T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONYA VE ÇEVRESİNDE BULUNAN SÜT SIĞIRLARINDA BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV) ENFEKSİYONUNUN ARAŞTIRILMASI

Erol ÖZER

DOKTORA TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak-2011

KONYA

Her Hakkı Saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Erol ÖZER

14.01.2011

ÖZET

DOKTORA TEZİ

KONYA VE ÇEVRESİNDEKİ SÜT SIĞIRLARINDA BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV) ENFEKSİYONUNUN ARAŞTIRILMASI

Erol ÖZER

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Rüstem DUMAN

2011, viii+48 Sayfa

Jüri
Yrd. Doç. Dr. Rüstem DUMAN
Prof. Dr. Sibel YAVRU
Doç. Dr. Mehmet KALE
Doç. Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN
Yrd. Doç. Dr. Mehtap AKIN

Süt sığırcılığı işletmelerindeki bovine viral diarrhea virus (BVDV) enfeksiyonunun serolojik ve virolojik durumunu araştırmak, persiste enfekte (PI) hayvanların tespit edilerek sürüden uzaklaştırılmasını sağlamak ve kan örneklerine göre alınması daha kolay olan süt örneklerinin BVDV enfeksiyonunun teşhisinde önemini belirlemek amacı ile planlanmıştır.Bu çalışma, 2009–2010 yılları arasında Konya ve çevresinde bulunan 5 farklı işletmedeki bovine viral diarrhea (BVD) aşısı uygulanmamış toplam 1250 sığırdan rastgele örnekleme metodu ile (hayvanların %40'ı) seçilen ve kulak numaraları tespit edilen 500 sığırdan kan ve süt numuneleri toplandı. Bu numunelerden hazırlanan serum örnekleri (kan ve süt) ticari indirekt ELISA kitleri [Institut Pourquier ELISA BVD p80 Antibodies (Milk, France) ve Institut Pourquier ELISA BVD p80 Antibodies (Sera), France] kullanılarak antikor varlığı, kan lökosit örnekleri de antijen varlığı yönünden yine ticari olarak sağlanan direkt ELISA kiti (BVD Antigen ELISA, Bio-X Diagnostics, Belgium) ile incelendi.

Kan serumu örneklerine uygulanan ELISA sonucunda; 500 hayvanın 449'u pozitif, 6'sı şüpheli, 45 adedi de negatif olarak belirlendi. İşletmeler bazında %80,68 ile %100 arasında,bölge genelinde ise %89,80 oranında seropozitiflik saptandı. Süt serumu örneklerine uygulanan ELISA sonucunda ise; 500 hayvandan 442'si pozitif, 1'i şüpheli, 57'si de negatif olarak belirlendi. İşletmeler bazında %82,50 ile %95,24 arasında,bölge genelinde ise %88,40 oranında seropozitiflik saptandı.

Araştırmanın virolojik kısmının birinci basamağında, kan lökosit örneklerinde BVDV antijeninin tespit edilmesi amacıyla uygulanan direkt ELISA sonucunda, 500 hayvanın sadece 3'ünde (%0,60) antijen varlığı tespit edildi. Antijen pozitif–antikor negatif olarak belirlenen bu 3 hayvanın persiste enfekte olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan ikinci örneklemede ise, lökosit örneklerinde antijen varlığı tespit edilemeyerek, bu 3 hayvan BVDV enfeksiyonu yönünden akut enfekte olarak değerlendirildi.

Sonuç olarak, bölgedeki sığırlarda persiste enfeksiyon varlığı tespit edilmemiş olmakla birlikte, BVDV enfeksiyonunun bölgede daha önce yapılan serolojik araştırma ile karşılaştırıldığında benzerlik gösterdiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, kan ve süt serumlarına uygulanan ELISA'lar sonucunda birbirine yakın sonuçların elde edilmesi, serolojik testlerde süt serumu kullanımının, araştırıcı için örneklemenin kolay ve ucuz olmasından dolayı kan serumuna alternatif bir metot olarak tercih edilebileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: antijen, antikor, BVDV enfeksiyonu, ELISA, süt sığırları

ABSTRACT

Ph.D THESIS

INVESTIGATION OF BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV) IN DAIRY CATTLE IN KONYA AND ITS SURROUNDINGS

Erol ÖZER

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN BIOLOGY

Advisor: Assist. Prof. Dr. Rüstem DUMAN

2011, viii+48 Pages

Jury Member
Assist. Prof. Dr. Rüstem DUMAN
Prof. Dr. Sibel YAVRU
Assoc. Prof. Dr. Mehmet KALE
Assoc. Prof. Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN
Assist. Prof. Dr. Mehtap AKIN

This study aimed to investigate serological and virological situation of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in dairy farms and determine persistently infected (PI) cattle and drive them out of the herd, and find out importance of dairy samples, which are easier to take in comparison to blood samples, in diagnosis of BVDV infection. To this end, blood and milk samples were collected from 500 cattle whose ear numbers were identified and which were randomly selected from a total of 1250 cattle (40 % of the cattle) in 5 different farms in Konya and its surroundings in 2009–2010, which were not vaccinated bovine viral diarrhea (BVD) vaccine. Serum samples (blood and milk) prepared from these samples were investigated for existence of antibodies using commercial indirect ELISA kits [Institut Poturquier ELISA BVD p80 Antibodies (Milk, France) and Institut Pourquier ELISA BVD p80 Antibodies (Sera), France], while blood leukocyte samples were analysed for existence of antigens using commercially obtained direct ELISA kit (BVD Antigen ELISA, Bio-X Diagnostics, Belgium).

As a result of ELISA test conducted on blood serum samples, 449 out of 500 cattle were determined to be positive, 6 suspected and 45 negative. Seropositivity was 80,68 % in terms of farms and 89,80 % across the whole of the region. On the other hand, as a result of ELISA test conducted on milk serum samples, 442 out of 500 cattle were determined to be positive, 1 suspected and 57 negative. Serapositivity was between 82,50 % and 95,24 % in terms of farms and 88,40 % across the whole of the region.

In the first stage of the virological section of the study, as a result of direct ELISA applied on blood leukocyte samples to determine BVDV antigen, existence of antigens was established only in 3 animals (0,60 %) out of 500. In the second sampling which was conducted to determine whether these 3 animals, identified as antigen –positive and antigen-negative, were persistently infected or not, presence of antigens could not be established in leucocytes samples and these 3 animals were considered to be acutely infected in terms of BVDV infection.

In conclusion, although presence of persistent infection could not be established in the cattle of the region, it was concluded that BVDV infection was at a similar level to the finding of the serological investigation conducted in the region previously. Moreover, obtained of similar results at the end of ELISA tests on blood and milk samples has revealed that the use of milk serum in serological tests could be an alternative to blood serum due to its ease and low cost for the researcher.

Key Words: antigen, antibody, BVDV infection, ELISA, dairy cattle

ÖNSÖZ

Bana bu konuda çalışma olanağı veren Danışman Hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Rüstem DUMAN'a, çalışmamın tüm aşamalarında yardım ve desteklerini gördüğüm aynı zamanda Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'nın tüm olanaklarından faydalanmamı sağlayan Sayın Hocam Prof. Dr. Sibel YAVRU'ya, çalışmam süresince bana yardımcı olan Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'ndaki Araştırma Görevlisi ve Doktora Tezi yapan arkadaşlarıma, bu araştırmayı proje olarak kabul eden ve maddi açıdan destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne ve tez çalışmam boyunca benden sabrını ve desteğini esirgemeyen aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Erol ÖZER
KONYA-2011

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ ……..iii

ÖZET iv

ABSTRACT v

ÖNSÖZ vi

İÇİNDEKİLER vii

SİMGELER VE KISALTMALAR viiviii

1. GİRİŞ 1

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 3

2.1. Etiyoloji 3
2.2. Epidemiyoloji 5
2.3. Patoloji ve Patogenez 6
2.4. Klinik 9
2.5. İmmunoloji 10
2.6. Teşhis 12
2.7. Koruma ve Kontrol 14

3. MATERYAL VE METOT 17

3.1. Numunelerin Toplanması 17
3.2. Kan Serum Örneklerinin Elde Edilmesi (ELISA-Ab İçin) 17
3.3. Süt Serum Örneklerinin Elde Edilmesi (ELISA-Ab İçin) 18
3.4. Lökosit Örneklerinin Elde Edilmesi (ELISA-Ag İçin) 18
3.5. Kan Serumu Örneklerinde ELISA ile Antikor Tespiti 18
3.5.1. Testin uygulanması 19
3.5.2. Testin değerlendirilmesi 19
3.5.3. Testin geçerliliği 20
3.5.4. Sonuçların yorumlanması 20
3.6. Süt Serumu Örneklerinde ELISA ile Antikor Tespiti 20
3.6.1. Testin uygulanması 20
3.7. Lökosit Örneklerinde ELISA ile Antijen Tespiti 21
3.7.1. Testin uygulanması 21
3.7.2. Testin değerlendirilmesi 22
3.7.3. Testin geçerliliği 22
3.7.4. Sonuçların yorumlanması 22

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 23

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 35

KAYNAKLAR 36

ÖZGEÇMİŞ 48

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

nm: nanometre
kb: kilobaz, kilobase

Kısaltmalar

BAV: Bovine Adenovirus
BHV-1: Bovine Herpes Virus Tip 1
BLV: Bovine Leukemia Virus
BRSV: Bovine Respiratory Syncytial Virus
BVD- Ab: Bovine Viral Diarrhea Antikoru
BVD- Ag: Bovine Viral Diarrhea Antijeni
BVD/MD/BD: Bovine Viral Diarrhea/Mucosal Disease/Border Disease
BVD: Bovine Viral Diarrhea, Bovine Viral Diarrhoea
BVDV: Bovine Viral Diarrhea Virus, Bovine Viral Diarrhoea Virus
cp: sitopatik, sitopatojenik
DMSO: Dimetil sülfoksit
DNA: Deoksiribonükleik Asit
ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EMEM: Earle's Minimal Essential Medium
FCS: Fötal Buzağı Serumu, Fetal Calf Serum
IBR/IPV: Infectious Bovine Rhinotracheitis/Infectious Pustular Vulvovaginitis
IBR: Infectious Bovine Rhinotracheitis
IHC: İmmunohistokimya
MD: Mukozal Disease
Mnt: Mikronötralizasyon Testi
non-cp: Non-sitopatik, non-sitopatojenik
NPLA: Neutralization Peroxidase Linked Antibody
OD: Optik Dansitite
ORF: Açık Okuma Çerçevesi, Open Reading Frame
PBS: Phosphate Buffered Saline, Fosfat Tampon Solüsyonu
PCR: Polymerase Chain Reaction
PI: Persiste Enfekte
PI-3: Parainfluenza Virus Tip 3
PLA: Peroksidaz Bağlı Antikor
RNA: Ribonükleik Asit
RT-PCR: Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction
SNT: Serum Nötralizasyon Testi
VI: Virus İzolasyonu
VN: Virus Nötralizasyon

1. GİRİŞ

İlk kez 1946 yılında bildirilen Bovine viral diarrhea (BVD), sığırlarda intrauterin enfeksiyonlara ve ciddi sonuçlara yol açan en önemli gastrointestinal, respiratuvar ve reprodüktif enfeksiyonlardan birisidir. Enfeksiyon, subklinik enfeksiyondan mucosal disease'e kadar değişen hastalıklarla sonuçlanabilmektedir (Olafson ve ark., 1946; Childs, 1946; Nettleton ve Entrican, 1995). Hastalığın etkeni, *Flaviviridae* familyasının bir üyesi olarak klasifiye edilen bovine viral diarrhoea virus (BVDV)'udur. Gebeliğin ilk 80–120 günleri esnasında gebe ineklerin enfeksiyonu, BVDV'u ile persiste enfekte (PI) immunotolerant buzağıların doğumuna neden olabilmektedir (Moennig ve Liess, 1995). Intrauterin BVDV enfeksiyonları, abort, ölü doğumlar, fötal rezorpsiyon, mumyalaşma, konjenital anomaliler, zayıf buzağı doğumları ve gelişme geriliği gibi önemli problemlere neden olmaktadır (Moennig ve Liess, 1995; Houe, 1999). Sığırların solunum yolu hastalık kompleksinde rol alan BVDV, ekseriya bovine herpes virus tip 1 (BHV-1), bovine respiratory syncytial virus (BRSV) ve parainfluenza virus tip 3 (PI-3) ile ilişkili bulunmuştur (Baker, 1987).

Bovine viral diarrhea virus saha izolatlarının, hücre kültürlerinde sitopatolojik etki oluşturma yeteneklerine göre sitopatik (cp) ve non-sitopatik (non-cp) olmak üzere 2 biyotipi vardır. Virusun non-cp biyotipi, eğer enfeksiyon gebeliğin ilk üç aylık döneminde meydana gelirse, immunotolerant buzağıların oluşmasından sorumludur (Coria ve McClurkin, 1978; McClurkin ve ark., 1984).

Persiste enfekte (PI) viremik hayvanların genellikle antijenik yönden ilişkili sitopatik bir suş ile süperenfeksiyonu, öldürücü mukozal disease'e neden olmaktadır (Brownlie ve ark., 1984). PI hayvanlar epidemilerin esas kaynağı olup, çevreye sürekli virus saçarlar. PI hayvanların sürüden uzaklaştırılması, en etkili hastalık kontrol ve önleme yöntemidir (Straver ve ark., 1983).

Bovine viral diarrhea virusunun sığır populasyonlarında sirkülasyon yeteneği, akut enfeksiyonlar tarafından da etkilenmektedir. Persiste enfeksiyonlar virus yayılımının esas kaynağını temsil etmekle birlikte, akut enfekte hayvanlar da önceden enfeksiyona maruz kalmamış sürülere virus bulaşımının diğer bir kaynağını teşkil edebilirler ve BVDV'nin enfekte sürüler içinde sirkülasyonundan sorumlu olabilirler. Hayvan gruplarının sürekli hareketi ve alınıp satılmasına bağlı olarak, akut enfeksiyonlar ve PI hayvanlar BVDV'nin sığırlara bulaşımında ve varlığını devam ettirmesinde çok önemli olabilirler. Ayrıca, akut enfeksiyonlar sığırcılık endüstrisinde

önemli ekonomik kayıplarla sonuçlanan üreme ve solunumla ilgili hastalıklar oluştururlar (Brock, 2003).

Türkiye'de daha önce yapılan araştırmalarla enfeksiyonun seroprevalansının %14,3–%100 arasında olduğu bildirilmiştir (Alkan ve ark., 1997; Şimşek ve Öztürk, 1997; Çabalar ve Karaoğlu, 1999; Yapkıç ve Yavru, 2001; Burgu ve ark., 2003; Yavru ve ark., 2005; Yıldırım ve Burgu, 2005; Kale ve ark., 2006; Tan ve ark., 2006; Okur-Gümüşova ve ark., 2007; Yeşilbağ ve Güngör, 2008; Kayacan, 2008; Duman ve ark., 2009; Kale ve ark., 2011).

Bu çalışma, Konya ili ve çevresindeki süt sığırcılığı işletmelerinde bulunan sığırlardan tesadüfi örnekleme metodu ile seçilen sığırlarda BVDV enfeksiyonunun virolojik ve serolojik durumunu araştırmak, PI hayvanların prevalansını tespit etmek ve ayrıca kan örneklerine göre alınması daha kolay olan süt örneklerinin BVDV enfeksiyonunun teşhisinde önemini belirlemek amacı ile yapılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Etiyoloji

Bovine viral diarrhea virus , esas olarak ruminantları enfekte eden, *Flaviviridae* familyası, Pestivirus cinsi içerisindeki heterojen bir virus grubunun ismidir.Virion sferikal, 40-60 nm çapında olup, sferikal nükleokapsidi kuşatan lipit bir zardan meydana gelmektedir. Genom, yaklaşık 12,5 kilobaz (kb) büyüklükte, tek iplikçikli pozitif polariteli bir ribonükleik asit (RNA) molekülü olup, 5' ve 3' uçlarında yer alan kodlanmayan bölgelerle (Non-Coding Regions=NCR) kuşatılmış tek bir uzun açık okuma çerçevesi (Open Reading Frame=ORF) içermektedir. ORF, viral ve selüler proteazlar aracılığıyla, translasyon esnasında ve translasyon sonrasında 11-12 olgun proteine dönüştürülen, yaklaşık 4000 amino asit içeren bir poliproteine tercüme edilmektedir. ORF'un ilk üçüncü kısmı bir otoproteaz (Npro) ve dört yapısal protein (C, Erns, E1, E2) şifrelerken, ORF'un geri kalan kısmı yapısal olmayan proteinleri (p7, NS2-3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) şifrelemektedir (Ridpath, 2005a).

Bovine viral diarrhea virus, sitopatojenik (cp) ve non-sitopatojenik (ncp) olmak üzere iki biyotipe ayrılabilmektedir (Meyers ve Thiel, 1996). Bu ayırım in vivo virulens ile ilişkili olmayıp, sadece virus'un hücre kültürlerinde sitopatik etkiye neden olma yeteneğine dayanmaktadır. cpBVDV infekte hücrelerin apoptozisine neden olurken, ncp suşları interferon sentezini engelleyerek hücre ölümüne neden olurlar (Schweizer ve Peterhans, 1999, 2001; Perler ve ark., 2000). İki biyotipin farklı özelliklerinin moleküler geçmişi, enfekte hücreler içinde non-strüktürel protein NS2-3'ün işlenmesi ve ekspresyonu ile ilişkilidir ve ncp suşları sadece NS2-3'ü ifade ederken, cp BVDV non-strüktürel protein NS3'ü de ifade etmektedir (Brownlie, 1990; Kummerer ve ark., 2000). Cp suşlarda NS2-3'ün bu işlemi genetik değişikliklerle ilişkilidir. İnsersiyonlar, duplikasyonlar veya delesyonlar ekseriya genom içinde bulunurlar (Meyers ve Thiel, 1996; Becher ve ark., 1998, 2001). Doğada ncpBVDV bulunup, ömür boyu persiste infeksiyonların oluşturulması yeteneğine sahiptirler. Diğer taraftan, cp BVDV suşları persistentliği oluşturmazlar ve esas olarak daha sonra tanımlanacak olan BVDV'nin öldürücü bir formu olan mucosal disease olgulardan izole edilirler.

