

Şanlıurfa İlindeki İshalli Buzağılarda Bovine Coronavirus Varlığının ELISA Yöntemi ile Araştırılması

Ramazan ABİKOĞLU^{1,a}, İrfan ÖZGÜNLÜK^{2,b,*}

¹DOLLVET, Şanlıurfa Organize Sanayi, Şanlıurfa, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

^aORCID: 0000-0002-6971-9043, ^bORCID: 0000-0002-6003-8612

Geliş Tarihi: 18.05.2022

Kabul Tarihi: 15.06.2022

Özet: Sığır yetiştiriciliğinde önemli sorunlardan biri olan yeni doğan buzağı ishallerinde sığır Coronavirus (BCoV) enfeksiyonları çok sık görülmektedir. Bu çalışmanın amacı Şanlıurfa ilindeki ishallerde BCoV enfeksiyonunun araştırılmasıdır. Bu çalışmada, klinik muayeneyi takiben ishalleri (≤3 ay) 94 buzağı örneklenmiştir. BCoV antijen varlığının tespiti için Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kullanıldı. Toplamda 5 dışkı numunesi BCoV pozitif (%5.32) belirlendi. Elde edilen bu sonuç BCoV Şanlıurfa ilindeki ishallerde düşük oranda olduğunu gösterdi. Bununla beraber enfeksiyonun, sığır popülasyonlarında hızlı bir yayılma eğiliminde olduğu göz önünde bulundurularak tedavi maliyetleri ve buzağı ölümlerinden kaynaklanan büyük ekonomik kayıplara neden olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, Coronavirus, ELISA, İshal.

Investigation of the Presence of Coronavirus by ELISA Method in Diarrheic Calves in Sanliurfa Province

Abstract: Bovine coronavirus (BCoV) infections are widespread in newborn calf diarrhea, which is one of the critical problems in cattle breeding. This study aims to investigate BCoV infection in calves with diarrhea in Sanliurfa province. In this study, 94 calves with diarrhea (≤3 months) following clinical examination were sampled. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the presence of BCoV antigen. A total of 5 stool samples were found to be BCoV positive (5.32%). This result showed that BCoV was low in calves with diarrhea in Sanliurfa province. However, considering the rapid spread of the infection in cattle populations, it is thought that it may cause significant economic losses due to treatment costs and calf deaths.

Keywords: Calf, Coronavirus, Diarrhea, ELISA.

Giriş

Coronavirüsler; insanların ve birçok hayvanın (sığır, köpek, kedi, kanatlı, tavşan, sıçan ve domuz) sindirim, solunum, dolaşım gibi sistemlerinde meydana getirdiği zararlar ile tüm vücutta etkisini gösterebilen ve çok geniş bir virüs familyasını temsil eden enfeksiyöz ajanlardan biridir. İlk defa 1968 yılında elektron mikroskopu ile morfolojik olarak tespit edilmişlerdir (Brunauer, 2021; Hodnik ve ark., 2021; Lotfollahzadeh ve ark., 2020; Vlasova ve Saif, 2021).

Bovine Coronavirus (BCoV), aile ismini virionun taç (Latince corona=taç) şeklindeki görünümünden almakta ve Coronavirus virionları pleomorfik yapıda, genelde yuvarlak, yaklaşık 80-220 nm çapında zarflı partiküllerdir ve sarmal, segmentsiz, pozitif polariteli ssRNA genomuna sahiptir (Barker, 2008; Brunauer, 2021; Lai ve ark., 2007; Perlman ve Netland, 2009; Vlasova ve Saif, 2021).

BCoV yenidoğan buzağılarda şiddetli diareye (CD: calf dysentery), yetişkin sığırlarda kış dizanterisi (WD: winter dysentery), buzağı ve besi sığırlarında

ise solunum yolu enfeksiyonlarına neden olur (Amoroso ve ark., 2020; Brunauer, 2021; Decaro ve ark., 2008; Park ve ark., 2006; Saif, 2010).

Şanlıurfa GAP projesinin tamamlanması ile tarım ve hayvancılık yönünden önemli bir yer edinmiştir. Günümüzde yeni ve daha kapsamlı büyük baş yetiştiriciliği artarken eski işletmelerde kapasitesini ciddi oranda artırdığı gözlemlenmektedir. Yapılan çalışmalar, Buzağı ölümlerinin ABD için %57 (Gomez ve Weese, 2017), Kore için %53,4-68,7 (Chae ve ark., 2021), İran için %58 (Azizzadeh ve ark., 2012) ve Uruguay için %15,2 (Caffarena, 2020)'sinin neonatal buzağı ishalinden kaynaklandığı bildirilmektedir. İshallerde farklı viral enteropatojenlerin varlığının karşılaştırdıkları çalışmalarında, Gomes ve Weese (2017) coronavirus %3-79 oranı ile rotavirus için bildirdiği orana (rotavirus %7-80) çok yakın bir oranla ikinci sırada yer aldığını belirtmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı, yeni doğan buzağılarda ölümlere neden olan ishal etkenlerinden olan

coronavirüslerin Şanlıurfa yöresindeki enterik vakalarındaki prevalansı araştırılması ve bölge hayvancılığına katkı sağlanmasıdır.

Materyal ve Metot

Gaita Örneklerinin Toplanması: Çalışmada kullanılan materyaller Şanlıurfa merkez ve ilçelerinden toplandı. Enterit problemi duyumu alınan küçük aile işletmeleri ve diğer işletmeler ziyaret edildi. Bu çalışma DOLLVET A.Ş. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (DOLLVET-HADYEK) 10.06.2016 tarih ve 2016/21 numaralı etik kurul izni ile yapılmıştır. Gaita örneklerinin toplanma tarihleri ve çiftlik kodlarına göre dağılımı Tablo 1'de gösterildi.

Tablo 1. Gaita örneklerinin toplanma tarihleri ve çiftlik kodlarına göre dağılımı.

