

**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER VİROLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA İLİNDEKİ İSHALLİ  
BUZAĞILARDA CORONAVİRUSLARIN ELISA  
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**Ramazan ABİKOĞLU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Dr. Öğr. Üyesi İrfan ÖZGÜNLÜK**

**ŞANLIURFA  
2019**

**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER VİROLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA İLİNDEKİ İSHALLİ  
BUZAĞILARDA CORONAVİRUSLARIN ELISA  
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**Ramazan ABİKOĞLU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Dr. Öğr. Üyesi İrfan ÖZGÜNLÜK**

**Bu tez çalışması, HÜBAK tarafından 16161 proje numarası ile  
desteklenmiştir.**

**ŞANLIURFA  
2019**

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

**JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI**

Ramazan ABİKOĞLU'nun hazırladığı "Şanlıurfa İlindeki İshalli Buzağılarda Coronavirusların ELISA Yöntemi ile Araştırılması" konulu çalışması 28/6/2019 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Viroloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**BAŞKAN**

**Prof. Dr. Mehmet GABALAR**

Harran Üniversitesi Veteriner  
Fakültesi Viroloji Anabilim  
Dalı

**ÜYE**

**Prof. Dr. Kezban CAN ŞAHNA**

Fırat Üniversitesi Veteriner  
Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı

**ÜYE**

**Dr. Öğr. Üyesi İrfan ÖZGÜNLÜK**  
**(Danışman)**

Harran Üniversitesi Veteriner  
Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı

Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 18/02/2019 tarih ve 2019.1.12/23.... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



**Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ**  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## **TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince beni destekleyen danışman hocam Sayın Dr. Öğretim Üyesi İrfan ÖZGÜNLÜK'e, Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mehmet ÇABALAR hocama ve Prof. Dr. Kezban CAN ŞAHNA hocama, tez çalışmam esnasında gerekli kolaylığı sağlayan ve desteğini esirgemeyen çalıştığım kurum olan DOLLVET'e, bu araştırmayı proje olarak kabul eden ve maddi açıdan destekleyen (Proje No: 16161) Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (HÜBAK)'ne, ayrıca Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

**Ramazan ABİKOĞLU**

**2019**

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAY SAYFASI</b> .....	i
<b>TEŞEKÜRLER</b> .....	ii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	iii
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	v
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	vi
<b>KISALTMALAR VE SİMGELER</b> .....	vii
<b>ÖZET</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>1.GİRİŞ</b> .....	1
<b>2.GENEL BİLGİLER</b> .....	4
2.1.Etiyoloji.....	4
2.2. Virion morfolojisi ve Yapısı.....	6
2.3. Yapısal Proteinler.....	8
2.3.1. Spike Glikoproteini (S).....	8
2.3.2. Hemagglütinin-Esteraz Glikoproteini (HE).....	9
2.3.3. Membran Glikoproteini (M).....	10
2.3.4. Zarf Glikoproteini (E).....	10
2.3.5. Nukleokapsit Fosfoproteini (N).....	11
2.4. Yapısal Olmayan Proteinler.....	11
2.5. Viral Replikasyon.....	11
2.6. Epidemoloji.....	13
2.7. Patogenez ve patoloji.....	14
2.8. Klinik bulgular.....	15
2.9. Teşhis.....	16
2.10. Tedavi.....	18
2.11. Koruma ve kontrol.....	18
<b>3.MATERYAL VE METOT</b> .....	20
3.1.Gaita örneklerinin toplanması.....	20

3.2.Gaita örneklerinde ticari ELISA ile BCoV antijen varlığının araştırılması.....	21
<b>4.BULGULAR.....</b>	<b>23</b>
<b>5.TARTIŞMA.....</b>	<b>25</b>
<b>6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>32</b>
<b>7.KAYNAKLAR.....</b>	<b>33</b>
<b>8.EKLER.....</b>	<b>41</b>
8.1.Etik Kurul Kararı.....	44
8.2.Orijinallik Raporu.....	46
8.3. Turnitin çıktısı.....	47
8.4. Tez veri giriş formu.....	48

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Coronavirus'ların mikroskopik görüntüsü.....	7
Şekil 2.2. Coronavirus'ların şematik görünümü.....	9
Şekil 2.3. Coronavirus Replikasyon Döngüsü.....	12
Şekil 3.1. Örnekleme yapılan hayvanlar ve barınma ortamları.....	20
Şekil 3.2. Ticari ELISA kiti.....	21



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 2.1.</b> Coronaviridae ailesinde sınıflandırma.....	5
<b>Tablo 2.2</b> Coronavirus'lar infekte ettiği konaklar ve bilinen hücre reseptörleri..	6
<b>Tablo 3.1.</b> Gaita örneklerinin toplanma tarihleri ve çiftlik kodlarına göre dağılımı.....	21
<b>Tablo 3.2.</b> Yaş gruplarına göre örnekleme dağılımı.....	20
<b>Tablo 4.1.</b> Çiftliklere göre Bovine Coronavirus (BCoV) ELISA sonuçları.....	23
<b>Tablo 4.2.</b> Yaş gruplarına göre Coronavirus pozitif buzağı sayısı ve dağılımı...	23
<b>Tablo 4.3.</b> Pozitif buzağların yaş ortalaması.....	24





## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ABD** : Amerika Birleşik Devletleri  
**Ag** : Antijen  
**APN** : Aminopeptidaz N  
**BCoV** : Bovine Coronavirus (Sığır coronavirus)  
**CCoV** : Canine coronavirus  
**CoV** : Coronavirus  
**CPE** : Cytopathic Effect  
**DCoV** : Duck Coronavirus  
**DEM** : Direkt elektronmikroskopi  
**E** : Zarf Glikoproteini  
**FCoV** : Feline Coronavirus (Kedi coronavirus)  
**GCoV** : Goose coronavirus  
**HA** : Hemaglütinasyon  
**HCoV** : İnsan coronavirus  
**HE** : Hemagglütinin-Esteraz Glikoproteini  
**IBV** : Avian Infectious Bronchitis Virus  
**IF** : immunofloresan  
**IS** : İntergenik sekans  
**kDa** : kilo dalton  
**M** : Membran Glikoproteini  
**MERS** : Middle East respiratory syndrome (Ortadoğu solunum sendromu)  
**MHV** : Fare hepatit virusu  
**MHV** : Murine hepatitis virus  
**mRNA** : Mesajcı RNA  
**N** : Nukleokapsit Fosfoproteini  
**nm** : nanometre  
**PCoV** : Pigeon coronavirus  
**RNA** : Ribonükleik asit  
**S** : Spike  
**SARS** : Severe Acute Respiratory Syndrome (Ağır akut solunum yetmezliği sendromu)  
**SEM** : Scanning elektron mikroskopi  
**TCoV** : Turkey Enteric Coronavirus  
**TGEV** : Transmissible gastroenteritis virus (Domuz gastroenterit virüsü)  
**UV** : Ultraviyole

## ÖZET

### ŞANLIURFA İLİNDEKİ İSHALLİ BUZAĞILARDA CORONAVİRUSLARIN ELISA YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

**Ramazan ABİKOĞLU**

**Viroloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi**

Bovine corona virus (BCoV) sığırlar arasında yüksek prevalansta ve yaygındır. Birçok ülkede bildirilmiştir. Aynı zamanda buzağuların ishal etkenidir. Hastalık semptomu gösteren ve semptom göstermeyen sığırların gaitası hem hastalığın kaynağı hem de su ve gıdalar için kontaminasyon kaynağıdır. Bu çalışmada Şanlıurfa yöresinde klinik ishal semptomlu buzağularda BCoV enfeksiyonu araştırılması amaçlandı. Bunun için virolojik teşhis yöntemi kullanıldı. Çalışmada klinik muayenenin ardından Enzyme Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) testi ile değerlendirmek üzere 94 ( $\leq 3$  ay) ishali buzağı gaitası alındı. 5 (%5,32) buzağı gaitasında BCoV antijeni tespit edildi. Neticede bütün dünyada yaygın olan ve her yaştaki sığırda varlığı bildirilen BCoV enfeksiyonu bu çalışma ile Şanlıurfa'da da varlığını devam ettirdiği belirlendi. Hastalık, sığır popülasyonlarında tedavi maliyetlerinden ve buzağı ölümlerinden kaynaklanan büyük ekonomik kayıplarla sonuçlanır. Ekonomik kayıpları azaltmak için koruyucu aşı tüm gebe ineklere uygulanması önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Coronavirus, ELISA, Buzağı ishali, Şanlıurfa

## **ABSTRACT**

### **INVESTIGATION OF CORONAVIRUSES BY ELISA METHOD IN DIARRHEIC CALVES IN SANLIURFA PROVINCE**

**Ramazan ABİKOĞLU**

**Virology Department, Master Thesis**

Bovine coronavirus (BCoV) is common with high prevalence in cattle. It is reported in many countries. Also, BCoV causes diarrhea in calves. Feces from clinical cases or clinically normal cattle are source of infection, also contamination of feed and water. The aim of this study was to investigate BCoV infection in diarrheic calves in Sanliurfa province. For this reason, the virological method was used. In this study, following clinical examination 94 calves with diarrhoea ( $\leq 3$  month) were sampled for BCoV presence by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). BCoV antigen was detected in faecal sample of a 5 (5.32%) calves. As a conclusion, BCoV infection has found worldwide among cattle of all ages. As a result of this study, BCoV was detected in calves in Sanliurfa province. The disease results in major economic losses in cattle populations that result from treatment costs and calf deaths. The protective vaccination must be applied all pregnant cows to reduce economic losses.

**Keywords:** Coronavirus, ELISA, Calf diarrhoea, Sanliurfa

## 1.GİRİŞ

Coronavirüsler; insanların ve birçok hayvanın sindirim, solunum, dolaşım gibi sistemlerinde meydana getirdiği zararlar ile tüm vücutta etkisini gösterebilen ve çok geniş bir virus familyasını temsil eden enfeksiyöz ajanlardan biridir. İlk defa 1968 yılında elektron mikroskopu ile morfolojik olarak tespit edilmişlerdir (1). Coronavirüsler sığır, köpek, kedi, kanatlı, tavşan, sıçan ve domuz gibi omurgalı hayvanların solunum ve gastrointestinal sistemlerinde ve yenidoğanlarda özellikle intestinal kanalda ciddi tahribatlara neden olmakta ve bu durum büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır (2, 3).

Coronavirüsler canlılarda üst solunum yolu ve gastrointestinal sistem hastalıklarının en önemli enfeksiyöz ajanlarından biridir. Coronaviridae ailesinden olan sığır coronavirusu (BCoV) sığırlarda solunum yolu ve gastro intestinal sistem hastalıklarına, TGEV (Transmissible gastroenteritis virus) domuzlarda enterite, MHV (mouse hepatitis virus) farelerde hepatite, HCoV-OC43 ve HCoV-229E insanlarda solunum yolu ve gastrointestinal sistem rahatsızlıklarına neden olmaktadır (4, 5).