Geleneksel olarak konakçı hayvan türüne göre klasifiye edilmiş olan pestiviruslarda BVDV, Klasik Domuz Vebası Virusu ve Border Disease Virus olmak üzere üç tür bulunmaktadır. Bununla birlikte bu klasifikasyonun sorunlu olduğu

kanıtlanmıştır. Çünkü, bazı pestivirusların, özellikle BVDV'nin tür bariyerini aşabileceği gösterilmiştir (Paton ve ark., 1995a). Günümüzde pestivirusların klasifikasyonu, türlerin tip virus ile genetik benzerliği dahil, izolatlar arasındaki genetik ilişkiye dayanmaktadır (Heinz ve ark., 2000). Ayrıca, pestiviruslar serolojik olarak kros-reaktif oldukları için tür sınırlaması, monoklonal antikorlarla bağlanma testlerine ya da poliklonal antiserumlarla kros-nötralizasyon testlerine dayanan antijenik yakınlıkları göz önüne almaktadır (Paton ve ark., 1995b; Hamers ve ark., 2001; Becher ve ark., 2003). Günümüzde pestivirus cinsi geçerliliği kabul edilmiş dört türden meydana gelmektedir.Çünkü, önceden BVDV olarak klasifiye edilmiş izolatların genetik ve antijenik yönden farklı oldukları ve iki farklı genotipe (BVDV-1 ve BVDV-2) ayrılabilecekleri gösterilmiştir (Pellerin ve ark., 1994; Ridpath ve ark., 1994). Son zamanlarda, yabani hayvanlardan ve fötal buzağı serumundan izole edilmiş olan, ilave geçici türler de bildirilmiştir (Becher ve ark., 2003; Schirrmeier ve ark., 2004; Vilcek ve ark., 2005).

Bovine viral diarrhea virusunun iki genotipi ayrıca tekrar bölünebilmektedir ve BVDV-1 ve BVDV-2'nin en azından 11 alttipi identifiye edilmiştir (Vilcek ve ark., 2001; Flores ve ark., 2002; Vilcek ve ark., 2004). Saha izolatları arasında görülen bu heterojenite RNA viruslarının bir özelliğidir ve hata yapabilen viral RNA polimeraz nedeniyle viral replikasyon esnasında yüksek mutasyon oranının bir sonucudur (Bolin ve Grooms, 2004). Buna rağmen, bir sürü içerisindeki değişik hayvanlardan, uygun zamanda değişik noktalardan izole edilmiş BVDV suşları, BVDV'nin sürü içinde bulaşması sonrası genetik yönden stabil olması izlenimini veren, yüksek bir homoloji derecesi göstermektedir. Sürüye spesifik BVDV suşları kavramına neden olan bu durumun, sürü içindeki immunotolerant ve PI hayvanların rolüyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Paton ve ark., 1995a; Hamers ve ark., 1998; Vilcek ve ark., 1999).

Bovine viral diarrhoea virus sığır, koyun, keçi ve domuzlardan köken alan (Dubovi, 1994; Odeón ve ark., 1999), fötal dana böbrek (Laamanen ve ark., 1997), fötal dana deri-kas (Hirsh ve Zee, 1999), koyun choroid plexus, fötal dana testis (Niemi ve ark., 1982), akciğer, dalak ve karaciğer (Sandvik, 1999) hücrelerinde üretilmektedir.

2.2. Epidemiyoloji

Bovine viral diarrhea virus ile enfeksiyonlar, endemik bölgelerde tipik olarak %70-100 arasında değişen sürü bazında seroprevalanslar ile, antikor taşıyıcıları olan sığırların %60-75'i ile ve PI hayvanların %1-2 arasında değişen tahmini prevalansı ile birlikte, en çok büyükbaş hayvan yetiştiriciliği yapan ülkelerde yaygındır (Houe, 2005). Antikor varlığının patojene maruz kalmayı yansıttığı varsayılırsa, BVDV'nin dünyanın her tarafında mevcut olduğu sonucuna varılabilir. Bununla birlikte, BVDV spesifik antikorların persistentliği göz önüne alındığında (Fredriksen ve ark., 1999); serosurveyler, virus'a son olarak maruz kalınmasından yıllar sonra pozitif sonuçlar verebilir ve mevcut enfeksiyonun göstergesiyle ilgili sürülerin prevalansı hem bölgesel hem de ülke düzeyinde önemli ölçüde değişiklik gösterir (Paton ve ark., 1998; Graham ve ark., 2001; Mainar-Jaime ve ark., 2001; Viltrop ve ark., 2002; Kampa ve ark., 2004). BVDV'nin endemik olduğu aşılanmamış populasyonlarda sürü bazında seroprevalans, esas olarak PI hayvanların sürüde olup olmamasına bağlıdır. Seroprevalans, virusun PI hayvanlardan etrafındaki gruplara etkin bulaşmasının bir sonucu olarak PI hayvanların bulunduğu sürülerde daha yüksektir (Lindberg ve Alenius, 1999). Öte yandan, PI hayvanların bulunmadığı sürülerdeki seropozitif hayvanların prevalansı ve yaş dağılımı, son PI hayvanın eliminasyonundan bu yana geçen zamanı yansıtır (Houe, 1992). Kuramsal olarak, son PI hayvanın eliminasyonundan sonra doğan tüm bireyler seronegatiftir olabileceği ifade edilmektedir. Dolayısıyla, elimine edilen hayvanların yerine konulan hayvanlar seronegatif ve non-PI olduğu sürece, sürü bazında seroprevalans, yenilenen hayvanların oranına bağlı olarak hızla düşecektir (Ståhl, 2006).

Persiste enfekte hayvanlar, yaşamları süresince tüm vücut sıvıları vasıtasıyla çok yüksek konsantrasyonlarda virus saçtıkları için, enfekte sürü içerisinde enfeksiyonun ana kaynağıdırlar. Kısa süreli enfekte hayvanlar (transiently infected animals) horizontal enfeksiyonun kaynağı olabilirler ve BVDV'nin PI hayvanların yokluğunda bir sürüde persiste kalabileceğine dair birkaç bildiri sunulmuştur (Moerman ve ark., 1993; Moen ve ark., 2005). Bununla birlikte, bu hayvanlar karşılaştırılabilir bir biçimde daha düşük miktarlarda ve sadece akut enfeksiyon sırasında birkaç gün süreyle virus saçtıkları için (Brownlie ve ark., 1987), sürü içerisinde viral bulaşma yönünden önlemleri ve enfeksiyonun persistansı sınırlıdır (Niskanen ve ark., 2002; Lindberg ve Houe, 2005).

Bovine viral diarrhea virusunun sürüler arasında bulaşımının klasik yolu, ticari veya enfekte hayvanlarla (özellikle PI hayvanlar, fakat aynı zamanda kısa süreli enfekte hayvanlar) temas, ya da PI fötusları (PI taşıyıcıları) taşıyan ana hayvanların ticareti aracılığıyla meydana gelebilir.Ayrıca, canlı aşılar gibi kontamine biyolojik ürünlerin kullanılmasıyla, indirekt vasıtalar aracılığıyla duyarlı bir sürüye sokulabilmekte (Falcone ve ark., 1999; Barkema ve ark., 2001) ya da kontamine veya enfekte embriyolar veya semenler aracılığıyla bulaşabilmektedir (Givens ve Waldrop, 2004). Yabani hayvan rezervuarlarının BVDV'nin bulaşma kaynağı olduğu ortaya atılmıştır (Anderson ve Rowe, 1998; Pizarro-Lucero ve ark., 2005). Ancak sığırların dışındaki konakçılarda persiste enfeksiyonlar saptanmış olsa bile (Vilcek ve ark., 2000; Pizarro-Lucero ve ark., 2005), bu kaynağın etkisi belirsizdir (Lindberg ve Houe, 2005).

2.3. Patoloji ve Patogenez

Bovine viral diarrhea ateş, diyare, mukozal lezyonlar ve lökopeni ile karakterize bir enfeksiyondur. Morbidite oldukça yüksek iken mortalite ender olarak şekillenir. Mukozal disease (MD) formu ise ateş, mukoid burun akıntısı, iştahsızlık, kanlı diyare ve dehidrasyon ile karakterizedir ve kesin ölümle sonuçlanmaktadır. Sindirim sisteminde erozyon, ülser ve hemorajilere neden olur (Kahrs, 2001).

Mukozal disease, BVD enfeksiyonun genellikle en ağır sonucudur. Seronegatif, immun kompetan ineklerin gebelik sırasındaki enfeksiyonu birçok teratojenik lezyonun şekillenmesi ile sonuçlanır. Bu enfeksiyon sadece 40 ile 125 günlük gebelik esnasında uterusun, ncp BVDV suşu ile enfekte olması sonucu oluşmaktadır (Brownlie, 1990). Fötusun immun sistemi henüz gelişmemiş olduğundan ncp BVDV, vücut için yabancı bir madde olarak algılanmaz ve bunun sonucunda hayatları boyunca PI olarak yaşayan ve sürekli olarak bu enfeksiyonu sürüdeki diğer hayvanlara bulaştıran buzağılar dünyaya gelmiş olur. Gebeliğin devresine göre fötus rezorbsiyonu, mumifikasyon, abortus, mikroensefali, serebellum hipoplazisi, hidransefali, omurilikte miyelinleşme, mikroftalmi, kas ve iskelet deformasyonları ve intrauterin gelişim geriliği gibi konjenital malformasyonlara neden olur (Milli ve Hazıroğlu, 2000). PI hayvanlarda diğer enfektif ve ncp-homolog BVDV suşlarına karşı immuntolerans oluşur ve bu hayvanlarda viral antijen birçok dokuda saptanabilir. Lezyonlar en alt düzeyde ve subkliniktir. Fakat bu hayvanlarda, yaşamlarının başka bir döneminde BVDV'nin cp

suşu ile süper enfeksiyon oluştuğunda öldürücü MD şekillenmektedir (Blowey ve Weaver, 2003).

İnkübasyon süresi ortalama 7-14 gün olan enfeksiyonda, ölüm genellikle 2 hafta içinde gerçekleşir. Enfeksiyon, seromukoid burun akıntısı ve ateş ile başlar. Ağızdaki lezyonların başlangıcı akut kataral stomatitis ve faringitis ve özofajitistir. Şiddetli diyare mevcuttur (Kahrs, 2001).

Dışkıda kan ya yoktur ya da yok denecek kadar azdır ve mukus bulunmaz. Bu hastalık 6 aylık ile 2 yaş arasındaki hayvanlarda görülür. Bazı hayvanlarda da interdigital bölgedeki eroziv lezyonlara ve laminitise bağlı olarak topallık şekillenmektedir (Blowey ve Weaver, 2003).

Göz lezyonları arasında katarakt, retina dejenerasyonu, atrofi, displazi ve optik nöritis bulunmaktadır (Milli ve Hazıroğlu, 2000).

Akut postnatal enfeksiyonlarda virus nasal yolla vücuda girer. Başlangıçta virusun replikasyonu giriş bölgesinin etrafındaki mukozada gerçekleşir. Hayvanda sonradan mukozal ülserasyonlar, salivasyon ve nasal akıntılar meydana gelir (Baker, 1987). Virus, buradan orofarenks yolu ile lenfoid doku içerisindeki hedef hücrelere, özellikle viral antijenlerini kolaylıkla bulundurabileceği tonsil kriptlerinin epitelyum hücrelerine gider ve major lenfoid bölgesinin her tarafında üreme gösterir (Bielefeldt, 1983; Howard, 1990).

Oral ve nasal enfeksiyondan 2-4 gün sonra enfekte buzağıların periferal kanlarında virus deneysel olarak teşhis edilebilir. Kısa süreli lökopeni ve polimorfonükleer lökosit fonksiyonunun azalması, diğer mikroorganizmalarla mix enfeksiyon oluşturabilen hastalığın ciddi boyuta ulaştığını gösterir (Brown ve ark., 1991) Lökopeni, hem helper (BoT4+) hem de sitotoksik/supresör (BoT8+) B lenfositleri ve nötrofilleri içeren T lenfositlerinin sayılarının azalması ile karakterizedir (Brewoo ve ark., 2007).

Bovine viral diarrhea virus enfeksiyonları çoğunlukla subklinik olarak seyreder. Hayvanlarda hafif ateş, lökopeni ve nötralizan antikorlar gelişir. Böyle hayvanlarda enfeksiyonun %70- 90'ı bu şekilde gerçekleşir. Bazı durumlarda özellikle 6 aylıktan büyük hayvanlarda enfeksiyon çok daha şiddetli meydana gelir. 5-7 günlük bir inkubasyon döneminden sonra hayvanlarda ateş, lökopeni ve viremi şekillenir. Bu dönem 15 gün kadar devam etmektedir. Bazı vakalarda, şiddetli trombositopeni ve yaygın kanamalar tanımlanmıştır. Bu kanamalar subkutis, ağız mukozası ve birçok

seroza yüzeyinde oluşur. İnce bağırsak serozası ve mezenteriumda yoğun kanamalar gözlenir. Trombositopeni, 6 hafta kadar devam eder (Milli ve Hazıroğlu, 2000).

Virusun diğer bir tercih ettiği bölge ise gastrointestinal sistemdir. BVDV, kalın bağırsağın epitelyumundaki kript hücrelerinin yanında ince bağırsağın kript hücrelerinde de üreme gösterebilir. Glandulae duodenales (Brunner's), parotis ve epitel hücrelerinin çoğu da virusu barındırmaktadır (Kahrs, 2001).

Viral persistens için virusun merkezi sinir sisteminde tercih ettiği bölgeler serebral korteks ve hippocampus'tur (Fernandez ve ark., 1989; Brownlie ve ark., 1998). Viral antijen, nöronlarda her zaman hazır durumdadır. Özellikle hippocampus ve serebral kortekse yerleşerek, beynin ve omuriliğin diğer bölgelerindeki nöronlara da gider. Fakat, bu bölgelerde inflamasyon veya sellüler alterasyonlar görüldüğüne dair bir kanıt yoktur (Fernandez ve ark., 1989). Bu bölgelerdeki lezyonlar, fötusun BVDV ile gebeliğin 120. gününden sonra enfekte olması sonucunda oluşur (Brown ve ark., 1973; Binkhorst ve ark., 1983). Böyle buzağılar genellikle yaşayamazlar ve hayvanda postmortem sonrasında serebellar hipoplazi gibi anormal beyin lezyonlarına rastlamak mümkündür (Done ve ark., 1980).

Subakut veya kronik enfeksiyonlarda ise, ağız lezyonları ve diyare oluşur. Kronik hasta hayvanlarda tüm ayaklarda interdigital dermatitis, koronitis ve laminitis mevcuttur ve bu hayvanlar yaklaşık 18 aya kadar yaşarlar. Makroskobik olarak ağız mukozası hiperemik olup üzerinde ince, gri renkte katarakt şekillenir. Bu odaklar erozyona ve ülserleşmeye uğrar ve genişler. Meme ve etrafında erozyon ve ülserler şekillenir (Milli ve Hazıroğlu, 2000). Özofagusta uzunlamasına seyreden kirli, kahverengimsi erozyonlar karakteristik özellik taşımaktadır (Blowey ve Weaver, 2003). Abomasumda kanama ve ülserler şekillenir. Bağırsaklarda üstleri difteroid membranlarla örtülü ülserlere rastlanır. Peyer plakları hiperplastik yapıda olup yüzeyleri nekrotik kitleler, kan pıhtıları veya difteroid memranlarla örtülü ülserlere rastlanır. Baş ve boyun bölgesindeki lenf düğümleri büyümüş olup kesit yüzleri ödemli ve kanamalıdır.Mikroskobik olarak, lezyonlar üst sindirim sistemindeki kutan mukozada epitelin nekrozu ile başlar. Epitelin derin kısımlarındaki hücre grupları ya da tek hücreler eozinofilik karakter kazanırlar, şişkindirler ve çekirdekleri piknotiktir (Blowey ve Weaver, 2003). Bu odaklar genişler ve nekroz alanlarına dönüşür. Erken dönemde lamina propria'da çok az infiltrasyon vardır. Ancak nötrofiller epitele infiltre olurlar. Erozyon ve ülserleşme durumunda lamina propria'da yoğun hücre infiltrasyonu ve hiperemi görülür. İnce bağırsaklardaki karakteristik lezyon, Liberkühn bez epitellerinin

yıkımlanmasıdır. Kriptlerde dilatasyon vardır. Peyer plaklarının lenfoid foliküllerinde nekroz ve BVDV'ye bağlı ülserleşme görülür (Blowey ve Weaver, 2003). İnce bağırsaklarda submukozal ve mezenterik arteriollerde hyelin dejenerasyonu ve fibrinoid nekroz görülür. Damar duvarlarında ve perivasküler bölgelerde hafif mononükleer infiltrasyonlar şekillenir. Damar lezyonları bağırsaklarla sınırlı değildir. Kalp, beyin ve adrenal kortekslerde de bulunabilir. BVD-MD enfeksiyonu, damar lezyonları ile Gangrenosa Bovum Hastalığına benzer, fakat lezyonlar mukoza hastalığında çok daha az şiddetlidir (Blowey ve Weaver, 2003).

