T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONYA VE ÇEVRESİNDE BULUNAN SÜT SIĞIRCILIĞI İŞLETMELERİNDEKİ HAYVANLARA AİT KAN VE SÜT SERUMLARINDA BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV)'UNA KARŞI OLUŞAN ANTİKORLARIN ELISA İLE ARAŞTIRILMASI

Gülcan KAYACAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VİROLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Orhan YAPICI

KONYA – 2008

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONYA VE ÇEVRESİNDE BULUNAN SÜT SIĞIRCILIĞI İŞLETMELERİNDEKİ HAYVANLARA AİT KAN VE SÜT SERUMLARINDA BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV)'UNA KARŞI OLUŞAN ANTİKORLARIN ELISA İLE ARAŞTIRILMASI

Gülcan KAYACAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VİROLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Orhan YAPICI

Bu proje Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 07202023 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA – 2008

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca her türlü desteğini hissettiren sayın hocam Prof. Dr. Sibel YAVRU'ya sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans tezimin danışmanlığını üstlenen ve tezin her aşamasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Orhan Yapıcı'ya, numune sağlamamda yardımcı olan sayın hocam Doç. Dr. Nurettin Gülşen'e, Viroloji Anabilim Dalında bulunan tüm hocalarıma ve laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Oğuzhan Avcı ve Araş. Gör. Ela Esin'e çok teşekkür ederim.

Bu araştırmayı destekleyen S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne ve S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Öğrenci İşleri Şefi Mefkure Kaya'ya teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Çalışmalarım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili babam Oktay Kayacan, sevgili annem Nergiz Kayacan, biricik ikizim Nurcan Kayacan'a, gösterdiği büyük sabır ve anlayıştan ötürü Araş .Gör. Seçkin Tuncer'e sonsuz teşekkür ederim.

Gülcan Kayacan

Eylül 2008

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
1.1. Etiyoloji	3
1.2. Epizootiyoloji	6
1.3. Patoloji ve Patogenez	7
1.4. Klinik	12
1.4.1. Akut BVDV	14
1.4.2. Kronik BVDV	15
1.4.3. Persiste Enfeksiyon ve Mukozal Disease	15
1.5. İmmunoloji	16
1.6. Teşhis	17
1.6.1. İndirekt Teşhis	18
1.6.2. Direkt Teşhis	19
1.7. Koruma ve Kontrol	20
2. GEREÇ VE YÖNTEM	22
2.1. Araştırmada Kullanılan Örneklerin Toplanması	22
2.1.1. Toplanan Kan Örneklerinin Test İçin Uygun Hale Getirilmesi	22
2.1.2. Toplanan Süt Örneklerinin Test İçin Uygun Hale Getirilmesi	22
2.1.2.1. Renin	23
2.2. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	24
2.2.1. Kan Serumlarının ELISA İle İşlenmesi	24
2.2.2. Süt Serumlarının ELISA İle İşlenmesi	25
3. BULGULAR	26
3.1. ELISA Sonuçları	26
4. TARTIŞMA	34
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	38
6. KAYNAKLAR	40
7. ÖZET	45
8. SUMMARY	46
9. ÖZGEÇMİŞ	47

SİMGELER VE KISALTMALAR

AGID	Agar Jel İmmundifüzyon
BDV	Border Disease Virus
BVDV	Bovine Viral Diarrhea Virus
BVD-MD	Bovine Viral Diarrhea-Mukozal Disease
CF	Komplement Fikzasyon
CN	Para-κ-kazein
CSFV	Classical Swine Fever Virusu
Cp	Sitopatojen
$DKID_{50}$/ml	Doku Kültürü Enfektif Doz
EBL	Sığır Löykozu
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GCG	Genetic Computer Group
Gp	Glikoprotein
IBR	Infeksiyöz Bovine Rhinotracheitis
IF	İmmunfloresan
IIF	İndirekt İmmunfloresan
IP	Immunperoksidaz
Kb	Kilo baz
MD	Mukozal Disease
NADL	National Animal Disease Laboratory
Ncp	Non-sitopatojen
NK	Negatif Kontrol
NLPA	Neutralisaiton Peroksidase Linked Assay
OD	Optikal Dansite

p	Protein
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PI	Persiste Enfekte
PK	Pozitif Kontrol
PLA	Peroxidase Linked Assay
RNA	Ribonükleikasit
S	Serum
SN	Serum Nötralizasyon
VNT	Virus Nötralizasyon Testi

1. GİRİŞ

Bovine Viral Diarrhea-Mukozal Disease (BVD-MD), klinik ve patolojik açıdan reproduktif bozukluklar, konjenital anomaliler, abort, persiste enfekte buzağı doğumları, erken embriyo ölümleri ve mumifikasyon gibi varyasyonlara sahip dünya üzerindeki sığır endüstrisinde büyük kayıplara neden olan multisistematik viral bir enfeksiyondur (Bolin 1990, Evermann ve Ridpath 2002, Stokstad ve ark 2004).

BVD enfeksiyonu, ilk olarak 1946 yılında Amerika'nın New York eyaletinde tespit edilmiştir (Smith 1996). BVDV, Flaviviridae familyasının içinde yer alan flavivirus, hepacivirus ve pestivirus gruplarından pestivirus grubunda yer alan bir etkendir. BVDV için sığırlar birincil rezervuarlardır ancak bütün hayvanları enfekte edebilir. BVDV tüm dünya için ekonomik yönden büyük kayıplara neden olan önemli bir patojendir (Van Regenmortel ve ark 2000).

BVDV'nin sitopatik (cp) ve non-sitopatik (ncp) olmak üzere iki adet biyotipi vardır (Zhang ve ark 1996, Gil ve Esteban 2000, Jordan ve ark 2002, Yamane ve ark 2005). Sitopatojen BVDV, hücre kültürlerinde hücrelerin yuvarlaklaşması, vakuolizasyon, hücrelerin dökülmesi ve hücre ölümü ile karakterizedir (Underdahl ve ark 1959, Gillespie ve ark 1960). BVDV, hücre kültürlerinde 2-3 gün içerisinde sitopatolojik etki (cpe) meydana getirir. BVD'nin ncp biyotipi ise hücre kültürlerinde hiçbir etki göstermez. Bunun aksine doğada BVDV'nin ncp biyotipine özellikle sığırlardan alınan dokular üzerinde sıklıkla rastlanırken, cp biyotipine ise nadir rastlanır (Lee ve Gillespie 1957).

BVDV ile enfekte sığırlarda genellikle üç form gözlenir (Passler ve ark 2007).

1) Konjenital persiste enfeksiyon
2) Mukosal Disease (MD)
3) Akut Bovine Viral Diarrhoea

BVD enfeksiyonunun konjenital persiste formu, sığırlarda genellikle ölümle sonuçlanır. Persiste enfeksiyon, gebeliğin 40-125. günleri arasında fötusun BVDV ile enfekte olması sonucu oluşur. İmmun sistemi henüz gelişmemiş olan fötus virusu yabancı olarak algılayamaz (Brownlie ver ark. 1987, Houe 1993). Bazı persiste enfekte (PI) buzağılar, çok sağlıklı görünürler ve yaşamları boyunca virusu eksret veya sekretleri ile saçarak yaşamlarını sürdürürler. Neonatal enfekte sığırlarda ise gelişme geriliği ve verim kaybı gözlemlenir (Gil ve Esteban 2000).

Mukozal Disease formunda ise yine konjenital persiste enfeksiyon formunun klinik belirtileri gözlemlenir ve BVDV'nin cp ve ncp suşlarının süper enfeksiyonu sonucu oluşur (Houe 1999).

Akut BVD enfeksiyonu, cp veya ncp BVDV tarafından oluşturulan postnatal bir enfeksiyondur (Passler ve ark 2007). Akut BVD enfeksiyonu, respiratorik, enterik veya reproduktif bir hastalıkla sonuçlanabilir. Bu enfeksiyon sonucu görülen klinik belirtiler, viral suşun virulensine, fiziksel veya çevresel stres faktörlerine ve diğer patojenlerle mix enfeksiyon oluşturabilmesine bağlı olarak değişmektedir. Sürülerin düşük virulense sahip bir BVD suşu ile enfekte oldukları düşünüldüğünde akut BVD enfeksiyonunun, dünyadaki yıllık insidensi %45 iken toplam yıllık kayıp bir milyon sığırda 20 milyon $ olarak hesaplanmaktadır. Enfeksiyonun yüksek virulense sahip bir suş ile oluştuğu düşünüldüğünde ise yıllık insidens %65 iken toplam yıllık kayıp bir milyon sığırda 57 milyon $'a ulaşmaktadır (Houe 1999).

Pritchard ve ark (1989), Norfolk'da BVDV'nin akut enfeksiyonu sonucu 183 ineğin 15 (%8) adedinin öldüğünü ve 20 (%11) adedinin ise sürüden ayırt edilerek öldürüldüğünü tespit etmişlerdir.

1.1 Etiyoloji

Flaviviridae familyasının pestiviruslar alt grubunda bulunan BVDV (Resim 1.1), pozitif polariteli, tek iplikçikli, 12.5 kb ağırlığında, 12,500 nükleotid uzunluğunda, ikozahedral simetrili kapside sahip bir RNA virusudur. BVDV'nin referens suşu NADL (National Animal Disease Laboratory)' dır.



Resim 1.1 BVDV (Peter Nettleton Moredun Research Institute 19.08.2008).

Etken 50 ve 120 nm arasında değişen çeşitli büyüklüklere sahiptir ve 5-7 nm kalınlıkta, tripsin, eter, kloroform gibi kimyasallardan, ısı veya pH değişimlerinden etkilenen bir zar içermektedir. Virionları 40-60 nm çapında üçü zar glikoproteini ve biri kapsid proteini olmak üzere dört adet yapısal proteine sahiptir (Kahrs 2001).

Viral genomu olan RNA yaşam döngüsü sırasında üç farklı göreve sahiptir. Birincisi tüm viral proteinlerin translasyonu için mRNA olarak görev alır. İkincisi RNA replikasyonu sırasında template olarak görev alır ve son olarak yeni virus partikülleri içerisine genetik materyali paketler. Dış ortamlara oldukça dayanıksız olan BVDV, 37°C'de 46 saatte ve 56°C'de 35 dakikada enfeksiyözitesini kaybeder (Kahrs 2001).

Pestivirusların enfeksiyon spektrumunda sığırların yanında koyunlar, keçiler, domuzlar ve yabani ruminantlar bulunmaktadır (Yamane ve ark 2005).

Border Disease Virusu ve Avrupa Domuz Vebası Virusu ile yakın antijenik ilişki içinde olan BVDV, bu iki tür virusla 1982 yılında uluslararası virus taksonomi komitesi ile pestiviruslar grubu altında toplanmışlardır (Chu ve ark 1983, Van Oirschot 1983, Chu ve Zee 1984). Etken, aynı zamanda insanlardaki rubella (kızamıkçık) virusu ile de morfolojik olarak oldukça benzer özelliklere sahiptir (Van Oırschot 1983).

BVDV'nin hücre kültüründe oluşturdukları etkilere göre sitopatik (cp) ve non-sitopatik (ncp) olmak üzere iki farklı biyotipi mevcuttur (Zhang ve ark 1996, Gil ve Esteban 2000, Jordan ve ark 2002, Yamane ve ark 2005).

BVDV enfeksiyonları daha çok ncp BVDV tarafından meydana getirilir ve hücre kültürlerinde hiçbir sitopatolojik etki göstermezler (Gil ve Esteban 2000). Fakat cp BVDV hücre kültürlerinde, hücre yuvarlaklaşması, vakuolizasyon, hücrelerin dökülmesi, çekirdek zarının hiperkromazisi, çekirdek piknozu ve hücre ölümü ile karakterizedir (Underdahl ve ark 1957, Gillespie ve ark 1960, Zhang ve ark 1996, Jordan ve ark 2002).

BVDV, sığır, koyun, keçi ve domuzlardan köken alan (Dubovi 1999, 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 çoğaltılmaktadır.

