

YENİ DOĞAN BUZAĞI VE DANALARDA GAİTADAN VİRUS İZOLASYONU ÇALIŞMALARI

Sibel Yavru^{@1}

Atilla Şimşek¹

The Studies on Virus Isolation From Feces in Calves

Özet: Bu çalışmada; Konya ve çevresinde bulunan sekiz adet özel işletmeye ait solunum ve sindirim sistemi klinik belirtileri gösteren vücut ısısı yüksek ve diyareli 0-1 yaş arası buzağı ve danalardan alınan 100 adet gaita örneği Bovine Adenovirus tip1, 2 ve 3 (BAV-1, 2 ve 3) yönünden kontrol edilerek, duyarlı hücre kültürlerinde virus izolasyonu çalışmaları yapıldı. İncelenen 100 gaita örneğinin fütal dana böbrek hücre kültürlerine inokulasyonu sonucu, 2 adet virus izole edildi. Tavşanlardan hazırlanan hiperimmün serum kullanılarak izole edilen virusların 2'si de çapraz mikronötralizasyon testi sonuçlarına göre BAV-1 olarak tanımlandı. Gaita örneği alınan buzağılardan elde edilen kan serumlarında BAV-1, 2 ve 3'e karşı nötralizan antikor varlığı mikronötralizasyon testi ile araştırıldı. Hastalıklı hayvanlardan alınan 100 adet kan serumundan 17'inde (%17) BAV-1'e karşı, 21'inde (%21) BAV-2'ye karşı, 23'ünde (%23) BAV-3'e karşı nötralizan antikor varlığı ortaya konuldu. Pozitif bulunan hayvanların en düşük ve en yüksek serum nötralizasyon 50 (SN₅₀) değerleri BAV-1, 2 ve 3 için sırasıyla 1/14.1-1/531, 1/14.1-1/316 ve 1/14.1-1/531 olarak tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Sığır Adenovirus tip-1, 2 ve 3, gaita, hücre kültürü, izolasyon, nötralizasyon testi

Summary: In this study, 100 feces samples from 0-1 old year calves with clinical sign of respiratory and digestive systems, fever and acut diarrhoea symptom in eight private managements of Konya and its around were used for virus isolation studies in sensitive cell cultures and checked for BAV 1,2 and 3. As a result of inoculation of 100 feces samples onto foetal calf kidney cell cultures, 2 viruses were isolated. The isolated viruses were identified as BAV-1 by cross microneutralization test with rabbit hyperimmun sera. Blood serum samples from these animals were tested using microneutralization test for neutralizing antibody to BAV 1, 2 and 3. The presence of neutralizing antibody was detected in 17 out of 100 blood sera (17%) against BAV-1, in 21 (21%) against BAV-2 and in 23 (23%) against BAV-3. Serum neutralization 50 (SN₅₀) values of seropositive animals were detected to be 1/14.1-1/531, 1/14.1-1/316 and 1/14.1-1/531 for BAV-1,2 and 3 respectively.

Key Words: Bovine Adenovirus type-1, 2 and 3, feces, cell culture, isolation, neutralization test

Giriş

Sığır Adenovirus (BAV) enfeksiyonları bütün dünyada oldukça yaygın olarak görülmekte ve Türkiye gibi ekonomisinde hayvan yetiştiriciliğinin önemli rol oynadığı ülkelerde ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

BAV'ların ekonomik yönden önemli olan solunum ve sindirim sistemi hastalıklarının ortaya çıkmasında rol oynadığı bildirilmektedir (Burki, 1990; Kahrs, 1986). İlk olarak çocukların adenoid dokularından izole edildikleri için Adenoviridae ismini almışlardır (Burki, 1990; Horwitz, 1996). Adenoviruslar çift iplikçikli pozitif DNA içerirler. İkozahedral simetriye sahip olan kapsid zarsızdır (Bib-

rack ve McKercher, 1971). Adenovirus enfeksiyonlarında solunum sistemine ait klinik belirtiler, sindirim sistemine oranla daha belirgindir. Solunum sistemi ile ilgili belirtiler genellikle hafif bir diyare ile birlikte seyreder. Bu nedenle pnömoenteritis kelimesi, BAV'ların da neden olduğu enfeksiyonları tanımlamak için yaygın olarak kullanılır (Kahrs, 1986).

Adenovirus enfeksiyonu geçirdiği tespit edilen buzağılarda diyare, nazal akıntı, korneal opsite, keratokonjunktivitis, ateş, pnömoni, timpani ve kolitis saptanmıştır (Istrate ve ark., 1983; Kahrs, 1986). Adenovirusların hasta ve klinik olarak sağlıklı görünen hayvanlardan izole edildiği bildirilmiştir (Darbyshire ve ark., 1965; Eisa, 1972). Ade-

noviruslar direkt olarak tükrük bezleri, lenf düğümleri, tonsillalar, burun ve farenksten alınan swaplar ile gaitadan izole edilebilir (Coria ve McClurkin, 1978; Horwitz, 1996; Oor, 1984).

Adenovirus enfeksiyonlarının teşhisinde direkt ve indirekt metotlar kullanılabilir (Kahrs, 1986). Yapılan araştırmalar, adenovirus enfeksiyonlarının indirekt teşhislerinde nötralizasyon (NT), agar gel presipitasyon (AGP), komplement fikzasyon (CF), hemaglütinasyon inhibisyon (HI), floresan antikor (FA), Enzyme Linked Immonosorbent Assay (ELISA) ve immunoperoksidaz testlerinin kolayca uygulanabileceğini ortaya koymaktadır (Bibrack ve McKercher, 1971; Horwitz, 1996; Inaba ve ark., 1968, Sabiravic ve ark., 1987; Toker, 1983; Yavru ve Öztürk, 1990). Bu testlerden nötralizasyon testinin sığırlarda adenoviruslara karşı oluşan nötralizan antikorların tespiti ve tip tayini amacı ile kullanılan en hassas teşhis metodlarından birisi olduğu bildirilmektedir (Bibrack ve McKercher, 1971; Cole, 1971; Darbshire ve ark., 1965; Mohanty ve Lillie, 1970).