2002-2003 yılları arasında Çin'in Guangdong şehrinde ortaya çıkan şiddetli akut solunum yetmezliği sendromu (SARS) ile coronavirüsler bilim adamlarının dikkatini çekmiştir. SARS coronavirusu çok ciddi sayıda ölümlere neden olmuştur. Çok çabuk yayılabilen ve bulaşabilen bu virus kısa zamanda dünya sağlık örgütü ve diğer uluslararası kuruluşların dikkatini çekmiş ve yapılan çalışmalarda dünya genelinde çok sayıda vaka ve ölüm tespit edilmiştir. Daha sonra uluslararası bir çalışma ile şiddetli akut solunum yetmezliği sendromuna sebep olan hastalık etmeni SARS coronavirusu olarak isimlendirilmiştir.

Coronavirüsler üzerinde yapılan çalışmalarda iki yeni insan coronavirusu tespit edilmiştir. HCoV-HKU1 ve HCoV-NL63, her ikisinde alt ve üst solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkilendirilmişlerdir (6). HCoV' un neden olduğu soğuk algınlığının en tipik belirtisi, burun akıntısı ve kırgınlıktır (7). Yapılan çalışmalara göre HCoV' lar erişkinlerde soğuk algınlığı ve farenjit gibi üst solunum yolu enfeksiyonu etkeni, küçük çocuklar, yaşlılar ve immun sistemi baskılanmış bireylerde bronşit, bronşiolit, pnömoni ve astım alevlenmesi gibi alt solunum yolu enfeksiyonu etkeni olarak bildirilmektedir (8, 9). Solunum yolu enfeksiyonu dışında hastalıklardaki rolü, tam olarak bilinmemektedir. HCoV' un özellikle yenidoğanlarda enteritis ile seyreden enfeksiyonlara neden olduğu düşünülmektedir (10).

Çok daha yakın bir zamanda Ortadoğu Solunum Yetmezliği Sendromu Coronavirusu (*The midle East Respiratory Syndrome Coronavirus*, MERS-CoV) tanımlanmıştır. MERS-CoV'ün insanlarda şiddetli solunum yolu enfeksiyonlarına sebep olduğundan dolayı pandemik yapma riski taşıdığı rapor edilmiştir. Sonuç olarak, coronaviruslar günümüzde insan sağlığı için önemli olduğu kadar hayvan sağlığını için de tehdit oluşturan önemli bir virus grubudur (11).

CoV'lar zarflı olmalarına rağmen, Rhinovirus gibi çoğunluğu zarfsız olan virüslere oranla doğal şartlara daha az dayanıklıdır (12). CoV virionları, pH 6 ya oldukça dayanıklıdır; fakat hafif alkali ortamlarda hızla inaktif olurlar (13). SARS CoV diğer CoV'lara oranla doğal şartlara daha dayanıklıdır. Bu zarflı virusun, safra ve proteolitik enzimlere karşı kendisini nasıl koruduğu tam olarak açıklanamamıştır. CoV'un zarf glikoproteinleri çok glikolize olduğundan, virionların konak hücre proteazlarıyla bozulmaya dirençli olduğu düşünülmektedir (12). 1960'larda üst solunum yolu enfeksiyonlu hastalardan izole edilen insan CoV'ları (HCoV-229E ve HCoV-OC43) ile son yıllardaki enfeksiyonlu hastalardan izole edilen insan CoV'ları karşılaştırıldığı zaman aralarında genetik çeşitlilik olarak çok önemli farkların olduğu görülmüştür. Farklı coğrafi bölgelerden elde edilen HCoV-229E örneklerinde bu çeşitlilik az olmasına karşın, Amerika ve Fransa'dan izole edilen HCoV-OC43 sekansları daha farklıdır ve aynı coğrafi bölgeden farklı yıllarda izole edilmiş olanlarda da önemli sekans değişiklikleri saptanmıştır. HCoV-OC43'ün fare hücrelerinde de üremeye kolayca adapte olma yeteneği, onun mutasyonları tolere etme yeteneğini göstermesine karşın, HCoV-229E fareleri enfekte etmemektedir (12).

2003 yılında, Çin'de solunum sistemi iflasına sebep olan şiddetli solunum yolu hastalığı SARS ortaya çıkmıştır (14). SARS'a sebep olan hastalık etkeninin yeni bir coronavirus olduğu tanımlanmış ve SARS-CoV olarak adlandırılmıştır (15). SARS-CoV canlılarda görülen şiddetli pulmoner hastalıkların en önemli nedeni olup, %10 ölüm oranı görülmektedir (4). SARS-CoV ile enfekte olmuş olan hastalarda keyifsizlik, katılık, halsizlik ve yüksek ateş görülmektedir. SARS-CoV'un bu kadar tehlikeli ve ölümcül olmasının temel nedeni solunum sisteminin iflasına neden olmasıdır. Bunun yanı sıra SARS-CoV ile enfekte olan hastaların akciğerlerinde makrofaj, alveol ve bronş epitel hücrelerinin parçalandığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, otopsi sonrası SARS hastalarının akciğer, bağırsak, böbrek ve beyinlerinde yüksek virus derişimi gözlemlenmiştir.

Coronavirüsler doğal bağışıklık cevabını tip I interferonların uyarımını inhibe ederek baskırlarlar (6).

Coronavirüsler SARS salgınından sonra tehdit unsuru olarak görölmelerine rağmen uzun zamandır hayvanlarda ölümcül hastalıklara sebep oldukları bilinmektedir (6, 16). Hayvanlarda ölümcül hastalıklara sebep olan Coronavirüsler; FIPV (Feline infectious peritonitis virus), kedilerde sistemik hastalıklara neden olarak ölüme sebebiyet vermektedir. IBV (Avian Infectious Bronchitis Virus) tavuklarda şiddetli solunum yolu hastalıklarına sebep olmaktadır. Ayrıca, BCoV sığırlarda solunum yolu enfeksiyonlarının ve ishalin ana sebebidir (5).

MERS-CoV ilk kez 2012 Nisan ayında ürdünde rapor edilmiş ve aynı sene Eylül ayında yeni bir virus olarak tanımlandı. Etken pneomonili bir hastadan izole edilmiş ancak yapılan çalışmalar bu virusun insanların yanında hayvanlarında enfekte edebildiği belirlenmiştir. Hastalık Ürdün, Suudi Arabistan, Tunus, Birleşik Arap Emirlikleri, Katar, Fransa, İtalya, Almanya ve İngiltere’de bildirilmiştir. Klinik enfekte hastalarda ateş, öksürük, titreme, diyare, boğaz ağrısı, abdominal ağrı, kusma, pnömoni ve hemoptozi gibi semptomlar varlığı kaydedilmiştir (11).

İnsanlarda HCoV’un etken olduğu soğuk algınlığının en tipik belirtisi, burun akıntısı ve kırgınlıktır (7). Solunum yolu enfeksiyonu dışında hastalıklardaki rolü, henüz iyi anlaşılammıştır. HCoV’un özellikle yenidoğanlarda enterik hastalıklara sebep olduğu düşünölmektedir (10).

Bovine coronavirus, sığırlarda genel manada üç farklı klinik sendroma neden olmaktadır (17). Bunlar buzağılarda ishal (18-20), erişkin sığırlarda kış dizanterisi (21-23) ve farklı yaş gruplarındaki sığırlarda solunum sistemi enfeksiyonlarıdır (24, 25). Hastalıkların klinik bulgularındaki farklılığa rağmen bütün BCoV izolatlarının tek bir serotipe ait olduğu düşünölmektedir. Bununla birlikte solunum sistemi (BRCov-Bovine respiratory coronavirus) ve intestinal kanalda (BECov-Bovine enterik coronavirus) enfeksiyon oluşturan BCoV’lar arasındaki genetik ve antijenik ilişki hakkında farklı görüşler bildirilmiştir (26-29).

Bu çalışma tarım ve hayvancılık yönünden ölkemizin önemli illerinden olan Şanlıurfa’da, sığır yetiştiriciliği üzerinde buzağı kayıplarına neden olarak olumsuz etkide bulunan Coronavirüslerin neden olduğu neonatal buzağı ishallerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.Etiyoloji

*Coronaviridae* ailesi diğer (*Arteriviridae* ve *Roniviridae*) ortak özelliklere sahip virüs aileleri ile birlikte *Nidovirales* takımına dâhil edilmiştir. *Coronaviridae* ailesi; *Coronavirinae* ve *Torovirinae* olmak üzere iki altaile olarak sınıflandırılmıştır. Yenidoğan buzağı ishallerinin etkeni olan *Bovine Coronavirus* ((*BCoV*), *Coronavirinae* altailesi *Betatacoronavirus* cinsinde sınıflandırılmıştır. Coronavirusların sınıflandırılması ve önemli hayvan hastalıklarına neden olan coronaviruslar tablo 2,1’de özetlendi (12). İnsan ve hayvan hastalıklarına neden olan Coronavirusların sınıflandırılması, replikasyon yöntemleri, dizin benzerliği, viral proteinlerin antijenik özelliği, viral genom organizasyonu, virionların şekli, hücre ve doku tropizmi ile patojenik özelliği göz önünde bulundurularak yapılmaktadır (30)

Günümüzde coronavirus cinsi, insan ve hayvanlarda enterik hastalığa sebep olan Torovirus cinsi ile beraber, *Coronaviridae* ailesini oluşturmaktadır (12, 31,). *Coronaviridae* ailesini oluşturan bu iki cinsin elektron mikroskopundaki görüntüleri ve replikasyon yöntemleri benzer, fakat RNA genomu, yapısal proteinlerin boyutları ve nukleokapsitlerinin morfolojisi farklıdır (32). *Coronaviridae* ailesi ile sadece hayvanları infekte eden *Arteriviridae* ailesi, *Nidovirales* (Latince *Nidus* = yuva, küme) takımı içinde yer alırlar (33). *Coronaviridae* ailesindeki CoV’ların, insan ve hayvanlarda enfeksiyona neden olup önem arz eden bazı türleri Tablo 2.1.’de gösterilmiştir (12, 34).

Serolojik ilişki ve doğal konak bilgilerine göre üç antijenik gruba ayrılarak incelenen CoV’lar, daha sonra edinilen nukleotid sekansı bilgilerine göre “a” ve “b” olarak alt gruplara ayrılmıştır (13, 35, 36). Serogrup 1 ve 2 içine memelilerden izole edilen CoV’lar, serogrup 3 içine de kanatlılardan izole edilen CoV’lar yerleştirilmiştir. Grup 1 içinde insan suşu HCoV-229E, bir diğer insan suşu olan HCoV-NL63 ve hayvan Coronavirusları yer almaktadır. Grup 2 içinde 2a ve 2b olarak iki antijenik alt grup bildirilmektedir. İnsan ve hayvan CoV’ları 2a grubu içinde, SARS-COV ise 2b grubu içinde yer alır. Tablo 2,2’de gösterilmiştir.

*Coronavirinae* altailesi içinde kanatlılarda görülen *Infectious bronchitis virus* (IBV) ve kedilerde *feline coronavirus* (FCoV) enfeksiyonu, köpeklerde görülen *Canine coronavirus* (CCoV) enfeksiyonu ve domuzlarda görülen *Transmissible gastroenteritis virus* (TGEV) enfeksiyonu gibi memelilerde ciddi viral ajanlar bulunmaktadır (37).