2.4. Klinik

Bovine viral diarrhea virus solunum, gastroenterik ve üreme sistemleri dahil, pek çok organ sistemlerinde gelişen patoloji ile ilişkili olabilmektedir. Postnatal bir enfeksiyonun sonucu, bir dereceye kadar viral faktörlere, yani enfekte eden suşun genetik ve antijenik özelliklerine bağlı olmaktadır (Ridpath ve ark., 2000). Bununla birlikte, sonuç bakımından daha önemli, infekte hayvanla ilişkili iki temel faktör vardır. Bunlar; hayvanın gebe olup olmadığı ve önceden enfeksiyona maruz kalıp kalmadığıdır (Baker, 1995; Evermann ve Barrington, 2005). Daha önce enfeksiyona maruz kalmış olan immünokompetan hayvanlar uzun süren kalıcı bağışıklığa sahiptirler (Fredriksen ve ark., 1999).

Seronegatif gebe olmayan hayvanlarda enfeksiyon, enfekte eden suşa bağlı olarak şiddetli hastalıkla sonuçlanabilmektedir (Corapi ve ark., 1990). Ancak çoğu olgularda subklinik seyretmektedir. Tipik klinik semptomlar, ateş, kısa süreli lökopeni, iştahsızlık ve mukozal erozyonlar olup, buzağılarda solunum ve gastrointestinal sistemle ilgili belirtiler de gözlenebilmektedir. Bu semptomlar, BVDV enfeksiyonunun direkt sonucu olabileceği gibi, BVDV'nin immunosüpresyona neden olduğu ve diğer patojenlere karşı duyarlılığı artırdığı bilindiği için, sekonder veya eşzamanlı enfeksiyonların sonucu da olabilmektedir (de Verdier Klingenberg ve ark., 1999).

Bununla birlikte, BVDV infeksiyonlarının esas ekonomik etkisi, muhtemelen transplasental bulaşma ve fötal infeksiyonla sonuçlanan seronegatif gebe hayvanlardaki enfeksiyonlardan kaynaklanmaktadır (Grooms, 2004). Fötal enfeksiyonun spesifik sonucu, esas olarak gebelik safhasına, dolayısıyla ilk gebelik ürünü veya fötusun gebelik yaşına bağlı olmakta ve infekte sürülerde çok kapsamlı reprodüktif bozukluklar görülebilmektedir. Bunlar embriyo ölümlerini, abortları, malformasyonları, ölü

doğumları veya zayıf buzağıları ya da PI buzağı doğumlarını içine almaktadır. Abortuslar gebeliğin ilk trimesteri sırasında daha yaygındır. Ancak gebeliğin herhangi bir döneminde de meydana gelebilmektedir. Gebeliğin yaklaşık 30. gününden, fötusun gebeliğin yaklaşık 120. gününde immünokompetan oluncaya kadar geçirdiği süre içerisinde enfekte olan fötuslar, BVDV ile PI doğabilmektedirler. PI buzağılar enfekte eden suşa karşı immunotoleranttırlar ve genellikle seronegatiftirler. Bununla birlikte, PI buzağılar heterolog bir suşa maruz kalmışlarsa, antikor yanıtı geliştirebilirler (Bruschke ve ark., 1998; Fulton ve ark., 2003b). PI buzağılar yaşamları boyunca çok miktarda virus saçarlar ve en önemli enfeksiyon kaynağıdırlar. PI buzağılar genellikle zayıf ve normalden daha küçük doğarlar. Ancak doğum sırasında çoğu normal gözükürler. PI buzağılar, bozulmuş immun sistem nedeniyle, özellikle diğer enfeksiyonlara karşı duyarlıdırlar. Bu durum, non-enfekte buzağılara nazaran, genç yaştaki buzağılarda yüksek mortaliteyi kısmen açıklamaktadır (Houe, 1999). PI hayvanların bazıları enfeksiyondan klinik olarak etkilenmeden kalırlar ve normal sağlıklı sığırlar gibi gelişebilirler (McClurkin ve ark., 1979). Bu hayvanlar daha sonra fötusa enfeksiyonu bulaştırırlar ve doğan yavrular yaşam boyu PI olurlar (Ståhl, 2006).

Gebeliğin daha sonraki evreleri esnasında enfekte olan fötuslar genellikle etkili bir immun yanıt geliştirebilirler ve virus bulundurmazlar. Buna rağmen, doğuştan enfekte non-PI buzağıların pek çoğu doğum sırasında zayıftırlar ve ciddi postnatal sağlık sorunları yaşama riskleri daha fazla olabilmektedir (Munoz-Zanzi ve ark., 2003).

Bovine viral diarrhea virus enfeksiyonunun klinik belirtileri, akut BVDV, kronik BVDV ve PI ve MD olmak üzere üç forma ayrılmaktadır (Smith, 1996).

Mukozal disease, PI bir hayvan virusun cp suşu ile süperenfekte olduğu zaman gelişen BVDV'nin fatal bir formudur (Brownlie, 1990). Süperenfekte edici cp suşunun kaynağı, ya endojendir, yani PI hayvanda bulunan ncp suşu genomunun yapısal olmayan kısmındaki bir mutasyonun sonucudur. MD, hastalığın akut formunda aşırı diyare ve birkaç gün içinde ölümle birlikte, ateş, anoreksi ve gastrointestinal kanal boyunca yoğun mukozal erozyonlarla karakterize edilir. Geç MD denilen formda hayvan, hastalığın başlangıcından önce birkaç ay yaşayabilmektedir (Ståhl, 2006).

2.5. İmmunoloji

Bovine viral diarrhea virus enfeksiyonunun kontrolünde immunitenin rolüne ait birçok soru işareti bulunmaktadır. BVDV'ye karsı oluşan antikorlar primer

enfeksiyonun başlamasından itibaren 8-10 gün içinde farklı testlerle teşhis edilebilmektedir. Bu oluşan antikorlar daha sonra BVD enfeksiyonuna karşı tam olarak koruma sağlamamasına rağmen, dolaşımdaki antikor seviyesini artırmalarından dolayı BVDV ile antijenik olarak ilişkili suşlara karşı aktif bir koruma sağlar ve hayvanlarda ciddi klinik belirtiler gözlenmez. Gebelik süresine bağlı olarak uterusta enfekte olan fötuslar, doğumdan önce anneden alınan serumlar ile test edilerek teşhis edilebilirler. Bu hayvanlar, aktif bir bağışıklık sistemine ve immuntoleransa sahiptir ve antikor taşımazlar (Liess ve ark., 1987).

Bir buzağı anneden aldığı kolostrum ile pasif immunizasyona sahip olur ve böyle buzağıların serumlarında antikor bulunması nedeniyle aşı yapılmış gibi görülebilir. Pasif immuniteye bağlı olarak oluşan antikor seviyesi, metabolik yıkım ile azalır ve 2-11 aylık hayvanlarda teşhis edilemez (Liess ve ark., 1987).

Pasif antikor seviyesinde yaş artışına göre azalma görülür. Fakat, bu oran başlangıçtaki serum seviyesine bağlı olarak buzağıdan buzağıya değişim gösterir. Buzağıların kolostral yolla elde ettikleri pasif antikor seviyesi, anne kolostrumunun titresi, emilen kolostrum miktarı ve her buzağının sindirim sisteminin absorbe etme oranı ile belirlenebilir. Kolostrum alınarak elde edilen bu immunizasyon buzağıların çoğunda 2-3 aylıktan itibaren yok olmaya başlar (Roeder ve Harkness, 1986).

Seronegatif hayvanlar BVDV ile enfekte oldukları zaman humoral immunite sonucunda nötralizan, presipitan ve komplementi bağlayan antikorlar oluşur. Bu oluşan nötralizan antikorlar, BVDV'nin sürü içerisinde yayılmasını engellemelerinin yanında BVDV ile antijenik olarak ilişkili suşların neden olduğu hastalıklara karşı da koruma sağlarlar (Duffell ve Harkness, 1985). Humoral antikor seviyesi düşük olan sığırlar, BVDV ile enfekte olduklarında antikor üretimi uyarılır. Yüksek antikor seviyesi ise genellikle homolog virus suşlarına karşı koruma sağlar ve modifiye canlı aşıların etkilerini nötralize eder. Nötralizan antikorlar, hayvanın BVDV ile enfekte olmasından sonraki 3-4 hafta içinde teşhis edilebilmektedir (Duffell ve Harkness, 1985; Roeder ve Harkness, 1986; Liess ve ark., 1987).

Enfekte sığırlarda antikor teşhisinin yapılamaması, hayvanın PI olması, uzun süreli viremi, kronik verimsizlik ve humoral lenfositlerin düşük cevap vermesi ile ilgilidir (Kahrs, 2001).

2.6. Teşhis

BVDV enfeksiyonlarının tespitinde kullanılan diyagnostik testler, genellikle, patojene maruz kalmanın bir göstergesi olarak virus-spesifik antikorların tespitine yönelik testler ve güncel enfeksiyonun bir göstergesi olarak enfeksiyöz virusun ya da viral komponentlerin (antijen veya nükleik asitler) tespitine yönelik testler olmak üzere ikiye ayrılabilirler (Sandvik, 2005).

Serolojik metotların esas amaçları, enfeksiyona maruz kalmış ve kalmamış sürüler arasında ayırım yapmak, devam etmekte olan kontrol programı dahilinde ilerlemeleri ve eksiklikleri ölçmek, enfekte sürülerdeki bireysel hayvanların immun durumunu araştırmak ve olası PI hayvanları tespit etmektir (Lindberg ve Alenius, 1999). PI bir hayvan, daha önce bahsedildiği gibi, devam eden maternal antikorlara sahip olmadıkça ya da heterolog bir suşa maruz kalıp enfekte olmadıkça, genellikle seronegatiftir. Serolojik metotlar, iki seri halinde alınan örneklerle serokonversiyonun saptanmasıyla akut enfeksiyonun teşhis edilmesinde kullanılırlar (Ståhl, 2006).

Virus nötralizasyon (VN), antikor tespiti için referans testtir. VN testi duyarlı ve özgüldür. Ancak hücre kültürüne bağımlı ve çok emek isteyen bu testin yapılması tipik olarak 5-6 günü almaktadır. Bu yüzden, VN testi, daha çok destek ve kalibrasyon amaçlı referans test olarak kullanılmaktadır (Sandvik, 2005).

Çok sayıda örneğin test edilmesi açısından, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) VN'ye göre pek çok avantajlara sahiptir. ELISA hızlı, hazırlanması ve yapılması oldukça masrafsız ve otomasyon için uygundurlar. Antikor tespitinde yaygın olarak kullanılan başlıca iki farklı ELISA formatı vardır: indirekt ya da blocking (kompetitif) testler. İndirekt formatta, spesifik antikorlar, immobilize viral antijen tarafından tutulurlar ve daha sonra enzimle konjuge edilmiş tür-spesifik antiglobulinler kullanılarak tespit edilirler. Pozitif bir reaksiyon, optik olarak okunan ve optik dansisite (OD) değerleri olarak ifade edilen, substrat solüsyonundaki renk değişimiyle belirlenir. Blocking ELISA'larda, örnekte bulunan virus-spesifik antikorlar, enzimle konjuge edilmiş virus-spesifik antikorların katı faza bağlanmış viral antijene bağlanmasını bloke ederler. Böylece, pozitif bir örnek, negatif referans serumun OD'sine göre, inhibisyon yüzde oranı olarak ifade edilen, OD'nin düşmesine neden olur. Antikor ELISA süt ve serum örneklerindeki antikorları tespit etmeye yönelik sürü düzeyinde ya da bireysel düzeyde testler olarak, BVDV kontrol programları dahilinde yaygın biçimde kullanılırlar (Ståhl, 2006).

Virus tespiti testlerinin uygulama yönünden iki esas amacı ayırt edilebilir: birincisi, daha sonra sürüden uzaklaştırmak için enfekte sürüler içerisindeki PI hayvanları tespit etmek ve ikincisi de, non-enfekte sürülere veya populasyonlara enfeksiyonun bulaşmasını önlemek için, bireysel hayvanların, semen veya embriyoların non-enfeksiyöz durumunu belgelendirmektir. Yaygın olarak kullanılan metotlar, virus izolasyonunu, ELISA , immünohistokimya (IHC) ve reverse transcriptase-polimerase chain reaction (RT-PCR) gibi değişik immun temelli antijen tespit testlerini içermektedir (Ståhl, 2006).

Viral izoleytin immunperoksidaz veya immunofloresan boyama ile identifikasyonuyla takip edilen, sığır hücre kültürlerinde virus izolasyonu (VI), enfeksiyöz virusun tespitinde standart referans test olarak kabul edilmektedir. VI zaman, uğraş ve beceri gerektirmekle birlikte, güvenilir ve yaygın olarak kullanılan bir metottur. Bununla birlikte, örnekte antikorların veya hücre üzerine toksik substansların ya da her ikisinin varlığı halinde, hatalı negatif sonuç verebilmektedir. Ayrıca, BVDV, fötal buzağı serumu (FCS) gibi sığır orijinli biyolojik yan ürünlerin ve dolayısıyla FCS ilave edilmiş vasatlarda üreyen sığır hücre kültürlerinin yaygın bir kontaminantı olduğu için, hücre kültürü sistemi, virus veya antikorlardan yoksunluğu garantiye almak için kontrol edilmelidir (Bolin ve ark., 1991).

Viral antijen tespitine yönelik testler, örnek materyalde mevcut BVDV-kodlu antijenlere dayanmaktadır. VI ve RNA tespit protokollerinde olduğu gibi, hedefin amplifikasyonu yoktur. Bu durum, örneklerin kros kontaminasyon riskini azaltır ve aynı zamanda akut olarak enfekte hayvanlardan çok PI hayvanların tespitine de yardımcı olur (Sandvik, 2005).

Viral antijenlerin tespitine yönelik ELISA'nın değişik formatları ticari olarak mevcuttur. Temel prensip, antijen-antikor kompleksinin enzimle konjuge edilmiş antikorlarla tespit edilmesiyle takip edilen, viral antijenleri yakalamak için virus-spesifik monoklonal antikorların kullanılmasından oluşmaktadır. PI hayvanların tespitinde yaygın biçimde kullanılmakta olan antijen ELISA'lar, serum, beyaz kan hücreleri ya da deri biyopsilerindeki (örneğin, kulak kertik örnekleri) virus'un tespitinde kullanılabilirler. VI gibi antijen ELISA'lar da, örnekte antikorlar varsa, yanlış negatif sonuçlar verebilmektedir. Bu durum, persiste maternal antikorlara sahip olabilen genç hayvanlar test edildiğinde göz önünde tutulmalıdır (Zimmer ve ark., 2004).

Deri biyopsilerinde, özellikle kulak kertik örneklerinde immünohistokimyasal antijen tespiti, PI hayvanların identifikasyonunda kullanılan diğer bir metottur

(Brodersen, 2004). Kulak kertik örnekleri hem nispeten kolayca elde edilebildiği için, hem de IHC, persiste maternal antikorlarla karışma riski olmadan genç PI buzağılarda viral antijen tespitinde uygulanabildiği için, bu metot genç buzağıların tümör taraması yönünden uygun görülmektedir (Ståhl, 2006).

Reverse transcriptase-polymerase chain reaction, numunedeki toksik maddelerden etkilenmeme avantajına sahip olan viral RNA'nın tespitine yönelik olarak uygulanan hızlı ve sensitif bir metottur. Genel bir RT-PCR protokolü dört farklı basamak içerir. Bunlar RNA'nın ekstraksiyonu, komplementer DNA'ya ters (reverse) transkripsiyon, primer-yönlendirmeli amplifikasyon ve amplifiye edilmiş ürünlerin tespitidir. Klasik protokollerde, zaman alıcı ve numunelerde kros kontaminasyon riskini artıran bu basamaklar, ayrı ayrı gerçekleştirilirler. Daha yeni gerçek zamanlı RT-PCR sistemleri son üç basamağı tek bir tüp içinde birleştirir ve gel elektroforeze olan gereksinimi elimine ederek, yanlış pozitif sonuçlar veren önceden amplifiye edilmiş DNA ile kontaminasyon taşınma riski büyük ölçüde azaltılır (McGoldrick ve ark., 1999). Ayrı primer ve prob setlerinin kullanımı ile, aynı testi kullanarak BVDV-1 ve BVDV-2 arasında ayırım da yapılabilmektedir (Letellier ve Kerkhofs, 2003). Ayrıca, PZR ürünlerinin direkt sekanslanmasıyla, virus varyantlarının hızlı ve doğru identifikasyonu için filojeni araştırmaları da yapılabilmektedir (Ståhl, 2006).

Bovine viral diarrhea virus'unun genetik tiplendirilmesi, en sık, 5' NCR (Non-Coding Region), Npro (N-terminal autoprotease) ya da E2 (zarf proteini) bölgeleri kısmi sekanslarının sekans karşılaştırmalarına dayandırılmıştır (Vilcek ve ark., 2001; Becher ve ark., 2003; Nagai ve ark., 2004; Toplak ve ark., 2004). Genomun oldukça korunmuş bir bölgesi olan 5' NCR'nin analizi, elde edilen genetik rezolüsyon Npro veya E2 gibi daha değişken bölgelerle elde edilenlerinki kadar yüksek olmamakla birlikte BVDV izoleytlerinin genetik karakterizasyonu açısından güvenilir ve tekrarlanabilir bir metot olduğunu göstermiştir (Ridpath, 2005b). Ayrıca, 5' NCR, PZR temelli diyagnostiklerin pek çoğu için hedef bölgedir ve bu itibarla PZR ürünlerinden direkt sekanslama için de uygun bir hedeftir (Ståhl, 2006).