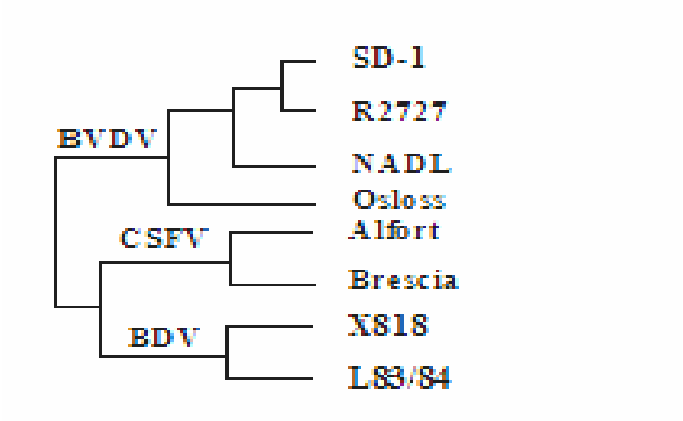
Polak ve Zmudzinski (1999), Polonya'daki suni tohumlama merkezlerindeki boğalardan aldıkları 219 adet tam kan örneğini, Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) devamlı hücre kültürüne ekerek virus izolasyonu için kullanmışlar ve 5 tanesinde (%2.3) BVDV'yi izole edebilmişlerdir.

BVD enfeksiyonu virusları son olarak Grup 1 ve Grup 2 olarak sınıflandırılmışlardır. Grup 1'de klasik BVD virusları bulunurken, Grup 2'de ise yüksek derecede patojen olan BVD virusları yer almaktadır. Pesitivirusların (Pestivirus Tip 1-4) dört grup altında sınıflandırılması gibi alternatif sınıflandırmalarda mevcuttur. Tip 1 ve 3; klasik BVDV, Tip 2; CSFV, Tip 4 ise pestivirus benzeri virusları ve patojen BVDV'yi kapsamaktadır (Hirsh ve Zee 1999).

Pestivirusların üzerinde bulunan temel proteinler, p20, gp25, gp48, gp62, p80 (NS3) ve p125'tir. Fakat bu proteinler, pestivirusların farklı cinslerinde değişiklik göstermektedir (Collett ve ark 1989).

BVDV'nin cp biyotipinin zarına ait bir incelemede gp53, p80 ve p125 proteinleri bulunurken, ncp biyotipinde yalnızca p125 bulunmaktadır (Brownlie 1990, Moening 1990, Dereght ve Loewen 1995). Bu durum neticesinde araştırıcılar, ncp BVDV'nin mutasyonu sonunda cp BVDV'nin oluştuğunu düşünmektedirler (Brownlie ve ark 1984).

BVDV, CSFV ve BDV arasında poliklonal serum kullanılarak yapılan testler ile antijenik yakınlık olduğu belirlenmiştir (Darbyshire 1960, Dinter 1963). Daha sonra çapraz nötralizasyon testleri ve monoklonal antikorlar kullanılarak bu üç pestivirus arasında antijenik benzerlikler tespit edilirken, aynı zamanda bu virusların suşları arasındaki farklılıklar da gösterilmiştir (Peters ve ark 1986, Cay ve ark 1989, Moenning ve Plagemenn 1992, Weiland ve ark 1992). Özellikle de Şekil 1.1'de gösterilen BVDV suşları arasındaki antijenik varyasyonlar oldukça dikkat çekmektedir (Pritchard ve ark 1989, Løken ve ark 1991, De Moerlooze 1993, Becher ve ark 1994).



Şekil 1.1 NADL, Osloss, R2727, SD-1, BVDV Suşları; Alfort ve Brescia CSFV Suşları; X818 ve L83/84 BDV Suşlarına ait E2 glikoproteinlerinin aminoasit sekanslarının dendiritik diyagramları (Pritchard ve ark 1989, Løken ve ark 1991, De Moerlooze 1993, Becher ve ark 1994) Diyagram, GCG (Genetic Computer Group) tarafından oluşturulmuştur.

1.2 Epizootiyoloji

BVDV'nin, enfeksiyon spektrumunda küçük ruminantlar ve sığırlar bulunmaktadır (Carlsson 1991, Løken ve ark 1991, Carlsson ve Belak 1994, Paton ve ark 1995, Houe 1999).

Løken (1995) Kuzey Norveç'te yaptığı bir araştırmada, serbest yaşayan ruminantlardan ren geyiğinin, sığır ve koyundan daha yüksek derecede BVD antikor pozitif olduğunu göstererek ren geyiğininde bir rezervuar olduğunu ispat etmiştir. BVDV, Terpstra ve Wensvoort (1988), tarafından domuzlardan da izole edilmiştir. Fakat bulaşmadaki önemi hakkında herhangi bir açıklığa kavuşulamamıştır.

BVD enfeksiyonunda virusun bulaşmasının ana kaynağı, PI buzağılardır (Duffell ve Harkness 1985, Brock ve ark 1991, Holland ve ark 1993, Houe 1999). PI buzağılarda klinik belirti gözlemlenmemesinden dolayı bu hayvanlar hayatları boyunca virusu eksret veya sekretleri yoluyla etrafa saçarak sürüdeki diğer hayvanlara bulaştırırlar (Houe 1999). Özellikle PI hayvan ile diğer hayvanların, veteriner hekimin veya bakıcının direkt teması sonucu, virus diğer hayvanlara kolaylıla bulaşabilir (Cook ve ark 1990, Traven ve ark 1991, Mcgowan ve ark 1993, Niskanen ve ark 1996, Houe 1999).

Akut enfekte hayvanlar ise virusu, yalnızca enfeksiyonu geçirdikleri sırada, çok küçük miktarlarda saçarlar (Brownlie ve ark 1987, Meyling ve ark 1990).

Virus, enfekte hayvanlara ait kan, nasal akıntı, gözyaşı, salya, gaita, süt, idrar, uterus akıntıları, plasenta gibi sekret veya eksretler yoluyla direkt olarak saçılabildiği gibi indirekt olarak yem, su, insanlar, nakil malzemeleri, embriyo transferi (Wentink ve ark 1991, Bak ve ark 1992, Brock ve ark 1997, Lang-Ree ve ark 1994), şırınga, rektal eldiven gibi çeşitli enfekte malzemeler (Gunn 1993, Lang Ree ve ark 1994), canlı BVDV aşıları (Loken ve ark 1991), kanla beslenen çeşitli sinek türleri (Tarry ve ark 1991) ile de saçılabilir. BVDV aynı zamanda, hem akut enfekte hem de PI boğaların semenlerinden de bulaşabilmektedir (Kirkland ve ark 1991).

BVDV'nin hava yolu ile bulaştığı henüz ispatlanmamış olsa da günümüzde hala tartışılmaktadır. Bazı araştırıcılar ise, BVDV'nin birkaç metreden hava yolu ile bulaşabileceğini rapor etmişlerdir (Bitsch ve Ronsholt 1995).

1.3 Patoloji ve Patogenez

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

MD, 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 oluşur (Brownlie 1990). Fötusun immun sistemi henüz gelişmemiş olduğundan ncp BVDV, vücut için yabancı bir madde olarak algılanmaz ve bunun sonucunda hayatları boyunca persiste enfekte 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 sebep olur (Milli ve ark 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).

İnkubasyon 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 Resim 1.2'de gösterilen interdigital bölgedeki eroziv lezyonlara ve laminitise bağlı olarak topallık şekillenir (Blowey ve Weaver 2003).



Resim 1.2 İnterdigital yarıklarda ve ayaklarda oluşan erozyonlar (Blowey ve Weaver 2003, Disease and Food Animals 2008)

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

BVD 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 ark 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).

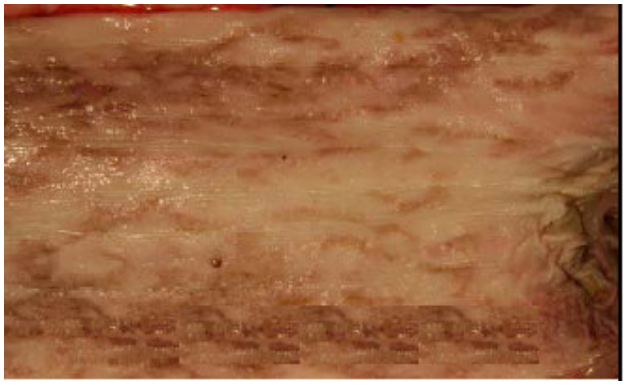
Viral persistens için virusun merkezi sinir sisteminde tercih ettiği bölgeler serebral korteks ve hippocampus'tur (Fernandez ve ark 1989, Brownlie ve ark 1998). Viral antijen, nöronlarda her zaman hazır durumdadır. Özellikle hippocampus ve serebral kortekse yerleşerek, beynin ve omuriliğin diğer bölgelerindeki 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 hastalıkta ise, ağız lezyonları (Resim 1.3) 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. Merme ve etrafında (Resim 1.3) erozyon ve ülserler şekillenir (Milli ve ark 2000).



Resim 1.3 Ağız, burun ve burun delikleri çevresinde erozyonlar, hiperemi ve hemorajik lezyonlar (Blowey ve Weaver 2003).

Özofagusta Resim 1.4'te gösterilen, uzunlamasına seyreden kirli, kahverengimsi erozyonlar karakteristiktir (Blowey ve Weaver 2003).



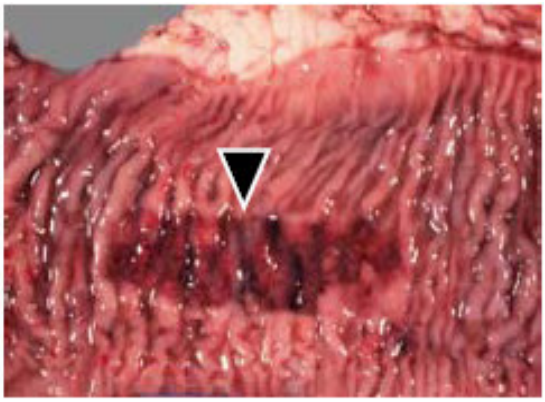
Resim 1.4 BVDV ile enfekte olmuş bir sığırda görülen özofajit (Disease and Food Animals 2008)

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 (Resim 1.5), Liberkühn bez epitellerinin yıkımlanmasıdır. Kriptlerde dilatasyon vardır. Peyer plaklarının lenfoid foliküllerinde nekroz ve BVDV'ye bağlı ülserleşme (Resim 1.6) görülür. (Blowey ve Weaver 2003)



Resim 1.5 İnce bağırsakta oluşan erozyonlar (Blowey ve Weaver 2003).



Resim 1.6 Peyer plaklarında BVDV'ye bağlı ülserleşme (Disease and Food Animals, 2008)

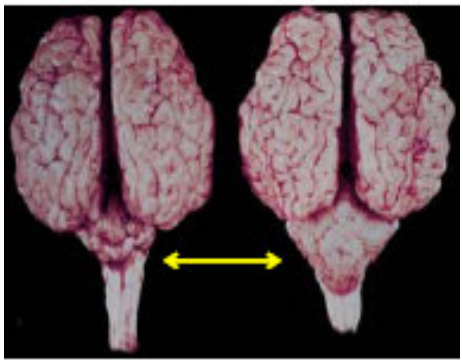
İnce bağırsaklarda submukozal ve mezenterik arteriollerde hyelin dejenerasyonu ve fibrinoid nekroz görülür. Damar duvarlarında ve perivasküler bölgelerde hafif mononükleer infiltrasyonlar şekillenir. Damar lezyonları bağırsaklarla sınırlı değildir, kalp, beyin ve adrenal kortekslerde de bulunabilir. BVD-MD enfeksiyonu, damar lezyonları ile Gangrenosa Bovum Hastalığına benzer fakat lezyonlar mukoza hastalığında çok daha az şiddetlidir (Blowey ve Weaver 2003).

1.4 Klinik

BVD-MD dünyada oldukça yaygın ve hidraensefali (Resim 1.7), serebellar hipoplazi (Resim 1.8), retina displazileri gibi konjenital defektler, mumifikasyon, reproduktif bozukluklar, abort, PI buzağı doğumları ve erken embriyo ölümleri ile karakterize viral bir enfeksiyondur (Milli ve ark 2000).



Resim 1.7 120-150 günlük bir buzağıda hidraensefali (Disease and Food Animals, 2008).