**Tablo 2.1. Coronaviridae ailesinde sınıflandırma (12, 34)**

<b>CORONAVİRİDAE</b>	
<b>CORONAVİRİNAE</b>	
<b>CİNS: ALPHACORONAVİRUS</b>	
<i>Canine coronavirus</i>	<i>CCoV</i>
<i>Feline coronavirus</i>	<i>FCoV</i>
<i>Feline infectious peritonitis virus</i>	<i>FIPV</i>
<i>Porcine respiratory coronavirus</i>	<i>PRCoV</i>
<i>Porcine epidemic diarrhea virus</i>	<i>PEDV</i>
<i>Transmissible gastroenteritis virüs</i>	<i>TGEV (Porcine)</i>
<i>Human coronavirus 229E</i>	<i>HCoV-229E</i>
<i>Miniopterus bat coronavirus</i>	<i>MBCoV</i>
<i>Rhinolophus bat coronavirus</i>	<i>Rh-BatCoV</i>
<i>Scotophilus bat coronavirus</i>	<i>Sc-BatCoV</i>
<b>CİNS: BETACORONAVİRUS</b>	
<i>Bovine coronavirus</i>	<i>BCoV</i>
<i>Equine coronavirus</i>	<i>ECoV</i>
<i>Human coronavirus OC43</i>	<i>HCoV-OC43</i>
<i>Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus</i>	<i>PHEV</i>
<i>Human coronavirus</i>	<i>HCoV</i>
<i>Mouse hepatitis virus</i>	<i>MHV</i>
<i>Rat coronavirus</i>	<i>RCoV</i>
<i>Pipistrellus bat coronavirus HKU5</i>	
<i>Pipistrellus bat coronavirus</i>	<i>Pi-BatCoV</i>
<i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus</i>	<i>SARS-CoV</i>
<b>CİNS: GAMMACORONAVİRUS</b>	
<i>Avian coronavirus</i>	
<i>Infectious bronchitis virus</i>	<i>IBV</i>
<i>Turkey coronavirus</i>	<i>TCoV</i>
<i>Duck coronavirus</i>	<i>DCoV</i>
<i>Goose coronavirus</i>	<i>GCoV</i>
<i>Pigeon coronavirus</i>	<i>PCoV</i>
<b>TOROVİRİNAE</b>	
<b>CİNS: TOROVİRUS</b>	
<i>Bovine torovirus Breda</i>	<i>BToV Breda</i>
<i>Equine torovirus strain Berne</i>	<i>EToV Berne</i>
<i>Human torovirus</i>	<i>HToV</i>
<i>Porcine torovirus</i>	<i>PToV</i>

Coronavirüslerin geneli sadece bir hayvan türünü enfekte etmektedir. SARS-CoV ise insanlar, rakunlar, kediler, köpekler ve kemiricilerin de dâhil olduğu geniş bir memeli grubunu enfekte etmektedir. Ayrıca yarasadan da, SARS-CoV'una çok benzer CoV'lar (BatCoV) izole edilmiştir (35, 36).



**Tablo 2.2.** Coronavirus'lar infekte ettiği konaklar ve bilinen hücre reseptörleri (12, 34).

Antijenik Grup	Virus	Konak	Reseptör	
Grup 1	1a	<i>CCoV: Canine Coronavirus</i>	Köpek	APN
	1a	<i>FECoV: Feline Enteric Coronavirus</i>	Kedi	APN
	1a	<i>FIPV: Feline Infectious Peritonitis Virus</i>	Kedi	APN
	1a	<i>TGEV: Transmissible Gastroenteritis Virus</i>	Domuz	APN
	1a	<i>PRCoV: Porcine Respiratory Coronavirus</i>	Domuz	APN?
	1a	<i>HCoV-229E: Human Coronavirus-229E</i>	İnsan	APN
	1b	<i>BatCoV: Bat Coronavirus</i>	Yarasa	?
	1b	<i>HCoV-NL63: Human Coronavirus-NL63</i>	İnsan	ACE2
Grup 2	2a	<i>BCoV: Bovine Coronavirus</i>	Sığır	ASAC
	2a	<i>GiCoV: Giraffe Coronavirus</i>	Zürafa	?
	2a	<i>HCoV-OC43: Coronavirus-OC43</i>	Human	?
	2a	<i>MHV: Murine Hepatitis Virus</i>	Fare	EACAM1
	2a	<i>SDAV: Sialodacryoadenitis Virus</i>	Sıçan	?
	2a	<i>HEV: Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus</i>	Domuz	9-O-ASAC
	2b	<i>SARS-CoV: Severe Acute Respiratory Syndrome</i>	İnsan	ACE2
Grup 3	3	<i>IBV: Avian Infectious Bronchitis Virus</i>	Tavuk	?
	3	<i>TCoV: Turkey Enteric Coronavirus</i>	Hindi	?
	3	<i>DCoV: Duck Coronavirus</i>	Ördek	?
	3	<i>GCoV: Goose coronavirus</i>	Kaz	?
	3	<i>PCoV: Pigeon coronavirus</i>	Güvercin	?

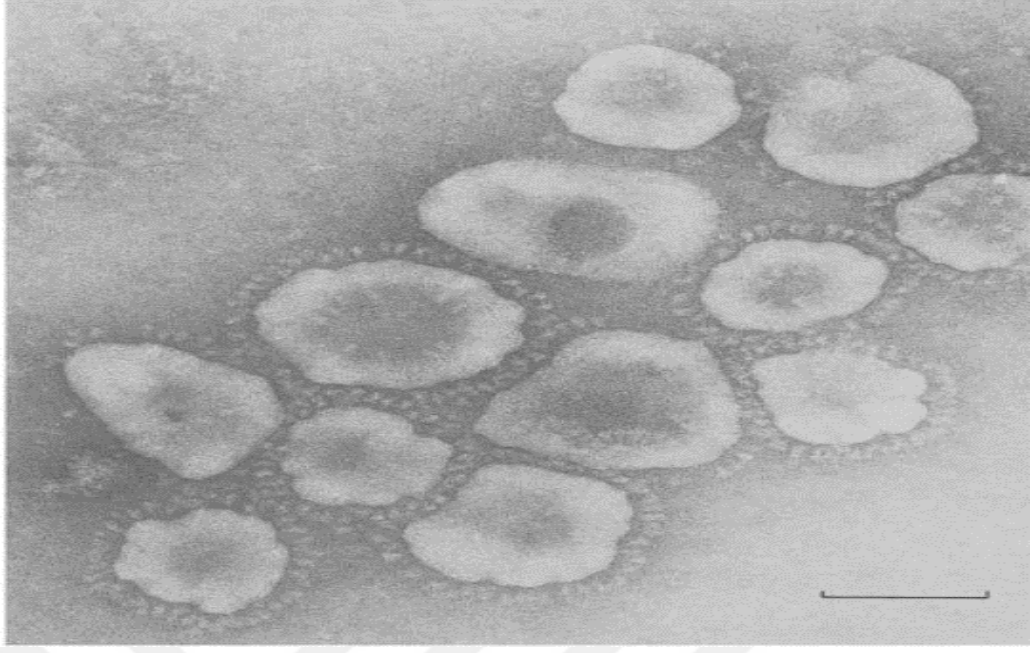
**APN:** Aminopeptidaz N, **ACE2:** angiotensin-converting enzyme 2, **9-O-ASAC:** 9-O-acetylated sialic acids (neuraminic acid), **CEACAM1:** human carcino-embryonic antigen cell adhesion molecule 1.

## 2.2. Virion Morfolojisi ve Yapısı

Coronavirus virionları pleomorfik yapıda, genelde yuvarlak, yaklaşık 80-220 nm çapında zarflı partiküllerdir (şekil 2.1). Virion içinde tek zincirli, 27-32 kb büyüklüğünde, sarmal, segmentsiz, pozitif polariteli genomik RNA bulunur. Coronavirus'lar RNA genomuna sahip viruslar içinde en büyük genoma sahip virus cinsidir (12).

Genomunda türlere göre değişmek üzere 27000-31.500 nukleotid vardır (38). Moleküler ağırlığı 5- 6x10<sup>6</sup> dalton aralığında ve sedimentasyon katsayısı 70S' tir (39). RNA genomu nukleokapsit fosfoproteiniyle (N) bağlantılıdır; birlikte uzun, esnek, sarmal nukleokapsiti meydana getirirler. Nukleokapsit virus partikülünden ayrıldığında, 14-16 nm çapında uzun tübüler zincir olarak görülür. En az iki Coronavirus' un (TGEV ve MHV) sarmal nukleokapsiti 65 nm çapında, sferik ya da ikosahedral olabilen internal kor yapısı ile çevrelenmiştir (12). Bu yapı membran glikoproteini (M) tarafından oluşturulmaktadır (31).

Kor dışında bulunan lipoprotein yapıdaki zarfın, virusun hücre içi membranından tomurcuklanması sırasında oluştuğu bilinmektedir (12). Zarf lipit yapıda olduğundan dolayı eter gibi lipit çözücüler, iyonik olmayan deterjanlar, formaldehit, oksitleyici çözücüler, asit, ısı ve UV radyasyonuna karşı oldukça duyarlıdır (38).



**Şekil 2.1.** Coronavirusların mikroskopik görüntüsü (40).

CoV zarfının yüzeyinde, bu virusa özgü uzun ve topuz (spike, petal) şekilli, glikoprotein yapıda peplomerler vardır ve bunlar iki tiptir: Spike glikoproteininden (S) oluşan uzun çıkıntılarının boyu 20 nm, uç kısmının genişliği yaklaşık 10 nm'dir. Spike glikoprotein bütün CoV' larda mevcuttur (12, 39). Bu glikoprotein, uzunluğundan dolayı virionun en dıştaki parçasıdır. Hemagglütinin-esteraz glikoproteininden (HE) oluşan kısa çıkıntılar ise, sadece bazı CoV'larda (HCoV-OC43, BCoV) bulunmaktadır. CoV zarfında bunlardan başka yapısal proteinler de bulunmaktadır. Şekil 2.2'de, CoV'ların şematik şekli görülmektedir (41)

CoV genetiğinin kendine has bir özelliği, özellikle Murine hepatitis virus (MHV)' da olmak üzere, yüksek sıklıkta RNA rekombinasyonudur (12). Miks infeksiyon sırasında, iki farklı CoV'un mRNA'larının lider sekansları takas olabilir (42). Yeni tiplerin ortaya çıkışı da muhtemelen, mutasyon ve rekombinasyon yoluyla meydana gelmektedir (7). Diğer viruslardaki segmentsiz RNA genomlarının çoğunda az ya da saptanamayacak sıklıkta rekombinasyon meydana gelirken, tüm CoV genomunun rekombinasyon sıklığı %25'e kadar hesaplanmıştır. Bu yüksek oran muhtemelen, CoV RNA sentezinin, kesintili transkripsiyon ve polimeraz aktivitesi içeren kendine has mekanizmasının sonucudur. Bugüne kadar RNA rekombinasyonu MHV, TGEV ve IBV için hem doku kültürü hem de deneysel ve doğal hayvan enfeksiyonlarında gösterilmiştir (12, 13).

