

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YENİDOĞAN BUZAĞILARDA VE ANNELERİNDE  
INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS (IBR) VE  
BOVINE VIRAL DIARRHOEA (BVD) ENFEKSİYONLARININ  
SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**MESUT ÖZEL**

**VİROLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Sibel GÜR**

**Tez No: 2008-033**

**2008-Afyonkarahisar©**

KABUL VE ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Viroloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

**Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19.06.2008

  
Yrd.Doç.Dr.Sibel GÜR

ÜYE

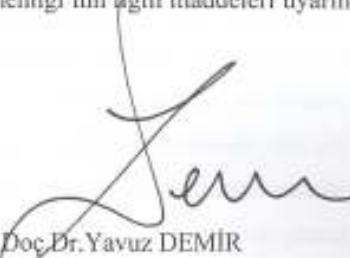
  
Yrd.Doç.Dr. Esra ŞEKER

ÜYE

  
Yrd.Doç.Dr.Ayşe GENÇAY

ÜYE

Viroloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Mesut ÖZEL'in "Yeni Doğan buzağılarda ve annelerinde Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) ve Bovine Vira Diarrhea (BVD) enfeksiyonlarının Serolojik olarak araştırılması." başlıklı tezi 21/06/2008 günü saat 16:30'de Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

  
Doç.Dr.Yavuz DEMİR

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Sütçü sığır yetiştiriciliği tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın olarak yapılan bir yetiştiricilik biçimidir. Günümüzde Afyonkarahisar ilinde hem sütçü hem de besi sığır yetiştiriciliği yapılmaktadır.

Sütçü sığır yetiştiriciliği yapılan işletmelerde hastalıklarla mücadele besi sığır yetiştiriciliğine oranla daha fazla önem taşımaktadır. Bu yüzden işletmeler özellikle sürü problemi olarak bilinen latent ve persiste enfeksiyon hastalıklarıyla mücadele ve korunma yönünde çalışmalar yapmak zorundadırlar. Özellikle subklinik viral enfeksiyonlar, tanı güçlüğü ve indirekt etkileri nedeniyle özellikle damızlık ve sütçü sığır yetiştiriciliği yapılan işletmelerde büyük sağlık ve ekonomik problemlere yol açmaktadırlar.

Dünyanın birçok ülkesinde olduğu gibi, Türkiye’de hastalıklara karşı direncin azalmasına ve sığırların hastalık etkenlerine açık hale gelmesinde BVD (Bovine Viral Diarrhea) ile IBR (Infectious Bovine Herpesvirus) enfeksiyonları önemli rol oynamaktadır.

BVD enfeksiyonu tüm dünyada yaygın olarak gözlenmektedir. Hastalık solunum ve sindirim sisteminde enfeksiyona neden olmakla birlikte gebelerden plasenta yoluyla fütusa geçerek fetal abortuslara veya doğacak yavruda persiste enfekte buzağı ve/veya kongenital anomali sendromlarına neden olmaktadır.

IBR ise solunum, sindirim ve genital olmak üzere birçok sistemde enfeksiyona neden olmaktadır. Her iki enfeksiyonun meydana getirdiği direkt bozukluklar yanında enfeksiyonun farklı dönemlerinde immun sistemde depresyon yaratmaları, hayvanların diğer enfeksiyonlara daha açık hale gelmelerine neden olmaktadır. Bu nedenlerle, sürülerin özellikle bu iki hastalık yönünden mutlaka incelenmeleri ve adı geçen enfeksiyonlardan arı olması istenmelidir. BVDV ve IBR için eradikasyon yapılmış olan işletmelerde döl, süt ve et verim kayıplarının azalması ile seconder enfeksiyonların insidensinde önemli derecede azalma meydana getirir, dolayısıyla ekonomik kayıpların önlenmesinde büyük önem taşırlar.

Bu çalışmada büyük katkılarından dolayı danışmanım ve Viroloji Ana Bilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Sibel GR' e, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme, isimlerini buraya yazmakla bitiremeyeceğim yakın arkadaşlarıma teşekkür ve saygılarımı sunuyorum.

## İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY .....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
KISALTMALAR VE SİMGELER .....	vii
TABLolar ve GRAFİKLER .....	viii
ÖZET .....	ix
SUMMARY .....	x
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>1.1. BOVINE VIRAL DIARRHEA (BVD)</b> .....	1
1.1.1. Tanım.....	1
1.1.2. Etiyoloji.....	1
1.1.3. Epizootiyoloji .....	3
1.1.4. Patogenez.....	4
1.1.5. Klinik.....	7
1.1.6. Teşhis.....	9
1.1.7. İmmunite .....	10
1.1.8. Korunma ve Kontrol.....	12
<b>1.2. INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS (IBR)</b> .....	13
1.2.1. Tanım.....	13
1.2.2. Etiyoloji.....	13
1.2.3. Epidemiyoloji .....	14
1.2.4. Patogenez ve Patoloji .....	15
1.2.5. Klinik.....	16
1.2.6. Teşhis.....	18
1.2.6.1. Direkt Teşhis .....	18
1.2.6.2. İndirekt Teşhis.....	19
1.2.7. İmmunite .....	19
1.2.8. Korunma ve Kontrol.....	20
<b>1.3. AMAÇ</b> .....	21
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	22

<b>2.1. GEREÇ</b> .....	22
2.1.1. Örneklenen Hayvanlar.....	22
2.1.2. Hücre Kültürü.....	23
2.1.3. Viruslar.....	23
<b>2.2. YÖNTEM</b> .....	24
2.2.1. Virusların hücre kültüründe üretilmesi.....	24
2.2.2. Titrasyon Test.....	24
2.2.3. Serum numunelerinin işlenmesi.....	24
2.2.4. Serum Nötralizasyon Testi.....	25
<b>3. BULGULAR</b> .....	26
3.1. Mikrotitrasyon Test Sonucu.....	26
3.2. Nötralizasyon Testi Sonuçları.....	26
3.3. Serum Nötralizasyon 50 (SN <sub>50</sub> ) sonuçları.....	27
<b>4. TARTIŞMA</b> .....	30
<b>SONUÇ</b> .....	38
<b>5. KAYNAKLAR</b> .....	39

## KISALTMALAR VE SİMGELER

BHK-21	:Baby Hamster Kidney
BHV1	:Bovine Herpesvirus Tip 1
BVD	:Bovine Viral Diarrhea
BVDV	:Bovine Viral Diarrhea Virus
Cp	:Sitopatojen
DKID <sub>50</sub>	:Doku Kültürü Enfektif Doz %50
DMEM	:Dulbecco's Minimal Essential Medium
EDTA	:Ethylene-Diamine-Tetra-Acetic-Acid
FDS	:Föetal Dana Serumu
IBP	:Infectious Balonoposthitis
IBR	:Infectious Bovine Rhinotracheitis
IBRV	:Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus
Ig	:Immunglobulin
IPV	:Infectious Pustuler Vulvovaginitis
Kb	:Kilobase
MD	:Mucosal Disease
MDBK	:Madine Darby Bovine Kidney
Ncp	:Nonsitopatojen
NPLA	:Nötralizasyon Peroksidaz Linked Antibody
PI	:Persistent Infection
PI3	:Para Influenza 3
PLA	:Peroxidaz Linked Antibody
RSV	:Respiratory Syncytial Virus
RT-PCR	:Revers Transcriptase-Polimerase Chain Reaction
SN <sub>50</sub>	:Serum Nötralizasyon %50
VNT	:Virus Nötralizasyon Test

## TABLÖLAR ve GRAFİKLER

Tablo 1 : Örneklenen inekler ile prekolostral buzağuların BVDV antikor verileri.....	27
Tablo 2 : Örneklenen inekler ile prekolostral buzağuların BHV1 antikor verileri .....	27
Grafik 1 : BVDV antikor pozitif ineklerin SN <sub>50</sub> değerleri.....	28
Grafik 2 : BVDV Antikor pozitif buzağuların SN <sub>50</sub> değerleri.....	28
Grafik 3 : BVDV Antikor pozitif buzağuların annelerinin SN <sub>50</sub> değerleri.....	29
Grafik 4 : BHV1 antikor pozitif ineklerin SN <sub>50</sub> değerleri.....	29



## ÖZET

Bu çalışmada, Afyonkarahisar ilinde Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) ve Bovine Herpesvirus type 1 (BHV1) enfeksiyonlarının insidenslerinin araştırılması amaçlandı. Toplam 162 inek ve prekostral yavruları örnekledi, organize sürülerden örneklenen ineklerin sayısı 155 iken aile tipi işletmelerden 7 inek kullanıldı. Toplam 324 serum Virus Nötralizasyon test ile kontrol edildi.

Organize sürülerdeki sığırlarda BVDV spesifik antikor oranlarının %77.7 ile %100 arasında değiştiği ve aile tipi çiftliklerde %57.1 değeri belirlendi. Sürü 1’de tüm yavruların negative olduğu tespit edildi, diğer organize sürülerde %10 (3/30) ve %14.6 (17/116) oranları belirlendi. Danalardaki en yüksek oran aile tipi işletmelerde %28.5 olarak tespit edildi. Toplam olarak 162 ineğin 155’inin (%95.6) ve 22 dananın (%13.5) BVDV seropozitif olduğu saptandı.

BHV1 antikor oranları sığırlarda %69.7 (113/162) olarak belirlenirken sürü 3’de sadece 1 dana seropozitif olarak bulundu. Üç organize sürüdeki sığırlardaki seropozitiflik oranlarının %66.6 (6/9) ile %73.3 (22/30) arasında değiştiği ancak aile tipi çiftliklerde bu oranın %42.8 (3/7) olduğu saptandı.

Bu çalışmada, elde edilen tüm değerlerin doğal enfeksiyona bağlı olduğu sonucuna varıldı. Örneklenen 162 dananın 22 ve 1’i sırasıyla BVDV ve BHV1 için antikor pozitif olarak bulundu. Açıktır ki fötuslar immün yeterlilik kazandıktan sonra enfekte olmuşlardır ve çalışılan her iki virus da sürülerin çoğunda sirkulasyondadır.

**Anahtar Kelimeler:** BHV1, BVDV, Seroloji.

## SUMMARY

In this study, to investigate the incidence of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) and Bovine Herpesvirus type 1 (BHV1) infections in Afyonkarahisar province was aimed. Total of 162 cows and their calves in precolostral period were sampled, the number of sampled cows from three organised herd was 155 and 7 cows was used from family type small enterprises. Total of 324 sera were controlled using Virus Neutralization Test.

BVDV specific antibody proportion was determined among 77.7% and 100.0% in cattle organised herd, and 57.1% value detected in family type farms. The all calves were found to be negative in herd one, in other organised herds 10% (3/30) and 14.6% (17/116) proportions were determined. The highest rate in calves was observed in family type farms as 28.5%. In total out of 162 cows 155 (95.6%) and 22 calves (13.5%) were found to be seropositive for BVDV.

BHV1 antibody proportions in cows were detected as 69.7% (113/162) in cows while only a calf was seropositive in herd 3. In three organised herd, seropositivity values in cows were between 66.6% (6/9) and 73.3% (22/30), however, in family type farms, this rate was determined 42.8% (3/7).

In this study, it was concluded that, all of the obtained values were result of natural infection. Out of 162 sampled calves, 22 and 1 precolostral calves were detected as antibody positive for BVDV and BHV1, respectively. It is obvious that foetuses were infected after gaining the immune competence and both studied viruses were in the circulation in most of the herds.

**Key Words:** BHV1, BVDV, Serology.

# 1. GİRİŞ

## 1.1. BOVINE VIRAL DIARRHEA (BVD)

### 1.1.1. Tanım

Bovine viral diarrhea (BVD) tüm dünyada yaygın olarak görülen sığırların viral bir enfeksiyonudur. Etken Flaviviridae ailesindeki Pestivirus'tur. Enfeksiyon süt ve et amaçlı sığır yetiştiriciliğinde yol açtığı direkt ve indirekt ekonomik kayıplar nedeniyle sığır endüstrisinin en büyük problemlerinden birisidir.

BVDV enfeksiyonun ilk kez Olafson ve arkadaşları tarafından 1946 (1) yılında tanımlanmıştır. Hastalık ateş, gastroenteritis, diyare, ağız lezyonları ve lökopeni ile karakterize, persistensle seyreden akut bir enfeksiyondur. İzleyen yıllarda Ramsey ve Chivers (1953) (2) klinik semptomları BVD ile çok benzer ancak klinik semptomların şiddeti ve mortalitesi çok daha fazla olan "Mucosal Disease" (MD) bildirilmiştir. Doğal BVD/MD enfeksiyonlarında vakalardan izole edilen viruların laboratuvar incelemelerinde hücre kültürlerinde sitopatojenik etki oluşturan (cp) ve oluşturmayan (ncp) olmak üzere iki biyotipi olduğu tespit edilmiştir (3, 4).

BVDV sadece kuzey Amerika ve Avrupa'da değil dünyada geniş bir yayılım göstermektedir (5–7). Türkiye'de ise yüksek seroprevalansa sahip olduğu birçok araştırmacının yaptığı çalışmalarla ortaya konulmuştur (8–11).

### 1.1.2. Etiyoloji

BVDV Flaviviridae familyasının Pestivirus alt grubunda yer alır. Bu ailede 69 virus bulunmaktadır, bunlardan içinde Louping ill, Wesselbron ve Japon ensefalit virus enfeksiyon hastalıklarının da bulunduğu 10 tanesi veteriner hekimlik açısından önem taşıyan enfeksiyonlara yol açmaktadırlar. Bu ailedeki yaklaşık 30 virus konakçısı insan olan ve artropodlarla bulaşan hastalıklara yol açar. Pestiviruslar büyük ruminantlarda BVDV (Bovine Viral Diarrhea Virus) enfeksiyonu, küçük ruminantlarda Border Disease ve domuzlarda Hog Cholera

enfeksiyonunu meydana getirirler (12). Genomik incelemeler bu üç virusun birbirine çok yakın olduğunu ortaya koymuştur.

Flavivirus ve Pestivirus virionları yuvarlağa yakın ikozahedral simetrik olup, 50nm çapındadır ve birbirine sıkıca bağlanmış peplomerlerden oluşan zara sahiptir. Zarlı olduğu için eter, kloroform gibi organik solventlerde çok çabuk inaktive olur (13, 14). Pestivirus genomu pozitif polariteli tek iplikçikli olup 12.5kb ölçüsündedir (15, 16). Genomik RNA enfeksiyözüdür. Virionun molekül ağırlığı  $4-4.6 \times 10^6$  kb'dır. Etken saha şartlarında stabil değildir, ısıdan ve dezenfektanlarda kolay etkilenirler, 0.5 mg/ml tripsinde 56°C'de 60 dk'da ve pH 5.7-9.3 dışında kısa sürede inaktive olurlar (17).

BVDV'nin sitopatojen (cp) ve nonsitopatojen olan (ncp) iki biyotipi vardır. Enfeksiyonun patogenezinin temelini enfeksiyonun hangi biyotiple olduğu ve bu iki biyotipin etkileşimi oluşturur. Bu biyotiplerin viral polipeptitlerine bakıldığında cp biyotipte olan var p80 proteinin ncp biyotipte bulunmadığı görülmektedir (18, 19). Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda elde edilen veriler değerlendirildiğinde, persiste enfekte hayvanlardaki ncp biyotipin mutasyonu ile cp biyotipin ortaya çıktığı yorumu yapılmıştır (20). BVD ve persiste enfeksiyonlarda izole edilen viruslar farklılık göstermekte ise de, Mucosal Disease geçiren hayvanlardan izole edilen cp ve ncp biyotiplerin çok büyük antijenik yakınlık göstermesi cp biyotipin ncp biyotipin mutasyonu sonucu ortaya çıktığı tezini güçlendirmektedir (16, 21).

Sahadan elde edilen biyotiplerin serolojik ve genomik yapıları incelenmiş ve 2 farklı genotip olduğu ortaya konulmuştur. Tip 1'in solunum, genital ve enterik bozukluklar oluşturduğu (22, 23), tip 2'nin ise diğer tiplerle benzer bozukluklar yanında trombositopeni ve fatal hemorajik sendroma yol açan çok virulent bir karakteri olduğu saptanmıştır (24, 25).

BVDV genomu yapısal ve yapısal olmayan proteinler kodlar. Yapısal proteinler kapsid protein C (p14) ve 3 glikoproteinlerdir ( $E_{ms}$ , E1 ve E2). Kapsid proteinin fonksiyonu; genomik RNA ile virion zar yapısının oluşturularak virionun paketlenmesini sağlamaktır. Üç glikoprotein lipid zar ile ilgilidir. E2 proteini BVDV ile enfekte veya aşılanmış hayvanlarda, nötralizan antikorların

oluşumunu sağlayan en önemli tanınma noktasıdır. E2 proteini kodlayan gen bölgesi suşlar arasında oldukça farklılık gösterir, bu da immun sistemin farklı suşları algılamasını etkiler (26).

Ncp BVDV genomu yapısal olmayan 6 protein kodlar. Npro (p20) ilk protein olup papain benzeri proteaz aktivitesi vardır. Diğer biri NS23 (p125) olup, oldukça hidrofobiktir, proteaz ve helikaz gibi çok fonksiyonu vardır. Sitopatik suşlarda p125'i kodlayan gen bölgesinde değişiklik vardır, bu farklılık NS3 (p80) varlığıdır. Bu protein sadece cp tipte bulunmaktadır. Öteki yapısal olmayan proteinler NS4A (p10), NS4B (p32) ve NS5A (p58)' dir. Tüm bu proteinlerin viral replikasyonda rolleri vardır. Diğer bir protein de NS5B (p75) olup, viral genomun replikasyonunda ihtiyaç duyduğu RNA bağımlı RNA polimeraz olduğu düşünülmektedir (26).

BVDV replikasyonu virionun paratoplara tutunarak endositoz ile hücreye alınması ile başlar, bu basamağı E2 glikoproteinleri düzenler. Viral RNA sitosol içinde serbest kaldığında iç ribozom giriş noktasına viral genomun 5' ucunun tutunması ile translasyon başlar. Hücrenin enfeksiyonundan sonra en erken 3 saat sonra viral proteinler görülmeye başlar.

Translasyondan sonra hem hücresel hem de viral enzimler kullanılarak diğer proteinler sentezlenir, daha sonra viral komponentler lipid zarın alındığı golgi ve endoplazmik retikulumda paketlenir ve tomurcuklanma yoluyla veziküllerin lumenine bırakılırlar. Paketlenen olgun virionlar hücreden ekzositoz yoluyla ayrılırlar. Yeni virionlar hücreyi en erken enfeksiyonun 10. saatinde terk ederler.

Flaviviruslar Vero (African green monkey kidney), BHK-21 (Baby Hamster Kidney), MDBK (Madine Derby Bovine Kidney), primer dana ve primer tavuk ve ördek embriyo fibroblast gibi birçok hücre kültür tipinde üretilebilirler.

### **1.1.3. Epizootiyoloji**

BVDV enfeksiyonunun konakçı spektrumu evcil ve vahşi ruminant türleri ve domuzdur. Hastalığın rezervuar konakçısı persiste enfekte sığırlardır, danalar in-utero dönemde transplasental virus bulaşması ile enfekte olurlar (27).

