



## ARAŞTIRMA MAKALESİ

### Sütçü sığırların kan ve süt serumlarında Bovine Viral Diarrhea Virus antikorlarının ELISA ile belirlenmesi

Sibel Yavru<sup>1</sup>, Atilla Şimşek<sup>1</sup>, Mehmet Kale<sup>2</sup>, Oya Bulut<sup>1</sup>, Orhan Yapıcı<sup>1,3</sup>,  
Oğuzhan Avcı<sup>1\*</sup>, Irmak Dik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji ABD, 42003, Konya, <sup>2</sup>Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji ABD, 15100, Burdur, Türkiye, <sup>3</sup>Türkiye-Kırgızistan Manas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Bişkek, Kırgızistan  
Geliş: 05.02.2013, Kabul: 08.03.2013

\*oavci@selcuk.edu.tr

#### Özet

**Yavru S, Şimşek A, Kale M, Bulut O, Yapıcı O, Avcı O, Dik I.** Sütçü sığırların kan ve süt serumlarında Bovine Virus Diarrhea Virus antikorlarının ELISA ile belirlenmesi. **Eurasian J Vet Sci, 2013, 29, 2, 97-102**

**Amaç:** Bu çalışma kan ve süt serumlarının Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) antijen varlığı ve BVDV'ye karşı gelişen antikorların tespit edilmesi amacıyla yapıldı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada toplam 202 adet sığır kan ve süt serum örnekleri kullanıldı. Çiftliklerden elde edilen serum örnekleri BVDV antijen varlığı yönünden direkt Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile BVDV'ye karşı gelişen antikor varlığı yönünden ise indirekt ELISA ile incelendi.

**Bulgular:** 167 adet (%82.6) kan serumu ve 160 adet (%79.2) süt serum örneği BVDV antikorları yönünden pozitif belirlendi. Araştırmada 148 adet (%73.2) hayvandan alınan hem kan hem de süt serumu pozitif bulundu. 19 adet (%9.4) hayvanın sadece kan serumu BVDV antikor pozitif belirlenirken, 12 adet (%5.94) hayvanın ise sadece süt serumu antikor pozitif tespit edildi. İncelenen kan ve süt serum örneklerinde, BVDV antijen varlığı tespit edilmedi.

**Öneri:** Kan ve süt serumu indirekt ELISA değerlerinin benzer tespit edilmesi ( $P>0.05$ ) BVDV'nin serolojik teşhisinde kan serumu yerine süt serumu örneklerinin kullanılabilmesini ortaya koymaktadır. Bu çalışmada hem kan hem de süt serum örneklerinde BVDV antijen varlığı tespit edilmemiş olmakla birlikte antijen tespiti amacıyla rutin teşhiste lökosit örneklerinin yerine kan ve/veya süt serum örneklerinin kullanılabilmesi için daha kapsamlı araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Kan, süt, serum, BVDV, ELISA

#### Abstract

**Yavru S, Simsek A, Kale M, Bulut O, Yapici O, Avcı O, Dik I.** Detection of Bovine Viral Diarrhea Virus antibodies in blood and milk serum in dairy cattle by ELISA. **Eurasian J Vet Sci, 2013, 29, 2, 97-102**

**Aim:** The aim of this study was to detection of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) antigens and determine of antibodies against BVDV in blood and milk serum.

**Materials and Methods:** Totally 202 cattle blood and milk sera samples were used. Samples obtained from herds were analyzed for the detection of BVDV antigens by direct Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and for determine the presence of antibodies against BVDV by indirect ELISA.

**Results:** While 167 of blood serum (82.6%) were positive for the presence of BVDV antibodies, 160 of milk serum samples (79.2%) were positive. In this study, 148 (73.2%) both blood and milk serum samples of same cattle were positive for BVDV antibodies. Only 19 (9.4%) blood serum of cattle was detected positive for BVDV, while only 12 (5.94%) milk serum was seropositive. No positive result to be determined for BVDV antigens in any blood or milk serum samples.

**Conclusion:** Determined similar indirect ELISA results of blood and milk sera ( $P>0.05$ ) may be suggest that milk sera can be used in determine of serological diagnosis of BVDV instead of blood sera. Further research is needed in order to achieve using blood and/or milk serum samples presence of BVDV antigens instead of leukocytes samples in routine diagnosis, even though not detect the presence of BVDV antigen in blood and milk serum samples in this study.