Çiftlik No	Örnekleme Tarihi	Örnek Sayısı
1	17.02.2015	16
2	09.08.2015	12
3	24.02.2016	24
4	07.03.2016	10
5	06.04.2016	3
6	07.04.2016	15
7	08.02.2018	14
Toplam Örnek Sayısı		94

Muayene edilen ve ishal semptomu gözlemlenen üç aylık ve daha küçük 94 holstein ırkı buzağıdan gaita örneklendi. Örnekleme sırasında buzağılarda cinsiyet ayırımı yapılmazken yaşları not edilip 6 gruba ayrılarak Tablo 2'özetlendi.

Tablo 2. Yaş gruplarına göre örnekleme dağılımı.

Yaş (gün)	Örneklenen Gaita sayısı
1-7	5
8-14	2
15-21	13
22-30	57
31-60	15
61-90	2
Toplam	94

Örnekleme direkt steril eldiven yardımı ile anüsten gaita alınarak yapıldı. Ticari steril gaita kaplarına

aktarılan numuneler, Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı laboratuvarında -20 °C'de muhafaza edildi.

Gaita örneklerinde ticari ELISA ile BCoV antijen varlığının araştırılması: Virolojik teşhis amacıyla ticari ELISA (Bio-X Easy Digest 2 ELSA Kit, kat. No: BIO K 314/1, Belgique) kiti kullanıldı. Tetkikler üretici firma tarafından gönderilen prosedüre uygun şekilde yapıldı. Öncelikle bütün ticari kit içeriği teste başlamadan 1 saat önce oda sıcaklığında (yaklaşık 24 °C) tutuldu. Bu süre sonunda derin dondurucudan alınarak oda ısısına getirilmiş olan gaita örnekleri ependorf tüplerine alınıp eşit hacimde sulandırma solüsyonu ile sulandırıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Doğal olarak çökelen gaita santrifüj uygulanmadan üst kısmındaki içerikten, test ticari firmanın belirttiği prosedüre uygun olarak yapılmıştır. ELISA okuyucusu ile 450 nm dalga boyunda elde edilen OD değerleri kit prosedüründe bulunan formüle göre değerlendirilerek sonuçlar yorumlandı.

İstatistiksel analiz: BCoV pozitivite ve yaş grupları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi için SPSS 23.0 programında chi-square (χ^2) testinden yararlanıldı.

Bulgular

ELISA ile yapılmış çalışma sonucunda toplam 94 adet ishali buzağının 5 (%5,32) tanesinde BCoV antijeni tespit edilirken kalan 89'unda (%94,68) ise coronavirus antijeni yönünden negatif oldukları tespit edilmiştir. Çiftlik bazında değerlendirildiğinde örnekleme yapılan çiftliklerden 3 (%42) adedinde coronavirus varlığı belirlenmiştir. Çiftlikler değerlendirildiğinde antijen varlığının %0,0 ile %13,33 arasında değişen bir dağılım gösterdiği gözlemlendi. ELISA testi sonucunda elde edilen veriler Tablo 3'de gösterildi.

Yenidoğan diareli buzağuların yaş gruplarına göre coronavirus antijen pozitif dağılımları incelendiğinde (Tablo 4); pozitif olgularının ilk haftada %20 (1/5) ve 4. haftada %7,02 (4/57) olduğu, ikinci ve üçüncü haftalarda ile 31 gün ve daha büyük yaşa sahip buzağılarda ise pozitiflik tespit edilmediği görüldü.

Pozitif buzağuların yaşı göz önünde bulundurulduğunda; bir buzağının iki günlük, bir tanesinin 25 ve üç buzağının bir aylık olduğu gözlemlendi. Pozitif bulunan buzağuların yaşlarının toplamı 117 gün ve 5 buzağıda antijen varlığı ortaya konulduğundan ($117/5=23.4$), bovine coronavirus antijeni yönünden pozitif olan buzağuların yaş ortalaması 23,4 gün olarak saptandı (Tablo 5). Yaş grupları arasında pozitiflik chi-square (χ^2) testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak fark önemsiz olarak ($P>0.05$) tespit edildi.

Tablo 3. Çiftliklere göre Bovine Coronavirus (BCoV) ELISA Sonuçları.

Çiftlik No	Örneklenen hayvan sayısı	Coronavirus Ag pozitif buzağılar		Coronavirus Ag negatif buzağılar	
		Adet	%	Adet	%
1	16	1	6,25	15	93,75
2	12	0	0,0	12	100
3	24	2	8,33	22	91,67
4	10	0	0,0	10	100
5	3	0	0,0	3	100
6	15	2	13,33	13	86,67
7	14	0	0,0	14	100
Toplam	94	5	5,32	89	94,68

Tablo 4. Yaş gruplarına göre Coronavirus pozitif buzağı sayısı ve dağılımı.

Yaş grubu (gün)	Örneklenen buzağı sayısı	Coronavirus pozitif buzağı	
		+ (adet)	% (oran)
1-7 gün	5	1	20,00
8-14	2	0	0,00
15-21	13	0	0,00
22-30	57	4	7,02
31-60	15	0	0,00
61-90	2	0	0,00
Toplam	94	5	5,32

Tablo 5. Pozitif buzağuların yaş ortalaması.

