

LİYOFİLİZE ATTENUE KOYUN - KEÇİ VEBASI AŞISI RAF ÖMRÜNÜN BELİRLENMESİ

"Determination of shelf- life of Peste des petits ruminants vaccine"

Özden KABAKLI* • İbrahim HANCI * • Süreyya YÖNDEM*

ÖZET

Bu çalışma Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü tarafından üretilen liyofilize attenuue PPR (koyun- keçi vebası) aşısının -20°C ve +4 (+2/+8) °C dereceler arasındaki raf ömrünün saptanması amacıyla yapıldı. Araştırmada Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü tarafından üretilen PPR 0277-4, PPR 0277-4A, PPR 0377-5 seri nolu aşuların raf ömürleri 24 ay süreyle kontrol edildi.

Aşuların titreleri liyofilizasyon tarihlerinde PPR 0277-4 ve PPR 0277-4A seri nolu aşılarda $10^{-6.4}$ - $10^{-6.3}$ DKID₅₀/ml olarak bulunur iken +4 (+2/+8) °C derecede depolanan aşılarda 24. ayda titrenin $10^{-6.1}$ DKID₅₀/ml'e düştüğü, PPR 0377-5 seri nolu aşılarda $10^{-6.8}$ DKID₅₀/ml olarak bulunur iken 24. ayda titrenin $10^{-6.5}$ DKID₅₀/ml'e düştüğü saptandı fakat bu düşüş istatistiki açıdan önemli bulunmadı. Aşuların -20°C de bekletilmesiyle titrelerinde değişiklik olmadığı belirlendi. Bu çalışma ile liyofilize attenuue PPR (koyun-keçi vebası) aşısının -20°C ve +4 (+2/+8)°C dereceler arasındaki raf ömrünün 2 yıla (24 aya) çıkarılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: PPR, aşı, raf ömrü

SUMMARY

The aim of this study was to determine the self-life of lyophilized attenuue PPR vaccine (Sheep and Goat Plague) produced by Etlik Central Veterinary Control and Research Institute at

between -20 °C and +4 (+2/+8) °C . At the study PPR 0277-4, PPR 0277-4A and PPR 0377-5 serial numbered vaccines had been controlled for 24 months.

Whereas the titres of PPR 0277-4 and PPR 0277-4A serial numbered vaccines were determined as $10^{-6.4}$ - $10^{-6.3}$ TCID₅₀/ml at the lyophilized time, it was noticed that the titres were decreased to $10^{-6.1}$ TCID₅₀/ml after 24 months storage period at +4 (+2/+8) C. While the titre of PPR 0377-5 serial numbered vaccines showed $10^{-6.8}$ TCID₅₀/ml at the lyophilized time, it was decreased to $10^{-6.5}$ TCID₅₀/ml after 24 months but it was found no significant statistically.

It was noticed that there was no changes at the titres of the vaccines with storing them at -20 °C . According to the result of this study it will be convenient to extend the shelf-life of the PPR vaccine up to 24 months at -20 °C ve +4 (+2/+8) °C

Key words: PPR, vaccine, shelf-life

GİRİŞ

Koyun keçi vebası (Peste des Petits Ruminants = PPR) koyun ve keçilerde yüksek ateş, sindirim sistemi mukozasında hemoraji, erozyonlar, gastro enteritis , ishal ve bronko pnöymoni ile karakterize, mortalite ve morbidite oranları yüksek salgın viral bir hastalıktır. (5,15,16,18).

PPR'a karşı homolog aşı üretimi amacıyla PPRV'un Nijerya 75/1 patojen suşunun attenuasyon çalışmaları sonucunda PPRV Nijerya 75/1

* Etlik Merkez Vet. ve Kont. Araşt. Enst. ANKARA

suşu aşı tohum suş haline getirilmiş ve Vero hücre kültüründe aşı üretimine geçilmiş olup OIE tarafından önerilen tek aşı suşu olarak kullanılmaktadır (1,7). Cauacy-Hymann ve ark. (4) tarafından attenue PPR aşısı heterolog aşı olarak sığırlara uygulandığı ve sığırları RP enfeksiyonlarına karşı koruduğu, PPR karşı geliştirilen farklı aşularla ilgili çalışmalarında olduğu bildirilmektedir (3,4,6,9,10,14,17).

PPR aşısının raf ömrü konusunda yapılan çalışmalar sonucu; -20°C ve +4 (+2/+8) °C dereceler arasında uygun vakum, nem (\leq % 3.5) oranında olan ve ışıktan uzak bir ortamda muhafaza edilen %5 sukroz ve % 2.5 laktalbumin hidrolizat ile hazırlanan stabilizatör kullanılan liyofilize PPR aşısının stabilitesinin en az 2 yıl olduğu bildirilmektedir (1). Plowright ve ark. (11,12) benzer bir stabilizatör ile hazırlanan liyofilize sığır vebası aşısı ile yaptıkları stabilite çalışmaları sonucu raf ömrünün -20°C ve -4 (+2/+8)°C dereceler arasında 2 yıldan fazla olduğunu bildirmişlerdir. Günümüzde de PPR liyofilize aşısı için değişik stabilizatörlerle yapılan stabilite çalışmaları vardır(13).

Araştırmada Etlik Merkez Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Viral Aşı Üretim laboratuvarında üretilen 3 seri attenue koyun keçi vebası aşısının raf ömrünün tespit edilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla aşı üretim serilerinin depolama şartlarına uygun soğutucu ve dondurucu ortamlarda değişik süreler bekletilmesini takiben gerek infektivite değerlerinin tespiti, gerekse duyarlı türlerde ve deneme hayvanlarında bağışıklık etkinlik ve zararsızlık testleri yapıldı.

MATERYAL ve METOT

Materyal:

Stabilite çalışması yapılan PPR Aşı serileri: CIRAD EMVT Fransa' dan temin edilen Atenuue PPRV 75/1 LK6 BK2 VERO75 aşı suşu ile Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma

Enstitüsünde üretilen PPR 0277-4, PPR 0277-4A, PPR 0377-5 seri nolu attenue PPR aşuları kullanıldı.

Hücre: Vero hücre hattı

PPR ve RP C-ELISA kit: Testlerde ticari olarak satılan Biological Supplies Ltd. UK ait kitler kullanıldı.

Deneme hayvanı:

Deneme hayvanı olarak kobay, fare, sığır vebası ve PPR antikorları yönünden seronegatif koyun ve keçi kullanıldı.

Solusyonlar:

Tripsin solusyonu(Sigma T-0646), EDTA solusyonu% 0.25 (Sigma), FCS fetal dana serumu (Biochrom S-0115) kullanıldı.

Vasatlar:

Hücre üretme vasatı, % 10 FCS' lu Eagle - MEM (Sigma , M- 0268)kullanıldı.

Virus üretme vasatı; % 1 FCS' lu Eagle - MEM (Sigma , M- 0268)kullanıldı.

Pozitif ve negatif kontrol serumlar:

Keçilerde hazırlanan pozitif ve negatif serumlar CIRAD EMVT Fransa' dan temin edildi.

Besi yerleri:

Bakteriyel ve fungal kontaminasyonların saptanması amacıyla Tryptic soy broth (Sigma, T-8907), Thioglycollate Medium (Sigma, T-9032), Saboroud %2 dextrose broth (Merck), PPLO broth ve agar ve %7 defibrine koyun kanlı agardan yararlanıldı.

Metot:

PPR aşı serilerinin -20°C ve +4/+8 °C derecelerde muhafaza edilmesi:

PPR 0277-4, PPR 0277-4A, PPR 0377-5 seri nolu attenue PPR aşularından 100' er adet olmak üzere toplam 300 adet aşı şişesi çalışma amacıyla 24 ay 50' şer adet -20°C ve 50' şer adet +4 (+2/+8) °C derecelerde muhafaza edildi. Aşular liyofilizasyon öncesi, sonrası ve -20°C ve +4 (+2/+8)°C dereceleri arasındaki depfreeze ve buzdolaplarında 24 ay süresince , 3 aylık periotlar halinde 4 ' er adet PPR

liyofilize aşısının mikrotitrasyon (1) yöntemi ile enfektivite değerleri tespit edildi sonuçlar Spaerman Kaerber yöntemine göre değerlendirildi. Liyofilizasyon sonrası her 3 seri aşının final aşı kontrol testleri yapıldı (1). Deneme sonunda (24 ay sonunda) final aşı kontrol testleri tekrarlandı. Sonuçların istatistik olarak değerlendirilmesinde regression analiz ve $p > 0,5$ değerinde t-test uygulandı (2).

Vero hücre kültürlerinde PPR aşılarının enfektivite değerlerinin saptanması:

PPR 0277-4, PPR 0277-4A, PPR 0377-5 seri nolu attenüe PPR aşılarının DKID50 titre değerinin saptanması için mikro virus titrasyon testi uygulandı (1). Sonuçlar Spermen - Kaerber metoduna göre değerlendirildi.

Deneme hayvanlarında bağışıklık etkinlik ve Zararsızlık testleri:

Bağışıklık ve etkinlik testleri için kullanılan koyunlar ve keçiler kurum deneme hayvanları ünitesinden temin edildi. Denemeye alınan tüm hayvanlar aşılanmadan önce PPR ve Sığır vebası antikorları yönünden test edildi, hepsi seronegatif bulundu. Çalışmada PPR 0277-4, PPR 0277-4A, PPR 0377-5 seri nolu attenüe PPR aşılarının liyofilizasyon sonrası, -20°C ve $+4$ ($+2/+8$) $^{\circ}\text{C}$ dereceleri arasındaki depfreeze ve buzdolaplarında 24 ay süresince bekletildikten sonra alınan örnekler kullanıldı. Her seriden 4 adet koyun ve 4 adet keçi olmak üzere toplam 24 hayvana aşı uygulandı. 4 adet koyun ve 4 adet keçi aşısız kontrol olarak bırakıldı (1).

Zararsızlık testleri için kobay ve fare inokulasyonları yapıldı(1)

Tablo 1. PPR aşı serilerinin log 10 tabanına göre enfektivite değerleri .

PPR Aşı Seri No	Liyofilizasyon Öncesi Log. 10 DKID ₅₀ /ml.	Liyofilizasyon Sonrası Log. 10 DKID ₅₀ /ml.	-20°C 24 Ay	-4°C 24 Ay
PPR 0277-4	7	6.4	6.4	6.1
PPR 0277-4A	6.9	6.3	6.3	6.1
PPR 0277-5	7.5	6.8	6.8	6.5

BULGULAR

Deneme hayvanlarında bağışıklık etkinlik ve Zararsızlık testleri

Her 3 seri aşının liyofilizasyon sonrası, -20°C ve $+4$ ($+2/+8$) $^{\circ}\text{C}$ dereceleri arasındaki depfreeze ve buzdolaplarında 24 ay süresince bekletildikten sonra alınan örnekleri ile yapılan kobay ve fare inokulasyonları sonucu 3 hafta sonunda zararsız bulundu.

Bağışıklık ve etkinlik testleri için kullanılan koyunlar ve keçilerden aşılamalardan 3 hafta sonra serum örnekleri alındı.