BVD global yaygınlığa sahiptir. Dünyanın birçok ülkesinde antikor taramalarında yüksek oranlar bulunmuştur. Bulaşma çoğunlukla duyarlı hayvanların akut enfeksiyon geçiren veya persiste enfekte hayvanlarla direkt temas sonucu gerçekleşmektedir (28). Ayrıca enfekte bireylere ait gözyaşı-burun akıntıları, tükürük, semen, dışkı, idrar, ter ve süt gibi tüm salgılarla indirekt olarak temas ile de bulaşır. Ek olarak kontamine aşılar, embriyo transferi, aşılama ve enjeksiyon gibi iatrojenik yollarla da bulaşma gerçekleşebilir (29). Bulaşmayı sağlayabilecek canlı vektör varlığı bildirilmemiştir.

BVD yılın her mevsiminde görülür ancak hayvanların yoğun olarak birlikte tutulduğu kış mevsiminde daha yüksek insidensle seyredebilir.

#### **1.1.4. Patogenez**

Saha şartlarında BVDV oral ya da nasal yolla bulaşmayı takiben tonsiller ve oropharynx bölgesinde primer çoğalma meydana gelir. Enfekte semen ile de bulaşma şekillenebilir (30). Primer çoğalmanın olduğu oronazal mukozanın epitel hücrelerinde mukozal ülserasyonlar şekillenebilir. Daha sonra virus fagositik hücreler ile lenfoid dokulara taşınır (31). Bu arada virus primer olarak çoğaldığı yerden viremi ile tüm organizmaya yayılır, birkaç gün süren bu evrede depresyon, ateş, ishal ve lökopeni gibi bulgular gözlenebilir (32).

Akut enfeksiyonda, sığırların çoğu birkaç yıl içinde orta şiddette semptomlar göstererek veya subklinik olarak enfeksiyonu geçirip seropozitif hale dönüşürler. Akut enfeksiyonda izole edilen virus ncp ise enfeksiyonun ilk 3 ila 10. günlerinde kandan veya burun akıntısından izole edilebilirler. Bu arada antikor titresini 2-4. günlerde tespit edilebilir (33, 34) ve 10-12. haftalara kadar artmaya devam eder (35). Virus kanda başlıca lökositler ile yayılır, serum ve plazma içinde de serbest olarak bulunabilir ancak nötralizan antikorlar şekillendikten sonra kanda enfektif virus kalmaz. Enfeksiyondan sonraki 56. güne kadar virus akciğerlerden ve lenf nodullerinden izole edilebilir (33).

Lenfosit ve monositler BVD virusuna oldukça duyarlı hücre gruplarıdır. Enfeksiyonun akut evresinde B-lenfosit sayısında azalma tespit edilir ve T hücrelerinin azalmasına bağlı olarak immün yanıt azalması belirlenmiştir. Ancak

bu geçici bir durum olup enfeksiyonun 11–17. günlerinde belirgin bir düzelmeye meydana geldiği bildirilmiştir (35).

Duyarlı gebe hayvanların gerek cp, gerekse ncp BVD antijen ile enfekte olduklarında, yavru da enfekte olur (36–39). Koruyucu titrede antikor taşıyan hayvanlarda fötusun enfeksiyonu nadiren meydana gelir. Persistensin patogenezini belirleyen unsur virusun biyotipi ve enfeksiyon zamanıdır (39). Fötuslarda immunkompetens yaklaşık olarak gebeliğin 90–120. günlerde şekillenir. Gebeliğin ilk trimesterinde cp biyotiple enfeksiyonun şekillenmesi durumunda çoğunlukla fötusta kongenital malformasyonlardan mumifikasyona hatta ölüme kadar değişen bozukluklar meydana gelir ve gebelik genellikle sonlanır (40). Yine aynı dönemde, yavrular immunkompetens kazanmadan önce ncp biyotip ile enfekte olduğunda fötüs antikor yanıt geliştiremez, immün kompetens kazandıkları dönemde virus self-antijen olarak algılanır ve böyle hayvanlar yaşam boyu Persiste enfekte (PI) kalırlar (22, 35, 41). Bu yavrular doğumdan hemen sonra, kolostrum almadan önce incelendiklerinde antikor negatif ve antijen pozitif oldukları tespit edilir, kolostrum ve süt ile maternal antikor alsalar bile sekretlerinde sürekli olarak virus bulunur (42). Maternal antikorlar kaybolduktan sonra daha yüksek titrede sürekli ncp virus saçmaya yaşam boyu devam ederler ve sürüde persiste yavru doğumlarının artmasına yol açarlar (22, 38, 39, 43, 44). PI bireyler ncp biyotip ile enfekte olduklarında yanıtız kalırlar ancak diğer antijenlerle enfekte olduklarında immün yanıt geliştirebilirler (45). Fötüs tam olarak immunkompetens kazandıktan sonra virusla karşılaştığında herhangi bir bozukluk gelişmez ve postnatal prekolosral dönemde kanında antikor tespit edilebilir (46). Sitopatojen biyotip persistens gelişimine yol açmadığından, PI birey doğumundan ncp biyotip sorumludur (22, 35). Ncp biyotip ile ilk trimesterde gelişen enfeksiyonda genellikle yavrunun ölümüne neden olmaz, normalden daha zayıf görünüm ile doğarlar (41, 47).

İmmün kompetensin oluştuğu dönemde bulaşma geliştiğinde genellikle kongenital bozukluklar şekillenir. En çok görülen anomali serebellar hipoplazidir. Diğer anomaliler ise katarakt, retinal dejenerasyon ve hipoplazi, optik neöritis, iskelet anomalileri, hipotrikosis ve genel gelişim geriliğidir. Timik hipoplaziye de sık rastlanır. Vasküler endoteliumda replikasyon sonucu vaskülitis, inflamasyon,

ödem, hipoksi ve hücrel dejenerasyon meydana gelir (31). Patolojik bozukluklar virusun normal organ gelişim ve farklılaşmasını inhibe etmesiyle olmaktadır.

Immun sistemin gelişimini tamamlamış olduğu, gebeliğin üçüncü trimesterinde enfeksiyonun hangi biyotiple meydana geldiği çok önemli değildir, çünkü fötüs enfeksiyona karşı immun yanıt geliştirebilir ve yavrular genellikle normal doğar. Bu yavrular prekolostal dönemde test edildiklerinde antijen negatif, antikor pozitif oldukları tespit edilir.

Mucosal disesae, PI bireylerde ile dönemlerinde ortaya çıkan bir yüksek mortaliteye sahip sendromdur (2, 48, 49). MD teşhis konmuş hayvanlarda hem cp hem de ncp biyotip izole edilebilir (50). Sporadik olarak meydana gelmesinin nedeni, oluşabilmesi için birçok faktörün bir araya gelmesi gerekliliğidir. Bunlardan birincisi, hayvanın PI olması, ncp biyotipi sürekli olarak taşımasıdır. İkincisi de bireyin antijenik olarak homolog olan bir sitopatojen suşla enfekte olması veya mutasyonla organizmada var olan ncp biyotipin cp biyotipe dönüşmesidir (20, 21, 35).

MD her yaştaki hayvanlarda görülebilir, semptomlar anorexi ile başlar, yüksek ateş, ağız ve burun akıntısı, ağız lezyonları ve diyare ile devam eder. Semptomlar oldukça şiddetli ve prognoz ağırdır. Mortalite yaklaşık olarak %100'dür ve klinik periyod en çok 10 gün sürer (22, 51).

PI yavrular doğumdan sonraki yaklaşık 6–8. aya kadar maternal antikor nedeniyle MD'den korunurlar (52), ancak daha sonraki dönemde antikor negatif hale gelirler ve ncp biyotiple süperenfekte olduğunda yanıtız kalırlar (45).

Daha sonra MD'nin kronik bir formu tanımlanmıştır. Bu form antijenik olarak az da olsa farklılık gösteren cp vir tipin PI bireyi enfekte etmesi sonucu gelişir. Klasik formda olduğu gibi kısa sürede ölüm şekillenmez. Diyare, iştahsızlık, zayıflama, deri, perineum, scrotum, preputium, bacak arası ve ağızda lezyonlar görülebilir. Prognoz gittikçe kötüleşir ve birkaç haftadan birkaç aya kadar geçen klinik dönem sonunda ölümlerle sonuçlanır. MD nedeni ile ölen hayvanlarda yapılan otopside tüm gastrointestinal sistemde erozyonlar gözlenir, peyer plaklarında konjestiyon ve hemoraji odakları ile kataral yangı bulguları



vardır. Bağırsak içeriği koyu renkli ve kötü kokuludur, mukozada kalınlaşmıştır (22).

### 1.1.5. Klinik

Olafson ve arkadaşları BVDV enfeksiyonunu lökopeni, salivasyon, burun akıntısı, öksürük, depresyon, ishal, anoreksi ve ulserasyon ile karakterize olarak tanımlamışlardır (1, 53). Orta şiddette veya subklinik enfeksiyon geçiren hayvanlarda, enfeksiyondan sonraki 10. ile 90. günlerde abort gözlenebilmektedir.

Akut BVDV enfeksiyonunun morbiditesi yüksek mortalitesi düşüktür. İnkubasyon süresi 5–7 gündür (30). Gebe olmayan hayvanların bir çoğunda 8 ay–24 aylık dönemde görülür ve enfeksiyon genellikle subklinik olarak seyrederek. Maternal antikolar yavruları 3 ile 8 aylık dönemde koruyabilir ancak maternal antikolar kaybolduktan sonra enfekte olabilirler. Semptom gösteren hayvanlarda ateş, lökopeni ve iştahsızlık gözlenebilir. Klinik tablonun daha şiddetli seyrettiği duyarlı sürülerde göz ve burun akıntısı, eroziv stomatit, diyare ve süt veriminde düşüş gözlenebilir. Akut enfeksiyonda gelişen lökopeni nedeniyle hayvanlar diğer enfeksiyonlara da duyarlı hale gelirler.

Gebeliğin erken döneminde annenin enfeksiyonu durumunda, gebelik çoğunlukla embriyonik ölüm ve rezorbsiyon ile sonuçlanır. Ncp biyotiple enfekte olan ve ölmeyen yavrular PI hale gelirler. İlk trimesterin sonunda meydana gelen enfeksiyon durumunda ise çeşitli anomaliler ortaya çıkabilir. Bunlar; abort (44, 54, 55), fetal mumifikasyon (56), beyin ve göz lezyonları (43, 57), intrauterin gelişim geriliği (22, 38, 45) ve persiste enfekte buzağı doğumlarıdır (37). Gebe ineklerde enfeksiyon genellikle semptomsuz veya hafif seyrederek annenin immun olmasıyla sonuçlanır.

Persiste viremik danaların doğum ağırlıkları sağlıklı danalara göre daha düşüktür ve postnatal yaşamda da büyüme geriliği gösterirler (31). Klinik bulgu olarak pireksi, lökopeni ve burun akıntısı görülür (30). PI hayvanlar immunsupresyon nedeniyle diğer enfeksiyonlara, PI olmayanlardan daha duyarlıdır. Başka bir neden ile ölmezlerse MD gelişebilir.

Mucosal disese'in gelişimi ncp biyotipin mutasyonu veya antijenik olarak yakın cp tiple enfeksiyon sonucu olur, dolayısıyla sık rastlanan bir durum değildir. MD genellikle 6–24 ay arasındaki sığırlarda meydana gelen BVDV enfeksiyonu olarak tanımlanır. Hastalık düşük morbidite ve yüksek mortalite ile karakterizedir (38, 46). Araştırmacılar, MD'in deneysel olarak oluşturulabileceğini bildirmişlerdir (35, 58, 59).

MD ani başlayan klinik tablo ile karakterizedir (46, 59). Depresyon, anoreksi ve 40–42°C dereceye varan ateş ile başlar (38, 46). Hemen ardından sonra kan da içeren sulu ve pis kokulu bir diyare söz konusudur. Dışkıda bağırsak mukozası sıyrıntılar halinde bulunabilir (38, 46). Ağız lezyonları genellikle vardır, dudaklar, dil, diş etleri, ağız kenarı ve sert damağın üst kısmında eroziv ülseratif lezyonlar belirlenebilir (38, 46). Ölüm ortalama 6–7. günlerde meydana gelir, nadiren 10. güne kadar gözlenebilir.

Patogenez kısmında oluşum mekanizması özetlenen kronik MD sendromu interdigital hiperkeratoz ve ülserasyon, diyare, dehidrasyon, zayıflama, nazal ve oküler akıntı ile karakterizedir (38, 46).

BVD infertilite, abort ve mastitis gibi reproduktif problemler yaratabilir (49). Yapılan çalışmalar, akut enfeksiyonda yeni doğanlarda yaygın diyare meydana getirebildiğini ortaya koymaktadır, ayrıca BVDV bir solunum sistemi patojeni olarak da bilinmektedir.

BVDV başka ajanlarla miks olarak seyredebilir. Sahada en sık birlikte görüldüğü enfeksiyonlar IBR, PI3, RSV ve Pasteurella haemolytica'dır. Solunum sistemi enfeksiyonlarının "Miks" olduğu birçok durumda asal etiyolojinin BVDV olduğu öne sürülmektedir (60, 61).

Rotavirus, Coronavirus ve Salmonella gibi enterik, IBR, PI3, RSV ve Pasteurella gibi respiratorik etkenlerle birlikte seyrettiğinde prognoz daha ağır seyreder (61). Ayrıca akut BVDV enfeksiyonunu takiben bakteriyemi oluşumunu oranın arttığı bildirilmiştir (62). Miks enfeksiyonda oluşan patolojik bozukluklar genellikle diğer ajanlara bağlıdır (60).

### 1.1.6. Teşhis

Teşhis için klinik bulgular yanında sürü kayıtları incelenerek BVDV'nin neden olabileceği problemlerin varlığı (infertilite, abort, anomalili yavru doğumu, MD vakaları) BVD enfeksiyonu ile ilgili fikir verebilir (63). Laboratuvar muayenesine hemen her durumda ihtiyaç vardır. Viral teşhis için kan, biyopsi veya otopsi materyalleri özellikle lenfoid organlar, oral ve nasal akıntılar, fötüs dokuları, süt, idrar ve gaita kullanılabilir (64–66). BVD Virusunun varlığını tespit etmek için hayvanlardan alınacak örnekler hücre kültüründe üretilerek veya üretilmeden şu testlere tabi tutulabilir; Peroksidaz Linked Antibody (PLA) (67), Direkt ELISA (68–71), Immunofloresan Test (47) ve Revers Transcriptase Polimerase Chain Reaction (RT-PCR) (72). Akut enfeksiyonda viral teşhis için materyaller, viral saçılımın olduğu en erken 3 gün ile en çok 8–10. günler arasında alınabilir. Bazı hayvanlarda bu süre 2–3 gün ile sınırlı olabildiğinden izolasyon güç olabilir (66). Virus izolasyonu için kullanılacak en uygun materyal tam kandır, lökosit fraksiyonundan, mukoza ve burun svapları ile kan serumundan da izolasyon yapılabilir.

Virus izolasyonu güç olduğundan ve her zaman pozitif sonuç alınamayacağından, tüm vakalarda viral teşhis yanında serolojik teşhis de kullanılmalıdır (63). Serolojik teşhis için BVDV spesifik antikor aranır, bu amaçla kullanılacak testler; Virus Nötralizasyon Test (VNT) (63, 66, 73) ve Nötralizasyon Peroksidaz Linked Antibody'dir (NPLA) (74, 75). Yaklaşık olarak 20–30 gün arayla alınacak çift serum örneğinde belirlenecek 4 katlı antikor titre artışı akut dönemi belirler.

Gebe ineklerde ve yavrularında persiste enfeksiyonların belirlenmesi büyük önem taşır, bu durumda virus izolasyonu amaçlanmakta ise de, anne ve yavruların serolojik olarak incelenmesi mutlaka yapılmalıdır, özellikle prekolostoral dönemde yavrulardan alınacak örnekler enfeksiyon durumu hakkında net değerlendirmeler yapılmasını sağlayacaktır (76, 77).

Sürü eradikasyonunda ise antijen antikor taramalarının birlikte yapılması ve eradikasyon çalışmasının uygulandığı dönemde gebelerin ve yeni doğan/doğacakların da kontrol edilmesi gerekmektedir. Hedef sürüdeki PI

bireylerin belirlenmesi olmalıdır. PI bireyler yüksek titrede virus saçarlar, saçılım titresi  $10^2$  ile  $10^7$  TCID<sub>50</sub>/ml arasında değişir ancak birçok hayvanda  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml düzeyindedir. Serolojik teşhis eradikasyonun önemli bir parçasıdır, maternal antikor varlığı göz önünde bulundurulması şartıyla, seronegatif hayvanlar özellikle antijen yönünden incelenmelidir. PI bireylerde zaman zaman titre azalmasının antijen taramalarında yalancı negatifliğe yol açabileceği unutulmamalıdır.

### 1.1.7. İmmunite

Deneysel veya doğal BVDV enfeksiyonunda antikor yanıt şekillenir. BVDV ile enfekte hayvanların yaşam boyu bağışık kalacaklarını bildirmiş ise de, daha sonra bu durumun böyle olmadığı, izlenen bazı hayvanlarda enfeksiyondan bir kaç ay sonra antikor azalması görüldüğü ve yeniden artış olduğu görülmüş, hayvanların re-enfekte olabilecekleri belirlenmiştir (22).

Akut enfeksiyonda antikor titresini 10–12. haftaya kadar artmaya devam eder, bir durgunluk döneminden sonra yavaşça azalmaya başlar. Oluşan antikorlar hem cp hem de ncp biotipe karşı korunma sağlar (78). Deneysel enfeksiyonlarda, diğer birçok enfeksiyonda olduğu gibi ilk olarak Ig M, daha sonra Ig G1 ve G2 oluştuğu belirlenmiştir (42).

Akut BVDV enfeksiyonu sırasında geçici lökopeni yanında, B hücrelerinin yanıtında, plazma hücrelerinde dolayısıyla da Ig G ve Ig M sentezinde azalma olur (48, 79). Polimorf nükleer lökositlerin fonksiyonlarında ve T lenfositlerinin mitojenlere yanıtında azalma sekonder enfeksiyonlara direncin azalmasına yol açar (80), ancak bu durum geçicidir ve 11–17. günlerden normale dönüş belirlenir (49). Immunkompetent olan hayvanlar herhangi bir suşla enfekte edildiklerinde diğer heterolog suşlara karşı da bağışıklırlar. BVDV enfeksiyonu sonrasında oluşan koruyuculuk açısından en önemli antikorlar nötralizan antikorlardır, enfeksiyondan sonra 3–4 hafta içinde belirlenebilmektedirler ve yaklaşık bir yıl kadar koruma sağlamaktadırlar (44, 81).