Resim 1.8 BVD-MD. Sağ tarafta; İnokulasyon yapılmamış normal buzağı 1 aylık. Sol tarafta; 33 günlük ataksik buzağıda serebellar hipoplazi (Blowey ve Weaver 2003).

PI buzağılar klinik olarak normal, zayıf ya da gelişmemiş olabilirler. Bir sürüde PI buzağıların oranı ortalama %2'den düşüktür ve bu tür buzağıların çoğu genellikle 6 ay ya da 2 yıl içinde MD'ye yakalanırlar (Blowey ve Weaver 2003).

Cp BVDV ile süper enfeksiyon oluşması sonucunda enfeksiyonun gastrointestinal bölge boyunca ülserasyonlu mukosal disease formu şekillenmiş olur (Blowey ve Weaver 2003).

Klinik olarak bu hayvanlarda oral, respiratoral ve intestinal bölgelerde belirtiler görülmeye başlar. Burun delikleri, dudaklar ve diş etlerinde erozyonlar (Resim 1.9) ve hiperemiler görülür (Blowey ve Weaver 2003).



Resim 1.9 Preklinik öncesinde PI sığırların diş etlerinde oluşan erozyon ve hiperemiler (Disease and Food Animals, 2008).

Hastalığın akut enfeksiyon formunda, klinik olarak uyuşukluk, iştahsızlık, hafif göz ve burun akıntısı, ağızda lokal erozyonlar ve ülserler gözlemlenmektedir. Ateş, anoreksi, sulu diyare, eroziv stomatitis, rinitis, dehidrasyon, aşırı salivasyon, lökopeni gibi klinik belirtilerle kendisini gösterir (Milli ve ark 2000).

Lezyonların sekonder bakteriyel enfeksiyonlara maruz kalması ile kaudal farenks ve rima glottidis'te nekrotik ülserler (Resim 1.10) oluşabilir.



Resim 1.10 Kaudal farenks ve rima glottidis'te oluşan nekrotik ülserler (Blowey ve Weaver 2003).

Subakut veya kronik hastalık formunda ise, ateş, daha müköz karakterde burun akıntısı, mermede kuruluk ve görülür. Vücut ısısı 2-5 gün içerisinde normale döner. Daha sonra ağız lezyonları ve diyare oluşur. Akut devredeki sulu ishal yerini giderek kanlı ve oldukça mukuslu bir diyareye bırakır (Kahrs 2001).

Klinik dönemin sonuna doğru ise, uyuşukluk, anormal zayıflama, Rumen hareketlerinde durma ve ıkınma gözlemlenir. Kronik hasta hayvanlarda tüm ayaklarda interdigital dermatitis, koronitis ve laminitis mevcuttur (Milli ve ark 2000).

BVDV enfeksiyonunun klinik belirtileri akut BVDV, kronik BVDV ve persiste enfeksiyon ve Mukozal Disease (MD) olmak üzere üç forma ayrılmaktadır (Smith 1996).

1.4.1 Akut BVDV

Akut sistemik BVDV enfeksiyonunun klinik belirtileri ateş, diyare, öksürük, soluk alıp vermede artış, göz ve burun akıntısı görülmesidir. Nadir de olsa lezyonlar şekillenebilir. BVDV'nin tipik lezyonları, erozyon, nasal veya oral ülserasyonlardır. Bu duruma gingivitis ve salivasyon eşlik eder. Damağın üst kısmında küçük ve seyrek lezyonlar meydana gelirken, kapillerin alt kısımlarının tahriş olmasından dolayı kırmızı renkte geniş odaklarda görülebilir. Bu respiratorik komplikasyonların yanında diyare görülmeyebilir. Mortalite oranı düşüktür(Kelling 1996, Smith 1996, Tremblay 1996).

Bazı durumlarda ise, diyare ve lezyonlar fark edilemez ve BVDV farklı respiratorik belirtilerle teşhis edilir (Kahrs 2001).

Son zamanlarda, ncp BVDV yeni bir hemorajik sendroma neden olmaktadır. Kanın pıhtılaşmasını engeller ve bu virus ile enfekte hayvanlarda iç kanamadan dolayı ölüm meydana gelir. Basit bir postmortem sonrasında iç kavitede çok miktarda kanın toplandığı gözlemlenebilir. Bu hemorajik sendrom özellikle genç buzağılarda görülmektedir (Kelling 1996).

BVDV'nin etkileri, ineğin gebelik sırasında enfekte olduğu zamana bağlı olarak değişir. BVDV, abort, ölü doğumlar ve mumifikasyona yol açabilir. BVD enfeksiyonunda abort gebeliğin her döneminde meydana gelebilir. Konjenital malformasyonlar ise gebeliğin genellikle 120-150. günlerinde şekillenir. BVDV'nin farklı suşları fötus üzerinde farklı etkilere sahiptir (Smith 1996).

BVDV ile enfekte bir buzağı oldukça zayıftır ve inkoordinasyon mevcuttur. Doğumdan sonra ayakta durmakta, yürümede zorlanır ve başı yana doğru eğiktir. Tüm bu belirtilere rağmen bütün refleksleri normaldir. Enfekte bir buzağı ilk birkaç haftalık yaşına kadar normal görünmektedir. Şiddetli derecede enfekte buzağılar ise ayağa bile kalkamazlar ve nadiren yaşarlar(Kelling 1996).

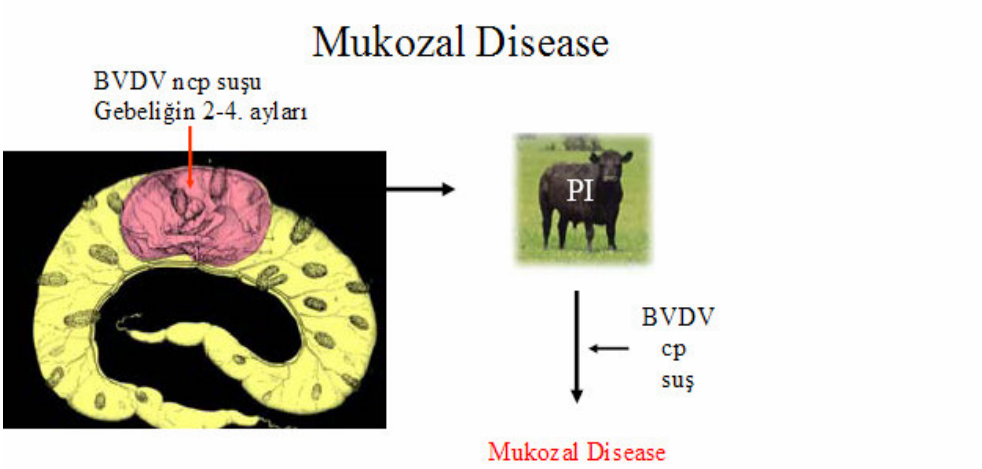
1.4.2 Kronik BVDV

Böyle sığırlarda devamlı veya periyodik diyare, nazal akıntı, ağız ve burunda kabuklaşma görülür. Kronik BVDV'li sığırlarda genellikle aşırı miktarda ve devamlı olarak temiz oküler akıntı mevcuttur. Hayvanlarda oluşan oral nekroz ve ülserasyonlar hızlı bir şekilde iyileşir ve nüksederler (Blowey ve Weaver 2003).

Bu sığırlarda kronik laminitis veya interdigital doku ölümü ve sekonder bakteriyel enfkesiyonlarına bağlı olarak topallık şekillenir. Ayağın üstündeki deride ülserasyon, erozyon, şişlik ve kızarıklık mevcuttur. Virus; kan, oral ve nazal sekresyonlardan izole edilmektedir (Smith 1996).

1.4.3 Persiste Enfeksiyon ve Mukozal Disease

Sığırların yaklaşık olarak %1-3'ü persiste enfekte olarak doğarlar. PI buzağılar hiçbir klinik belirti göstermezler ve hayatları boyunca sürüdeki diğer hayvanlara enfeksiyonu bulaştırırlar (Kahrs 2001).



PI buzağılar, annenin gebeliğin ilk 40-125 gününde ncp BVDV ile enfekte olması sonucunda doğarlar (Kahrs 1973, Brownlie 1998). Yavrunun immun sistemi henüz gelişmemiş olduğundan BVDV'nin ncp suşu, vücut için yabancı olarak algılanmaz ve bunun sonucunda hayatları boyunca persiste enfekte olarak yaşayan ve sürekli olarak bu hastalığı sürüdeki diğer hayvanlara bulaştıran buzağı doğumları gerçekleşmiş olur (Casaro ve ark 1971, Brownlie 1998). PI hayvan yaşamının başka bir döneminde cp BVDV ile enfekte olduğunda hastalığın MD formu şekillenir ve genellikle ölümle sonuçlanır (Brownlie 1998).

1.5 İmmunoloji

BVDV enfeksiyonunun kontrolünde immunitenin rolüne ait birçok soru işareti bulunmaktadır. BVDV'ye karşı 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 indüklemelerinden dolayı BVDV ile antijenik olarak ilişkili suşlara karşı aktif bir koruma sağlar ve hayvanlarda ciddi klinik belirtiler gözlemlenmez. Gebelik süresine bağlı olarak uterusta enfekte olan fötuslar, doğumdan önce anneden alınan serumlar ile test edilerek teşhis edilebilir. Bu hayvanlar, aktif bir bağışıklık sistemine ve immuntoleransa sahiptirler ve antikor taşımazlar (Liess ve ark 1987).

Bir buzağı anneden aldığı kolostrum ile pasif immunizasyona sahip olur ve böyle buzağıların serumlarında antikor bulunması sebebi ile 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).

1.6 Teşhis

BVDV, hastalığın var olan belirtilerine bağlı olarak ,lökosit, kan, gaita, nasal swap, serum, süt, sperma, idrar ve dokulardan direkt ve indirekt yöntemlerle teşhis edilebilir (Palfi ve ark 1993, Smith 1996).

1.6.1 İndirekt Teşhis

BVD enfeksiyonuna karşı immun cevap, hücresel ve humoral olmak üzere iki şekilde oluşur. İmmunite ya kolostral antikorların transferi ile pasif olarak ya da enfeksiyonun meydana gelmesi ile aktif olarak kazanılır. Hücresel immunite, *in vitro* ortamda BVDV'ye maruz bırakılan hücrelerin proliferasyonu ile ölçülür ve seropozitif hayvanlarda meydana gelir (Larsson ve Fossum 1992). Fakat, BVDV'ye karşı gelişen immun cevabın ortaya çıkarılması ile ilgili yapılan birçok çalışmada virusa karşı oluşan antikorların teşhis edilmesi üzerine odaklanılmıştır (Howard 1990).

BVDV'ye spesifik antikorlar iki fonksiyonel grup altında sınıflandırılabilir. Başlıca E2 veya gp53 gibi viral glikoproteinlere karşı oluşan antikorlar, ya virusun enfektivitesini bloke ederler yada virusu nötralize ederler. Diğer taraftan, virusun intrasellüler replikasyonunda görev alan yüksek derecede immunojenik yapısal olmayan NS2-3 (p125) viral proteini ise bütün pestiviruslar arasında antijenik olarak kendisini korur ve NS2-3 (p125)'e karşı oluşan antikorlar BVDV'yi nötralize edemezler. Fakat, NS2-3'e karşı oluşan antikorlar teşhis edilebildiğinden beri, bu yapı BVD serolojide oldukça önem taşımaktadır (Collett 1992).

BVDV'nin indirekt teşhisinde, Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Serum Nötralizasyon (SN), Agar Jel İmmundifüzyon (AGID), Komplement Fikzasyon (CF), İndirekt İmmunfloresan (IIF), Neutralisation Peroksidase Linked Assay (NLPA), Western Blotting, Virus Nötralizasyon (VNT) testleri kullanılmaktadır.

BVDV'ye karşı oluşan antikorların teşhisinde kullanılan VNT, BVDV serolojisinde referans test olarak tanımlanır. Fakat, hücre kültürlerinin okunarak testin sonuçlandırılması, iyi bir bilgi birikimi, sabır ve zaman gerektirmektedir. ELISA ise, hücre kültürüne gereksinim duyulmaması, test sonuçlarının çok kısa sürede elde edilmesi, aynı zamanda birçok örnek çalışılması gibi nedenlerden dolayı oldukça tercih edilen, immunreaktif moleküllerin birçoğunu teşhis etmek için tasarlanmış çok yönlü bir teşhis metodudur (Niskanen ve ark 1989).