2.7. Koruma ve Kontrol

Uzun süreden beri, BVDV enfeksiyonlarını kontrol etmeye yönelik girişimler, esas olarak sürü bazında klinik hastalığı azaltmak veya önlemek amacıyla uygulanmış

olan profilaktik aşılama uygulamalarıyla sınırlandırılmıştır. Ancak, günümüzde, enfekte hayvanlarda klinik hastalığı geçici olarak önlemek, hastalığın tam önlenmesi ve kontrolü göz önüne alındığında önemsiz olduğu tamamen belirlenmiştir (Brock, 2004). PI hayvanların BVDV'nin evrimsel başarısının anahtarı ve fötal enfeksiyonun önlenmesinin BVDV'nin kontrolünün anahtarı olduğu da iyice belirlenmiştir (Lindberg ve Alenius, 1999). Sonuç olarak, modern aşılama programları sadece klinik hastalığı önlemek için değil, aynı zamanda viremiye karşı korumak için ve fötal enfeksiyonu önlemek için de tasarlanmıştır (Kelling, 2004; Fulton, 2005). Bağışıklıkla ilgili yapılan birkaç araştırma, hem inaktif hem de canlı aşıların kontrollü deneysel koşullar altında fötal enfeksiyonu önleyebileceğini göstermektedir (Cortese ve ark., 1998; Frey ve ark., 2002; Patel ve ark., 2002). Bununla birlikte, bu aşıların saha koşulları altında fötusları enfeksiyona karşı koruma konusunda yararlılığı sorgulanmıştır (van Oirschot ve ark., 1999; O'Rourke, 2002; Graham ve ark., 2003) ve PI buzağıların aşılanmış sürülerde doğmuş olduğu saha araştırmaları bu kaygıyı desteklemektedir (Van Campen ve ark., 2000; Gaede ve ark., 2004; Graham ve ark., 2004). Önceden bahsedildiği gibi, BVDV saha suşları arasındaki antijenik farklılık, bu aşı başarısızlıklarını kısmen açıklamaktadır. Bununla birlikte, saha koşulları altında tam fötal korumaya ulaşılması ile ilgili güçlükler, sadece aşı ve viral özellikler ile ilişkili değil, aynı zamanda yanlış güvenlik önlemleri anlayışına yönelik riskler ile, takip eden biyogüvenlik ihlalleriyle birleşen, aşıların usulüne uygun olmayan bir biçimde kullanılması gibi insan faktörleriyle de ilişkilidir. Üstelik, %100 etkinlik ve güvenilirlik, enfeksiyonun yerleşmesini önlemeye ihtiyaç gösterdiği için, aşı uygulansa bile, yaygın kullanımına rağmen, BVDV'nin insidensini ve prevalansını düşürmemiştir (Lindberg ve Houe, 2005).

Bovine viral diarrhea virus'u kontrol etmek için başka bir strateji, Avrupa'daki, özellikle İskandinav ülkelerindeki eradikasyon programları kapsamında son on yıllık zaman zarfında geliştirilmiştir.Non-enfekte sürülere BVDV'nin bulaşmasını önlemek için ve PI hayvanların identifikasyonu ve eliminasyonu vasıtasıyla enfekte sürülerin prevalansını düşürmek için bölgesel ve ülke çapında sistematik hayvan sağlık önlemlerinin uygulanmasıyla (aşıları kullanmaksızın) takip edilen, sürünün başlangıçtaki BVDV durumunun saptanmasına dayandırılmıştır (Lindberg ve Alenius, 1999; Greiser-Wilke ve ark., 2003; Sandvik, 2004). Bu programların İskandinav ülkelerinin tamamında başarılı olduğu ve BVDV enfeksiyonundan ari oldukları bildirilmiştir (Nyberg ve ark., 2004; Hult ve Lindberg, 2005; Rikula ve ark., 2005).

Günümüzde İskandinavya'daki kontrol programlarının başarısından sonra, BVDV kontrolünün, biyogüvenlik, virus eliminasyonu ve denetim gibi zorunlu unsurlardan oluşması gerektiği iyice anlaşılmıştır. Öte yandan, aşılamanın rolü tartışmalıdır. Lindberg ve Houe'nin (2005) önerdiği genel bir modele göre, doğal bağışıklığı olmayan non-PI hayvanların aşılanması ve buna ilaveten üç zorunlu unsur, enfeksiyondan ari sürülere yeniden bulaşma riskinin çok yüksek olarak hissedildiği bölgelerde opsiyonel bir unsur oluşturabilmektedir. Bu tür bir model halen Almanya'da uygulama aşamasındadır (Moennig ve ark., 2005).

Enfekte sürülerde prevalansın düşmesi, daha önce bahsedildiği gibi, PI hayvanların sistematik identifikasyonu ve eliminasyonu ile başarılabilmektedir. Bununla birlikte, bazı koşullar altında enfeksiyon, müdahale olmaksızın, yani self-clearance aracılığıyla, enfekte bir sürüden elimine edilebilmektedir (Lindberg ve Houe, 2005).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Örneklerin Toplanması

Araştırmada kullanılan hayvanlar, Konya ve çevresinde bulunan 5 adet büyük süt sığırcığı işletmesindeki (hayvan sayısı 200 ve üstü olan) BVD aşısı uygulanmamış toplam 1250 sığır arasından rastgele örnekleme metodu (hayvanların %40'ı) ile seçildi. Örneklenen toplam 500 hayvandan, BVDV'ye karşı oluşan antikorları belirlemek amacıyla kan ve süt örnekleri, lökosit örneklerinde BVDV antijen varlığını ortaya koymak amacıyla da kan örnekleri alındı (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Örneklenen hayvanlardan alınan kan, süt ve kan (lökosit) örneklerinin işletmelere göre dağılımı

İşletme no	Hayvan sayısı	Örneklenen hayvan sayısı (%40)	Kan (serum) örneği sayısı	Süt (serum) örneği sayısı	Kan (lökosit) örneği sayısı
1	200	80	80	80	80
2	220	88	88	88	88
3	245	98	98	98	98
4	210	84	84	84	84
5	375	150	150	150	150
Toplam	1250	500	500	500	500

3.2. Kan Serum Örneklerinin Elde Edilmesi (ELISA-Antikor İçin)

Kan örnekleri, ineklerin vena jugularis'inden steril vakumlu kaolinli tüplerin içerisine alınarak soğuk zincir altında laboratuvara getirildikten sonra 2000 devirde 10 dakika süreyle santrifüj işlemine tabi tutuldu. Santrifüj sonrasında tüpün üst kısmında toplanan serum tabakası otomatik pipet yardımıyla 1'er ml'lik porsiyonlar halinde eppendorf tüplerine aktarıldı. Eppendorf tüplerinde bulunan serumlar 56°C'de 30 dk süreyle benmaride inaktivasyon işlemine bırakıldı. Tüm serum örnekleri sterilite kontrolleri yapıldıktan sonra ELISA'da kullanılıncaya kadar –20°C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.3. Süt Serum Örneklerinin Elde Edilmesi (ELISA-Antikor İçin)

10 ml'lik steril cam tüplere alınan süt örnekleri soğuk zincir altında laboratuvara getirildikten sonra steril şartlarda üzerine 0,2 ml renin enzimi ilave edildi. Enzim ilavesinden sonra 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakılan süt örnekleri bu sürenin sonunda 3000 devir/dakikada 15-20 dakika santrifüj edilerek tüpün üst yüzeyine çıkan krema tabakası bir spatül yardımıyla uzaklaştırıldı. Daha sonra süt serumları steril şartlar altında 1 ml'lik eppendorf tüplerine porsiyonlanarak, 56°C'de 30 dakika süre ile su banyosunda inaktive edildikten sonra sterilite kontrolleri yapılarak ELISA'da kullanılıncaya kadar –20°C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.4. Lökosit Örneklerinin Elde Edilmesi (ELISA-Antijen İçin)

Lökosit elde etmek amacıyla hayvanların vena jugalaris'inden steril EDTA'lı tüplere 10 ml hacimde alınan kan örnekleri, 2000 devirde 20 dk süreyle santrifüj edildi. Santrifüj süresi sonunda en alt kısımda yer alan eritrositler ve en üst kısımda yer alan plazma tabakasının ortasında beyaz bulutlanma tarzında Buffy Coat adı verilen lökosit tabakası pastör pipetiyle çekildi. 3 kez PBS ile yıkandı. Lökositler son yıkama işlemini takiben 2 ml Earle's Minimal Essential Medium (EMEM) + %10 Dimethylsulphoxide (DMSO) ilavesi ile virus saklama tüplerine aktarıldı ve kullanılıncaya kadar -80°C'lik dipfrizde saklandı. İkinci örnekleme yapılması gereken durumlarda da aynı prosedür uygulandı.

3.5. Kan Serumu Örneklerinde ELISA ile Antikor Tespiti

Süt sığırlarının kan serumlarında BVDV'una karşı oluşan antikor varlığını ortaya koymak için ticari olarak satılan Institute Pourquier ELISA BVD/MD/BD p80 Antikor (Kan serumu) kiti kullanıldı. Test, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.5.1. Testin uygulanması

ELISA kitinde bildirilen test prosedürü uygulandı. ELISA kiti ile test edilecek olan kan serumları kullanılmadan önce oda ısısına getirildi. p80 proteini ile kaplı olan mikropleyt gözlerine 50 µl "Dilution Buffer 9" konulduktan sonra, Çizelge 3.2'de gösterildiği gibi A1 gözüne pozitif kontrol (PK), B1 ve C1 gözlerine negatif kontroller (NK), diğer gözlere ise test edilecek serumlar (S1, S2 vs…) ilave edildikten sonra, mikropleyt +21°C'de karanlık bir yerde 1 saat inkubasyona bırakıldı. Bu süre sonunda mikropleyt gözleri distile su ile hazırlanmış olan 20x konsantre yıkama solüsyonu ile üç defa yıkandı. Son yıkama sonrasında gözlerin tamamen temizlenmesi amacıyla mikropleyt bir kurutma kağıdı üzerine hafifçe vuruldu. Sonra her göze, "Dilution Buffer 1" ile 1/100 oranında sulandırılarak hazırlanmış olan enzim peroksidazla birleştirilmiş ve p80 proteininin diğer epitopuna yönelen bir monoklonal antikor "WB112" olan konjugattan 100 µl ilave edilerek, mikropleyt +21°C'de karanlık bir yerde 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra mikropleyt gözleri tekrar üç kez yıkandıktan sonra, kitte hazır olarak bulunan "Revelation Solution N° 5" den her göze 100 µl ilave edilerek tekrar +21°C'de karanlık bir yerde 20 dakika inkübasyona bırakıldı. 20 dakika sonunda her göze 100 µl "Stop Solution" ilave edildikten sonra mikropleyt hafifçe çalkalanarak homojenizasyon sağlandı. Son olarak da otomatik ELISA okuyucusuna yerleştirilen mikropleyt, optik dansite (OD) değeri 450 nm'ye ayarlanmış filtre ile okundu.

3.5.2. Testin değerlendirilmesi

ELISA okuyucusu ile belirlenen absorbans değerleri, her kan serumu için kite ait özel değerlendirme prosedürüne uygun olarak hesaplandı. Her bir serumun inhibisyon yüzdesinin hesaplaması yapılırken negatif kontrole ait OD ile karşılaştırma yapıldı. Bu değerin hesaplaması aşağıda belirtilen formülasyonla gerçekleştirildi:

İnhibisyon % = (İncelenen örneğe ait OD 450/Negatif kontrole ait OD 450) x 100 (3.1)

3.5.3. Testin geçerliliği

Ortalama Negatif Kontrol OD 450 değeri minimum (NK) = 0,800 ve % Pozitif Kontrol (PK) değeri %20'den düşük ise test geçerli kabul edildi.

3.5.4. Sonuçların yorumlanması

İnhibisyon yüzdesi ≥ %50 olan kan serumları negatif, %40-%50 arasında olanlar şüpheli ve ≤ %40 olanlar da pozitif olarak değerlendirilmişlerdir.

Çizelge 3.2. Örneklerin dağıtılması

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PK											
B	NK											
C	NK											
D	S1											
E	S2											
F	…											
G	…											
H	…											

PK: Pozitif Kontrol; NK: Negatif Kontrol; S1: Serum 1; S2: Serum 2

3.6. Süt Serumu Örneklerinde ELISA ile Antikor Tespiti

Süt sığırlarının süt serumlarında BVDV'una karşı oluşan antikor varlığını ortaya koymak için ticari olarak satılan Institute Pourquier ELISA BVD/MD/BD p80 Antikor (Süt serumu) kiti kullanıldı. Test, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.6.1. Testin uygulanması

ELISA kitinde bildirilen test prosedürü uygulandı. ELISA kiti ile test edilecek olan süt serumları kullanılmadan önce oda ısısına getirildi. Çizelge 3.2'de gösterildiği gibi, p80 proteini ile kaplı olan mikropleytin A1, B1 ve C1 gözlerine 50 µl "Dilution

Buffer 9" konulduktan sonra, A1 gözüne pozitif kontrol, B1 ve C1 gözlerine negatif kontroller konularak, diğer gözlere ise test edilecek serumlar sulandırılmadan ilave edildikten sonra, mikropleyt +21°C'de karanlık bir yerde 2 saat inkübasyona bırakıldı. Sonra süt serumları ile inkübe edilmis olan mikropleytlere 3.5.1, 3.5.2, 3.5.3 ve 3.5.4 bölümlerinde anlatılan işlemler sırasıyla uygulandı.

3.7. Lökosit Örneklerinde ELISA ile Antijen Tespiti

Lökosit örneklerinde BVD antijen varlığını saptamak amacıyla BVDV Antijen ELISA (Bio-X Diagnostics, Belgium) kiti kullanıldı. Test, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.7.1. Testin uygulanması

ELISA kitinde bildirilen test prosedürü uygulandı. Buna göre, ilk olarak mikropleyt gözlerine 50 µl lökosit örnekleri konuldu. Ardından kit içerisinde bulunan lökosit lizis buffer solüsyonundan lökosit örneklerinin üzerine 50 µl ilave edilerek örneklerin sulandırılması sağlandı. Pleytin A1 gözüne 100 µl pozitif kontrol ve B1 gözüne (daha önceden lökosit lizis solüsyonunda 2 kat sulandırılmış dilüsyon buffer solüsyonundan hazırlanmış) 100 µl negatif kontrol ilave edildi. ELISA pleyti koruyucu ile kapatılarak, 25°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon periyodunun sonunda ELISA pleytindeki gözler boşaltılarak 3 kez Yıkama Solüsyonu (konsantre x 20) ile yıkandı ve kurutma kağıdına ters çevrilip vurularak kurutuldu. Yıkamanın ardından önceden sulandırılmış anti-BVDV biotin konjugatından bütün gözlere 100 µl dağıtılarak ELISA pleyti koruyucu ile tekrar kapatıldıktan sonra 25°C'de 1 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda ELISA pleytindeki gözler tekrar boşaltılarak 3 kez Yıkama Solüsyonu (konsantre x 20) ile yıkandı ve kurutma kağıdına ters çevrilip vurularak kurutuldu. Önceden sulandırılmış peroksidaz konjugatından bütün gözlere 100 µl dağıtılarak ELISA pleyti koruyucu ile tekrar kapatıldıktan sonra 25°C'de 1 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. ELISA pleytindeki gözler tekrar boşaltılarak 3 kez Yıkama Solüsyonu (konsantre x 20) ile yıkandı ve kurutma kağıdına ters çevrilip vurularak kurutuldu. Tüm gözlere 100 µl developing solüsyonu (kit prosedürüne göre; 1

pleyt için 9.5 ml substrat solüsyonu + 500 µl TMB şeklinde hazırlandı) ilave edildi. 10 dakika inkübasyon periyodundan sonra her göze 50 µl stop solüsyonu (1N fosforik asit) ilave edilerek reaksiyon durduruldu ve değerlendirmeye alındı.

3.7.2. Testin değerlendirilmesi

Otomatik ELISA okuyucusuna yerleştirilen ELISA pleytleri OD değeri 450 nm'ye ayarlanmış filtre ile okundu. ELISA okuyucusu ile belirlenen absorbans değerleri, her lökosit örneği için kite ait özel değerlendirme prosedürüne uygun olarak hesaplandı. Her bir lökosit örneğinin katsayı hesaplaması aşağıda belirtilen formülasyona göre gerçekleştirildi:

Örnek katsayısı = Örnek OD - Ortalama Negatif Kontrol OD / Ortalama Pozitif Kontrol OD - Ortalama Negatif Kontrol OD (3.2)

3.7.3. Testin geçerliliği

Ortalama Negatif Kontrol OD 450 değeri (NK) < 0.2 x Ortalama Pozitif Kontrol OD 450 değeri (PK) ise test geçerli kabul edildi.

3.7.4. Sonuçların yorumlanması

Örnek katsayı değeri < 0.2 ise negatif; örnek katsayı değeri 0,2'den büyük, 0,3'den küçük ise şüpheli; örnek katsayı değeri 0,3'den büyük ise pozitif olarak değerlendirildi.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Araştırma, Konya ili ve çevresinde bulunan 5 farklı süt sığırcılığı işletmesinden örneklenen hayvanlarda, BVDV enfeksiyonunun serolojik ve virolojik durumunu araştırmak, PI hayvanların prevalansını tespit etmek ve ayrıca kan örneklerine göre alınması daha kolay olan süt örneklerinin BVDV enfeksiyonunun teşhisinde önemini belirlemek amacı ile ticari olarak elde edilen ELISA kitleriyle yapılmıştır.