Sığırlarda plasenta tipinin sindesmokoriyal olması nedeniyle gebelik döneminde annede var olan antikorlar yavruya aktarılamaz (43, 57). Duyarlı

annelerde meydana gelecek enfeksiyon durumunda yavrunun enfeksiyonu her zaman söz konusudur. Genel olarak patogenez ve immunitiyi belirleyen olgu gebeliğin dönemi ve virusun biyotipidir (54). Fötusun gebeliğin ilk trimesterinde enfekte olması durumunda fötus spesifik immuntolerans geliştirir, yaşam boyu virus taşıy fakat antikor negatif kalır (82, 83). Ancak genel bir immunsupresyon ömür boyu devam etse, diğer mikroorganizmalara karşı immün yanıt geliştirebilirler (45). Immunkompetens oluştuktan sonra gelişen fötal enfeksiyonda virusun biyotipi farklılık yaratmaz, genellikle enfeksiyon atlatılır ve yavrular seropozitif olarak doğarlar.

PI hayvanlar, aynı tip virus ile enfekte olduklarında immün yanıt geliştirmezler ancak antijenik olarak farklı bir BVDV suşu ile enfekte olurlarsa ikinci virusun farklılığını algılar, hem böyle enfeksiyonlarda hem de aşılamalara immün yanıt geliştirirler (45, 84). Ancak persiste enfektelerde oluşan antikorların yarılanma ömrü normal hayvanlara kıyasla çok daha kısadır. Ek olarak fötal dönemde meydana gelen enfeksiyon hemen tüm dokular yanında lenfoid doku gelişimine de zarar verdiği için, PI hayvanlarda immunsupresyon görülmektedir (61). PI hayvanlarda diğer enfeksiyonların daha şiddetli seyrettiği bildirilmiştir (44, 60, 61, 85).

Yapılan deneysel bir çalışmada (48), kullanılan akut ve PI 25 sığırın 24'ünde diğer immunglobulinler normal seviyede iken IgG<sup>2</sup> seviyesinde azalma olduğu belirlenmiştir. IgG<sup>2</sup> seviyesinde azalışın veya olmayışının bireyleri pirojenik bakteri ve diğer ajanlar ile meydana gelen enfeksiyonlara direnci azalttığı bildirilmiştir (86).

Doğal enfeksiyon geçirmiş annelerden alınan kolostrum ile gelişen pasif immunizasyonda yavrular enfeksiyona karşı 105–230. günlere kadar korunmaktadır, bu nedenle aşılama için maternal antikorların yarılanmasının ardından yapılması önerilmektedir.

### 1.1.8. Korunma ve Kontrol

BVDV enfeksiyonunun patogenezinin oldukça karmaşık olması ve sublinik de seyredebilmesi nedeniyle laboratuvar kontrolleri mutlak gereklilik göstermektedir. Virusun sürüden eradike edilmesi temel hedef olmalıdır.

Aşılamadan önce mutlaka sürünün antikor taraması yapılmalıdır. Canlı aşilar yaygın olarak kullanılmaktadır ancak gebeliğin ilk trimesterindeki gebelerin aşılınması durumunda aynı doğal enfeksiyon durumundaki gibi yavrularda persistens yanında abort, serebellar hipoplazi, oküler lezyonlar, ölü doğum, gelişme geriliği gibi bozuklukların gelişebileceği bildirilmiştir (87–89). Bu nedenle gebelere inaktif aşı kullanımı önerilmektedir. Ancak sürü genelinde inaktif aşı kullanımı, özellikle taşıyıcı bireylerde sakıncalıdır (90). Canlı aşilar intranasal yolla uygulandığında yeterli immunité oluşturabilir.

Danalarda uygulanacak ilk BVDV aşılama sırasında inaktif olması gerektiği bildirilmiştir, bunun nedeni ise hastalık oluşturma ihtimalinin olmaması açısından güvenli olması ve yeterli bağışıklık oluşturmalarıdır (91, 92). Yeterli maternal antikor alan yavruların 9 ay kadar korunabildikleri bildirilmiştir (93), ancak korunma süresi anneden alınan antikor titresini ile süt verilme şekli gibi faktörlere bağlı olarak büyük değişiklik gösterebilir. BVDV organizmaya oral yolla alındığından kanda yüksek antikor titresini olması enfeksiyonu önleyemeyebilir (94). Dolayısı ile ilk aşılama zamanının doğru belirlenmesi de buna bağlı olarak büyük önem taşır.

## 1.2. INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS (IBR)

### 1.2.1. Tanım

Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR), Infectious Pustuler Vulvovaginitis (IPV) ve Infectious Balano-Posthitis (IBP) olarak bilinen ve her biri farklı organları etkileyen enfeksiyon Alphaerpesvirinae ailesinde bulunan Bovine Herpesvirus tip 1 (BHV1) tarafından oluşturulmaktadır. Gençlerde daha çok generalize formda görülen enfeksiyon yetişkinlerde subklinik, bir veya birkaç organ sistem enfeksiyonu şeklinde seyrederek. Enfeksiyonda etkilenebilecek sistemler; solunum, sindirim, genital ve sinir sistemidir (95–98).

Enfeksiyonun tüm kıtalarda yaygın olduğu bildirilmiştir ancak birçok Avrupa ülkesinde eradikasyon devam etmektedir, bazılarında ise eradikasyon başarılmıştır. Türkiye’de yapılan birçok çalışma IBR’nin yüksek oranlarda seyrettiğini ortaya koymuştur (11, 99–101). Herpesviruslar geniş konakçı spektrumunda bir çok enfeksiyona neden olur, bu güne kadar belirlenmiş 128 değişik ruminant türünde enfeksiyon meydana getirmektedir (102).

### 1.2.2. Etiyoloji

Herpesviridae familyasının üç subfamilyası vardır; Alpha-, Beta- ve Gamaherpesvirinae. IBR-IPV enfeksiyonu Alphaherpesvirinae grubunda yer alır. IBR, Bovine Herpesvirus–1 olarak da bilinir (BHV–1) (103, 104). Alphaherpesvirinae ailesindeki viruslar enfekte ettiği hücrelerde hızlı gelişen lizis ile karakterizedir ve latentlik başlıca sensorik ganglionlarda olur (105, 106).

BHV1 virionları zarlı ve yaklaşık 150 nm çapında olup ikozahedral simetriye sahiptir. Kapsit 150’si hegzamer ve 12 pentamerden oluşan 162 kapsomerden meydana gelir. Kapsidin üstünde tegument adı verilen globuler bir materyal ile çevrilmiştir, bu yapı üzerinde birçok küçük glikoprotein peplomer olan lipoprotein zar bulunmaktadır. Genom tek linear molekül halinde çift iplikçikli DNA’dan oluşmuştur.

IBR kış aylarında 30 gün kadar canlılığını koruyabilir, bina içlerinde yaklaşık 6–13 gün, bahar döneminde ise 5–9 gün kadar enfeksiyözitesini devam

ettirebilir. Virus 63°C'nin üstünde dakikalar içinde inaktive olur. IBR zarlı bir virus olduğundan yağ eter ve kloroform gibi yağ eriticiler ve deterjanlarla muamele edildiğinde enfeksiyozitesini kaybederler. Etken %0.5 NaOH, %0.01 HgCl<sub>2</sub>, % 1 CaCl ve %1 fenol solüsyonlarında saniyeler içinde inaktive olur (107). IBR çevre şartlarında kışın 30 gün, binalar içinde 6–13 gün, bahar aylarında dış ortamda 5–9 gün, 37°C'de 10 gün, -20°C'de bir yıl kadar, -65 °C'de çok uzun süre enfeksiyozitesini koruyabilmektedir (108, 109). Virusun saha şartlarında varlığını devam ettirmesinde ortamdaki nemin büyük önemi vardır, Elazhary ve Derbyshire'in (110) bildirdiğine göre optimal şartlar %90 nem ve düşük ısıdır.

Virus pH 6 ile 9 arasında stabil kalır (111). Bu aralık bulaşmanın gelişimine çok önemlidir çünkü solunum sistemi mukozasının pH'sı 7'nin biraz altında, erkek genital kanalında 8'in üstünde ve dişi genital kanalında biraz daha değişkendir.

### 1.2.3. Epidemiyoloji

IBR dünyanın birçok ülkesinde yaygın görülen enfeksiyondur. Hastalığın Avrupa'ya ulaşması Afrika'dan hayvanat bahçelerine getirilen vahşi ruminantlar yoluyla olduğu bildirilmiştir (112). Enfeksiyon oranları bölgeye ve yetiştirme şartlarına göre farklılıklar gösterir. Enfeksiyon oranlarını etkileyen temel faktörler yaş, cinsiyet ve sürü büyüklüğüdür (113). Kontrolsüz hayvan hareketleri bulaşma risklerini önemli ölçüde artırır. İntensif yetiştiriciliklerde bulaşma riski fazladır (114). Virus reaktivasyonunu doğum, çiftleşme ve transport nedenleri ile söz konusu olabileceği unutulmamalıdır (115). Konak spektrumu birçok ruminant türünü içerir ancak sığır dışındaki ruminant türlerinin BHV1 için rezervuar konakçı olduğuna dair bir bilgi bulunmamaktadır. BHV1' in konak spektrumu oldukça dardır.

BHV1 tüm dünyada oldukça yaygın görülmektedir, ancak asıl konakçıları manda ve sığırlardır. Vahşi ruminant türlerinde de antikör varlığı belirlenmiştir.



#### 1.2.4. Patogenez ve Patoloji

Akut IBR enfeksiyonu tablosunda üst solunum sisteminin mukoz membranlarında konjesyon ve ödem meydana gelir. Mukopurulent yeşilimsi eksudat varlığı sekonder enfeksiyon varlığını gösterir. Rhinitis laringitis ve tahinitis genellikle vardır (116, 117). Larinks ve trecheada hemorajiler akciğerde interlobuler dokular ödematozdur (118). Sinir sistemi de virus ulaşarak ensefalitise neden olabilir (118). Narita ve ark. (1982) (119) periferik ve merkezi sinir sisteminde enfeksiyonun trigeminal ganglion ve medulla oblongata, pons ve cerebrumda geliştiğini belirlemişlerdir. Etkilenen hayvanlarda sindirim kanalında erozyon ve ülserasyonlar bulunur. Çoğunlukla ağızda görülen bu lezyonlara özefagus, ön mide ve abomazumda da rastlanır. İnce bağırsaklarda kataral enteritis genellikle vardır, lokal lenfoid dokularda etkilenmiştir. Peyzer plaklarında nekrozis ve dejenerasyon görülebilir (98, 120). Nekrotik odaklar ve intranukleer inkluzyon cisimcikleri dalakta tespit edilebilir. IBR' ye sıklıkla sekonder enfeksiyonlar eşlik eder *Pasteurella haemolytica* en sık izole edilen etkenler arasındadır (121). Burun epitelinde, trakeada ve akciğerlerde nekrozis tespit edilebilir. Virus viremi döneminde meme bezine ulaşarak mastitise ve plasenta yoluyla fötusta enfeksiyona (98, 122) neden olabilmektedir. Karaciğer ve böbreklerde hemoraji ve nekrozlar şekillenebilir.

IPV ve IBP' de tipik yangısal reaksiyonlar genellikle vulva, vagina, servikal mukoza, preputial ve penil mukozada görülür (116). Endometritis gelişimi mümkündür. Mukozalarda ödem genellikle vardır. Lezyonlar genellikle vezikül tarzında olduğu için hastalık koital egzantem olarak bilinmektedir. Lezyonların esasını virusun replike olduğu hücrelerin genişleyerek ölmesi oluşturur. Enfeksiyonun ilerlemesi ile lezyonların çapı artar. Virus üreme odakları görülür büyüklüğe ulaşır. Kapillar damarlardaki patlamalar sonucu bölgede küçük hemorajik odaklar gelişebilir. Yangıya bakteriyel ajanların katılmasıyla birlikte mukozal epitellerdeki yangı şiddeti artar. Yangının geliştiği bölgelerde kısa sürede lenfosit infiltrasyonu şekillenir. İmmun yanıtın gelişerek kan ve dokulardaki virüsü elimine etmesi ile birlikte mukozalardaki yangılar kısa sürede iyileşir. (123)

IPV ve IBP oluştuğu olgularda vulva, vagina ve servikal mukoza ile penis mukozasında yangı gelişir. Daha sonra püstitüleşecek olan veziküller görölmesi nedeniyle hastalık “Coital exanthema” adını almaktadır. Mukozada ödem ve küçük hemorajiler tespit edilebilir. Sekunder enfeksiyonun geliştiği vakalarda epitel doku dejenerasyonu meydana gelir, BHV-1’in tek başına olması durumunda virus hızla gelişen immun mekanizma tarafından durdurulacağından epitel doku kısa sürede rejenere olur. Abort olgularında fötüsde karakteristik değişiklikler karaciğer ve böbreklerde görölür.

BHV1 enfeksiyonunu takiben virus girdiği organizmada diğer tüm herpesviral enfeksiyonların da karakteristik bir bulgusu olarak latent kalır (124). Latentliğin geliştiği bölge bulaşma yoluna göre değişiklik gösterir, Narita ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda (1978, 1979, 1981) (125–127) akut IBR enfeksiyonu sonrasında ganglionlar ve periferel sinir fibrillerinde virus varlığını ve trigeminal ganglionitis şekillendiğini göstermişler, steroid tedavisi sonrası virusun reaktive olduğunu göstermişlerdir. Daha sonra Ackermann ve Wyler (1984) (128) IPV enfeksiyonu sonrasında virusun sakral ganglionlarda latent kaldığını bildirmişlerdir.

### **1.2.5. Klinik**

Bulaşma solunum veya genital sistem mukoz membranları yoluyla olur. Konjunktival epitelyumda da virus girişi söz konusu olabilir. İnkubasyon süresi yaklaşık olarak 2–4 gündür. İlk belirti burunda pembeleşmedir, burun akıntısı önce serözdür ve zamanla artar ve mukoprolente dönüşür. İştatsızlık ve ateş gelişimi ile hayvanlar depresif hale gelirler. Daha sonra salivasyon artışı, gıda alımında büyük ölçüde azalma ve süt veriminde ani düşüşler tespit edilir. Konjunktivada kızarma gözlenir, gözyaşı akıntısı artar ve mukoprolente dönüşür. Semptomlar ilk 4 gün şiddetlenerek devam eder, ancak sonrasında ateşin düşmesi ile nabız ve solunum frekansı normale dönmeye başlar. Bu dönemde sekunder bakteriyel enfeksiyon gelişir ise ateş yeniden yükselir ve bir süre daha yüksek seyreder. Klinik tablo ağırlaşır ve ölüm şekillenebilir. Sekunder enfeksiyonun

oluşmadığı durumlarda ateşin düşmesi ile iştah normale döner ve birkaç hafta içinde tam iyileşme meydana gelir (62, 98, 129).

IBRV enfeksiyonu yetişkin hayvanlarda subklinik form yaygındır, klinik semptomların görüldüğü durumlarda bir veya daha fazla organ sistemini de içeren bulgularla seyredebilir. BHV1 nedeniyle oluşabilecek bozukluklar oldukça çeşitlidir. Bunlardan başlıcaları; solunum sistemi bozuklukları (95, 122), abort (97), konjunktivitis (96), ensefalomyelitis (130), endometritis, Repeat Breeding, mastitis, enteritis (98), dermatitis (117).

Enfeksiyonun morbiditesi çok yüksektir hatta %100 olarak kabul edilir ancak mortalitesi yetişkinlerde çok düşüktür. Mortaliteye sadece yenidoğan ve gençlerde prognozun ağır seyrettiği ve miks enfeksiyon tablosunun görüldüğü durumlarda rastlanır.

Abort IBR'nin bulgularından biridir, en çok 4 ile 8. aylar arasında gözlenir (131). Deneysel çalışmalar gebeliğin ilk 3 ayında meydana gelen enfeksiyonlarda embriyonal ölümlerin sık şekillenebildiğini göstermektedir (132-134). Enfekte annelerde virus hematogen yolla, umbilikal damarlarla fötusa ulaşır. Enfeksiyonun gelişimden sonraki 15 ile 64 gün arasında bir süre içinde abort meydana geldiği bildirilmiştir, ayrıca lezyonlara hem plasentada hem de fötal organlarda rastlamanın mümkün olduğu ve fötal ölümün temelinde plasental dejenerasyonun olduğu öne sürülmüştür. Attenüasyonu iyi yapılamamış canlı aşuların kullanımı sonucu da abort gelişebilir (135).

Oral mukozalar yoluyla IBR enfeksiyonunun geliştiği durumlarda, virus laten kaldığı trigeminal ganglionlar yoluyla beyine ulaşarak ensefalitis geliştirebilir (136–139).

Postnatal dönemde enfekte olan yavrularda tablo genellikle sistemiktir (98). Belirtiler çoğunlukla gözyaşı ve burun akıntısı, ateş, ishal ve solunum sistemi bozuklukları şeklindedir (129, 140, 141). IBR pozitif sürülerde kolostrum almayan danalar özellikle risk altındadırlar (142).

Infectious Pustuler Vulvovaginitis (IPV) enfeksiyonu daha önceleri Coital exanthema olarak adlandırılmış olup da hem dişi hem de erkek hayvanlarda görülen bir enfeksiyondur. Bu formda bulaşma enfekte hayvanlarla doğa aşım,

enfekte spermayla suni tohumlama veya diğerk hayvanlarla kuyruk teması sonucu meydana gelir. Bulaşmadan 2–4 gün sonra klinik semptomlar gözlenir. İlk bulgu genellikle gözden kaçan ateştir, daha sonra vulva ve vajinada küçük püstüller şekillenir. Lezyonlar zamanla büyür ve yayılım gösterir. Etkilenen bölge ödemli ve hiperemik bir görünüm alır. Ateş 40.5 ile 41.5°C arasındadır. Sekunder enfeksiyon varlığına da bağlı olarak epitel kaybı gelişebilir. Klinik semptomlar yaklaşık olarak 8 gün sürer ve 14. günlere kadarki dönemde re-epitalizasyon ile iyileşme meydana gelir. Enfeksiyon süresinde hayvanlarda iştah fazla bozulmaz ve klinik tablo şiddeti ile süt verim kaybı IBR formu kadar şiddetli değildir. Ancak mastitis geliştiği durumlarda süt verimi büyük ölçüde düşer (62, 123). Akut IPV formunda tüm üreme organlarında değişiklikler görülür. Metritis yanında ovaryumlarda patolojik değişiklikler de izlenebilir, ovaryumdan virus izolasyonu bildirilmiştir (143).

Infectious Balano-Posthitis (IBP) formunda lezyonlara en çok penis ve prepusyumda, bazen de üretral mukozanın distal kısmında rastlanır. Bu formda bulaşma en çok enfekte hayvanlarla doğal çiftleşme ve suni tohumlama merkezlerinde mekanik yollarla oluşur. İnkubasyon süresi 3–4 gün kadardır. Belirtiler ateş ve prepusyumda ödem ile başlar. Anoreksiye bağlı kilo kaybı gözlenir. Klinik tablo IPV'ye benzer ancak daha uzun sürer, bazen 4. haftaya kadar penil mukozada lezyonlar görülebilir(62).

