

## **Bir Süt Sığırcılığı İşletmesinde Bovine Viral Diarrhoea (BVD) Virus Enfeksiyonunun Kontrol ve Eliminasyonu**

Kadir YEŞİLBAĞ\*      Gizem ALPAY\*      Pelin TUNCER\*

Geliş Tarihi: 07.09.2012  
Kabul Tarihi: 27.09.2012

**Özet:** Bovine viral diarrhoea (BVD) sindirim, solunum ve reproduktif sistem enfeksiyonlarına neden olması sebebiyle ekonomik önemi olan bir hastalıktır. Modern hayvancılık uygulamalarının temel hedeflerinden birisi de sürüde BVD virus enfeksiyonlarını kontrol altına almak ve elimine etmektir. Farklı yöntemler kullanılarak BVD'nin ülke çapında kontrol altına alındığı ya da eradike edildiği birçok örnek bulunmaktadır. BVD virus taşıyıcılarının (persiste enfekte hayvanlar) elimine edilmesi, aşılama, biyogüvenlik ve monitoring sistemlerinin uygulanması hastalığın kontrol ve eradikasyonunda takip edilen başlıca yöntemlerdir. Bu çalışmada, yeni kurulan ve BVDV enfeksiyonu saptanan süt sığırcılığı bir işletmede hastalık kontrol programının oluşturulması ve eliminasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sürü taramalarında ticari bir antijen ELISA yöntemi kullanılmış, pozitif olduğu belirlenen hayvanlardan virus izolasyonu yapılmıştır. Bu kapsamda toplam 400 hayvandan alınan kan örnekleri test edilmiş, pozitif sonuç veren hayvanlar 21 gün arayla ikinci kez örneklendirilerek persiste enfeksiyon yönünden kontrol edilmiştir. Çalışma sürecinde taranan düve ve erişkin sığırlarda % 1,27 (3/236) oranında akut enfeksiyon varlığı saptanırken persiste enfeksiyon belirlenmemiştir. İşletmede doğan buzağuların takibinde prekolostral veya 3 aylık yaşta alınan kan örnekleri kullanılarak %4.84 (8/164) oranında persiste enfekte buzağı doğumu belirlenmiştir. Persiste enfekte buzağuların ivedilikle sürüden ayrılması ve aşılama programının uygulanmasına bağlı olarak bir sonraki doğum döneminde sürüde persiste enfekte buzağı doğumlarının görülmediği belirlenmiştir. Bu çalışma ile persiste enfekte buzağuların takip edilerek ayıklanması ve aşılama çalışmalarının birlikte yürütülmesiyle sürü bazında BVDV eliminasyonunun başarıyla sağlanabildiği gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bovine Viral Diarrhoea, BVD, Eliminasyon, Persiste enfeksiyon.

### **Control and Elimination of Bovine Viral Diarrhoea Virus in a Dairy Herd**

**Abstract:** Bovine viral diarrhoea virus creates economically important concerns due to infection of gastrointestinal, respiratory and reproductive systems. One important target of modern animal husbandry is control and elimination of BVD virus infections in the herd. Several countries controlled and eradicated the disease by performing different strategies. Identification and elimination of BVD virus carriers (persistently infected animals), vaccination, biosecurity and monitoring are the main steps of control and eradication programmes. In this study, disease control and elimination were applied on newly established-BVDV infected dairy herd. Screening of the animals was performed by antigen ELISA and virus isolation was achieved from the antigen positive animals. For that purpose, blood samples from 400 animals were tested and antigen positive individuals were retested with 21 days intervals for identification of persistent infection animals. Although 1,27 % (3/236) of the heifers and cows were identified as acutely infected, no persistent infection was detected among those of animals. Calves were screened using blood samples either in precolostral stage or after 3 months of age. The rate of persistently infected calves born in the herd was 4.84% (8/164). Due to the urgent elimination of persistently infected calves and implementation of vaccination schedule, no PI hatchling was identified at the next calving period. In this study it was showed that BVDV elimination is successfully obtainable at herd level in Turkey by removal of PI animals concordantly applied with herd vaccination practices.

**Key Words:** Bovine Viral Diarrhoea, BVD, Elimination, Persistent infection.

---

\* Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı. kyesilbag@uludag.edu.tr

## Giriş

Bovine viral diarrhoea virusu (BVDV) sığırlarda yaygın olarak enfeksiyon oluşturan ve önemli ekonomik kayıplara neden olan patojenler arasındadır. Tek iplikçikli, zarflı ve pozitif anlamlı bir RNA virusu olan BVD virusu *Flaviviridae* ailesi içerisinde *Pestivirus* genusunda yer almaktadır. Virusun bugüne kadar tanımlanmış iki genotipi (BVDV-1, BVDV-2) vardır. BVDV suşları arasında genotipik özelliklerden bağımsız olarak sitopatojen ve non-sitopatojen biyotiplerin varlığı bilinmektedir. Hastalık epidemiyolojisi açısından önemli olan immunotolerre persiste enfeksiyon sadece non-sitopatojen BVDV suşları tarafından oluşturulmaktadır.