Kan serumu örneklerine uygulanan ELISA sonucunda, 500 hayvanın 449'u pozitif, 6'sı şüpheli, 45 adedi de negatif olarak belirlendi. İşletmeler bazında %80,68 ile %100 arasında, bölge genelinde ise %89,80 oranında seropozitiflik saptandı (Çizelge 4.1). Süt serumu örneklerine uygulanan ELISA sonucunda ise, 500 hayvandan 442'si pozitif, 1'i şüpheli, 57'si de negatif olarak belirlendi. İşletmeler bazında %82,50 ile %95,24 arasında, bölge genelinde ise %88,40 oranında seropozitiflik saptandı (Çizelge 4.2). Kan ve süt serumlarına uygulanan ELISA'lar sonucunda birbirine yakın seropozitivite oranları (sırasıyla, %89,80 ve %88,40) belirlendi (Çizelge 4.3, Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. Örneklenen hayvanların kan serumunda BVD/antikor sonuçları

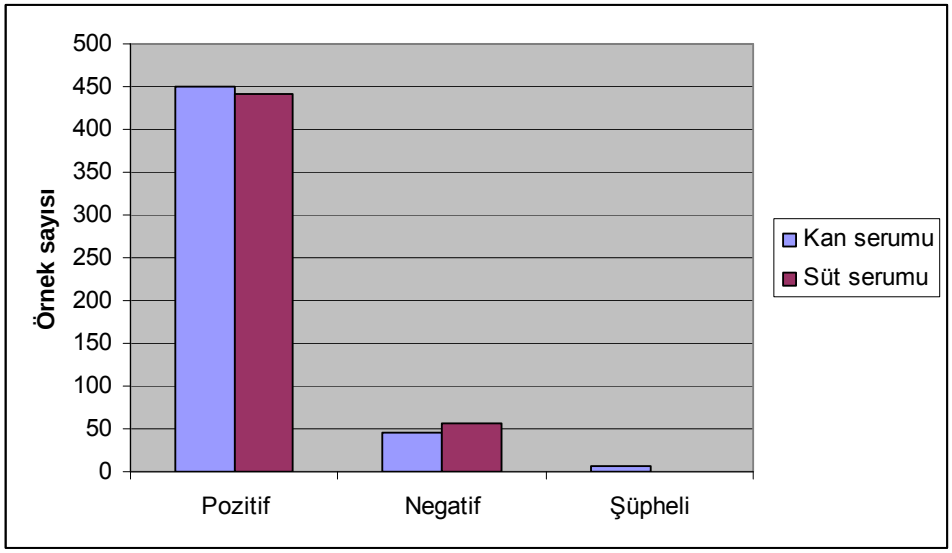
İşletmeler	Pozitif hayvan sayısı	Negatif hayvan sayısı	Şüpheli hayvan sayısı	Seroprevalans (%)
1	69	9	2	86,25
2	71	13	4	80,68
3	88	10	-	89,80
4	84	-	-	100,00
5	137	13	-	91,33
Toplam	449	45	6	89,80

Çizelge 4.2. Örneklenen hayvanların süt serumunda BVD/ antikor sonuçları

İşletmeler	Pozitif hayvan sayısı	Negatif hayvan sayısı	Şüpheli hayvan sayısı	Seroprevalans (%)
1	66	14	-	82,50
2	74	14	-	84,09
3	87	11	-	88,78
4	80	4	-	95,24
5	135	14	1	90,00
Toplam	442	57	1	88,40

Çizelge 4.3. Örneklenen 500 hayvanın ELISA BVD/antikor kan ve süt sonuçları

BVD/Ab	Kan serumu	Süt serumu
Pozitif hayvan sayısı	449 (%89,80)	442 (%88,40)
Negatif hayvan sayısı	45	57
Şüpheli hayvan sayısı	6	1
Toplam hayvan sayısı	500	500



Şekil 4.1. Kan ve süt serumları ELISA BVD/antikor sonuçları

Araştırmanın virolojik kısmının birinci basamağında, kan lökosit örneklerinde BVDV antijeninin tespit edilmesi amacıyla uygulanan direkt ELISA sonucunda, 500 hayvanın sadece 3'ünde (%0,60) antijen varlığı tespit edilmiştir. Antijen pozitif–antikor negatif olarak belirlenen bu 3 hayvanın persiste enfekte olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan ikinci örneklemede ise, lökosit örneklerinde antijen varlığı tespit edilememiştir. Bu yüzden bu 3 hayvan BVDV enfeksiyonu yönünden akut enfekte olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Birinci ve ikinci örnekleme ELISA BVD/antijen sonuçları

İşletmeler	I. örnekleme			II. örnekleme		
	Pozitif hayvan sayısı	Negatif hayvan sayısı	Pozitivite oranı (%)	Pozitif hayvan sayısı	Negatif hayvan sayısı	Pozitivite oranı (%)
1	1	79	1,25	-	80	0,00
2	1	87	1,14	-	88	0,00
3	-	98	0,00	-	98	0,00
4	-	84	0,00	-	84	0,00
5	1	149	0,67	-	150	0,00
Toplam	3	497	0,60	-	500	0,00

Bovine viral diarrhea virus enfeksiyonu dünyanın birçok ülkesinde yaygın olarak saptanmış, örneklenen hayvanlar ve kontrol edilen sürüler için değişmek üzere, %21-96 arasında seroprevalans oranları bildirilmiştir (Canal ve ark., 1998; Obando ve ark., 1999; Björkman ve ark., 2000; Beaudeau ve ark., 2001; Mainar-Jaime ve ark., 2001; Stahl ve ark., 2002; Mockeliūnienė ve ark., 2004; Joly ve ark., 2005; Ribeiro-Niza ve ark., 2005; Duong ve ark., 2008; Guarino ve ark., 2008; Talafha ve ark., 2009; Hashemi Tabar ve ark., 2010).

Canal ve ark. (1998), Brezilya'nın Rio Grande do Sul eyaletindeki 19 çiftlik ile Arjantin'in Corrientes eyaletindeki 1 çiftlikte bulunan toplam 430 yetişkin sığırdan elde ettikleri serum örneklerini ELISA ile teste tabi tutarak, BVDV'una karşı ortalama antikor prevalansını %56 olarak tespit etmişlerdir.

Obando ve ark. (1999), Apure Eyaleti (Venezuela)'nin beş bölgesindeki ineklerden elde ettikleri 615 serum örneğini BVDV'una karşı ELISA ile test etmişlerdir. Bölgelere göre %19-42 arasında değişen, toplamda %36±7'lık bir seroprevalans oranı belirlemişlerdir.

Björkman ve ark. (2000) İsveç'te aborta ve konjenital anomalili buzağı doğumlarına neden olan *Neospora caninum* ve BVD enfeksiyonu üzerine yaptıkları bir çalışmada, 780 adet sütçü inekten elde ettikleri kan serumu örneklerini ELISA ile teste tabi tutarak, BVDV'unun seroprevalansını %32 (249/780) olarak belirlemişlerdir.

Beaudeau ve ark. (2001)'nın Fransa'nın batısındaki Brittany bölgesinde bulunan 42 süt sığırcılığı işletmesinden topladıkları 1189 adet eşleştirilmiş kan/süt serumunda ELISA ile BVDV'una karşı gelişen antikorları saptamak amacıyla yaptıkları araştırmalarında, seropozitivite oranını ortalama %84,4 olarak belirlemişlerdir.

Mainar-Jaime ve ark. (2001) İspanya'nın Asturias bölgesinde yaptıkları bir çalışmada, BVDV'una karşı aşılanmamış 28 sürüden elde ettikleri 529 kan serumu örneğini BVDV'una karşı gelişen antikorlar yönünden ELISA ile teste tabi tutarak, 114 (%21) ineğin seropozitif olduğunu saptamışlardır.

Stahl ve ark. (2002)'nın Peru'da bulunan Mantaro Vadi'sindeki 60 sürüden topladıkları süt örneklerini ELISA ile IBR ve BVD enfeksiyonları yönünden inceledikleri bir çalışmada, BVD enfeksiyonunun seropozitivite oranı %96, IBR enfeksiyonunun ise % 51 olarak belirlenmiştir.

Mockeliūnienė ve ark. (2004), Litvanya'nın 27 farklı bölgesindeki 147 entansif süt sığırcılığı işletmesinde bovine viral diarrhoea virus (BVDV) enfeksiyonunun seroprevalansını ve BVDV enfeksiyonunun seyrini etkileyen faktörleri belirlemek amacıyla, topladıkları kan serumlarını ticari ELISA kiti kullanarak test etmişlerdir. Araştırıcılar, incelenen tüm bölgelerde BVD enfeksiyonunun tespit edildiğini, seropozitif hayvan sayısının işletmelere göre %11,9–100 arasında değiştiğini ve yöre genelinde %58,2'lik bir seropozitivite oranının tespit edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, küçük işletmelerdeki (3–15 hayvan) ortalama enfekte hayvan sayısının (%30,6) büyük işletmelerdeki (>50 hayvan) enfekte hayvan sayısından (%62,4) istatistiki yönden önemli bir biçimde daha düşük olduğunu belirleyerek, seropozitif sığırların sayısı ile işletmelerin büyüklüğü ve hayvanların yaşı arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Joly ve ark. (2005) Fransa'nın batısındaki Britanya Adaları'nda bulunan ve BVDV'undan ari olduğu düşünülen sürüler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, hayvanlardaki seroprevalansı %40 olarak bildirmişlerdir.

Kuzey Portekiz'in Entre Douro e Minho bölgesinde aşılama yapılmış ve yapılmamış sütçü sürülerden toplanan süt tankı örneklerinin BVDV'una karşı ELISA ile test edilmesi sonucu, aşılı sürülerin %53.5'inin, aşısız sürülerin ise %46.5'inin seropozitif olduğu belirlenmiştir (Ribeiro-Niza ve ark., 2005).

Duong ve ark. (2008), Güney Vietnam'daki bazı süt inekçiliği işletmelerinde *Neospora caninum* ve BVDV'unun prevalansını araştırmak, bunun yanında ithal edilmiş ve lokal olarak yetiştirilen inekleri bulunduran işletmeler arasında seroprevalanslar bakımından farklılıklar olup olmadığını araştırmak amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Araştırıcılar, beş devlet çiftliği ile 97 küçük aile işletmesinden toplanan serum örneklerini, *N. caninum* ve BVDV'una karşı antikorların varlığı yönünden ELISA ile incelemişlerdir. Ayrıca, BVDV antikorları yönünden negatif olan

serumların tamamını, persiste enfekte (PI) inekleri tespit etmek amacıyla antijen-ELISA ile teste tabi tutmuşlardır. BVDV seroprevalansının devlet çiftliklerinde %58 ile %93 arasında, küçük aile işletmelerinde %18 olarak tespit edildiğini ve devlet işletmelerinde BVDV'u yönünden saptanan yüksek seroprevalansa rağmen, BVDV'u ile persiste enfekte hiçbir inek tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Guarino ve ark. (2008) Uruguay'da yaptıkları bir çalışmada, 230 sürüden 6358 adet kan örneği toplayarak, BVD ve IBR enfeksiyonları yönünden ELISA ile test etmişlerdir. BVDV enfeksiyonunun seroprevalansını %69, IBR'nin seroprevalansını %37 olarak belirlemişlerdir.

Talafha ve ark. (2009), Ürdün'de 62 adet aşılanmamış sütçü sürüdeki (671 inek) BVDV enfeksiyonunun seroprevalansını ve BVDV'ye bağlı risk faktörlerini belirlemek amacıyla kesitsel bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Araştırıcılar, BVDV'ye karşı gelişen antikorları tespit etmek için indirekt ELISA'yı, BVDV seropozitivitesi yönünden risk faktörlerini tespit etmek için de ki-kare ve çok değişkenli lojistik regresyon modelini kullanmışlardır. Araştırma sonucunda, BVDV'ye karşı gerçek antikor prevalanslarını, hayvan bazında %31,6, sürü bazında ise %80,7 olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca, orta ve büyük ölçekli sürülerde tespit edilen BVDV seroprevalansının küçük ölçekli sürülere göre oldukça yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Hashemi Tabar ve ark. (2010), İran'ın Mashhad bölgesindeki farklı endüstriyel süt sığırcılığı işletmelerinde bulunan değişik gebelik aşamalarındaki abort geçmişi bilinen ineklerden 120, kontrol amacıyla da abort geçmişi bilinmeyen ineklerden 30 kan örneği alarak, bu örneklerde BVDV'ye karşı gelişen antikor varlığını indirekt ELISA ile araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, abort yapmış ineklerden toplanan 120 serum örneğinden 89'unu (%74,16), abort geçmişi bilinmeyen ineklerden toplanan 30 serum örneğinden ise 20'sini (%66,66) pozititif olarak belirlemişlerdir. Ayrıca, serum örneklerindeki BVDV antijen varlığını Ag-capture ELISA ile araştırarak, gebeliğin ikinci periyodunda olan iki ineği (%1,67) antijen-pozitif olarak belirlediklerini, kontrol grubundaki örneklerde ise hiçbir antijen varlığı tespit edemediklerini bildirmişlerdir.

Türkiye'nin değişik bölgelerinde bugüne kadar BVDV üzerinde yapılan çalışmalarda %14,3-100 arasında değişen seropozitivite oranları tespit edilmiştir (Alkan ve ark., 1997; Şimşek ve Öztürk, 1997; Çabalar ve Karaoğlu, 1999; Yapkıç ve Yavru, 2001; Burgu ve ark., 2003; Yavru ve ark., 2005; Yıldırım ve Burgu, 2005; Bulut ve ark., 2006; Kale ve ark., 2006; Tan ve ark., 2006; Okur-Gümüşova ve ark., 2007; Yeşilbağ ve Güngör, 2008; Kayacan, 2008; Duman ve ark., 2009; Kale ve ark.,2011).

Alkan ve ark. (1997), örnekledikleri süt sığırcılığı işletmelerindeki ineklerin kan serumu örneklerini BVDV yönünden nötralizasyon testi ile inceleyerek, %21,4-100 arasında değişen seropoziflik oranı saptamışlardır.

Şimşek ve Öztürk (1997)'ün 1994 yılında Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ait klinik olarak sağlıklı görünüme sahip toplam 142 adet sığırda persiste BVDV enfeksiyonunu ve BVDV antikorlarını saptamak amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmalarında, BVDV enfeksiyonunun bölgedeki seroprevalansı %79.5 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, 142 sığırdan 1 adedinin (%0,7) BVDV ile persiste enfeksiyona, 2 adedinin de BVDV ile akut enfeksiyona sahip olduğu belirlenmiştir.

Çabalar ve Karaoğlu (1999), Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde kamuya ait işletmelerden ve halk elinde bulunan sığırlardan alınan 471 adet serum örneğinde SNT ile % 14.3-100 arasında değişen BVDV seropozitifliği saptamışlardır.

Yapkıç ve Yavru (2001), gebe sığırlarda ve bunların buzağılarında persiste BVDV enfeksiyonunun varlığını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, Konya bölgesindeki özel bir işletmede bulunan 62 adet gebe inekten doğumdan önce, doğumları sırasında hem inek hem de prekolostral buzağılardan ve doğumdan sonraki ortalama 3 ay içinde de buzağılardan virus izolasyonu ve serolojik amaçla kan örnekleri almışlardır. Lökosit numunelerinden virus izolasyonu amacıyla direk immunfloresan (DIF) ve direkt immunperoksidaz (DPLA) testlerini, BVDV'una karşı oluşan antikorları tespit etmek amacıyla da SNT'ni kullanmışlardır. Araştırıcılar, SNT sonucunda, gebe ineklerin tümünü birinci ve ikinci örneklemelerde pozitif olarak tespit etmişler, prekolostral buzağıların ise 7 adedini pozitif, 55 adedini de negatif olarak belirlemişlerdir. Buzağıların doğumdan sonraki ortalama 3 ay içinde gerçekleştirilen ikinci örneklemesinde ise, tümünü pozitif olarak tespit etmişlerdir. Araştırmanın virolojik kısmında ise, gebe ineklerin ve buzağıların tümünü birinci ve ikinci örneklemelerde BVDV antijenleri yönünden negatif olarak belirlemişlerdir.

Burgu ve ark. (2003), Türkiye'nin farklı bölgelerinde bulunan 26 süt sığırcılığı işletmesindeki bovine viral diarrhea (BVD) aşısı uygulanmamış toplam 12413 sığırdan kan örnekleri toplayarak, bu örnekleri BVDV yönünden peroksidaz bağlı antikor (PLA) testi ve BVDV'ye spesifik antikorlar yönünden de serum nötralizasyon testi ile kontrol etmişlerdir. Serolojik çalışma sonucunda, kontrol edilen işletmelerin tümünde (%100) enfeksiyon varlığının saptandığını ve işletmelere göre seropozitiflik oranlarının %0,6-70 arasında belirlendiğini bildirmişlerdir.

Yavru ve ark. (2005), Konya Et ve Balık Kurumu Mezbahası'na gelen farklı yaş, ırk ve cinsiyetteki sığırlardan aldıkları toplam 254 kan serumu örneğini mikronötralizasyon testi (mNT) ile BAV- 1, 2 ve 3, IBR/IPV, PIV-3, BRSV ve BVDV nötralizasyon antikorları yönünden kontrol ederek, BVDV'una karşı %44.09 oranında bir seropozitiflik belirlemişlerdir.