Melendez ve Donovan (2003), Şili' de 501 sütçü sürüden (~50.000 inek) elde ettikleri süt örneklerini ELISA ile test ederek bölgesel olarak değişen ve %71.2-%83 arasında seroprevalans elde etmişlerdir.

Benzer bir çalışmada Obando ve ark (1999) tarafından, Venezuela' da beş farklı bölgede gerçekleştirilmiş ve BVDV' ye karşı oluşan antikorları belirlemek amacıyla topladıkları 615 adet kan örneğine ELISA uygulayarak 220 adedini(% 36) pozitif tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Polak ve Zmudzinski (1999), Polonya' da 175 adet serum örneği kullanarak yaptıkları bir çalışmada test edilen boğaların %86'sının BVDV'ye karşı antikor taşıdığını tespit etmişlerdir.

AGID testi ise, özellikle NS2-3 viral porteinine karşı oluşan antikorları teşhis etmektedir. Fakat, testin hassasiyeti düşüktür (Edwards 1990).

1.6.2 Direkt Teşhis

BVDV'nin direkt teşhisinde ya virus yada viral komponentler teşhis edilebilir (Niskanen ve ark, 1989). Bunun için üç farklı metot geliştirilmiştir:

- Virusun hücre kültürlerinde izolasyonu
- Viral antijenlerin tespiti
- Viral nükleikasitin tespiti

BVDV'nin direkt teşhisinde hücre kültürleri ve İmmun Floresan (IF), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Peroxidase Linked Assay (PLA), İmmunperoksidaz (IP) testleri kullanılmaktadır. BVDV'nin izolasyonu amacıyla çoğunlukla türbinata, testis, akciğer, karaciğer, dalak, böbrek hücre kültürleri kullanılmaktadır.

Graham ve ark (1998), 214 hayvandan aldıkları tam kanlarla yaptıkları çalışmada, ELISA ile IF ve IP testleri arasındaki hassasiyet ve spesifiteyi karşılaştırdıklarında, ELISA pozitif çıkan 9 örneğin IF ve IP testlerinde negatif,

ELISA negatif çıkan 11 örneğin ise IF ve IP testlerinde negatif çıktıklarını tespit etmişler ve ELISA'nın hassasiyetinin diğer testlere oranla daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Billinis ve ark (2005), eradikasyon ve kontrol amacıyla Mısır'da aşılı olmayan 6333 adet sığırın bulunduğu 33 sürüden BVDV antijen tespiti için serum örneği toplamışlar ve üç hafta ara ile ikinci bir serum örneği toplayarak sürülerde PI hayvan olup olmadığını test etmek istemişlerdir. Bütün sürülerde PI ve antijen pozitif hayvan bulunmaktadır ve ortalama prevalansları sırasıyla %14 ve %1.3 olarak kaydedilmiştir.

1.7 Koruma ve Kontrol

BVDV enfeksiyonu ile mücadele edebilmek için öncelikle sürüde bulunan PI hayvanların sürüden uzaklaştırılmaları gerekmektedir. Yeni hayvanların özellikle de boğaların öncelikle sürüden ayrı tutulmaları, BVDV yönünden incelenip aşılandıktan sonra sürüye dahil edilmeleri gerekmektedir (Tremlay 1996).

Eğer sürüde embriyo transferi çalışmaları yapılıyorsa, dönor boğaların izole edilerek, akut veya PI BVD enfeksiyonları yönünden kontrol edilmeleri ve gerekirse tekrar aşılanmaları gerekmektedir (Bolin 1996).

Aşılama programları, BVD enfeksiyonu sonucu oluşan kayıp oranında önemli derecede azalma meydana getirmiş olup fötal enfeksiyonlara karşı ciddi bir koruma sağlamış ve kolostral immunite de artışa neden olmuştur. Aşılama sürüdeki persiste enfeksiyonlar için bir çözüm değildir (Bolin 1996, Hurley 1996). Fakat BVDV aşılı bir sürü içerisinde kolaylıkla yayılma gösteremez (Kelling 1995, Bolin 1996).

BVDV için modifiye canlı aşılar ile inaktive aşılar bulunmaktadır. Modifiye canlı aşılar farklı suşlara karşı koruma sağlarken inaktive aşılara oranla daha uzun süreli ve daha güçlüdür (Bolin 1996). Modifiye canlı aşılar, fötal enfeksiyona ve virulensi indüklemeye neden olabilmelerinden dolayı dikkatli bir şekilde kullanılmalıdır (Kelling 1996, Smith 1996). İnaktive aşılar ise, immunsupresif olmamaları ve fötusu enfekte etmemelerinden dolayı minimum riske sahiptirler.

Fakat, bu aşılarda oluşan immun cevap genellikle zayıf ve kısa sürelidir (Kelling 1996).

İlk aşılama sonrasında, aşıyı alan sığıra 3-4 hafta içinde etki artırıcı doz uygulanır. Ne modifiye canlı aşılar ne de inaktive aşılar ile yaşam boyu koruma sağlanmaz. Her ikisinde de yılda bir etki artırıcı doz gerekir (Kelling 1996).

Diğer viral enfeksiyonlarda olduğu gibi BVDV'nin de tedavisi yoktur. Fakat, bazı kaynaklarda modifiye canlı aşılarla aşılama sonucunda enfeksiyonun ortadan kalktığı öne sürülmektedir (BVD in New Zealand, 2008).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Araştırmada Kullanılan Örneklerin Toplanması

Araştırmada, Konya ili çevresinde bulunan ve Çizelge 2.1'de belirtilen çeşitli süt sığırcılığı işletmelerindeki hayvanlardan kan ve süt örnekleri toplandı. Bu ineklerden kan serumu toplayabilmek amacıyla steril vakumlu kaoline tüpler kullanılırken, süt serumları için ise steril 10 ml'lik cam tüpler kullanıldı.

Çizelge 2.1: Araştırmada Kullanılan İneklere Ait Kan ve Süt Örneklerinin İşletmelere Göre Dağılımı

İşletmeler	Kan Serumu Sayısı	Süt Serumu Sayısı
Özel İşletme 1	100	100
Özel İşletme 2	100	100
Özel İşletme 3	100	100
Özel İşletme 4	100	100
Özel İşletme 5	80	80
Toplam	480	480

2.1.1 Toplanan Kan Örneklerinin Test İçin Uygun Hale Getirilmesi

Kan örnekleri, ineklerin v. jugularis'den steril vakumlu kaoline tüplerin içerisine alınarak soğuk zincir altında laboratuara getirildikten sonra 2000-3000 devirde 10-15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edilen kan örneklerinin 56°C'de 30 dakika süre ile su banyosunda inaktive edildikten sonra sterilite kontrolleri yapıldı. Daha sonra kan serumları steril şartlar altında 1 ml'lik eppendorf tüplerine porsiyonlanarak ELISA testinde kullanılıncaya kadar -20°C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

2.1.2 Toplanan Süt Örneklerinin Test İçin Uygun Hale Getirilmesi

10ml'lik steril cam tüplere toplanan süt örnekleri soğuk zincir altında laboratuara getirildikten sonra steril şartlarda üzerine 0.2 ml renin enzimi ilave edildi. Enzim ilavesinden sonra 37°C'de 1 saat inkubasyona 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.

2.1.2.1 Renin

Toplanan süt örneklerinin ELISA için kullanılabilir hale getirilebilmesi yani sütün kaogulasyonunu sağlayabilmek amacıyla rennet adı verilen enzim kompleksi içinde yer alan ve iki homolog birimden oluşan bir aspartik proteaz olan renin enzimi kullanılmıştır. Sütün koagule edilebilmesi için renin, asit ya da her ikisi birlikte kullanılmaktadır. Araştırmada ise sütün koagulasyonu için renin kullanılmıştır. Lumbers 1971 yılında, soğuk havada ve düşük pH'da bırakılan amniotik sıvıda renin aktivitesini ilk keşfeden kişidir. Daha sonra *Skinner plazma* içinde benzer bir renin aktivitesi tanımlamıştır (Jan Danser ve Deinum 2005). Renin, sığırlarda abomasumdan ekstrakte edilen ve optimum 37°C'de aktivite gösteren bir enzimdir (Spreer ve Mixa 1998).

Renin koagulasyonu üç faz ile karakterizedir (Herbert ve ark 1999). Koagulasyonun ilk fazı, para-κ-kazein (CN) ve çözülebilir CN makropeptidlerinin içerisindeki CN misellerindeki κ-CN yüzeylerinin ayrılmasını sağlar. Bu pıhtılaşma aşaması gerçekleşmeden önce yani işlemin ikinci fazında para-CN miselleri spontane olarak kümeleşerek jel meydana getirirler (Dalgleish 1986).

Asitin kullanıldığı süt koagulasyonu işlemi ise daha farklı bir şekilde yürütülmektedir. Sütün pH'sının düşürülmesinin ardından CN misellerindeki kolloidal kalsiyum fosfat çözünürken misellerde parçalanma meydana gelir ve CN jel oluşturmakta görev alır. CN misellerinin hem enzimatik hem de asidik koagulasyonu sırasında protein-protein etkileşimi için en önemli baskı hidrofobik interaksiyonlardan gelmektedir. Bu aşamada yani etkileşimin spesifitesi ve stabilitesinde elektrostatik bağlar ve hidrojen bağlarının da payı bulunmaktadır. Sonuç olarak koagulasyon kinetiği, protein-protein ve protein-yağ globulü

etkileşimleri jelin reolojik özelliklerini ve pıhtılaşma hareketini belirler (Dalgleish 1986).

2.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA):

Araştırmada önceden işlenmeye hazır hale getirilmiş kan ve süt serumlarında BVD/MD'ye spesifik antikorların varlığını araştırmak için ticari olarak satılan Institute Pourquier ELISA BVD/MD/BD p80 Antikor (Süt serumu) ve Institute Pourquier ELISA BVD/MD/BD p80 Antikor (Kan serumu) kitleri kullanıldı.

Kite ait polisistren mikropleytler, spesifik monoklonal antikor "WB 103" vasıtasıyla p80 proteini ile kaplıdır.

2.2.1 Kan Serumlarının ELISA İle İşlenmesi

ELISA kiti ile test edilecek olan kan ve süt serumları kullanılmadan önce oda ısısına getirildi. p80 proteini ile kaplı olan mikropleyt gözlerine 50 µl "Dilution Buffer 9" konulduktan sonra, Çizelge 2.2'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 edilmiş olup mikropleyt +21°C karanlık bir yerde 1 saat inkubasyona bırakıldı. Bu süre sonunda mikropleyt gözleri distile su ile hazırlanmış olan 20× konsantre yıkama solusyonu 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 dilue edilerek hazırlanmış olan enzim peroksidazla birleştirilmiş ve p80 proteininin diğer epitopuna yönelen bir monoklonal antikor "WB112" olan konjugattan 100 µl ilave edilerek, mikropleyt +21°C karanlık bir yerde 30 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyondan sonra mikropleyt gözleri tekrar üç kez yıkanmış olup kitte hazır olarak bulunan "Revelation Solution N° 5" den her göze 100 µl ilave edilerek tekrar +21°C karanlık bir yerde 20 dakika inkubasyona bırakıldı. 20 dakika sonunda her göze 100 µl "Stop Solution" ilave edildikten sonra mikropleyt hafifçe çalkalanarak homojenizasyon sağlandı. Son olarakta mikropleyt, spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okutuldu.

Çizelge 2.2 Örneklerin Dağıtılması
(PK: Pozitif Kontrol; NK: Negatif Kontrol; S1: Serum 1)

	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												

2.2.2 Süt Serumlarının ELISA İle İşlenmesi

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 test edilecek serumlar dilue edilmeden ilave edilmiş olup mikropleyt +21°C karanlık bir yerde 2 saat inkubasyona bırakıldı. Sonra süt serumları ile inkube edilmiş olan mikropleytlere 2.2.1 bölümünde anlatılan işlemler sırasıyla uygulandı.