**Keywords:** Blood, milk, serum, BVDV, ELISA



## Giriş

Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) enfeksiyonu, diyare ve sindirim sisteminin eroziv lezyonları ile karakterize, ölümcül hastalık ve akut salgınlarla ilişkili olarak tanımlanmaktadır. BVDV enfeksiyonu ile ilgili yaygın hastalık spektrumu, immunsupresyon, repeat breeder problemleri, abort ve mumifikasyon, kongenital defektler, immunolerans, persiste enfeksiyon (PI) ve mukozal disease (MD)'i içine almaktadır (Kirkland ve ark 1991, Mockeliuniene ve ark 2004, Zoth ve Taboga 2006, Reimann ve ark 2007, Kale ve ark 2011). BVDV enfeksiyonu, %50-90 arasında değişen prevalans ile dünyada yaygındır (Howard ve ark 1985, Zemke ve ark 2010).

BVDV, *Flaviviridae* familyasının *Pestivirus* alt grubunda yer almaktadır (Hewicker- Trautwein ve Trautwein 1994, Brusckhe ve ark 1996, Potgieter 1997, Liebler-Tenorio ve ark 1997, Zoth ve Taboga 2006). BVDV, Avrupa domuz vebası ve koyunların Border Disease Virus (BDV)'u ile yakın antijenik ilişki içerisinde. En küçük RNA virüsleri arasında yer alan etken tek iplikçiklidir ve 12.5 kb moleküler ağırlığa sahiptir (Collett ve ark 1989, Horzinek 1990, Brusckhe ve ark 1996, Laamanen ve ark 1997, Fauquet ve ark 2005). BVDV'nin değişik suşları antijenik olarak benzerlik gösterebilirken immünojenik olarak farklılıklar görülebilmektedir. BVDV izolatlarının hücre kültüründe sitopatojenik etki (CPE) meydana getirebilme kabiliyetleri değişkenlik göstermektedir. Virusun sitopatojen (cp) ve nonsitopatojen (ncp) suşları tespit edilmiştir (Fray ve ark 2000, Fulton ve ark 2005). Ncp BVDV suşunun tespitinde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), immunfloresan (IF) ve immunperoksidaz (IP) gibi teşhis teknikleri kullanılmaktadır (Meyers ve Thiel 1996, Saliki ve Dubovi 2004).

Enfeksiyonun epidemiyolojisinde en önemli olguların başında fetal enfeksiyonlar ve PI buzağı doğumları gelmektedir. Virus; enfekte hayvanlardan nazal akıntı, semen, idrar, gaita, gözyaşı akıntısı, kan, süt gibi sekret ve ekstremler ile saçılmaktadır (Cutlip ve ark 1980, Bolin ve ark 1985, Meyling ve ark 1990, Potgieter 1997, Fredriksen ve ark 1999, Passler ve ark 2007). Virusun ayrıca embriyo transferi, kontamine aşılarda kan emici sinekler, fetal membranlar, persiste viremik hayvanlar ve sığırlar dışındaki ruminantlar vasıtası ile de saçıldığı bildirilmiştir (Meyling ve ark 1990, Loken ve ark 1991, Houe ve ark 1995, Taylor ve ark 1995, Vilcek ve ark 1997, Passler ve ark 2007).

Tüm pestiviruslar benzer konakçı spektrumuna sahiptirler. BVDV'nin doğal konakçıları arasında sığır, domuz, koyun, keçi ve vahşi ruminantlar yer almaktadır (Nettleton ve ark 1980, Doyle ve Heuschele 1983, Moennig ve ark 1990, Krametter-Froetscher ve ark 2007).

Diğer testler ile karşılaştırıldığında daha ucuz olması, daha hızlı sonuç elde edilmesi gibi avantajlarından dolayı BVDV'nin teşhisinde ELISA kullanılmaktadır (Bulut ve ark 2006, Duman ve ark 2009, Tavella ve ark 2012, Lanyon ve ark 2013).

Bu çalışma kan ve süt serumlarının BVDV antijen varlığı yönünden incelenmesi; BVDV'ye karşı gelişen antikorların tespit edilmesi ve kan serumu yerine süt serumu örneklerinin kullanılıp kullanılmama-

yacağına belirlenmesi amacıyla yapıldı.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmada, Konya ve çevresindeki 8 adet özel süt sığırcılığı işletmesindeki, BVDV'ye karşı aşı uygulaması yapılmamış, 202 adet Holştayn ırkı inek çalışma materyali olarak kullanıldı. Araştırmada kullanılan hayvan sayıları ve işletmelere göre dağılımları Tablo 1.'de özetlendi.