## **1.2.6. Teşhis**

### **1.2.6.1. Direkt Teşhis**

Virus izolasyonu amacıyla EDTA'lı tüplere kan ile burun svapları alınmalıdır. Ayrıca abort materyalinden ve plasentasan örnekler ile mastitisli hayvanlardan alınacak süt örneklerinden inokulum hazırlanıp hücre kültüründe izolasyon yapılabilir (144). Alınacak örneklerin +4°C'de laboratuara gönderilmesi, örneklerdeki virusun inaktive olmaması açısından son derece önemlidir.

Örnekleme yapılırken öncelikle klinik semptom gösteren hayvanlar seçilmeli, klinik semptom göstermeyen hayvanlarda da akut enfeksiyon genellikle

söz konusu olabildiği için belirti göstermeyen farklı yaş guruplarındaki hayvanlar da kontrol edilmelidir. Temelde sürü eredikasyonu için tüm bireylerin kontrolü önerilmektedir (62).

Viral teşhis için kullanılabilecek test yöntemleri başta PCR olmak üzere (145–147). Immun Floresan (148), Immun Peroksidaz ve ELISA'dır (149).

### **1.2.6.2. İndirekt Teşhis**

IBRV spesifik antikorların teşhisi için en çok kullanılan test Virus Nötralizasyon test'tir (73). Birçok araştırmacı tarafından duyarlı ve spesifik olduğu belirlenen diğer test metotları ise şunlardır; İndirekt hemaglutinasyon test (150), counterimmuno-electrophoresis (151), micro-CF test (152), micro-ELISA (153). Antikor teşhisinde her ne kadar genellikle kan serumu kullanılıyor ise de süt serumu (154, 155) ve spermada da (156) çalışılabilir. İmmun difüzyon testin de kullanılabilir bir yöntem olduğu bildirilmiştir (157).

### **1.2.7. İmmunite**

Doğumdan sonraki ilk 12 saatte bağışık annelerden kolostrum alabilen yavrularda yeterli seviyede antikor bulunur. Anneden alınan antikor seviyesine bağlı olarak maternal antikorlar yavruyu 3–4 aya kadar koruyabilir (158). Kan ve sütte tespit edilebilir antikor eş zamanlı olarak şekillenmektedir (159). Antikor taşımayan veya düşük titrede taşımayan anneleri emen yavrular ile kolostum alamamış yavrularda hastalık şiddetli ve sistemik seyretmektedir (95, 160).

Akut IBR enfeksiyonu sonrası kanda farklı sınıflardan immün globulin sentezleri şekillenir. Bunlar 2. hafta sonunda maksimum titreye ulaşan Ig A ve IgM ile 2–4 hafta sonra maksimum titreye ulaşan IgG'dir (161). IBR ile meydana gelen ilk enfeksiyonda primer immün yanıt sonucu IgG1 şekillenir ancak enfeksiyona yeniden maruz kalma durumlarında IgG2 antikorları sentezlenir (162). Her ne kadar antikorlar kanda uzun süre kalmasına rağmen antikor titresi enfeksiyonun bulaştığı bölgeye göre değişiklik gösterir, solunum yoluyla gelişen enfeksiyonlarda oluşan titrenin genital sistem yoluyla meydana gelen

enfeksiyondan daha yüksek şekillendiği bildirilmiştir (131). Ancak oluşan antikolar uzun süre yüksek titrede kalmazlar, antikor titresinin azalması ile birlikte latent olan virus reaktive olup tekrar saçılmaya başlar (163). Antikor seviyesi yüksek olsa bile steroid uygulamalarını takiben virus yeniden reaktive edilebilir.

Sellüler immunitede immun savunma sistemi olarak etkindir. T lenfositlerinin de önemli bir rolü olduğu Rouse ve Babiuk (1974) (164) tarafından bildirilmiştir. Enfeksiyondan etkilenen hayvanların bronko-alveolar yıkama sıvılarında lenfosit hücreleri belirlenmiştir (165). Enfekte hayvanlarda deride aşırı duyarlılık geliştiği (166), serotonin ve depomin nedeniyle akciğerlerde alerjik bozukluklar olduğu gösterilmiştir (167).

#### **1.2.8. Korunma ve Kontrol**

IBRV enfeksiyonu ile mücadelede hedef ekonomik kayıpların azaltılmasına yöneliktir. Enfeksiyonun mümkünse eradike edilmesi amaçlanmalıdır. Eradikasyonda taramalarda serolojik testler kullanılmasının sebebi virusun latent yapısıdır. Antijen pozitif hayvanlar akut enfeksiyon ve re-aktivasyon dönemi dışında virus saçmazlar ancak pozitif bireylerde her zaman antikor pozitif olarak bulunurlar. Bu gün serolojik taramalar yapılarak, pozitif tüm hayvanların kesime gönderilmesi esasına göre birçok Avrupa ülkesinde mücadele yapılmakta olup, İsviçre, Danimarka ve Finlandiya gibi bir kısmında başarı sağlanmış, bir kısmında ise çalışmalar devam etmektedir (168).

Mücadele yapılırken enfekte hayvan sayısına bakılmalıdır. Oran az ise enfekte hayvanların sürüden çıkarılması uygun bir yöntemdir ancak pozitifliğin yüksek olduğu sürüler bu stratejinin uygulanması mümkün olmayacağından virus sirkülasyonunun sürü içinde azaltılması yoluna gidilmelidir (169). Maternal antikor taşımayan, 5–6 aylıktan büyük tüm hayvanların kontrol edilmesi ve uygun aşı çeşitlerinden biri ile aşılama yapılması önerilmektedir. Enfeksiyon kontrolü ve mücadelesi yapılmış sürülere dışardan hayvan katımı yapılırken dikkatli olunması ve damızlık amacıyla boğa kullanımının sınırlandırılması veya kontrollü yapılması önemli gereklilikler arasındadır.

Enfeksiyonun kontrol altına alınması amacıyla sahada en çok yoğun tercih edilen yöntem aşılamadır. Canlı aşuların kullanıldığı durumlarda bireylerde oluşan antikorlar ile enfeksiyon nedeniyle şekillenen antikorlar test yöntemleri ile ayırt edilemezler. Bu ayırımın yapılabilmesi amacıyla üretilmiş olan marker aşular daha çok damızlık hayvanlarda tercih edilmektedir (169, 170).

### **1.3. AMAÇ**

Bu çalışmada organize ve aile tipi küçük işletmelerde BVDV ve BHV1 enfeksiyonlarının insidensi ile söz konusu virusların sirkulasyon oranını belirlemek hedeflenmiş, bu amaçla doğumdan hemen sonra inekler ile kolostrum almadan önce yavrularından kan örnekleri alınmış ve serolojik olarak incelenerek doğal enfeksiyon sonucu gelişen antikor varlığı ve oranını belirlenmiştir.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. GEREÇ

#### 2.1.1. Örneklenen Hayvanlar

Bu çalışmada, 155'i üç organize sürü 7'si küçük aile tipi işletmeden olmak üzere toplam 162 inek ile aynı sayıdaki buzağısından doğum sonrası prekolostal dönemde kan örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri steril silikonlu vakumlu tüplere uygun iğnelerle vena jugularis'ten alındı ve kısa sürede laboratuvara ulaştırılarak işlendi.

Örneklenen bir numaralı sürüde çoğunluğu yetişkin olan farklı yaşlarda toplam 108 sığır bulunmakta ve bu sürüden 9 inek ve buzağısı örneklenmiştir. İki numaralı sürüde ise toplam 145 sığır bulunmakta olup bu sürüden 30 inek ve yavrusu örneklenmiştir. Bu sürülerde ayrıntılı sürü kayıtları tutulmamış olmakla birlikte alınan anemnezde hayvanlara çalışılan enfeksiyonlar için hiç aşı yapılmadığı bildirilmiş, bir numaralı sürüde mastitis ile tohumlama sayısında fazlalık, iki nolu sürüde ise servis periyodunda uzama ile son iki yılda 3 abort olgusu bilgisi elde edilmiştir. Örneklerin önemli bir kısmı 3 nolu sütçü işletmeden sağlanmıştır. Toplam 1580 hayvan bulunan çiftlikte 464 hayvan erkek besi hayvanı, kalan 1116'sı farklı yaşlardaki inek ve buzağılardan oluşmakta ve sürü kayıtları düzenli olarak tutulmaktadır. Toplama hayvanlardan oluşan bu sürüde en son 2 yıl kadar önce BHV1 ve BVDV için aşılama yapıldığı, sürü problemi olarak buzağılarda bazen ishal ve pnömoni, ineklerde infertilite de ve servis periyodunda uzama gibi problemler olduğu bildirilmiştir.

Elde edilen 116 inek ve buzağısına ait örnekler 5 aylık bir süre içinde sağlanmış. Reprodüktif problemlerin artması üzerine örneklemeden yaklaşık 6 ay kadar önce tüm dişi sığır ve buzağılar BVDV için antijen ve antikor taramasına alınmış, %82.2 oranında antikor ile 5 hayvanda persisten belirlenmiş ve PI hayvanlar eradike edilmişlerdir. Tablo 1 ve 2'de 4 numarayla gösterilen 7 hayvan işletmede 1 ile 4 arasında hayvan bulunan 7 farklı aile tipi işletmeden alınmıştır. Örneklenen hayvanların tümü BHV1 ve BVDV için aşısız, hem inekler hemde buzağıları klinik olarak sağlıklı görünümlü idiler.



### **2.1.2. Hücre Kültürü**

BHV1 ve BVDV viruslarının üretilmesi, Virus Nötralizasyon ve Serum Nötralizasyon<sub>50</sub> (SN<sub>50</sub>) Testlerinde Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) hücre kültürü kullanıldı. Hücre kültürlerinin üretilmesinde vasat olarak Dulbecco's Modified Minimal Essential Medium (DMEM) ile vasata ek olarak %5–10 arasında değişen oranlarda Fötal Dana Serumu (FDS) kullanıldı.

### **2.1.3. Viruslar**

Bu çalışmada virus spesifik antikorların tespiti için BHV1 virusunun referans suşu olan "Colorado suşu" ile BVDV antikorlarının belirlenmesi için "NADL" referans suşu kullanıldı.

## 2.2. YÖNTEM

### 2.2.1. Virusların hücre kültüründe üretilmesi

BHV1 ve BVDV viruslarının üretilmesi için referans suşlar MDBK hücre kültürüne adsorbsiyonsuz yöntemle inokule edildi. Etüve kaldırılan hücre kültürleri sonraki günlerde viruslar için karakteristik olan sitopatolojik değişikliklerin net olarak gözlenmesi ve yaygın hücre yıkımlanması bekletildikten sonra  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de donduruldu. Hemen ardından çözödürölen virus süspansiyonları 4000 rpm'de 20dk santrifuj edildi, süpernatant alınarak iyice pipete edildikten sonra 1'er ml'lik porsiyonlara ayrıldı ve  $-80^{\circ}\text{C}$ 'ye kaldırıldı.

### 2.2.2. Titrasyon Test

Daha önce porsiyonlanmış olan viruslardan bir tanesi çözödürölen DMEM ile Logaritma 10 tabanına göre  $10^{-8}$ 'e kadar bir dizi tüp içerisinde sulandırıldı. Her sulandırma basamağından pleytin aynı sırada bulunan dört gözüne 100 µl hacimde konuldu. Virus kontrol için dört göze 50 µl serumsuz vasat ile 50 µl saf virus ve hücre kontrol için ayrılan gözlere %10 oranında fetal serum içeren DMEM vasatından (100 µl) konuldu. Hemen ardından tüm gözlere MDBK hücre süspansiyonundan (300.000 hücre/ml) 50 µl konuldu ve pleyt  $37^{\circ}\text{C}$ 'lik  $\text{CO}_2$ 'li etüvde inkubasyona bırakıldı. Tabletler inkubasyon süresi sonunda kontrol edildi ve belirlenen veriler Kaerber'in (1964) (171) bildirdiğı yönteme göre hesaplandı.

### 2.2.3. Serum numunelerinin işlenmesi

Vakumlu ve silikonlu steril tüplere alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dk santrifuj edildi. Üst kısımda biriken serum 4 ml'lik steril stok tüplerine aktarıldı ve  $56^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dk tutularak non-spesifik immun sistem faktörleri inaktive edildi. Serum örnekleri serolojik testlerde daha sonra kullanılmak üzere  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de donduruldu.

#### 2.2.4. Serum Nötralizasyon Testi

Elde edilen kan serumlarında BHV1 ve BVDV spesifik antikorların tespitinde Virus Nötralizasyon Test (VNT) kullanıldı (73).

Bunun için 96 gözlü hücre kültür pleytinin iki gözüne BHV1 için saf serum, BVDV için vasatla 1/5 oranında sulandırılmış olan serumlar 50µl hacimde konuldu. Enfeksiyözite gücü daha önce belirlenmiş viruslar 100DKID<sub>50</sub>/0,05ml oranında sulandırılarak eşit hacimde her bir serum örneğinin üzerine konuldu. Virus kontrole 50 µl'şer mikrolitre virus, serumsuz vasat, hücre kontrole ile 100 µl serumlu vasat konuldu. Daha sonra pleytler %5 karbondioksitli (CO<sub>2</sub>) 37°C'ye ayarlı etüvde BVDV için 1, BHV1 için 2 saat süreyle nötralizasyona bırakıldı. Sürenin bitiminde tüm gözlere MDBK hücre süspansiyonu (300.000 hücre/ml) konuldu. CO<sub>2</sub>'li etüvde 1–3 günlük inkubasyon süresi sonunda pleytler doku kültürü mikroskopunda sitopatojenitenin görülüp görülmemesine göre değerlendirildi. Antikor pozitif olduğu belirlenen kan serumları, antikor titrelerinin belirlenmesi için Serum Nötralizasyon 50 (SN<sub>50</sub>) testine tabi tutuldular.

BHV1 için serum numunelerinin 96 gözlü pleyt üzerinde 2 sıra halinde vasat ile 1/1, 1/2,..... 1/128 ve BVDV için 1/5, 1/10,..... 1/640 oranlarında serum sulandırmaları hazırlandı. Üzerlerine titresi oranında sulandırılmış virus konulduktan sonra BVDV için 1 saat ve BHV1 için 2 saat süreyle nötralizasyona bırakıldı. Daha sonra MDBK hücre süspansiyonu ilave edilerek aynı şartlarda inkubasyona bırakıldı ve süre sonunda test doku kültürü mikroskopunda değerlendirmeye tabi tutuldu. Serumların antikor titreleri Kaerber (1964) (171) metoduna göre hesaplandı.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Mikrotitrasyon Test Sonucu

Bu çalışmada yapılan mikrotitrasyon test sonucuna göre, BHV1 virusunun 100DKID<sub>50</sub>/0.05ml değeri  $10^{-3.5}$ , BVDV virusun 100DKID<sub>50</sub>/0.05ml değeri ise  $10^{-4.5}$  olarak bulundu.

#### 3.2. Nötralizasyon Testi Sonuçları

Çalışmada doğumdan hemen sonra, kolostrum almadan önce yavrulardan ve annelerinden kan örnekleri alındı, toplam olarak 162'şer çift hayvandan toplam 324 kan serum örneği BVDV ve IBRV spesifik antikorların teşhisi için Virus Nötralizasyon Test uygulandı. Tablo 1 ve 2'de gösterilen sürü 1 ve 2 küçük-orta, sürü 3 ise büyük organize çiftlikler olup, 4 sıra numarasıyla gösterilen ise aile tipi küçük işletmelerdir.

Test sonucuna göre, organize sürülerden örneklenen ineklerin BVDV antikor oranlarının %77.7 (7/9) ile %100 (30/30) arasında değiştiği belirlendi, aile tipi işletmelerden elde edilen örneklerde ise %57 (4/7) değeri saptandı. Bir numaralı sürüde örnek alınan ineklerin yavrularının tümünün seronegatif olduğu saptandı, sürü 2'de 30 ineğin üçünün yavrusunda ve sürü 3'te ise 116 ineğin 17'sinin buzağısında BVDV spesifik antikor varlığı belirlendi. Bir ile dört arasında hayvanın yetiştirildiği aile tipi işletmelerden alınan 7 örnekten 2'sinde danalarda BVDV antikor varlığı tespit edildi, aile tipi işletmelerde enfeksiyon oranının organize işletmelere göre daha düşük olduğu belirlendi (Tablo 1). Toplamda 162 ineğin 155'inde (%95.6) ve 162 buzağının 22'sinde (%13.5) BVDV antikor varlığı tespit edildi.

**Tablo 1 : Örneklenen inekler ile prekoloztral buzağuların BVDV antikor verileri**

Sıra No	Örneklenen Hayvan Sayısı	Sürü Büyüklüğü	BVD Antikor Verileri			
			Anneler		Yavrular	
			Ab (+)	(%)	Ab (+)	(%)
1	9	108	7	77.7	-	-
2	30	145	30	100	3	10
3	116	1116	114	98.2	17	14.6
4	7*	1-4	4	57.1	2	28.5
Tolam	162		155	95.6	22	13.5

\*: Aile tipi işletmelerden alınan örnekler.

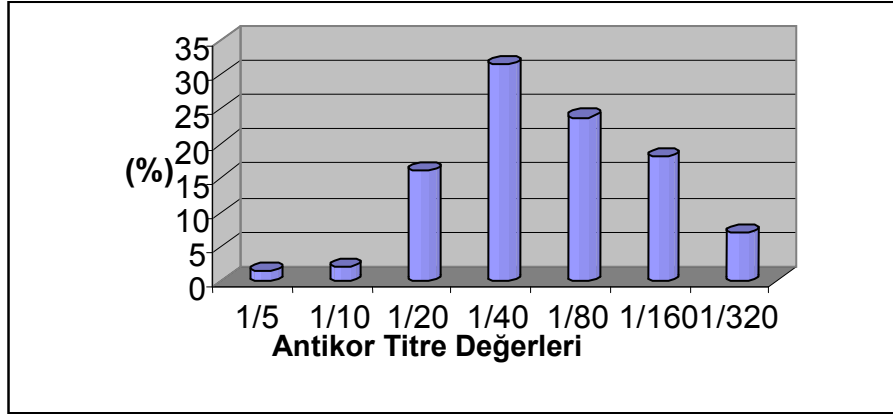
Örneklenen ineklerin BHV1 spesifik antikor oranları organize sürülerde sırasıyla 1, 3 ve 2 nolu sürüde %66.6 (6/9), %70.6 (82/116) ve %73.3 (22/30) olarak belirlendi ve pozitifliğin aile tipi işletmelerde nisbeten daha düşük olduğu (%42.8) görüldü. Prekoloztral buzağulardan sadece birinde (3 nolu işletme) 1/32 titresinde BHV1 antikorlarına rastlandı ve bu buzağının annesindeki titrenin ise 1/64 olduğu saptandı. Elde edilen inek örneklerinin 113'ünün (%69.7) BHV1 pozitif olduğu belirlendi

**Tablo 2 : Örneklenen inekler ile prekoloztral buzağuların BHV1 antikor verileri**

Sıra No	Örneklenen Hayvan Sayısı	Sürü Büyüklüğü	IBR/IPV Antikor Verileri			
			Anneler		Yavrular	
			Ab (+)	(%)	Ab (+)	(%)
1	9	108	6	66.6	-	-
2	30	145	22	73.3	-	-
3	116	1116	82	70.6	1	0.8
4	7*	1-4	3	42.8	-	-
Tolam	162		113	69.7	1	0.6

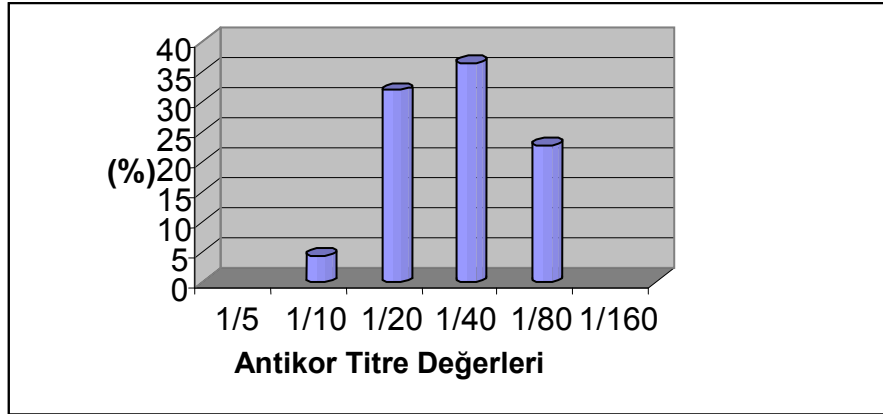
### 3.3. Serum Nötralizasyon 50 (SN<sub>50</sub>) sonuçları

Bu araştırmada yeni doğum yapan ineklerden elde edilen örneklerin 155'inin BVDV için 1/5 ile 1/320 aralığında değişen titrelerde antikor taşıdığı, Grafik 1'de de gösterildiği gibi hayvanların çoğunluğunda titrenin 1/20 ile 1/160 aralığında olduğu ve en yoğun değer 1/40 noktasında olduğu belirlendi.