Aşılama sonrası 21 gün boyunca tüm deneme hayvanları klinik gözlem altında tutuldu, koyun ve keçilerde ayrıca günlük beden ısıları kaydedildi ve herhangi bir klinik semptom tespit edilmedi. Kontrol ve aşıli hayvanlardan alınan kan serum örneklerinde PPRV antikorları yönünden VNT yapıldı. 1/10 dilüsyonda CPE negatif örnekler seropozitif olarak değerlendirildi. Her 3 seri aşının liyofilizasyon sonrası, -20°C ve $+4$ ($+2/+8$) $^{\circ}\text{C}$ dereceleri arasındaki depfreeze ve buzdolaplarında 24 ay süresince bekletildikten sonra alınan örnekleri ile 0,1 doz ve 100 doz aşı ile aşılanan koyun ve keçilerin tamamında koruyucu düzeyde PPR antikor oluştuğu, aşıli hayvanlarla birlikte tutulan aşısız kontrol hayvanlarında deneme sonunda seronegatif olduğu tespit edildi.

Vero hücre kültürlerinde PPR aşılarının enfektivite değerlerinin saptanması:

PPR 0277-4, PPR 0277-4A, PPR 0377-5 seri nolu attenüe PPR aşıları liyofilizasyon öncesi, liyofilizasyon sonrası ve 24 ay stabilite çalışması sonrası enfektivite değerleri belirlenerek Tablo 1' de gösterilmiştir.

24 ay süreyle -20°C ve $+4$ ($+2/+8$) $^{\circ}\text{C}$ dereceler arasındaki depofreeze ve buzdolaplarında tutulduklar. Muhafaza süresinin 3. ayından itibaren her 3 ayda bir her seriden 4 adet aşının titreleri saptandı. Liyofilizasyon tarihlerinde PPR 0277-4 ve PPR 0277-4A seri nolu aşılarında $10^{-6.4}$ - $10^{-6.3}$ DKID₅₀/ml olarak bulunur iken $+4$ ($+2/+8$) $^{\circ}\text{C}$ de depolanan aşılarında 24. ayda titrenin $10^{-6.1}$ DKID₅₀/ml'e düştüğü, PPR 0377-5 seri nolu aşılarında $10^{-6.8}$ DKID₅₀/ml olarak bulunur iken 24.

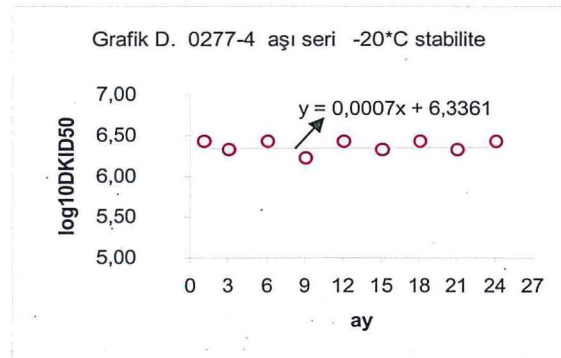
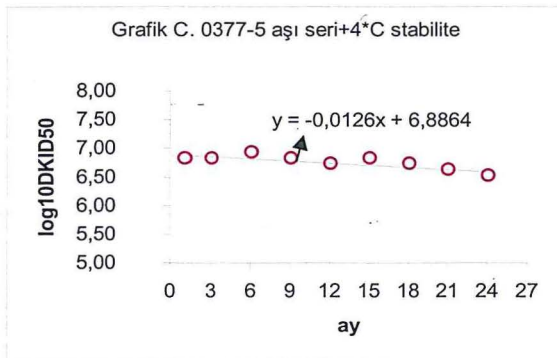
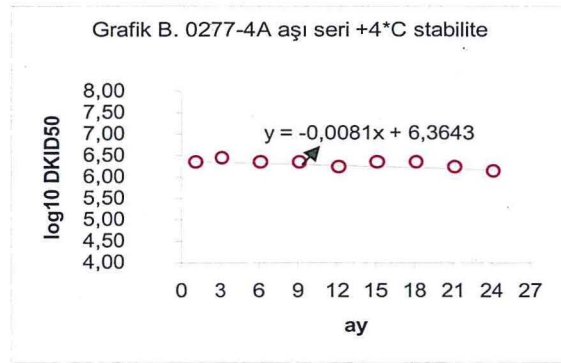
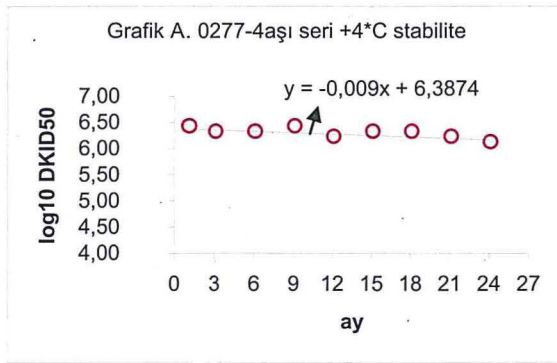
ayda titrenin $10^{-6.5}$ DKID₅₀/ml'e düştüğü saptandı. -20°C depolanan aşılarında belirgin bir düşüşün olmadığı tespit edildi. Regression analiz değerleri negatif çıkan $+4$ ($+2/+8$) $^{\circ}\text{C}$ de depolanan aşılarında 24 ay sonundaki titredeki düşüşün $0,5$ log 10 değerinden az olduğu ve yapılan t test sonucu ($p>0,5$) istatistiki açıdan önemli olmadığı belirlendi. Sonuçlar Tablo 2.'de ve Grafik 1.A-F 'de gösterilmiştir.

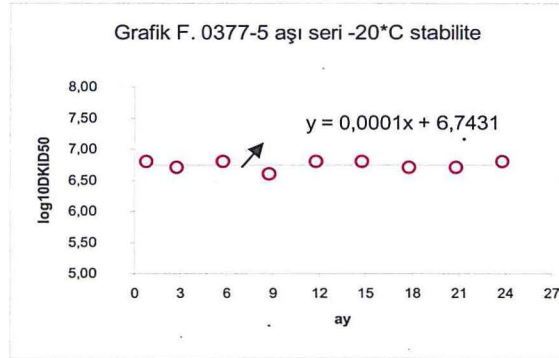
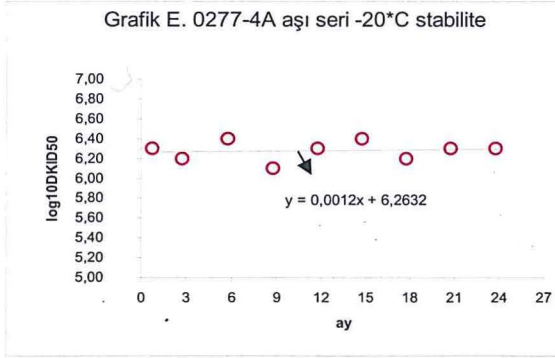
Tablo 2. PPR aşı serilerinin (-20 ve $+4$ $^{\circ}\text{C}$) 24 ay stabilite sonuçları

PPR Aşı Seri No	Depo Isısı $^{\circ}\text{C}$	Depo Süresi (ay)	Regression Değeri	Ortalama Titre*
PPR 0277-4	$+4$ (2/8)	24	-0,009	6,28
	-20	24	+0,0007	6,34
PPR 0277-4A	$+4$ (2/8)	24	-0,0081	6,27
	-20	24	+0,00126	6,28
PPR 0277-5	$+4$ (2/8)	24	-0,01264	6,73
	-20	24	+0,0001	6,74

*log 10 DKID₅₀/ml

Grafik 1. A-F. Farklı üretim serili PPR aşılarına ilgili $+4$ $^{\circ}\text{C}$ ve -20°C ' lerdeki enfektivite değerlerinin zamana bağlı değişimi.





TARTIŞMA

Koyun ve keçi vebası salgın viral bir hastalık olup Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi (OIE) A listesinde yer almaktadır. Yüksek morbidite ve mortalite oranı ve salgın özelliği ile koyun ve keçi yetiştiriciliği için ekonomik önem arz eder . Son yıllarda ülkemizde de koyun, keçi yetiştiriciliğini tehdit eden ve ihbarı mecburi hastalıklar listesinde yer alan koyun ve keçi vebası hastalığı ile mücadelede profilaktik uygulamaların yanı sıra aşı uygulamaları hastalıkla mücadele yöntemlerinin başında yer alır. Bu amaçla yaygın olarak OIE tarafından önerilen PPRV attenuue Nijerya 75/1 suşu ile üretilen PPR aşısı kullanılmaktadır. Ülkemizde hastalığın kontrol ve eradikasyonu amacıyla daha önce ithal edilmek zorunda kalınan bu aşı , CIRAD-EMVT laboratuvarından temin edilen attenuue Nijerya 75/1 suşu ile ülkemizde ilk defa üretimi gerçekleştirilmiştir. Ülkemizde üretilen PPR aşısının stabilite süresinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada; aşı olarak kullanılabilmesi için enfektivite değerinin final üründe en az $\log 10^{-4.5}$ DKID₅₀/ml ve $\log 10^{-2.5}$ DKID₅₀/doz olması gereken PPR aşılarının, titreleri liyofilizasyon tarihlerinde PPR 0277-4 ve PPR 0277-4A seri nolu aşılarında $10^{-6.4}$ - $10^{-6.3}$ DKID₅₀/ml olarak bulunur iken +4 (+2/+8) °C de depolanan aşılarında 24. ayda titrenin $10^{-6.1}$ DKID₅₀/ml'e düştüğü, PPR 0377-5 seri nolu aşılarında $10^{-6.8}$ DKID₅₀/ml olarak bulunur iken 24. ayda titrenin $10^{-6.5}$ DKID₅₀/ml'e düştüğü saptandı. 20°C depolanan aşılarında belirgin bir düşüşün olmadığı tespit edildi. +4 (+2/+8) °C de depolanan aşılarında 24 ay sonundaki titredeki düşüşün 0,5 log 10 değerinden az olduğu ve

yapılan test sonucu ($p>0,5$) istatistiki açıdan önemli olmadığı belirlendi .Vakumlarının % 100 ve nem oranlarının %3 olduğu liyofilize PPR aşılarının ışıktan uzakta -20°C ve +4/+8 °C dereceler arasındaki depfreeze ve buzdolaplarında muhafaza süresinin 24 ay (2 yıl) olduğu tespit edilmiştir. -20°C ve +4/+8 °C dereceler arasında uygun vakum, nem (\geq % 3.5) oranında olan ve ışıktan uzak bir ortamda muhafaza edilen, liyofilize PPR aşısının stabilitesinin en az 2 yıl olduğu bildirilmektedir (1). Plowright ve ark. (11,12) benzer stabilizatör ile hazırlanan liyofilize sığır vebası aşısı ile yaptıkları stabilite çalışmaları sonucu raf ömrünün -20°C ve +4/+8 °C dereceler arasında 2 yıldan fazla olduğunu bildirmişlerdir. Gülyaz (8) Bakırköy koyun-keçi çiçek aşısının raf ömrünün belirlenmesi için yaptığı çalışmada aşının raf ömrünü 18 ay olarak belirlemiştir. Günümüzde de PPR liyofilize aşısı için değişik cryoprotectantlarla yapılan stabilite çalışmaları sonucu (13) aşının raf ömrünün en az 2 yıl olacağı bildirilmiştir. Çalışmamız sonucu elde edilen bulgular literatür bilgileri ile paralellik göstermektedir.