Örnek no:	Gün				
	1	2	3	4	5
Yaş (Gün)	30	25	30	2	30
Pozitif buzağuların toplam yaşı/pozitif buzağı sayısı	117/5				
Pozitif hayvanların yaş ortalaması	23,4				

Tartışma ve Sonuç

Şanlıurfa yöresinde hayvancılık koyun, keçi ve sığır yetiştiriciliğine dayanmaktadır. Sığır yetiştiriciliği hem sütçü hem de besi yetiştiriciliği şeklinde olup küçük aile işletmeleri ve sayısı az da olsa entansif işletmeler bulunmaktadır. Sığır yetiştiriciliği hangi yönlü olursa olsun çeşitli faktörlerden meydana gelen yavru kayıpları ekonomik olarak önemlidir. Meydana gelen kayıpların önemli bir bölümü ise ilk bir ay içinde meydana gelen ishal nedenli buzağı ölümleri olmakta ve önemine binaen yenidoğanların ishali (neonatal calf diarrhea) olarak

isimlendirilmiştir. Buzağı kayıplarına neden olan neonatal buzağı ishalleri doğumdan sonraki ilk saatlerden başlamak üzere ve yaşamın ilk birkaç ayında etkilidir. Neonatal calf diarrhea etiyolojisinde; *E. coli*, *Cl. perfringens*, *Salmonella spp.*, *Camphylobacter jejuni* ve *Chlamydia spp.* benzeri bakteriyel, rotavirus, coronavirus, parvovirus, adenovirus, astrovirus, calicivirus gibi viral, Coccidia, Giardia, Cryptosporidium gibi paraziter nedenler rol oynamaktadır (Atlı ve ark., 2018; Al ve Balıkcı, 2012; Chae ve ark., 2021; De la Fuente ve ark., 1998; Gulliksen ve ark., 2009).

Yeni doğan buzağuların ishal olgularında coronavirus varlığı dünyanın farklı ülkelerinde

yapılan araştırmalarda %0,91 ile %68,6 değişen oranlarında olduğu bildirilmiştir (Al Mawly, 2015; Athanassios 1994; Bok ve ark., 2015; Brunauer, 2021; Coura ve ark., 2015; Garcia ve ark., 2000; Izzo ve ark. 2011). Yenidoğan buzağuların ishal olgularında coronavirus varlığının ve neden olduğu ekonomik kayıpların önemine dikkat çekilen bu çalışmalarda, Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan ve yedi yıllık bir periyodu kapsayan, 2 kaynağın ele alındığı çalışmada yeni doğan buzağı ishalleri nedeniyle yıllık ortalama buzağı kayıpların %17,5 ve %29,7 oranlarında coronavirus nedenli olduğu, aynı çalışmada ekonomik kaybın mali bilançosu yapılmış ve yeni doğan buzağı ishalleri nedeniyle yıllık ortalama maddi kayıpların 95 milyon dolar olduğu ve bununun 16,7 milyon \$ kadarı coronavirus nedenli diare enfeksiyonları sebebiyle oluştuğu vurgulanmıştır (House 1978). Debelo ve ark. (2021) Etiyopya'da yapılan bir çalışmada ise BCoV pozitifliği %0,91 (1/110) olarak rapor edilmiştir. Etiyopya'da başka bir çalışmada ise 108 ishali buzağıda beş farklı enterik patojenin varlığını araştırmış, bovine coronavirusun %38,9 oranı ile enteropatojen ajanlar arasında ilk iki sırada yer aldığını ifade etmişlerdir (Abraham ve ark., 1992). Coura ve ark. (2015) Brezilya'da yaptıkları çalışmada BCoV prevalansını %68,6 (46/67) olarak tespit etmişlerdir. Athanassios ve ark. (1994) Kanada'nın Quebec bölgesi diareli buzağılardan elde ettikleri toplam 197 dışkı örneğini ELISA ve direkt EM yöntemleri ile inceledikleri çalışmada BCoV antijen varlığını %11,17 (22/197) olarak belirlerken, yenidoğanların ishal olgularında coronavirus oranını %22,68 (22/97) olarak tespit etmiş ve ishal olgularının en önemli patojenleri arasında coronavirusları bildirmişlerdir. İspanya'da ishali buzağılardaki enteropatojenlerin yaygınlığı üzerine yapılan bir çalışmada, PAGE yöntemiyle %7,3 oranında BCoV pozitifliği saptadıklarını bildirmişlerdir (De la Fuente ve ark., 1998). İspanya'da yapılan diğer bir çalışmada ise ishali buzağılardan elde ettikleri dışkıları inceleyen Garcia ve ark. (2000) buzağılarda yakın oranda coronavirus varlığı bildirmişlerdir ve %5,05 (11/218)'lik pozitif tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Izzo ve ark. (2011) Avustralya'daki ishali buzağılarda enteropatojenik ajanların dağılımı üzerine yaptıkları araştırmalarında %21 oranında BCoV saptamışlardır. Arjantin'de ise, Bok ve ark. (2015) 17 yıllık bir periyotta elde ettikleri 1058 ishali dışkı örneğini RT-PCR ile yaptıkları tetkiklerinde buzağuların 63'ünde BCoV varlığını bildirmişlerdir. Chae ve ark. (2021) Kore'de yaptıkları çalışmalarında coronavirus için pozitifliği %8,5 (46/544) olarak tespit etmişlerdir. Coura ve ark. (2015) Brezilya'da sağlıklı ve ishali sığırların bulunduğu bir süt sığırı işletmesinde enteropatojenik ajanları belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada

%68,6 (46/67) oranında BCoV yönünden pozitiflik bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, Şanlıurfa merkez ve ilçelerden toplanan 94 adet (Tablo 2) ishali buzağı dışkısı ELISA testi ile BCoV varlığı yönünden araştırıldı ve ELISA tekniği ile incelenen 94 adet ishali buzağıya ait gaita örneğinden %5,32'sinde (5/94) coronavirus antijen varlığı belirlendi. Araştırmada belirlenen oranlar daha önce yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, Debelo ve ark., (2021)'inin bildirdikleri sonuçtan yüksek iken De La Fuente ve ark. (1998), Garcia ve ark. (2000) ve Chae ve ark. (2021) verilerine oldukça yakın ancak diğer bilim insanlarının verilerinden oldukça düşük olduğu görülmektedir. Bu çalışmada belirlenen oranların düşük olması, diğer araştırmalarda örnekleme yaptıkları çiftliklerin 100 baş ve üzeri kontrollü yetiştiriciliğin yapıldığı sığır çiftliklerinden olmasına bağlanabilir. İshale sebep olan enfeksiyonların buzağular arasındaki yayılımının sürü büyüklüğüyle de bağlantılı olabileceği göz önüne alındığında, toplanan örneklerin bir kısmının halk elindeki küçük tarz bireysel işletmelerden, bir kısmının ise 100 baş ve üzeri büyük tarz çiftliklerden sağlanmış olması dikkate alınmalıdır.