BAV enfeksiyonlarının ülkemiz sığırlarındaki durumu, Burgu ve Akça (1982), Burgu ve Toker (1985), Öztürk ve Toker (1985), Öztürk ve ark (1992), Toker (1983) ve Yavru ve Öztürk (1990) tarafından yapılan çalışmalarda nötralizasyon testleri ile serolojik olarak, Burgu ve ark. (1991) tarafından yapılan bir çalışmada ise virolojik olarak varlığı ortaya konmuştur.

Bu araştırmada, klinik olarak pnömoenteritis enfeksiyonu geçirdiği belirlenen buzağuların gaitalarından duyarlı hücre kültürlerinde BAV'ların izolasyonu ve tavşanlardan hazırlanan hiperimmün serum ile identifikasyonu, ayrıca aynı hayvanların kan serumlarında mikronötralizasyon testi (mNT) ile nötralizan antikorların varlığı ve antikor titrasyonlarının tespiti yapılarak, solunum ve sindirim enfeksiyonu geçiren buzağularda BAV enfeksiyonlarının önemini ortaya konulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Hücre kültürleri: Araştırmada virus izolasyonu amacıyla Fötal Dana Böbrek (FDB); izole edilen virusun adaptasyonu, titrasyonu, mikronötralizasyon (mNT) ve BAV-1, BAV-2 ve BAV-3'ün çoğaltılması için Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) hücre kültürleri kullanıldı.

Virus: mNT'i için ve hiperimmün serum sağlamak amacıyla BAV-1, BAV-2 ve BAV-3 kullanıldı.

Hayvan Materyali: Araştırmada Konya'da özel

yetiştirme merkezlerinde bulunan ishal ile karakterize ateşli bir solunum sistemi enfeksiyonu semptomu gösteren ve tümü kolostrum almış 0-1 yaşlı buzağılardan alınan toplam 100 adet gaita örneği izolasyon materyali olarak kullanıldı (Tablo 1).

Tablo 1. Virolojik kontrol amacıyla gaita numunelerinin alındığı işletmeler

Gaita Numunelerinin Alındığı Yer	Numune Sayısı
1'no'lu İşletme	23
2'nolu İşletme	10
3'nolu İşletme	11
4'nolu İşletme	8
5'nolu İşletme	14
6'nolu İşletme	6
7'nolu İşletme	15
8'nolu İşletme	13
TOPLAM	100

Kan Serum Örnekleri : Yukarıda belirtilen buzağılardan alınan toplam 100 adet kan serumu örneği serolojik çalışmalarda araştırma materyali olarak kullanıldı (Tablo1). Kan numuneleri, v.jugularis'den steril vakumlu tüplere alındı. Usulüne uygun olarak ayrılan serumlar su banyosunda 56° C'de 30 dakika süre ile inaktive edildikten sonra sterilite kontrolleri yapıldı ve 1 ml lik tüplere konularak serolojik testlerde kullanılincaya kadar -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

Tavşanlardan Hiperimmün Serum Elde Edilmesi: Araştırmada BAV'larına karşı, yöntemine uygun olarak tavşanlardan hazırlanan hiperimmün serumlar kullanıldı.

Gaita Örneklerinin Hazırlanması: Steril numune toplama kaplarına alınan gaita örnekleri Burgu ve ark. (1983)'larının bildirdikleri yöntemle virus izolasyonu için hazırlandı. Bu amaçla gaita örnekleri önce içinde 10 x antibiyotik solusyonu bulunan EMEM içinde 1/10 oranında süspansiyon edildi. Bu gaita süspansiyonları 2 kısım gaita süspansiyonu + 1 kısım 1,1,2 - trichlorotrifluorethan (C₂Cl₃F₃, Merck) ile karıştırıldı ve 5 dakika süre ile çalkalandı. Daha sonra bu karışım 30 dakika süre ile 3000 devirde santrifüj edilerek üst kısım pipetle çekildi ve steril tüplere alınarak -20°C de inokulasyon zamanına kadar saklanmak üzere derin dondurucuya kaldırıldı.

Virusun Titrasyonu: Bu amaçla, Frey ve Liess (1971) tarafından bildirilen mikrotitrasyon yöntemi

Tablo 2. Sığır kan serumlarının araştırılan virüslere göre mikronötralizasyon testi sonuçları ve pozitiflik oranları

Serum Numunelerinin Alındığı Yer	Numune Sayısı	BAV-1		BAV-2		BAV-3	
		Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
1'nolu İşletme	23	6	17	8	15	4	19
2'nolu İşletme	10	1	9	1	9	2	8
3'nolu İşletme	11	1	9	1	10	3	8
4'nolu İşletme	8	1	3	1	7	1	7
5'nolu İşletme	14	2	12	3	11	5	9
6'nolu İşletme	6	1	5	2	4	1	5
7'nolu İşletme	15	3	10	3	12	6	9
8'nolu İşletme	13	2	8	2	11	1	12
TOPLAM	100	17	73	21	79	23	77

kullanıldı. Sonuçlar, Kaerber yöntemine (1964) göre hesaplanarak virüsün titresi (Doku Kültürü İnfektif Doz 50= DKİD₅₀) tespit edildi. Bu test her bir virus serotipi için ayrı ayrı yapıldı.