Virus tipi ve konak hücre tipine bağılı olarak CoV enfeksiyonu, değişik sitopatik etkileri indükler. Örneğin MHV, BCoV, IBV ya da SARS-CoV hücre füzyonuna sebep olur (12). Füzyon, S glikoproteini tarafından meydana getirilir ve pH 6,5'in altında gerçekleşmez (13). MHV, E proteini vasıtasıyla apoptozu da indükler. Ayrıca bazı SARS-CoV proteinleri, hücre sinyal yol izlerini etkileyip hücresel fonksiyonlarda bozukluğa ve artan sitokin ve kemokin ekspresyonuna neden olabilir (12). Hücre ölümü ya da sitopatik etki olmaksızın haftalarca virus üretiminin olduğu persistan CoV enfeksiyonu, doku kültürü hücrelerinde kolayca meydana gelir. Genelde sitosidal enfeksiyondan sonra bir kısım hücreler enfeksiyöz virus üretir ve virus üretimi aylarca devam eder. HCoV-229E'nin, insan oligodendrosit ve glial hücre kültürlerinde persistan enfeksiyon yaptığı gösterilmiştir. Persistan enfekte kültürdeki hücreler, wild-tip virusla süperenfeksiyona dirençlidir ve çeşitli replikasyon, kusurlu mutantlar, sıklıkla bu kültürlerden izole edilir (12).

CoV'ların doğal evriminde, RNA rekombinasyonu önemli bir mekanizmadır (12, 43). Örneğin kümes hayvanları topluluğu içindeki yeni IBV tipleri, farklı saha ve aşı tipleri arasındaki doğal evrimin sonucudur (12). RNA rekombinasyonu, farklı CoV türlerinin evriminde de rol oynayabilir. Rekombinasyon, CoV'lardaki HE geninin influenza C virusundan geldiği hipotezini açıklayabilir (44). Bazı FECoV biyotiplerinin, FECoV ile CCoV arasındaki rekombinasyondan meydana gelmiş olduğu düşünülmektedir (12). CoV'ların farklı antijenik gruptan olan virusla rekombinasyona uğramaması ve mRNA'larının ayrı ayrı bulunması, viral genomlar arasında muhtemelen rekombinasyonu teşvik eder ve genetik çeşitlilik artar (41). Filogenetik incelemelerde de SARS-CoV'un, Grup 2 içindeki BCoV'a daha yakın olması bunu açıklayabilir (12).

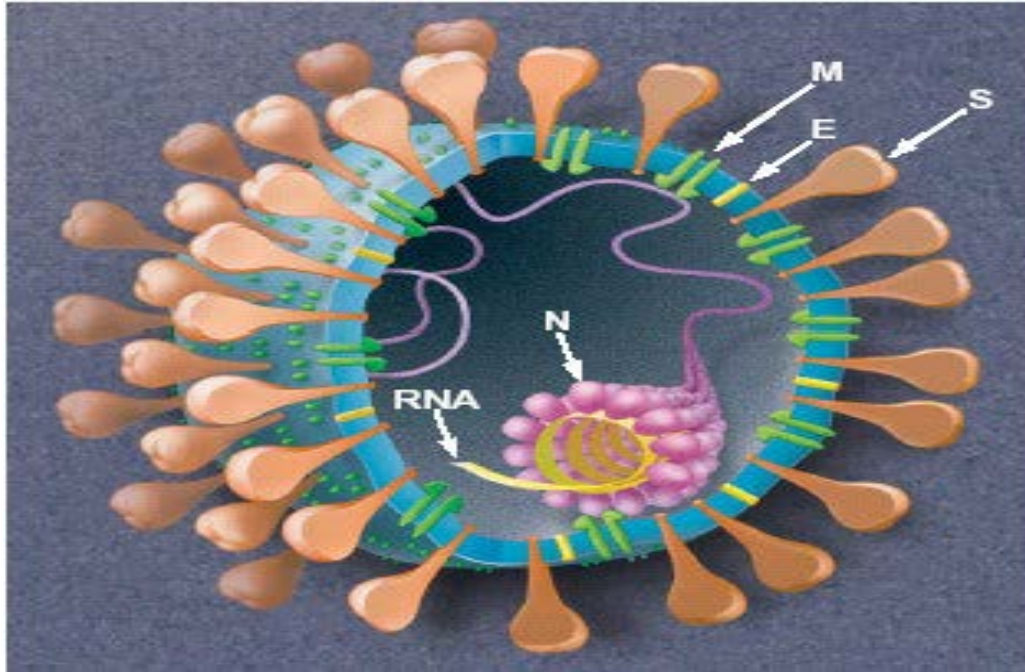
## **2.3. Yapısal Proteinler**

### **2.3.1 Spike Glikoproteini (S)**

S proteini 1200-1600 aminoasit içeren tip I membran glikoproteinidir. Saplı topuz formda, 12-24 nm uzunluğunda ve elektron mikroskopunda taç şeklinde çıkıntılar halinde görünen S proteini, Coronavirus ailesine, "Corona=Taç" adının verilmesinin nedenidir. Bu protein virusun tür ve doku spesifitesini belirlemektedir (45, 46). S proteini yüksek oranda N glikolizedir. Konakçı hücreye girişte görevli olup, hücresel membrana bağlanan reseptördür ve sınıf I füzyon proteinlerinin özelliklerini taşımaktadır. S proteinindeki

yapısal, fonksiyonel dizin benzerlikleri Coronaviridae ailesindeki, Toro-, Bafini-, ve daha az olarak da Coronavirusların aynı evrimsel kökenden geldiğini düşündürmektedir (47). S proteini, konakçıda hücresel koşullu immün yanıtı indükleyerek antikor (özellikle nötralizan) oluşumundan sorumludur (48).

S proteininin önemli bir özelliği de, spesifik reseptör yokluğunda da, hücre-hücre füzyonunu indükleyebilmesidir; bu yetenek, hayvanlardaki artan virulansı açıklamaktadır (12). S glikoproteini, enfekte konağın immün sisteminin virüsü tanımasında birincil unsurdur. Enfeksiyon esnasında meydana gelen nötralizan antikorların baş indükleyicisidir (43). Sonuç olarak S proteini hücre tropizmi, konak seçimi, nötralizan antikor oluşumu ve CoV enfeksiyonlarının patogenez ve biyolojisinde önemli rol oynayan çok fonksiyonlu bir protein olarak değerlendirilmektedir (12, 49).



S: Spike Glikoproteini E: Zarf Glikoproteini M: Membran Glikoproteini N: Nukleokapsit Fosfoproteini  
Şekil 2.2. Coronavirus'ların şematik görünümü (41).

### 2.3.2 Hemagglütinin-Esteraz Glikoproteini (HE)

Bu glikozile protein, virion üzerinde kısa uzantılar şeklinde görülmektedir. Viral replikasyon için gerekli olmadığı düşünülmektedir. Çünkü bulunduğu CoV'lar arasında bile varlığı ya da yokluğu çok değişkendir ve devamlı hücre kültürü pasajlarında yapısı sıklıkla mutasyona ya da tamamen delesyona uğramaktadır (12, 38). Yüksek

hemagglütinasyon özelliği ve virus partiküllerinin hücreden salınmasında rol oynayan esteraz aktivitesi vardır; hemadsorbsiyona sebep olabilir (12, 50, 51). Bu özellikler, virusun titresini ölçmede ya da enfekte organ kültürü hücrelerini saptamada kullanılabilir (13). Ayrıca suşlar arasındaki biyolojik özelliklerin ortaya konulmasında hemagglütinasyon, hemagglütinasyon inhibisyon ve reseptörü inhibe eden enzim aktivitelerinin titrelerinin hesaplanmasında kullanılabilir (52).

### **2.3.3. Membran Glikoproteini (M)**

Bu glikolize protein, 25-35 kDa ağırlığındadır ve virusun zarfında bol miktarda bulunmaktadır (12, 38). Diğer CoV glikoproteinlerinden farklı olarak, membran glikoproteininin (M) sadece kısa bir aminoterminal bölgesi viral zarf dışında açıkta kalmaktadır. TGEV gibi bazı CoV'lerde M'nin karboksiterminal kısmı, virion yüzeyinde açıkta kalmaktadır (12). Yüksek derecede hidrofobiktir (13). M'nin dış bölgesine karşı oluşmuş bazı monoklonal antikolar, virus enfektivitesini nötralize etmektedir. M proteini plazma membranına taşınıp orada görülmez; hedefi golgi aygıtının başlangıç bölgesidir. M proteini, virus partiküllerinin birleştirilmesi ve olgunlaşması için oldukça önemli bir görev üstlenir (12). RNA'ya afinitesi olduğu gösterilmiştir (53).

### **2.3.4. Zarf Glikoproteini (E)**

9-12 kDa ağırlığında, küçük ve viral zarfta az miktarda bulunan, glikolize olmayan bir proteindir (12, 38). E proteini lipit membranı iki kere geçer; proteinin iki ucu da virus lümenindedir. Virion partiküllerinin birleştirilmesini tetiklediği düşünülmese de, elzem değildir. Çünkü E ekspresyonu yetersiz olan virusla enfekte hücrelerden, anormal şekilli olmakla birlikte, yine de virionlar salınmaktadır. Enfekte hücre içinde tomurcuklanma için, M ve E glikoproteinleri gereklidir. Kıvrılarak lipit tabakayı bozması, virus tomurcuklanmasındaki rolünü açıklar. Sadece E'nin ekspresyonu, hücreden vezikül salınımı için yeterlidir (12). Ayrıca E proteini çok iyi anlaşılammışsa da SARS-CoV, HCoV-229E, MHV ve IBV'da, soyunma ve olgun virionların salınımında görevli bir iyon kanalı gibi fonksiyon gördüğü gösterilmiştir (54). MHV ve SARS-CoV'da apoptozu indüklediği gösterilmiştir (55, 56).

### **2.3.5. Nukleokapsit Fosfoproteini (N)**

50-60 kDa ağırlığındadır. Viral sarmal nukleokapsiti oluşturmak için, genomik RNA'ya bağlanır ve RNA zincirinin dayanıklılığını sağlar (12, 51). N'nin üç yapısal bölgesi vardır ve RNA, orta bölgeye bağlıdır (13). N proteini, M ile direkt etkileşimdedir. Coronaviridae ailesi N proteini oldukça basit RNA bağlayan fosfoprotein yapıdadır. Kapsitlenme ve genomun paketlenmesinde görevlidir. Ancak coronavirinae alt ailesinde bu görevlerinin yanı sıra RNA sentez ve translasyonunda rol aldığı, RNA chaperone aktivitesi gösterdiği ve Interferon Tip I antogonisti olarak davrandığı bilinmektedir (47, 48).

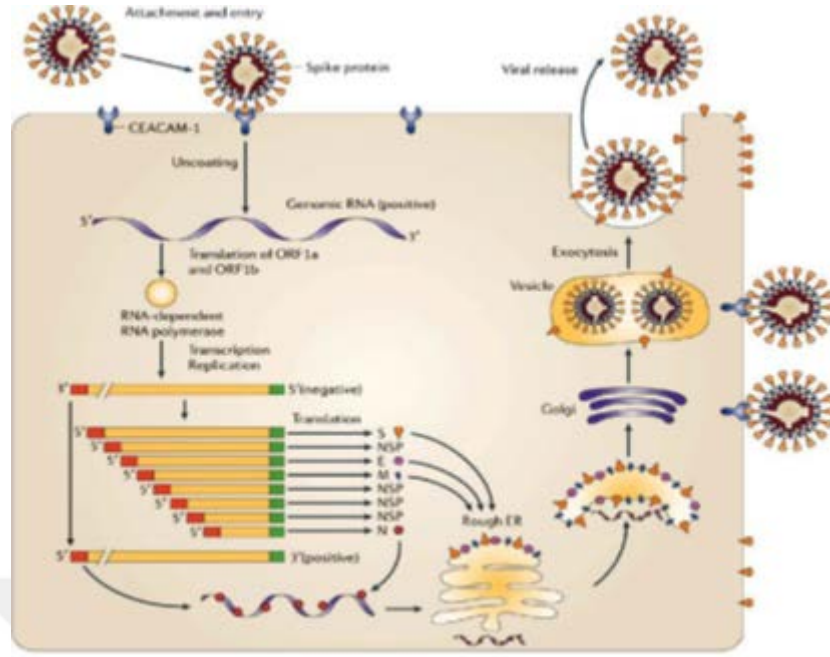
### **2.4. Yapısal Olmayan Proteinler**

Bu proteinlerin görevleri tam olarak anlaşılamamış olmakla beraber viral replikasyonda, tür ve organ spesifitesinde rol aldıkları düşünülmektedir (57).