Neonatal buzağuların ishal olgularında coronavirus varlığı Türkiye'de farklı illerde yapılan çalışmalarda %0,54 ile %37,27 değişen oranlarında olduğu bildirilmiştir (Aksoy ve ark., 2021; Yavru ve ark., 2016). Alkan (1998) Türkiye'de ishali buzağı dışkılarında rotavirus ve coronavirus varlığını belirlemek amacıyla yaptığı bir çalışmada, 83 adet ishali buzağıdan elde ettiği dışkı örneklerinde %18 oranında BCoV yönünden pozitiflik tespit ederek, epidemiyolojik açıdan yaptıkları değerlendirmede etkenin ülkemizdeki durumunun yaygın olduğunu bildirmiştir. Takip eden yıllarda da ülkemizdeki enteropatojenik ajanlar çok sayıda araştırmacı tarafından birçok çalışma ile araştırılmış olup farklı sonuçlar elde edilmiştir. Eskiizmirliler ve ark. (2001) Türkiye'nin birçok yerinden yaptığı örneklemede ishali buzağılarda %13'ünde coronavirus etkenini saptamışlardır. Erdoğan ve ark. (2003) ise Kars bölgesinde yenidoğan buzağılardaki BCoV yaygınlığını belirlemek için 104'ü ishali 43'ü normal buzağı dışkısını ELISA ile antijen varlığı yönünden incelemişler ve ishali buzağuların %1'inde BCoV yönünden pozitiflik tespit etmişlerdir. Hasırcıoğlu (2005), Malatya ili, halk elindeki 58 ahırda yer alan, yaşları 3 gün ile 6 ay arasında değişen 63 adet ishali buzağıdan ve bunların annelerinden elde ettiği örnekler ile yaptığı çalışmada, ishal semptomu gösteren 63 adet buzağıya ait dışkı örneklerinden 2 adedinde (%3,18) coronavirus antijen varlığı saptamıştır. Hasöksüz ve ark. (2005) Ege bölgesinden örnekleme yapmış, 1 ile 30 günlük diare semptomu gösteren 35 buzağıdan 13 (%37,1)'ünde coronavirus tespit etmişlerdir. Çabalar ve ark. (2007) Van'da 1 ile

30 günlük ishali 89 buzağıdan alınan dışkı örneklerinin 1'inde (%1,12) coronavirus belirlenmişlerdir. Gumusova ve ark. (2007) ise Türkiye'nin farklı yerlerinden topladıkları 100 adet sağlıklı ve ishali buzağılardaki dışkıları ELISA ile antijen varlığı yönünden inceledikleri bir çalışmada %1 oranında BCoV antijen pozitifliği saptadıklarını bildirmişlerdir. Ok ve ark. (2009) Konya yöresindeki 8 farklı çiftlikten 2-30 günlük olan 82'si ishal ve 18'i normal İsviçre-holstein olan buzağılardan yaptıkları örneklemede yenidoğanların enterik etiolojisini incelemiş ve ishal semptomlu buzağılarda rotavirus için %28,84 (15/52), coronavirus için %13,41 (11/82), E. Coli için %21,15 (11/52) pozitiflik tespit etmişlerdir. Yavru ve ark. (2016) Burdur yöresinde yerleşik 25 farklı sütçü sığır işletmesinde bulunan 3500 sığır ve yavrusunun klinik muayenesi neticesinde ishal bulgusu tespit ettikleri 184 buzağıya ait gaita örnekledikleri çalışmada, aynı zamanda bu yavrular ve annelerinden serolojik çalışma için kan örneklemiştir. Yaşları 2-6 ay arasında olan bu buzağılara ait gaita örnekleri ELISA yöntemi ile yapılan tetkiklerinde %0,54 (1/184) pozitiflik bildirmişlerdir. Saklı (2017) ise Konya ve Afyon çevresindeki bölgelerden ishali buzağılarda BCoV yaygınlığını inceledikleri çalışmalarında RT-PCR ve hızlı tanı kiti ile 96 adet dışkı örneğinden 13'ü (%13,54) BCoV yönünden pozitif olarak belirlenmiştir. Aksoy ve ark. (2021) Çankırı, Kırıkkale, Kırşehir, Yozgat, Çorum ve Ankara illerinde ishali buzağıda RT-PCR ile yaptıkları çalışmada BCoV pozitif %37,27 (41/110) belirlenmiştir. Temizkan ve Alkan, (2021) çalışmalarında Türkiye'nin 15 farklı yerleşim biriminden yaptıkları örneklemede coronavirusun prevalansını %21,9 (9/41) olarak tespit etmişlerdir. Pestil ve ark. (2016) tarafından İstanbul, Tekirdağ, Kırklareli ve Kocaeli illerinden topladıkları örneklerde coronavirus için pozitifliği %2 (2/100) olarak bildirmektedir.

ELISA tekniği ile yapılan mevcut çalışmada elde edilen %5,32 pozitiflik (Tablo 2) oranı, Yavru ve ark. (2016) bildirdikleri verilerden (%0,54) yüksek görülmektedir. Ancak elde edilen antikor düzeyleri iki aydan yaşlı bireylerin BCoV'u daha erken yaşta geçirmiş olabilecekleri şeklinde yorumlamışlardır. Bu çalışmada örneklenen hayvanların çoğunluğu 1 aydan küçük buzağıları kapsadığından bu görüş ile uyumlu ve destekler mahiyette olduğu görülmektedir.