## ELISA

Araştırmada ticari olarak temin edilen BVDV antikor ELISA (Institut Pourquier, Fransa) ve BVDV antijen ELISA (Idexx, BVDV Ag/Serum plus test, ABD) kitleri kullanıldı. Kan numuneleri, ineklerin *V. jugularis*'lerinden 10 mL olacak şekilde serum separator jel içeren steril vakumlu tüplere (BD, Vacutainer®, ABD) alındı. Tüpler soğuk zincir altında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı laboratuvarlarına getirildi. 3000 devirde 10 dk santrifüj edildikten sonra serumlar eppendorf tüplere aktarıldı. Kan serum örnekleri 56 °C'de 30 dk bekletilerek inaktive edildi ve test edilinceye kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Steril cam tüplere 10 ml alınan süt örneklerinin üzerine 0.2 mL rennin ve 0.1 mL sature edilmiş (doymuş) CaCl<sub>2</sub> ilave edildikten sonra 37 °C'de 1 saat inkubasyona bırakıldı. Inkubasyon süresi sonunda 3000 devirde 20 dk santrifüj edildikten sonra krema tabakası uzaklaştırıldı. Serum elde edildikten sonra 56 °C'de 30 dk benmaride inkube edilerek inaktivasyonu sağlandı. Süt serum örnekleri test edilinceye kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Test, kit içerisinde bildirilen prosedüre uygun olarak yapıldı. Mikropleytler optik dansite (OD) değeri 450 nm'ye ayarlanmış ELISA reader (Rayto RT-2100C) ile okundu. Belirlenen absorbans değerleri, her serum için antikor inhibisyon yüzdesi aşağıda belirtilen formüle göre hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\text{Örneklerin OD değeri/negatif OD değeri} \times 100}{\text{OD değeri}}$$

*Kan ve süt serumları için indirekt ELISA'nın geçerliliği ve yorumlanması*

Negatif kontrol OD değeri > 0.800;

Pozitif kontrolün OD değeri < %20 NK.

Tablo 1: Kan ve süt serum örneklerinin toplandığı işletmeler.

İşletme numarası	Kan serumu örnekleri	Süt serumu örnekleri
1	23	23
2	25	25
3	28	28
4	22	22
5	20	20
6	33	33
7	24	24
8	27	27
<b>Toplam</b>	<b>202</b>	<b>202</b>



Tablo 2. Aynı işletmeye ait kan ve süt serumu örneklerinin indirekt ELISA sonuçları.

İşletme numarası	Kan ve süt serumu örnekleri	Pozitif kan serumu (%)	Pozitif süt serumu (%)	P değeri*
1	23	20 (%86.9)	17 (%73.9)	0.265
2	25	22 (%88.0)	20 (%80.0)	0.440
3	28	25 (%89.2)	22 (%78.5)	0.275
4	22	19 (%86.3)	18 (%81.8)	0.680
5	20	17 (%85.0)	16 (%80.0)	0.677
6	33	28 (%84.8)	23 (%69.6)	0.142
7	24	22 (%91.6)	20 (%83.3)	0.383
8	27	24 (%88.8)	24 (%88.8)	1.00
Toplam	202	167 (%82.6)	160 (%79.2)	0.375

\*Aynı gruba ait kan ile süt serumu arasında istatistiki fark tespit edilmedi ( $P>0.05$ ,  $X^2$  test).

Kan serum örneğinin yüzdesi %50'den büyük veya eşit ise BVDV'ye spesifik antikor taşımadığı, %40 ile %50 arasında ise şüpheli, %40'dan düşük veya eşit ise BVDV'ye spesifik antikor taşıdığına karar verildi. Süt serum örneğinin yüzdesi %80'den büyük veya eşit ise BVDV spesifik antikorlarını taşımadığı; %80'dan düşük ise BVDV spesifik antikorları taşıdığına karar verildi.

#### Kan ve süt serumları için direkt ELISA'nın uygulanması

Test, kit içerisinde bildirilen prosedüre uygun olarak yapıldı.

#### İstatistik

Araştırmanın sonuçları ki-kare ( $X^2$ ) testi ile değerlendirildi (Minitab 14.0 Inc., State College, PA, USA).  $P<0.05$  değeri istatistiki açıdan önemli kabul edildi.

#### Bulgular

Kan ve süt serumu örneklerinden elde edilen indirekt ELISA sonuçları Tablo 2.'de özetlendi. İşletmelerde BVDV antikor varlığının tespiti amacıyla kan veya süt örneklerinin kullanılması arasında herhangi bir fark tespit edilmedi ( $P>0.05$ ). Direkt ELISA ile incelenen örneklerin hiçbirisinde BVDV antijen varlığı belirlenmedi.

#### Tartışma

Süt sığırcılığı işletmelerinde, BVDV'nin neden olduğu enfeksiyonların ya da reenfeksiyonların önlenmesi BVDV'ye karşı alınacak etkili profilaksi ile mümkündür. BVDV enfeksiyonlarına karşı; epidemiyolojik, diagnostik ve virolojik teknikler sonrasında elde edilecek veriler ile etkili bir kontrol programı oluşturulabilir (Duffel ve Harkness 1985).