### **2.5. Viral Replikasyon**

Bu virusun replikasyonu, enfekte hücrenin sadece sitoplazmasında gerçekleşir. (13). CoV replikasyon şeması şekil 2.3'te görülmektedir. Diğer zarflı viruslarla karşılaştırıldığında, replikasyon yavaştır: Örneğin influenza virusunda replikasyon süresi 6-8 saatken, CoV'da 24 saattir (58). Replikasyon döngüsünün ilk basamağı, virionların hedef hücrelerin plazma membranına bağlanmasıdır. Viral tropizmin ana belirteci olarak S proteini, hücre yüzeyindeki bir spesifik reseptör glikoproteine bağlanır. Bazı CoV'lar için tanımlanmış reseptörler tablo 2.2'de görülmektedir (12, 34).

Virus spesifik reseptöre bağlandıktan sonra S proteini, viral zarfla konak hücre membran füzyonunu indükleyerek bir değişime uğrar ve virus bu yolla hücrenin içine aktarılmış olur. Coronavirusların hücreye girme mekanizmaları bütün CoV'larda farklılık gösterir. Endositozla ya da plazma membranına füzyon yoluyla konak hücreye giren virus soyunur (12). Viral RNA sitoplazmaya salındığında, büyük bir poliproteini oluşturmak için ribozomlara bağlanır ve ribozomal çerçeve kayma mekanizması ile translasyona uğrar (12, 33, 59). Bu büyük poliprotein, translasyon esnasında ya da sonrasında, virusun kendi proteazlarıyla (papain-benzeri proteaz PLpro, kemotripsin-benzeri proteaz Mpro) kesilerek, farklı proteinlere dönüşmek üzere işlenir. Yapısal proteinler, yapısal protein olmayan polimeraz ve ATPaz helikazı tarafından oluşturulur (12, 60).



Şekil 2.3. Coronavirus Replikasyon Döngüsü (61)

Negatif zincirli RNA enfeksiyon başlangıcında sentezlenir, fakat ilerleyen evrelerde azalır. Buna karşılık pozitif zincirli RNA türleri enfeksiyon boyunca, son evrelere kadar sentezlenir (12). Enfekte hücrelerde (+) viral RNA, (-) viral RNA'dan 10 ile 100 kat arasında fazladır (13). S proteini translasyon sırasında rough endoplazmik retikuluma girer ve glikolize olur. Trimer haline geldikten sonra dışarı çıkar; M ve E proteinleriyle etkileşime girerek, virion partiküllerinin birleştirilme bölgesine göç eder. Golgi aygıtına transportu sırasında yüksek mannozlu glikanları düzenlenir ve olgun hale gelmiş olur. S proteininin bir kısmı plazma membranına taşınır ve bu bölgede hücre füzyonuna sebep olur. Son olarak bazı CoV'ların (özellikle Grup 2 ve Grup 3 CoV'ları) S proteini, S1 ve S2 alt ünitelerine bölünür (12).

M proteini rough endoplazmik retikulum üzerinde sentezlenip endoplazmik retikulum membranına girer ve glikolize edilir. M proteini çoğunlukla virusun tomurcuklanma bölgesinde; az bir kısmı da golgi aygıtında lokalize olur (12). Plazma membranına taşınmaz (13). Buna karşılık E proteini, endoplazmik retikulum ve golgi aygıtı arasındaki ERGIC'de (endoplasmic reticulum-golgi intermediate compartment) lokalize olur. Bazı CoV'larda bulunan HE proteini, translasyon esnasında rough endoplazmik retikuluma glikolize olur ve dimerler meydana getirir. Golgi aygıtına taşınıp burada olgunlaşır ve tomurcuklanan virus partiküllerinin zarfına dâhil olur. Bir

kısım HE proteini de plazma membranına taşınıp hücre yüzeyine yerleşir ve burada hemadsorbsiyona sebep olabilir (12).

Tam bir virus partikülü, N proteini ile viral RNA'nın etkileşimi ile şekillenen sarmal bir nukleokapsit içerir. Sonra nukleokapsit endoplazmik retikulumda M proteini ile etkileşime girer ve böylece virus partikülünde paketlenir. Şaşırtıcı olarak M, N olmasa bile viral RNA ile direk etkileşime girebilir. S yokluğunda spikesiz virus partiküllerinin oluşabilmesi, S'nin virus partiküllerinin birleştirilmesi için elzem olmadığını fakat enfeksiyöz virus partiküllerinin oluşumu için gerekli olduğunu göstermektedir (12).

Tomurcuklanmadan sonra virus partikülleri golgi aygıtına giderler, daha ileri morfolojik değişimler geçirerek olgunlaşırlar ve salgısal veziküllere ulaştıklarında, sıkı ve elektron yoğun kor kısımlarıyla olgun bir virus partikülü görünümü almış olurlar. Virionlar büyük, düz duvarlı veziküllerde birikir. Bu veziküller plazma membranına ekzositozla yapışır ve ekstraselüler alana virusları salar (12). Ya da apoptozla hücreden salınırlar (62). Yani virionlar plazma membranından tomurcuklanmazlar. Çok sayıda virion, enfekte hücrenin plazma membranına yapışmış halde kalır (13).

Virus salınımı, virusa ve konak hücre tipine bağlı olarak, apikal ya da bazolateral membranlardan ya da her ikisinden olabilir. CoV'la enfekte olmuş epitel hücreleri, birkaç gün sonra ölür ve epitelden dökülür. Apikal salınım, solunum ya da enterik kanal hücrelerine virusun yayılımında etkiliyken; bazolateral salınımın, virusun sistemik yayılımını kolaylaştırdığı düşünülmektedir. İn vitro koşullarda HCoV-229E' nin, hAPN (insan aminopeptidaz N) sergileyen epitel hücrelerinin hem apikal hem bazolateral yüzeylerinden salınabildiği gösterilmiştir (31).

## **2.6. Epidemiyoloji**

Buzağı ishalleri, coronavirus familyasının antijenik grup II içerisinde yer alan BCoV'un, ilk defa Mebus ve ark. (63) tarafından Amerika'da ishalleri bir buzağının dışkılarından hazırlanan inokulumun fotal dana böbrek hücre kültürüne seri pasajları sonunda izole edildiği bildirilmiştir. İntestinal kanalın BCoV enfeksiyonu, enfekte dışkının yem ve suya bulaşması, bulaşık yem ve suyun oral yolla alınması sonucu gerçekleşmektedir. Bovine coronavirus, buzağılarda fekal oral yolun yanı sıra aerosol yolla da taşınabilmektedir (20, 25, 64). Bovine coronavirus hem sütçü hem de etçi sürülerde yetiştirilen buzağılarda enteritise sebep olabilmektedir (65, 66). Enfeksiyon, kış



aylarında daha etkili ve yaygın olarak görülür. Bunun sebebi virusun soğuk ve serin ortamlarda aktivitesini daha iyi koruyabilmesi, buzağılamanın genellikle ilkbaharın başlangıcında gerçekleşmesi ve yetiştirme biçimi sayılabilmektedir (67-71). İshal salgınları aynı çiftlik içinde birbirini takip eden yıllarda sık sık ortaya çıkabilmektedir (70-72).

Virusla sürekli olarak enfekte olan yetişkin sığırların, hassas buzağular için enfeksiyon kaynağı olarak rol oynadığı düşünülmektedir (67-69). Ayrıca yetişkin sığırlarda yüksek bir coronavirus antikör prevalansı tespit edilmiştir (73-75). Hem dışkı hem de kan sirkülasyonunda spesifik antikörlerin varlığına rağmen klinik olarak normal olan yetişkin sığırların dışkılarında yüksek oranda (%70 in üzerinde) BCoV tespit edilmiş, bu saçılımın çoğunluğunun dışkıda coronavirus immunoglobulin kompleksler şeklinde olduğu bildirilmiştir (67). Annelerde doğum esnasında virus saçılım insidensinde meydana gelen artış, annelerin vücutlarında oluşan hormonal değişikliklere ve strese bağlanmakta ve bu tür taşıyıcı annelerden doğan buzağularda ishalin oluşma ihtimalinin son derecede yüksek olduğu bildirilmektedir (68, 69). Colins ve ark. (69). Buzağularda coronavirus enfeksiyonu insidensinin yıllık % 60 olduğu tespit edilen bir sığırcılık işletmesinde yaptıkları araştırmada, bu insidensi yetiştirme tekniklerinin iyileştirilmesi ve aşılama ile %10-%20 ye kadar düşürmeyi başarmışlar, ancak sürüde aşılama ve aşılama olmayan hayvanların özellikle kış aylarında 2 yıl boyunca dışkıları ile coronavirusu sporadik olarak saçtıklarını belirterek insidensteki bu düşüşü aşılama ziyade yetiştirme tekniklerinin iyileştirilmesine bağlamışlardır.

## **2.7. Patogenez ve Patoloji**

Bovine coronavirus ile intestinal kanalın enfeksiyonu ince bağırsağın proksimalinde başlar, ince ve kalın bağırsak boyunca yayılır. Virus bu organları özellikle emilimde rol oynayan epitel hücrelerini hedef olarak seçer (72, 76). Buzağularda ishale neden olan rotaviruslar incebağırsağı enfekte ederken, coronavirusların hem ince bağırsağı hem de kalın bağırsağı enfekte etmesi ile daha şiddetli enfeksiyona ve mortaliteye neden olabilmektedir (77). BCoV replikasyonu, ince bağırsağın villileri üzerindeki olgunlaşmış epitel hücreleri ile kolonun yüzeysel epitel hücrelerinde gerçekleşir. Enfekte olan hücrelerin lize olması sonucu gelişen hücre dejenerasyonuna bağlı dökülmeler meydana gelmekte ve bu hücrelerin yerlerini olgunlaşmamış mukoza

epitel hücreleri almaktadır. İnce bağırsaktaki bu değişiklikler, villilerin boylarının kısılması ve birbirleriyle birleşmeleri sonucu villus atrofisinin şekillenmesine yol açmaktadır. Kalın bağırsağın yüzeysel epitel hücrelerinde de dejenerasyon ve dökülme sonucu mukozal erozyonlar şekillenmektedir (72, 76).