SONUÇ

OIE Manuel (1) ve CIRAD EMVT tarafından belirlenen protokole göre Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde üretilmekte olan attenüe liyofilize PPR aşısının gerçek zaman üzerinden yapılan stabilite çalışmaları sonucu elde edilen bulgular literatür bilgileri ile paralellik göstermekte olduğundan , aşının raf ömrü -20°C ve +4 (+2/+8) °C dereceler arasında 2 yıl olarak belirlenmiştir.

• KAYNAKLAR •

1. ANONİM. : Peste des petits ruminants. In; *OIE Manual of Standarts Diagnostic Tests and Vaccines*. 5th Ed. Chapter 2.1.5. (2004)
2. BAILEY,N.T.J.; *Statical Methods in biology*. Second Edition. A division of Hodder&Stoughton, London,1981.
3. BERHE, G., MINET, C., LE GOFF, C., BARRETT, T., NGANGNOU, A., GRILLET, C., LIBEAU, G., FLEMING, M., BLACK, D.N., DIALLO, A: Development of a dual recombinant vaccine to protect small ruminants virus and capripoxvirus infections. *J. Virol.* Jan;77(2):1571-1577. (2003)
4. CAUACY- HYMANN, E., BIDJEH, K., ANGBA, A., DOMONECH, J., DIALLO,A.: Protection of goats against rinderpest by vaccination with attenuated peste des petits ruminants. *Res. Vet.Sci.*, 59: 106-109. (1995)
5. DIALLO, A.: Rinderpest and peste des petits ruminants; constant threats to animal farming in many developing countries. *Impact Sci. Society*. 150: 179-192. (1988)
6. DIALLO,A.: Control of peste des petits ruminants: classical and new generation vaccines. *Dev. Biol.(Basel)*. 114: 113-119. (2003b)
7. DIALLO, A., TAYLOR, W.P., LEFEVRE, P.C., PROVOST, A.: Attenuation d' une souche de virus de la peste des petits ruminants: candidat pour un vaccin homologue vivant. *Revue. Elev. Mad. Vet. Pays.Trop.* 42 (3): 311-319. (1989)
8. GÜLYAZ ,V.: Bakırköy koyun-keçi çiçek aşının raf ömrünün saptanması. *Pendik Veteriner Mikrob. Der.* 34(1-2): 11-17.(2003).
9. JONES, L., GIAVEDONI, L., SALIKI, J.T., BROWN, C., MEBUS, C., YILMA, T.: Protection of goats against peste des petits ruminants with a vaccinia virus double recombinant expressing the F and H genes of rinderpest virus. *Vaccine*, 11(9) : 961-964. (1993)
10. MARTRENCAR, A., ZOYEM. N., DIALLO, A. : Experimental study of a mixed vaccine against peste des petits ruminants and capripox infection in goats in northern Cameroon. *Small Ruminants Research*, 26: 39-44. (1997)
11. MARTRENCAR, A., ZOYEM. N., NJOYA, A., NGO TAMA A.C., BOUCHEL, D., DIALLO, A.: A field study of an homologous vaccine against peste des petits ruminants in northern Cameroon. *Small Ruminants Research*. 31(3). (1999)
12. PLOWRIGHT W.,HERNIMAN K.A.J, RAMPTON C.S., TAYLOR W.P.: Studies on Rinderpest Culture Vaccine. III. Stability of The Lyophilised Product. *Res. Vet. Sci.* 11: 71-81, 1970.
13. PLOWRIGHT W., HERNIMAN K.A.J, RAMPTON C.S. : Studies on Rinderpest Culture Vaccine. IV.The Stability of Reconstituted Product. *Res. Vet. Sci.* 12 : 40-46, 1971.
14. SARKAR, J., SREENIVASA, BP.,: Comparative efficacy of various chemical stabilizers on the thermostability of a live - attenuated peste des petits ruminants(PPR) vaccine. *Vaccine* 1;21 (32): 4728-35, 2003
15. SCOTT,G.R. : Peste des petits ruminants (Goat plaque). In: *Virus infections of Ruminants*. Edd: Z.Dinter, B., Morein, Elseveir Science Publisher, Amsterdam, Oxford, Newyork, Tokyo, chapter, 32-33p.: 341-361. (1990)
16. TAYLOR, W.P. : The distribution and epidemiology of peste des petits ruminants. In: *Impact of diseases on Livestock Production in the Tropics*. Edd: H.P. Reimann, M.J. Burridge, Elsevier, p:157-166. (1984)
17. VALLY,K.J.M., AHBA, K., SHAILA, M.S., LAKSHMI SITA, G. : Development of transgenic plants of edible vaccine for peste des petits ruminants, an animal disease. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 38: 1171. (2002)
18. WOSU,L.O.: Current status of peste des petits ruminants (PPR) disease in small ruminants **a review** article. *Stud. Res. Vet. Med.* 2: 83-90. (1994)

SIĞIRLARDA SOLUNUM SİSTEMİ ENFEKSİYONLARININ VİRAL ETİYOLOJİSİ (2002 - 2005)

"Viral Ethiology of Respiratory Diseases of Cattle (2002-2005)"

Dr. Arife ERTÜRK* • Dr. Şirin G. ÇİZMECİ* • Dr. M. Fatih BARUT*

ÖZET

Sığır yetiştiriciliğinde viral solunum sistemi enfeksiyonları çok önemli bir yer tutmaktadır. Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Virolojik Teşhis laboratuvarında viral solunum sistemi hastalıklarının teşhisleri yapılmakta olup bu çalışmada 2002 - 2005 yıllarında Türkiye genelinden laboratuvarımıza gönderilen örneklerin viral solunum sistemi hastalıkları (IBR-IPV, BVD-MD, PI-3) yönünden test sonuçları değerlendirildi. Teşhis çalışmalarında antikor ve antijen ELISA kullanıldı. Genel olarak 4 yıllık sonuçlar değerlendirildiğinde IBR antikorları yönünden 13223 serum test edildi ve 3374 adeti (%26) pozitif; IBR Antijeni yönünden 187 örnek (swap, defibrine kan ve akciğer) test edildi, 26 adeti (%13,9) pozitif, BVD Antikorları yönünden test edilen 10000 adet serumun, 5000 adeti (%50) pozitif, BVD Antijeni yönünden test edilen 2072 örneğin (defibrine kan, dalak, akciğer), 75 adeti (%3,61) pozitif, PI-3 antikorları yönünden test edilen 507 serumun ise, 395 adeti (%77,9) pozitif olarak saptandı.

Bu çalışmada 2002-2005 yılları kayıtları değerlendirilerek, virusların neden olduğu solunum sistemi enfeksiyonlarından IBR, BVD, ve PI-3 viruslarının viral etiyolojilerinin ortaya konması ve mücadele yöntemlerine ışık tutulması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: IBR-IPV, BVD-MD, PI-3, antijen ELISA, antikor ELISA, 2002-2005, *

SUMMARY

Viral respiratory infections are the most important disease group in cattle production. In this study, sera samples that have been sent to diagnostic virology laboratory (Etlik Central Veterinary Control and Research Institute Viral Diagnosis Laboratory) were evaluated for main viral respiratory diseases agents (IBR-IPV, BVD-MD, PI-3) from 2002 to 2005. The samples are diagnosed by ELISA for presence of mentioned virus specific antibodies and BHV-1 and BVDV antigens. A total of 13223 samples were evaluated during 4-year period and 3374 (26%) were found antibody positive BHV-1 virus and out of 187 samples (swap, blood serum, and lungs) tested for presence of mentioned antigens, 26 (13.9%) of these were found positive. Of 10000 samples tested for BVD antibodies, 5000 (50%) were found positive, and 75 (3.6%) of virus detection materials were found positive. In addition, PI-3 virus antibody prevalence was found as 77.9% in relevant samples.

In this study, we evaluated results obtained from samples that were submitted into our lab from 2002 to 2005 for routine screening of viral respiratory diseases (IBR, BVD, PI-3), and make suggestions for preventive measures in Turkey.

Key words: IBR-IPV, BVD-MD, PI-3, Antigen, ELISA, Antibody ELISA

GİRİŞ

Sığır yetiştiriciliğinde tüm sığır hastalıklarının %40-80'ini oluşturan viral solunum sistemi enfek-

* Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü

siyonları çok önemli bir yer tutmaktadır (Hesse, 1983). Ülkemizde hayvan hareketlerinin kontrolünün sistemli yapılamaması ve hayvan kayıt sistemlerinin olmamasından dolayı hastalık etkenleri yurt genelinde yayılma göstermektedir.

Sığırlarda viral solunum sistemi enfeksiyonları çoğunlukla öldürücü olmamakla birlikte önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Viruslar sığırlarda görülen solunum sistemi hastalıklarının önemli bir başlatıcı etkeni olarak rol oynamaktadırlar. Özellikle dış etkilere karşı açık hale gelen solunum sistemi mukozasına sekonder bakteriel etkenlerin yerleşmesi ile hastalıklar ağırlaşmakta ve ölüme kadar varan tablolar ortaya çıkmaktadır.

Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) Bovine Viral Diarrhoea (BVD) ve Parainfluenza Virus Type 3 (PI-3) virusları sığırların solunum yollarında akut enfeksiyonlara sebep olur. Özellikle genç hayvanlarda ve besicilik işletmelerinde sığır solunum sistemi hastalıklarına bağlı olarak büyük ekonomik kayıplar oluşur.

Infectious Bovine Rhinotracheitis, Infectious Pustular Vulvovaginitis (IBR), Variocellovirus cinsi içinde Herpesviridae ailesi altında alphaherpesvirus alt ailesi içinde bulunan Bovine Herpes Virus-1'den (BHV-1) kaynaklanan, evcil ve yabani sığırların bir hastalığıdır. Avusturya, Danimarka, Finlandiya, İsviçre ve İsveç dışında dünyanın tüm ülkelerinde yaygın olarak görülmektedir.

BHV-1, 33 adedinin yapısal, 15 adedinin yapısal olmadığı bilinen 70 adet proteini kodlayan, çift iplikçikli DNA içerir. Viral zar da bulunan glycoproteinler patogeneze ve immunitede önemli rol oynar. BHV-1, beş alttıpe sahiptir; bunlardan

" BHV 1.1: Solunum sistemi enfeksiyonu

" BHV 1.2: Solunum ve genital sistem enfeksiyonu

" BHV 1.3 (BHV-5): Sinir sistemi enfeksiyonu

" BHV 2a ve BHV 2b nispeten zayıf enfeksiyonu meydana getirir (Metzler, 1985).