3. BULGULAR

3.1 ELISA Sonuçları

Institut Pourquier ELISA BVD/MD/BD p80 Antikor (Süt serumu) ve Institut Pourquier ELISA BVD/MD/BD p80 Antikor (Kan serumu) kitleri kullanılarak yapılan ELISA sonucunda testin geçerliliği kontrol edilerek her bir test örneğine ait sonuç kit prosedürüne uygun olarak hesaplanmıştır.

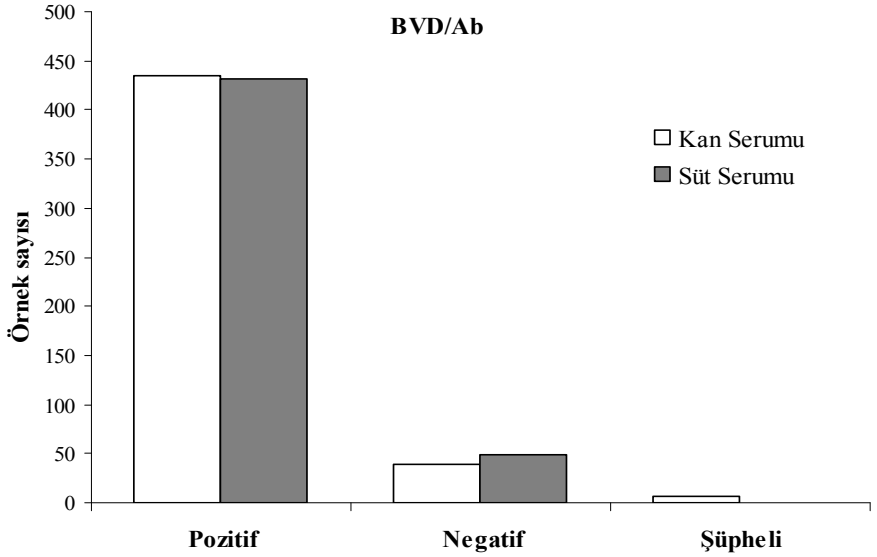
Test sonucunda her bir kan serumunun optikal dansitesi (OD), negatif kontrolun ortalama OD'sine bölündükten sonra 100 ile çarpılarak inhibisyon yüzdeleri elde edilmiş olup inhibisyon yüzdesi ≥ %50 olan kan serumları negatif, %40-%50 arasında olanlar şüpheli, ≤ %40 olanlar ise pozitif olarak belirlenmişlerdir.

Test sonucunda her bir süt serumunun optikal dansitesi (OD), serum örneklerinde olduğu gibi negatif kontrolun ortalama OD'sine bölündükten sonra 100 ile çarpılarak inhibisyon yüzdeleri elde edilmiştir. Daha sonra inhibisyon yüzdesi ≥ %80 olan kan serumları negatif, < %80 olanlar ise pozitif olarak tespit edilmişlerdir.

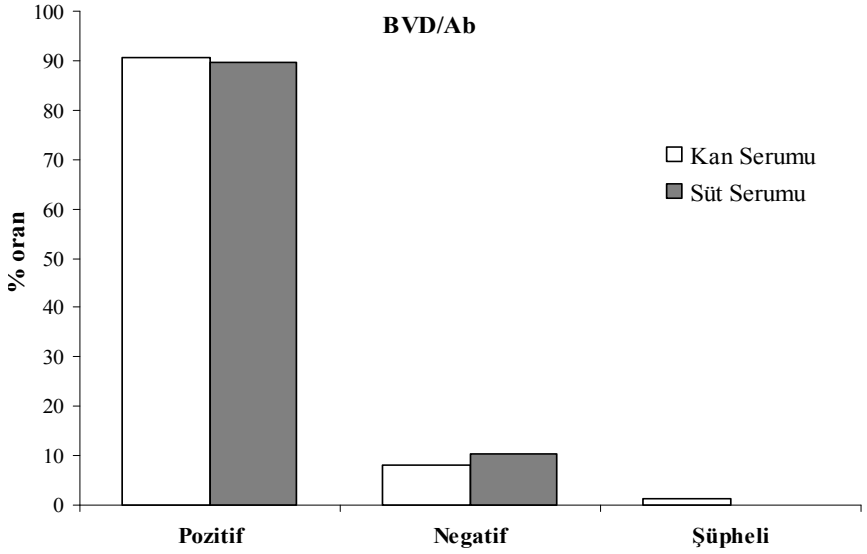
Yapılan çalışma sonucunda örnekleme yapılan 480 adet hayvanın kan serumu ELISA sonuçlarına göre (Çizelge 3.1) 435 adedi pozitif (%90.63), 39 adedi negatif (%8.13) ve 6 adedi (%1.25) ise şüpheli değerlendirilirken, süt serumu sonuçlarına göre 431 adedi pozitif (%89.79), 49 adedi negatif (%10.21) tespit edilmiş olup şüpheli sonuç elde edilmemiştir.

Çizelge 3.1 Örneklenen 480 adet örneğin ELISA BVD/Ab kan ve süt sonuçları

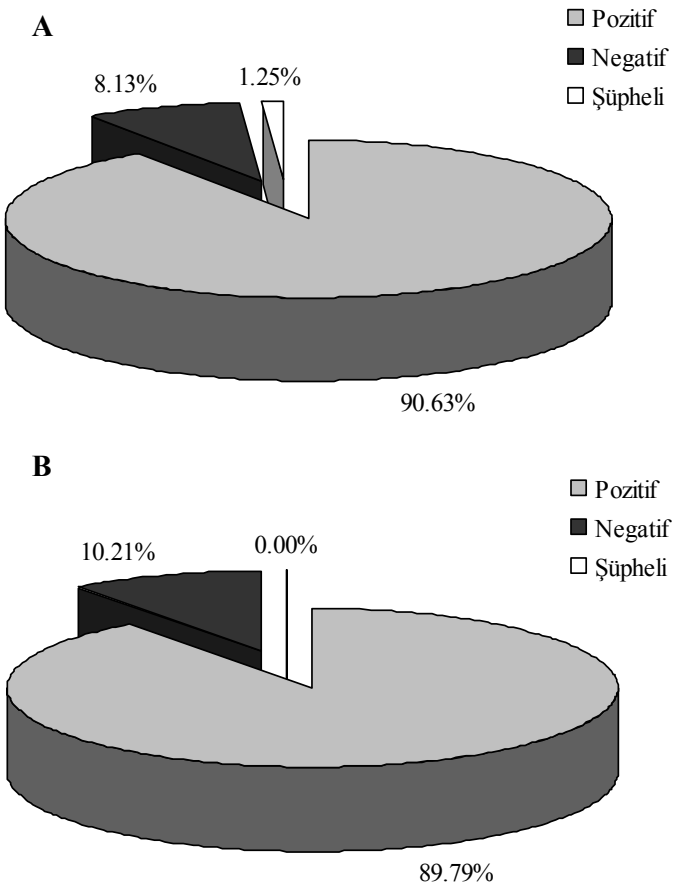
BVD/Ab	KAN SERUMU	SÜT SERUMU
POZİTİF HAYVAN SAYISI	435	431
NEGATİF HAYVAN SAYISI	39	49
ŞÜPHELİ HAYVAN SAYISI	6	0
TOPLAM HAYVAN SAYISI	480	480



Şekil 3.1 480 adet hayvandan alınan kan ve süt örneklerinin serumları kullanılarak yapılan ELISA testi ile elde edilen BVD/Ab sonuçları.



Şekil 3.2 480 adet hayvandan alınan kan ve süt örneklerinin serumları kullanılarak yapılan ELISA testi ile elde edilen BVD/Ab yüzde oranları.



Şekil 3.3. 480 adet hayvandan alınan A: Kan örneklerinin B: Süt örneklerinin serumları kullanılarak yapılan ELISA testi ile elde edilen BVD/Ab yüzde oranları.

Bulguları aynı zamanda örnekleme yapılan işletmeler bazında değerlendirdiğimiz zaman Özel İşletme 3 ve Özel İşletme 4'te hem kan serumu hem de süt serumu bakımından diğer işletmelere oranla daha fazla sayıda seropozitif hayvan elde edilmiştir.

Çizelge 3.2 Örneklenen 480 adet örneğin işletmelere göre ELISA BVD/Ab kan ve süt sonuçları

İşletmeler	Özel İşletme 1	Özel İşletme 2	Özel İşletme 3	Özel İşletme 4	Özel İşletme 5	Toplam
Kan serumu (+) Süt serumu (-) olanların sayısı	9	0	9	3	0	21
Kan serumu (-) Süt serumu (+) olanların sayısı	4	5	2	0	1	12
Kan serumu (?) Süt serumu (+) olanların sayısı	1	4	0	0	0	5
Kan serumu (?) Süt serumu (-) olanların sayısı	1	0	0	0	0	1
Kan serumu (-) Süt serumu (-) olanların sayısı	6	15	2	4	1	28
Kan serumu (+) Süt serumu (+) olanların sayısı	79	76	87	93	78	413
Toplam	100	100	100	100	80	480

4. TARTIŞMA

Türkiye coğrafi konumu ve yedi ülkeyle kara sınırına sahip olması gibi nedenlerle sürekli olarak viral enfeksiyonların tehdidi altındadır. Viral enfeksiyonlarla mücadele konusunda son yıllarda başarılı bir örnek olarak sığır vebası hastalığının eradike edilmesi gösterilebilir. Ancak BVD için böyle iyimser bir tablodan söz etmek şu an için mümkün değildir.

BVDV'nin kontrol ve eradikasyonu veteriner hekimler için günümüzde yetiştiricilikte hala problem olarak varlığını sürdürmektedir. Bazı Avrupa Birliği (AB) ülkeleri Sığır Löykozu (EBL), Infeksiyöz Bovine Rhinotracheitis (IBR) ve Bovine Viral Diarrhea (BVD) virus enfeksiyonları için kontrol-eradikasyon programları başlatmış ve başarılı sonuçlar elde etmiştir. Türkiye'de de bu amaçla BVD'ye karşı aşılama programları geliştirilmiş fakat tam bir neticeye ulaşılamamıştır.

BVD enfeksiyonu dünyanın birçok ülkesinde ortalama %70-90'lara ulaşan yüksek seroprevalans değerlerine sahipti (Smith 1996). Örneğin İngiltere ve Britanya'da BVDV seroprevalans oranı %95, Aşağı Avusturya'da %46, Danimarka'da %64, İsveç'te %46, Norveç'te %19 iken Finlandiya'da bu oran %1'den daha azdı (Houe ve Meyling 1991, Niskanen ve ark 1991, Løken ve ark 1991, Paton ve ark 1998).

Chi Duong ve ark (2007), Güney Vietnam'da 2001 yılında An Giang , Can Tho, Ho Chi Minh City bölgelerinde bulunan 5 adet sütçü sürüden 345 adet kan örneği toplamışlar ve sürüler arasındaki seroprevalansın %58 ile %93 arasında değiştiğini ve küçük çiftliklerdeki prevalansın büyük çiftliklere oranla daha az olduğunu 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. BVD seroprevalansını %69, IBR enfeksiyonunun seroprevalansını %37 olarak belirlemişlerdir.

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

Siegwart ve ark (2006), İsviçre'de Alp Dağları'nda bulunan sürülerdeki 117 adet gebe inek üzerinde yaptıkları bir çalışmada, hayvanların % 5.1'inin PI olarak yaşamlarını sürdürdüklerini tespit etmişlerdir.

Stahl ve ark (2002), Peru'da bulunan Mantaro Vadi'sindeki 60 sürüden topladıkları süt örneklerini ELISA ile IBR ve BVD enfeksiyonları yönünden incelemişler ve BVD enfeksiyonu seropozitivite oranını %96 olarak , IBR enfeksiyonunu ise % 51 olarak kaydetmişlerdir.

Mainar-Jaime ve ark (2001), İspanya'nın Asturias bölgesinde yaptıkları bir çalışmada BVDV'ye karşı asla aşılanmamış 28 sürüden 529 adet kan örneği toplamışlar ve yaptıkları ELISA sonucunda 114 adet (%21) ineğin seropozitif olduğunu belirtmişlerdir.