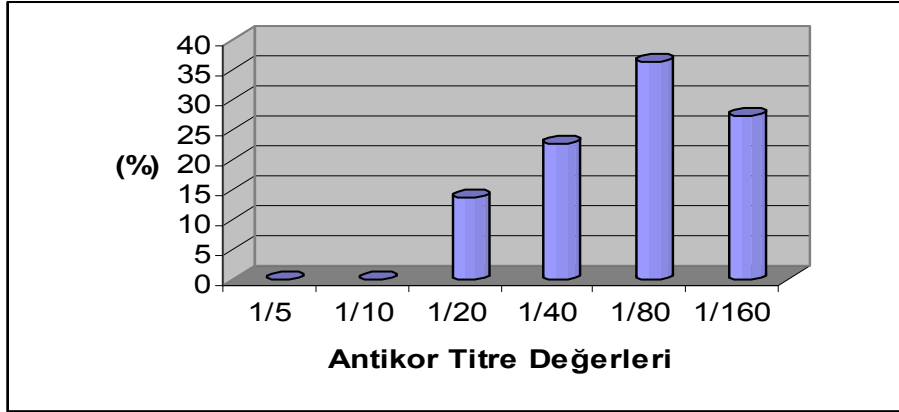
**Grafik 1 : BVDV antikor pozitif ineklerin SN<sub>50</sub> değerleri**

Yapılan VNT sonucuna göre BVDV için pozitif oldukları saptanan 22 buzağının antikor titre değerlerinin 1/10 ile 1/80 arasında değiştiği ve yoğunluğun 1/40, 1/20 ve 1/80 değerleri sırasıyla azaldığı tespit edildi (Grafik 2).



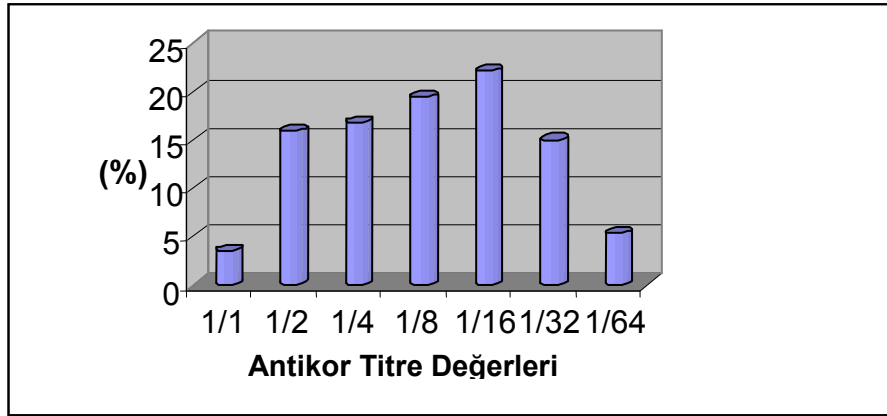
**Grafik 2 : BVDV Antikor pozitif buzağların SN<sub>50</sub> değerleri**

Buzağısı BVDV seropozitif olduğu belirlenmiş olan ineklerin SN<sub>50</sub> değerlerinin 1/20 ile 1/160 arasında değiştiği görüldü ve titre dağılımında 1/80 değerinin en yoğun nokta olduğu Grafik 3'te gösterildi.



**Grafik 3 : BVDV Antikor pozitif buzağların annelerinin SN<sub>50</sub> değerleri**

BHV1 için pozitif olduğu saptanan 113 ineğin serumları 1/1 ile 1/256 aralığında sulandırıldı ve hayvanlarda 1/1 ile 1/64 aralığında titreler belirlenerek Grafik 4'te de gösterildiği gibi titrenin 1/2 ile 1/32 aralığında yoğun ve oldukça yakın oranlarda olduğu tespit edildi.



**Grafik 4 : BHV1 antikor pozitif ineklerin SN<sub>50</sub> değerleri**

#### 4. TARTIŞMA

Bovine Viral Diarrhoe Virus (BVDV) ve Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus (IBRV) enfeksiyonları dünyanın birçok ülkesinde olduğu gibi Türkiye’de oldukça yaygın olan ve büyük ekonomik kayba yol açan enfeksiyonlardır. Her iki enfeksiyon da yetişkin hayvanlarda genellikle subklinik seyretmekle birlikte latent ve persiste karakterleri nedeniyle sürü problemi olarak sığır yetiştiriciliğinin en büyük problemleri arasındadır.

BVD dünyada birçok ülkede oldukça yaygın olan bir enfeksiyondur. Antijen varlığı çok sayıda araştırmacı tarafından gerek akut gerekse persiste enfekte hayvanlarda gösterilmiştir (172–176).

Seropozitiflik oranları coğrafi bölgelere ve sürüdeki hayvan sayısına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Kore’de %58 (177), Meksika’da %14 (178), İspanya’da %21 (179), ve Hırvatistan’da %79.2 (180) oranları bildirilmiştir.

BVDV’nin varlığı Türkiye’de ilk kez 1964’te (181) bildirilmiş, daha sonra yapılan çalışmalarda sürü ve bölgelere göre farklılık göstermekle birlikte genel olarak oldukça yüksek oranlarda seyrettiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda %31.7 (182) ile %96.8 (10) arasında değişen seroprevalans değerleri belirlenmiştir. Burgu ve ark., (1999) (183) 3360 sığırdan alınan örneklerin %64.2’sinde antikor, %0.25’inde ise antijen pozitiflik bildirmişlerdir. BVD antijeni başka araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir (184, 185). Pestivirus enfeksiyonu reproduktif, solunum, gastrointestinal ve immun sistemi etkileyen bir enfeksiyon olup subklinikten fatal enfeksiyona varan tabloyla seyretmektedir (35,38,46). Hastalığın prognozunu belirleyen temel faktörler konakçının genel sağlık durumu, hangi reproduktif evrede olduğu, virusun suşu ve sekonder enfeksiyon varlığıdır (27,30,35). Bu çalışmada kullanılan ineklerin tamamı klinik olarak sağlıklı olup, örnekleme zamanında her hangi bir hastalık semptomu gözlenmedi.

Bu çalışmada Afyonkarahisar ilinde organize sürüler ile aile tipi küçük işletmelerde BVDV ve BHV1 enfeksiyonlarının sirkulasyon oranını belirlemek hedeflendi, bunun için doğumdan hemen sonra ineklerden ve kolostrum almadan



önce buzağularından alınan örnekler incelenerek doğal enfeksiyon sonucu gelişen antikor varlığı ve oranı belirlendi. Örneklerin büyük çoğunluğu 3 organize sürüden elde edildi.

Bir numaralı organize sürüde farklı yaşlarda toplam 108 sığır bulunmakta ve bunların büyük bölümü yetişkin sağmal ineklerden oluşmaktadır. Sürünün ayrıntılı verim kayıtları olmadığından mastitis, infertilite, abort ve diğer sürü problemlerinin hangi oranlarda seyrettiğine, normal sınırın üstünde olup olmadığına dair kesin verilere ulaşılamadı ancak mastitis olguları ile tohumlama sayısında fazlalık olduğu sürü sahibi tarafından bildirildi. Bu sürüde doğum yapan inekler ile prekolostrol döneminde yavrularından kan örnekleri alındı, 9 ineğin 7'sinde (%77.7) BVDV ve 6'sında (%66.6) IBR antikor varlığı belirlendi. Bu hayvanların yavrularının hiç birinde her iki enfeksiyona karşı seropozitiflik varlığı saptanmadı. İki numaralı sürüde ise toplam 145 sığır yetiştirilmekte olup sürü kayıtları bulunmamaktaydı. Alınan anamnez bilgisine göre son iki yıl içinde 3 abort vakası ve servis periyodunda uzama olduğu öğrenildi. Bu sürüde örneklenen 30 ineğin tamamı ile yavrularının 3'ünün (%10) ise BVDV antikor pozitif olduğu belirlendi. Bu çalışmada kullanılan tüm buzağular doğumdan hemen sonra kolostrum almadan önce örneklendiği için, test verilerine dayanarak sürüde BVDV'un sirkulasyonda olduğunu ve PI birey veya bireylerin olabileceğini söylemek mümkündür. Sürüdeki tüm hayvanlar antijen ve antikor kontrolünden geçirilmemiş olduğu için persiste hayvanları belirlemek mümkün olmamıştır. IBRV için spesifik antikorlar yalnızca ineklerde saptanmış, 22 hayvanda (%73.3) antikor varlığı belirlendi.

Bu araştırmada kullanılan örneklerin büyük çoğunluğu tablo 1 ve 2'de 3 sıra numarasıyla gösterilen çiftliktir. Sütçü bir işletme olan bu çiftlikte örnekleme zamanında 1580 hayvan bulunmakta olup, bunlardan 1.116'sı farklı yaşlardaki inek ve buzağular, geri kalan 464 tanesi ise kesime gönderilinceye kadar besiyeye alınmış olan erkek hayvanlardır. Besi hayvanları çiftliğin farklı bir bölgesinde ayrı bir ahırda beslenmekte olup, intensif yetiştirme yapıldığı ve tohumlamada kullanılmadıkları için sütçü ineklerle her hangi bir temasları bulunmamaktadır. Örneklemenin yapıldığı ahırda çoğunluğu laktasyondaki ineklerden oluşan 1.116 hayvan bulunmaktaydı. Çiftlik oluşturulurken hayvanların sadece belli zootekni

krtitelerine dikkat edilerek toplandığı ve enfeksiyon durumları incelenmeden yetiştirmeye alındıkları belirtildi. Sürüde daha önce birkaç defa içinde BHV1 ve BVDV'un da bulunduğu karma aşılar kullanıldığı bildirilmiş ancak son iki yıl içinde bu enfeksiyonlar için her hangi bir aşı uygulaması yapılmamıştı. Düzenli kayıt sistemi uygulanan bu organize sürüde, zaman zaman yeni doğanlarda ishal ve pnömoni, infertilite de ve servis periyodunda uzama gibi problemler olduğu bildirildi. Bu sürüden elde edilen 116 inek ve yavrusuna ait örnekler yaklaşık olarak 5 aylık bir süre içinde toplandı.

Örnekler alınmaya başlamadan 4 ay önce sürüdeki besi hayvanları hariç tüm inekler ve buzağılar BVDV yönünden antijen ve antikor taramasına alındı, %82.2 oranında (198/ 918) antikor ile 5 hayvanda ncp virus varlığı belirlendi. Test sonuçlarının alınımı takiben antijen pozitif hayvanların tümü ayrı bir ünite de 3 hafta kadar tutulduktan sonra tekrar antijen taramasına alındı ve yine tümünde antijen varlığı tespit edildi, bu hayvanların persiste enfekte oldukları belirlendi ve hemen kesime gönderildi.

Aynı sürüde Virus Nötralizasyon Test (VNT) kullanılarak kontrol edilen 116 ineğin 114'ünde (%98.2) BVDV antikor varlığı saptandı ve bu ineklere ait 17 buzağının da anikor taşıdığı belirlendi. Sürüye ait yukarıda verilen bilgiler ışığında, virus sirkulasyona bağlı olarak gebe ineklerin enfeksiyona maruz kaldığı ve örneklenen ineklerin 17'sinde enfeksiyonun, yavrunun immunkompetens kazanımının son dönemlerinde veya kazanımlarından doğuma kadar geçen süre içinde meydana geldiğini söylemek mümkündür.

Bu çalışmada sadece tek bir sürüde (3 nolu) aşılama yapıldığı bildirildi, BVDV'de aşıların koruyuculuk süresinin yaklaşık olarak 1 yıl olduğu ve aşılamanın 2 yıl kadar önce yapıldığı için, elde edilen antikor titre değerlerinin de çok düşük olmadığı da göz önüne alınarak belirlenen antikorların doğal enfeksiyona bağlı olduğu düşünölmektedir. Sürü 3'te daha önce BVDV eradiasyonu amacıyla yapılmış olan taramada sürüde 5 adet PI hayvan olması sürüde virusun sirkulasyonda olduğunu doğrulamaktadır. Üç numaralı sürüde 5 aylık süre içinde doğum yapan 116 hayvanın doğan yavruların, antikor pozitif olduğu belirlenenler dışında kalan 99'unda bazılarının viral persistens taşıması

olasılığı bulunmaktadır. İneklerde belirlenen yüksek enfeksiyon oranları nedeniyle aynı olasılık bu çalışmada kullanılan tüm buzağular için geçerlidir. Ancak aşılanmış veya doğal BVDV enfeksiyonu geçiren seropozitif ineklerde fötuslar nadiren enfekte oldukları bildirilmiştir (30). Her ne kadar bu çalışmada elde edilen verilere dayanarak enfeksiyon zamanı hakkında yaklaşık tahmin yapmak mümkün olsada, gebelik öncesi enfeksiyonu geçirmiş olan ineklerde gebelik sırasında enfekte olsalar bile yavrularının enfekte olmasının engellenmiş olması önemli bir olasılık olarak görülmektedir. Elde edilen veriler ışığında BVDV enfeksiyonunun meydana geldiği zaman yönünden iki numaralı sürü için yorum yapmak güç olsa da, üç numaralı sürüde örnekleme başladığında sürüde PI hayvan varlığının bilinmesi, bu hayvanlar sürüden eradike edildikten sonra diğer hayvanlarda virus sirkülasyonunun devam etmiş olabileceği güçlü bir olasılık olarak görülmektedir. Yavruları seropozitif olarak belirlenen ineklerin gebeliğin yaklaşık olarak son iki trimesterinde ilk kez enfekte olmaları mümkündür. Bu ineklerin sürü ortalamasının üstünde antikor titresine sahip olmaları da bu kanıyı desteklemektedir. Ancak doğal enfekte veya aşıli hayvanlardaki antikor titrelerinin uzun süre yüksek titrede kalmaması nedeniyle örneklenen ineklerin re-enfekte olmaları ve antikor pozitif ineklerde de re-enfeksiyon ve transplasental virus taşınmasında düşükte olsa olasıdır. BVDV eradikasyonunda hedef tüm sürünün hem antikor hem de antijen açısından taranması ve persiste enfektelerin sürüden elimine edilmesi esasına dayanmaktadır ancak çalışma sırasında sürüdeki gebe ineklerin persiste enfekte yavru doğurabileceğinin unutulmaması ve yenidoğanların mutlaka test edilmesi gerekmektedir (186–188).

Sığırlarda immun sistem gelişimi ile ilgili yapılan çalışmalarda (43) fetusun immun sisteminin gebeliğin 90 ile 120. günleri arasında geliştiği belirlenmiştir. Transplasental enfeksiyon sonucu nötralizan antikor oluşumu en erken gebeliğin 79. günü şekillendiği Scott ve arkadaşları (1973) tarafından bildirilmiştir (189). Yapılan başka bir deneysel bir çalışmada (41), inekler gebeliğin 40–235. aralığında BVDV ile enfekte edilmiş, prekoloztral dönemde seropozitif oldukları belirlenen buzağularda, en erken antikor oluşum zamanının gebeliğin 93. gününde olduğu saptanmıştır. Sığırlarda syndesmochorial plasenta yapısından antikorların

geçışı mümkün olmadığı için bu çalışmada pozitif oldukları belirlenen buzağuların gebeliğin en erken 79. gününden sonra enfekte oldukları açıktır.

Bu çalışmada BVDV seropozitif oldukları belirlenen ineklerin antikor titre dağılımları incelendiğinde, pik değeri 1/40 noktasında olduğu ve düzenli bir azalma gösterdiği belirlenmiş iken (Grafik 1), yavruları pozitif olan ineklerin titrelerinin 1/80 seviyesinde pik yaptığı gözlemlendi (Grafik 3). Her ne kadar bu ineklerin daha önce enfeksiyonu geçirip geçirmediği bilinmiyor ise de, elde edilen veriler ışığında en erken 79. gün ve sonrasında annelerin enfeksiyona ilk kez maruz kaldıkları veya re-enfekte olduklarını söylemek mümkündür. Ayrıca buzağısı seropozitif olan 22 ineğin PI bireyler olmadığı açıktır. Çünkü PI hayvanların yavrularıda PI olacak ve böyle yavrular antijen pozitif ve antikor negatif olarak doğacaklardır.

Sürüde virus sirkülasyonunun tespiti amacıyla prekoloztral dönemdeki buzağuların incelenmesi yaygın bir uygulamadır, bu amaçla yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır (42, 190, 191).

Deneyisel bir araştırmada gebeliğin 190 ile 265. günleri arasındaki seronegatif inekleri BVDV için canlı aşı ile aşılanmış, 36 prekoloztral buzağının 34 tanesinde 1/80 ile 1/216 arasında değişen titrelerde antikor belirlenmiştir (191). Araştırmacılar seropozitif olarak belirledikleri 48 gebe ineğe canlı aşı uygulamışlar, 4 buzağıda 1/20 ile 1/80 aralığındaki titrede prekoloztral antikor belirlemişlerdir.