Yıldırım ve Burgu (2005), Kuzeydoğu Anadolu bölgesindeki sığırlarda mavidil (BT), IBR, PIV-3, Bovine Leukemia Virus (BLV) enfeksiyonlarının seroprevalanslarını araştırmak amacıyla 8 ildeki özel sektöre ait organize yetiştiricilik yapılan ve aile işletmelerinde bulunan sığırlardan aldıkları toplam 506 kan serumu örneğini mikronötralizasyon testine tabi tutarak, BVD virusuna karşı %81.62 oranında bir seropozitiflik belirlemişlerdir.

Bulut ve ark. (2006), Konya bölgesindeki süt sığırcılığı işletmelerinde BHV-1 ve BVDV enfeksiyonlarının durumlarını belirlemek ve bu enfeksiyonlardan ari yeni sürüler oluşturmak amacıyla planladıkları çalışmalarında, Konya ve çevresinde bulunan 35 farklı işletmedeki toplam 6418 sığırdan rastgele örnekleme medodu ile örnekledikleri 1288 sığırdan kan örnekleri toplamışlardır. Kan örneklerini BHV-1 ve BVDV'una karşı antikor varlığı, BVDV'una karşı ise ayrıca antijen varlığı yönünden ELISA ile incelemişlerdir. İnceledikleri kan serumlarından 204 (%15,8)'ünü BHV-1'e ve 693 (%53,8)'ünü de BVDV'una karşı oluşan antikorlar yönünden seropozitif olarak belirlemişlerdir. Aynı hayvanlardan aldıkları kan lökosit örneklerinden sadece 2 seronegatif hayvanı BVDV antijen varlığı yönünden pozitif olarak belirlemişlerdir. Hayvanların 4 hafta sonra tekrar örneklenmeleri sonucu pozisyonlarını değiştirmediklerini tespit ederek, bu hayvanları PI olarak tanımlamışlardır.

Kale ve ark. (2006)'nın Burdur ili ve çevresindeki sütçü sığırların ve düvelerin fertiliteleri üzerine BVDV enfeksiyonunun etkilerini belirlemek amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmalarında, örneklenen 319 hayvanın 203 (%63,64)'ünde BVDV antikor varlığı, 56 (%17,55)'sında ise BVDV antijen varlığı tespit edilmiştir.

Tan ve ark. (2006) Aydın ili ve çevresindeki süt inekçiliği işletmelerinden örnekledikleri toplam 288 hayvanı, BVD antikorları yönünden Neutralization Peroxidase Linked Antibody (NPLA) testi ile kontrol etmişlerdir. Araştırma sonucunda; kontrol edilen işletmelerin tamamına enfeksiyonun girdiğini, işletmeler bazında %44-100 arasında değişen seropozitiflik saptandığını, yöre genelinde ise %86 oranında seropozitiflik belirlendiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, persiste enfekte hayvanları belirlemek amacıyla, tam kan örneklerine uyguladıkları ELISA sonucunda pozitif ve

şüpheli olarak tespit ettikleri hayvanları 45 gün sonra tekrar örnekleyerek yeniden teste tabi tutmuşlardır. Her iki örneklemede de BVD Ag pozitif olarak saptadıkları toplam 14 (%4,9) hayvanı persiste enfekte olarak değerlendirmişlerdir.

Okur-Gümüşova ve ark. (2007), Türkiye'nin Samsun ilindeki aşılanmamış, 1-3 yaş arasındaki 188 sığırdan aldıkları kan serumu örneklerini, SNT'ni kullanarak, sığırlarda solunum sistemi hastalıklarına neden olan 5 virusa (BHV-1, BVDV, PIV-3, BAV-1 ve BAV-3) karşı antikorlar yönünden test ederek, BVDV'una karşı %53.19 oranında bir seropozitiflik tespit etmişlerdir.

Yeşilbağ ve Güngör (2008), Marmara bölgesinde bulunan 7 ildeki 39 sığırcılık işletmesinden topladıkları toplam 584 kan serumu örneğini BHV-1, BVDV, BRSV, PIV-3, BAV-1 ve BAV-3'e spesifik nötralizan antikorlar yönünden inceleyerek, BVDV'unun seroprevalansını %41.4 olarak saptamışlardır.

Kayacan'ın (2008) Konya bölgesinde 2008 yılında BVDV enfeksiyonunun seroprevalansını belirlemek amacıyla süt sığırcılığı işletmelerinden topladığı 480 kan ve 480 süt örneğinden elde ettiği serumlara uyguladığı ELISA sonucunda, bölgede enfeksiyonun seroprevalansı sırasıyla %90,63 ve %89,73 olarak belirlenmiştir.

Duman ve ark. (2009)'nın Konya ve çevresindeki solunum sistemi semptomu gösteren süt sığırlarında Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR), Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Parainfluenza Virus tip 3 (PI-3) ve Bovine Adenovirus tip 3 (BAV-3) enfeksiyonlarının seroprevalansını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, BVDV'una karşı %96,04 oranında bir seropozitiflik belirlenmiştir.

Bu araştırmada örneklenen sürülerde bulunan hayvanlara BVD aşısının uygulanmadığı işletme kayıtları dikkate alınarak tespit edilmiş ve dolayısıyla elde edilen serolojik verilerin doğal enfeksiyonlara ilgili olarak meydana geldiği belirlenmiştir. Buna göre kan serumu örneklerine uygulanan ELISA sonucunda, işletmeler bazında %80,68-100 arasında, örneklenen sığır populasyonu için ise %89,80 oranında seropozitiflik saptanmıştır (Çizelge 4.1, Çizelge 4.3 ve Şekil 4.1). Süt serumu örneklerine uygulanan ELISA sonucunda ise, işletmeler bazında %82,50-95,24 arasında, örneklenen sığır populasyonu için de %88,40 oranında seropozitiflik saptanmıştır (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3 ve Şekil 4.1). Kan ve süt serumlarına uygulanan ELISA'lar sonucunda yöre genelinde birbirine yakın seropozitivite oranlarının (%89,80 ve %88,40) saptanması, serolojik testlerde süt serumu kullanımının, araştırıcı için örneklemenin kolay ve ucuz olmasından dolayı kan serumuna alternatif bir metot olarak

tercih edilebileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca, tespit edilen bu oranlar, sürüden sürüye değişebilen seropozitiflik oranlarının mümkün olabileceğini, bununla birlikte BVD virus enfeksiyonunun söz konusu sürülerde oldukça yaygın düzeyde varlığını ortaya koymuştur. Araştırmada BVDV'una karşı saptanan seropreavalans oranlarının dünyanın değişik ülkelerinde bildirilen seroprevalans değerlerinden [Duong ve ark. (2008)'nın belirlediği enfeksiyon oranı dışında] oldukça yüksek olduğu gözlenmektedir. Türkiye'de yapılan çalışmalarla kıyaslandığında ise; kan ve süt serumları kullanılarak belirlenen seropozitivite oranlarının, Tan ve ark. (2006)'nın Aydın ilinde, Kayacan'ın (2008) Konya yöresinde belirlediği seropozitivite oranlarına benzerlik gösterdiği, diğer çalışmalarda belirlenen seropozitivite oranlarından ise farklılık (yüksek veya düşük) gösterdiği görülmektedir. Diğer taraftan, araştırmanın gerçekleştirildiği Konya ve çevresinde daha önce yapılan serolojik çalışmaları (Şimşek ve Öztürk, 1997; Yapkıç ve Yavru, 2001; Yavru ve ark., 2005; Bulut ve ark., 2006; Kayacan, 2008; Duman ve ark., 2009) irdelersek, bölgede enfeksiyonun seyrinin yıllara göre dalgalanmalar gösterdiğini ve belirlenen seropozitivite oranlarının %44,09–100 arasında değiştiğini görebiliriz. Belirlenen seropozitivite oranları arasındaki bu farklılıklar, sığır sürülerindeki yapısal farklılıklara, barınma şekillerine ve yönetime bağlı olarak enfeksiyonun seroprevalansında değişiklik gözlenebilmesiyle (Houe, 1999) ilişkili olabileği gibi, örneklemelerin yapıldığı sığırların klinik olarak sağlıklı veya hasta görünüme sahip olmalarıyla da ilişkili olabilir. Örneğin, Duman ve ark. (2009), solunum sistemi semptomları gösteren sütçü sığırları örneklemişler ve doğal olarak da bölgede yüksek bir seropozitivite oranı (%96,04) belirlemişlerdir.

BVDV enfeksiyonunun eradike edilebilmesi için hayvanların hem serolojik hem de virolojik yönden kontrol edilmesi gerekmektedir. Öncelikle serolojik olarak kontrol edilen ve bu kontrol sonucunda seronegatif çıkan hayvanların daha sonra virolojik yönden test edilerek persiste enfekte hayvanların belirlenmesi ve PI hayvanların enfeksiyonunun sürü içerisindeki duyarlı hayvanlara bulaşmasında en önemli unsur olduğu göz önüne alınarak sürüden uzaklaştırılması gerekmektedir (Zimmer ve ark 2002, Brodersen 2004, Lindberg and Houe, 2005).

Dünyanın çeşitli ülkelerindeki ve Türkiye'deki sığır populasyonlarında persiste enfeksiyon oranları kesin olarak bilinmemekle birlikte, %0-4,9 olarak bildirilmektedir (Şimşek ve Öztürk, 1997; Yapkıç ve Yavru, 2001; Duong ve ark., 2008; Hashemi Tabar ve ark., 2010; Ak ve ark., 2002; Burgu ve ark., 2003; Bulut ve ark., 2006; Tan ve ark., 2006).

Duong ve ark. (2008), Güney Vietnam'daki beş devlet çiftliği ile 97 küçük aile işletmesinde *Neospora caninum* ve BVDV'unun prevalansını araştırmak amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmalarında, BVDV antikorları yönünden negatif olarak tespit ettikleri serumların tamamını, persiste enfekte (PI) inekleri tespit etmek amacıyla antijen-ELISA ile teste tabi tutmuşlardır. Ancak, BVDV'u yönünden belirledikleri yüksek seroprevalansa rağmen, BVDV'u ile PI hiçbir ineğin tespit edilmediğini bildirmişlerdir. Araştırıcılar PI hayvan tespit edilememesinin nedenini, PI hayvanların genellikle genç buzağıları bulunduran işletmelerde bulunduğuna dikkati çekerek, araştırdıkları çiftliklerde genellikle daha yaşlı hayvanların bulunmasına bağlamışlardır.

Şimşek ve Öztürk (1997)'ün 1994 yılında Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ait klinik olarak sağlıklı görünüme sahip toplam 142 adet sığırda persiste BVDV enfeksiyonunu ve BVDV antikorlarını saptamak amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmalarında, incelenen 142 sığırdan 1 adedinin (%0,7) BVDV ile persiste enfeksiyona, 2 adedinin de BVDV ile akut enfeksiyona sahip olduğu belirlenmiştir.

Yapkıç ve Yavru (2001), Konya bölgesindeki gebe sığırlarda ve bunların buzağılarında persiste BVDV enfeksiyonunun varlığını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, gebe ineklerin tümünü birinci ve ikinci örneklemelerde BVDV antikorları yönünden pozitif, gebe ineklerin ve buzağıların tümünü ise birinci ve ikinci örneklemelerde BVDV antijenleri yönünden negatif olarak belirlemişlerdir.

Hashemi Tabar ve ark. (2010), İran'da abort yapmış ineklerden topladıkları 120 adet serum örneğini BVDV antijeni tespit etmek amacıyla Ag-capture ELISA ile kontrol ederek, %1,67 oranında bir pozitiflik tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Ak ve ark. (2002), BVDV enfeksiyonunun Trakya yöresindeki prevalansını ve PI hayvanları tespit etmek amacıyla 260 hayvandan kan lökosit örnekleri alarak, bu örnekleri BVDV antijenleri yönünden indirekt immunoperoksidaz testi ile incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, 260 lökosit örneğinden 19'u mezbahadan, 16'sı canlı hayvanlardan olmak üzere toplam 35 (%13,46) örneğin pozitif olduğunu saptamışlardır. Pozitif sonuç alınan 16 canlı hayvandan 2. kez alınan lökosit örneklerinin 4'ünde (%3,07) ise tekrar BVDV antijeni saptamışlardır.

Burgu ve ark. (2003), Türkiye'nin farklı bölgelerinde bulunan 26 süt sığırcılığı işletmesindeki bovine viral diarrhea (BVD) aşısı uygulanmamış toplam 12413 sığırdan kan örnekleri toplayarak, bu örnekleri BVDV yönünden peroksidaz bağlı antikor (PLA) testi ve BVDV'ye spesifik antikorlar yönünden de serum nötralizasyon testi ile kontrol etmişlerdir. Araştırıcılar virolojik çalışma sonucunda; kontrol edilen sürülerin

%11,5'inde, örneklenen populasyonun %0,07'sinde PI hayvan varlığı saptamışlardır. İşletmelerdeki persiste enfeksiyon oranını ise %0,61-0,83 olarak hesaplamışlardır.

Bulut ve ark. (2006) Konya bölgesinde gerçekleştirdikleri çalışmada, örnekledikleri işletmelerin sadece 2 (%5,71)'sinde, bireysel olarak ise 2 (%0,1) hayvanda persiste enfeksiyon varlığı saptamışlar ve işletme sahiplerine PI hayvanları sürüden çıkarmalarını tavsiye etmişlerdir.

Tan ve ark. (2006) Aydın ili ve çevresindeki süt inekçiliği işletmelerinden örnekledikleri toplam 288 hayvanı, BVD antikorları yönünden Neutralization Peroxidase Linked Antibody (NPLA) testi ile kontrol etmişlerdir. Araştırma sonucunda, yöre genelinde %86 oranında bir seropozitiflik belirlemişlerdir. Araştırıcılar, persiste enfekte hayvanları belirlemek amacıyla, tam kan örneklerine uyguladıkları ELISA sonucunda pozitif ve şüpheli olarak tespit ettikleri hayvanları 45 gün sonra tekrar örnekleyerek yeniden teste tabi tutmuşlardır. Her iki örneklemede de BVD Ag pozitif olarak saptadıkları toplam 14 (%4,9) hayvanı persiste enfekte olarak değerlendirmişlerdir.

Bu çalışmada ise, Duong ve ark. (2008) ile Yapkıç ve Yavru'nun (2001) yaptıkları çalışmada elde ettikleri bulgulara benzer bulgular elde edilmiştir. Yapılan her iki araştırmada da BVDV enfeksiyonu yönünden yüksek bir seroprevalans oranı elde edilmesine karşılık, hayvanların hiçbirinin PI olmadığı belirlenmiştir. Houe ve Meyling (1991) BVDV enfeksiyonu yönünden daha önceki durumları bilinmeyen 19 adet Danish sütçü sürüde yaptıkları çalışmada, %1.4 oranında PI hayvan tespit etmişlerdir. PI hayvanların bulunduğu sürülerdeki seropozitiviteyi %87 olarak belirlerlerken, PI hayvan bulunmayan sürülerde ise seropozitiviteyi %43 olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise BVDV enfeksiyonu yönünden incelenen işletmelerde ve yöre genelinde yüksek bir seropozitivite oranı belirlenmesine karşılık (Çizelge 4.1 ve 4.2), Houe ve Meyling (1991)'in bildirdiğinden farklı olarak araştırılan işletmelerin hiçbirinde PI hayvan varlığı tespit edilmemiş, ancak 3 hayvanın akut enfekte olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Bu farklılığın, araştırma bölgesinde daha önce yapılan çalışmalarla (Şimşek ve Öztürk, 1997; Bulut ve ark., 2006) PI hayvanların tespit edilerek işletme sahiplerine bildirilmesi sonucu, bu hayvanların işletme sahipleri tarafından elimine edilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Diğer taraftan, söz konusu sürülerde düşük de olsa akut enfekte hayvan varlığının saptanması, BVDV'unun bölgedeki sığır populasyonlarında sirkülasyonunu aktif olarak devam ettirdiği şeklinde yorumlanabilir. BVDV'nin sığır populasyonlarında

sirkülasyon yeteneği, akut enfeksiyonlar tarafından da etkilenmektedir. Persiste enfeksiyonlar virus yayılımının esas kaynağını temsil etmekle birlikte, akut enfekte hayvanlar da önceden enfeksiyona maruz kalmamış sürülere virus bulaşımının diğer bir kaynağını teşkil edebilirler ve BVDV'nin enfekte sürüler içinde sirkülasyonundan sorumlu olabilirler. Hayvan gruplarının sürekli hareketi ve alınıp satılmasına bağlı olarak, akut enfeksiyonlar, BVDV'nin sığırlara bulaşımında ve varlığını devam ettirmesinde çok önemli olabilirler. Buna ilaveten, akut enfeksiyonlar sığırcılık endüstrisinde önemli ekonomik kayıplarla sonuçlanan üreme ve solunumla ilgili hastalıklar oluştururlar (Brock, 2003).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Konya yöresindeki süt sığırcılığı işletmelerindeki Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) enfeksiyonunun serolojik ve virolojik durumunu araştırmak, persiste enfekte hayvanların tespit edilerek sürüden uzaklaştırılmasını sağlamak ve kan örneklerine göre alınması daha kolay olan süt örneklerinin BVDV enfeksiyonunun teşhisinde önemini belirlemek amacı ile planlanan bu çalışmada:

1) Kan serumu örneklerine uygulanan ELISA sonucunda, 500 hayvanın 449'u pozitif, 6'sı şüpheli, 45 adedi de negatif olarak belirlendi. İşletmeler bazında %80,68 ile %100 arasında, yöre genelinde ise %89,80 oranında seropozitiflik saptandı.