BVDV enfeksiyonu subklinik seyirli olabileceği gibi, ateş, diyare, süt veriminde ani azalma, fertilitate problemleri, oral, nasal akıntılar, ağız boşluğunda erozyon ve ülser gibi lezyonlar ve ölümcül mukozal hastalığa kadar değişen hastalık tablosuyla seyredabilmektedir. Hastalığın etkisi direkt olarak solunum, gastro-intestinal ve reproduktif sistem üzerine olabildiği gibi immun sistem üzerine etkileri de görülebilmektedir<sup>1</sup>. Transplasental enfeksiyonlarda abort, mumifikasyon, serebral hipoplazi ve mikroensefali gibi konjenital malformasyonlar ile gelişim geriliği, döl tutmama ve erken embriyonik ölümler gelişebilir<sup>20</sup>. Fötusun bağışıklık sisteminin henüz gelişmediği gebeliğin ilk 120 günlük döneminde non-sitopatojenik virus suşu ile enfeksiyonda persiste enfekte (PI) yavru doğumu ile karşılaşılabilir<sup>16</sup>. Yaşam boyu virus saçıcısı olan ve fenotip olarak farklılık görülmeyen PI hayvanlarda bağışıklık sistemi hasar gördüğü için bu hayvanlar diğer etkenlere karşı daha duyarlıdırlar.

Türkiye’de yapılan çalışmalarda BVDV-1 genotipine ait farklı altgrupların yaygınlığı ve BVDV-2 genotipinin varlığı gösterilmiştir<sup>13,33,34</sup>. Ülkemizde doğal konakçı olan sığır, koyun, keçi gibi evcil hayvanlar haricinde lama, ceylan, geyik gibi pek çok *artiodactyla* türlerinde de BVDV enfeksiyonu varlığı saptanırken<sup>31</sup>, seroprevalans dağılımlarının % 24.8- %96.04 arasında değiştiği gösterilmiştir<sup>4,14,27,32</sup>. Türkiye’deki süt sığırı işletmelerinde persiste enfeksiyon oranlarının %0,07-0,5 arasında olduğu saptanmıştır<sup>3,4,34</sup>. Ancak daha yüksek değerlerin bildirildiği çalışmalar da bulunmaktadır<sup>25</sup>.

BVDV enfeksiyonlarının sık görülmesi ve önemli ekonomik kayıplara yol açması nedeniyle birçok ülkede mücadele ve eradikasyon yöntemleri uygulanmaya başlanmıştır. Her ne

kadar persiste enfekte hayvanların saptanması ve eliminasyonu BVDV mücadele programlarının temelini oluştursa da seçilecek yöntem hayvan yoğunluğu ve hastalık prevalansına göre değişmektedir. BVDV mücadelesinde üzerinde durulan temel unsurlar; persiste enfekte hayvanların belirlenmesi ve eliminasyonu, aşılama yoluyla bağışıklık geliştirilmesi, duyarlı hayvanlara yayılımın engellenmesi için biyogüvenlik kurallarının uygulanması ve yeni enfeksiyonların takip edilmesidir<sup>2</sup>. Persiste enfekte hayvanların eliminasyonuna hayvanlar sürüye dâhil edilmeden başlanmalıdır. Sürüye yeni katılacak hayvanların sürüden 3 hafta ayrı barındırılması, yine gebe hayvanlar ayrı yerde barındırılarak yavrularının BVDV yönünden negatif oldukları belirlendikten sonra sürüye dahil edilmeleri, Persiste BVDV enfeksiyonu yönünden negatif olduğu belirlenmiş boğalar ya da semenlerinin kullanılması uygulanması gereken başlıca yöntemler olarak sayılabilir<sup>29,30</sup>.

Sahada virus sirkülasyonunun ve re-enfeksiyonun önlenmesi dışında, uygulanan aşılanmanın esas amacı transplasental BVDV enfeksiyonunun ve böylece gelişebilecek persiste enfeksiyonun engellenmesidir<sup>15</sup>. Sığır popülasyonunun az olduğu bazı ülkeler aşılama ihtiyacı duymadan BVDV kontrolü ya da eradikasyonunu başarıyla gerçekleştirmiştir<sup>8,17,28</sup>. Hayvan yoğunluğu dolayısıyla seroprevalans değerlerinin yüksek olduğu bölgelerde ise geniş çaplı aşı uygulamaları önerilmektedir. Bu bölgelerde PI hayvanların azaltılması ile ekonomik kayıpların en aza indirilmesi daha pratik bir yaklaşımdır<sup>30</sup>.

