaherpesvirus genes. *Seminary in Virology*, 4, 125-134.
- Meredith DM, Stocks JM, Whittaker GR, Halliburton IW, Snowden BW, Killington RA (1989) Identification of the gB homologues of equine herpesvirus types 1 and 4 as disulphide-linked heterodimers and their characterization using monoclonal antibodies. *Journal of General Virology*, 70, 1161-1172.
- Meyer H, Thein P, Hübner P (1987) Characterization of two equine herpesvirus isolates associated with neurological disorders in horses. *Zentralblatt für veterinärmedizin, Reihe B*, 34, 545-548.
- Mumford JA, Hannant D, Jessett DM, O'Neill T, Smith KC, Ostlund EN (1994) Abortigenic and neurological disease caused by experimental infection with equid herpesvirus-1. In: Plowright W, Nakajima H, *Equine Infectious Disease VII*. Newmarket (suffolk) : R-W publication, pp.261-275.
- Mumford JA, Rossdale PD (1980) Virus and its relationship to the "poor performance" syndrome. *Equine Veterinary Journal*, 12, 3-9.
- O'keefe JS, Alley MR, Jones D, Wilks CR (1995) Neonatal mortality due to equid herpesvirus 4 in a foal. *Australian Veterinary Journal*, 72, 353-354.
- Patel JR, Edington N, Mumford JA (1982) Variation in cellular tropism between isolates of equine herpesvirus 1 in foal. *Archives of Virology*, 74, 41-51.
- Perdue ML, Kemp MC, Randall CC, O'callaghan DJ (1974) Studies on the molecular anatomy of the L-M cell strain of equine herpesvirus type 1: proteins of the nucleocapsid and intact virion. *Virology*, 59, 201-216.
- Purewal AS, Smallwood AV, Kaushal A, Ageboye D, Edington N (1992) Identification and control of the cis acting elements of the immediate early gene of equine herpesvirus type 1. *Journal of General Virology*, 73, 513-519.
- Rudolph J, Osterrieder N (2002) Equine herpesvirustype 1 devoid of gM and gp2 is severely impaired in virus egress but not direct cell-to-cell spread. *Virology*, 293, 356-367.
- Samuel CA, Allen WR, Steven DH (1976) Studies on the equine placenta II: Ultrastructure of the placental barrier. *Journal of Reproduction and Fertility*, 48, 257-264.
- Schultheiss PC, Collins JK, Carman J (1993) Use of an immunoperoxidase technique to detect equine herpesvirus-1 antigen in formalin-fixed paraffin-embedded equine fetal tissues. *Journal of veterinary Diagnostic Investigation*, 5, 2-15.

Slater JD, Baxi M, Tewari D, Gibson JS, Field HJ, Ludwig H, Steinbach F(1994) Experimental infection of specific pathogen free ponies with equid herpesvirus-1: detection of infectious virus and viral DNA. In: Nakajima H, Plowright W, Equine Infectious Disease VII. Newmarket suffolk) : R-W publication, pp.255-260.

Slater JD, Brochers K, Thackray AM, Field HJ (1994) The trigeminal ganglion is a location for equine herpesvirus 1 latency and reactivation in the horse. *Journal of General Virology*, 75, 2007-2016.

Slater JD, Gibson JS, Barnett KC, Field HJ (1992) Chorioretinopathy associated with neuropathology following infection with equine herpesvirus-1. *The Veterinary Record*, 131, 237-239.

Smith DJ (1998) The Interactions of EHV-1 Infected Leucocytes and Endothelial Cells. Ph.D.Thesis, University of London: London.

Smith DJ, Iqbal J, Purewal A, Hamblin AS, Edington N (1998) In vitro reactivation of latent equid herpesvirus-1 from CD5⁺/CD8⁺ leukocytes indirectly by IL-2 or chorionic gonadotropin. *Journal of General Virology*, 79, 2997-3004.

Smith KC, McGladdery AJ, Binns MM, Mumford JA (1997) Use of trans-abdominal ultrasound-guided amniocentesis for detection for equid herpesvirus 1 –induced fetal infection in utero. *American Journal of Veterinary Research*, 58, 997-1002.