Mikronötralizasyon Testi: Buzağı serum numunelerinde ve hiperimmün kan serumlarında BAV-1, 2 ve 3'e karşı nötralizan antikorların varlığı Frey ve Liess'in (1971) bildirdikleri mNT ile araştırıldı.

Hücre Kültürlerinde Virus İzolasyonu: Bu amaçla virolojik çalışmalar için yukarıda bildirildiği şekilde hazırlanan gaita örnekleri iki adet FDB hücre kültürü tüpüne adsorbsiyona bağlı virus ekim yöntemi ile 0.2 ml miktarında inokule edildi. Gaita örneklerinin FDB hücre kültürlerinde 5 kör pasajı yapıldı ve doku kültürü mikroskobu ile yapılan kontrollerde, sitopatolojik değişiklik gözlenen tüplerden sağlanan süpernatant, virus identifikasyonu amacıyla kullanıldı. İzole edilen virüsler daha sonra MDBK hücre kültürlerine adapte edildi.

İzole edilen Virüsün Mikrotitrasyonu: Buzağılara ait gaita örneğinden izole edilen virüslerin titrasyonu da Frey ve Liess (1971)'in bildirdiği yöntemle yapıldı.

Çapraz Nötralizasyon Testi: Gaita örneklerinden hücre kültürlerine inokulasyonları sonrasında izole edilen virüsün, identifiye edilmesi amacıyla tavşanlarda hazırlanan hiperimmün serum kullanıldı. Bu amaçla, tavşanlardan BAV-1, 2 ve 3'e karşı hazırlanan hiperimmün serumlar, 100 DKİD₅₀ oranında sulandırılmış olan her bir izolat ile ayrı ayrı çapraz mNT testine tabi tutuldu. Testin sonucu, doku kültürü mikroskobunda değerlendirildi. Test, virus kontrol ve hücre kontrol ile birlikte uygulandı.

Bulgular

BAV-1, 2 ve 3'ün MDBK hücre kültürlerine yapılan inokulasyonunda, adenovirüslere özgü sitopatik değişiklikler 24-48 saat içinde saptandı.

Serolojik çalışmalarda kullanılan BAV-1, 2 ve 3'ün MDBK hücre kültüründe enfeksiyözite gücü Kaerber'e (1964) göre sırasıyla 100 DKİD₅₀=10^{-3.20}/0.05ml, 100 DKİD₅₀ =10^{-3.70}/0.05ml, 100 DKİD₅₀ =10^{-2.95}/0.05ml olarak hesaplandı.

Mikronötralizasyon testi ile yapılan serolojik kontroller sonunda toplam 100 adet buzağı kan serumunun 17'sinde (%17) BAV-1'e, 21'inde (%21) BAV-2'ye, 23'ünde (%23) BAV-3'e karşı nötralizan antikor varlığı tespit edildi (Tablo 2).

Araştırılan virüslere göre pozitif sonuç veren sığır kan serumu örneklerinin mikronötralizasyon testi ile saptanan en düşük ve en yüksek SN50 değerleri sırasıyla, BAV-1 için 1:14.1- 1:531, BAV-2 için 1:14.1-1:316, BAV-3 için 1:14.1- 1:531 olarak tespit edildi (Tablo 3).

Tablo 3. Pozitif sığır serumların SN 50 değerleri ve dağılımları.

SN ₅₀	BAV-1	BAV-2	BAV-3
1/14.1	5	3	5
1/16.8	2	6	4
1/28.2	3	4	7
1/39.9	2	-	1
1/47.3	1	3	2
1/56.3	-	-	-
1/94.4	1	-	1
1/133	1	2	-
1/316	1	3	-
1/531	1	-	3
TOPLAM	17	21	23

Mikronötralizasyon testi sonunda sulandırılmamış serum örneğinde, BAV-1, 2 ve 3 antikorları yönünden pozitif bulunan hiperimmün serumların mNT 'i ile SN₅₀ değerleri sırasıyla 1/316, 1/224, 1/260 olarak tespit edildi.

Araştırmada kontrol edilen 100 adet buzağıya ait gaita numuneleri FDB hücre kültüründe 5 kez pasajlandı. İki adet numuneden FDB hücre kültüründe biri 3. diğeri 4. pasajlarda CPE gösteren 2 virusun izolasyonu gerçekleştirildi. Diğer gaita örneklerinin hücre kültürüne yapılan inokulasyonlarında, herhangi bir viral ajan tespit edilemedi (Tablo 5). Bovine Viral Diarrhea virus gibi nonsitopatojen virus suşları için viral antijen varlığı yönünden herhangi bir araştırma yapılmadı.

Gaitadan izole edilen virusların, MDBK hücre kültürüne adapte edildikten sonra enfeksiyözite gücü Kaerber (1964)'e göre tespit edildi (Tablo 4).

Tablo 4. İzolatların titreleri

İzole Edilen Viruslar	100 DKID ₅₀ /0.05 ml
İzolat 1	10 ^{-2.20}
İzolat 2	10 ^{-1.70}

Gaita örneklerinden izole edilen sitopatojen virusların BAV-1, 2 ve 3'e karşı tavşanlarda hazırlanmış hiperimmün serumlar ile MDBK hücre kültüründe yapılan mNT 'i sonunda, izole edilen viruslardan 2'si de BAV-1 olarak identifiye edildi (Tablo 5). Virus kontrolde % 100 CPE gözlenirken, hücre kontrolde herhangi bir değişiklik gözlenmedi.