Ülkemizde BCoV'a yönelik çalışmalar daha çok bir il veya bir bölgeyi kapsamakta olup farklı sayıda örnekleme ile yapılan çalışmalarda değişik teşhis (SNT, ELISA, Hızlı test kiti...) teknikler kullanılmıştır. Yaptığımız çalışmada elde edilen coronavirus antijen pozitifliği (%5,32) önceden yapılmış olan araştırmalardan bazılarının bildirdikleri %37,27 (Aksoy ve ark., 2021), %37,1 (Hasöksüz ve ark.,

2005), %21,9 (Temizkan ve Alkan, 2021), %18 (Alkan, 1998), %13,56 (Saklı, 2017), %13,4 (Ok ve ark., 2009), %13 (Eskiizmirli ve ark., 2001) değerlerden oldukça düşük olduğu görülmektedir. Öte yandan diğer araştırmacıların elde ettiği; %1 (Erdoğan ve ark., 2003), %1 (Gumusova ve ark., 2007), %1,12 (Çabalar ve ark., 2007), %2 (Pestil ve ark., 2016), %3.18 (Hasırcıoğlu, 2005) sonuçlardan yüksek olarak görülmekte ise de yakın değerler olduğu gözlemlenmektedir. Mevcut çalışmada elde edilen verinin ve diğer çalışmalarda tespit edilen oranların bu şekilde farklı olması çeşitli faktörler ile açıklanabilir. Bu faktörler arasında örnekleme yapıldığı bölgelerin farklı olması, o bölgenin iklim, coğrafik konum ve bu bölgelerdeki hayvancılık yetiştirme tarzının birbirinden oldukça farklı olmasına yanında kullanılan teşhis yöntemlerinin de hassasiyetinin farklılığına bağlanabilir. Ayrıca elde ettiğimiz sonuç farklı yörelerde coronavirus yaygınlığının birbirinden çok farklı olduğuna işaret etmektedir. Türkiye'nin değişik illerinde bulunan kamuya ait işletmelerden temin edilen örnekler ile yapılan bir çalışmada, yetiştiricilik tarzları aynı olmasına rağmen ayrı bölgelerdeki illerden olması dışında çok az bir fark bulunan bu işletmelerde coronavirus farklı oranlarda tespit edilmiştir (Alkan, 1998). Yine farklı araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda dışkı örneklerini Türkiye'nin birden çok farklı yerleşim biriminden sağlarken (Eskiizmirli ve ark., 2001; Gumusova ve ark., 2007; Temizkan ve Alkan, 2021), bazı araştırmacılar; Hasöksüz ve ark. (2005) Ege bölgesinden, Pestil ve ark. (2016) İstanbul, Tekirdağ, Kırklareli ve Kocaeli, Aksoy ve ark. (2021) Çankırı, Kırıkkale, Kırşehir, Yozgat, Çorum ve Ankara, Saklı (2017) Konya ve Afyon yöreleri gibi birkaç ilden, diğer çalışmalar ise; Erdoğan ve ark. (2003) Kars, Çabalar ve ark. (2007) Van, Yavru ve ark. (2016) Burdur, Hasırcıoğlu (2005) Malatya, Ok ve ark. (2009) Konya bölgesi gibi daha dar bir alandan (bizim çalışmamızda da olduğu gibi) örnekleme yapmışlardır ve farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Bu veriler görüşümüzü desteklemektedir.

Bu çalışmanın planlama aşamasında ve çalışmanın sonuçlandığı günümüze kadar olan süre içinde yapılmış olan literatür tarama çalışmalarında Şanlıurfa yöresinde yapılmış olan ve coronavirus çalışmış olan bir araştırmaya ulaşılmıştır. Alkan (1998) Şanlıurfa il sınırları içinde bulunan bir kamuya ait işletmeden 6 adet ishali buzağıdan örnekleme yapmış ve yaptığı tetkiklerde örneklerin tamamının negatif olduğunu tespit etmiştir. Bu bağlamda yapılan çalışmanın yöreye yönelik değerli bir bilgi kaynağı olacağı kanısına varılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların Alkan (1998) verilerinden yüksek oranlarda bulunduğu gözlenmektedir. Bu durum her iki örnekleme yapılan işletmelerin farklı karaktere sahip olmasının yanında bu çalışmada