Histopatolojik muayenede, ince bağırsak villus epitel hücrelerinin ve kolon yüzeysel epitel hücrelerinin yerini yassı, kübik ve prizmatik epitel hücrelerinin aldığı görülür ve şiddetli enfeksiyonlarda tam dökülme sahaları tespit edilebilir. Bu değişiklikler kadeh (goblet) hücrelerinin azalması ile birlikte gözlenir. Scanning elektron mikroskopi (SEM) ile yapılan incelemelerde her bir bağırsak hücresi üzerindeki mikrovillusların uzunluğunda ve aralıklarında değişiklikler olduğu gösterilmiştir (72). Viral antijen ayrıca villusların lamina propriasında ve mezenterik lenf düğümlerindeki makrofajlarda da saptanmıştır (72, 76).

Barsakların mukozal epitel hücrelerinde BCoV'un etkisiyle meydana gelen dejenerasyon ve bunların yerine geçen olgunlaşmamış hücreler nedeni ile bağırsakların emilim kapasitesi oldukça düşer. Bu hücreler, normal sekretorik aktivitelerin azalmasına bağlı olarak bağırsak lümenindeki sıvı hacminde aşırı bir artışa yol açmakta ve sindirimde rol alan enzimleri salgılayamamalarından dolayı bağırsağın sindirim kapasitesinin azalmasına neden olmaktadır. Bunun neticesinde bağırsak lümeninde biriken hazmedilmemiş laktöz, mikrobiyal aktivitenin aşırı artışına sebep olmakta ve bağırsaklarda fazla miktardaki sıvı birikimi lümeninde ozmotik dengesizliğe yol açmaktadır. Sindirim ve emilim kapasitelerinde meydana gelen azalmaya bağlı olarak ortaya çıkan ishal, sıvı ve elektrolit kaybına neden olmaktadır. Şiddetli enfeksiyonlarda; ishalle beraber dehidrasyon, asidoz ve hipoglisemi ortaya çıkmakta, akut şok ve kalp yetmezliğine bağlı olarak ölümler gerçekleşmektedir (72).

## **2.8. Kinik Belirtiler**

İshal olsun veya olmasın her yaştaki sığırın dışkı ve bağırsak örneklerinden virusun tespiti yapılabilmektedir (17, 25, 72, 78). Bununla beraber buzağuların BCoV ile intestinal kanal enfeksiyonlarına oldukça duyarlı oldukları dönem genellikle yaşamlarının ilk 3-21. günleridir (20). Deneysel enfeksiyonlarda inkubasyon süresi 20-36 saattir (79). Bovine coronavirusun yol açtığı enteritlerin şiddeti, buzağının yaşına, virusun enfektif dozuna, immunolojik durumuna, kolostrum alıp almamasına ve virusun suşuna göre

değişiklik göstermektedir. Enfeksiyon sonucu ishal; sarı renkli, sulu, bazen mukuslu ve nadiren kanlı olur ve 3-6 gün devam eder. Virus bu süre zarfında dışkıda tespit edilebilir. Buzağılar enfeksiyonun akut safhasında durgun, iştahsız ve buna bağlı olarak hayvanda kilo kaybı, tüylerde düzensizlik ve keçeleşme görülür. Eğer ishal şiddetli ise ateş ve dehidrasyon görülebilir. Buzağuların çoğunluğu, herhangi bir komplikasyon görülmediği takdirde iyileşebilirler. İshal şiddetli olursa dehidrasyon ve dolaşım yetmezliğinden hayvanlar ölebilir. BCoV'un meydana getirdiği tüm bu semptomlar, buzağılarda intestinal kanalı etkileyen diğer bir viral etken olan rotavirus enfeksiyonunda gözlenen semptomlara benzerlik göstermektedir (72).

### **2.9. Teşhis**

Enterik BCoV enfeksiyonları genellikle dışkı örneklerinin virolojik muayenesi ile teşhis edilmektedir. Bu amaçla kullanılan yöntemlerden bir tanesi, dışkı örneklerinin elektron mikroskopik (EM) muayenesidir (69, 81-83). Fakat virusun pleomorfik morfolojiye sahip olması ve örneklerde hücresel membranlar, organeller ve bakteriyofajlar gibi virus benzeri partiküllerin karışma olasılığının yüksek olması sebebi ile direkt elektronmikroskopi (DEM) ile teşhis zor olabileceği gibi sonuçların bazen doğrulanması gerektiği de bildirilmektedir (23, 84). Bunun yanında yüksek ekipman maliyeti, teşhisin dışkıdaki viral partikül sayısına bağlı olması, örneklerin incelenmesinin uzun zaman alması, deneyimli araştırmacı gereksinimi gibi dezavantajları da vardır (18, 85).

Bovine coronavirusların bir başka tanı tekniği de ishalin başlamasından sonra 1-4.günlerde otopsi yapılan buzağılardan alınan spiral kolon parçalarının dondurulduktan sonra immunofloresan (IF) testine tabi tutulmasıdır (79). Ancak, postmortem tanı amacıyla kullanılabilmesinden ve taze materyale gereksinim duyulmasından dolayı bu metodun rutin amaçlar için pek uygun olmayacağı belirtilmektedir (18, 86). Bununla beraber direkt IF tekniği enfekte buzağuların nazal epitel hücrelerinde bovine coronavirus antijenlerini aramak için kullanılan yaygın bir metot olarak karşımıza çıkmaktadır (64, 78). İmmunohistokimyasal yöntemle teşhiste, peroksidaz enzimi ile konjuge edilmiş spesifik antikolar enfekte hücrelerin stoplazmasında bulunan virüs ve/veya viral antijenlere bağlanarak hücre stoplazmasının boyanması neticesinde ışık mikroskop yardımı ile antijen tespitine olanak sağlamaktadır (87, 88).

Bovine coronavirus hemagglütinasyon (HA) yapabilme kabiliyetine sahip

olduğundan HA testide teşhis amacıyla kullanılmaktadır (89, 84). Hemaglutinasyon testi kolay uygulanabileceğine rağmen, dışkı örneklerinin spesifik olmayan hemaglutininleri içermesi ve hemaglutinasyon olayının ortam ısısına bağlı olarak değişkenlik göstermesi çoğu zaman hatalı sonuçlara neden olduğundan, pratikte veya rutin tanıda pek kabul görmemektedir (85).

BCoV enfeksiyonlarının direkt teşhisinde en yaygın olarak kullanılan tanı testi ELİSA'dır. Bu konuda gerçekleştirilen araştırmalarda poliklonal (81, 85) ve monoklonal (67, 68, 85, 90-92) antikorlar kullanılarak yapılmıştır.

Bovine coronavirusun hücre kültürlerine adaptasyonunun zor olması sebebiyle, hücre kültüründe virus izolasyonu yöntemi nadiren uygulanmaktadır. Ancak virus izolasyonundaki problemlere rağmen BCoV'unun, primer trake (18), bağırsak, human rektal tümör-18 (HRT-18), African green monkey (Vero) ve Madin Darby bovine kidney (MDBK) hücre kültürlerinde (93) çoğaldığı gözlenmiştir. Bu hücre kültürlerinden HRT-18'in sığır, köpek, insan ve hindi enterik coronaviruslarına son derece duyarlı olduğu bildirilmiştir (19, 20, 66, 90).

Vero, MDBK, bovine fetal tiroid (BFT), bovine fetal beyin (BFB) ve bovine embriyonik akciğer (BEL) ve HRT-18 hücre kültürlerinde BCoV'nun primer olarak çoğaltılması vasata sonradan tripsin ilavesiyle artırılabilir (83, 93, 94). Tripsin ilavesi, coronavirusların biyolojik fonksiyonlarında önemli rolü olan S glikoproteininin S1 ve S2 alt ünitelerine ayrışmasına neden olmaktadır. Ortaya çıkan S1 virusun hücre reseptörlerine bağlanmasında, S2 ise hücre füzyonunun gerçekleşmesinde görev almaktadır (95). Virus hücre kültürlerine yapılan ilk pasajlarda genellikle tam bir CPE oluşturmadan çoğalmakta, daha sonraki pasajlarda ise syneytium ve hücre dökülmesi ile karakterize bir CPE oluşumu gerçekleşmektedir. Bu CPE oluşumu virus suşu ve konakçı hücre tipine göre değişkenlik göstermekte olup yine tripsin ilavesi ile hem CPE hem de plak oluşumu artırılabilir (1, 72). Hücre kültürlerinde viral çoğalma; çoğunlukla CPE oluşumu, immunofloresans ve hemadsorbsiyon testleriyle veya enfekte hücrelerin süpernatantlarının elektron mikroskopisi ile gösterilmektedir (18, 24, 93).

Bovine coronavirusun Nebraska (NCDV) suşu MDBK hücre kültürlerinde idame vasatına pankreatin ilavesi sonucu başarıyla çoğaltılmıştır. BCoV'unun saha izolatları ise vasata tripsin ilavesiyle primer bovine kidney ve Vero hücrelerinde çoğaltılmış olup, tanı örneklerinden virus izolasyonu ve virusun kantitatif olarak tespitinde bu hücre tiplerinden

faýdalanılabileceđi bildirilmiřtir (93).

Son zamanlarda polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi nazal ve fekal örneklerde BCoV enfeksiyonlarının teşhisinde başarıyla kullanılmaktadır (92, 96, 97). Bu testin ELİSA ya göre daha duyarlı ve özgül olduğu bildirilmiş olup, özellikle subklinik enfeksiyonların teşhisinde son derece duyarlı ve faydalı bir test olduğu vurgulanmıştır (66). Cho ve ark. (96) Amerika'da yaptıkları bir çalışmada, antijen-capture ELİSA tekniği ile karşılaştırıldığında RT-PCR tekniğinin 50, nested PCR tekniğinin 5000 kez daha duyarlı olduğunu bulmuşlar ve geliştirdikleri PCR testlerinin nazal ve fekal örneklerde BCoV'u tespit etmede son derece duyarlı ve özgül testler olduğunu saptamışlardır. Özellikle nested PCR yöntemi ile örneklerde çok az dahi olsa virusun saptanabilmesinden dolayı buzağılarda ve sığırlarda BCoV enfeksiyonlarının teşhisinde kullanılmasının çok yararlı olacağını bildirmişlerdir.

Bovine coronavirus enfeksiyonlarının serolojik testi için, nötralizasyon testi (65, 98) ve indirekt ELİSA (99, 74) yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalarda, çoğu buzağı ve yetişkin sığırların kan serumlarında BCoV'a karşı antikora sahip oldukları bildirilmiştir (73). Alenius ve ark. (99) Yapmış oldukları araştırmalarda yetişkin sığırların BCoV'una karşı genellikle seropozitif olduğunu bildirirken, Atterhem ve ark. (100) buzağılarda enfeksiyonun bu yolla tespitinin maternal antikorlardan dolayı zor olduğunu kaydetmişlerdir.

## **2.10. Tedavi**

Bovine coronavirusun neden olduğu enteritisten etkilenen buzağılar, ishallerin diğer formlarını tedavi etmek için kullanılan standart metotlar ile tedavi edilmektedir. Tedavide amaç, dehidrasyon ve asidoza yol açan sıvı ve elektrolit kaybını yerine koymaktır. Kullanılan sıvılar dengeli elektrolit solüsyonları olmalı ve bunlar oral ya da intravenöz yollarla verilmelidir. Etkilenmiş hayvanlar sağlıklı olanlardan ayrılıp, temiz altlıklı ılık yerlerde tutulmalıdır (72).