Tartışma

Dünyada ve Türkiye'de yapılmış olan ça-

lışmalar, sığırların solunum ve sindirim sistemi hastalıkları arasında adenovirus enfeksiyonlarının oldukça önemli bir yeri olduğunu göstermektedir (Alkan ve ark., 1997; Burgu ve Akça, 1982; Burgu ve Toker, 1985; Mohanty, 1971; Öztürk ve Toker, 1988; Öztürk ve ark., 1992; Toker, 1983; Yavru ve Öztürk, 1990). Enfeksiyonun tespiti, çoğunlukla indirekt olarak nötralizasyon testi ile antikor varlığının ortaya konulmasıyla veya direkt hücre kültürlerinde virus izolasyonu ile yapılmaktadır (Kahrs, 1986; Yavru ve Öztürk, 1990). Adenoviruslar klinik olarak sağlıklı ve hastalıklı hayvanlardan izole edilmişlerdir (Darbyshire ve ark., 1965; Eisa, 1972; Klein ve ark., 1959; Klein ve ark., 1960).

Virus izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla hücre kültürleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Cole, 1971; Eisa, 1972; Lowen ve Darcel, 1985). Bu amaçla toplanan tüm örneklerin duyarlı hücre kültürlerine inoküle edilip, etkenin oluşturduğu CPE'in doku kültürü mikroskopunda gözlenmesi, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin tespiti, elektron mikroskopik görünüşleri izolasyon ve identifikasyonda önemli yer tutar. Ayrıca BAV enfeksiyonlarının direkt teşhisi amacıyla immunperoksidaz (IP), immunfloresan (IF), ELISA, reserve passive hemagglutination (RPHA) ve Polimerase Chain Reaction (PCR) teknikleri de kullanılmaktadır (Mohanty ve Lillie, 1965; Sabirovic ve ark., 1987; Shenk 1996).

Türkiye'de BAV enfeksiyonunun varlığı ilk kez Toker (1983) tarafından ortaya konulmuştur. Ülkemizde BAV enfeksiyonları üzerinde yapılan araştırmalar daha çok serolojiktir (Alkan ve ark., 1997; Burgu ve Akça, 1982; Burgu ve Toker, 1985; Öztürk ve Toker, 1988; Öztürk ve ark., 1992; Yavru ve Öztürk, 1990). Burgu ve ark. (1991) tarafından diyareli

Tablo 5. Virus izole edilen numunelerin dağılımı ve izolatların BAV-1,2 ve 3'e karşı tavşanlardan hazırlanmış hiperimmün serumla çapraz nötralizasyonu testi sonuçları

Gaita Numunelerinin Alındığı Yer	Numune Sayısı	Virus İzole edilen Gaita Sayısı	BAV-1		BAV-2		BAV-3	
			mNT	CPE	mNT	CPE	mNT	CPE
1'nolu İşletme	23	-	-	+	-	+	-	+
2'nolu İşletme	10	-	-	+	-	+	-	+
3'nolu İşletme	11	1	+	-	-	+	-	+
4'nolu İşletme	8	-	-	+	-	+	-	+
5'nolu İşletme	14	1	+	-	-	+	-	+
6'nolu İşletme	6	-	-	+	-	+	-	+
7'nolu İşletme	15	-	-	+	-	+	-	+
8'nolu İşletme	13	-	-	+	-	+	-	+
TOPLAM	100	2	2	-	-	-	-	-

3 yaşındaki bir düveden alınan gaitadan FDB hücre kültürlerine yapılan inokulasyonlar sonunda izole edilen virusun tavşanlardan hazırlanan hiperimmün serum ile çapraz nötralizasyonu sonucu, BAV-3 olarak tanımlanmış ve bu şekilde belirtilmiştir.

Bu araştırma, Türkiye'de buzağı gaitalarında BAV'ların hücre kültürlerinde izolasyonu ve aynı hayvanların kan serumlarında nötralizan antikor varlığının ve antikor titresinin beraber olarak ortaya konduğu ilk çalışmadır.

Klein ve ark. (1959), sağlıklı görünüşlü bir ineğin gaitasından dana böbrek hücre kültürlerine yaptıkları ekim sonucu izole ettikleri virüsü adenovirus olarak tanımlamışlar ve sığırsu suyu 10 olarak isimlendirmişlerdir. Sabirovic ve ark. (1987), pnömonili 20 buzağının 7 tanesinde dana testis hücre kültürlerinde BAV-1'i izole ve tanımlamışlardır. Darbyshire (1968), pnömonili bir danadan WBR-50 olarak tanımlanan adenovirus suşunu izole etmiş ve bunu tip 1'in sığırsu suyu olarak isimlendirmiştir. İde ve ark. (1969), Kanada'da pnömoenteritisli bir danadan BAV-1'i izole ettiklerini bildirmişlerdir. Coria ve McClurkin (1978), diyare ve abort semptomları gösteren bir sürüde yer alan bir adet ineğin doku ekstraktlarını sığırsu suyu hücre kültürlerine ekim yaparak izole ettikleri virüsü çeşitli özellikleri ve elektron mikroskop kontrolleri ile BAV olarak tanımlamışlar ve tip 1 olarak tanımlamışlardır.

Sizov ve Bostandzhieva (1983), 18 adet çiftlikte solunum yolu enfeksiyonundan etkilenen 1 ve 8 aylık danalardan alınan nazal akıntı ve postmortem materyallerden hücre kültürlerine yaptıkları ekimlerde, izole ettikleri 2 adet virüsü çapraz nötralizasyon testi ile BAV-1 olarak tanımlamışlardır.