Benzer bir çalışmada (192) 62 adet gebe inekten doğumdan önce ve doğum sırasında hem inek hem de prekoloztral dönemde buzağılardan ve doğumdan sonra ortalama 3 ay içinde buzağılardan kan örnekleri alınmış, hiçbir örneklemede antijen pozitif hayvana rastlanmamış olmasına rağmen, gebe ineklerin tümü birinci ve ikinci örneklemede pozitif bulunmuş, prekoloztral buzağılardan 7 adedinin seropozitif olarak tespit edildiğini, bu yavruların antikor titrelerinin ise 1/20 ile 1/120 aralığında olduğu bildirilmiştir. Orban ve ark. (1983) (191) prekoloztral yavruların titrelerinin 1/20 ile 1/180 aralığında bulduklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise buzağılarda BVDV için 1/10 ile 1/80 titre aralığında antikor varlığı bulunduğu belirlendi (Grafik 2), Orban ve arkadaşları

(1983) (191) ile Yapkiç'in (1999) (192) bildirdikleri verilere yakın ancak biraz daha düşük oldukları saptanmıştır.

Bu çalışmalar da göstermektedir ki, duyarlı gebe sığırların fötusunun immünkompetens kazanmaya başladıktan sonra BVDV ile enfekte olmaları durumunda, buzağuları çok yüksek oranda seropozitif olarak doğmakta ancak antikor taşıyan ineklerin çok azında transplasental enfeksiyon gelişmektedir.

Sürü taramalarında yüksek antikor titreleri belirlenmesine rağmen antijen pozitif hayvan bulunmayabilir, böyle bir durumun muhtemel açıklaması taşıyıcı hayvanların daha önce sürüden çıkarılmış olması veya daha önce ölmesi olabilir. Sürü 1 ve 2'de daha önce BVDV eradikasyonu ile ilgili herhangi bir eradikasyon çalışması veya laboratuvar incelemesi yapıldı. Tüm organize sürülerdeki hayvanlar ırk ve besi durumlarına bakılarak alınmış hayvanlar olup sürü 1 ve 2'de son 3, sürü 3'te son 2 yıl içinde BVDV'ye karşı hiçbirisi aşılanmamıştır. Dolayısıyla elde edilen antikor oranlarının doğal enfeksiyona bağlı olacağı sonucuna varıldı.

BHV1 enfeksiyonu BVDV gibi dünyanın birçok ülkesinde yaygın olduğu bildirilen latent bir enfeksiyonu olup, birçok organ sistemini etkilemesi yanında immüdepresyona da yol açar (105, 124, 128). Diğer Herpesviral enfeksiyonlar gibi İmmünojenik olarak zayıf bir virustur. Enfekte hayvanlarda virus bölgesel ganglionlarda proviral DNA olarak latent kaldığı için, teşhiste serolojik incelemeler uygun görülmektedir.

BHV1 için eradikasyon uygulamış veya uygulamakta olan ülkeler bulunmakla birlikte, halen dünyanın birçok ülkesinde yaygınlığı devam etmektedir. Enfeksiyonun prevalansının belirlenmesine yönelik yapılmış olan çok sayıda araştırma bulunmaktadır (112, 136, 141, 194–197). BHV1 Türkiye'de ilk kez Burgu ve Akça, (1987) (198) tarafından izole edilmiş, spesifik antikorlar ilk olarak 1971 yılında Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Viroloji laboratuvarında tespit edilmiştir (199). Daha sonra birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalarda enfeksiyonun gittikçe daha çok yaygınlaştığını ortaya koymuştur. Alkan ve ark., 1997'de (100) %59, Çabalar ve Akça 1994'te (200) %68, Bilge 1998'de (101) %74 seropozitiflik bildirmişlerdir. Yürütülen bu

araştırmada ise 6rneklemenin yapıldığı bireylerde 2 yıl kadar 6nce 3 nolu s6r6yeye aşılama yapılmış, diğer s6r6lerde aşılamanın yapılmadığı bildirildi, bu nedenlerle elde verilerin doğal enfeksiyona bağlı olduğu d6ř6n6lmektedir.

Bu araştırmada organize işletmelerden elde edilen inek serumlarında sırasıyla s6r6 1, 3 ve 2'de %66.6, %70.6 ve %73.3 oranların BHV1 antik6rları tespit edildi, en d6ř6k oran %42.8 ile aile işletmelerinde belirlendi. Çalışılan ineklerde saptanan seropozitiflik oranının (%69.7) T6rkiye'de sığırlarda daha 6nce bildirilen oranlara benzer olduğu g6r6lmektedir (8–10, 182). BHV1 pozitif sığırlardaki antik6r titreleri incelendiğinde çok az hayvanın 1/1 ve 1/64 titrelerine sahip olduğu, b6y6k çoğunluğunun ise 1/2 ile 1/32 aralığında dağıldığı g6r6ld6. Sadece 3 nolu s6r6deki bir buzağıda 1/32 titresinde prekol6stral antik6rlara rastlandı, annesinin ise 1/64 titrede antik6r taşıdığı belirlendi.

Elde edilen verilere dayanarak yavrusu seropozitif olan ineğin gebeliğin yaklaşık olarak son 5 aylık d6nemi içinde enfeksiyona yakalandığını veya daha 6nceki bir d6nemde aldığı virusun aynı d6nemde reaktif olduğunu s6ylemek m6mk6nd6r. BHV1 ile yapılan deneysel alışamalarda aşılanan imm6n ineklerde şekillenen antik6rların hem inekleri hem de gebe ineklerde yavruları in-utero enfeksiyondan koruduğu bildirilmiş, ancak duyarlı gebe ineklerin akut enfeksiyonu durumunda yavruların enfekte olduğu ve yaklaşık 10 ineğin 4'6n6n abortunun s6z konusu olduğu bildirilmiştir (201). Gebelik d6nemindeki enfeksiyonlarda t6m hayvanlarda abort olmadığı için enfekte yavruların da f6tal yaşamda enfeksiyonu atlatabilmesi s6z konusudur.

BVDV için prekol6stral d6nemde çalışılan birçok bildirim olmasına rağmen, BHV1 için fazla çalışma bulunmamaktadır. Bosch ve ark. (202), prekol6stral buzağıları ve annelerini serolojik olarak araştırmış, bir çok yavru da d6ř6k titrede pozitiflik tespit etmiş, olası nedenin doğum kanalında yavrunun anneden kan veya mukozal sıvıları emmesi azda olsa anneden antik6r geçişi olabileceğini ve ayrıca buzağılar ve annelerindeki antik6r varlığı arasında bu çalışmada olduğu gibi korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Bu alışamada pozitif olduğu tespit edilen yavrunun antik6r titresinin d6ř6k olmaması (1/32) nedeni ile pozitifliğin doğal enfeksiyona bağlı olabileceği sonucuna varıldı.

Çok sayıda hayvanın intensif yetiştirilmesi bulaşmanın kolaylaşması nedeniyle özellikle viral enfeksiyonlarda insidensin hızla artmasına neden olur (203, 204). Bu araştırmada elde edilen veriler ışığında az sayıda hayvanın yetiştirildiği aile tipi işletmelerde belirlenen enfeksiyon oranlarının aynı nedenle organize işletmelerden daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum yetiştirilen hayvan sayısının azlığına bağlı olarak bulaşma olasılığının daha düşük olabileceği şeklinde açıklanır.

Sonuç olarak bu çalışmada, doğumdan hemen sonra 162 inek ve kolostrum almadan önce buzağlarından serum örnekleri elde edildi ve örnekler BVDV ve BHV1 yönünden serolojik incelemeye tabi tutuldu. İneklerde %95.6 oranında BVDV ve %69.7 oranında BHV1 spesifik antikor varlığı ile 22 buzağının (%13.5) BVDV için ve bir adet buzağının ise (%0.6) BHV1 için seropozitif olduğu tespit edildi. Anneler ve yavrularında çalışılan enfeksiyonlar için korelasyon olduğu görüldü, pozitif yavruların annelerinin tamamının da doğal olarak seropozitif olduğu saptandı.

IBRV ve BVDV enfeksiyonları gerek direkt olarak meydana getirdikleri klinik bozukluklar ve gerekse daha büyük önem taşıyan indirekt etkileri nedeni ile özellikle sütçü sığır yetiştiriciliğinin en ciddi sorun yaratan enfeksiyonları arasındadırlar. Persiste ve latent karakterleri nedenleriyle yetişkinlerde genellikle semptomsuz seyretmekte, bu durum klinik teşhisi büyük ölçüde güçleştirmektedir. Aşılama uygulanan sürülerde bile doğal enfeksiyon durumunun net olarak bilinmesi güç olabilmektedir. Bu noktada sürüde virus sirkulasyonunun belirlenmesinin en kolay yöntemlerinden biri yeni doğanların prekolostrol olarak incelenmesidir. Bu araştırmada çalışılan latent ve persistens karakterli enfeksiyonlar gibi hastalıklar için sürü eradikasyonu uygulamalarında gebe hayvanlar ve yeni doğanlarında mutlaka incelenmesi gerekmektedir.

## SONUÇ

Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) ve Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus (IBRV) enfeksiyonları dünyanın bir çok ülkesinde olduğu gibi Türkiye’de de sığırlarda oldukça yüksek yaygınlığa sahip enfeksiyon hastalıklarıdır. Her iki enfeksiyon da latent-persistens karakterleri ile direkt ve indirekt sağlık problemleri yaratarak özellikle sütçü işletmelerde önemli boyutlara varan ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Bu araştırmada Afyonkarahisar ilinde 3 organize çiftlik ile aile tipi işletmelerden doğum sonrasında BVDV ve BHV1 için aşısız olan inekler ile prekoloztral dönemde buzağlarından kan örnekleri alındı, Virus Nötralizasyon Test kullanılarak yapılan serolojik kontrollerinde, 162 ineğin 155’inde (%95.6) ve 22 buzağında (%13.5) BVDV spesifik antikor varlığı tespit edildi. BHV1 için yapılan testlerde ise ineklerde %69.7 oranında BHV1 spesifik antikor varlığı belirlendi fakat sadece bir buzağında seropozitiflik görüldü.

Sonuç olarak tespit edilen antikorların doğal enfeksiyona bağlı olduğu, ilde her iki enfeksiyonun da yüksek oranlarda seyrettiği, virus sirkulasyonuna bağlı olarak, yavruda immunkompetensin gelişmesinden sonra gebeliğin son 6 ayında annelerin enfeksiyonu sonucu yavruların da enfekte oldukları ve enfeksiyonu geçirip antikor yanıt geliştirdikleri belirlendi.



## 5. KAYNAKLAR

- 1-OLAFSON, P. MACCALLUM, A. D., FOX, F. H. (1946). An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Vet* **36**, 205–213
- 2-RAMSEY, F.K., CHIVERS, W. H., (1953). Mucosal Disease of Cattle. *North Am Vet* **34**, 629–633
- 3-GILLESPIE, J. H. COGGINS, J. THOMPSON, N., BAKER, J. A., (1961). Comparison by neutralization of strains of virus isolated from virus diarrhea and mucosal disease. *Cornell Vet* **51**, 155–159
- 4-UNDERDAHL NR, GRACE OD, HOERLEIN AB. (1957). Cultivation in tissue culture of cytopathogenic agent from bovine mucosal disease. *Proc Soc Biol Med* **94**, 795.
- 5-CHIOCCO, D., CAVALIERE, N., (1990). Bovine viral diarrhoea/mucosal disease: epidemiological surveys on farms in the Puglia and Basilicata region. *Acta Med Vet* **36**, 437–440
- 6-AKHTAR, S., ASIF, M., (1996). Epidemiologic association between antibody titres against Bovine Virus Diarrhoea Virus, Rinderpest Disease Virus and Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus in a Buffalo Herd. *Trop Anim Hlth Prod* **28**, 207–212.
- 7-GUARINO, A., FUSCO, G., SERPE, L., GALLO, P., ROMANO, M., (1999). Application of indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to the detection of antibody response to BHV-1 and BVD in buffaloes in Italy. *Buffalo Journal*, 15(3): 345–351
- 8-BURGU, I., ÖZKUL, A., (1993). Detection by cultural isolation of bovine viral diarrhoea virus following field infections in cattle and their fetuses in Turkey. *DTW 100*, 361–363
- 9-KARAOĞLU, T., (1998). Sahadan izole edilen BVDV izolatlarının immunplak test ile Biyotipik tayini. *A Ü Vet Fak Derg* **45**, 323–332
- 10-ÇABALAR, M., KARAOĞLU, T., (1999). Sığırlarda BVD Virus enfeksiyonuna karşı antikor varlığının araştırılmasında Nötralizasyon İmmunperoksidaz (NPLA) ve Serum Nötralizasyon (SN) testlerinin karşılaştırılması. *A Ü Vet Fak Derg* **46**, 249–255

- 11-GÜR, S., (2003). BVD seropozitif mandalarda IBR/IPV ve sığır vebasının seroepidemiolojisi. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- 12-BAKER, J. A., YORK, C. J., GILLESPIE, J. H., MITCHEL, G.B., (1954). Virus diarrhea in cattle. *Am J Vet Res* **15**, 525–531
- 13-HERMODSSON, S., DINTER, Z., (1962). Properties for bovine virus diarrhoea virus. *Nature* **194**, 893–894
- 14-DINTER, Z., (1963) Relationship between bovine virus diarrhoea virus and hog cholera virus. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg Abt I Orig* **188**, 475–486
- 15-COLLETT, M. S., LARSON, R., BELZER, S. K., RETZEL, E., (1988). Proteins encoded by bovine viral diarrhea virus: the genomic organisation of a Pestivirus. *Virology* **165**, 200–208
- 16-HORZINEK, M. C., (1990). Bovine virus diarrhoea virus: an introduction. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* **1**, 13–23
- 17-HAFEZ, S. M., LIESS, B., (1972). Studies on mucosal disease virus. Stability and some physico-chemical properties. *Acta Virol* **16**, 399–408
- 18-AKKINA, R. K., (1982). Analysis of immunogenic determinants of bovine viral diarrhea virus. PhD. Thesis, University of Minnesota, p109
- 19-DONIS, R. O., RUBOVI, E. J. (1987). Differences in virus-induced polypeptides in cells infected by cytopathic and noncytopathic biotypes of bovine virus diarrhea-mucosal disease virus. *Virology* **158**, 168–173
- 20-HOWARD, C. J., BROWNLIE, J., CLARKE, M. C., (1987). Comparison by the neutralisation assay of pairs of non-cytopathogenic and cytopathogenic strains of bovine virus diarrhoea virus isolated from cases of mucosal disease. *Vet Microbiol* **13**, 361–369
- 21-CORAPI, W. V., DONIS, R. O., DUBOVI, E. J., (1988). Monoclonal antibody analyses of cytopathic and noncytopathic viruses from fatal bovine virus diarrhea virus infections. *J. Virol.* **62**, 2823–2827
- 22-BROWNLIE, J., CLARKE, M. C., HOWARD, C. J., POCOCK, D. H., (1987). Pathogenesis and Epidemiology of Bovine Virus Diarrhoea Virus Infection of Cattle. *Ann. Rech. Vet.* **18**, 157–166

- 23-NETTLETON, P.F., ENTRICAN, G., (1995). Ruminant pestiviruses. *Br Vet J*, **151**,615–642.
- 24-CARMAN S, VAN DREUMEL T, RIDPATH J, HAZLETT M, ALVES D, DUBOVI E, TREMBLAY R, BOLIN S, GODKIN A, ANDERSON N (1998). Severe acute bovine viral diarrhoea in Ontario, 1993–1995. *J Vet Diagn Invest*, **10**, 27–35.
- 25-LIEBLER-TENORÍO, E.M., RIDPATH, J.E., NEILL, J.D., (2002). Distribution of viral antigen and development of lesions after experimental infection with highly virulent bovine viral diarrhoea virus type 2 in calves. *Am J Vet Res*, **63**,1575–1584.
- 27-MALMQUIST, M. A., (1968). Bovine virus diarrhoea mucosal disease: Etiology, pathogenesis and applied immunology. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **152**, 763–768
- 28-ROEDER, P. L., DREW, T. W., (1984). Mucosal Disease of cattle: A late sequel to fetal infection. *Vet. Rec.* **114**,99–313
- 29-LOHR, C. H., EVERMANN, J. F., WARD, A. C., (1983). Investigation of dams and their offspring inoculated with a vaccine contaminated by bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Med. Small. Anim. Clin*, **78**,263–1266
- 30-BROWNLIE, J., (1991). The pathways for bovine virus biotypes in the pathogenesis of disease. *Arch. Virol.* **3**,9–96
- 31- BIELEFELDT OHMANN, H., (1983). Pathogenesis of Bovine virus diarrhoea mucosal disease: distribution and significance of BVDV Antigen in diseased calves. *Res. Vet. Sci.* **34**,5–10
- 32-HARKNESS, J. W., SANDS, J. J., RICHARDS, M. S., (1978). Serological studies of mucosal disease virus in England and Wales. *Res. Vet. Sci.* **24**,8–103
- 33-MILLS, J. H. L., LUGINBUHL, R. E., (1968). Distribution and persistence of Mucosal Disease virus in experimentally exposed calves. *Am. J. Vet. Res.* **29**,1367–1375

- 34-ROHDE, G., LIESS, B., (1970). Untersuchungen zur Pathogenese der Virusdiarhoe Mucosal-Disease des Rindes unter Verwendung einer heterotypischen Immunfluoreszenztechnik. *Zentralbl. Vet Med. B.* **7**, 686–700
- 35-BROWNLIE, J., (1990). The pathogenesis of bovine virus diarrhoea virus infections. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **9**, 43–59
- 36-STRAVER, P.J., JOURNEE, D.L.H., BINKHORST, G.J., (1983). Neurological disorders, virus persistence and hypomyelination in calves due to intrauterine infections with bovine virus diarrhoea virus. *II. Virol. And Epizoo. Vet. Q.* **5**, 156–164
- 37-LIESS, B. (1985). Significance of immune tolerance for the pathogenesis of bovine virus diarrhea. *Berln. Munch. Tierarztl. Woch.* **98**, 420–423
- 38-BAKER, J. C. (1987): Bovine viral diarrhea virus: a review. *JAVMA* **190**, 1449–1458.
- 39-MOENNING, V. (1990). Pestiviruses: a review. *Vet. Microbiol.* **23**, 35–54
- 40-GRAHN, T. C., FAHNING, M. L., ZEMJANIS, R., (1984). Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhea virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **185**, 429–432.
- 41-KENDRICK, J. W., (1971). Bovine virus diarrhea-mucosal disease virus infection in pregnant cows. *Am. J. Vet. Res.* **32**, 533–544
- 42-BROWN, T. T, SCHULTZ, A. D., DUNCAN, J. R., BISTNER, S. I., (1979). Serological response of the bovine fetus to BVD virus. *Infect. Immun.* **25**, 93–97
- 43-SCHULT, R.D., (1973). Developmental aspects of the fetal bovine immune response: a review. *Cornell Vet.* **63**, 507–535
- 44- DUFFEL S.J. AND HARKNESS J.W. (1985). Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. *Veterinary Record* *117*, pp. 240–245.
- 45-McCLURKIN, A. W., LITLEDIKE, E. T., CUTLIP, R. C., FRAK, G. H., CORIA, M. F., BOLIN, S. R., (1984). Production of cattle immuntolerant to bovine viral diarrhea virus. *Can. J. Comp. Med.* **48**, 156–161