BVDV enfeksiyonlarının kontrol stratejisi çalışmalarında, kolay uygulanması ve hassasiyetinden dolayı immün enzimatik testler tercih edilerek kullanılmaktadır (Chu ve ark 1985, Juntii ve ark 1987, Cho ve ark 1991, Canal ve ark 1998, Kramps ve ark 1999). BVDV suşlarına karşı oluşan antikorların büyük bir kısmı NS2-3 proteinine kar-

şı hazırlanan ELISA'lar ile tespit edilebilmektedir (Collett 1992). Bununla birlikte ELISA, kan serum örneklerinde olduğu kadar süt serumu için de hassasiyeti ve spesifitesi açısından oldukça güvenilir bir testtir. Hayvanlarda daha az stres yaratarak kolayca alındığı için, araştırmalarda süt serumu örneklerinin kullanılması avantaj sağlamaktadır (Beaudeau ve ark 2001a). BVDV'ye karşı oluşan antikor varlığının belirlenmesi; BVDV'den arı ve/veya aktif enfeksiyondan şüphelenilen sürülerin tespit edilmesinde ELISA çok değerli bir araç olarak tanımlanır (Niskanen ve ark 1991, Bitsch ve Ronsholt 1995). İskandinav ülkelerinde BVDV'nin kontrol ve eradikasyon programlarında enfekte olmamış sürülerin gözlemlenmesi ve enfeksiyonun identifiye edilmesi amacıyla uygulanan ELISA için daha çok süt örnekleri kullanılmaktadır (Lindberg ve Alenius 1999).

BVDV enfeksiyonunda viremik sığırlar genellikle seronegatiflerdir. Ancak PI bir hayvanın, antijenik olarak farklı BVDV suşu ile süperenfeksiyonu sonucu ya da aşılama durumunda tip spesifik immün cevap gelişebilmektedir. Bu durum sadece grup spesifik antikorları ölçen bir test uygulanırsa gözden kaçabilir. Bu nedenle Westenbrink ve ark (1986) ELISA'nın daha hassas olduğunu ifade etmişlerdir.

Beaudeau ve ark (2001b) bireysel süt örneklerine uyguladıkları ELISA ile Virus Nötralizasyon Testi (VNT) arasında hassasiyet ve spesifite (sırasıyla %95 ve %97.7) yönünden yüksek bir uyum tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Niskanen ve ark (1989) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, kan serum örnekleri ile süt serum örneklerini indirekt ELISA ile incelemişler, kan serumu ve süt serumundaki antikor titreleri arasında yakın bir korelasyon elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Beaudeau ve ark (2001b) süt ELISA'nın bireysel süt örneklerinde BVDV antikorlarının tespiti ve titresinin belirlenmesi için çok hızlı ve güvenilir bir metot olduğunu ifade etmişlerdir.

Beaudeau ve ark (2001a) İngiltere'de 42 adet sütçü işletmeden topladıkları 1189 adet süt ve kan serumunu ELISA ile incelemişler ve referans test olarak kullandıkları VNT ile sensitivite ve spesifitelerini karşılaştırmışlardır. ELISA ile inceledikleri süt serum örneklerinin spesifite ve sensitiviteyi sırasıyla %96.9 ve %97.8, kan serum



örneklerinde ise %96.9 ve %97.3 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar (2001a) ELISA ile incelenen kan ve süt serumları arasında mükemmel bir uyum tespit etmişlerdir.

Niskanen ve ark (1989) 139 adet inekten topladıkları süt ve kan serumlarını ELISA ile serolojik olarak incelemişler, kan serumları için uyguladıkları indirekt ELISA'nın IgG antikorlarının tespiti için duyarlı bir metot olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca sığır sütünde predominant IgG izotipinin IgG olması (Güngör 2006) nedeniyle sütte BVDV antikorlarının tespiti için indirekt ELISA'nın oldukça uygun bir metot olduğunu bildirmişlerdir (Niskanen ve ark 1989).

Kramps ve ark (1999) rastgele örnekleme yöntemi ile elde ettikleri saha serum örneklerinin incelenmesi için ELISA'nın oldukça kolay ve güvenilir bir test olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar (1999) 168 adet süt örneği ile aynı hayvanların kan serumlarını blocking ELISA ile karşılaştırmışlar, sensitivite ve spesifitelerini sırasıyla %65 ve %100 olarak belirlemişler ve bireysel süt örneklerinde buldukları düşük sensitiviteyi, sütte bulunan immunglobulin (Ig) seviyesinin kan serumundakinden 20-40 kat daha az olması ile açıklamışlardır.