Smith KC, Mumford JA, Hannant D, Whitwel JE (1999) A comparison between the pathogenicity of EHV-1 isolates of high and low abortigenic potential in the natural host and in the Mouse model. In: Wernery U, Wade JF, Mumford JA, Kaaden OR, Equine Infectious Disease VIII. Newmarket (suffolk) : R-W publication, pp.581-582.

Smith KC, Mumford JA, Lakhani K(1996) A comparison of equid herpesvirus 1 vascular lesions in the early versus late pregnant equine uterus. *Journal of Comparative Pathology*, 114, 231-247.

Smith KC, Whitwell KE, Binns MM, Dolby CA, Hannant D, Mumford JA (1992) Abortion of virological negative foetuses following experimental challenge of pregnant pony mares with equid herpesvirus 1. *Equine Veterinary Journal*, 24, 256-259.

Smith KC, Whitwell KE, Mumford JA, Gover SM, Hannant D, Tearle JP (1993) An immunohistological study of the uterus of mares following experimental infection by equid herpesvirus 1. *Equine Veterinary Journal*, 25, 36-40.

Tearle JP, Smith KC, Boyle MS, Binns MM, Livesay GJ, Mumford JA (1996) Replication of equid herpesvirus 1 in the testes and epididymes of ponies and venereal shedding of infectious virus. *Journal of Comparative Pathology*, 115, 385-397.

Telford EA, Watson MS, McBride K, Davison AJ (1992) The DNA sequence of equine herpesvirus 1. *Virology*, 189, 304-316.

Telford EA, Watson MS, Perry J, Cullinane AA, Davison AJ (1998) The DNA sequence of equine herpesvirus 4. *Journal of General Virology*, 79, 1197-1203.

Turtinen L (1983) Studies on the antigenic and genetic variation between the two subtypes of equine herpesvirus I. Ph.D. Thesis, 1983, University of Kentucky-Lexington.

Walker C, Packiarajah P, Gilkerson RJ, Love ND, Whalley MJ (1998) Primary and challenge infection of mice with equine herpesvirus 1, strain HSV25A Virus Res., 57, 151-162.

Whalley MJ, Foote CE, Love ND, Gilkerson RJ (2003) : Investigations of equine herpesvirus 1 cycle of infection in Foals. A report for the Rural Industries Research Development Corporation RIRDC web publication No: w03/006, May 2003.

Whitwel KE, Blunden AS (1992) Pathological findings in horses dying during an outbreak of the paralytic form of equid herpesvirus type 1 infection. Equine Veterinary Journal, 24, 13-19.

Yasunaga, Maeda K, Matsumura T, Kai K, Wata H, Inove T (1998): Diagnosis and seroepizootiology of equine herpesvirus type 1 and type 4 infection in japan using a type specific ELISA .Vet.Med.Scie., 10:1133-1137.

Yeargan MR, Allen GP, Bryans JT (1985) Rapid subtyping of equine herpesvirus 1 with monoclonal antibodies. Journal of Clinical Microbiology, 21, 694-697.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında İzmir-Menderes’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 1995 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ni kazandı ve 2000 yılında mezun oldu. Askerlik görevini İzmir’de Gıda Kontrol Subayı ve Muayene Komisyon Üyesi olarak tamamladı. 2003-2010 yılları arasında Provet Veteriner İlaçları Ltd. Şti.’de Ege Bölge Mümessili olarak çalıştı. 2010 nisan ayından itibaren Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tire İlçe Müdürlüğü’nde görev yapmaktadır.

Evli ve üç çocuk babası olup İngilizce bilmektedir.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez konusunun seçimi ve çalışmaların yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen, tez danışmanım Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. M. Tolga TAN'a, Viroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Nural EROL'a ve Viroloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi B. Taylan KOÇ ile Yüksek Lisans arkadaşım Veteriner Hekim Zafer Emin URAL'a, ayrıca tezimin her aşamasında manevi desteğini esirgemeyen eşime ve tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürler ederim.