Hastalık, 2-4 günlük inkubasyon periyodunu takip eden mukopurulent nasal discharge, ve con-

junctivitis gibi üst solunum yolları belirtileri ile karakterizedir. Bunun yanında genel hastalık belirtilerinden ateş, depresyon, iştahsızlık, atık, süt veriminde düşme de görülür (Hage ve ark., 1998). Virus genital yolları da infekte ederek ve vulvo vaginitis ve balanopostitis'e sebep olabilir. Bu durumda vagina mukozası veya preputium'da nekrotik lezyonlar izlenir. İnfekte semen ile yapılan suni tohumlama, endometritise sebebiyet verebilir (Kendrick ve McEntree, 1987). Ölüm sonrası muayenede rhinitis, laryngitis ve tracheitis görülür. BHV-1 Buzağılarda iç organlarda görülen nekrotik lezyonlar ve yaygın gastroenteritis ile seyreden sistemik enfeksiyonlara sebep olur. Bununla birlikte bir çok enfeksiyon sublinik seyreder (Oirschot ve ark.,1993). BHV1 her yaş grubunda etkili olmakla birlikte 6 aydan büyük hayvanlarda daha etkilidir. İkincil bir enfeksiyonla enfekte komplike olmayan durumlarda BHV1 5-10 gün içinde iyileşir. Pasteurella spp. gibi etkenler klinik belirtileri ciddileştirebilir.

Virus nazal yolla vücuda girer ve üst solunum yollarına ait müköz membranlarda ve tonsillerde çoğalır. Takip eden dönemde konjunktivalara yayılır, sinirler yolu ile trigeminal gangliya ulaşır ve burada muhtemelen ömür boyu latent olarak kalır. Gangliya hücrelerine ait Stres ve bakım besleme bozukları gibi durumlarda gangliyalarda bulunan virusa ait DNA hastalığın yeniden aktive olmasını sağlar. Viremi genellikle düşük düzeyde gerçekleşir. Virus genital mukozada da çoğalır ve benzer şekilde sacral gangliya'lar da latent olarak kalabilir..

BHV-1 nadir olarak meningoencephalitis'e sebep olur. Sığırlarda Herpes virus kaynaklı meningoencephalitis'ler genellikle BHV5 ile ilişkilendirilmektedir (Studdert , 1994).

Virus izolasyonu için değişik hücre kültürlerinden yararlanılır. Sığır kökenli sekonder akciğer, böbrek hücrelerinden ve MDBK hücre hattından faydalanılabilir.

Virus 2-4 gün içinde CPE meydana getirir. Monospesifik monoklonal antikorlar yardımı ile yapılan antijen testleri ve VNT teşhiste kullanılır. DNA restrüksiyon analizleri yardımı ile alt tiplendirme yapılabilir. PCR, özellikle enfekte spermaların teşhisinde kullanılabilir.

Serolojik testlerden ELISA geniş bir kullanım alanı bulmuştur (Gibbs ve Riveyemamu, 1977; Kahrs, 1981; Homan ve Easterday, 1980; Bommeli ve Kihm, 1982; Juntti, 1987; Niskanen 1989).

Hastalıktan korunmak için Attenue ve ölü aşılar mevcuttur. Aşılar, sığırlarda hastalıktan kaynaklanan klinik belirtileri ortadan kaldıracak ve virus yayılımını engelleyebilecek yapıda olmalı, hastalığa, atığa veya hiçbir lokal veya genel reaksiyona sebebiyet vermemeli, genetik olarak stabil olmalıdır.

Genetik mutant aşılar 1995'den beri kullanılmakta ve aşıları hayvanlar ile hastaları ayırt edebilmektedir. Ülkemizde de 2002 yılından itibaren marker aşı kullanılmaya başlanmıştır.

Türkiyede çeşitli zamanlarda yapılan seroepidemiyolojik taramalarda IBR/IPV virusuna karşı nötralizan antikorların varlığı tespit edilmiştir (Burgu ve Akça, 1986; Burgu ve Akça, 1987; Erhan ve ark., 1971; Gürtürk ve ark., 1975, Gürtürk ve ark., 1974). Sığırlarda IBR virusuna karşı nötralizan antikorların varlığı ilk defa 1971 yılında saptanmıştır (Erhan ve ark., 1971).

Bovine virus diarrhoea-mucosal disease (BVD-MD), tüm dünyada yaygın olarak görülen, sığırlarda çoğunlukla sporadik olarak meydana gelen sindirim sisteminde eroziv lezyonlar, ishal veya persiste enfeksiyonlar, yetiştirme problemleri, abort, mumifikasyon, kongenital defektler, zayıf, ölü ve persiste viremik yavru doğumları ile karakterize viral bir hastalıktır (Baker, 1987; Juntti ve Ark., 1987; Liess, 1990; Liess ve Moennig, 1990; Gelfert, 1991; McClurkin ve Ark. 1984; Meyling, 1984; Niskanen, 1988). BVD hastalığı tüm dünya-

da yaygın olup, büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Türkiye'de hastalık ilk kez 1964'de Öncül ve arkadaşları (Öncül, 1964) tarafından klinik bulgulara dayanılarak tanımlanmıştır. Enfeksiyonun varlığı ise 1971'de Erhan ve arkadaşlarının (Erhan ve ark., 1971) yaptığı serolojik bir çalışmada ortaya konmuştur ve değişik işletmelerde %40 ve %70 oranında antikor bulunduğunu bildirmişlerdir. Finci (Finci , 1972) 9 ile ait toplam 2360 serum örneğinin %9,6'sında, Burgu ve ark. (Burgu ve ark., 1990) 1982-1984 yılları arasında Batı ve Orta Anadolu'da 541 koyun serumundan 232'sinde, Alkan (Alkan, 1989) abort ve anomalili buzağı doğumunun görüldüğü anneler ve bunların yavrularına ait yerlerden sağlanan 639 serumun %31,7'sinde, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesine ait sığır kan serumlarının % 18-100'ünde ve Özkul (Özkul, 1992) ise gebe ineklerde transplasental BVD enfeksiyonları ile ilgili çalışmasında 50 adet gebe ineğin %80'inde BVD antikorları tespit etmişlerdir.

BVDV, Flaviviridae ailesinde, CSF ve ovine BDV ile yakın antijenik ilişkili bir Pestivirusdur (Donis, 1995). Genetik analizle ayrılabilen ileri subdivizyonlar (alt bölümler) ile Tip 1 ve tip 2 olmak üzere BVDV'nin antijenik olarak farklı 2 genotipi vardır (Vilcek, 2001). İki genotip birbirinden ve diğer Pestiviruslardan, direkt E2 ve ERSN'ye major glikoproteinlerine karşı monoklonal antikorlar kullanılarak veya genetik analizlerle ayrılabilir (Pelerin, 1994; Ridpath, 1994). Multipleks PCR, direkt kan örneklerinden virus tiplendirmesine imkan sağlamaktadır (30). Kuzey Amerika'da tip 1 kadar tip 2 rapor edilmişse de, tip 1 genelde daha yaygın olarak bulunur. BVDV'nin 2 genotipi de, hücre kültüründe görülebilir değişiklik oluşturup, oluşturmamasıyla nonsiropatojenik ve patojenik formlarda (biyotipler) görülebilir. Genellikle nonpatojenik biyotipler sığır populasyonlarında sirküle olur. Her biyotip

klirik semptomların çeşitliliğinde -akut, kongenital ve kronik enfeksiyonlar- farklı bir role sahiptir (Bolin, 1995; Brownlie, 1985). Tip 2 virusları genellikle nonsitopatojeniktir ve ağır akut enfeksiyon salgınlarıyla ilişkilendirilmiştir (Carman, 1998). Klinik olarak fark edilmeyen enfeksiyonlar iki genotipte de yaygın olarak görünür.

Akut enfeksiyon sonucunda kısa süreli ishal veya pnemoni oluşabilir, genellikle bu form grup salgınları olarak görülür. Hastalığın akut formunda mortalite yüksektir, sıklıkla hemorajik sendromla bağlantılıdır (ancak her zaman hemorajik sendrom görülmez). Genç buzağılardaki enfeksiyonların çoğu hafiftir ve klinik olarak fark edilmez. Virus çoğunlukla sığırlar arasında temasla bulaşır. Vertikal bulaşma hastalığın epidemiyolojisi ve patogeneğinde önemli rol oynar.

Hastalığın akut klinik formunun yanı sıra, subklinik, kronik ve persiste enfeksiyonlar ile karakterize formları da görülmektedir. Yetiştirme problemleri, abort, mumifikasyon, kongenital defektler, zayıf veya ölü doğumlar ve immunsupresyon etkisi hastalığı ekonomik yönden önemli kılmaktadır. Morbidite ve mortalite geniş sınırlar içinde değişmektedir. En fazla etkilenen yaş grubu ise 3-18 aylık genç hayvanlardır. Hastalığın dünyadaki serum antikor prevalansı %50-90 arasında ve persiste enfekte taşıyıcı oranı da % 0,05-%2 arasında değişmektedir (Özkul, 1992).

BVD, Domuz kolerası veya vebası (HC) ve ovine border disease (BD) olarak bilinen pestiviruslar çiftlik endüstrisi için büyük ekonomik önemi olan hastalıklardır (Liess ve Moennig, 1990).

Hastalığın kontrol ve eradikasyon çalışmalarında nonsitopatojen biotipi ile şekillenen persiste enfeksiyonların ve bu enfeksiyonların sitopatojen biotipi ile aktivasyonu sonucu oluşan MD hastalığının ortaya çıkarılması zorunludur (Fox, 1996).

Mucosal disease- sadece, gebeliğin 60-120.

günleri arasında intrauterin enfeksiyonu takiben enfekte olan virus taşıyıcısı hayvanlarda oluşur. Bu taşıyıcılar persiste enfekte ve viremik olup spesifik olarak immuntolerantlardır, vücut sekret ve ekskretlerinde bulunan virüsü sürekli saçarlar (Alkan, 1989).

İmmunkompotent virus negatif hayvanlarda postnatal pestivirus enfeksiyonunun yalnız başına MD oluşturabildiğine dair kanıt yoktur. İmmunkompotent hayvanlarda, hafif geçici hastalık tablosu olan BVD' ye neden olur fakat bu genellikle subklinik ve normal immun yanıtla sonuçlanır (Ohman, 1986).

Taşıyıcı olan fakat klinik olarak normal dişiler çiftleşirse yani virüsün transplasental geçişi şekillenirse fötüs enfeksiyonu ile sonuçlanır. Fötal enfeksiyonun şekli fötüsün yaşına bağlı olup fötal rezorbsiyon, abort, fötüsün mumyalaşması, doğumsal şekil bozuklukları, persiste enfekte immuntolerant viremik hayvanların veya normalden küçük buzağı doğumuna neden olabilir. Persiste enfekte sığırlar sağlıklı görünümde olmalarına karşın sürekli viremiktirler. Antikor taşımazlar veya düşük düzeyde antikora sahiptirler. Bu hayvanlar gebe kalma çağına ulaşırlarsa persiste enfekte buzağular doğurabilirler ve böylece sürü içinde persiste enfekte aileler oluşur. Hastalığın endemik olarak görüldüğü bu sürülerde % 1-2 oranında görülen bu tür hayvanlar, sürekli enfeksiyon kaynağı olmaları açısından hastalığın yayılmasında büyük rol oynar (Horzinek, 1990; Howard, 1987).