## **2.12. Koruma ve Kontrol**

Bovine coronavirus ishallerine karşı korunma, kan dolaşımında sirküle olan antikorlardan ziyade bağırsak lümeninde yeterli düzeyde spesifik antikorların varlığına bağlıdır (101). Buzağılarda bu lokal immunité, annelerden kolostrum ve sütün alınması

ile pasif olarak elde edilir. Kolostrum ve sütteki predominant antikor IgG'dir. Laktal sekresyonlardaki BCoV spesifik antikorların seviyesi doğum sırasında çok yüksek olup daha sonra hızla düşer. Buzağıda pasif olarak kazanılan immunitenin süresi, mukoza epitel hücreleri tarafından absorbe edilmiş antikorların bağırsak lümenine resekresyonu ve intestinal mukozanın yüzeyine antikorların tutunması ile uzatılmaktadır.

Doğal enfeksiyonu takiben buzağılarda virusa karşı aktif immunité gelişir. Bu olaydan sorumlu olan antikorlar, mukozal yüzeyde enfeksiyonlara karşı hayvanları koruyan IgA antikorlarıdır (72).

Bovine coronavirusa karşı buzağuların immun cevabının saptanması ve BCoV enfeksiyonlarına karşı korunmada bu cevabın değerlendirilmesi amacıyla saha şartlarında da araştırmalar yapılmıştır. Kapalı yetiştirme yapılan sütçü bir sürüde doğal BCoV enfeksiyonu sonucu buzağuların yaşamlarının 2. haftasında önce güçlü bir IgM cevabı gözlenmiş, daha sonra 4. haftaya kadar sırasıyla IgA, IgG1 ve IgG2 antikor cevabı gerçekleşmiştir (78).

Hassas buzağuların immun durumlarını kuvvetlendirmek için ya pasif immunité seviyesini artırmak amacıyla gebe sığırların paranteral olarak ya da aktif immunitéyi uyarmak amacıyla yeni doğan buzağuların oral olarak aşılanması gereklidir (72, 102). Attenué canlı BCoV aşıların oral inokulasyonu uygulamalarında kolostrum almayan buzağuların enfeksiyondan korunduğu deneysel olarak saptanmasına rağmen saha denemelerinde etki sağlanamamıştır. Bu durumun, muhtemelen aşı virusunun bağırsakta pasif olarak kazanılmış maternal antikorlar tarafından nötrale edilmesi ya da yeni doğan buzağuların immun sistemlerinin henüz tam olarak gelişmemesi nedeniyle oral aşılara karşı yeterli immun cevabın verilememesinden kaynaklanabileceği bildirilmektedir (72).

Aşılamanın yanı sıra buzağulara uygun bakım beslemenin yapılması, sürüdeki taşıyıcı sığırların ve buzağuların tespiti bunların sürüden ayrılması gibi yetiştirme teknikleri de enfeksiyonu önleyebilmektedir (69, 70).

### 3.MATERYALVE METOT

#### 3.1.Gaita Örneklerinin Toplanması

Çalışmada kullanılan materyaller Şanlıurfa merkez ve ilçelerinden toplandı. Enterit problemi duyumu alınan küçük aile işletmeleri ve diğer işletmeler ziyaret edildi (tablo 3.1).

**Tablo 3.1.** Gaita örneklerinin toplanma tarihleri ve çiftlik kodlarına göre dağılımı.

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

Muayene edilen ve ishal semptomu gözlemlenen üç aylık ve daha küçük 94 holstein ırkı buzağıdan gaita örneklendi (Tablo 3.2). Örnekleme sırasında cinsiyet ayırımı yapılmadı.

**Tablo 3.2.** Yaş gruplarına göre örnekleme dağılımı

Yaş	Örneklenen Gaita sayısı
1-7 gün	5
8-14	2
15-21	13
22-30	57
31-60	17
<b>Toplam</b>	<b>94</b>

Örnekleme direkt steril eldiven yardımı ile anüsten gaita alınarak yapıldı (şekil 3.1). Ticari steril gaita kaplarına aktarılan numuneler, Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı laboratuvarında -20<sup>0</sup>C’de muhafaza edildi.



Şekil 3.1.Örnekleme yapılan hayvanlar ve barınma ortamları (Özgün: Ramazan Abikoğlu)

### 3.2. Gaita örneklerinde ticari ELISA ile BCoV antijen varlığının araştırılması

Virolojik teşhis amacıyla ticari ELISA (Bio-X Easy Digest 2 ELSA Kit, kat. No: BIO K 314/1, Belgique) kiti kullanıldı. Tetkikler üretici firma tarafından gönderilen prosedüre uygun şekilde yapıldı (şekil 3.2).



Şekil 3.2. Ticari ELISA kiti Özgün: (Ramazan Abikoğlu)



Ticari ELISA BCoV antijen teşhis kiti (kat. No: BIO K 314/1), üretici firma tarafından belirtilen yönerge doğrultusunda kullanıldı. Öncelikle bütün ticari kit içeriği teste başlamadan 1 saat önce oda sıcaklığında (yaklaşık 24°C) tutuldu. Bu süre sonunda derin dondurucudan alınarak oda ısısına getirilmiş olan gaita örnekleri ependorf tüplerine alınıp eşit hacimde sulandırma solüsyonu ile sulandırıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Doğal olarak çökelen gaita santrifüj uygulanmadan üst kısmındaki içerikten, poşetinden çıkartılan ve işaretlenen mikropleytin her bir kuyucuğuna bir örnek olacak şekilde 100 µl konularak pipete edildi. Pozitif kontrol ve negatif kontrol için ayrılan ve işaretlenmiş olan kuyucuklara test kitinde kullanıma hazır içerikten 100 µl bırakıldı. Test pleytinin kapağı kapatılarak oda sıcaklığında bir saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda pleyt baş aşağı edilerek içeriği boşaltıldı ve temiz bir emici kağıt üzerine konuldu ve içeriğin iyice uzaklaştırılması sağlandı. Ardından, prosedürde önerildiği şekilde hazırlanan yıkama solüsyonu her kuyucuklara 300 µl ilave edilerek 3 kez yıkama yapıldı. Her bir yıkama aşamasında hafifçe çalkalanan pleyt içeriği boşaltıldı. Daha sonra pleyt bir kâğıt havlu üzerine ters çevrilerek bağlanmayan test materyalinin ortamdan uzaklaştırılması sağlandı.

Kullanıma hazır konjugat her bir göze 100'er µl ilave edildi. Pleytler, oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda 3 kez yıkama işlemi tekrarlandı. Kromojen solüsyonu her bir göze 100'er µl ilave edildi. Test pleyti, oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda 10 dk süre ile inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda, her bir göze 50'şer µl stop solüsyonu ilave edilerek reaksiyonun durdurulması sağlandı. ELISA okuyucusu ile 450 nm dalga boyunda elde edilen OD değerleri kit prosedüründe bulunan formüle göre değerlendirilerek sonuçlar yorumlandı.

#### 4.BULGULAR

ELISA ile yapmış olduğumuz tetkikler neticesinde çalışmamızda yer alan ishali buzağılardan 5'inde (%5,32) coronavirus antijeni tespit edilirken, 89'unda (%94,68) ise coronavirus antijeni yönünden negatif olarak tespit edilmiştir. Çiftlik bazında değerlendirildiğinde örnekleme yapılan çiftliklerden 3 adedinde coronavirus varlığı belirlenmiştir. Veriler tablo 4.1'de özetlendi (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1.** Çiftliklere göre Bovine Coronavirus (BCoV) ELISA Sonuçları.

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

Yenidoğan diareli buzağuların yaş gruplarına göre coronavirus antijen pozitif dağılımları incelendiğinde (tablo 4.2); pozitif olgularının ilk haftada 1 (%20) ve 4. haftada 4 (%7.02) olduğu, ikinci ve üçüncü haftalarda ile 31 gün ve daha büyük yaşa sahip buzağılarda ise pozitiflik tespit edilememiştir.

**Tablo 4.2.** Yaş gruplarına göre Coronavirus pozitif buzağı sayısı ve dağılımı

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

Pozitif buzağuların yaşı göz önünde bulundurulduğunda; bir buzağının iki günlük, bir tanesinin 25 ve 3 buzağının bir aylık olduğu gözlemlendi. Pozitif bulunan buzağuların yaşlarının toplamı 117 gün ve 5 buzağıda antijen varlığı ortaya konulduğundan ( $117/5=23.4$ ), bovine coronavirus antijeni yönünden pozitif olan buzağuların yaş ortalaması 23,4 gün olarak saptandı (Tablo 4.3).

**Tablo 4.2.** Pozitif buzağuların yaş ortalaması

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

## 5.TARTIŞMA

Şanlıurfa ili, Güneydoğu Anadolu projesi (GAP) kapsamında önemli bir yere konulmuştur. Sulama projeleri ve buna bağlı tarımsal üretim ve bitki çeşitliliği artırılmış ve bunun neticesinde hayvansal üretimin de artırılması hedeflenmektedir. Şanlıurfa yöresinde hayvancılık koyun, keçi ve sığır yetiştiriciliğine dayanmaktadır. Sığır yetiştiriciliği hem sütçü hem de besi yetiştiriciliği şeklinde olup küçük aile işletmeleri ve sayısı az da olsa entansif işletmeler bulunmaktadır. Sığır yetiştiriciliği hangi yönlü olursa olsun çeşitli faktörlerden meydana gelen hayvan kayıpları ekonomik olarak önemlidir. Meydana gelen kayıpların önemli bir bölümü ise ilk bir ay içinde meydana gelen buzağı ölümleridir. Öneme binaen yenidoğanların ishali (neonatal calf diarrhea) olarak isimlendirilmiştir. Buzağı kayıplarına neden olan neonatal buzağı ishalleri doğumdan sonraki ilk saatlerden başlamak üzere ve yaşamın ilk birkaç ayında etkilidir. Neonatal calf diarrhea etiyolojisinde; *E. coli*, *Cl. perfringens*, *Salmonella spp.*, *Camphylobacter jejuni* ve *Chlamydia spp.* benzeri bakteriyel, rotavirus, coronavirus, parvovirus, adenovirus, astrovirus, calicivirus gibi viral, *Coccidia*, *Giardia*, *Cryptosporidium* gibi parazitler nedenler rol oynamaktadır (85, 103-107).

Yenidoğan buzağı ishalleri ile ilgili yapılan birçok çalışmada sıklıkla BCoV varlığının saptandığı bildirilmiştir (20, 23, 108-112). Yenidoğan buzağuların ishal olgularında coronavirus varlığının ve neden olduğu ekonomik kayıplar dünyanın farklı ülkelerinde yapılan birçok araştırmada bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan ve yedi yıllık bir periyodu kapsayan, 2 kaynağın ele alındığı çalışmada yeni doğan buzağı ishalleri nedeniyle yıllık ortalama buzağı kayıpların %17,5 ve %29,7 oranlarında coronavirus nedenli olduğu, aynı çalışmada ekonomik kaybın mali bilançosu yapılmış ve yeni doğan buzağı ishalleri nedeniyle yıllık ortalama maddi kayıpların 95 milyon dolar olduğu ve bunun 16,7 milyon \$ kadarı coronavirus nedenli diare enfeksiyonları sebebiyle oluştuğu vurgulanmıştır (113).