Ribeiro-Niza ve ark. (2005)' de Kuzey Portekiz'in Entre Douro e Minho bölgesinde aşılama yapılmış ve yapılmamış sütçü sürülerden topladıkları süt tankı örneklerini ELISA ile test etmişler ve aşılı sürülerin %53.5'inin, aşısız sürülerin ise %46.5'inin seropozitif olduğunu tespit etmişlerdir.

Beaudeau ve ark (2001), Britanya'da serum ve süt örnekleri kullanarak BVDV'ye karşı oluşan antikorların teşhisinde blocking ELISA kullanarak yaptıkları bir çalışmada toplam 42 adet sürüden 1189 adet örnek toplamışlar ve seropozitivite oranını %84.4 olarak belirlemişlerdir.

Björkman ve ark (2000), İsveç'te aborta ve konjenital anomalili buzağı doğumlarına neden olan *Neospora caninum* ve BVD enfeksiyonu üzerinde yaptıkları bir çalışmada 780 adet sütçü inekten topladıkları kan örneklerini ELISA ile incelemişler ve *Neospora caninum* parazitinin sürü içerisindeki seroprevalansını %2 (16/780) olarak belirlerken BVDV'nin seroprevalansını %32 (249/780) olarak bildirmişlerdir.

Canal ve ark (1998), Brazilya'nın Rio Grande Do Sul bölgesindeki 19 ve Arjentin'in Corrientes bölgesindeki bir çiftlikten toplamış oldukları 430 adet sığır kanı ile yaptıkları bir çalışmada seroprevalansı %56±%15.1 olarak belirlemişlerdir.

Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde BVD seropozitivite oranı Yıldırım ve Burgu tarafından 2005 yılında %81.62 olarak kaydedilmiştir (Yıldırım ve Burgu 2005).

Aydın yöresinde Tan ve ark (2006), yaptıkları bir çalışmada BVD seropozitivite oranını %86 olarak tespit etmişlerdir.

Bunun üzerine BVDV'nin kontrol ve eradikasyonu amacıyla dünyanın birçok ülkesinde programlar geliştirildi (Waage ve ark 1994, Bitsch ve ark 2000, Greiser-Wilke ve ark 2003, Moenning ve ark 2005, Rikula ve ark 2005).

Norveç'te 6 yıl boyunca devam eden kontrol ve eradikasyon programına 1993 yılının Ocak ayında başlanmış olup 1998'in Ocak ayında son verilmiştir Yapılan bu çalışma ile BVD enfeksiyonunun prevalansındaki serodeğişim tespit edilerek izlenmesi gereken yol belirlenmiştir (Valle ve ark 2001).

Rikula ve ark (2005), Finlandiya' da uygulanan kontrol ve eradikasyon programı sonucunda 1998-2004 yılları arasında süt tanklarından topladıkları örneklerle yaptıkları bir çalışmada ortalama seroprevalansın %0.45'ten %0.15'e düştüğünü tayin etmişlerdir. Aynı çalışmada 2001 yılında PI hayvan içeren sürü sayısının 10 olduğunu fakat bu sayının 2003 yılında 0'a düştüğünü bildirmişlerdir.

Araştırmada, Konya ili çevresinde bulunan çeşitli süt sığırcılığı işletmelerindeki hayvanlardan 480 kan ve 480 süt serumu olmak üzere toplam 960 adet örnek toplandı. Vakumlu kaoline tüplere alınan kan örnekleri ve steril cam tüplere alınan süt örneklerinde BVDV'una spesifik antikorların varlığını araştırmak için ticari olarak satılan Institut Pourquier ELISA BVD p80 Antikor (Süt serumu) ve Institut Pourquier ELISA BVD p80 Antikor (Kan serumu) kitleri kullanıldı. Kan serumu örnekleri ve süt serumu örnekleri ile yapılan test sonucunda seropozitiflik sırasıyla %90.63 ve %89.79 olarak tespit edildi.

Bu durumda Türkiye'de BVD enfeksiyonunun seroprevalansı ortalama %80-90'lara ulaşmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmada 480 adet hayvanın kan serumu ELISA sonuçlarına göre 435 adedi pozitif (%90.63), 39 adedi negatif (%8.13) ve 6 adedi (%1.25) ise şüpheli değerlendirilirken, süt serumu sonuçlarına göre 431 adedi pozitif (%89.79) , 49 adedi negatif (%10.21) tespit edilmiş olup şüpheli sonuç elde edilmemiştir.

Kan ve süt serumlarına ait sonuçların bu kadar yakın olması serolojik testlerde süt serumu kullanımının, hem hayvanların refahı için hem de araştırıcı için örneklemenin kolay ve ucuz olmasından dolayı kan serumuna alternatif bir method olarak tercih edilebileceğini göstermektedir. Araştırma sonucunda seronegatif olarak değerlendirilen hayvanların ilerleyen çalışmalarda virolojik yönden de test edilmesi planlanmaktadır.

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 hayvanlar daha sonra virolojik olarak test edilerek persiste enfekte hayvanların bulaşma sırasındaki rollerinin büyük olaması sebebiyle sürüden uzaklaştırılması gerekmektedir (Zimmer ve ark 2002, Brodersen 2004, Lindberg and Houe, 2005).

İlk sistematik BVDV eradikasyon ve kontrol programı 1993-1994 yıllarında Danimarka, İsveç, Finlandiya ve Norveç'te geliştirilmiştir (Houe ve ark 2006).

1993 yılında İskandinav ülkelerinde aşılama içermeyen bir eradikasyon programı başlatılmış olup izledikleri yol aşağıda belirtilmiştir.

1-) Farklı serolojik testlerin ile enfekte olan ve olmayan sürülerin taranması

2-) Enfekte olup olmadığı belirlenen sürülerin tekrar örneklenip test edilerek kesin enfekte olmadığı belirlenen sürülerin sertifikasyonu.

3-) Maliyet düşünülmeksizin enfekte olan sürülerde bulunan PI hayvanların sürüden uzaklaştırılması (Ann ve ark 1999, Reichel ve ark 2008).

4-) Yeni alınacak olan hayvanların BVDV yönünden ari olduğuna dair sertifikalarının bulunmasına dikkat edilerek sürülere dahil edilmesi (Houe ve ark 2006, Muskens ve ark 2008)

Konya ve çevresindeki sığırlar serolojik açıdan incelendikten sonra BVD enfeksiyonunun seroprevalansı belirlenmiştir ve Türkiye'de BVD yönünden ari sürülere sahip olabilmek için geliştirilmesi gereken eradikasyon programına katkıda bulunulduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ann LE, Lindberg A, Alenius S. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. Veterinary Microbiology 1999;64: 197-222.
2. Bak A, Callesen H, Meyling A, Greve T. Calves born after embryo transfer donors persistently infected with BVD virus. Vet Rec. 1992;131:37.
3. Baker JC. Bovine viral diarrhea virus: a review. J Am Vet Med Assoc. 1987;190(11):1449-58.
4. Beaudeau F, Belloc C, Seegers H, Assie S, Sellal E, Joly A. Evaluation of a blocking ELISA for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antibodies in serum and milk. Veterinary Microbiology. 2001;80:329-337.
5. Becher P, Shannon AD, Tautz N, Thiel HJ. Molecular characterization of border disease virus, a pestivirus from sheep. Virology. 1994;198(2):542-51.
6. Bielefeldt OH. Pathogenesis of bovine viral diarhoea-mucosal disease: distiribution and significance of BVDV antigen in diseased calves. Res Vet Sci. 1983;34:5-10.
7. Billinis C, Leondites L, Amiridis GS, Spyrou V, Kostoulas P, Sofia M. Prevalance of BVDV infection in Greek dairy herds. Preventive Veterinary Medicine. 2005;72:75-79.
8. Binkhorst GJ, Journee DLH, Wouda W, Straver PJ, Vos JH. Neurological disorders, vğrus persistence and hypomyelination in calves due to intra-uterine infections with bovine virus diarrhoea virus. Vet Q 1983;5:145-55.
9. Bitsch V, Ronsholt L. Control of bovine viral diarrhoea virus infection without application of vaccines. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 1995;11:627-640.
10. Björkman C, Alenius S, Emanuelsson U, Uggla§ A. Neospora caninum and Bovine Virus Diarrhoea Virus Infections in Swedish Dairy Cows in Relation to Abortion. The Veterinary Journal 2000;159: 201–206.
11. Blowey RG, Weaver DA. Color Atlas of Diseases and Disorders of Cattle. Elsevier Health Sciences, 2003.
12. Bolin SR. The clinical significance of genetic variation among bovine viral diarrhea viruses. Veterinary Medicine 1996;10:958-961.
13. Brewoo JN, Haase CJ, Sharp P, Schultz RD. Leukocyte profile of cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus. Vet Immunol Immunopathol. 2007;115(3-4):369-74.
14. Bringe NA, Kinsella JE. Forces involved in the enzymatic and acidic coagulation of casein micelles. In: Hudson BJF, editors. Developments in Food Proteins-5. London, England. ElsevierAppl. Sci; 1987. p. 159-194.
15. Brock KV, Lapin DR, Skrade DR. Embryo transfer from donor cattle persistently infected bovine viral diarrhoea virus. Theriogenology. 1997;47:837-844.
16. Brock KV, Redman DR, Vickers ML, Irvine NE. Quantitaion of bovine viral diarrhoea virus in embryo transfer flush fluids collected from a persistently infected heifer. J Vet Diagn Invest 1991;3:99-100.
17. Brown GB, Bolin SR, Frank DE, Roth JA. Defective function of leukocytes from cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus, and the influence of recombinant cytokines. Am J Vet Res. 1991;52(3):381-7.
18. Brown TT, De Lahunte A, Scott FW, Kahrs RF, McEntee K, Gillespie JH. 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 Vet. 1973 ;63(4):561-78.
19. Brownlie J, Clarke MC, Howard CJ, Pocock DH. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. Ann. Rech. Vet. 1987;18:157-166.
20. Brownlie J, Clarke MC, Howard CJ. Experimental production of fatal mucosal disease in cattle. Vet. Micorbiol. 1984;114:535-536.
21. Brownlie J, Hooper LB, Thompson I, Collins ME. Maternal recognition of foetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV)-the bovine pestivirus. Clin Diagn Virol. 1998 ;10(2-3):141-50.
22. Brownlie J. Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhoea virus. Vet Microbiol. 1990;23(1-4):371-82.
23. Colorado's Voluntary BVD ControlProgram.www.controlbvd.org.Nz/ Documents /BVD%20general%20information .pdf -21.08.2008
24. Canal CW, Strasser M, Hertig Christian, Masuda A, Peterhans E. Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil. Preventive Veterinary Medicine. 1998;63:85-97.