İmmunolojik olarak yeterli immunkompotent hayvanlardaki primer bir enfeksiyonun teşhisi kan serum örneklerinde antikor veya antikor titresinde dört katlı bir artışın saptanması ile gösterilebilir. Bu amaç 6 aylıktan büyük özellikle 1 yaşın üzerindeki hayvanlardan kan serum örneklerinin akut faz süresince ve üç hafta sonra alınması gerekir. Eğer sürüde seropozitif immunkompotent hayvanlar varsa, muhtemelen aynı sürüde bir veya

daha fazla immunkompetent bu hayvanlara, virus saçabilen taşıyıcı immuntolerant hayvan vardır. Bu gibi hayvanların ortaya çıkarılması enfeksiyonun kontrol ve eradikasyonu için gereklidir (Alkan, 1989; Ohman, 1986).

BVDV ile akut enfeksiyonun en iyi konfirmasyonu, gruptaki birkaç hayvandan birbirini takip eden çift örnek (defibrine kan veya kan serumu örneği) kullanarak serokonversiyonun (seroconversion) gösterilmesi ile yapılır. Çift test örneği (akut ve iyileşme döneminde alınan örnekler) arasında minimum 14 gün olmalı ve numuneler yan yana aynı anda test edilmelidir. Antikor tespiti için ELISA ve VNT en çok kullanılan testlerdir.

BVD için standart bir aşı yoktur ancak birçok ticari aşı pazarda yerini almıştır. Modifiye canlı virus aşısı transplasental enfeksiyon riski sebebiyle gebe sığırlara ve süt emen buzağılara uygulanmamalıdır. Ayrıca persiste enfekte hayvanlarda aşının mukazal hastalığı ortaya çıkarma riski vardır. Ölü virus aşıları kullanıldığında genellikle destek aşılması aşı uygulaması (booster vaccination) gerekmektedir. İdeal bir aşı gebe sığırları transplasental enfeksiyondan korumalıdır.

Hücre kültürlerinde kullanılan fetal buzağı serumlarında yüksek oranda kontaminant olarak bulunması sebebiyle BVDV, diğer hastalıklar için imal edilen biyolojik ürünlerde önemli bir kontaminantdır.

Parainfluenza-3 (PI-3) virusu, sığırların solunum sisteminde akut enfeksiyonlara neden olan (Burgu, 1992) paramyxoviruslar grubunun paramyxovirus alt grubuna dahil tek iplikçikli RNA içeren bir virustur. Serolojik olarak tek tip olan virüsün referans suşu SF-4 (Shipping fever) dir (Burgu,1992). Virüs polimorf yapıdadır, büyüklüğü 120-300 nm arasında varyasyon göstermektedir (Burgu,1992; Chanock ve Mcintosh, 1990). Virüs helikal simetrik bir nükleokapside sahip olup, üzerinde çıkıntılar bulunan,

hemaglutinin ve nöroaminidaz kapsayan bir zar ile çevrilidir (Burgu,1992; Chanock ve Mcintosh 1990; Fenner, 1987). Hastalığa koyun, manda ve atların da duyarlı olduğu bildirilmiştir (Afshar, 1969; Erhan, 1973). PI-3 enfeksiyonu insanlarda da tespit edilmiş olup, 2 yaşına kadar olan çocuklarda yetişkinlere oranla daha sık görüldüğü bildirilmiştir (Afshar, 1969; Burgu,1992; Chanock ve Mcintosh, 1990). Deneme hayvanlarından hamsterlerin de PI-3 enfeksiyonuna duyarlı olduğu bildirilmiştir (Van Der Maaten, 1969).

Hastalığa Almanya, Amerika, İsveç, Fransa, Japonya, Avustralya, Çekoslovakya, Bulgaristan ve İrlanda'da rastlanıldığı bildirilmiştir (Erhan, 1973; Singh, 1967).

Türkiye'de de hastalığın varlığı bildirilmiştir (Aytuğ, 1992; 27,44, Erhan, 1973)

Hastalığın çoğunlukla adenovirus, reovirus, rhinovirus, VD-MD ve enterovirus gibi virüs enfeksiyonları veya Pasteurella multocida ve streptokok gibi bakteriyel enfeksiyonlarla komplike olabildiği, etkenin diğer viruslarla veya bakterilerle birlikte bulunması halinde ise ağır solunum yolu hastalıklarının meydana geldiği bildirilmiştir (Blood ve Radostits, 1989; Burgu,1992, Chanock ve Mcintosh, 1990).

Enfeksiyonun akut seyrettiği hayvanlarda virüs göz ve burun akıntısı ve salya ile enfeksiyondan sonraki 8. güne kadar saçılır. Bunun dışında etken indirekt olarak insanlar, taşımada kullanılan arabalar, enfekte yem ve ahır malzemeleri ile de nakledilebilir. Sürüye yeni katılmış subklinik enfekte hayvanlar da bulaşmada önemli rol oynar (Burgu,1992)

Virüs duyarlı hayvanlar tarafından ya virüs kapsayan burun akıntısı ile direkt temas suretiyle ya da virüs bulunduran havanın inhalasyonu ile alınır. Bunun yanında oral yolla enfeksiyon enfekte yem ve suların alınması ile de mümkündür. Inkübasyon süresi yaklaşık 2-3 gündür. Virüs burun boşluğuna geldikten sonra buradan lenfatik

dokulara özellikle tonsillere ve respiratorik mukozalara geçer ve buralarda primer virüs çoğalması olur. Böylece yüzeysel epitel hücrelerinde çok fazla miktarda virüs üretilerek bunlar burun akıntısı ile dışarı çıkarılmaya başlar. Sekonder bakteriyel enfeksiyonlar hastalık tablosunu komplike duruma sokar (Bryson, 1992). Yalnızca PI-3 enfeksiyonunun neden olduğu enfeksiyonlar ise 1-2 hafta içinde tamamen iyileşir (Bryson, 1992).

Hastalığın klinik tablosunun ortaya çıkmasına eksojen ve endojen stres faktörleri ile virüs ve bakteri enfeksiyonlarının (özellikle *P. multocida* ve *P. haemolytica* mikoplazma ve *chlamydia*lar) neden olduğu bildirilmiştir (Burgu, 1992; 38, 68). Bunların etkisiyle klinik tablonun ağırlaştığı ve şiddetli bir bronkopnömoninin oluştuğu bildirilmiştir (Bryson, 1992; Burgu, 1992).

Virüs izolasyonunda, burun akıntısından veya nazal sıvap numuneleri ile ölen hayvanların akciğerlerinden yararlanılır.

Serum numunelerinde humoral antikor tespiti için çoğunlukla ELISA'dan faydalanılır. Anaya ait antikorların kolostrum ile yavruya nakledildiği ve 4-8 ay süren kolostral korunmanın anadan yavruya geçen antikor miktarına bağlı olduğu belirtilmiştir (Burgu, 1982; Thomas ve Swann, 1973).

Hastalıktan korunma ve mücadele için aşılamanın yanısıra sekonder bakteriyel enfeksiyonlara karşı antibiyotik tedavisi tavsiye edilmektedir (Aytuğ, 1992; Blood ve Radostits, 1989; Burgu, 1992; Yılmaz ve ark., 1989).

Bu çalışmada 2002-2005 yılları kayıtları değerlendirilerek, virusların neden olduğu solunum sistemi enfeksiyonlarından IBR, BVD, ve PI-3 viruslarının viral etiyolojilerinin ortaya konması ve mücadele yöntemlerine ışık tutulması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

2002-2005 yılları arasında laboratuvarımıza viral solunum sistemi hastalıkları yönünden teşhis amacıyla gönderilen kan serum örnekleri (aşısız hayvanlar), defibrine kan örnekleri, svap ve organ örnekleri teşhis materyali olarak kullanılmıştır. Örnekler test kit protokollerinde bildirildiği şekilde hazırlanmıştır ve muhafazaya alınmıştır.

Çalışmada antikorların tespiti amacıyla antikor ELISA Kiti ve antijenlerin tespiti amacıyla da Antijen ELISA kitleri kullanılmıştır. Testler, kit protokollerinde bildirilen şekilde uygulanmış ve değerlendirilmiştir (Gibbs ve Riveyemamu, 1977; Kahrs, 1981; Homan ve Easterday, 1980; Bommeli ve Kihm, 1982; Juntti, 1987; Niskanen, 1989; Buxton, 1977; Mohanty, 1978; Woods, 1968; Juntti, 1987; Niskanen, 1989; Fenton ve ark., 1991; Netleton ve Entrican, 1995; Fenton ve ark., 1990).

Örneklerin gönderilmesinde kullanılan "marazi madde gönderme protokolü" bilgileri doğrultusunda yapılacak testler seçilmiştir. Sonuçlar Excel programına kaydedilmiş ve değerlendirilmelerinde bu program kullanılmıştır.

BULGULAR

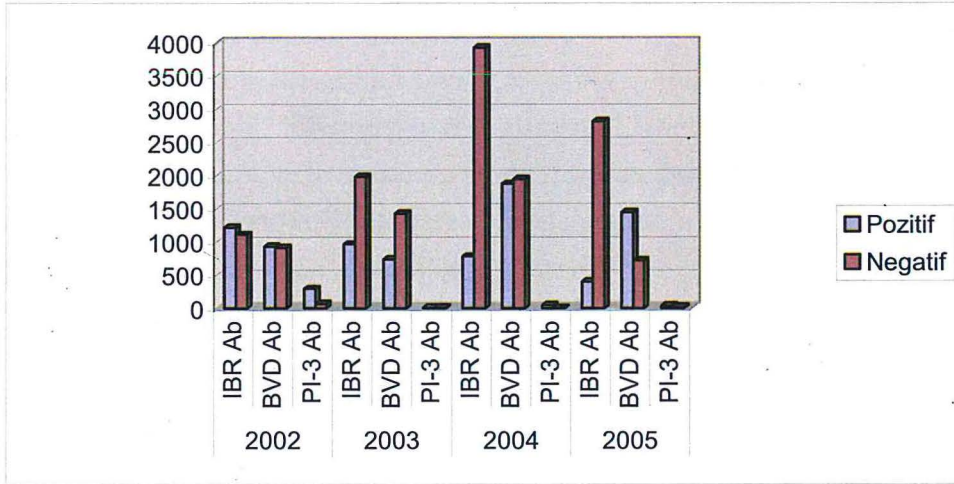
2002-2005 yıllarına ait veriler değerlendirildiğinde, IBR antikorları yönünden test edilen 13223 serumun 3374 adeti (%26) pozitif, IBR Antijeni yönünden test edilen 187 örneğin (svap, defibrine kan ve akciğer) 26 adeti (%13,9) pozitif, BVD Antikorları yönünden test edilen 10000 adet serumun 5000 adeti (%50) pozitif, BVD Antijeni yönünden test edilen 2072 örneğin (defibrine kan, dalak, akciğer) 75 adeti (%3,61) pozitif, PI-3 antikorları yönünden test edilen 507 serumun, 395 adeti (%77,9) pozitif bulunmuştur.