örneklene buzağı sayısının fazla olması ya da günümüzde bölgede enterik vakalarında coronavirusların etkinliğini artırmış olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Bovine coronavirus ishal etkenleri olup klinik enfeksiyonları genellikle genç hayvanlarda görülmektedir. Dünyada yapılmış çalışmalar göstermektedir ki BCoV'un neden olduğu buzağı ishalleri yaşamın ilk bir ayında yaygın görülmektedir. Radostits (2007) BCoV enfeksiyonlarının genellikle 5-21 günler arasında görüldüğünü bildirmektedir. Garcia ve ark. (2000) İspanya'da ishalleri buzağılarda çeşitli enteropatojenlerin yaygınlığını inceledikleri çalışmalarında yaş gruplarına göre pozitiflik oranlarını BCoV için sırasıyla 1-7 günlük buzağılarda %26,67 (8/30), 8-14 günlüklerde %3,85 (1/26), 15-21 günlüklerde %4,35 (1/23), 22-30 günlük buzağılarda ise %7,14 (1/14) olarak bildirmişlerdir. Al Mawly ve ark. (2015) Yeni Zelanda'da süt besisi çiftliklerindeki 1283 adet ishalleri buzağılarda ELISA ile enteropatojenlerin varlığını belirledikleri çalışmada, yaş gruplarına göre pozitiflik oranlarını BCoV için 1-5 günlük buzağılarda %5,4, 9-21 günlük buzağılarda %6,1 olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada yaş gruplarına göre pozitiflik; 1-7 günlük buzağılar için %20,0 (1/5), 8-14 günlükler için %0,0, 15-21 günlükler için %0,0, 22-30 günlük buzağılar için ise %7,02 (4/57), 31-60 günlük %0,0 (0/15) ve 60-90 günlük buzağılar için ise %0,0 (0/2) olarak belirlenmiştir (Tablo 4). Bu veriler Garcia ve ark. (2000) ile kıyaslandığında elde edilen değerlerin 1-7 yaş grubunda oldukça yakın olmasına rağmen diğer yaş gruplarından ise oldukça düşük olduğu, Al Mawly ve ark. (2015) 1-7 günlük pozitiflerin daha yüksek iken aksine 8-14 günlük veriler ise düşük olarak görülmektedir. Bu durum bu çalışmada coronavirus pozitifliğin diğer çalışmalara göre oldukça düşük olması ve örnekleme yaptığımız buzağıların ekseri 21-30 günlük olması etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca çalışmalarda yeni doğmuş buzağıların yaşamlarının ilk haftasında enfeksiyona karşı oldukça duyarlı oldukları vurgulanmış olup BCoV ile enfekte olan buzağıların ortalama yaşlarını Alkan (1998) 13 gün olarak tespit ederken, Saklı (2017) ise 1-30 günlük ishal semptomları gösteren buzağılardan örnekleme yapmış ve dışkı örneklerinde BCoV varlığı tespit edilen buzağıların ortalama yaşlarının 14,5 gün, Coura ve ark. (2015) ise 13.8 gün, Hasircioğlu (2005) Antijen tespit edilen iki buzağının yaş ortalamasını 7,5 gün olduğunu belirlemiştir. Bu çalışmada 1 günden 2 aya kadar yaşlara sahip BCoV yönünden pozitif olarak tespit edilen buzağıların ortalama yaşları daha önce hayvanların yaş ortalamasını inceleyen diğer araştırmacıların (Alkan, 1998; Coura ve ark., 2015; Erdoğan ve ark., 2003; Garcia ve ark., 2000; Hasircioğlu, 2005; Saklı, 2017) sonuçlarıyla karşılaştırıldığında bu çalışmada

elde edile 23,4 yaş (Tablo 5) ortalamasının daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni örnekleme yapılan buzağıların diğer faktörler ile birlikte yaş gruplarının sayısal dağılımının da etkili olabileceği düşünülmüştür. Tablo 2 incelendiğinde; bu çalışmada toplanan örneklerin büyük bir çoğunluğu (57/94) 21-30 günlük buzağılardan oluşmaktadır ve pozitiflik buzağı sayısının 4/5 (%80) bu yaş grubundadır. Buna rağmen 0-7 günlük buzağıların örnek sayısı diğer yaş gruplarına göre daha az olsa da BCoV için en yüksek pozitiflik (%20) bu yaş grubunda tespit edilmesi yukarıda söz edilen çalışmaların verilerini desteklemektedir.

Alkan (1998) bu durumun buzağıların annelerinden aldıkları kolostrumla ilgili olabileceğini ifade etmiştir. Alkan (1998) ortalama enfeksiyon yaşının etkilendiği en önemli etkenlerden birisinin maternal immünite olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada örnek alınan buzağıların hepsinin annelerinden kolostrum aldığı yetiştiricilerin beyanı ile belirlenmiştir. Bu da çalışmada örnek alınan buzağıların annelerinden aldıkları kolostrumun maternal immüniteyi uyardığı ve çalışmada belirtilen yaşlara göre pozitiflik oranlarına etki ettiğini göstermiştir.

Mevcut çalışmada Şanlıurfa yöresinde BCoV prevalansı düşük olarak belirlenmiş ancak gerekli tedbirlerin alınmaması sonucunda bu oran yükselerek önemli kayıplara neden olabileceği düşünülmektedir. Elde edilen prevalansın daha da düşürülmesi veya yükselmesini engellemenin aşılama ile mümkün olabileceğini düşünmekteyiz. BCoV aşısı buzağılara doğum esnasında uygulanırsa bile yavrular koruma düzeyinde antikor oluşturmadan bu enfeksiyona yakalandıklarını bildiren bilim insanları (Hodnik ve ark., 2021; Kohara ve Tsunemitsu, 2000; Vlasova ve Saif, 2021) annelerin aşılmasını önermektedirler. Alkan ve ark. (2004) da Rotavirus ve Coronavirus aşısı uygulanan annelerin buzağılarının hastalanma oranları %30 iken aşı uygulanmayan annelerin doğan buzağılarının hastalanma oranlarının daha yüksek olduğunu (%54,5) bildirdikleri bu çalışma görüşümüzü desteklemektedir.

Bu bağlamda, yenidoğanların BCoV enfeksiyonuna karşı korunmaları sağlamak için, gerekli bakım ve beslemenin yapılmasının yanında, hijyen şartlarının sağlanması, yenidoğanların kolostrum alması ve işletmelerde aşılama programlarının uygulamaya konulması önemlidir.

Çıkar çatışması

Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Etik izin

Bu çalışma, DOLLVET A.Ş. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (BOLLVET-HADYEK) 10.06.2016 tarih ve 2016/21 nolu etik kurul izni ile yapılmıştır.

Finansal destek

Bu çalışma, Harran Üniversitesi Bilimsel Projeler Araştırma Koordinatörlüğü (HÜBAK) tarafından 16161 proje numarası ile desteklenmiştir.

Benzerlik Oranı

Bu çalışma, "Şanlıurfa İlindeki İshalli Buzağılarda Coronavirusların ELISA Yöntemi ile Araştırılması" isimli tez çalışmasından özetlenmiş olup tezin benzerlik endeksinin %5 olduğunu beyan ederiz.