Bu çalışmada, yeni kurulan ve daha önce BVD aşısı uygulanmamış bir süt sığırı işletmesinde BVDV enfeksiyonu varlığının incelenmesi ve kontrol-eliminasyon programı uygulanması amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metod

### Hayvanlar ve Teşhis Materyalleri

Çalışma, Bursa’da bulunan ve yeni kurulan bir süt sığırı işletmesinde gerçekleştirilmiş olup sürü 2010-2011 yıllarında takip altına alınmıştır. Başlangıç aşamasında sürüdeki hayvanların tamamı 1 yaşından büyük olmasına karşın ilerleyen dönemlerde hayvan sayısı ve yaş dağılımları doğumlara bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Çalışma öncesinde aşılama uygulanmamış olan bu işletmede 4 yavru atma olgusu dışında BVDV enfeksiyonuna ilişkin bulgu saptanmamıştır.

Çalışmada 1 yaşın üzerinde 205 adet Holstein-Fresian sığır, sürüye yeni katılan 31 düve ve 164 buzağıdan alınan toplam 400 kan örneği kullanıldı. Kan örneklerinin 1800 xg 'de 10 dk +4°C'de santrifuj edilmesiyle serum örnekleri ayrıldı ve takiben antijen ELISA testine tabi tutuldu. Atık olgularından elde edilen fetal dokular test edilecekleri süreye kadar -20°C'de saklandı. Sürü taramalarında BVDV antijeni yönünden pozitif olduğu saptanan hayvanlarda persiste enfeksiyon kontrolü amacıyla 21 gün arayla ikinci örnekleme yapıldı.

### **Virus ve Hücre Kültürü**

Virus izolasyonu ve peroksidaz bağlı antikor testleri Madin-Derby Bovine Kidney (MDBK) hücre hattı kullanılarak gerçekleştirildi. BVDV yönünden negatif olduğu önceden belirlenmiş olan hücre hattı %10 fetal dana serumu ihtiva eden Dulbecco's MEM içerisinde üretildi. Testlerde kontrol virusu olarak lokal non-sitopatojen bir BVDV-1 izolatı olan BVDV TR-19 suşu kullanıldı.

### **Antijen ELISA**

Doku ve kan örneklerinde BVDV antijeni varlığının ortaya konulması amacıyla ticari bir Ag ELISA kiti (HERDCHECK, IDEXX) kullanıldı. BVDV E<sup>ms</sup> spesifik monoklonal antikorlarla kaplı mikroplyet gözlerinde viral antijenlerin tespit edilmesi prensibine dayanan test, üretici firmanın önerdiği şekilde uygulandı. Test gözlerindeki optik dansite değerleri ELISA okuyucuda (Thermo, Multiskan EX) 450nm dalga boyunda belirlendi.

### **Virus İzolasyonu ve Peroksidaz Bağlı Antikor Testi**

BVDV antijenleri yönünden pozitif sonuç veren örnekler bir gün önceden kültür tüplerinde hazırlanan MDBK hücre kültürlerine adsorbsiyonlu yöntemle ekildi. Her gün invert ışık mikroskobu (Nikon, TS100) altında incelemeler yapılarak sitopatojen virus üremesinin varlığı arandı. Dört ile yedi gün arasında devam eden bu süreç sonunda kültürler -80 °C'de dondurulup-çözdürülerek virus toplandı. Örneklere toplam 3 kör pasaj uygulandı ve virus üremesinin teyidi amacıyla peroksidaz bağlı antikor testi'nden (PLA) yararlanıldı<sup>33</sup>. Bu amaçla 24 kuyucuklu tabletlere 100.000 hücre/ml oranında sulandırılan MDBK hücre süspansiyonundan 1 ml konuldu. Üç kez kör pasajı yapılan örnekler her göze 100µl olacak şekilde ikişer kuyucuğa ekildi. İnkübasyonun 3 güne tamamlanmasını takiben tablet içerikleri boşaltılıp hücre yüzeyle-

ri 1:3 PBS ile 3 kez yıkandı ve 2 saat +80 °C'de bekletilerek hücrelerin fizyasyonu sağlandı. Hücre yüzeylerine sırasıyla tween 20-PBS içerisinde sulandırılan mouse anti-BVDV monoklonal antikor, goat biotin conjugated anti-Mouse IgG (Pierce-Thermo) ve streptoavidin-biotin horseradish peroxidase conjugate (Pierce-Thermo) konuldu. Her basamakta oda sıcaklığında bir saat inkübasyon uygulandı ve takip eden basamağa geçmeden önce 3 kez 1:3 PBS ile yıkama işlemi yapıldı. Son aşamada substrat çözeltisinden (0,3 ml DMF [Di-methylformamid] içinde çözdürülmüş 2mg 3-amino 9-etil karbazol, 4,7ml Sodyum asetat tamponu [pH 5,0], %0,05 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) her göze 200 µl ilave edildi ve 30 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra invert mikroskopta değerlendirme yapıldı. Pozitif gözlerde kırmızı-kahverengi hücre içi boyanmalar tespit edildi.