ELISA ile süt serumunda tespit edilen antikor varlığı, BVDV enfeksiyonlarının durumunu ortaya koyabildiği gibi, enfekte ve enfekte olmayan sürülerin ayırımı da yapabilmektedir (Beaudeau ve ark 2001b). Tank sütü sonuçları sürü içerisinde enfekte hayvanların varlığını göstermesinin yanı sıra (Niskanen 1993), sürüde PI buzağularının olabileceğini, bu nedenle buzağuların bireysel kontrollerinin yapılması gerektiğini de ortaya koyar (Bitsch ve Ronsholt 1995).

Bock ve ark (1986), 886 adet sığır kan serumu örneğini BVDV antikor varlığı yönünden Serum Nötralizasyon Testi (SNT) ve ELISA ile karşılaştırmalı olarak incelemişler ve her iki test arasında %96.3 oranında benzer sonuç elde ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca BVDV ile deneysel olarak enfekte ettikleri 6 buzağıdan farklı günlerde aldıkları kan serum örneklerini aynı testlerle enfeksiyon yönünden incelemişlerdir. Araştırmacılar (1986), enfekte ettikleri buzağularda (üç adet) ELISA ile 7. günden itibaren antikor varlığı tespit edilebilirken, SNT ile 14. günde bile antikor belirleyemediklerini ve enfeksiyonun seyri sırasında gelişen erken dönem antikorların tespitinde ELISA'nın SNT'den daha hassas olduğunu bildirmişlerdir.

Niskanen ve ark (1991) 15 sütçü işletmeden 1 yıl ara ile aldıkları süt numunelerini BVDV'ye karşı oluşan antikor varlığı yönünden indirekt ELISA ile incelemişlerdir. Araştırmacılar (1991) ilk örneklemede %45.5 (188/413), ikinci örnekleme de ise %46.2 (191/413) seropozitivite belirleyerek, sütçü işletmelerde BVDV enfeksiyonunun teşhisinde süt örneklerinin kullanılabilmesini ifade etmişlerdir.

Bu çalışmada, Konya ve çevresindeki 8 adet özel süt sığırcılığı işletmesinden sağlanan 202 adet kan ve süt serumu örneği BVDV'ye karşı oluşan antikor varlığı yönünden indirekt ELISA ile kontrol edildi. 167 adet (%82.6) kan serumu ve 160 adet (%79.2) süt serumu örneği seropozitif belirlendi (Tablo 2). Araştırmada 148 adet (%73.2) hayvandan alınan hem kan hem de süt serumu birbiriyle uyumlu olarak seropozitif bulundu. Ayrıca 19 adet (%9.4) hayvanın sadece kan serumu, 12 adet (%5.94) hayvanın ise sadece süt serumu seropozitif

tespit edildi. 24 adet (%11.4) hayvanın ise hem kan hem de süt serumu BVDV yönünden seronegatif olarak belirlendi.

Stahl ve ark (2002) BVDV enfeksiyonundan şüphelenilen sığırcılık işletmelerinde sürü bazında BVDV antikor düzeyinin ELISA ile belirlenebilmesi için süt örneklerinin kullanılabilmesini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar (2002) testin sensitivitesini %85, spesifitesini ise %97 olarak bildirmişlerdir. Niskanen (1993) 123 adet sütçü inekten oluşan bir sürüde antikor pozitif ineklerin sürü prevalansı ile tank sütlerindeki antikor varlığı arasında yakın bir ilişkinin bulunduğunu belirtmiştir. Valle ve ark (2001) çok büyük sürülerde BVDV prevalansının tespiti ve BVDV kontrol programlarının geliştirilmesi amacıyla özellikle süt örneklerinin (tank) oldukça faydalı ve pratik bir araç olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar (2001), çalışmalarının sonucunda bir sürüde tank sütleri ile belirlenen antikor varlığının, sürü genelinde BVDV enfeksiyonunun prevalansı hakkında bilgi edinilmesinde yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, Konya ve çevresindeki 8 adet özel süt sığırcılığı işletmesinde kan serum örneklerinde BVDV seroprevalansının (%84.8-91.6) birbirine oldukça yakın olduğu belirlendi. Ancak hayvanlardan aynı anda alınan süt serum örneklerinde bu oran %69.6- %88.8 arasında tespit edildi. Araştırmada örnekleme yapılan hayvanlar BVDV yönünden aşılı değildi. Bu nedenle belirlenen seropozitivite oranları sürülerde enfeksiyonun varlığını göstermiştir.