Test sonuçları tablo 1 ve şekil 1, 2, 3'de gösterilmiştir.

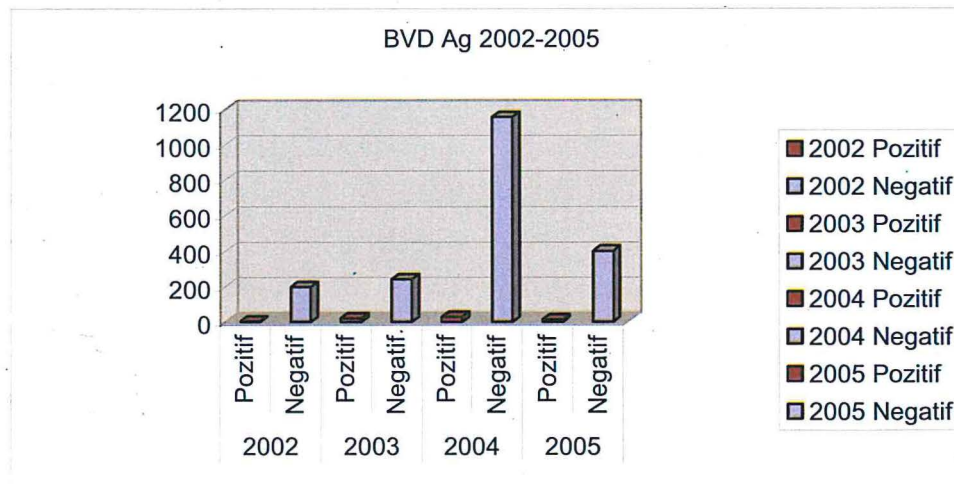
Tablo 1. Yıllara Göre Antikor ve Antijen Test Sonuçları

2002	IBR Ab	BVD Ab	PI-3 Ab	IBR Ag	BVD Ag
Pozitif	1220	930	294	0	5
Negatif	1109	910	70	0	199
Toplam	2329	1840	364	0	204
2003	IBR Ab	BVD Ab	PI-3 Ab	IBR Ag	BVD Ag
Pozitif	965	742	11	0	24
Negatif	1988	1428	13	0	240
Toplam	2953	2170	24	0	264
2004	IBR Ab	BVD Ab	PI-3 Ab	IBR Ag	BVD Ag
Pozitif	785	1874	48	0	31
Negatif	3932	1945	7	19	1157
Toplam	4717	3819	55	19	1188
2005	IBR Ab	BVD Ab	PI-3 Ab	IBR Ag	BVD Ag
Pozitif	404	1449	42	26	15
Negatif	28220	722	22	142	401
Toplam	3224	2171	64	168	416

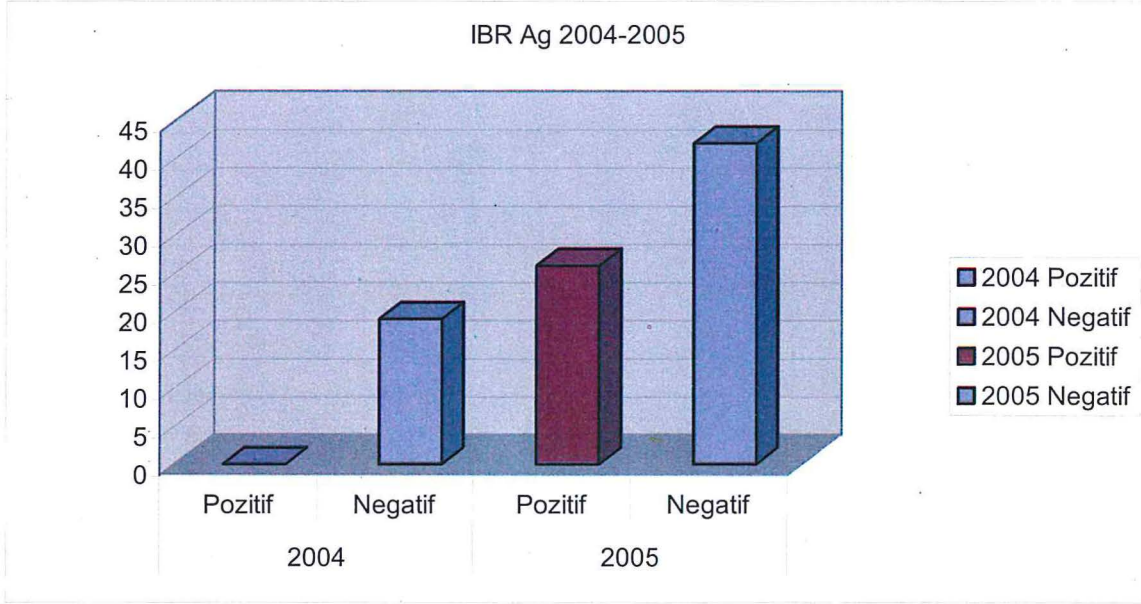
Şekil 1. 2002-2005 Toplu Antikor Sonuçları



Şekil 2. 2002-2005 BVD Ag Sonuçları



Şekil 3. 2004-2005 IBR Ag Sonuçları



TARTIŞMA VE SONUÇ

IBR dünyanın bir çok ülkesinde ve Türkiye'de değişik araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. (Burgu, 1987; Erhan Ve Ark., 1971; Greig, 1961; Lu Ve Ark., 1989; Ludwig ve Gregersen, 1986; Yılmaz ve ark., 1989). Süt sığırlarında yaklaşık % 8 olan morbidite oranlarının, intensif sistemde yetiştirilen besi sığırlarında %20-30 olduğu bu oranların aşısız hayvanlarda %100 e ulaşabileceği de belirtilmiştir (Blood ve ark., 1989; Fenner, 1987)

Türkiye'de IBR virusuna karşı oluşan antikorlar ilk defa 1971 yılında saptanmış (Erhan ve ark., 1971), daha sonraki yıllarda yapılan seroepidemiolojik taramalarda IBR antikorlarının varlığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Erhan ve ark., 1971; Burgu ve Akça, 1982; Burgu ve Akça, 1986; Gürtürk ve ark., 1975; Yılmaz, 1994; Burgu ve Akça, 1987). Bu çalışma ile saptanan %26 lık enfeksiyon oranı serolojik olarak yapılan çalışmalarda (Anon, 1990; Burgu ve Akça, 1982; Burgu ve Akça, 1986; Gürtürk ve ark., 1974; Gürtürk ve ark., 1975; Yılmaz, 1994) saptanan değerlerle paralellik göstermektedir. Bunun yanı sıra bu çalışmada, 2002 yılından başlayarak seropozitiflik oranlarında düşme görülmüştür.

Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nün Hayvan Hastalıkları ve Zararlıları ile Mücadele programı gereği 2002 yılından sonra IBR Marker aşının kullanımının teşvik edilmesi hastalığın seroprevelansının düşmesinin bir nedeni olarak düşünülebilir. Yine bu hastalık ile ilgili olarak, damızlık hayvanların periyodik kontrollerinin (6 aylık sürelerle) yapılması ve 6 aydan büyük damızlıkların seropozitif çıkması durumunda bunların damızlıkta kullanılmaması hastalığın seoprevelansının düşmesinde rol oynayan başka bir etken olarak düşünülebilir.

Gelişen teknolojiye bağlı olarak hastalıkların hızlı teşhisi ve dolayısıyla kontrol ve mücadelenin hızlı bir şekilde yapılması hastalıkların yayılmasının engellenmesi ve kontrolü bakımından önem taşımaktadır. Bu amaçla etkenin direk tespitine yönelik olarak kullanılan IBR antijen testi laboratuvarımızda kullanılmaktadır. Nasal svap ve akciğer örneği kullanılarak yapılan IBR antijen ELISA sonuçlarında %13,9 pozitiflik bulunmuştur. IBR antijen ELISA ile ilgili yapılan literatür taramalarında ülkemizde bir çalışmaya rastlanmamıştır bu nedenle karşılaştırma yapılamamaktadır. Ancak antijen pozitif bu hayvanların diğer hayvanlara hastalığı bulaştırmada ki rolleri

düşünüldüğünde, teşhisin hızlı bir şekilde yapılması bu testi değerli kılmaktadır. IBR antijen pozitif hayvanların işletme veya sürülerden derhal ayrılması hastalığın yayılmadan kontrol altına alınması için gereklidir.

Solunum sistemi hastalıkları, yetiştirme problemleri nedeniyle ekonomik yönden öneme sahip olan BVD hastalığı ile ilgili ülkemizde yapılan çalışmalarda hastalığın seroprevalansı ortaya konulmuştur. (Alkan, 1989; Burgu ve ark., 1990; Entrican ve ark., 1995; Fenton ve ark., 1991; Nettleton ve ark., 1985). Hastalığın dünyadaki serum antikör prevelansı %50-90 arasında değişmektedir. (Baker, 1987; Liess ve Moennig, 1990; Özkul, 1992). Yapılan bu çalışmada % 50 bulunan pozitiflik BVD'nin Türkiye genelinde yaygın olduğunu ve hastalığın mevcut sığır popülasyonlarında endemik hale dönüştüğü kanaatini ortaya koymaktadır. BVD Antijen pozitifliğin % 3,61 olarak tespit edilmesi hastalığın persiste olması açısından büyük önem taşımaktadır. Yapılan literatür taramalarında persiste enfekte taşıyıcı oranının %0.05-%2 arasında değiştiği ve bu oranların hastalığın yayılmasında ve nesillere aktarılmasında önemli olduğu belirtilmektedir. (Alkan ve ark., 2000; Baker, 1987; Liess ve Moennig, 1990; Özkul, 1992; Ertürk ve ark., 2002). Bu yüzdeler göz önüne alındığında bu çalışmada bulunan BVD persiste hayvanların yüzdesi virus saçılımı bakımından yüksek bir oran olarak değerlendirilmektedir. Ancak aynı hayvanlardan tekrar örnekleme yapılamadığından akut veya persiste ayırımı yapılamamış, antijen pozitifliğin önemli olduğu düşünülmüştür.

Sığırlarda PI-3 virusun neden olduğu akut solunum yolu enfeksiyonları pek çok ülkede görülmektedir. (Erhan ve ark., 1973; Gabathuler ve ark., 1987; Singh ve ark., 1967). Türkiye de de hastalığın varlığı bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. (Aytuğ ve ark., 1992; Burgu ve ark., 1984; Erhan ve Martin, 1969; Erhan ve ark.,

1973;) Bu çalışmada da pozitiflik % 77,9 olarak saptanmıştır. PI-3 virusu sığırlarda tek başına ender olarak hastalık oluşturur. Virusun diğer viruslarla veya bakterilerle birlikte bulunması halinde ağır solunum yolu hastalıkları meydana gelir. Bu çalışmada IBR ve BVD'nin seropozitif olduğu serum örneklerinde PI-3' yönünden de pozitiflikler saptanmıştır. Sığırlarda viral solunum sistemi enfeksiyonlarına neden olan bu üç hastalık ile ilgili birebir karşılaştırma farklı serum sayılarından dolayı yapılamamıştır.