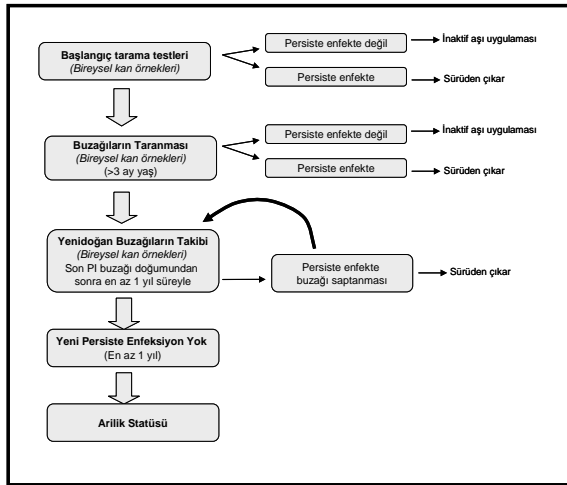
### **BVDV Kontrol Programının Uygulanması**

Bu çalışmada takip edilen BVD virus eliminasyon şeması Şekil 1'de gösterilen basamaklardan oluşmaktadır. Yukarıda açıklanan niteliklere sahip olan erişkin sığırlar ve düveler çalışmanın başlangıç aşamasında teste tabi tutuldu. Akut BVDV enfeksiyonu saptanan 2 adet erişkin ve 1 adet düvenin sürüden çıkarılmasına gerek görülmezken, tüm sürüye koruyucu amaçla inaktif BVDV aşısı uygulandı. Çalışmanın "sürü takibi" sürecinde yapılan faaliyetler buzağı doğumları üzerine odaklandı. Doğumu takip altında yapılabilen buzağılardan prekolozal kan örnekleri alınarak test edildi. Ancak bu yöntemin saha şartlarında uygulanabilirliğinin düşük olduğu görüldü. Diğer buzağular ise maternal antikorların kaybolması amacıyla 3 aylık yaşa ulaştıktan sonra örnekleterek test edildi. Gerçekleştirilen virolojik çalışmalarda 21 gün arayla yapılan her iki örneklemede BVDV yönünden pozitif sonuç veren hayvanlar sürüden ayıklandı. Diğer buzağılara ise 3 aylık yaştan başlamak üzere BVDV aşılama programı uygulandı. Persiste enfekte son bireyin ayıklanmasını takiben 1 yıl süreyle başka bir persiste enfekte buzağı doğumunun görülmemesiyle çalışmanın yürütüldüğü sürüde BVDV eliminasyonunun tamamlandığı değerlendirildi.

### **Bulgular**

Antijen ELISA yöntemiyle yapılan sürü taramalarında başlangıçta sürüde bulunan 205 yetişkin sığırdan alınan örneklerin 2'si, takip eden dönemde test edilen 31 düveden ise 1 tane-

si BVDV antijenleri yönünden pozitif bulundu. Yeni doğan buzağılarda yapılan çalışmalarda ise 164 buzağıdan 8 tanesi BVDV antijeni yönünden pozitif sonuç verdi. Bu süreçte karşılaşılan 4 adet yavru atma olgusunda hem annelerden hem de atık buzağılardan alınan örneklerin BVDV yönünden negatif olduğu yine antijen ELISA ile belirlendi. Persiste enfeksiyon tespitinin yapılabilmesi amacıyla BVDV (+) olduğu belirlenen hayvanlardan 21 gün sonra tekrar kan örneği alındı ve antijen ELISA'ya tabi tutuldu. Erişkin sığır ve düveler ikinci örneklemede negatif sonuç verirken 8 buzağının tamamında pozitif sonuç elde edildi (Tablo 1).