25. Carlsson U. Border disease in sheep caused by transmission of virus from cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. Vet. Rec. 1991;128:145-147.
26. Carlssonn U, Belak K. Border disease virus transmitted to sheep and cattle by a persistently infected ewe:epidemiology and control. Acta Vet Scand. 1994;35:79-88.
27. Casaro APE, Kendrick JW, Kennedy JW. Response of the bovine fetus to bovine viral diarrhea-mucosal disease virus. Am J Vet Res. 1971;32:1543-62.
28. Cay B, Chappuis G, Coulibaly C, Dinter Z, Edwards S, Greiser-Wilke I, Gunn M, Have P, Hess G, Juntti N, Liess B, Mateo A, McHugh P, Moennig V, Nettleton P, Wensvoort G. Comparative analysis of monoclonal antibodies against pestiviruses: report of an international workshop. Vet Microbiol. 1989;20(2):123-9.
29. Chawla-Sarkar M, Lindner DJ, Liu YF, Williams BR, Sen GC, Silverman RH, Borden EC. Apoptosis and interferons: role of interferon-stimulated genes as mediators of apoptosis. Apoptosis. 2003;8(3):237-249.
30. Chu HJ, Zee YC, Ardens AA, Dai K. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to bovine viral diarrhea virus in bovine sera. Vet Microbiol. 1985;10:325-333.
31. Chu HJ, Zee YC. Morphology of bovine viral diarrhea virus. Am J Vet Res. 1984;45:845-850.
32. Collett MS, Moennig V, Horzinek MC. Recent Advances in Pestivirus Research. J Gen Virol. 1989;70:253-266.
33. Cook LG, Littlejohns IR, Jessep TM. Induced sero-conversion in heifers with a field strain of bovine pestivirus-a comparison of methods and doses. Aust Vet J. 1990;67:393-395
34. Dalgleish DG. The enzymatic Coagulation of Milk. In Fox FP, editors. Advanced Dairy Chemistry, London, England. Elsevier Appl. Sci. 1986. p. 579–619.
35. Darbyshire JH. A serological relationship between swine fever and mucosal disease of cattle. Veterinary Record. 1960;72:331.
36. David GP, Crawshaw TR, Gunning RF, Hibberd RC, Lloyd GM, Marsh PR. Severe disease in adult dairy cattle in three UK dairy herds associated with BVD virus infection. The Veterinary Record. 1994:134(18);468-472.
37. De Moerlooze L, Lecomte C, Brown-Shimmer S, Schmetz D, Guiot C, Vandenbergh D, Allaer D, Rossius M, Chappuis G, Dina D, Renard A, .Martial JA. Nucleotide sequence of the bovine viral diarrhoea virus Osloss strain: comparison with related viruses and identification of specific DNA probes in the 5' untranslated region. J Gen Virol. 1993;74:1433-8.
38. Deregt D, Loewen KG. Bovine viral diarrhea virus: biotypes and disease. Can Vet J. 1995;36(6):371-8.
39. Dinter Z. Relationship between bovine virus diarrhea virus and hog cohlera virus. Zentrabl Bakteriol Mikrobiol Hyg. 1963;188:475-486.
40. Disease and Food Animals 11 Şubat 2008.
41. Done JT, Terlecki S, Richardson C, Harkness JW, Sands JJ, Patterson DS, Sweasey D, Shaw IG, Winkler CE, Duffell SJ. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus: pathogenicity for the fetal calf following maternal infection. Vet Rec. 1980;106(23):473-9.
42. Dubovi EJ. Bovine Diarrhea Virus and Border Disease Virus (Flaviviridae). In: Granoff A, Webster RG, editors. Encyclopedia of Virology. Second Edition, Academic Press,1999.
43. Duffell SJ, Harkness JW. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. Vet Rec. 1985;117(10):240-5.
44. Duong MC, Alenius S, Huong LTT, Björkman C. Prevalance of *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus in dairy cows in Southern Vietnam. The Veterinary Journal. 2007.
45. Fernandez A, Hewicker M, Trautwein G, Pohlenz J, Liess B. Viral antigen distribution in the central nervous system of cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus. Vet Pathol. 1989;26(1):26-32.
46. Fox PF, Mulvihill DM. Casein. In: Harris P, editors. Food Gels: Casein. London, England. Elsevier Appl. Sci., London,England. 1990. p. 121–173
47. Gil J, Esteban M. Induction of apoptosis by the dsRNA-dependent protein kinase (PKR): mechanism of action. Apoptosis. 2000;5:107-114.
48. Gillespie JH, Lee KM, Baker JA, Mc Entee K. A cytopathogenic strain of virus diarrhea virus. Cornell Vet. 1960;50:73-79.
49. Graham DA, McLaren IE, German A. Evaluation of the Suitability of a Commercial Bovine Viral Diarrhoea Virus Antigen Capture ELISA for Diagnostic Testing. The Veterinary Journel 1998; 156:149-154.
50. Greiser-Wilke I, Grummer B, Moennig V. Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europa. Biologicals. 2003;31:113-118.

51. Grummer B, Bendfeldt S, Greiser-Wilke I. Apoptosis inhibitors delay the cytopathic effect of bovine viral diarrhoea virus (BVDV). J Vet Med. 2002;49:298-303.
52. Guarino H, Nunez A, Repiso MV, Gil A, Dargatz DA. Prevalence of serum antibodies to bovine Preventive Veterinary Medicine 85 (2008) 34–40.
53. Gunn HM. Role of fomites and flies in the transmission of bovine viral d,arrhoea virus. Vet Rec. 1993;132:584-585.
54. Heertje I, Visser J, Smits P. Structure formation inGDL milk gels. Food Microstruct. 1985;4:267–277.
55. Hirsh DC, Zee CY.Veterinary Microbiology. Blackwell Publishing, 1999;479.
56. Holland RE, Bezek DM, Sprecher DJ, Patterson JS, Steficek BA, Trapp AL. Investigation of an epizootic of bovine viral diarrhea virus infection in calves. J Am Vet Med Assoc. 1993;202(11):1849-54.
57. Houe H, Lindberg A, Moennig V. Test strategies in bovine viral diarrhea virus control and eradication campaigns in Europe. J Vet Diagn İnvest. 2006;18:427-436.
58. Houe H, Meyling A. Surveillance of cattle herds for bovine viral diarrhoea virus (BVDV)-infection usin data on reproduction and calf mortality. Arch Virol. 1991;S3:157-64.
59. Houe H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. Veterinary Microbiology. 1999;64(2-3):89-107.
60. Houe H. Survivorship of animals persistently with bovine virus diarrhoea virus (BVDV). Prev Vet Med. 1993;15:275-283.
61. Howard CJ. Immunological responses to bovine virus diarrhoea virus infections. Rev Sci Tech. 1990;9(1):95-103.
62. Hunt RD, King NW. Veterinary Pathology. Sixth Edition, USA, William and Wilkins Company. 1997;299-301.
63. Hurley DJ Bovine Viral Diarrhea Virus: a practitioner's guide to the immunology of bovine viral diarrhea virus. Large aniak Veterinarian 1996;51:3:24-29.
64. Joly A, Fourichon C, Beaudeau F. Description and first results of a BVDV control scheme in Brittany (Western France). Preventive Veterinary Medicine. 2005;72:209-213.
65. Jordan R, Wang L, Graczyk TM, Block TM, Romano PR. Replication of a cytopathic strain of bovine viral diarrhea virus activates PERK and induces endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis of MDBK cells. J Virol. 2002;76:9588-9599.
66. Kahrs RF. Effects of Bovine viral diarrhea on the developing fetus. J Am Vet Med. 1973;163:877-8.
67. Kahrs RF. Viral Diseases of Cattle. Second edition Blackwell Publishing, 2001;120-121.
68. Kelling CL. Potentiation of bovine respiratory synsytial virus infection in calves by bovine viral diarrhea virus. Proceedings of the annual meeting of United States Animal Health Association 1995;99:273-278.
69. Kelling CL. Planning bovine viral diarrhea virus. Veterinary Medicine. 1996;9:858-866.
70. Kirkland PD, Richards SG, Rothwell JT, Stanley DF. Replication of bovine viral diarrhoea virus in the bovine reproductive tract and excretion of virus in semen during acute and chronic infections. 1991;128:587-590.
71. Laamanen UI, Neuvonen EP, Yliviuhkola EM, Veijalainen PM. Comparison of RT-PCR assay and virus isolation in cell cultures for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in field samples. Res Vet Sci. 1997;63(3):199-203.
72. Lang-Ree JR, Vatn T, Kommisrud E, Løken T. Transmission of bovine viral diarrhoea virus by rectal examination. Vet Rec. 1994:135(17):412-3.
73. Lee KM, Gillespie JH. Propagaiton of virus diarrhea virus of cattle in tissue culture. Am J Vet Res. 1957;18:952-955.
74. Liess B, Frey HR, Orban S, Trautwein G. Impact of intrauterin bovine viral diarrhoea (BVD) virus infection in cattle. A Ü Vet Fak Derg. 1987;34(3):555-561.
75. Lindberg A, Houe H. Characteristic in the epidemiology of bovine viral diarrhe virus (BVDV) of relevance of control. Preventive Veterinary Medicine. 2005;72:55-73.
76. Løken T, Krogsrud J, Bjerkås I. Outbreaks of border disease in goats induced by a pestivirus-contaminated orf vaccine, with virus transmission to sheep and cattle. J Comp Pathol. 1991;104(2):195-209.
77. Løken T, Krogsrud J, Larsen IL. Pestivirus infections in Norway. Serological investigations in cattle, sheep and pigs. Acta Vet Scand. 1991;32:27-34.
78. Løken T. Ruminant pestivirus infections in animals other than cattle and sheep. Vet Clin North Am Food Anim. Pract. 1995;11:597-614.
79. Lumbers. Enzymologia. 1971;40(6):329-36.

80. Mainar-Jaime RC, Berzal-Herranz B, Arias P, Rojo-Vazquez FA. Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine-viral diarhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy cattle population from the Austriasregion of Spain. Preventive Veterinary Medicine. 2001;52:63-73.
81. McGowan MR, Kirkland PD, Richards SG, Littlejohns IR. Increased reproductive losses in cattle infected with bovine pestivirus around the time of insemination. 1993; 133:39-43.
82. Melendez P, Donovan A. Herd-level ELISA serprevalence of bovine viral diarrhea antibodies in bulk-tank milk in Chilean dairy herds. Veterinary Medicine. 2003;60:237-241.
83. Meyling A, Houe H, Jensen AM. Epidemiology of bovine virus diarrhoea virus. Rev Sci Tech Off Int Epiz. 1990;9:75-93.
84. Mignotte B, Vayssiere JL. Mitochondria and apoptosis. Eur J Biochem. 1998;252:1-15.
85. Milli ÜH, Hazıroğlu R. Veteriner Patoloji Cilt 1. İkinci Baskı, Ankara, Özkan Matbaacılık. 2000;15-18.
86. Moening V. Pestiviruses:a rewiev. Vet. Microbiol. 1990;23:35-54.
87. Moennig V, Eicken K, Flebbe U, Frey HR, .Grummer B, Haas L, Greiser-Wilke I, Liess B. Implementation of two-step vaccination in the control of bovine viral diarrhoea (BVDV). Preventive Veterinary Medicine. 2005;72:109-114
88. Moennig V, Plagemenn GW. The Pestiviruses. Advances in virus research. New York, Academic Press, 1992;41:53-91.
89. Muskens J, Swart WA, Berends IM, Van Schaik G, Lam TJ. Udder health: the influence of BVD-free status. Tijdschr Diergeneeskd. 2008;133(13):562-5.
90. Niemi SM, Evermann JF, Huffman EM, Kirk JH. Border disease virus isolation from postpartum ewes. Am J Vet Res. 1982;43(1):86-8.
91. Niskanen R, Alenius S, Larsson B, Jacobsson SO. Determination of level of antibodies to bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in bulk tank milk as a tool in the diagnosis and prophylaxis of BVDV infections of dairy herds. Arch Virol. 1991;S3:245-51
92. Niskanen R, Lindberg A, Larsson B, Alenius A. Primarily BVDV-infected calves as transmitters of the infection. British Cattle Veterinary Association. 1996;593-595.
93. Obando RC, Hidalgo M, Merza M, Montoya A, Klingeborn B, Moreno-Lopez J. Seroprevalence to bovine virus diarheoea virus and other viruses of the bovine respiratory complex in Venezuela (Apure State). Preventive Veterinary Medicine. 1999;41:271-278.
94. Odeón AC, Kelling CL, Marshall DJ, Estela ES, Dubovi EJ, Donis RO. Experimental infection of calves with bovine viral diarrhea virus genotype II (NY-93). J Vet Diagn Invest. 1999;11(3):221-8.
95. Palfi V, Houe H, Philipsen J. Studies on the decline bovine viral diarrhoea virus (BVDV) maternal antibodies and detectability of BVDV in persistently infected calves. 1993;34:105-107.
96. Passler T, Walz HP, Ditchkoff SS, Givens MD, Maxwell SH, Brock KV. Experimental persistent infection with bovine viral diarrhea virus in white-tailed deer. Veterinary Microbiology. 2007;122:350–356.
97. Paton DJ, Carlsson U, Lowings JP, Sands JJ, Vilcek S, Alenius S. Identification of herd spesific bovine viral diarrhoea virus isolates from infected cattle and sheep. Vet Microbiol. 1995;43:283-294.
98. Paton DJ, Christiansen KH, Alenius S, Cranwell MP, Pritchard GC, Dew TW. Prevalance of anibodies to bovine viral diarrhoea virus ve other viruses in bulk tank milk in England and Wales. Vet Rec. 1998;142:385-91.
99. Peters W, Greiser-Wilke I, Moennig V, Liess B. Preliminary serological characterization of bovine viral diarrhoea virus strains using monoclonal antibodies. Vet Microbiol. 1986;12(3):195-200.
100. Nettleton P. Peter Nettleton Moredun Research Institute BVDV science and implications for control. URL: http://www.foundation.mri.sari.ac.uk/pdf/Peter_Nettleton_BVD.pdf/ 19.08.2008.
101. Polak MP, Zmudsinki JF. Prevalance of bovine viral diarrhea virus infection in bulls in artificial insemination centers in Poland. Veterinary Microbiology. 1999;64:253-257.
102. Pritchard GC, Borland ED, Wood L, Pritchard DG. Severe disease in a dairy herd associated with acute infection with bovine virus diarrhoea virus, Leptospira harjo and Coxiella burnetii. Vet Rec. 1989;17;124(24):625-9.
103. Reichel MP, Hill FI, Voges H. Does control of bovine viral diarrhoea infection make economic sense? N Z Vet J. 2008;56(2):60-6.