Bu çalışmadan elde edilen veriler, EMVKA E Viroloji laboratuvarına gönderilen materyallerden BVD, IBR ve PI-3 enfeksiyonlarının seroprevalanslarını ve persiste enfeksiyon oranlarıyla etiyolojisini ortaya koymuştur. Bu verilere dayanılarak, hastalıkların kontrolü ve mücadelesi ile ilgili alınacak önlemler tespit edilmiştir. BVD enfeksiyonlarını kontrol edebilmek için, persiste enfekte doğumlara ve çeşitli reproduktif kayıplara neden olan fetal enfeksiyonlar ile akut enfeksiyonlar önlenmelidir. Amaçlanan bu hedeflere, aşılama, persiste enfekte hayvanların sürüden çıkarılması yoluyla ulaşılabilir. IBR/IPV/IBP enfeksiyonlarının hızla yayılışı, bütün dünyada yaygın oluşu ve derin dondurulmuş spermalar vasıtası ile taşınabilirliği yönünden, hastalıkla mücadele ve kontrol zor olmaktadır. Hastalıkla mücadelede en önemli faktör hastalığın sürüye girişinin engellenmesidir. Bu nedenle sürüye alınacak yeni hayvanların enfeksiyondan arı olduğunun teyit edilmesi veya enfeksiyondan arı sürülerden temin edilmesi zorunludur. Hastalık kontrolünde başarılı olmak için, sürülerde hijyenik tedbirlerin alınması, bakım şartlarının iyileştirilmesi, eradikasyon ve izolasyon tedbirlerine başvurulması ve aşılama önemlidir. IBR, BVD ve PI-3 ile mücadelede önemli bir yöntem de belirli aralıklarla sürülerdeki hayvanları serolojik kontrole tabi tutmak, seropozitif olanları elemine etmektir bu şekilde hastalıktan arı sürülerin devamlılığı sağlanabilir.

Canlı aşıya bağlı antikor taşıyan hayvanlar virus saçılmasında rol oynayabilecekleri için birçok ülke hayvan alımlarında seronegatif olanları tercih etmektedir. Diğer bir yöntemde tohumlama istasyonlarındaki boğaların kontrol altına alınması, seropozitif olanların kesinlikle elemine edilmesi, boğa alımlarında kesinlikle seronegatif olanların seçilmesi, suni tohumlama için ithal edilen spermaların virolojik kontrolünün yapılmasının gerekliliğidir. Damızlık hayvanlara aşı uygulanması tavsiye edilmemektedir. Hastalıkla mücadele amacıyla hastalığın bulaşma riskinin yüksek olduğu sürülerde IBR için marker aşılar uygulanabilir. Şüpheli bir enfeksiyon durumunda, marker aşı uygulanan sürülerde, spesifik izotiplendirme teknikleri kullanılarak saha virusuna karşı veya aşı sonrası oluşan immun cevap saptanır ve marker aşılar sayesinde enfekte veya aşıli hayvanlar kolaylıkla ayırt edilebilir.

Bu veriler ve değerlendirmeler sonucunda, yetiştiricilerin bu üç enfeksiyon konusunda bilgilendirilmelerinde ve hastalıkların kontrollerine yönelik çalışmaların yerine getirilmesinde fayda görülmektedir.

• LİTERATÜR LİSTESİ •

1. **AFSHAR, A. (1969):** The occurrence of antibodies to parainfluenza-3 virüs in sera of farm animals and man in Iran. *Br.Vet.J.*, 125, 529-533.
2. **ALKAN F (1989).** Arthrogriposityphoso ve hidrencephaly'li buzağı doğumlarında Bovine Viral Diarrhea-Mucosal Disease (BVD-MD)'in insidensi üzerine araştırmalar. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara,
3. **ALKAN F (1989).** Arthrogriposityphoso ve hidrencephaly'li buzağı doğumlarında Bovine Viral Diarrhea-Mucosal Disease (BVD-MD)'in insidensi üzerine araştırmalar. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara,
4. **ALKAN F, OZKUL A, BİLGE-DAGALP S, YESİLBAG K, OGUZOGLU TC, AKCA Y, BURGU I. (2000).** Virological and serological studies on the role of PI-3 virus, BRSV, BVDV and BHV-1 on respiratory infections of cattle. I. The detection of etiological agents by direct immunofluorescence technique. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 107:193-195.
5. **ANON (1990):** Infectious bovine rhinotracheitis. OIE Manual of Recommended Diagnostic Techniques and Requirements for Biological Products for List A and B diseases .
6. **AYTUG, N., TAVUKÇUOĞLU, F. ve ÇÖVEN, F. (1992):** Bursa yöresindeki enzootik buzağlarında Parainfluenza-3 virüsünün insidensi ve aşılamanın klinik pnömonilerin önlenmesindeki etkinliği üzerine bir araştırma. *Pendik Hayv.Hast.Merk. Araşt.Enst.Derg.*, 23 (1) 51-57.
7. **BAKER JC (1987).** Bovine viral diarrhea virus: A review. *JAVMA* 190, 1449-1458.
8. **BİTGEL A. (1996).** Trakya Bölgesindeki Sığırların Solunum Sistemi Enfeksiyonlarının Infectios Bovine Rhinotracheitis (IBR), Respiratory Syncytial Virüs (RSV) ve Parainfluenza-3 (PI-3) Yönünden İmmunofloresan Testi İle İncelenmesi. Uzmanlık Tezi. T.C Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı. İstanbul.
9. **BLOOD, D.C. and RADOSTITS, O.M. (1989):** Diseases caused by viruses and Chlamydia II. Viral diseases characterized by respiratory signs. in *Veterinary Medicine, Seventh edition*, 878-910. Bailliere-Tindall, Oxford.
10. **BOLIN S.R. (1995).** The pathogenesis of mucosal disease. *Vet. Clin. North. Am.*, 11, 489-500.
11. **BOMMELI, W. and KIHM, U. (1982).** ELİSA-the nucleus of the IBR/IPV control programme in Switzerland. *Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science* 22,242-251.
12. **BROWNLIE J. (1985).** Clinical aspects of the bovine virus diarrhoea/mucosal disease complex in cattle. *In Practice*, 7, 195-202.
13. **BRYSON, D.G. (1992):** Danalardaki viral ve bakteriyel pnömoniler arasındaki ilişki. *Pfizer Vet. Bült.*, (4) 20-22.
14. **BURGU, İ. (1992):** Özel Viroloji Ders Notları (Roto). A. Ü.

- 15. BURGU, İ. ve AKÇA, Y. (1982):** Gelemen devlet üretme çiftliği sığırlarında bazı viral enfeksiyonlara karşı serolojik araştırmalar. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 29 (3-4) 506-512.
- 16. BURGU, İ., ÖZTÜRK, F., AKÇA, Y. ve TOKER, A. (1984):** Karacabey harası sığırlarında PI-3 virüsünün neden olduğu viral pnömoni olayı. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 31 (2) 180-185.
- 17. BURGU, İ. ve AKÇA, Y. (1986):** Türkiye'de suni tohumlamada kullanılan bazı damızlık boğalarda IBR/IPV enfeksiyonu. A.Ü. Vet.Fak.Derg., 33 (1) 113-121.
- 18. BURGU, İ. ve AKÇA, Y. (1987):** First isolation of IBR virüs in Turkey. Tropical Animal Health and Production 19 (1) 56.
- 19. BURGU İ, ÖZTÜRK F, AKÇAY Y, TOKER A, FREY HR, LİES B (1990).** Türkiye'de koyunlarda Bovin Viral Diarrhoea (BVD) enfeksiyonlarının varlığı ve önemi. A.Ü.Vet.Fak.Derg. 37(1):121-127.
- 20. BURGU, İ, ALKAN, F, ÖZKUL, A., YESİLBAĞ, K., KARAOĞLU, T., GÜNGÖR, B. (2003).** Türkiye'de süt sığırcılığı işletmelerinde bovine viral diarrhea virus (BVDV) enfeksiyonunun epidemiyolojisi ve kontrolü. A.Ü Vet. Fak. Dergisi 50, 127-133.
- 21. BUXTON, A., FRASER, G. (1977).** Animal Micro-biology, vol.2. Rickettsias and Viruses. Blackwell, Oxford, pp 532 and 660.
- 22. CARMAN S., VAN DREUMEL T., RID-PATH J., HAZLETT M., ALVES D., DUBOVI E., TREMBLAY R., BOLIN S., GODKIN A. & ANDERSON N. (1998).** Severe acute bovine viral diarrhea in Ontario, 1993(1995). J. Vet. Diagn. Invest., 10, 27-35.
- 23. CHANOCK, R.M. and McINTOSH, K. (1990):** Parainfluenza viruses. in Fields Virology, second edition, 963-988, Ed. FIELDS, B.N. and KNIPE, D.M., Raven Press, New York.
- 24. DENNIS, M.J. (1986):** The effect of temperature and humidity on some animal diseases- A review. Br.Vet.J., (142) 472-485.
- 25. DONIS R.O. (1995).** Molecular biology of bovine viral diarrhea virus and its interactions with the host. Vet. Clin. North. Am., 11, 393-423.
- 26. ENTRICAN G, DAND A, NETTLETON PF (1995).** A double monoclonal antibody ELISA for detecting pestivirus antigen in the blood of viraemic cattle and sheep. Vet. Microb., 43: 65-74.
- 27. ERHAN M, ONAR B, CSANTOS L, HOPKINS IG (1971).** Serological survey on some virus and bedsonia disease of cattle, sheep and horse. J. Vet. Cent. Res. Inst. (Pendik), 4 (2): 56-58.
- 28. ERHAN, M. ve MARTIN, W.B. (1969):** Türkiye koyunlarında Parainfluenza-3 virüs enfeksiyonu hakkında ilk rapor. Pendik Vet.Kont.Araşt.Enst.Derg., 2, 90-101
- 29 ERHAN, M., ONAR, B. ve TANZER, F. (1973):** Parainfluenza 3 virüsünün koyun ve sığırlardan izolasyonu ve bu virusa karşı aynı hayvanların kan serumlarında hemagglutinasyon inhibisyon testiyle antikor aranması. Pendik Vet.Kont.Arşt.Enst.Derg., 6 (2), 67-76.
- 30. ERHAN, M., ONAR, B., CSANTOS, L. ve HOPKINS, I.O. (1971):** Koyun, sığır ve atların bazı virüsü ve Bedsonya hastalıkları üzerinde serolojik çalışmalar. Pendik Vet.Kont.Araş.Enst. Derg. ,4(2) 51-58.
- 31. ERTÜRK, A., TATAR, N., KABAKLI, Ö., İNÇOĞLU(KOCABAŞ), Ş., AKIN, A.İ. (2002).** BVD-MD yönünden seronegatif sığırlarda, persiste BVD enfeksiyonlarının ELISA ile araştırılması. Etlik Mrk. Vet. Kont ve Arşt. Enst. Dergisi 1, 32-44.
- 32. FENNER, F., BACHMANN, P.A., GIBBS, E.P.J., MURPHY, F.A., STUDDERT, M.S. and WHITE, D.O. (1987):** Veterinary Virology. First edition, Academic Press, London.
- 33. FENTON A, ENTRICAN G, HERRING JA, NETTLETON PF (1990).** An ELISA for detecting pestivirus antigen in the blood of sheep persistently infected with border disease virüs, J Virol Methods, 27: 253-260.