- 46-RADOSTITS, O.M., LITTLEJOHNS, I. R., (1988). New concepts in the Pathogenesis, Diagnosis and Control of Diseases Caused by the Bovine Viral Diarrhea Virus. *Can. Vet. J.* **29**, 513–528
- 47-REUTER, R., BOWDEN, M., ELLIS, T., CARMAN, H., (1991). Abortion, stillbirth and illthrift in cattle associated with mucosal disease virus. *Aust. Vet. J.* **64**, 3
- 48-STECK, F., LAZARY, S., FEY, H., WANDELER, A., HUGGLER, C. H. R., OPPLIGER, G., BAUMBERGER, H., KADERLI, R., MARTIG, J., (1980). Immune responsiveness in cattle fatally affected by bovine viral diarrhea-mucosal disease. *Zentralbl. Vet. Med.[B]*. **27**, 429–445
- 49-BOLIN, S. R., McCLURKIN, A. W., CUTLIP, R. C., CORIA, M. F., (1985). Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhea virus by superinfection with cytopathic bovine viral diarrhea virus. *Am. J. Vet. Res.* **46**, 573–576
- 50-McCLURKIN, A. W., BOLIN, S. R., CORIA, M. F., (1985). Isolation of cytopathic and noncytopathic bovine viral diarrhea virus the spleen of cattle acutely and chronically affected with bovine viral diarrhea. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **186**, 568–569
- 51-BAKER, J.C., (1990). Clinical aspects of bovine virus diarrhoea virus infection. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **9**, 25–41
- 52-CORIA, M. F., McCLURKIN, A. W. (1978). Specific Immuntolerance in an apparently healthy bull persistently infectec with bovine viral diarrhea virus. *Am. J. Vet. Med. Assoc.* **172**, 449–451
- 53-OLAFSON, P. And RICKARD, C.G., (1947). Further observations on the virus diarrhea (new transmissible disease) of cattle. *Cornell Vet.* **37**, 104–106
- 54-CASARO, A.P.E., KENDRICK, J.W. AND KENNEDY, P.C., (1971). Response of the bovine fetus to bovine viral diarrhea-mucosal disease virus. *Am. J. Vet. Res.* **32**, 1543–1562.
- 55-BROWNLIE J. , HOOPER L. B. , THOMPSON I. AND COLLINS M. E. (1998). Maternal recognition of foetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV)—the bovine pestivirus Department of Pathology and Infectious Diseases. *UK Clinical and Diagnostic Virol. Vol. 10*, **2–3**, 141–150

- 56-WEISS, M., HERTIG, C., STRASSER, M., VOGT, H.R., PETERHANS, E. (1994). Bovine virus diarrhea/mucosal disease: a review [Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal Disease: eine Übersicht.] *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* **136** (5), 173–185
- 57-VAN OIRSCHOT J.T., (1983). Congenital infections with nonarbo togaviruses. *Vet Microbiol.* **8**(4), 321–61
- 58-MOENNIG V, FREY H-R, LIEBLER E, POHLENZ J, LIESS B (1990). Reproduction of mucosal disease with cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus selected in vitro. *Vet Rec* **127**, 200–203
- 59-NAKAJIMA N, FUKUYAMA S, HIRAHARA T, ET AL.(1993). Induction of mucosal disease in cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhea-mucosal disease virus by superinfection with cytopathic bovine viral diarrhea-mucosal disease virus. *J Vet Med Sci.* **55**, 67–72
- 60-REGGIARDO, C., KAEBERLE, M. L., (1981). Detection of bacteremia in cattle inoculated with bovine viral diarrhea virus. *Am. J. Vet. Res.* **42**, 218-221
- 61-POTGIETER, L. N. D., McCracken, M. D., HOPKINS, F. M., WALKER, R. D., (1984). Effect of bovine viral diarrhea virus infection on the distribution of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves. *Am. J. Vet. Res.* **45**, 687–690
- 62-STRAUB, O. C., (1990). Infectious bovine rhinotracheitis virus. In: Z. Dinter and B. Morein (Editor), *Virus Infections of Ruminants. Elsevier Science Publishers B. V. New York*, pp. 71–108.
- 63-HARKNESS, J. W., VAN DER LUGT, J. J., (1994). Bovine viral diarrhoea and mucosal disease. In: *Infectious Disease of Livestock*, Ed. J.A.W. Coetzer, G. R. Thompson, R. C. Tustin, Oxford *Oxford Un. Press*, p.642–650
- 64-HOWARD T.H., BEAN B., HILLMAN R., MONKE D.R. (1990). Surveillance for persistent bovine viral diarrhea virus infection in four artificial insemination centers. *J Am Vet Med. Assoc* **196**, 1951–1955.
- 65-MOERMANN A., STRAVER P.J., DE JONG M.C.M., QUAK J., BAANVINGER T., OIRSCHOT J.T. (1993). A long term epidemiological study of bovine viral diarrhoea infections in a large herd of dairy cattle. *Vet Rec* **132**, 622–626.

- 66-SANDVIK, T., (1999). Laboratory diagnostic investigation for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Vet. Microbiol.* **64**,123–134
- 67-KATZ, J. B., LUDEMANN, L., PEMBERTON, J., SCHMER, M. J., (1987). Detection of bovine viral diarrhoea virus in cell culture using an immunoperoxidase technique. *Vet. Microbiol.* **13**,153–157
- 68-DUTIA, B. M., ENTRICAN, G., NETTLETON, P. F., (1990). Cytopathic and non-cytopathic biotypes of border disease virus induce poly-peptides of different molecular weight with common antigenic determinants. *J. Gen. Virol.* **71**,1227–1232
- 69-FENTON, A., ENTRICAN, G., HERRING, J. A., NETTLETON, P. F., (1990). An ELISA for detecting pestivirus antigen in the blood of sheep persistently infected with border disease virus. *J. Virol. Methods.* **27**,253–260
- 70-FENTON, A., NETTLETON, P. F., ENTRICAN, G., (1991). Identification of cattle infected with bovine virus diarrhoea virus using a monoclonal antibody capture ELISA. *Arch. Virol. (Suppl 3)*,169–174
- 71-GOTTSCHALK, E. E., GREISER-WILKE, I., FREY, H. R., (1992). An antigen capture test for the detection of cattle viremic with bovine viral diarrhoea virus-a comparison with BVD virus isolation from buffy coat cells in bovine kidney cells. *J. Vet. Med. B.* **39**,467–472
- 72-HERTIG, C., AULI, U., ZANONI, R., PETERHANS, E., (1991). Detection of bovine viral diarrhoea (BVD) virus using the polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.* **26**,65–76
- 73-FREY, H.R., LIES, B., (1971) Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit eines stark zytopatogenen VD-MD Virus stammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotitermethode. *Zentbl. Vet. Med.* **18**,61–71
- 74-HOLM JENSEN, M., (1981). Detection of antibodies against hog cholera virus and bovine viral diarrhoea virus in porcine serum. A comparative examination using CF, PLA and NPLA assays. *Acta. Vet. Scand.* **22**,85-98.
- 75-HYERA, J. M. K., LIESS, B., FREY, H. R. (1987). A direct neutralizing peroxidase-linked antibody assay for detection and titration of antibodies to bovine viral diarrhoea virus. *J. Vet. Med. B.* **34**,227–239

- 76-CORIA, M. F., McCLURKIN, A. W. AND BOLIN, S.R.,(1983). Total protein and immunoglobulins G1, G2, and M in serum of calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.* **44**, 1938–1939.
- 77-COULIBALY, C.O., LIESS, B., TRAUTWEIN, G., SCHLEUTER, G. (1986). Quantitative analysis of immunoglobulins G1 and G2 in blood samples of cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. *Zentbl. fur Vet. Med. Reihe B. J. of Vet. Med. Series B* **33 (9)**, pp. 685–696
- 78-HOWARD, C. J., CLARKE, M. C., BROWNLIE, J., SOPP, P., (1989). Effect of in vivo depletion of BoT4+ and BoT8+ lymphocytes with monoclonal antibodies on infection with bovine virus diarrhoea virus in calves. *Immunobiology Supp.* **4**,154
- 79-ATLURN, D., NOTOWIDJOJA, W., JOHNSON, D. W., MUSCOPLAT, C. C., (1979). Suppression of in vitro immunoglobulin biosynthesis in bovine spleen cells by bovine viral diarrhoea virus. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **13**,254–260
- 80-ROTH, J. A., KAEBERLE, M. L., GRIFFITH, R. W., (1981). Effects of bovine viral diarrhoea virus infection on bovine polymorphonuclear leucocyte function. *Am J. Vet. Res.* **42**,244–250
- 81-ROEDER PL, HARKNESS JW. (1986). BVD virus infection: prospects for control. *Vet Rec.* **118(6)**,143–147.
- 82-KAHR, R. F, (1973). Effect of bovine viral diarrhoea on developing virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **163**, 877–878
- 83-BROWNLIE, J., CLARKE, M. C., HOWARD, C. J., (1984). Experimental production of fatal mucosal disease in cattle. *Vet. Rec.* **114**, 535–536
- 84-WESTENBRINK, F., STRAVER, P. J., KIMMAN, T. G., DE LEEUW, P. W., (1989). Development of a neutralising antibody response to an inoculated cytopathic strain of bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.* **125**, 262–265
- 85-PERDRIZET JA, REBHUN WC, DUBOVI EJ, DONIS RO. (1987). Bovine virus diarrhoea clinical syndromes in dairy herds. *Cornell Vet* **77**, 46–74.
- 86-NANSEN, P., (1972). Selective immunoglobulin deficiency in cattle and susceptibility to infection. Acta Pathol. Microbiol. School, Hannover.



- 87-WARD, G. M., (1971). Bovine viral diarrhoea-mucosal disease implicated in a calf with cerebellar hypoplasia and ocular disease. A case report. *Cornell Vet.* **61**, 224–228.
- 88-McCLURKIN, A. W., CORIA, M. F., SMITH, R. L., (1975). Evaluation of acetylthyleneimine-killed bovine viral diarrhoea mucosal disease virus (BVD) vaccine for prevention of BVD infection of the fetus. *Proc. U.S. Anim. Health Assoc.* **79**, 114–123
- 89-LIESS, B., ORBAN, S., FREY, H. R., TRAUTWEIN, G., WIEFEL, W., BLINDOW, H., (1984). Studies on transplacental transmissibility of a bovine virus diarrhoea (BVD) vaccine virus in cattle. II. Inoculation of pregnant cows without detectable neutralising antibodies to BVD virus 90–229 days before parturition (51st to 190th day of gestation). *Zentralbl. Veterinarmed. B.* **31**, 669–681
- 90-GUTEKUNST, D. E., (1968). Comments on vaccination for bovine viral diarrhoea-mucosal disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **152**, 865–866.
- 91-GILLESPIE, J. H., BAKER, J. A AND McENTEE, K., (1960). A cytopathogenic strain of virus diarrhoea virus. *Cornell Vet.* **50**, 73–79.
- 92-COGGINS, L., GILLESPIE, J. H., ROBSON, D. S., THOMPSON, J. D., PHILLIPS, W. V., WAGNER, W. C. AND BAKER, J. A., (1961). Attenuation of virus diarrhoea virus (strain Oregon C24V) for vaccine purposes. *Cornell Vet.* **51**, 539–545.
- 93-KAHR, R. F., ROBSON, D. S., BAKER, J. A., (1966). Epidemiological considerations for the control of bovine viral diarrhoea. *Proc. U.S. Livest. Sanit. Assoc.* **70**, 145–153
- 94-LIESS, B., LANDELIUS, L. AND LACKMANN-PAVENSTEDT, B., (1982). Bovine Virusdiarrhoe (BVD) – Ergebnisse einer serologischen Langzeitstudie unter enzootischen Infektionsbedingungen in einem mittelgroßen Rinderzuchtbestand. *Prakt. Tierarzt*, **63**, 118–121.
- 95-ROSNER, S. F., (1968). IBR: Clinical Review, Immunity and Control. *J. A. V. M. A.* **153(12)**, 1631–1638
- 96-WOELFFER, E. A., (1972). Diagnosis of bovine abortion. *J. A. V. M. A.* **161(11)**, 1284–1287

- 97-KENDRICK, J. W., (1973). Effects of infectious bovine rhinotracheitis on the fetus. *J. A. V. M. A.* **163(7)**, 852–854
- 98-BAKER, J. A., McENTEE, K., GILLESPIE, J. H., (1960). Effects of infectious infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis virus in newborn calves. *Cornell Vet.* **50**, 156–170
- 99-ÇABALAR, M., AKÇA, Y., (1994). Fertilité problemlí ineklerde enfeksiyöz bovine rhinotracheitis, enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) virus izolasyonu ve seroepidemiolojisi. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.* **41(3–4)**, 337–349
- 100-ALKAN, F., ÖZKUL, A., KARAOĞLU, M. T., BİLGE, S., AKÇA, Y., BURGU, I., YEŞİLBAĞ, K. OĞUZOĞLU, T.Ç., (1997). Sığırlarda viral nedenli solunum sistemi enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.* **44(1)**, 73–80
- 101-BİLGE, S., (1998). Kan ve süt serumlarında IBR/IPV antikorlarının nötralizasyon testi ile saptanması ve süt örneklerinden virus izolasyonu. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.* **45**, 313–321
- 102-BRAKE, F., STUDDERT, M. J., (1985). Molecular epidemiology and pathogenesis of ruminant herpesviruses including bovine, buffalo and caprine herpesviruses 1 and bovine encephalitis herpesvirus. *Aust. Vet. J.* **62(10)**, 331–334
- 103-KAPLAN, A. S., (1973). The Herpesviruses. *Acad. Press. New York.*
- 104-ROIZMAN, B., CARMICHAEL. L. E., DEINHART, F., DE-THE, G., NAHMIAS, A. J., PLOWRIGHT, W., RAPP, F., TAKAHASHI, M., WOLF, K., (1981). Herpesviridae. Definition, provisional nomenclature and taxonomy. *Intervirology*, **16**, 201–217
- 105-WITTMANN, G., AND RZIHA, H.-J., (1989). Aujeszky's disease(pseudorabies) in pigs. In: G. Wittmann (Editor), *Herpesvirus Disease of Cattle, Horses, and Pigs. Kluwer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London, pp. 230–325.*

- 106-VAN ENGELENBURG, F.A.C., KAASHOEK, M.J., RIJSEWIJK, F.A.M., VAN DEN BURG, L., MOERMAN, A., GIELKENS, A.L.J., VAN OIRSCHOT, J.T (1994). A glycoprotein E deletion mutant of bovine herpesvirus 1 is avirulent in calves *Journal of General Virology* **75 (9)**, pp. 2311–2318
- 107-STRAUB, O. C., BENGELDORFF, H. J., WIZIGMANN, G., (1990). Untersuchung zum Nachweis des bovinen Herpesvirus Type 1 (BHV1) mittels Intrakutanest. II. Mitteilung: Experimentelle Untersuchungen. *J. Vet. Med. B* **37**, 35–46
- 108-HAHNEFELD, E., HANTSCHEL, H., HAHNEFELD, H., (1963). Die Stabilität des virus des Blaschenaussschlages des rindes (Exanthema coitale vesiculosum bovis) bei verschiedenen Temperaturen und Wasserstoffionenkonzentrationen sowie bei Einwirkung organischer Lösungsmittel und Natriumdesoxycholat. *Arc. Exp. Veterinarmed.* **17**,433–488
- 109-STRAUB, O. C., (1970). Allergische Sofort und Spatreaktionen bei IBR-IPV immunen Rindern. *Zentralbl. Bakteriol. I. Orig.* **214**, 483–494
- 110-ELAZHARY, M.A., DERBYSHIRE, J.B. (1979). Effect of temperature, relative humidity and medium on the aerosol stability of infectious bovine rhinotracheitis virus. *Canadian Journal of Comparative Medicine* **43 (2)**, pp. 158–167
- 111-GRIFFIN, T. P., HOWELLS, W. V., CRANDELL, R. A., MAURER, F. D., (1958). Stability of the virus of infectious bovine rhinotracheitis. *Am. J. Vet. Res.* **19**, 990–992
- 112-DOYLE, L. G., HESCHELE, W. P., (1983). Prevalance of antibody to bovine herpesvirus 1 in wild ruminants captive in United States zoos. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **183**, 1255–1256
- 113-BOELAERT F, SPEYBROECK N, DE KRUIF A, AERTS M, BURZYKOWSKI T, MOLENBERGHS G, BERKVENS DL., (2005). Risk factors for bovine herpesvirus–1 seropositivity. *Prev Vet Med* **69 (3–4)**,285–295.

- 114- VONK NOORDEGRAAF A, LABROVIC A, FRANKENA K, PFEIFFER DU, NIELEN M., (2004). Simulated hazards of loosing infection-free status in a Dutch BHV1 model. *Prev Vet Med.* **30;62(1)**,51–8.
- 115-THIRY E., SALIKI J., BUBLLOT M., PASTORET P. P., (1987). Reactivation of infectious bovine rhinotracheitis virus by transport. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Diseases* **10 (1)**, pp, 59–63
- 116-McKERCHER, D. G., (1973). Bovine Herpesvirus–1 Infections: Infectious Bovine rhinotracheitis, Infectious pustular Vulvovaginitis. In: Kaplan, A. S. (Editor): *The Herpesviruses. Academic Press, New York*, pp.428–442
- 117-STUDDERT, M. J.,(1989). A brief review of studies of bovine and equine herpesviruses. *Aust. Vet. J.* **66(12)**, 401–402
- 118-McKERCHER, D. G., WDA, E. M., STRAUB, O. C., (1963). Distribution and persistence of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus in experimentally infected cattle. *Am. J. Vet. Res.* **24(100)**, 10–14
- 119-NARITA, M., INUI, S., MURAKAMI, Y., NAMBA, K., SHIMIZU, Y., (1982). Pathological changes in young and adult cattle after intranasal inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus. *J. Comp. Pathol.* **92**,41–49
- 120-FENNER, F., (1987). Herpesviruses: Veterinary Virology, *Academic Press, London*, pp. 339–373
- 121-JERICHO, K. W. F., (1983). Histological changes in the respiratory tract of calves exposed to bovine herpesvirus 1 and *Pasteurella haemolytica*. *J. Comp. Pathol.* **93**, 73–82
- 122-VAN DONKERSGOED, J., BABIUK, L. A., (1991). Diagnosis and managing the infectious bovine rhinotracheitis. *Vet. Med.* **1**, 86–94
- 123-STRAUB, O. C., KIELWEIN, G., (1966). Experimentelle Mastitiden durch das Blaschenausschlagvirus des Rindes. *Berl. Münchn. Tierarztl. Wochenschr.* **79**, 310–312
- 124-SHEFFY, B. E. AND DAVIES, D. H., (1972). Reactivation of a bovine herpesvirus after corticosteroid treatment. *Proc. Soc. Exp. Biol.* **140**, 974–976.