Açıklama

Bu çalışma aynı isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiş "1. Uluslararası İğdir Multi Disipliner Çalışmalar Kongresi" isimli kongrede de tam metin olarak yayınlanmıştır.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: RA, İÖ
Tasarım: RA, İÖ
Denetleme/Danışmanlık: İÖ
Veri Toplama ve/veya İşleme: RA, İÖ
Analiz ve/veya Yorum: RA, İÖ
Kaynak Taraması: RA, İÖ
Makalenin Yazımı: RA, İÖ
Eleştirel İnceleme: İÖ

Kaynaklar

Abraham G, Roeder PL, Zewdu R. 1992: Agents associated with neonatal diarrhoea in Ethiopian dairy calves. *Trop Anim Hlth Prod*, 24, 74-80.

Aksoy E, Kara E, Yağcı BB, Azkur AK, 2021: Investigation of Bovine Coronavirus and Bovine Rotavirus in Calves with Neonatal Diarrhea in Kırıkkale and Surrounding Provinces. *MAKU J. Health Sci. Inst*, 9 (3), 38-46.

Al M, Balıkcı E, 2012: Neonatal İshalli Buzağılarda Rotavirus, Coronavirus, E. coli K99 ve Cryptosporidium parvum'un Hızlı Test Kitleri ile Teşhisi ve Enteropatojen ile Maternal İmmünite İlişkisi. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 26 (2), 73- 78.

Al Mawly J, Grinberg A, Prattley D, Moffat J, French N, 2015: Prevalence of endemic enteropathogens of calves in New Zealand dairy farms. *New Zealand Vet J*, 63 (3), 147-152.

Alkan F, 1998: Buzağı İshallerinde Rotavirus ve Corona Virusların Rolü. *AÜ Vet Fak Derg* 45 (1), 29-37.

Alkan F, Burgu İ, Şahna KC, Çokçalışkan C, 2004: Yenidoğan buzağı ishallerine karşı ticari aşı ile aşılaman sığırardan doğan yavrularda pasif bağışıklık düzeyi. *AÜ Vet Fak Derg*, 51, 47-53.

Amoroso MG, Lucifora G, Uberti BD, Serra F, De Luca G, Borriello G, De Domenico A, Brandi S, Cuomo MC, Bove F, Riccardi MG, Galiero G, Fusco G, 2020: Fatal Interstitial Pneumonia Associated with Bovine Coronavirus in Cows from Southern Italy. *Viruses*, 12, 1331; doi:10.3390/v12111331

Athanassious R, Marsolais G, Assaf R. 1994: Detection of bovine coronavirus and type A rotavirus in neonatal calf diarrhea and winter dysentery of cattle in Quebec Evaluation of three diagnostic methods. *Can Vet J*, 35, 163-169.

Atlı K, Yıldırım Y, Hasircioğlu S, Bulu O, Avcı O, 2018: Buzağılarda İshale Neden Olan Başlıca Viral Etkenler. *Göller Bölgesi Aylık Hakemli Ekonomi ve Kültür Dergisi*, 5 (6), 70-74.

Azizzadeh M, Shooroki HF, Kamalabadi AS, Stevenson MA, 2012: Factors affecting calf mortality in Iranian Holstein dairy herds. *Prev Vet Med*, 104, 335-340.

Baker SC, 2008: Coronaviruses: Molecular Biology. In Desk Encyclopedia of General Virology, Mahy BWJ, van Regenmortel MHV (ed). 445-453, Academic Press, Elsevier. California, USA.

Bok M, Miño S, Rodriguez D, Badaracco A, Nuñez I, Souza SP, Bilbao G, Louge Uriarte E, Galarza R, Vega C, Odeon A, Saif LJ, Parreño V, 2015: Molecular and antigenic characterization of bovine Coronavirus circulating in Argentinean cattle during 1994-2010. *Vet Microbiol*, 7122, 9.

Brunauer M, Roch FF, Conrady B, 2021: Prevalence of Worldwide Neonatal Calf Diarrhoea Caused by Bovine Rotavirus in Combination with Bovine Coronavirus, Escherichia coli K99 and Cryptosporidium spp.: A Meta-Analysis. *Animals*, 11 (4), 1014 (1-23). Doi: 10.3390/ani11041014

Caffarena RD, Casaux ML, Schild CO, Fraga M, Castells M, Colina R, Maya L, Corbellini LG, Riet-Correa F, Giannitti F, 2021: Causes of neonatal calf diarrhea and mortality in pasture-based dairy herds in Uruguay: a farm-matched case-control study. *Braz J Microbiol*, 52, 977-988. doi: 10.1007/s42770-021-00440-3

Chae JB, Kim HC, Kang JG, Choi KS, Chae JS, Yu DH, Park BK, Oh YS, HJ, Park J, 2021: The prevalence of causative agents of calf diarrhea in Korean native calves. *J Anim Sci Technol*, 63 (4), 864-871. doi: 10.5187/jast.2021.e63

Coura FM, Freitas MD, Ribeiro J, De Leme RA, De Souza C, Alfieri A, Heinemann MB, 2015: Longitudinal study of Salmonella spp. Diarrheagenic Escherichia coli, Rotavirus, and Coronavirus isolated from healthy and diarrheic calves in a Brazilian dairy herd. *Trop Anim Health Prod*, 47 (1), 3-11.

Çabalar M, Kaya A, Arslan S, 2007: Yeni doğan buzağuların ishal olgularında rotavirus ve coronavirus araştırılması. *Vet Bil Derg*, 23 (3-4), 103-106.