- 34. FENTON A, NETTELETON PF, ENTRICAN G, HERRING JA, MALLOY C, GREIG A., LOW JC (1991).** Identification of cattle infected with bovine virus diarrhoea virus using a monoclonal antibody capture ELISA. Arch. Virol. [Suppl. 3], 169-174.
- 35. FİNCİ E (1972).** Türkiye'de mucosal disease (virus diyare) üzerinde araştırmalar. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- 36. FOX FH (1996).** Historic Clinical Perspective. Inter symp bovine viral diarrhoea virus a 50 year review at the Collage of Vet Med Cornell Un.
- 37. GIBBS, E.P.J. and RIVEYEMAMU, MM. (1977).** Bovine herpesviruses, Part 1. Vet. Bul. 47, pp. 317-343.
- 38. GILBERT S.A., BURTON K.M., PRINS S.E. & DEREGT D. (1999).** Typing of bovine viral diarrhoea viruses directly from blood of persistently infected cattle by multiplex PCR. J. Clin. Microbiol., 37, 2020-2023.
- 39. GÜRTÜRK, S., FİNCİ, E., ve BURGU, İ. (1975) :** Yurdumuz sığırlarında enfeksiyöz rhinotracheitis (IBR) üzerinde araştırmalar, II: Spontan bir hastalık belirtisi göstermeyen sığırlarda IBR virusuna karşı antikor titresini. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 22, 104-111.
- 40. GÜRTÜRK, S., FİNCİ, E. ve BURGU, İ. (1974):** Yurdumuz sığırlarında enfeksiyöz rhinotracheitis (IBR) üzerinde araştırmalar, I. Türkiye'de sığırlarda IBR virusuna karşı antikor dağılımı üzerinde serolojik çalışmalar. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 21 (1-2) 34-44.
- 41. HAGE J.J., SCHUKKEN Y.H., DIJKSTRA T., BARKEMA H.W., VAN VALKENGOED P.H. & WENTINK G.H. (1998).** Milk production and reproduction during a subclinical bovine herpesvirus 1 infection on a dairy farm. Prev. Vet. Med., 34, 97-106.
- 42. HESSE, R.A. ve TOTH. T.E. (1983):** Effects of bovine parainfluenza-3 virüs on phagocytosis and phagosome-lysosome fusion of cultured bovine alveolar macrophages. Am.J.Vet.Res., 44 (10) 1901-1907.
- 43. HOMAN, E.-J. and EASTERDAY, B.C. (1980).** Isolation of bovine herpesvirus-1 from trigeminalganglia of clinically healthy cattle. Am. J. Vet.Res.41,1212-1213.
- 44. HORZINEK MC (1990).** Bovine Virus Diarrhoea Virus: An Introduction. Rev.sci.tech.Off.int.Epiz., 9(1): 13-23.
- 45. HOWARD CJ, BROWNLIE J, CLARKE MC (1987).** Comparison by the neutralization assays of pairs of noncytopathogenic and cytopathogenic strains of bovine virus diarrhoea virus isolated from cases of mucosal disease. Vet. Microbiol. 13, 361-369.
- 46. HYERA JMK, DAHLE J, LIESS B, MOENNIG V, FREY HR (1985).** Production of potent antisera raised in pigs by anamnestic response and use for direct immunofluorescent and immunoperoxidase techniques. Pestivirus Infections of Ruminants, Commission of the 5. European Communities, EUR, 10238, 87 -101.
- 47. JUNTTI N, LARSSON B, FOSSUM C (1987).** The use of monoclonal antibodies in enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus. J.Vet.Med. B 34, 356-363.
- 48. JUNTTI, N., LARSSON, B., AND FOSSUM, C. (1987).** The use of monoclonal antibodies in enzyme linked immunosorbent assays for detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virüs. J. Vet.Med. B 34, 356-363.
- 49. JUNTTI, N., LARSSON, B., AND FOSSUM, C. (1987)** The use of monoclonal antibodies in enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virüs. J. Vet. Med. B 34,356-363.
- 50. KAHRS, R.F. (1981).** Infectious bovine rhinotracheitis. In Viral Diseases of Cattle. The Iowa State University Press, Ames Iowa, pp. 135-156.

51. KENDRICK J.W. & MCENTREE K.

(1987). The effect of artificial insemination with semen contaminated with IBR-IPV virus. *Cornell Vet.*, 57, 3-11.

52. LIESS B (1990). Bovine viral Diarrhea virus.

In: *Virus Infections of Ruminants*. Edd. Dinter,Z., Morein, B. Elsevier Science Publisher. Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo. Chapter23, 247-266, 1990.

53. LIESS B, MOENNIG V (1990). Ruminant

Pestivirus infection in pigs. I *Rev.sci.tech.Off.int.Epiz.*, 9(1). 151-161.

54. MacVEAN, D.W., FRANZEN, D.K.,

KEEFE, T.J. and BENNETT, B.W. (1986): Airborne partide concentration and meteorologic conditions associated with pneumonia incidence in feedlot cattle. *Am. J. Vet.Res.*, 47 (12) 2676-2682.

55. MARL GELFERT CC (1991).

Epidemiologisch Untersuchungen uber die Verbreitung des BVD virus bei Rindern in der Türkei. Hannover.

56. McCLURKIN, A W, LITTLEDIKE E T,

CUTLIP R C, FRANK C, CORIA M F,

BOLIN S R (1984). Production of cattle

immunotolerant to b viral diarrhea virus. *Can.J.Comp.Med.*,48: 156-161.

57. METZLER A.E., MATILE H.,

GASSMANN U., ENGELS M. & WYLER R.

(1985). European isolates of bovine herpesvirus I: a comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides, and reactivity with monoclonal antibodies. *Arch. Virol.*, 85, 57-69,

58. MEYLING A (1984). Detection of BVD

virus in viremic cattle by an indi immunoperoxidase technique. *Recent Advences in Virus Diagnosis*. CEC seminar, Belfast, Sept. 22-23, 1983, 37-46.

59. MOENNIG V(1990). Pestivirues: A

Review. *Vet. Microbiol.* 23: 35-54.

60. MOHANTY, S. B. (1978) Bovine respiratory

virus. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 22,83-109.

61 NETTLETON PF ve ENTRICAN G.

(1995). Ruminant pestiviruses: a review. *Brit. Vet. J.* 151:615-642.

62. NETTLETON PF, HERRING JA., SIN-

CLAIR JA, QUIRIE L (1985). The epidemiology of Bovine Viral Dairrhoea Virus. *Proc. Sos. Vet. Epid.*, pp. 42-53.

63. NISKANEN, R., ALENİUS, S., LARSSON,

B., and JUNTTI, N. (1989) Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to bovine virüs diarrhoea virüs in milk. *J. Vet. Med. B* 36,113-118.

64. NISKANEN, R., ALENİUS, S., LARSSON,

B., AND JUNTTI, N. (1989) Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to bovine virus diarrhoea virus in milk. *J. Vet. Med. B* 36,113-118.

65. NISKANEN R, ALENİUS S, LARSSON

B, JUNTTI N (1989). Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to bovine virus diarrhoea virus in milk. *J. Vet. Med. B* 36, 113-118.

66. OHMAN H P, BABİUK L A (1986). Viral

infections in domestic animals as models for studies of viral immunology and pathogenesis. *J.Gen.Virol.* 66: 1-25.

67. ÖNCÜL S, MERİÇ İ, KORKUT F (1964).

First incidence of mucosal disease in Turkey observed among cattle at the Lalahan Animal Breeding Research Institute: *Clinical Aspects. J. Anim. Breed. Res. Inst. (Lalahan)* 4: 186-199.

68. ÖZKUL A (1992). Gebe ineklerde ve fötus-

larında bovine virus diarrhoea -mucosal disease (BVD-MD), A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

69. PELLERIN C., Vandenhurk J., Lecomte J. &

Tijssen P. (1994). Identification of a new group of bovine viral diarrhoea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities.

Virology, 203, 260-268.

- 70. RIDPATH J.F. Bolin S.R. & Dubovi E.J. (1994).** Segregation of bovine viral diarrhoea virus into genotypes. *Virology*, 205, 66-74.
- 71. SINGH, K.V. and EL CICY, I.F. (1967):** Studies with bovine parainfluenza-3 virüs in U.A.R. (Egypt). *Can.J.Comp.Vet.Sci.*, 31 (3) 70-79.
- 72. STUDDERT M.J. (1994).** Bovine herpesvirus. In: *Encyclopedia of Virology*, Webster R.G. & Granoff A., eds. Academic Press, London, UK, 155-158.
- 73. THOMAS, L.H. and SWANN, R.G. (1973):** Influence of colostrum on the incidence of calf pneumonia. *Vet.Rec.*, 91 (4) 454-455.
- 74. VAN DER MAATEN, M.J. (1969):** Immunofluorescent studies of bovine parainfluenza-3 virüs I. Celi cultures and experimentally infected hamsters. *Can.J.Comp.Med.*, 33 (1) 134-140.
- 75. VAN OIRSCHOT J.T., STRAVER P.J., VAN LIESHOUT J.A.H., QUAK J., WESTENBRINK F. & VAN EXSEL A.C.A. (1993).** A subclinical infection of bulls with bovine herpesvirus type 1 at an artificial insemination centre. *Vet. Rec.*, 132, 32-35.
- 76. VILCEK S., PATON D.J., DURKOVIC B., STROJNY L., IBATA G., MOUSSA A., LOITSCH A., ROSSMANITH W., VEGA S., SCICLUNA M.T. & PALFI V. (2001).** Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups. *Arch. Virol.*, 146, 99-115.
- 77. WOODS, G.T. (1968)** The natural history of bovi-nemyxovirusparainfluenza-3. *J.A.V.M.A.* 152, 771-777.
- 78. YILMAZ, F. (1994):** Elazığ ve çevresindeki sığırlarda infeksiyöz bovine rhinotracheitis-infeksiyöz pustular vulvovaginitis'in (IBR/IPV) serolojik araştırılması. *F.Ü. Sağlık Bil.Derg.*, 8(2) 70-75.
- 79. YILMAZ, S., YONGUÇ, A.D. ve İLGAZ, B. (1989):** Attenüe canlı IBR/IPV-PI-3 aşısı ile deneysel çalışmalar. *Etlık Vet.Mikrobiol.Derg.*, 6 (4) 13-23.

Not: Literatürler metin içinde soyada göre belirtilmiştir. Literatür listesinde 3, 30, 48, 49, 64, ve 65 numaralı literatürler sehven tekrarlanmıştır.