2) Süt serumu örneklerine uygulanan ELISA sonucunda ise, 500 hayvandan 442'si pozitif, 1'i şüpheli, 57'si de negatif olarak belirlendi. İşletmeler bazında %82,50 ile %95,24 arasında, yöre genelinde ise %88,40 oranında seropozitiflik saptandı.

3) Araştırmanın virolojik kısmının birinci basamağında, kan lökosit örneklerinde BVDV antijeninin tespit edilmesi amacıyla uygulanan direkt ELISA sonucunda, 500 hayvanın sadece 3'ünde (%0,60) antijen varlığı tespit edildi. Antijen pozitif–antikor negatif olarak belirlenen bu 3 hayvanın persiste enfekte olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan ikinci örneklemede ise, lökosit örneklerinde antijen varlığı tespit edilemeyerek, bu 3 hayvan BVDV enfeksiyonu yönünden seronegatif/immun olarak değerlendirildi.

4) Bölgedeki sığırlarda persiste enfeksiyon varlığı tespit edilmemiş olmakla birlikte, BVDV enfeksiyonunun bölgede daha önce yapılan serolojik araştırma ile kıyaslandığında benzer oranda seyrettiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, kan ve süt serumlarına uygulanan ELISA'lar sonucunda birbirine yakın sonuçların elde edilmesi, serolojik testlerde süt serumu kullanımının, araştırıcı için örneklemenin kolay ve ucuz olmasından dolayı kan serumuna alternatif bir metot olarak tercih edilebileceğini ortaya koymuştur.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, bölgede söz konusu enfeksiyonun kontrolüne hizmet edecek çalışmaların (hayvanların belirli aralıklarla serolojik kontrollere tabi tutulması, akut enfekte ve PI hayvanların sürülerden elimine edilmesi, aşı suşlarının belirlenerek aşı uygulamalarına geçilmesi,vb… ivedilikle planlanması gerektiği ortaya çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

Ak, S., Fırat, İ., Bozkurt, H. H., Gülyaz, V., Ak, K., 2002, The prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle and existence of persistently infected cattle in the Trakya Region, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 26, 245-248.

Alkan, F., Özkul, A., Karaoğlu, M. T., Bilge, S., Akça, Y., Burgu, İ., Yeşilbağ, K., Oğuzoğlu, T. Ç., 1997, Sığırlarda viral nedenli solunum sistemi enfeksiyonlarının seroepidemiyolojisi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 44, 73-80.

Anderson, E. C. and Rowe, L. W., 1998, The prevalence of antibody to the viruses of bovine virus diarrhoea, bovine herpes virus 1, rift valley fever, ephemeral fever and bluetongue and to Leptospira sp in free-ranging wildlife in Zimbabwe, Epidemiology and Infection, 121, 441-449.

Baker, J. C., 1987, Bovine viral diarrhea virus: a review, Journal of the American Veterinary Medical Association, 190, 1449-1458.

Baker, J.C., 1995, The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection, Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice, 11, 425-445.

Barkema, H. W., Bartels, C. J., van Wuijckhuise, L., Hesselink, J. W., Holzhauer, M., Weber, M. F., Franken, P., Kock, P. A., Bruschke, C. J. and Zimmer, G. M., 2001, Outbreak of bovine virus diarrhea on Dutch dairy farms induced by a bovine herpesvirus 1 marker vaccine contaminated with bovine virus diarrhea virus type 2, Tijdschr Diergeneeskd, 126, 158-165.

Beaudeau, F., Belloc, C., Seegers, H., Assie, S., Sellal, E., Joly, A., 2001, Evaluation of a blocking ELISA for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antibodies in serum and milk, Veterinary Microbiology, 80, 329-337.

Becher, P., Avalos Ramirez, R., Orlich, M., Cedillo Rosales, S., Konig, M., Schweizer, M., Stalder, H., Schirrmeier, H. and Thiel, H. J., 2003, Genetic and antigenic characterization of novel pestivirus genotypes: implications for classification, Virology, 311, 96-104.

Becher, P., Orlich, M. and Thiel, H. J., 1998, Ribosomal S27a coding sequences upstream of ubiquitin coding sequences in the genome of a pestivirus, Journal of Virology, 72, 8697-8704.

Becher, P., Orlich, M. and Thiel, H. J., 2001, RNA recombination between persisting pestivirus and a vaccine strain: generation of cytopathogenic virus and induction of lethal disease, Journal of Virology, 75, 6256-6264.

Bielefeldt, O. H., 1983, Pathogenesis of bovine viral diarhoea-mucosal disease: distiribution and significance of BVDV antigen in diseased calves, Research in Veterinary Science, 34, 5-10.

Binkhorst, G. J., Journee, D. L. H., Wouda, W., Straver, P. J., Vos, J. H., 1983, Neurological disorders, virus persistence and hypomyelination in calves due to

intra-uterine infections with bovine virus diarrhoea virus, Veterinary Quarterly, 5,145-155.

Björkman, C., Alenius, S., Emanuelsson, U., Uggla, A., 2000, Neospora caninum and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion, The Veterinary Journal, 159, 201–206.

Blowey, R. G., Weaver, D. A., 2003, Color Atlas of Diseases and Disorders of Cattle, *Mosby Elsevier Health Sciences*, 2nd ed., USA, p. 192.

Bolin, S. R., Matthews, P. J. and Ridpath, J. F., 1991, Methods for detection and frequency of contamination of fetal calf serum with bovine viral diarrhea virus and antibodies against bovine viral diarrhea virus, Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 3, 199-203.

Bolin, S.R. and Grooms, D. L., 2004, Origination and consequences of bovine viral diarrhea virus diversity, Veterinary Clinics of North America**:** Food Animal Practice, 20, 51-68.

Brewoo, J. N., Haase, C. J., Sharp, P., Schultz, R. D., 2007, Leukocyte profile of cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus, Veterinary Immunology and Immunopathology, 115, 3-4, 369-374.

Brock, K. V., 2003, The persistence of bovine viral diarrhea virus, Biologicals, 31, 133-135.

Brock, K. V., 2004, Strategies for the control and prevention of bovine viral diarrhea virus, Veterinary Clinics of North America**:** Food Animal Practice, 20, 171-180.

Brodersen, B. W., 2004, Immunohistochemistry used as a screening method for persistent bovine viral diarrhea virus infection, Veterinary Clinics of North America**:** Food Animal Practice, 20, 85-93.

Brown, G. B., Bolin, S. R., Frank, D. E., Roth, J. A., 1991, Defective function of leukocytes from cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus, and the influence of recombinant cytokines, American Journal of Veterinary Research, 52, 3, 381-387.

Brown, T. T., De Lahunte, A., Scott, F. W., Kahrs, R. F., McEntee, K., Gillespie, J. H., 1973, Virus induced congenital anomalies of the bovine fetus. II. Histopathology of cerebellar degeneration (hypoplasia) induced by the virus of bovine viral diarrhea-mucosal disease, Cornell Veterinary Medicine, 63, 4, 561-578.

Brownlie, J., 1990, Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhoea virus, Veterinary Microbiology, 23, 371-82.

Brownlie, J., 1990, Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhoea virus, Veterinary Microbiology, 23, 1-4, 71-82.

Brownlie, J., Clarke, M. C. and Howard, C. J., 1984, Experimental production of fatal mucosal disease in cattle, Veterinary Record, 114, 535-536.

Brownlie, J., Clarke, M. C., Howard, C. J. and Pocock, D. H., 1987, Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle, Annales de Recherches Veterinaires, 18, 157-166.

Brownlie, J., Hooper, L. B., Thompson, I., Collins, M. E., 1998, Maternal recognition of foetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV)-the bovine pestivirus, Clinical and Diagnostic Virology,10, 2-3, 141-150.

Bruschke, C. J., Haghparast, A., Hoek, A., Rutten, V. P., Wentink, G. H., van Rijn, P. A. and van Oirschot, J. T., 1998, The immune response of cattle, persistently infected with noncytopathic BVDV, after superinfection with antigenically semi-homologous cytopathic BVDV, Veterinary Immunology and Immunopathology, 62, 37-50.

Bulut, O., Yavru, S., Yapkıç, O., Kale, M., Avcı, O., Hasırcıoğlu, S., 2006, Sütçü sığırların bovine herpesvirus 1 (BHV-1) ve bovine viral diarrhoea virus (BVDV) enfeksiyonları yönünden elisa ile araştırılması, Hayvancılık Araştırma Dergisi, 16, 2, 18-24.

Burgu, İ., Alkan, F., Özkul, A., Yeşilbağ, K., Karaoğlu, T., Güngör, B., 2003, Türkiye'de süt sığırcılığı işletmelerinde bovine viral diarrhea virus (BVDV) enfeksiyonunun epidemiyolojisi ve kontrolü, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 50, 127-133.

Canal, C. W., Strasser, M., Hertig, C., Masuda, A., Peterhans, E., 1998, Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil, Preventive Veterinary Medicine, 63, 85-97.

Childs, T., 1946, X disease of cattle in Saskatchewan, Canadian Journal of Comparative Medicine, 10, 316-319.

Corapi, W. V., Elliott, R. D., French, T. W., Arthur, D. G., Bezek, D. M. and Dubovi, E. J., 1990, Thrombocytopenia and hemorrhages in veal calves infected with bovine viral diarrhea virus, Journal of the American Veterinary Medical Association, 196, 590-596.

Coria, M. F. and McClurkin, A. W., 1978, Duration of active and colostrum-deprived passive antibodies to bovine viral diarrhea virus in calves, Canadian Journal of Comparative Medicine, 42, 239-249.

Cortese, V. S., Grooms, D. L., Ellis, J., Bolin, S. R., Ridpath, J. F. and Brock, K. V., 1998, Protection of pregnant cattle and their fetuses against infection with bovine viral diarrhea virus type 1 by use of a modified-live virus vaccine, American Journal of Veterinary Research, 59, 1409-1413.

Çabalar, M., Karaoğlu, T., 1999, Sığırlarda bovine viral diarrhea (BVD) virus enfeksiyonuna karşı antikor varlığının araştırılmasında nötralizasyon, immunperoksidaz (NPLA) ve serum nötralizasyon (SN) testlerinin karşılaştırılması, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 46, 249-55.

De Verdier Klingenberg, K., Vagsholm, I. and Alenius, S., 1999, Incidence of diarrhea among calves after strict closure and eradication of bovine viral diarrhea virus

infection in a dairy herd, Journal of the American Veterinary Medical Association, 214, 1824-1828.

Done, J. T., Terlecki, S., Richardson, C., Harkness, J. W., Sands, J. J., Patterson, D. S., Sweasey, D., Shaw, I. G., Winkler, C. E., Duffell, S. J., 1980, Bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus: pathogenicity for the fetal calf following maternal infection, Veterinary Record, 106, 23, 473-479.

Dubovi, E. J., 1994, Bovine viral diarrhea virus and border disease virus. Encyclopedia of virology, Vol. 1, Webster R. G, Granoff A. (eds.), *Academic Press*, London, p. 175–181.

Duffell, S. J., Harkness, J. W., 1985, Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle, Veterinary Record, 117, 10, 240-245.

Duman, R., Yavru, S., Kale, M., Avcı, O., 2009, Seroprevalence of viral upper respiratory infections in dairy cattle, Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15, 4, 539-542.

Duong, M. C., Alenius, S., Huong, L. T. T., Bjorkman, C., 2008, Prevalence of Neospora caninum and bovine viral diarrhoea virus in dairy cows in Southern Vietnam, The Veterinary Journal, 175, 390-394.

Evermann, J. F. and Barrington, G. M., 2005, Clinical features. Bovine viral diarrhea virus:diagnosis, management, and control, Goyal S.M. and Ridpath J. (eds.), *Blackwell Publishing*, Ames, Iowa, USA. 105-119. pp.

Falcone, E., Tollis, M. and Conti, G., 1999, Bovine viral diarrhea disease associated with a contaminated vaccine, Vaccine, 18, 387-388.

Fernandez, A., Hewicker, M., Trautwein, G., Pohlenz, J., Liess, B., 1989, Viral antigen distribution in the central nervous system of cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus, Veterinary Pathology, 26, 1, 26-32.

Flores, E. F., Ridpath, J. F., Weiblen, R., Vogel, F. S. and Gil, L. H., 2002, Phylogenetic analysis of Brazilian bovine viral diarrhea virus type 2 (BVDV-2) isolates: evidence for a subgenotype within BVDV-2, Virus Research, 87, 51-60.

Fredriksen, B., Sandvik, T., Loken, T. and Odegaard, S.A., 1999, Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus, Veterinary Record, 144, 111-114.

Frey, H. R., Eicken, K., Grummer, B., Kenklies, S., Oguzoglu, T.C. and Moennig, V., 2002, Foetal protection against bovine virus diarrhoea virus after two-step vaccination, Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health, 49, 489-493.

Fulton, R. W., 2005, Vaccines. Bovine viral diarrhea virus: diagnosis, management, and control, Goyal S. M. and Ridpath J. (eds.), *Blackwell Publishing*, Ames, Iowa, USA, 209-222.

Fulton, R. W., Step, D. L., Ridpath, J. F., Saliki, J. T., Confer, A. W., Johnson, B. J., Briggs, R. E., Hawley, R. V., Burge, L. J. and Payton, M. E., 2003b, Response of calves persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhea virus (BVDV) subtype 1b after vaccination with heterologous BVDV strains in modified live virus vaccines and Mannheimia haemolytica bacterin-toxoid, Vaccine, 21, 2980-2985.

Gaede, W., Gehrmann, B., Kenklies, S., Mewes, L., Pollandt, G., Krippner, S. and Ewert, B., 2004, Eradication program for BVDV in Saxony-Anhalt (Germany). Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias Supl. 127, pp. 42-43.

Givens, M. D. and Waldrop, J. G., 2004, Bovine viral diarrhea virus in embryo and semen production systems, Veterinary Clinics of North America**:** Food Animal Practice, 20, 21-38.

Graham, D. A., Calvert, V., Mooney, J., Crawford, J. and Clery, D., 2004, Birth of persistently infected calves in two herds using inactivated vaccines, *Revista Portuguesa de* Ciências Veterinárias Supl. 127, p. 38.

Graham, D. A., German, A., Mawhinney, K. and Goodall, E. A., 2003, Antibody responses of naive cattle to two inactivated bovine viral diarrhoea virus vaccines, measured by indirect and blocking ELISAS and virus neutralisation, Veterinary Record, 152, 795-800.

Graham, D. A., German, A., McLaren, I. E. and Fitzpatrick, D. A., 2001, Testing of bulk tank milk from Northern Ireland dairy herds for viral RNA and antibody to bovine viral diarrhoea virus, Veterinary Record, 149, 261-265.

Greiser-Wilke, I., Grummer, B. and Moennig, V., 2003, Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europe, Biologicals, 31, 113-118.

Grooms, D. L., 2004, Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus, Veterinary Clinics of North America**:** Food Animal Practice, 20, 5-19.

Guarino, H., Núñez, A., Repiso, M. V., Gil, A., Dargatz, D. A., 2008, Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhea virus in beef cattle in Uruguay, Preventive Veterinary Medicine, 85, 34–40.

Hamers, C., Lecomte, C., Kulcsar, G., Lambot, M. and Pastoret, P. P., 1998, Persistently infected cattle stabilise bovine viral diarrhea virus leading to herd specific strains, Veterinary Microbiology, 61, 177-182.

Hamers, C., Dehan, P., Couvreur, B., Letellier, C., Kerkhofs, P. and Pastoret, P. P., 2001, Diversity among bovine pestiviruses, The Veterinary Journal, 161, 112-122.

Hashemi Tabar, G. R., Haghparast, A. and Naseri, Z., 2010, Prevalence of bovine viral diarrhea virus antibodies and antigen among the aborted dairy cows in industrial dairy cattle herds in Mashhad Area-Iran, World Applied Sciences Journal, 8, 5, 635-640.

Heinz, F. X., Collett, M. S., Purcell, R. H., Gould, E. A., Howard, C. R., Houghton, M., Moormann, R. J. M., Rice, C. M. and Thiel, H.-J., 2000, Family flaviviridae. Virus taxonomy: seventh report of the international committee on taxonomy of viruses, van Regenmortel C.M.F.M.H.V., Bishop D.H.L., Carstens E.B., Estes M.K., Lemon S.M., Maniloff J., Mayo M.A., McGeoch D.J., Pringle C.R. and Wickner R.B. (eds.), *Academic Press*, San Diego, CA.

Hirsh, D. C., Zee, C. Y., 1999, Veterinary microbiology. *Blackwell Publishing*, 9th edition, London, 479.

Houe, H. and Meyling, A., 1991, Prevalence of bovine virus diarrhea (BVD) in 19 Danish dairy herds and estimation of incidence in early pregnancy, Preventive Veterinary Medicine, 11, 9–16.

Houe, H., 1992, Age distribution of animals persistently infected with bovine virus diarrhea virus in twenty-two Danish dairy herds, Canadian Journal of Veterinary Research, 56, 194-198.

Houe, H., 1999, Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhea virus (BVDV) infections, Veterinary Microbiology, 64, 89–107.

Houe, H., 2005. Risk assessment. Bovine viral diarrhea virus: diagnosis, management, and control, Goyal S.M and Ridpath J (eds.), *Blackwell Publishing*, Ames, Iowa, USA.

Howard, C. J., 1990, Immunological responses to bovine virus diarrhoea virus infections, Revue scientifique et technique, 9, 1, 95-103.

Hult, L. and Lindberg, A., 2005, Experiences from BVDV control in Sweden, Preventive Veterinary Medicine, 72, 143-148.