**Şekil 1.** Çalışmada takip edilen BVD virus eliminasyon programı

**Figure 1.** BVD virus elimination scheme followed in this study.

**Tablo 1.** İşletmede test edilen hayvanların BVDV Ag ELISA test sonuçları

**Table 1.** BVDV antigen ELISA results obtained from the dairy establishment

Örneklenen hayvanlar	1. örnekleme ELISA sonuçları		2. örnekleme ELISA sonuçları (pozitif / test edilen)	Persiste enfeksiyon oranı (%)	Virus izolasyonu
	Pozitif / test edilen	(%)			
Yetişkin Sığır	2 / 205	0,97	0 / 2	0,0	2 / 2
Düve	1* / 31	3,22	0 / 1	0,0	0/1
Buzağı	8 / 164	4,87	8 / 8	4,87	6/6
<b>Toplam</b>	<b>11 / 400</b>	<b>2,75</b>	<b>8 / 11</b>	<b>2,00</b>	<b>8 / 9</b>

\* Bu örneğe uygulanan antijen ELISA testinde şüpheli pozitif sonuç elde edilmiştir

Test edilen toplam 400 örneğin %2,75'inde BVD antijeni saptanırken %2 sinde persiste enfeksiyon varlığı gösterilmiştir (Tablo

1). Ag ELISA ile pozitif olduğu saptanan 11 hayvandan 9 adetine ait örneklerde virus izolasyon çalışması gerçekleştirilebildi. Bu örneklerin 8 adetinden başarıyla BVD virus izole edilerek PLA yöntemiyle doğrulandı. Tekrarlanan pasajlamalar sonucunda hiçbir örnekte sitopatojen virus üremesi saptanamadı. Antijen ELISA'da şüpheli pozitif sonuç veren 1 adet düveye ait örnekten virus izolasyonu gerçekleştirilemedi.

## Tartışma

BVD tüm dünyada sığırların önemli hastalıklarından biri olup değişik klinik bulgularla birlikte özellikle immunosupresyona yol açması sebebiyle diğer hastalıklar için de hazırlayıcı faktör konumundadır. BVD virus enfeksiyonlarının sürü sağlığı problemi olduğu ve işletmelerde önemli düzeylerde ekonomik kayıplara yol açtığı gösterilmiştir<sup>5</sup>. BVD enfeksiyonu bulunan süt sığırı işletmelerinde döl verimi ile ilgili parametrelerin önemli düzeyde olumsuz etkilendiği, eş atamama ve buzağı ölüm oranlarının arttığı, süt veriminde kayda değer azalmaların olduğu değişik çalışmalarda tespit edilmiş bulgulardır<sup>6</sup>. Bütün bu gerekçeler BVD virus enfeksiyonlarının sürü bazında elimine edilmesini, mümkünse ülke bazında kontrol ve eradikasyon programlarının uygulanmasını gerekli kılmaktadır.

BVD kontrol ve eradikasyon programlarında temel amaç persiste enfekte bireylerin eliminasyonu ve yeni persiste enfekte buzağı doğumlarının engellenmesidir<sup>11</sup>. Persiste enfekte bireylerin belirlenmesi için takip edilebilecek farklı yöntemler bulunmaktadır<sup>10</sup>. Mikrotitrasyon pleytlerinde virus izolasyonu sürü taraması için kullanılabilen hızlı ve ekonomik bir yöntem olsa da antikor varlığında yanlış sonuç alınabileceği için gerek akut enfeksiyonların belirlenmesinde gerekse 3 aylıktan küçük hayvanlarda persiste enfeksiyonun belirlenmesinde tercih edilen bir yöntem değildir<sup>10,30</sup>. Sürü bazında BVD virus teşhisini yapabilmek üzere geliştirilmiş birçok ELISA ve RT-PCR protokolleri bulunmaktadır<sup>19,22</sup>. Bu protokoller tank sütü, birleştirilmiş kan örnekleri veya bireysel kan örnekleri kullanılarak BVD virus teşhisine olanak sağlamaktadır<sup>21</sup>. Ayrıca persiste enfekte bireylerin bulunduğu sürüleri belirlemek için geliştirilmiş protokoller de bulunmaktadır<sup>7</sup>. Bu çalışmada ele alınan işletmenin sınırlı büyüklükte olması sebebiyle bireysel kan örneklerinin test edilmesi yoluyla persiste enfekte bireylerin belirlenmesi yoluna gidilmiştir. Ticari bir Ag

ELISA kitiyle test edilen 205 adet erişkin süt sığırının 2 adeti ve 31 adet düvenin 1 adeti ilk örnekleme periyodunda BVD virus yönünden pozitif sonuç vermiştir. Söz konusu 3 hayvandan 21 gün arayla alınan 2. örneklerde BVD virus yönünden negatif sonuç elde edilmesi anaç grubu hayvanlarda persiste enfeksiyon bulunmadığını ancak sürüde virus sirkülasyonun mevcut olduğunu ortaya koymaktadır.