Kan sirkülasyonunda bulunan antikorlar (IgG) meme bezlerini besleyen damarlardan süzülerek süte geçmekte ve süt ile dilue olmaktadır. Ayrıca sağım ile süütün memeyi terk etmesine bağlı olarak antikorların da sütle birlikte sürekli dışarıya çıkması ile antikor miktarı kandakine göre sütte daha düşük düzeyde bulunabilmektedir. Özellikle laktasyon periyodu boyunca süt serumunda BVDV antikor titresinin kan serumuna göre daha düşük tespit edildiği bildirilmiştir (Niskanen ve ark 1989). Süt serum örneklerindeki seropozitivite oranının (%79.2) kan serum örneklerindeki (%82.6) göre daha düşük tespit edilmesi, örnekleme yapılan işletmelerde yüksek süt verimine sahip hayvanların bulunması ile açıklanabilir.

Süt üretimi ve sütteki BVDV antikor seviyesindeki bu ters ilişkiye rağmen, süt örnekleri epidemiyolojik çalışmalarda tercih edilerek kullanılmaktadır. Özellikle her gün sağılan hayvandan süütün kolay elde edilmesi ve kan alımı sırasında hayvanda yaratılan stres faktörünün ortadan kaldırılması gibi nedenlerden dolayı araştırmalarda kan örnekleri yerine süt örneklerinin kullanımı tercih edilmektedir. Bu nedenle son yıllarda, BVDV enfeksiyonunun tanısında kan örneklerinin yanı sıra süt örnekleri de yaygın olarak kullanılmaktadır (Houe ve ark 2006).

Sonuç olarak, sürüdeki tüm hayvanlar virusa karşı oluşan antikor varlığı yönünden düzenli olarak kontrol edilmelidir. Seronegatif hayvanların viral antijen varlığı açısından belirli periyotlarla araştırılması PI hayvanların tespiti için oldukça önemlidir. Özellikle sürüye yeni hayvan alınmadan önce bu kontrollerin yapılması, satın alındıktan sonra şartların uygun olması halinde bir müddet karantinada tutulduktan sonra sürüye dahil edilmesi önemli bir noktadır. İşletmedeki hayvanların BVDV enfeksiyonu yönünden durumunun belirlen-





mesinde, süt örnekleri ile yapılacak kontrollerde, uygun laktasyon periyodundaki hayvanların örnekleme için seçilmesinin önemli olduğu unutulmamalıdır.

### Öneriler

Bu çalışma, istatistiki açıdan kan ve süt antikor ELISA değerlerinin benzer tespit edilmesi ( $P>0.05$ ) nedeni ile BVDV'nin serolojik teşhisinde kan serumu yerine süt serumu örneklerinin kullanılabilceğini ortaya koymuştur. Kan ve süt serumu örneklerinde BVDV antijen varlığı belirlenmemiş olsa bile, antijen tespiti amacıyla rutin teşhiste lökosit örneklerinin yerine kan ve/veya süt serum örneklerinin kullanılabilmesi için daha kapsamlı araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

### Teşekkür

Mevcut araştırmanın bir kısmının özeti X. Ulusal Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji 2012 kongresinde sunuldu. Özet kongre kitapçığında basıldı.

### Kaynaklar

- Beaudeau F, Belloc C, Seegers H, Assie S, Sella E, Joly A, 2001a. Evaluation of a blocking ELISA for the detection of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) antibodies in serum and milk. *Vet Microbiol*, 80, 329-337.
- Beaudeau F, Belloc C, Seegers H, Assie S, Pourquier P, Joly A, 2001b. Informative Value of an Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the detection of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) antibodies in milk. *J Vet Med B*, 48, 705-712.
- Bitsch V, Ronsholt L, 1995. Control of bovine viral diarrhoea virus infection without application of vaccines. *Vet Clin N Am Food A*, 11, 627-640.
- Bock RE, Burgess GW, Douglas IC, 1986. Development of an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of bovine serum antibody to bovine viral diarrhoea virus. *Aust Vet J*, 63, 406-408.
- Bolin SR, McClurkin AW, Coria MF, 1985. Frequency of persistent bovine viral diarrhoea virus infection in selected cattle herds. *Am J Vet Res*, 46, 2385-2387.
- Bruschke CJ, Van Rijn PA, Moormann RJ, Van Oirschot JT, 1996. Antigenically different pestivirus strains induce congenital infection in sheep: a model for bovine virus diarrhoea virus vaccine efficacy studies. *Vet Microbiol*, 33-43.
- Bulut O, Yavru S, Yapıcı 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*, 18, 2, 18-24.
- Canal CW, 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. *Vet Microbiol*, 63, 85-97.
- Cho HJ, Masri SA, Deregt D, Yeo SG, Thomas EJ, 1991. Sensitivity and specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of bovine virus diarrhoea virus antibody in cattle. *Can J Vet Res*, 55, 56-59.
- Chu HJ, Zee YC, Ardans AA, Dai K, 1985. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus in bovine sera. *Vet Microbiol*, 10, 325-333.