Istrate ve ark (1983), akut solunum yolu enfeksiyonu geçiren 5 aylık buzağının akciğerinden, gebeliğinin 5. ayında abort yapmış bir ineğe ait fütüsün göğüs boşluğu sıvısından, pnömoenteritisli 14 günlük bir kuzunun gaitasından, vulvovaginitisli bir ineğin vaginal sekresyonundan hazırlanan marazi madde süspansiyonlarını dana böbrek ve dana testis hücre kültürlerine yaptıkları ekimler sonucu izole ettikleri virüsü BAV-1 olarak tanımlamışlardır.

Burtseva (1983), 6 haftalık 1 adet, ve 5 aylık 2 adet buzağıya intravenöz ve nazal yolla BAV-1'in referans suşu olan B-10'u inokule etmiş ve inokulasyondan sonra 7. ve 10. günlerde göz, burun, rektum, kan ve 15. günde kesilen hayvanların iç organ numunelerinden hücre kültürlerine yaptıkları ekimlerde virüsü yeniden izole ettiğini kaydetmiştir.

Bu çalışmada, ateş ve diyare klinik belirtileri

ile seyreden solunum ve sindirim sistemi enfeksiyonuna sahip 100 buzağıdan alınan gaita örneklerinden FDB hücre kültürlerinde 2 virüs izole edilmiştir. İzole edilen bu virüslerin, BAV-1, 2 ve 3'e karşı tavşanlardan hazırlanan hiperimmün serumları ile yapılan çapraz nötralizasyon testleri sonucu, BAV-1 olduğu tespit edilmiştir. Yukarıda da belirtilen çalışmalarda gözlemlendiği gibi BAV'lara karşı duyarlı olan FDB hücre kültürü kullanılmıştır. Lowen ve Darcel (1985) tarafından belirtilen hücre kültürlerinin virüs izolasyonunda en duyarlı metotlardan biri olduğu görüşü bir kez daha doğrulanmıştır. İzole edilen virüslerin identifikasyon çalışmalarında nötralizasyon testi kullanılarak, tip ayırımında testin hassasiyeti tekrar ortaya konulmuştur. Bu araştırma ile BAV'ların, solunum ve sindirim sistemi klinik belirtileri ile seyreden enfeksiyonlardan sorumlu olduğu görüşü de doğrulanmıştır.

Mikronötralizasyon testi kolay yapılabilmesi, ekonomik olması ve kısa zamanda sonuçlarının alınması nedeniyle sığırsu suyu ve diğer hayvan türlerinin adenovirus enfeksiyonlarının teşhisinde birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Bibrack ve McKercher, 1971; Cancellotti ve ark., 1976; Yavru ve Öztürk, 1990).

Mohanty (1968) yaptığı bir çalışmada İngiltere'nin Maryland bölgesine ait sığırlarda BAV-1'e karşı % 38 ve BAV-3'e karşı % 45 oranında nötralizan antikor varlığı tespit etmiş ve sahadaki sığırsu suyu populasyonunda adenovirus enfeksiyonlarının oldukça yaygın olarak bulunduğunu bildirmiştir. Cancellotti ve ark (1976), İtalya'da değişik yaş grubundaki sığırlara ait 405 adet kan serumunda, BAV-1, 2 ve 3 ile yaptıkları mNT'nde populasyonun % 68.9'unda BAV-1'e karşı, % 77.8'inde BAV-2'ye karşı ve % 84.4'ünde de BAV-3'e karşı antikor varlığı belirlemişlerdir. Burgu ve Akça (1982), Gelmen Devlet Üretim Çiftliği sığırlarında BAV-1, 2 ve 3'e karşı nötralizan antikorları araştırmak için, alınan sığırsu suyu serumlarını 1:4 oranında sulandırmışlar ve 60 adet serumun 23'ünde (% 28.33) BAV-1'e, 42 adet serumun 28'inde (% 66.66) BAV-2'ye ve 52 adet serumun 37'sinde (% 71.15) BAV-3'e karşı nötralizan antikor varlığı belirlemişlerdir.

Burgu ve Toker (1985) tarafından Türkiye'de ilk kez BAV enfeksiyonlarının seroepidemiolojik olarak varlığını ortaya çıkarmak için, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden sağlanan 288 adet sağlıklı yetişkin sığırdan alınan kan serumları BAV-1, 2 ve 3'e karşı mNT ile kontrol edilmiştir. Sığırsu suyu serumlarında, BAV-1'e karşı 235 (% 81.6), BAV-2'ye karşı 278 (% 99.5) ve BAV-3'e karşı 276 (% 95.8) hayvanda nö-

ralizan antikor varlığı tespit etmişlerdir.

Öztürk ve Toker(1988), Konya Tarım İşletmesinden toplanan 214 adet sığır kan serumunun 1/10 sulandırmasında BAV-1, 2 ve 3'e karşı mNT ile antikor varlığını araştırmışlar ve 153'ünde (% 71) BAV-1'e karşı, 179'unda (% 84) BAV-2'ye karşı ve 191'inde (% 89) BAV-3'e karşı nötralizan antikor varlığı saptamışlardır.

Yavru ve Öztürk (1990), Konya Et ve Balık Kurumu Mezbahasından topladıkları 1150 adet sığır kan serumunu 1/10 oranında sulandırmaları sonucu BAV-1'e karşı 194 adet serumda % 16.87 nötralizan antikor varlığı tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, yaptıkları çalışmada Et ve Balık Kurumu Mezbahasından sağlanan sığır kan serumlarından elde ettikleri % 16.87 gibi düşük pozitiflik oranında hayvanların barındırılma şeklinin ve yaşının önemli rol oynadığını belirtmişlerdir.