Sürüde gerçekleştirilen çalışmalarının önemli ayağını yeni doğan buzağuların takibi, örneklenmesi ve ayıklanması süreci oluşturmuştur. Bu süreçte mümkün olduğunca buzağuların doğumu takiben kolostrum almadan örneklenmesi önerilmiştir. Ancak bu uygulamanın saha şartlarında her zaman takip edilebilir olmaması sebebiyle örneklemelerin büyük bir bölümü buzağular 3 aylık yaşa ulaştıktan sonra yapılmıştır. Bu uygulamadaki temel yaklaşım maternal antikorların kaybolmasıdır. Kan serumunda bulunan maternal antikorların virus izolasyonu yöntemiyle yapılacak çalışmalarını olumsuz etkileyeceği bilinmekle birlikte, antijen ELISA protokollerinde de yanlış negatifliklere yol açabileceği gösterilmiştir<sup>35</sup>. Günümüzde uygulanmış en başarılı program olan "İskandinav BVD kontrol programı"nda da buzağular 10 haftalık olduktan sonra Ag ELISA ile test edilmiştir<sup>11</sup>.

Çalışma kapsamında, işletmede doğan toplam 164 adet buzağı test edilmiş ve 8 adetinde (%4,87) persiste enfeksiyon varlığı belirlenmiştir. Erişkin sığırlar ve düvelerde persiste enfeksiyon saptanamamasına karşın yeni doğan buzağulardan 8 adetinde persiste enfeksiyon saptanması sürüde virus sirkülasyonunun devam ettiğini göstermektedir. Bu durum hayvan alımı sırasında yapılan testlerin yeterli olmadığını ve düzenli sürü taramalarının gerekliliğini ortaya koymaktadır. BVD virusunun neden olduğu immunotolerant persiste enfeksiyon modeli buzağuların fetal hayatın ilk 1:3 lük döneminde non-sitopatojen BVD virusla enfekte olması sonucunda ortaya çıkmaktadır<sup>24</sup>. Virus taşıyıcısı olarak doğan bu hayvanlar yaşam boyunca tüm virolojik testlerde pozitif sonuç vermekle birlikte genellikle BVD virus antikorları yönünden negatiftir. Genel olarak sığır popülasyonlarında bildirilen BVD virusla persiste enfeksiyon oranı %1'in altındadır<sup>23</sup>. Ülkemizde gerçekleştirilen çalışmalarda kapalı süt sığırcılığı işletmelerindeki persiste enfeksiyon oranlarının %0,07 ile %0,5 arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir<sup>3,4,34</sup>. Bazı çalışmalarda ise %4,9'a varan yüksek değerlerin saptandığı bildirilmektedir<sup>25</sup>. Kapalı bir işletmenin incelendiği bu araştırmada

buzağularda saptanan persiste enfeksiyon oranı (%4,87) daha önce kapalı işletmelerde bildirilen değerlerden oldukça yüksektir. Bu durum BVD virusa karşı aşılama yapılmamış olan sürünün BVD virus enfeksiyonuyla yeni tanışmış olması ve virusun hayvanlar arasında hızla yayılarak transplental enfeksiyonları oluşturmaya bağlanabilir. Benzer şekilde seronegatif sürülere yeni giren BVD virus enfeksiyonlarında virusun kısa bir sürede sürünün büyük bir bölümüne bulaşabileceği ve beklenmedik düzeyde yüksek (%12,7) persiste enfekte buzağı doğumlarının gerçekleşebileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır<sup>26</sup>.

Bu çalışmada tüm buzağular bireysel kübelerde barındırılmış ve BVD virus test sonuçları çıkıncaya kadar toplu barındırma ünitesine dâhil edilmemiştir. Böylece virusun yeniden sürü içinde sirkülasyona katılması engellenmiştir. Uygulanan testler sonucunda tespit edilen persiste enfekte buzağular ivedilikle sürüden ayıklanarak enfeksiyon kaynağı oluşturmamasının önüne geçilmiştir. BVD kontrol programlarının başarısı için en önemli gösterge sürüde son persiste enfekte birey ayıklandıktan sonra 1 yıl süreyle hiçbir yeni persiste buzağı doğumunun olmamasıdır<sup>10</sup>. Bu çalışmada persiste enfekte buzağular tespit edildikçe sürüden ayıklanmış ve son ayıklama işleminden itibaren 1 yıl süreyle yeni doğan buzağular teste tabi tutulmuştur. Bu süreçte hiçbir yeni persiste enfekte buzağı saptanamaması yapılan uygulamanın başarıya ulaştığının göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Ayıklama işlemlerinin tamamlanmasından sonra aşı uygulamasının yapılması sürünün dışarıdan gelebilecek yeni enfeksiyonlara karşı korunması açısından önemlidir<sup>30</sup>. Bununla birlikte sıkı biyogüvenlik tedbirlerinin alınması ve sürüye kontrolsüz hayvan sokulmaması da zorunlu uygulamalar olarak değerlendirilmelidir.