- Collett MS, Moennig V, Horzinek MC, 1989. Recent advances in pestivirus research. *J Gen Virol*, 70, 253-266.
- Collett MS, 1992. Molecular genetics of pestiviruses. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 15, 145-154.
- Cutlip RC, McClurkin AW, Coria MF, 1980. Lesions in clinically healthy cattle persistently infected with the virus of bovine viral diarrhoea-glomerulonephritis and encephalitis. *Am J Vet Res*, 41, 1938-1941.
- Doyle LG, Heuschele WP, 1983. Bovine viral diarrhoea virus infection in captive exotic ruminants. *J Am Vet Med Assoc*, 183, 11, 1257-1259.
- Duffel SJ, Harkness JW, 1985. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. *Vet Rec*, 117, 240-245.
- Duman R, Yavru S, Kale M, Avcı O, 2009. Seroprevalence of viral upper respiratory infections in dairy cattle. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15, 539-542.
- Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA, 2005. Classification and nomenclature of viruses. In: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Eds; Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA, Elsevier Academic Press, San Diego, pp. 135-143, 981-998.
- Fray MD, Paton DJ, Alenius S, 2000. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Anim Reprod Sci*, 60-61, 615-627.
- Fredriksen B, Pres CM, Loken T, Odegaard SA, 1999. Distribution of viral antigen in uterus, placenta and foetus of cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. *Vet Microbiol*, 64, 109-122.
- Fulton RW, Briggs RE, Ridpath JF, Saliki JT, Confer AW, Payton ME, Duff GC, Step DL, Walker DA, 2005. Transmission of bovine viral diarrhoea virus 1b to susceptible and vaccinated calves by exposure to persistently infected calves. *Can J Vet Res*, 69, 161-169.
- Güngör Ö, 2006. Neonatal buzağular ve kolostrum. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 12, 103-108.
- Hewicker-Trautwein M, Trautwein G, 1994. Porencephaly, hydranencephaly and leukoencephalopathy in ovine fetuses following transplacental infection with bovine virus diarrhoea virus: distribution of viral antigen and characterization of cellular response. *Acta Neuropathol*, 87, 385-397.
- Horzinek MC, 1990. Bovine virus diarrhoea virus: An introduction. *Rev Sci Tech*, 9, 13-23.
- Houe H, Baker JC, Maes RK, Lloyd JW, Enevoldsen C, 1995. Comparison of the prevalence and incidence of infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in Denmark and Michigan and association with possible risk factors. *Acta Vet Scand*, 36, 521-531.
- Houe H, Lindberg A, Moennig V, 2006. Test strategies in bovine viral diarrhoea virus control and eradication campaigns in Europe. *J Vet Diagn Invest*, 18, 427-436.
- Howard CJ, Clarke MC, Brownlie J, 1985. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in cattle sera. *Vet Microbiol*, 10, 359-369.
- Juntti N, Larsson B, Fossum C, 1987. The use of monoclonal antibodies in blocking enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus. *J Vet Med*, 34, 356-363.
- 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. *J Vet Med Sci*, 73, 331-336.
- Kirkland PD, Richards SG, Rothwell JT, Stanley DF, 1991. Replication of bovine viral diarrhoea virus in the bovine reproductive tract and excretion of virus in semen during acute and chronic infections. *Vet Rec*, 128, 587-590.