Öztürk ve ark (1992), Konya Bölgesindeki sığırlarda sığır adenovirus (BAV) tip 2 enfeksiyonlarının varlığını ortaya koymak için yaptıkları çalışmada, serolojik olarak 950 sığır kan serumunu mikronötralizasyon testi ile araştırmışlar ve sığır kan serumlarının 247'sinde (% 26) BAV-2'ye karşı nötralizan antikorlar saptamışlardır.

Alkan ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada kontrol edilen 7 farklı kamu işletmesindeki sığırlarda BAV enfeksiyonlarının Türkiye'de daha önce gerçekleştirilen çalışma sonuçlarına oranla daha düşük düzeyde seroprevalans saptadıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar (1997) BAV-1,2 ve 3 enfeksiyonlarının seropozitiflik oranlarını sırasıyla % 22.04 (56/254), % 14.96 (38/254), % 20.7 (51/254) olarak tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada, mikronötralizasyon testi ile yapılan serolojik kontroller sonucu toplam 100 adet buzağı kan serumunun 17'sinde (%17) BAV-1'e, 21'inde (%21) BAV-2'ye, 23'ünde (%23) BAV-3'e karşı nötralizan antikor varlığı tespit edilmiştir. Araştırmada elde edilen değerler yukarıda daha önce yapıldığı belirtilen bazı araştırma sonuçlarından düşüktür (Burgu ve Akça, 1982; Burgu ve Toker, 1985; Öztürk ve Toker, 1988). Ancak Alkan ve ark (1997) ve Yavru ve Öztürk (1990) 'ün elde ettikleri değerler ile paralellik göstermektedir. İncelenen hayvanların yaş grubunun belli bir zamanla sınırlı olması, sonuçları Türkiye'de daha önce yapılan çalışmalarla tartışmayı zorlaştırmaktadır. Antikor taraması yapılan hayvanlarda yaş sınırı da olsa elde edilen sonuçlar BAV enfeksiyonlarının Türkiye'deki seroprevalansının gittikçe azaldığını veya kolostrum

almış buzağuların, muhtemel pasif immunizasyonu nedeniyle, yetişkinlere oranla enfeksiyondan daha az etkilendiğini göstermektedir.

Rossi ve ark. (1973), BAV-1 'e karşı 6 ay ile 15 yaş arasındaki 444 adet sığıra ait kan serumunda mNT'yle antikor araştırmışlar, 6-9 aylık danalarda sığırlara oranla daha düşük antikor titresi saptamışlardır. 1-2 yaş arasındaki sığırlarda tip 1'e karşı antikor tespit edemediklerini ancak 3 ve daha büyük yaşta sığırlarda önemli antikor titresi (1/4096) saptadıklarını bildirmişlerdir.

Bibrack ve McKercher (1971), 5 sürüde yer alan 218 adet yetişkin sığır kan serumunun 78'inde (%35.8) ve 101 buzağı kan serumunun 18'inde (%17.8) mNT ile 1/10 serum sulandırmasında BAV'ların 5C suşuna karşı nötralizan antikor varlığı saptamışlar, yetişkin sığırların buzağulara oranla daha fazla antikor taşıdığını tespit ederek, enfeksiyonun yetişkin sığırlarda daha yaygın olarak bulunduğunu vurgulamışlardır.

Yavru ve Öztürk (1990), yaptıkları çalışmada Konya Et ve Balık Kurumu mezbahasında kesilen toplam 1122 adet yetişkin sığır kan serumunun 191 adedinde 28 adet buzağının 3 adedinde 1/10 serum sulandırmalarında BAV-1'e karşı nötralizan antikorlar varlığı saptamışlardır.

Elde edilen sonuçlar Rossi ve ark. (1973), Bibrack ve McKercher (1971) ve Yavru ve Öztürk (1990) tarafından belirlenen oranlarla yakınlık göstermektedir. Bu sonuçlar Bibrack ve McKercher (1971) tarafından enfeksiyonun yetişkin sığırlar arasında daha yaygın olduğu görüşünü desteklemektedir. Alkan ve ark (1997) tarafından yapılan çalışmada elde edilen BAV enfeksiyonlarının Türkiye'deki seroprevalansının gittikçe azaldığını doğrulamaktadır. Türkiyede BAV enfeksiyonlarının buzağılardaki durumları sınırlı sayıda da olsa ilk kez Yavru ve Öztürk (1990) tarafından serolojik olarak araştırılmıştır. Kesin bir sonuç elde etmek için bu konuda daha birçok araştırma yapılması gerekmektedir.

Öztürk ve Toker (1988), 214 adet sığır kan serumlarından pozitif olarak tespit ettiklerini, 1/10 sulandırma basamağından itibaren sulandırarak BAV-1, 2 ve 3 ile mNT'ne tabi tutmuşlar ve pozitif serumların SN_{50} değerlerini sırasıyla 1/14.2-1/1260, 1/14.2-1260 ve 1/14.2-1/2000 arasında tespit etmişlerdir. Yavru ve Öztürk (1990), 1150 adet sığır kan serumunun 1/10 sulandırmasında BAV-1'e karşı nötralizan antikorlar yönünden pozitif bulunan serumların SN_{50} değerlerini hesaplamışlar ve en düşük antikor titresinin 1/12.6 olduğu ve serumların

% 32.46'sını teşkil ettiğini ve en yüksek antikor titresinin ise 1/1060 olduğu ve serumların % 0,3'ünü teşkil ettiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada, araştırılan virüslere göre 1/10 sulandırmada pozitif sonuç veren sığır kan serumu örneklerinin mikronötralizasyon testi ile saptanan en düşük ve en yüksek SN₅₀ değerleri sırasıyla, BAV-1 için 1:14.1-1:531, BAV-2 için 1:14.1-1:316, BAV-3 için 1:14.1-1:531 olarak tespit edildi. Araştırmada BAV-1,2 ve 3 için en düşük antikor titresini 1/14.1 olarak tespit edildi ve test edilen serumların sırasıyla % 29.41'ini, % 14.28'ini ve % 21.73'ünü teşkil ettiği, BAV-1 ve 3 için en yüksek antikor titresini 1/531 ve BAV-2 için ise 1/316 olduğunu ve sırasıyla serumların % 5.88'ini, % 14.28'sini ve % 13.04'ünü oluşturduğu belirlendi.