Bu çalışmada gerçekleştirilen virus izolasyonu çalışmalarında kullanılan 9 örnekte 8 adetinde virus izole edilebilmiş, Ag ELISA'da şüpheli pozitif sonuç veren örnekte ise virus izolasyonu gerçekleştirilememiştir. Ag ELISA ile antijen saptanan örneklerde aynı zamanda virus izolasyonu ve PLA teknikleriyle de enfeksiyon varlığının ortaya konulması bu testin enfeksiyon kontrol programlarında başarıyla kullanılabilmesini teyit etmektedir. Virus izolasyonu sürecinde uygulanan 3 kör pasaj aşamasında sitopatojenik etki tespit edilememiş olması izole edilen virusların büyük olasılıkla non-sitopatojenik karakterde olduğunu göstermektedir. Ancak bununla ilgili kesin yargıya varabil-

mek için immunoplak yönteminin<sup>18</sup> veya moleküler yöntemlerin<sup>9</sup> uygulanması gerekir.

Birçok Avrupa ülkesinde gönüllü veya zorunlu BVD kontrol programları başlatılmış bulunmaktadır<sup>23,30</sup>. Bazı ülkeler ise hastalıktan arı konuma ulaştıklarını bildirmişlerdir<sup>12,23</sup>. Ülkemizde ise sistematik bir BVD mücadele programı henüz oluşturulmuş değildir. Türkiye’de hayvan popülasyonunun fazlalığı ve hayvancılık işletmelerinin yapısı göz önüne alındığında BVDV mücadelesinde persiste enfekte hayvanların belirlenmesi ve eliminasyonu ile birlikte fetal enfeksiyonların engellenmesi amacıyla programlı aşı uygulamaları tercih edilebilir. Bu çalışmada, işletme bazında programlı bir şekilde uygulanan BVD virus kontrol ve eliminasyonunun ülkemiz şartlarındaki uygulanabilirliği gösterilmiştir. Daha geniş çaplı bölgesel-ülkesel ölçekte uygulamaların planlanması ve hayata geçirilmesinde de test-eliminasyon-aşılama uygulamalarının başarılı olabileceği değerlendirilmektedir.

## Kaynaklar

- Baker, J.C., 1990. Clinical aspects of bovine virus diarrhoea virus infection. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 9 (1), 25-41.
- Barrett, D., 2012. BVDV eradication: lessons from pilot scheme. *Vet. Rec.*, 170, 71-72.
- Burgu, İ., Alkan, F., Yeşilbaş, K., 1999. Türkiye’de sığırlarda persiste BVD virus enfeksiyonu. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 46, 169-177.
- Burgu, İ., Alkan, F., Özkul, A., Yeşilbaş, K., Karaoğlu, T., Güngör, B., 2003. Türkiye’de süt sığırcılığı işletmelerinde bovine viral diarrhoea virus (BVDV) enfeksiyonunun epidemiyolojisi ve kontrolü. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 50, 127-133.
- Houe, H., 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Mic.*, 64, 89-107.
- Houe, H., 2003. Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals*, 31, 137-143.
- Houe, H., Baker, J.C., Maes R.K., Ruegg P.L., Lloyd J.W., 2005. Application of antibody titers against bovine viral diarrhoea virus (BVDV) as a measure to detect herds with cattle persistently infected with BVDV. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 7, 3327-3332.
- Hult, L., Lindberg, A., 2005. Experiences from BVDV control in Sweden. *Prev. Vet. Med.*, 72, 143-148.
- Karaoglu, T., Burgu, I., Ozkul, A., 2003. Biotypic characterisation of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) in clinical samples. *Acta Veterinaria Hungarica*, 51, 425-431.
- Laureyns, J., Ribbens, S., Kruif, A., 2010. Control of bovine virus diarrhoea at the herd level: Reducing the risk of false negatives in the detection of persistently infected cattle. *Vet. J.*, 184, 21-26.
- Lindberg, A. L.E., Alenius, S., 1999. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Vet. Microbiol.*, 64, 197-222.
- Moennig, V., Houe, H., Lindberg, A., 2005. BVD control in Europe: current status and perspectives. *Animal Health Research Reviews*, 6, 63-74.
- Oğuzoğlu, T.C., Muz, D., Yılmaz, D., Timurkan, M.O., Alkan, F., Akça, Y., Burgu, İ., 2012. Molecular characteristics of bovine virus diarrhoea virus isolates from Turkey: Approaches for an eradication programme, *Transbound Emerg Dis.*, 59, 303-310.
- Ozer, E., Duman, R., 2011. Study of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle. *J. Anim. Vet. Adv.*, 10, 1557-1560.
- Patel, J.R., Shilleto, R.W., Williams, J., Alexander, D.C., 2002. Prevention of transplacental infection of bovine foetus by bovine viral diarrhoea virus through vaccination. *Arch. Virol.*, 147, 2453-63.
- Peterhans, E., Jungi, T.W., Schweizer, M., 2003. BVDV and innate immunity. *Biologicals*, 31, 107-112.
- Presi, P., Struchen, R., Knight-Jones, T., Scholl, S., Heim, D., 2011. Bovine viral diarrhoea (BVD) eradication in Switzerland—Experiences of the first two year. *Prev. Vet. Med.*, 99, 112-121.
- Reinecke, S. 1993. Isolation, purification and epitope characterisation of cytopathogenic and noncytopathogenic biotype clones of bovine viral diarrhoea virus (BVD) (in German). Inaugural Dissertation, Veterinary High School, Hannover.
- Renshaw, R.W., Ray, R., Dubovi, E.J., 2000. Comparison of virus isolation and reverse transcription polymerase chain reaction assay for detection of bovine viral diarrhoea virus in bulk milk tank samples. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 12, 184-186.
- Rüfenacht, J., Schaller, P., Audigé, L., Knutti, B., Küpfer, 2001. U., Peterhans E. The effect of infection with bovine viral diarrhoea virus on the fertility of Swiss dairy cattle. *Theriogenology*, 56, 199-210.
- Sandvik, T., 2005. Selection and use of laboratory diagnostic assays in BVD control programmes. *Prev. Vet. Med.*, 72, 3-6.
- Schefers, J. M., Collins, J. E., Goyal, S.M., Ames T.R. 2009. Detection, characterization, and