- 125-NARITA, M., INUI, S., NAMBA, K., SHIMIZU, Y. (1978). Neural changes in recurrent infection of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves treated with dexamethasone *Am. J. of Vet. Res.* **39 (9)**, pp. 1399–1403
- 126-NARITA, M., INUI, S., YABUKI, Y. (1979). Neural changes in recurrent genital infection of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves treated with dexamethasone *British J. of Exp. Path.* **60 (2)**, pp. 111–119
- 127-NARITA, M., INUI, S., NAMBA, K., SHIMIZU, Y. (1981). Recrudescence of infectious bovine rhinotracheitis virus and associated neural changes in calves treated with dexamethasone *Am. J. of Vet. Res.* **42 (7)**, pp. 1192–1197
- 128-ACKERMANN, M., WYLER, R. (1984). The DNA of an IPV strain of bovid herpesvirus 1 in sacral ganglia during latency after intravaginal infection *Vet. Microbiology* **9 (1)**, pp. 53–63
- 129-MILLER, R. B., SMITH, M. W., LAWSON, K. F., (1978). Some lesions observed in calves born to cows exposed to the virus of infectious bovine rhinotracheitis in the last trimester of gestation. *Can. J. Comp. Med.* **42**, 438–445
- 130-BRUNER, W. D., GILLESPIE, J. H., (1973). Herpesviruses. Hogan's Infectious Diseases of Domestic Animals (sixth edition) Cornell University Press, Ithaca, New York pp. 968–974
- 131-STRAUB, O. C., WETTKE, K., WEILAND, F., (1982). Seuchenhaftes Auftreten von IBR-IPV Virus Aborten. *Tierarztl. Umschau*, **37**, 613–617
- 132-BOWEN, R. A., ELSDEN, R. P., SEIDEL, G. E., (1985). Infection of early bovine embryos with bovine herpesvirus-1. *Am. J. Vet. Res.*, **46**, 1095–1097
- 133-CHOW, T. L., J. A. MOLELLO AND N. V. OWEN (1964). Abortion experimentally induced in cattle by infectious bovine rhinotracheitis virus. *J. Am. Vet. Med. Ass.* **144**, 1005–1007.
- 134-MILLER, J.M., VAN DER MAATEN, M.J. (1986). Experimentally induced infectious bovine rhinotracheitis virus infection during early pregnancy: effect on the bovine corpus luteum and conceptus. *Am. j. of Vet. Res.* **47 (2)**, pp. 223–228

- 135-CRANE, C. S., LUKAS, G. N., WATKINS, W. W., (1964). Infectious bovine rhinotracheitis abortion in california beef cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, **144**,13–18
- 136-BARTHA, A., HADJU, G., ALDASY, P., PACZOLAY, G., (1969). Occurrence of encephalitis caused by infectious bovine rhinotracheitis virus in calves in hungary. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung*, **19**, 145–151
- 137-BAXTER, G. M., (1984). Neonatal meningoencephalitis associated with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Bovine Pract*, **19**, 41–44
- 138-HILL, B. D., HILL, M. W. M., CHUNG, Y. S., WHITTLE, R. J., (1984). Meningoencephalitis in calves due to bovine herpesvirus type 1 infection. *Aust. Vet. J*, **61**, 242–243
- 139-WYLER, R., ENGELS, M., SCHWYZER, M., (1989). Herpesvirus Diseases of Cattle, Horses and Pigs. *Kluwer Academic Publishers, Boston*, **345 pp.**
- 140-BURKHARDT, E., PAULSEN, J., (1978). Nachweis von Bovine Herpesvirus–1 (IBR/IPV) bei Rindern mit Affektionen des Verdauungstraktes. *Berl. Münch. Tierarztl. Wochenschr*, **91**, 480–482
- 141-EVERMANN, J. F., CLEMM, D. L., (1980). Re-emergence of infectious bovine rhinotracheitis virus associated with calf enteritis. *Bovine Prac*, 1,45–47
- 142-MECHOR LA, PETRIE L (1987): Protection of newborn calves against fatal multisystemic infectious bovine rhinotracheitis by feeding colostrum from vaccinated cows. *Can J Vet Res*, **51**, 452–459
- 143-MILLER, J. M., VAN DER MAATEN, M. J., (1984). Reproductive tract lesions in heifers after intrauterine inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Am. J. Vet. Res*, **45**, 790–794
- 144-EDWARDS, S., CHASEY, D., WHITE, H., (1983). Experimental infectious bovine rhinotracheitis: Comparison of four antigen detection methods. *Res. Vet. Sci*,**34**, 42–45
- 145-BELAK, S., BALLAGI-PORDANY, A., (1993). Application of the polymerase chain reaction (PCR) in veterinary diagnostic virology. *Vet. Res. Commun*, **17**, 55–72,

- 146-VAN ENGELENBURG, F. C. A., MAES, R. K., VAN OIRSCHOT, J. T., RIJSEWIJK, F. A. M., (1993). Development of a rapid and sensitive polymerase chain reaction assay for the detection of bovine herpesvirus type 1 in bovine semen. *J. Clin. Microbiol.* **31**, 3129–3135
- 147-KIBENGE, F. S. B., HARIS, L. M., McKENNA, P. K., WADOWSKA, D., YASON, C. V., (1994). Amplification of strains of bovine herpesvirus 1 by use of polymerase chain reaction with primers in the thymidine kinase region. *Am. J. Vet. Res.*, **55**, 1206–1212
- 148-SILIM, A., ELAZHARY, M. A. S. Y., (1983). Detection of infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhoea in the nasal epithelial cells by the direct immunofluorescence technique. *Can. J. Comp. Med.*, **47**, 18–22
- 149-COLLINS, J. K., BUTCHER, A. C., RIEGEL, C. A., (1985). Immune response to bovine herpesvirus type 1 infections: virus specific antibodies in sera from infected animals. *J. Clin. Microbiol.*, **21**, 546–552
- 150-KARADZHOV, I., IGNATOV, G., KHRISTOVA, V., (1979). Serological diagnosis of IBR. *Vet. Med. Nauki*, **16**, 65–71
- 151-AGUILAR-SETIEN, A., PASTORET, P. P., SCHWERS, A., (1980). Etude chez le bovin par neutralisation et immunoprecipitation des reactions serologiques croisees entre le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine (Bovine Herpesvirus-1, BHV-1) et celui de la maladie d'Aujeszky (Sus Herpesvirus-1, SHV-1). *Ann. Med. Vet.*, **124**, 199–209
- 152-KARADZHOV, I., KHRISTOVA, V., (1980). Preparation of antigen from IBR/IPV virus and its use in the microcomplement fixation test for bovine infectious rhinotracheitis. *Vet. Med. Nauki*, **17**, 17–22
- 153-HERRING, A. J., NETTLETON, P. F., BURRELS, C., (1980). Amicro-enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus. *Vet. Rec.*, **107**, 155–156
- 154-STUKER, G., HAAB, P., GIGER, T., (1980). Nachweis von IBR/IPV Antikörpern aus der Milch. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, **122**,: 707-710,
- 155-DE MEURON, P.-A., (1982). Recherche d'anticorps IBR/IPV dans le lait. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, **124**, 203–208

- 156-KHARALAMBIEV, Kh., DILOVSKI, M., GAYTANDZHIEVA, R. AND ZAGORSKI, D., (1974). Virus-neutralizing activity of semen from bulls that have been affected with infectious rhinotracheitis-balanoposthitis. *C. R. Acad. Agric. G. Dimitrocv*, **7**, 75–77.
- 157-STRAUB, O. C., (1986). Über die Eignung des Immundiffusionstests zur Bestimmung humoraler Antikörper gegen bovines Herpesvirus (BHV1). *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **99**, 424–427.
- 158-STRAUB, O. C., (1969). Die Übertragung viraler Antikörper durch das Kolostrum. *Tierärztl. Umschau*, **24**, 571–573.
- 159-AFSHAR, A., BANNISTER, G. L., (1970). Viral infections of the bovine mammary gland. *Vet. Bull*, **40(9)**, 681–686
- 160-KAHR, R. F., JOHNSON, M. E., BENDER, G. M., (1977). Studies on the detection of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus in bovine semen. *Proc. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagn*, **20**, 187–208
- 161-MATTHAEUS, W. AND STRAUB, O. C., (1978). Die neutralisierenden Serumantikörper normaler und leukotischer Rinder nach der Infektion mit IBR-IPV-Virus. *Zentralbl. Bakteriol. Hyg. I. Orig. A*, **240**, 152–164.
- 162-GUY, J.S., POTGIETER, L. N. D., (1985). Bovine herpesvirus-1 infection of cattle. Kinetics of antibody formation after intranasal exposure and abortion induced by the virus. *Am. J. Vet. Res*, **46**, 893–898
- 163-HUCK, R. A., MILLAR, P. C., WOODS, D. G., (1973). Experimental infection of maiden heifers by the vagina with infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvo-vaginitis virus. *J. Comp. Pathol*, **83**, 271–279
- 164-ROUSE, B.T., BABIUK, L.A. (1974). Host responses to infectious bovine rhinotracheitis virus. III. Isolation and immunologic activities of bovine T lymphocytes *J. of Immun.* **113 (5)**, pp. 1391–1398
- 165-BOUFFARD, A., DERBYSHIRE, J. B., AND WILKIE, B. N., (1982). Effect of lymphocytes and broncho-alveolar washing cells on the replication of bovine herpesvirus type 1 in tracheal organ cultures. *Vet. Microbiol.* **7**, 214–251.



- 166-DARCEL, C. LE Q. AND DORWARD, W. J., (1972). Skin reactivity and infectious bovine rhinotracheitis. *Can. Vet. J.* **13**, 100–101.
- 167-EYRE, P., (1978). Allergic pathophysiology of bovine lung. In: W. B. Martin (Editor), *Respiratory Disease in Cattle. Cur. Top. in Vet. Med. Martinus Nijhoff, The Hague Vol. 3*, pp. 129–137.
- 168-BOSCH, J. C., (1997). Bovine herpesvirus 1 marker vaccines: tools for eradication. *Thesis Universitat Utrecht, part I. Pp.* 2–6.
- 169-KAASHOEK, M. J., MOERMAN, A., MADIC, J., RIJSEVIJK, F. A. M., QUAK, J., GIELKENS, A. L. J., VAN OIRSCHOT, J. T., (1994). A conventionally attenuated glycoprotein E-negative strain of bovine herpes type 1 is an efficacious and safe vaccine. *Vaccine*, **12**, 439–444
- 170-BAKER, J.C., RUST, S. R., WALKER, R. D., (1989). Transmission of a vaccinal strain of infectious bovine rhinotracheitis virus from intranasally vaccinated steers commingled with nonvaccinated steers. *Am. J. Vet. Res.* **50(6)**,814–816
- 171-KAERBER, G., (1964). In diagnostic procedures for viral and rickettsial disease. *Public Health. Ass. (New York)*, **3**,48–50
- 172-SHIMIZU M., SATOU K. (1987). Frequency of persistent infection of cattle with bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus in epidemic areas. *Jpn J Vet Sci* **49**, 1045–1051.
- 173-KELLING CL, STINE LC, RUMP KK, PARKER RE, KENNEDY JE, STONE RT, ROSS GS.(1990). Investigation of bovine viral diarrhoea virus infections in a range beef cattle herd. *J Am Vet Med Assoc.* **197**,589–593.
- 174-SIEGWART N, HILBE M, HÄSSIG M, BRAUN U. (2006). Increased risk of BVDV infection of calves from pregnant dams on communal Alpine pastures in Switzerland. *Vet J.* **172**,386–388.
- 175-PIZARRO-LUCERO J, CELEDÓN MO, AGUILERA M, DE CALISTO A. (2006). Molecular characterization of pestiviruses isolated from bovines in Chile. *Vet Microbiol.* **115(1–3)**,208–17.
- 176-FOSTER AP, HOULIHAN MG, HOLMES JP, WATT EJ, HIGGINS RJ, ERRINGTON J, IBATA G, WAKELEY PR. (2007). Bovine viral diarrhoea virus infection of alpacas (*Vicugna pacos*) in the UK. *Vet Rec.* **161**, 94–99.

- 177-LEE DH, PARK SW, CHOI EW, LEE CW. (2008). Investigation of the prevalence of bovine viral diarrhoea virus in dairy cows in South Korea. *Vet Rec.* **162**,211–213.
- 178-SOLIS-CALDERON JJ, SEGURA-CORREA VM, SEGURA-CORREA JC.2005 Bovine viral diarrhoea virus in beef cattle herds of Yucatan, Mexico: seroprevalence and risk factors. *Prev Vet Med.* **72**, 253–262.
- 179-MAINAR-JAIME RC, BERZAL-HERRANZ B, ARIAS P, ROJO-VÁZQUEZ FA.(2001). Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral-diarrhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. *Prev Vet Med.* **52**, 63–73.
- 180-BIUK-RUDAN N, CVETNIC S, MADIĆ J, RUDAN D.(1999). Prevalence of antibodies to IBR and BVD viruses in dairy cows with reproductive disorders. *Theriogenology.* **51**, 875–881.
- 181-ÖNCÜL, S., MERİÇ, İ., KORKUT, F., (1964). Türkiye’de ilk defa LalahanZootekni Araştırma Enstitüsü Sığırlarında tespit edilen Mucosal Disease’in klinik yönü. *Lalahan Zoo. Arş. Enst. Derg.* **4**,186–189
- 182-ALKAN, F., (1989). Arthrogrippothyphosa ve Hydranencephali’li buzağı doğumlarında BVD-MD’in insidensi üzerine araştırmalar. *Doktora Tezi. A. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.*
- 183-BURGU, I., ALKAN, F., YEŞİLBAĞ, K., (1999). Türkiye’de sığırlarda Persiste BVD Virus enfeksiyonu. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.* **46**,69–177.
- 184-ÖZKUL A. (1992). Bovine viral diarrhea –mucosal disease (BVDMD); infection on pregnant cattle and their fetuses. *A.Ü. Sağ Bil, Doctoral Thesis, Ankara.*
- 185-ŞİMŞEK A. (1994) Klinik olarak sağlıklı sığır sürülerinde persiste bovine viral diarrhea virus enfeksiyonlarının saptanması ve epizootiyolojik önemi, *SÜ Sağ Bil Enst, Doktora Tezi, Konya.*
- 186-FRAY, M.D., PATON, D.J., ALENİUS, S. (2000). The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Animal Reproduction Science* **60–61**, pp. 615–627
- 187-LINDBERG, A.L.E. (2003). Bovine viral diarrhoea virus infections and its control. A review. *Veterinary Quarterly* **25 (1)**, pp. 1-16

- 188-LINDBERG, A.L.E., ALENIUS, S. (1999). Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Veterinary Microbiology* **64 (2-3)**, pp. 197-222
- 189-SCOTT, F.W., KAHRS, R.F., DE LAHUNTA, A. (1973). Virus induced congenital anomalies of the bovine fetus. I. Cerebellar degeneration (hypoplasia), ocular lesions and fetal mummification following experimental infection with bovine viral diarrhoea mucosal disease virus *Cornell Vet.* **63 (4)**, pp. 536-560
- 190-CLASSICK LG, FERNELIUS AL. (1970). Bovine viral diarrhoea virus: neutralizing antibodies in a calf obtained by cesarean section from cow which was infected. *Am J Vet Res.* **31(2)**,393-5.
- 191-ORBAN, S., LIESS, B., HAFEZ, S. M., FREY, H.-R., BLINDOW, H. AND SASSE-PATZER, B., (1983). Studies on transplacental transmissibility of a bovine virus diarrhoea (BVD) vaccine virus. I. Inoculation of pregnant cows 90 to 15 days before parturition (190th to 265th day of gestation). *Zentralbl. Veterinärmed. B* **30**, 619-634.
- 192-YAPKIÇ, O. (1999). Gebe Sığırlarda ve Bunların Buzağlarında Persiste Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Enfeksiyonunun İmmunfloresan ve İmmunperoksidaz Testleri ile Araştırılması. *Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*
- 193-VERHOEFF J, VAN NIEUWSTADT AP, (1984). BRS virus, PI3 virus and BHV1 infections of young stock on self-contained dairy farms: epidemiological and clinical findings. *Vet Rec.* **114**,288-293.
- 194-MOUSSA, A. A., SABER, M. S., NAFIE, E., SHALABY, M. A., AYOUB, N. N., EL-NAKSHALY, S., MOHSE, A. Y., MADBOULY, H. M., EL-SANOUSI, A. A., FATHIA, M. M., SAMI, A., ALLAM, I., REDA, I. M., (1990). Serological survey on the prevalence of bovine herpes 1 (BHV-1) in domestic animals in Egypt. *Vet. Med. J.-Giza.* **38(1)**,87-94
- 195-SURESH, S., MANORMA, D., APPAJI-RAO, V. N., TRESAMOL, P. V., (1992). Serological survey of infectious bovine rhinotracheitis/ infectious pustular vulvovaginitis in buffaloes of Tamilnadu. *Cheiron*, **21(3-4)**, 68-70

- 196-SURESH, K. B., SUDHARSHANA, K. L., RAJASEKHAR, M., (1999). Seroprevalance of infectious bovine rhinotracheitis in India. *Indian Vet. J.* **76**,5–9
- 197-HAGE JJ, SCHUKKEN YH, DIJKSTRA T, BARKEMA HW, VAN VALKENGOED PH, WENTINK GH.(1998). Milk production and reproduction during a subclinical bovine herpesvirus–1 infection on a dairy farm. *Prev Vet Med.* **34**, 97–106.
- 198-BURGU, I., AKÇA, Y., (1987). First isolation of IBR virus in Turkey. *Trop. Anim. Health. Prod.* **19**,56
- 199-ERHAN, M., ONAR, B., CSONTOS, L., HOPKINS, I. G., (1971). Serological survey on some virus and bedsonia diseases of cattle, sheep and horse. *Pendik Vet. Kont. Ve Araşt. Enst. Derg.* **4(2)**,55–58.
- 200-ÇABALAR, M., AKÇA, Y., (1994). Fertilité problemlé ineklerde enfeksiyöz bovine rhinotracheitis, enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) virus izolasyonu ve seroepidemiyolojisi. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.* **41(3-4)**,337-349
- 201-POSPISIL, Z., KREJCI, J., MACHATKOVA, M., ZENDULKOVA, D., LANY, P., CIHOL, P. (1996). The efficacy of an inactivated IBR vaccine in the prevention of intrauterine infection and its use in a disease control programme. *J. Vet. Med.* **43**, 15–21
- 202-BOSCH JC, VAN LIESHOUT JA, DE WIT JJ, GRAAT EA, SOMERS MJ, (2000). The serological BHV1 status of dams determines the precolostral status of their calves. *Vet Q.* **22**,99–102.
- 203-HOUE H, (1995). Epidemiology of Bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin N Am Food Anim Pract* **11**, 521–547.
- 204-MOCKELIUNIENE V, SALOMKAS A, MOCKELIUNAS R, PETKEVICIUS S, (2004). Prevalance and epidemiological features of bovine viral diarrhoea virus infection in Lithuania. *Vet Microbiol*, **99**, 51–57.