- Krametter-Froetscher R, Kohler H, Benetka V, Moestl K, Golja F, Vilcek S, Baumgartner W, 2007. Influence of communal alpine pasturing on the spread of pestiviruses among sheep and goats in Austria: first identification of border disease virus in Austria. *Zoonoses Public Health*, 54, 209-213.
- Kramps JA, Van Manen C, Van de Wetering G, Stienstra G, Quak S, Brinkhof J, Ronsholt L, Nylin BA, 1999. Simple, rapid and reliable enzyme linked immunosorbent assay for the detection of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) specific antibodies in cattle serum, plasma and bulk milk. *Vet Microbiol*, 64, 135-144.
- Laamanen UI, Neuvonen EP, Yliviuhkola EM, Veijalainen PM, 1997. 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*, 63, 199-203.
- Lanyon S, Anderson M, Bergman E, Reichel M, 2013. Validation and evaluation of a commercially available ELISA for the detection of antibodies specific to bovine viral diarrhoea virus (bovine pestivirus). *Aust Vet J*, 91, 52-56.
- Liebler-Tenorio EM, Greiser-Wilke I, Pohlenz JF, 1997. Organ and tissue distribution of the antigen of the cytopathogenic bovine virus diarrhoea virus in the early and advanced phase of experimental mucosal disease. *Arch Virol*, 142, 1613-1634.
- Lindberg ALE, Alenius S, 1999. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Vet Microbiol*, 64, 197-222.
- Loken T, Krogsrud J, Larsen IL, 1991. Pestivirus infections in Norway. Serological investigations in cattle, sheep and pigs. *Acta Vet Scand*, 32, 27-34.
- Meyers G, Thiel HJ, 1996. Molecular characterization of pestiviruses. *Adv Virus Res*, 47, 53-118.
- Meyling A, Houe H, Jensen AM, 1990. Epidemiology of bovine virus diarrhoea virus. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 9, 75-93.
- Mockeliuniene V, Algirdas S, Raimundas M, Saulius P, 2004. Prevalence and epidemiological features of bovine viral diarrhoea virus infection in Lithuania. *Vet Microbiol*, 99, 51-57.
- Moennig V, Frey HR, Liebler E, Pohlenz J, Liess B, 1990. Reproduction of mucosal disease with cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus selected in vitro. *Vet Rec*, 127, 200-203.
- Nettleton PF, Herring JA, Corrigan W, 1980. Isolation of bovine virus diarrhoea virus from a Scottish red deer. *Vet Rec*, 107, 18, 425-426.
- Niskanen R, 1993. Relationship between the levels of antibodies to bovine viral diarrhoea virus in bulk tank milk and the prevalence of cows exposed to the virus. *Vet Rec*, 133, 341-344.
- Niskanen R, Alenius S, Larsson B, Juntti N, 1989. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to bovine virus diarrhoea virus in milk. *Zentralbl Veterinarmed B*, 36, 113-118.
- Niskanen R, Alenius S, Larsson B, Jacobsson SO, 1991. Determination of level of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in bulk tank milk as a tool in the diagnosis and prophylaxis of BVDV infections in dairy herds. *Arch Virol*, 3, 245-251.
- Passler T, Walz P, Ditchkoff S, Givens M, Maxwell H, Brock K, 2007. Experimental persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in white-tailed deer. *Vet Microbiol*, 122, 350-356.
- Potgieter LN, 1997. Bovine respiratory tract disease caused by bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 13, 471-481.
- Reimann I, Semmler I, Beer M, 2007. Packaged replicons of bovine viral diarrhoea virus are capable of inducing a protective immune response. *Virology*, 366, 377-386.
- Saliki JT, Dubovi EJ, 2004. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 20, 69-83.
- Stahl H, Rivera I, Vagsholm J, Moreno-Lopez K, 2002. Bulk milk testing for antibody seroprevalences to BVDV and BHV-1 in a rural region of Peru. *Prev Vet Med*, 56, 193-202.
- Tavella A, Zambotto P, Stifter E, Lombardo D, Rabini M, Robatscher E, Brem G, 2012. Investigation to the specificity of positive BVDV results in ear notch samples: review on the five-year-old experience in the autonomous province of Bolzano (Italy). *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 125, 326-331.
- Taylor LF, Van Donkersgoed J, Dubovi EJ, Harland RJ, van den Hurk JV, Ribble CS, Janzen ED, 1995. The prevalence of bovine viral diarrhoea virus infection in a population of feedlot calves in western Canada. *Can J Vet Res*, 59, 87-93.
- Valle PS, Wayne MS, Skjerve E, 2001. A Bayesian approach to estimating the performance of a bovine virus diarrhoea virus (BVDV) antibody ELISA bulk-tank milk test. *Prev Vet Med*, 50, 71-87.
- Vilcek S, Nettleton PF, Paton DJ, Belak S, 1997. Molecular characterization of ovine pestiviruses. *J Gen Virol*, 78, 725-735.
- Westerbrink F, Middel WGJ, Straver PJ, de Leeuw PW, 1986. A blocking enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for bovine virus diarrhoea virus serology. *J Vet Med*, 33, 354-361.
- Zemke J, Knig P, Mischkale K, Reimann I, Beer M, 2010. Novel BVDV-2 mutants as new candidates for modified-live vaccines. *Vet Microbiol*, 142, 69-80.
- Zoth CS, Taboga O, 2006. Multiple recombinant ELISA for the detection of bovine viral diarrhoea virus antibodies in cattle sera. *J Virol Methods*, 138, 99-108.