Joly, A., Fourichon, C., Beaudeau, F., 2005, Description and first results of a BVDV control scheme in Brittany (Western France), Preventive Veterinary Medicine, 72, 209-213.

Kahrs, R. F., 2001, Viral Diseases of Cattle, *Iowa State University Press*, 2nd ed., Ames, 120-121.

Kale, M., Ata, A., Yavru, S., Yapkıc, O., Bulut, O., Gulay, M. S., 2006, The effect of infection with Bovine Viral Diarrhea Virus on the fertility of cows and heifers, Acta Veterinaria (Beograd), 56, 467-477.

Kale, M., Yavru, S., Ata, A., Kocamüftüoğlu, M., Yapıcı, O., Hasırcıoğlu, S., 2011, Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Infection in Relation to Fertility in Heifers, The Journal of Veterinary Medical Science, 73,3.

Kampa, J., Ståhl, K., Moreno-Lopez, J., Chanlun, A., Aiumlamai, S. and Alenius, S., 2004, BVDV and BHV-1 infections in dairy herds in northern and northeastern Thailand, Acta Veterinaria Scandinavica, 45, 181-192.

Kayacan, G., 2008, Konya ve çevresinde bulunan süt sığırcılığı işletmelerindeki hayvanlara ait kan ve süt serumlarında bovine viral diarrhea virus (BVDV)'una

karşı oluşan antikorların elisa ile araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 1-44.

Kelling, C.L., 2004, Evolution of bovine viral diarrhea virus vaccines, Veterinary Clinics of North America**:** Food Animal Practice, 20, 115-129.

Kummerer, B. M., Tautz, N., Becher, P., Thiel, H. and Meyers, G., 2000, The genetic basis for cytopathogenicity of pestiviruses, Veterinary Microbiology, 77, 117-128.

Laamanen, U. I., Neuvonen, E. P., Yliviuhkola, E. M., Veijalainen, P. M., 1997, Comparison of RT-PCR assay and virus isolation in cell cultures for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in field samples, Research in Veterinary Science, 63, 3, 199-203.

Letellier, C. and Kerkhofs, P., 2003, Real-time PCR for simultaneous detection and genotyping of bovine viral diarrhea virus, Journal of Virological Methods, 114, 21-27.

Liess, B., Frey, H. R, Orban, S., Trautwein, G., 1987, Impact of intrauterin bovine viral diarrhoea (BVD) virus infection in cattle, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 34, 3, 555-561.

Lindberg, A. and Houe, H., 2005, Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhea virus (BVDV) of relevance to control, Preventive Veterinary Medicine, 72, 55-73.

Lindberg, A. L. and Alenius, S., 1999, Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations, Veterinary Microbiology, 64, 197-222.

Mainar-Jaime, R. C., Berzal-Herranz, B., Arias, P., Rojo-Vazquez, F. A., 2001, Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine-viral diarhoea virus (BVDV) infection in a nonvaccinated dairy cattle population from the Asturias region of Spain, Preventive Veterinary Medicine, 52, 63-73.

McClurkin, A. W., Coria, M. F. and Cutlip, R. C., 1979, Reproductive performance of apparently healthy cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus, Journal of the American Veterinary Medical Association, 174, 1116-9.

McClurkin, A. W., Littledike, E. T., Cutlip, R. C., Frank, G. H., Coria, M. F., Bolin, S. R., 1984, Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhea virus, Canadian Journal of Comparative Medicine, 48, 156-161.

McGoldrick, A., Bensaude, E., Ibata, G., Sharp, G. and Paton, D. J., 1999, Closed one-tube reverse transcription nested polymerase chain reaction for the detection of pestiviral RNA with fluorescent probes, Journal of Virological Methods, 79, 85-95.

Meyers, G. and Thiel, H. J., 1996, Molecular characterization of pestiviruses, Advances in Virus Research, 47, 53-118.

Milli, Ü. H., Hazıroğlu, R., 2000, Veteriner Patoloji, Cilt 1, İkinci Baskı, *Özkan Matbaacılık*, Ankara, 15-18.

Mockeliūnienė, V., Šalomskas, A., Mockeliūnas, R., Petkevičius, S., 2004, Prevalence and epidemiological features of bovine viral diarrhoea virus infection in Lithuania, Veterinary Microbiology, 99, 51-57.

Moen, A., Sol, J. and Sampimon, O., 2005, Indication of transmission of BVDV in the absence of persistently infected (PI) animals, Preventive Veterinary Medicine, 72, 93-98.

Moennig, V. and Liess, B., 1995, Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhea virus, Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice, 11, 477-487.

Moennig, V., Eicken, K., Flebbe, U., Frey, H. R., Grummer, B., Haas, L., Greiser-Wilke, I. and Liess, B., 2005, Implementation of two-step vaccination in the control of bovine viral diarrhoea (BVD), Preventive Veterinary Medicine, 72, 109-114.

Moerman, A., Straver, P. J., de Jong, M. C., Quak, J., Baanvinger, T. and van Oirschot, J. T., 1993, A long term epidemiological study of bovine viral diarrhoea infections in a large herd of dairy cattle, Veterinary Record, 132, 622-626.

Munoz-Zanzi, C. A., Hietala, S. K., Thurmond, M. C. and Johnson, W. O., 2003, Quantification, risk factors, and health impact of natural congenital infection with bovine viral diarrhea virus in dairy calves, American Journal of Veterinary Research, 64, 358-365.

Nagai, M., Hayashi, M., Sugita, S., Sakoda, Y., Mori, M., Murakami, T., Ozawa, T., Yamada, N. and Akashi, H., 2004, Phylogenetic analysis of bovine viral diarrhea viruses using five different genetic regions, Virus Research, 99, 103-113.

Nettleton, P. F., Entrican, G., 1995, Ruminant pestiviruses, British Veterinary Journal, 151, 615–642.

Niemi, S. M., Evermann, J. F., Huffman, E. M., Kirk, J. H., 1982, Border disease virus isolation from postpartum ewes, American Journal of Veterinary Research, 43, 1, 86-88.

Niskanen, R., Lindberg, A. and Traven, M., 2002, Failure to spread bovine virus diarrhoea virus infection from primarily infected calves despite concurrent infection with bovine coronavirus, The Veterinary Journal, 163, 251-259.

Nyberg, O., Østerås, O. and Plym-Forshell, K., 2004, Eradication of BVDV-infections in Norwegian cattle 1992-2003- a success story, Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias Supl. 127, pp.14-15.

Obando, R. C., Hidalgo, M., Merza, M., Montoya, A., Klingeborn, B., Moreno-Lopez, J., 1999, Seroprevalence to bovine virus diarheoea virus and other viruses of the bovine respiratory complex in Venezuela (Apure State), Preventive Veterinary Medicine, 41, 271-278.

Odeón, A. C., Kelling, C. L., Marshall, D. J., Estela, E. S., Dubovi, E. J., Donis, R. O., 1999, Experimental infection of calves with bovine viral diarrhea virus genotype II (NY-93), Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 11, 3, 221-228.

Okur-Gümüşova, S, Yazıcı, Z., Albayrak, H., Cakiroglu, D., 2007, Seroprevalence of bovine respiratory diseases, Acta Veterinaria (Beograd), 57, 11-16.

Olafson, P., Maccallum, A. D. and Fox, F. H., 1946, An apparently new transmissible disease of cattle, Cornell Veterinarian, 36, 205-213.

O'Rourke, K., 2002, BVDV: 40 years of effort and the disease still has a firm hold, Journal of the American Veterinary Medical Association, 220, 1770-1773.

Patel, J. R., Shilleto, R. W., Williams, J. and Alexander, D. C., 2002, Prevention of transplacental infection of bovine foetus by bovine viral diarrhoea virus through vaccination, Archives of Virology, 147, 2453-2463.

Paton, D. J., Carlsson, U., Lowings, J. P., Sands, J. J., Vilcek, S. and Alenius, S., 1995a, Identification of herd-specific bovine viral diarrhoea virus isolates from infected cattle and sheep,Veterinary Microbiology, 43, 283-294.

Paton, D. J., Sands, J. J., Lowings, J. P., Smith, J. E., Ibata, G. and Edwards, S., 1995b, A proposed division of the pestivirus genus using monoclonal antibodies, supported by cross-neutralisation assays and genetic sequencing, Veterinary Research, 26, 92-109.

Paton, D.J., Christiansen, K. H., Alenius, S., Cranwell, M. P., Pritchard, G. C. and Drew, T. W., 1998, Prevalence of antibodies to bovine virus diarrhoea virus and other viruses in bulk tank milk in England and Wales, Veterinary Record, 142, 385-391.

Pellerin, C., van den Hurk, J., Lecomte, J. and Tussen, P., 1994, Identification of a new group of bovine viral diarrhea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities, Virology, 203, 260-268.

Perler, L., Schweizer, M., Jungi, T. W. and Peterhans, E., 2000., Bovine viral diarrhoea virus and bovine herpesvirus-1 prime uninfected macrophages for lipopolysaccharide-triggered apoptosis by interferon-dependent and -independent pathways. Journal of General Virology, 81, 881-887.

Pizarro-Lucero, J., Celedon, M. O., Navarro, C., Ortega, R. and Gonzalez, D., 2005, Identification of a pestivirus isolated from a free-ranging pudu (Pudu puda) in Chile, Veterinary Record, 157, 292-294.

Ribeiro-Niza, J., Pereira, A., Souza, J., Maderia, H., Barbosa, A., Afonso, C., 2005, Estimated BVDV prevalence, -contact and- vaccine use in dairy herds in Northern Portugal, Preventive Veterinary Medicine, 72, 81-85.

Ridpath, J. F., 2005b, Practical significance of heterogeneity among BVDV strains: impact of biotype and genotype on U.S. control programs, Preventive Veterinary Medicine, 72, 17-30.

Ridpath, J. F., Bolin, S. R. and Dubovi, E. J., 1994, Segregation of bovine viral diarrhea virus into genotypes, Virology, 205, 66-74.

Ridpath, J. F., Neill, J. D., Frey, M. and Landgraf, J. G., 2000, Phylogenetic, antigenic and clinical characterization of type 2 BVDV from North America, Veterinary Microbiology, 77, 145-155.

Ridpath, J., 2005a., Classification and molecular biology. Bovine viral diarrhea virus: diagnosis, management, and control, Goyal S.M. and Ridpath J. (eds.), *Blackwell Publishing*, Ames, Iowa, USA.

Rikula, U., Nuotio, L., Aaltonen, T. and Ruoho, O., 2005, Bovine viral diarrhoea virus control in Finland 1998-2004, Preventive Veterinary Medicine, 72, 139-142.

Roeder, P. L., Harkness, J. W., 1986, BVD virus infection: Prospects of control, Veterinary Record, 118, 44-48.

Sandvik, T., 1999, Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle, Veterinary Microbiology, 64, 2-3, 123-134.

Sandvik, T., 2004, Progress of control and prevention programs for bovine viral diarrhea virus in Europe, Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 20, 151-169.

Sandvik, T., 2005, Selection and use of laboratory diagnostic assays in BVD control programmes, Preventive Veterinary Medicine, 72, 3-16.

Schirrmeier, H., Strebelow, G., Depner, K., Hoffmann, B. and Beer, M., 2004, Genetic and antigenic characterization of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus species, Journal of General Virology, 85, 3647-3652.

Schweizer, M. and Peterhans, E., 1999, Oxidative stress in cells infected with bovine viral diarrhoea virus: a crucial step in the induction of apoptosis, Journal of General Virology, 80, 5, 1147-1155.

Schweizer, M. and Peterhans, E., 2001, Noncytopathic bovine viral diarrhea virus inhibits double-stranded RNA-induced apoptosis and interferon synthesis, Journal of Virology, 75, 4692-4698.

Smith, B., 1996, Bovine Virus Diarrhea-Mucosal Disease: Large Animal Internal Medicine, *Mosby Publications*, 806-814.

Ståhl, K., 2006, Bovine Viral Diarrhoea Virus and Other Reproductive Pathogens-Epidemiological Studies in Peruvian Cattle, Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, 1-44.

Stahl, K., Rivera, H., Vagsholm, I., Moreno-Lopez, J., 2002, Bulk milk of testing for antibody seroprevalences to BVDV and BHV-1 in a rural region of Peru, Preventive Veterinary Medicine, 56, 193–202.

Straver, P. J., Journee, D. L. H., Binkhorst, G. J., 1983, Neurological disorders, virus persistence and hypomyelination in calves due to intrauterine infections with

bovine virus diarrhoea virus II. Virology and epizootiology, Veterinary. Quarterly, 5, 156-164.

Şimşek, A. ve Öztürk, F., 1997, Klinik olarak sağlıklı sığır sürülerinde persiste bovine viral diarrhea virus enfeksiyonlarının araştırılması ve epizootiyolojik önemi, Veteriner Bilimleri Dergisi, 13, 2, 113–119.

Talafha, A. Q., Hirche, S. M., Ababneh, M. M., Al-Majali, A. M., Ababneh, M. M., 2009, Prevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhea virus infection in dairy herds in Jordan, Trop Anim Health Prod., 41, 499–506.

Tan, T. M., Karaoğlu, T., Erol, N., Yıldırım, Y., 2006, Serological and virological investigations of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle herds in Aydın province, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 30, 299-304.

Toplak, I., Sandvik, T., Barlic-Maganja, D., Grom, J. and Paton, D. J., 2004, Genetic typing of bovine viral diarrhoea virus: most Slovenian isolates are of genotypes 1d and 1f, Veterinary Microbiology, 99, 175-185.

Van Campen, H., Vorpahl, P., Huzurbazar, S., Edwards, J. and Cavender, J., 2000, A case report: evidence for type 2 bovine viral diarrhea virus (BVDV)-associated disease in beef herds vaccinated with a modified-live type 1 BVDV vaccine, Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 12, 263-265.

van Oirschot, J. T., Bruschke, C. J. and van Rijn, P. A., 1999, Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea, Veterinary Microbiology, 64, 169-183.

Vilcek, S., Alenius, S., Paton, D. J., Mittelholzer, C. and Belak, S., 1999, Genetic clustering of bovine viral diarrhoea viruses in cattle farms: genetic identification and analysis of viruses directly from cattle sera, The Veterinary Journal, 158, 33-38.

Vilcek, S., Durkovic, B., Kolesarova, M., Greiser-Wilke, I. and Paton, D., 2004, Genetic diversity of international bovine viral diarrhoea virus (BVDV) isolates: identification of a new BVDV-1 genetic group, Veterinary Research, 35, 609-615.

Vilcek, S., Paton, D. J., Durkovic, B., Strojny, L., Ibata, G., Moussa, A., Loitsch, A., Rossmanith, W., Vega, S., Scicluna, M. T. and Paifi, V., 2001, Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups, Archives of Virology, 146, 99-115.

Vilcek, S., Paton, D. J., Rowe, L. W. and Anderson, E. C., 2000, Typing of pestiviruses from eland in Zimbabwe, Journal of Wildlife Diseases, 36, 165-168.

Vilcek, S., Ridpath, J. F., Van Campen, H., Cavender, J. L. and Warg, J., 2005, Characterization of a novel pestivirus originating from a pronghorn antelope, Virus Research,108, 187-93.

Viltrop, A., Alaots, J., Parn, M. and Must, K., 2002, Natural changes in the spread of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) among Estonian cattle, Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health, 49, 263-269.

Yapkıç, O. ve Yavru, S., 2001, Gebe sığırlarda ve bunların buzağılarında persiste bovine viral diarrhea virus (BVDV) enfeksiyonunun immunfloresans ve immunperoksidaz testleri ile araştırılması, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17, 3, 21–30.

Yavru, S., Sımsek, A., Yapkıc, O. And Kale, M., 2005, Serological evaluation of viral infections in bovine respiratory tract, Acta Veterinaria (Beograd), 55, 2-3, 219-226.

Yeşilbağ, K., Güngör, B., 2008, Seroprevalence of bovine respiratory viruses in North-Western Turkey, Tropical Animal Health and Production., 40, 1, 55-60.

Yıldırım, Y., Burgu, İ., 2005, Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki sığırlarda mavidil (BT), IBR, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 52,113-117.

Zimmer, G. M., Van Maanen, C., De Goey, I., Brinkhof, J. andWentink, G. H., 2004, The effect of maternal antibodies on the detection of bovine virus diarrhoea virus in peripheral blood samples, Veterinary Microbiology, 100, 145-149.

Zimmer, G. M., Wentink, G. H., Bruschke, C., Westenbrink, F. J., Brinkhof, J. and de Goey, I., 2002, Failure of foetal protection after vaccination against an experimental infection with bovine virus diarrhea virus, Veterinary Microbiology, 89, 255-265.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	**:**	Erol ÖZER
Uyruğu	**:**	T.C
Doğum Yeri ve Tarihi	**:**	KONYA / 1967
Telefon	**:**	0.332.2233316
Faks	**:**	
e-mail	**:**	eozer@selcuk.edu.tr

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	**Gazi Lisesi / Meram / KONYA**	**1985**
Üniversite	:	**S.Ü.Fen Edy.Fak.Biyoloji Böl./Selçuklu / KONYA**	**1996**
Yüksek Lisans	:	**S.Ü.Vet.Fak.Zootekni ABD. /Selçuklu / KONYA**	**2006**
Doktora	:	**S.Ü.Fen Fak.Biyoloji ABD. /Selçuklu / KONYA**	**2011**

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	**Kurum**	**Görevi**
2003	**S.Ü.Rektörlüğü**	**Şube Müdürü**

UZMANLIK ALANI: Öğretim Görevlisi

YABANCI DİLLER: İngilizce