Çalışmada elde edilen bulgular; Öztürk ve Toker (1988) ve Yavru ve Öztürk (1990) tarafından elde edilen sonuçlara göre antikor titrelerinde tespit edilen en düşük SN₅₀ değerlerine paralellik gösterse bile, en yüksek SN₅₀ değerlerinde farklılık gözlenmektedir. Ancak ikinci bir örnekleme yapılmamış olması tespit edilen antikor varlığının ve titresinin yorumlanmasını güçleştirmektedir. Ancak bu çalışmada BAV-1 ve 3 karşı elde edilen en yüksek antikor (1/531) titresi, Darbyshire (1968) tarafından elde edilen BAV-1 ve 3 ile enfekte edilen danalarda elde edilen maksimum nötralizan antikor titresini (1/512) ile uyumlu bulunmuştur.

Ayrıca BAV-1, 2 ve 3 enfeksiyonlarının varlığının serolojik olarak ortaya konması için buzağılardan toplanan kan serumlarında nötralizan antikor varlığı araştırılmıştır. Böylece Konya ve çevresinde özel işletmelerde bulunan hastalıklı buzağılardaki BAV enfeksiyonlarının durumu hem virolojik hem de serolojik olarak ortaya konmuştur. Ancak gelişen antikor varlığı ve titrelerinin daha iyi yorumlanması için belirli aralıklarla, hayvanlardan birden fazla örnekleme yapılması, enfeksiyonun danalardaki durumunu daha iyi ortaya koyacaktır. Bunun için işletmelerin periyodik olarak düzenli bir şekilde kontrol edilmesi ve elde edilen seroepidemiolojik bulguların virus izolasyonu veya viral antijen varlığının tespiti ile desteklenmesi gereklidir.

Kaynaklar

Alkan,F., Özkul,A., Karaoğlu, M.T., Bilge, S., Akça, Y., Burgu, İ., Yeşilbağ, K., Oğuzoğlu, T.Ç. (1997). Sığırlarda viral nedenli solunum sistemi enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi, A.Ü.Vet.Fak.Derg., 44, 1-8, 73-80.

Bibrack, B., McKercher, D.G. (1971). Serologic evidens for adenovirus infection in California cattle, Am. J. Vet. Res., 32, 805-807.

Burgu, İ., Akça, Y. (1982). Gelemen Devlet Üretim Çiftliği sığırlarında bazı viral enfeksiyonlara karşı serolojik araştırmalar, A.Ü.Vet.Fak.Derg., 29, 3-4, 506-512.

Burgu, İ., Akça, Y., Şahal, M. (1991). First Isolation of Bovine Type-3 in Turkey (short communication), Dtsch.Tierärztl.Wschr., 98, 237.

Burgu, İ., Akça, Y., Ünsüren, H. (1983). Dana ve buzağılarda viral enteritiser. 1. virus izolasyonu üzerine çalışmalar, A.Ü.Vet.Fak.Derg., 30, 1, 45-53.

Burgu, İ., Toker, A. (1985). Türkiye'de sığır adenoviruslarının (Tip 1, 2 ve 3) serolojik olarak tespiti, A. Ü.Vet.Fak.Derg., 32, 1, 223-230.

Bürki, F. (1990). Bovine Adeno Virus. In "Virus Infections of Ruminants". Ed. Dinter, Z. and Morein, B. Vol.3., p161-171. Elsevier Science Publishers B.V., New York.

Burtseva, I.A. (1983). Pathogenesis of experimental infection of calves with bovine adenovirus strain B-10, Sbornik Nauchnykh Trudoö Moskouskaya Veterinarnaya Akademiya, 38-40.

Cancelotti, F., Turilli, C., Gagliardi, G. (1976). Serological studies with bovine adenovirus types 1, 2 and 3 in Venetia Province Italy, Atti Della Societa Italiana di Buiatria, 8, 189-194.

Cole, A.M. (1971). Experimental adenovirus pneumonia in calves, Aust.Vet.J., 47, 306-311.

Coria, M.F., McClurkin, A.W. (1978). Isolation of bovine adenovirus type 1 without an adenovirus-associated virus, Am.J.Vet.Res., 39, 1975-1976.

Coria, M.F., McClurkin, A.W., Cutlip, R.C., Ritchie, A.E. (1975). Isolation and characterization of bovine adenovirus type 5 associated with "Weak Calf Syndrome", Arch.Virol., 47, 309-317.

Darbyshire, J.H. (1968). Bovine adenoviruses, J.A.V.M.A., 152, 786-794.

Darbyshire, J.H., Dawson, P.S., Lamont, P.H., Ostler, D.C., Pereira, H.G. (1965). A new adenovirus serotype of bovine origin, J.Comp.Path., 75, 327-330.

Eisa, M. (1972). Isolation of bovine adenovirus type 1 in the Sudan, Bull.Epizoot.Dis. Afr., 21, 411-416.