- control of bovine viral diarrhoea virus infection in a large commercial dairy herd. *Can. Vet. J.*, 50, 1075-1079.
23. Stahl, K., Alenius, S., 2012. BVDV control and eradication in Europe —an update. *Jpn J Vet Res*, 60, S31-S39.
  24. Stokstad, M., Loken, T., 2002. Pestivirus in cattle: Experimentally induced persistent infection in calves. *J. Vet. Med.*, 49, 494–501.
  25. Tan, M.T., Karaoğlu, M.T., Erol, N., Yıldırım, Y., 2006. Serological and virological investigations of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle herds in Aydın province. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 30, 299-304.
  26. Taylor, L. F., Janzen, E. D., Ellis, J. A., Van den Hurk, J. V., Ward, P., 1997. Performance, survival, necropsy, and virological findings from calves persistently infected with the bovine viral diarrhoea virus originating from a single Saskatchewan beef herd. *Can Vet J.*, 38, 29–37.
  27. Tutuncu, M., Duz, E., Karaca, M., Akkan, H.A., Keles, I., Bakir B., Tasal, I. 2011. A serological investigation of pestiviruses in sheep in eastern border of Turkey. *Trop. Anim. Health Prod.*, 43, 1467-1469.
  28. Valle, P.S., Skjerve, E., Martin, S.W., Larssen, R.B., Osteras, O., Nyberg, O., 2005. Ten years of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) control in Norway: a cost-benefit analysis. *Prev. Vet. Med.*, 72, 189-207.
  29. Walz, P.H., Grooms, D.L., Passler, T., Ridpath, J.F., Tremblay, R., Step, D.L., Callan, R.J., Givens, M.D., 2010. Control of bovine viral diarrhoea virus in ruminants. *J. Vet. Intern. Med.*, 24, 476-486.
  30. Wilke, G. I., Grummer, B., Moennig, V., 2003. Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europe, *Biologicals*, 31, 13-118.
  31. Yesilbag, K., Alpay, G., Karakuzulu, H.A., 2011. Serologic survey of viral infections in captive ungulates in Turkish zoos. *J. Zoo. Wildl. Med.*, 42, 44-48.
  32. Yesilbag, K., Gungor, B., 2009. Antibody prevalence against respiratory viruses in sheep and goats in North-Western Turkey. *Trop. Anim. Health Prod.*, 41, 421-425.
  33. Yesilbag, K., Förster, C., Bank-Wolf, B., Yılmaz, Z., Alkan, F., Ozkul, A., Burgu, I., Rosales, S.C., Thiel, H.J., König, M., 2008. Genetic heterogeneity of bovine viral diarrhoeavirus (BVDV) isolates from Turkey: Identification of a new subgroup in BVDV-1. *Vet. Mic.*, 130, 258–267.
  34. Yılmaz, H., Atan, E., Ridpath, J., Turan, N., 2012. Genetic diversity and frequency of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) detected in cattle in Turkey. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 35, 411-6.
  35. Zimmer, G.M., Van Maanen, C., De Goey, I., Wentink, G.H., Brinkhof, J., 2004. The effect of maternal antibodies on the detection of bovine virus diarrhoea virus in peripheral blood samples. *Vet. Microbiol.*, 100, 145–149.