104. Ribeiro-Niza J, Pereira A, Souza J, Maderia H, Barbosa A, Afonso C. Estimated BVDV prevalence, -contact and- vaccine use in dairy herds in Northern Portugal. Preventive Veterinary Medicine. 2005;72:81-85.
105. Rikula U, Nuotio L, Aaltonen T, Ruoho H. Bovine viral diarrhoea virus control in Finland 1998-2004. Preventive Veterinary Medicine. 2005;72:139-142.
106. Roeder PL, Harkness JW. BVD virus infection: Prospects of control. Vet Rec. 1986,118:44-48.
107. Roefs SPFM, Walstra P, Dalgleish DG, Horne DS. Preliminary note on the change in casein micelles caused by acidification. Neth Milk Dairy J. 1985;39:119–122
108. Sandvik T. Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. Veterinary Microbiology. 1999;64(2-3):123-134.
109. Schweizer M, Peterhans E. Noncytopathic bovine viral diarrhea virus inhibits double-stranded RNA-induced apoptosis and interferon synthesis. J Virol. 2001;75(10):4692-4698.
110. Siegwart N, Hilbe M, Hassig M, Braun U. Increased risk of BVDV infection of calves from pregnant dams on communal Alpine pastures in Switzerland. The Veterinary Journal. 2006;172:386–388.
111. Smith B. Bovine Virus Diarrhea;Mucosal Disease: Large Animal İnternal Medicine. Mosby Publications, 1996; 806-814.
112. Stahl K, Rivera H, Vagsholm I, Moreno-Lopez J. Bulk milk of testing for antibody seroprevalences to BVDV and BHV-1 in a rural region of Peru. Preventive Veterinary Medicine 2002;56:193–202.
113. Stokstad M, Brownlie J, Collins ME. Analysis of variation of bovine viral diarrhoea virus E2 sequence following transplacental infection of cattle. Vet Microbiol. 2004;102(3-4):141-5.
114. Tan TM, Karaoğlu T, Erol N, Yıldırım Y. Serological and Virological Investigations of Bovine Viral DiarrhoeaVirus (BVDV) Infection in Dairy Cattle Herds in Aydın Province. Turk J Vet Anim Sci. 2006;30:299-304.
115. Tarry DW, Bernal L, Edwards S. Transmission of bovine virus diarrhoea virus by blood feeding flies. Vet Rec. 1991;128:82-84.
116. Traven M, Alenius S, Fossum C, Larsson B. Primary bovine viral diarrhoea virus infection in calves following direct contact with a persistently viraemic calf. J Vet Med. 1991;38:453-462.
117. Tremlay R: Transmission of bovine viral diarrhea virus. Veterinary Medicine.1996; 858-66.
118. Underdahl NR, Grace OD, Horlein AB. Cultivation of a cytopathogenic agent from bovine mucosal disease. Proc Soc Exp Biol Med. 1957;94:795-797.
119. Valle PS, Martin SW, Skjerve E. A hierarchical trend model for bovine virus diarrhoea virus (BVDV) sero-conversion in Norwegian dairy herds from 1993 through 1997, Preventive Veterinary Medicine. 2000;47:39-52.
120. Valle PS, Martin SW, Skjerve E.A Bayesian approach to estimating the performance of a bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antibody ELISA bulk-tank milk test , Preventive Veterinary Medicine. 2001;50:71-87.
121. Van Oırschot JT. Congenital infections with nonarbo togaviruses. Vet Microbiol. 1983;8:321-361.
122. Van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, Maniloff J, Mayo MA, McGeoch DJ, Pringle CR, Wickner RB. Virus Taxonomy: Classification Nomenclature of Viruses. San Diago, Calif, Academic Press, 2000.
123. Weiland E, Ahl R, Stark R, Weiland F, Thiel HJ. A second envelope glycoprotein mediates neutralization of a pestivirus, hog cholera virus. J Virol. 1992;66(6):3677-82.
124. Wentink GH, Aarts T, Mirck MH, Van Exsel ACA. Calf from a persistently infected heifer born after embryo transfer with normal immunity to BVDV. Vet Rec. 1991;129:449-450.
125. Yamane D, Nagai M, Ogawa Y, Tohya Y, Akashi H. Enhancement of apoptosis via an extrinsic factor, TNF-α, in cells infected with cytopathic bovine viral diarrhea virus. Microbes and Infection. 2005;7:1482-1491.
126. Yıldırım Y, Burgu İ. Kuzeydoğu Anadolu bölgesindeki sığırlarda Mavi Dil (BT), IBR, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2005;52:113-117.
127. Zhang G, Aldridge S, Clarke MC, McCauley JW. Cell death induced by cytopathic bovine viral diarrhoea virus is mediated by apoptosis. J Gen Virol. 1996;77:1677-1681.

7.ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Konya ve Çevresinde Bulunan Süt Sığırcılığı İşletmelerindeki Hayvanlara Ait Kan ve Süt Serumlarında, Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV)'una Karşı Oluşan Antikorların ELISA İle Araştırılması

Gülcan Kayacan

Viroloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2008

Bovine Viral Diarrhea (BVD), klinik ve patolojik açıdan reproduktif bozukluklar, konjenital anomaliler, abort, persiste enfekte buzağı doğumları, erken embriyo ölümleri ve mumifikasyon gibi varyasyonlara sahip dünya üzerindeki sığır endüstrisinde büyük kayıplara neden olan sığırların multisistematik bir enfeksiyonudur. Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV)' unun kontrol ve eradikasyonu veteriner hekimler için günümüzde yetiştiricilikte hala problem olarak varlığını sürdürmektedir.

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 hayvanlar daha sonra virolojik olarak test edilerek persiste enfekte hayvanların sürüden uzaklaştırılması gerekmektedir.

Araştırmada, Konya ili çevresinde bulunan çeşitli süt sığırcılığı işletmelerindeki hayvanlardan 480 kan ve 480 süt olmak üzere toplam 960 adet örnek toplandı. Vakumlu kaoline tüplere alınan kan örnekleri ve steril cam tüplere alınan süt örneklerinde BVDV' una spesifik antikorların varlığını araştırmak için ticari olarak satılan Institut Pourquier ELISA BVD p80 Antikor (Süt serumu) ve Institut Pourquier ELISA BVD p80 Antikor (Kan serumu) kitleri kullanıldı.

Kit prosedüründe bildirildiği şekilde kan serumu örneklerine uygulanan ELISA sonucunda 480 adet hayvanın 435 tanesi pozitif olarak belirlenirken 6 adedi şüpheli, 39 adedi de negatif olarak belirlendi. Süt serumu örnekleri ile yapılan test sonucunda da 431 adedi pozitif, 49 adedi negatif olarak değerlendirildi. Kan serumu örnekleri ve süt serumu örnekleri ile yapılan test sonucunda seropozitiflik sırasıyla %90.63 ve %89.79 olarak tespit edildi. Kan ve süt serumlarına ait sonuçların bu kadar yakın olması serolojik testlerde süt serumu kullanımının, hem hayvanların refahı için hem de araştırıcı için örneklemenin kolay ve ucuz olmasından dolayı kan serumuna alternatif bir method olarak tercih edilebileceğini göstermektedir. Araştırma sonucunda seronegatif olarak değerlendirilen hayvanlar ilerleyen çalışmalarda virolojik yönden de test edilecektir.

Anahtar Sözcükler: Bovine Viral Diarrhea Virus; ELISA; persiste enfekte hayvan.

8. SUMMARY

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Investigation of Antibodies To Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) From Sera Of Blood and Milk By ELISA In Dairy Farms Located In Konya and Its Surroundings

Gülcan Kayacan

Department of Virology

MASTER THESIS / KONYA-2008

Bovine Viral Diarrhea which is a multisistematic infection has clinic and pathologic variations such as reproductive defects, congenital abnormalities, abortions, persistent infection, embryo deaths and mumifications. BVDV infection causes big economic losses in cattle industry worldwide. Control and eradication of the infection is a problem for both veterinaries and the sector.

In an eradication of procedure, animals must be checked serologically and virologically in terms of BVDV infection. Firstly, animals must be controlled for serologically and than seronegative animals must be tested virologically. Finally persistently infected animals must be taken away from the herd.

For this purpose, 480 milk and 480 blood serum samples were collected from different dairy farm in Konya and its provinces. While blood serum samples were being collected in chaoline tubes, milk samples were collected in glass tubes. These samples were tested with Institut Pourquier ELISA BVD p80 Antibodies (Milk) ve Institut Pourquier ELISA BVD p80 Antibodies (Sera).

According to blood serum samples' results, 435 animals were seropositive, 6 animals were suspicious, 39 animals were seronegative. Results for milk samples, 431 animals were seropositive, 49 animals were seronegative. The seropositivity rates from milk and blood
serum samples were detected as %90.63 and % 89.79.

As a result , to use milk samples can be preferred instead of blood serum samples. Since collecting sample is easier and cheaper than taking blood for sampling purposes, this method can be an alternative for being more acuptable in the point of animal welfare issues.

Keywords: Bovine Viral Diarrhea Virus; ELISA; Persistently infected animal.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı, Soyadı: Gülcan Kayacan
Doğum yeri ve Tarihi: İzmir, 14 Ağustos 1983
İletişim:
Adres: S.Ü. Veteriner Fakültesi Alaaddin Keykubat kampusü
Tel: 0332 2232719
Cep tel: 0542 2406840
E-posta: gulcankayacan@gmail.com

Eğitim:

İlkokul	1989-1994	Orhangazi İlköğretim Okulu, İzmir
Ortaokul	1994-1997	Agah Efendi İlköğretim Okulu, İzmir
Lise	1997-2001	İzmir Karataş Süper Lisesi, İzmir
Lisans	2001-2005	Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Branşı)
Yüksek Lisans	2005-2008	Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı

Sertifikalar ve Deneyimler:

- İstanbul Üniversitesi Genetik Kongresi 16-19 Şubat 2003.
- İngilizce: Ankara Üniversitesi TÖMER Dil Eğitim Merkezi Derece:84
- İbn-i Sina Hastanesi İntaniye Bölümü ELISA, Bakteriyoloji, Mikroelisa ve Biyokimya Laboratuvarları'nda Yaz stajı 2004.
- Web Sayfa Tasarımcılığı Sertifikası, BELTEK, 2004.
- Akademik Personel ve Lisansüstü Eğitimi Giriş Sınavı (ALES) puanı: 72 (Sayısal, Kasım 2006).
- Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı (ÜDS) puanı: 60 (İngilizce, Mart 2008).
- Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası: S.Ü. Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi - 09.02.2008
- 19. Ulusal Biyofizik Kongresi Katılım Sertifikası: S.Ü. Meram Tıp Fakültesi 07.09.2007

Bilgi ve Beceriler:

Bilgisayar: MS Windows 3.xx/98/XP/Vista, MS Frontpage, MS PowerPoint, MS Word, MS Excel.

Staj Yaptığı Kurumlar

- **Ankara Üniversitesi Hastanesi İntaniye Bölümü**

Bakteri kültürü ekimi, okuma, değerlendirme, ELISA testlerinin yapılması, Antibiyogram

- **06.2002-09.2002 Özel Ercan Olut Mikrobiyoloji Laboratuvarı**

Bakteri kültür ekimi, okunması, değerlendirilmesi, Biyokimyasal testlerin yapılması.