De la Fuente R, Garcia A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Luzón M, Cid D, García S, Orden JA, Gómez-Bautista M, 1998: Proportional morbidityrates of enteropathogens

- among diarrheic dairy calves in central Spain. *Prev Vet Med*, 36, 145-152.
- Debelo M, Abdela H, Tesfaye A, Tiruneh A, Mekonnen G, Asefa Z, Moje N, 2021: Prevalence of Bovine Rotavirus and Coronavirus in Neonatal Calves in Dairy Farms of Addis Ababa, Ethiopia: Preliminary Study. *BioMed Res Int*, 2021, Article ID 5778455. doi: 10.1155/2021/5778455
- Decaro N, Mari V, Desario C, Campolo M, Elia G, Martella V, Greco G, Cirone F, Colaianni ML, Cordioli P, Buonavoglia C, 2008: Severe outbreak of bovine coronavirus infection in dairy cattle during the warmer season. *Vet Microbiol*, 126 (1-3), 30-39.
- Erdoğan HM, Ünver A, Güneş V, Çitil M, 2003: Kars Yöresindeki Neonatal Buzağlarda Rotavirus ve Coronavirus Yaygınlığı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 9 (1), 65-68.
- Eskiizmirli SN, Öncel T, Beyazıt A, Mısırlıoğlu OZ, 2001: Türkiye'nin değişik illerindeki ishallerde buzağlarda rotavirus, coronavirus ve cryptosporidiosis yayılışı. *Vet Hek Mikrobiyal Derg*, 2, 35-42.
- Garcia A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Orden JA, Cid D, Sanz R, Gómez-Bautista M, de la Fuente R, 2000: Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. *Comp Immun Microbiol Infect Dis*, 23, 175-183.
- Gomez DE, Weese JS, 2017: Viral enteritis in calves. *Can Vet J*, 58, 1267-1274.
- Gulliksen SM, Jor E, Lie KI, Hamnes IS, Løken T, Akerstedt J, Osteras O, 2009: Enteropathogens and risk factors for diarrhea in norwegian dairy calves. *J Dairy Sci*, 92, 5057-5066.
- Gumusova SO, Yazici Z, Albayrak H, Meral Y, 2007: Rotavirus and coronavirus prevalence in healthy calves and calves with diarrhea. *Medycyna Wet*, 63, 62-64.
- Hasırcıoğlu S. 2005: Buzağlarda Enterik Bovine Coronavirus Enfeksiyonlarının Araştırılması ve Epidemiyolojide Klinik Olarak Sağlıklı Sığırların Rolü. Doktora Tezi, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Hasöksüz M, Kayar A, Dodurka T, Ilgaz A, 2005: Detection of respiratory and enteric shedding of bovine coronaviruses in cattle in northwestern Turkey. *Acta Vet Hung* 53 (1), 137-146.
- Hodnik JJ, Ježek J, Starič J, 2020: Coronaviruses in cattle. *Trop Anim Health Prod*, 52, 2809-2816. doi: 10.1007/s11250-020-02354-y
- House TA, 1978: Economic impact of rotavirus and other neonatal disease agent of animals. *J Am VetMed Assoc*, 173, 573-576.
- Izzo MM, Kirkland PD, Mohler VL, Perkins NR, Gunn AA, House JK, 2011: Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Aust Vet J*, 89 (5), 167-173.
- Kohara J, Tsunemitsu H. 2000: Correlation between maternal serum antibodies and protection against bovine rotavirus diarrhea in calves. *J Vet Med Sci*, 62, 219-221.
- Lai MMC, Perlman S, Anderson LJ, 2007: Coronaviridae. In Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; pp.1305-1335.
- Lotfollahzadeh S, Madadgar O, Mohebbi MR, Dezfouli MRM, Watson DG, 2020: Bovine coronavirus in neonatal calf diarrhoea in Iran. *Vet Med Sci*, 6 (4), 686-694. doi: 10.1002/vms3.277
- Ok M, Güler L, Turgut K, Ok U, Sen I, Gündüz IK, Birdane MF, Güzelbekteş H. 2009: The Studies on the Aetiology of Diarrhoea in Neonatal Calves and Determination of Virulence Gene Markers of Escherichia coli Strains by Multiplex PCR. *Zoonoses Public Health*, 56, 94-101.
- Park SJ, Jeong C, Yoon SS, Choy HE, Saif LJ, Park SH, Kim YJ, Jeong JH, Park SI, Kim HH, Lee BJ, Cho HS, Kim SK, Kang MI, Cho KO, 2006: Detection and Characterization of Bovine Coronaviruses in Fecal Specimens of Adult Cattle with Diarrhea during the Warmer Seasons. *J Clin Microbiol*, 44, 3178-3188.
- Perlman S, Netland J, 2009: Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*, 7 (6), 439-450.
- Pestil Z, Gülyaz V, Hasöksüz M, 2016: Marmara Bölgesinde Yeni Doğan Buzağı İshallerinde Bovine Coronavirusların Saptanması ve Patojenite Çalışması. *Etlik Vet Mikrobiyal Derg*, 27 (1), 16-20.
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, 2007: *Veterinary Medicine A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. Philadelphia Saunders, p. 673-762.
- Saif LJ, 2010: Bovine respiratory coronavirus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 26 (2), 349-64. doi: 10.1016/j.cvfa.2010.04.005.
- Saklı GU, 2017: İshallerde Buzağı Dışkılarında Sığır Coronavirusu ve Sığır Rotavirusunun Hızlı Tanı Kiti ve RT-PCR ile Araştırılması. Doktora Tezi, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Temizkan SS, Alkan F, 2021: Bovine coronavirus infections in Turkey: molecular analysis of the full-length spike gene sequences of viruses from digestive and respiratory infections. *Archives of Virology*, 166 (9), 2461-2468. doi: 10.1007/s00705-021-05147-2
- Vlasova AN, Saif LJ, 2021: Bovine Coronavirus and the Associated Diseases. *Front Vet Sci*, 8: 643220. doi: 10.3389/fvets.2021.643220
- Yavru S, Yapıcı O, Kale M, Sahinduran S, Pehlivanoglu F, Albayrak MK, Avci O, 2006: Bovine coronavirus (BoCV) infection in calves with diarrhoea and their dams. *Acta Scientiae Veterinariae*, 44, 01-07.

*Yazışma Adresi: İrfan ÖZGÜNLÜK

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

e-mail: ozgunluk@harran.edu.tr