Frey, H.R., Liess, B. (1971). Vermehrungskinetik und verwendbarkeit eines stark zytopatogenen VD-MD virusstammes für diagnostische untersuchungen mit der mikrotiter-methode. Zbl.Vet.Med.Bul., 18, 61-71.

Horwitz, M.S. (1996). Adenoviruses. In "Fields Virology". Ed. Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M., Chanock, R.M., Melnick, J.L., Monath, T.P. and Roizman, B. Vol.2, p2149-2171. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.

Ide, P.R., Thomson, R.G., Ditchfield, W.J.B. (1969). Experimental adenovirus infection in calves, Can.J.Comp.Med., 33, 1-9.

Ignatov, G., Pavlov, N. (1978). Isolation on the adenovirus type 1 from aborted cattle fetuses, Vet.Sci., 15,

86-91.

Inaba, Y., Tanaka, Y., Sato, K., Ito, H., Omori, T., Matumoto, M. (1968). Bovine adenovirus. II. A serotype, Fukuroi, recovered from Japanese cattle, Japan.J.Microbiol., 12, 219-229.

Istrate, N., Garoiv, M., Medrea, N., Coman, I. (1983). Adenovirus infeciton in ruminants, Animalelor, 33, 12, 37-47.

Kaerber, G. (1964). In diagnostic procedures for virus and rickettsial disease. Public.Healt.Ass. (New York), 3, 48-50.

Kahrs, R.F. (1986). Viral Disease of Cattle. The Iowa State University Press/Ames, Iowa, 61-70.

Klein, M., Early, E., Zellat, J. (1959). Isolation frim cattle of a virus related to human adenovirus, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 102, 1-4.

Klein, M., Zellat, J., Michaelson, C. (1960) A new bovine adenovirus related to human adenovirus, Proc.Soc.Exp.Biol. and Med., 105, 340-342.

Lowen, K.G., Darcel, C.le Q. (1985). A comparison of two methods for the isolation of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) from extended bovine semen. Theriogenology, 23, 6, 935-943.

McAdair, B., McFerran, J.B. (1976). Comparative serological S studies witè mammalian adenoviruses, Arch.Virol., 51, 319-325.

Mohanty, S.B. (1968). Comments on bovine adenoviruses, J.A.V.M.A., 152, 6, 792-794.

Mohanty, S.B. (1971). Comparative study of bovine adenovirus, Am.J.Vet.Res., 32, 1899-1905.

Mohanty, S.B., Lillie, M.G. (1970). Type 2 bovine adenovirus as an adventitious contaminant in primary bovine embryonic kidney cell cultures, Appl.Microbiol., 19, 381-382.

Orr, J.P. (1984). Necrotizing enteritis in a calf infected with adenovirus, Can.Vet.J., 25, 2, 72-74.

Öztürk, F., Toker, A. (1988). Konya Tarım İşletmesi sığırlarında sığır adenovirus tip 1, tip 2 ve tip 3'ün serolojik olarak saptanması, S.Ü.Vet.Fak.Derg., 4, 1, 213-218.

Öztürk, F., Yavru, S., Duman, R., Şimşek, A. (1992). Konya Bölgesi sığırlarında Sığır Adenovirus Tip 2 enfeksiyonlarının serum nötralizasyon testi ile araştırılması, S.Ü.Vet.Fak.Derg., 8, 2, 70-73.

Phillip, J.I.H., Sands, J.J. (1972). The isolation of bovine adenovirus serotypes 4 and 7 in Britain, Res.Vet.Sci., 13, 386-387.

Rosenbaum, M.J., Phillips, I.A., Sullivan, E.J., Edward, E.A., Miller, L.F. (1963). A simplified method for virus tissue culture procedures in microtitration plates, Proc.Soc.Exp.Biol. and Med., 113, 224-229.

Rossi, C.R., Kiesel, G.K., Emrick, V.R. (1973). Distribution to antibody to bovine adenovirus type 1 in Alabama cattle, as determined by micro-serum-nuetralization test, Am.J.Vet.Re., 34, 841-842.

Sabirovic, M., Bajrovic, T., Bajalo, N., Sola, J. (1987). Use of indirekt immunofluorescence in adenovirus diagnosis Primjena, Veterinarski Glasnik, 41, 11-12, 100-1008.

Shenk, T. (1996). Adenoviridae: The Viruses and Their Replication. In "Fields Virology". Ed. Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M., Chanock, R.M., Melnick, J.L., Monath, T.P. and Roizman, B. Vol.2.p.2111-2148. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.

Sizov, I., Bostandzhieva, R. (1983). Isolation of adenovirus from calves with bronchopneumonia- Veterinarnomeditsinski Nauki, 20, 5-6, 52-56.

Stauber, E.H., Abinanti, F.R., Witbeck, G.D. (1986). Seropizootiology of types 3 and adenoviruses and bovine viral diarrrhea virus infection of beef cattle from birtè to first parturition, Am.J.Vet.Res., 47, 4, 774-776.

Takatsy, G.Y., Furesz, J., Farkas, E. (1954). Studies on the quantitative relationship of influenza virus antibody union by meas of a simple antibody absorbtion test, Acta Physiol.Acad.Sci.Hung., 5, 241-254.

Toker, A. (1983). Sığır adenoviruslarında (Tip-1,tip-2 ve tip-3) serolojik reaksiyonlarla tip ayırımı üzerinde araştırmalar, A.Ü.Vet.Fak.Derg., 30, 2, 245-258.

Yavru, S., Öztürk, F. (1990). Konya Bölgesi sığırlarında Sığır Adenovirus Tip 1 üzerinde nötralizasyon ve agar jel presipitasyon testi ile karşılaştırmalı araştırmalar, Veterinarium, 1, 2, 28-32.