Abraham ve ark. (107) çalışmalarında 108 ishalleri buzağıda beş farklı enterik patojenin varlığını araştırmış, bovine coronavirusun %38,9 oranı ile enteropatojen ajanlar arasında ilk iki sırada yer aldığını ifade etmişlerdir. Athanassious ve ark. (23) diareli buzağılardan elde ettikleri toplam 197 dışkı örneğini ELISA ve direkt EM yöntemleri ile inceledikleri çalışmada BCoV antijen varlığını %11,17 (22/197) olarak tespit ederken,

yenidoğanların ishal olgularında coronavirus oranını %22,68 (22/97) olarak tespit etmiş ve ishal olgularının en önemli patojenleri arasında coronavirusları bildirmişlerdir. İspanya'da ishali buzağılardaki enteropatojenlerin yaygınlığı üzerine yapılan bir çalışmada, PAGE yöntemiyle %7,3 oranında BCoV pozitifliği saptadıklarını bildirmişlerdir (105). İspanya'da yapılan diğer bir çalışmada ise ishali buzağılardan elde ettikleri dışkıları inceleyen Garcia ve ark. (109) buzağılarda yakın oranda coronavirus varlığı bildirmişlerdir ve %5.05 (11/218)'lik pozitif tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Izzo ve ark. (110) Avustralya'daki ishali buzağılarda enteropatojenik ajanların dağılımı üzerine yaptıkları araştırmalarında %21 oranında BCoV saptamışlardır. Arjantin'de ise, Bok ve ark. (111) 17 yıllık bir periyotta elde ettikleri 1058 ishali dışkı örneğini RT-PCR ile yaptıkları tetkiklerinde buzağuların 63'ünde BCoV varlığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, Şanlıurfa merkez ve ilçelerden toplanan 94 adet ishali buzağı dışkısı ELISA tekniği ile BCoV varlığı yönünden araştırıldı. Ticari kitin prosedürüne uygun olarak hazırlandıktan sonra ELISA tekniği ile incelenen 94 adet ishali buzağıya ait gaita örneğinden %5,32'sinde (5/94) coronavirus antijen varlığı belirlendi. Araştırmada belirlenen oranlar daha önce yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, De La Fuente ve ark. (105) verilerine oldukça yakın ancak diğer bilim insanlarının verilerinden oldukça düşük olduğu görülmektedir. Bu çalışmada belirlenen oranların düşük olması, diğer araştırmalarda örnekleme yaptıkları çiftliklerin 100 baş ve üzeri kontrollü yetiştiriciliğin yapıldığı sığır çiftliklerinden olmasına bağlanabilir. İshale sebep olan enfeksiyonların buzağular arasındaki yayılımının sürü büyüklüğüyle de bağlantılı olabileceği göz önüne alındığında, toplanan örneklerin bir kısmının halk elindeki küçük tarz bireysel işletmelerden, bir kısmının ise 100 baş ve üzeri büyük tarz çiftliklerden sağlanmış olması dikkate alınmalıdır.

Ülkemizde BCoV'a yönelik yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (25, 91, 114-120). Alkan (91) Türkiye'de ishali buzağı dışkılarında rotavirus ve coronavirus varlığını belirlemek amacıyla yaptığı bir çalışmada, 83 adet ishali buzağıdan elde ettiği dışkı örneklerinde %18 oranında BCoV yönünden pozitiflik tespit ederek, epidemiyolojik açıdan yaptıkları değerlendirmede etkenin ülkemizdeki durumunun yaygın olduğunu bildirmiştir. Takip eden yıllarda da ülkemizdeki enteropatojenik ajanlar çok sayıda araştırmacı tarafından birçok çalışma ile araştırılmış olup farklı sonuçlar elde edilmiştir. Eskiizmirli ve ark. (114) ishali buzağılarda %13'ünde coronavirus etkenini

saptamışlardır. Erdoğan ve ark. (115) ise Kars bölgesinde yenidoğan buzağılardaki BCoV yaygınlığını belirlemek için 104'ü ishali 43'ü normal buzağı dışkısını ELISA ile antijen varlığı yönünden incelemişler ve ishali buzağuların %1'inde BCoV yönünden pozitiflik tespit etmişlerdir. Hasırcıoğlu (116), Malatya ili, halk elindeki 58 ahırda yer alan, yaşları 3 gün ile 6 ay arasında değişen 63 adet ishali buzağıdan ve bunların annelerinden elde ettiği örnekler ile yaptığı çalışmada, ishal semptomu gösteren 63 adet buzağıya ait dışkı örneklerinden 2 adedinde (%3,18) coronavirus antijen varlığı tespit etmişlerdir. Antijen tespit edilen iki buzağının yaş ortalamasını 7,5 gün olarak bildirmektedir. Hasöksüz ve ark. (25) 1 ile 30 günlük diare semptomu gösteren 35 buzağıdan 13 (%37,1)'ünde coronavirus tespit etmişlerdir. Çabalar ve ark. (117) Van'da 1 ile 30 günlük ishali 89 buzağıdan alınan dışkı örneklerinin 1'inde (%1,12) coronavirus belirlemişlerdir. Gumusova ve ark. (118) ise Türkiye'nin farklı yerlerinden topladıkları 100 adet sağlıklı ve ishali buzağılardaki dışkuları ELISA ile antijen varlığı yönünden inceledikleri bir çalışmada %1 oranında BCoV antijen pozitifliği saptadıklarını bildirmişlerdir. Ok ve ark. (121) Konya yöresindeki 8 farklı çiftlikten 2-30 günlük olan 82'si ishal ve 18'i normal İsviçre-holstein olan buzağılardan yaptıkları örneklemede yenidoğanların enterik etiyolojisini incelemiş ve ishal semptomlu buzağılarda rotavirus için %28,84 (15/52), coronavirus için %13,41 (11/82), E. Coli için %21,15 (11/52) pozitiflik tespit etmişlerdir. Yavru ve ark. (2016) Burdur yöresinde yerleşik 25 farklı sütçü sığır işletmesinde bulunan 3500 sığır ve yavrusunun klinik muayenesi neticesinde ishal bulgusu tespit ettikleri 184 buzağıya ait gaita örnekledikleri çalışmada aynı zamanda bu yavrular ve annelerinden serolojik çalışma için kan örneklemiştir. Yaşları 2-6 ay arasında olan bu buzağılara ait gaita örnekleri ELISA yöntemi ile yapılan tetkiklerinde %0,54 (1/184) pozitiflik tespit etmişlerdir. İlave, indirekt ELISA ile yaptıkları serolojik çalışmada annelerin 172/183 (%93,99) ve buzağılarda da 172/183 (%93,99) antikor (Ab) pozitif (+) bulundu. Saklı (120) ise Konya ve Afyon çevresindeki bölgelerden ishali buzağılarda BCoV yaygınlığını inceledikleri çalışmalarında RT-PCR ve hızlı tanı kiti ile 96 adet dışkı örneğinden 13'ü (%13,54) BCoV yönünden pozitif olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada serolojik veriler olmadığından bir karşılaştırma yapılamamıştır ancak ELISA yöntemi ile yaptığımız çalışmada elde etmiş olduğumuz %5,32 oranı, Yavru ve ark. (119) bildirdikleri verilerden yüksek görülmektedir. Ancak elde edilen antikor düzeyleri iki aydan yaşlı bireylerin BCoV'u daha erken yaşta geçirmiş olabilecekleri şeklinde

yorumlamışlardır. Bu çalışmada örneklenen buzağuların çoğunluğu 1 aydan küçük buzağuları kapsadığından bu görüş ile uyumlu ve destekler mahiyette olduğu görülmektedir.

Ülkemizde BCoV'a yönelik çalışmalar daha çok bir il veya bir bölgeyi kapsamakta olup farklı sayıda örneklemeler ile yapılan çalışmalarda değişik teknikler kullanılmıştır. Bu çalışmalar değerlendirildiğinde; elde ettiğimiz coronavirus antijen pozitifliği (%5,32) araştırmacılardan; (91) %18, (25) %37,1, (114) %13, (120) %13,56 olarak bildirdikleri değerlerden oldukça düşük olduğu görülmektedir. Öte yandan diğer araştırmacıların elde ettiği; (115) %1, (117) %1,12, (118) %1 sonuçlardan yüksek olarak görülmekte ise de yakın değerler olduğu gözlemlenmektedir. Bu çalışmada elde ettiğimiz değer ve diğer çalışmalarda tespit edilen oranların bu şekilde farklı olması çeşitli faktörler ile açıklanabilir. Bu etkenler arasında örneklemelerin yapıldığı bölgelerin farklı olması, o bölgenin iklim, coğrafik konum ve bu bölgelerdeki hayvancılık yetiştirme tarzının birbirinden oldukça farklı olmasına bağlanabilir. Ayrıca elde ettiğimiz sonuç farklı yörelerde coronavirus yaygınlığının birbirinden çok farklı olduğuna işaret etmektedir. Türkiye'nin değişik illerinde bulunan kamuya ait işletmelerden temin edilen örnekler ile yapılan bir çalışmada, yetiştiricilik tarzları aynı olmasına rağmen ayrı bölgelerdeki illerden olması dışında çok az bir fark bulunan bu işletmelerde coronavirus farklı oranlarda tespit edilmiştir (91). Yine yaptıkları çalışmalarda dışkı örneklerini, Erdoğan ve ark. (115)) ve Çabalar ve ark. (117)'nin Doğu Anadolu bölgelerinden toplarken, Hasöksüz ve ark. (25) Ege bölgesinden örnekleme yapmış, Saklı (120) ise Konya ve Afyon çevresindeki bölgeden örnekleme yapmış ve farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Bu veriler görüşümüzü desteklemektedir. Bu çalışmanın planlama aşamasında ve çalışmanın sonuçlandığı günümüze kadar olan süre içinde yapılmış olan literatür tarama çalışmalarında Şanlıurfa yöresinde yapılmış olan ve coronavirus çalışmış olan bir araştırmaya ulaşılmıştır. Alkan (91) Şanlıurfa il sınırları içinde bulunan bir kamuya ait işletmeden 6 adet ishali buzağıdan örnekleme yapmış ve yaptığı tetkiklerde örneklerin tamamının negatif olduğunu tespit etmiştir. Bu bağlamda yapılan çalışmanın yöreye yönelik değerli bir bilgi kaynağı olacağı kanısına varılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların Alkan (91) verilerinden yüksek oranlarda bulunduğu gözlenmektedir. Bu durum her iki örnekleme yapılan işletmelerin farklı karaktere sahip olmasının yanında bu

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

Bovine coronavirus ishal etkenleri olup enfeksiyonları genellikle genç hayvanlarda görülmektedir. Dünyada yapılmış çalışmalar göstermektedir ki BCoV'un neden olduğu buzağı ishalleri yaşamın ilk bir ayında yaygın görülmektedir. Radostits (122) BCoV enfeksiyonlarının genellikle 5-21 günler arasında görüldüğünü bildirmektedir. Garcia ve ark. (109). İspanya'da ishalleri buzağılarda çeşitli enteropatojenlerin yaygınlığını inceledikleri çalışmalarında yaş gruplarına göre pozitiflik oranlarını BCoV için sırasıyla 1-7 günlük buzağılarda %26,67 (8/30), 8-14 günlüklerde %3,85 (1/26), 15-21 günlüklerde %4,35 (1/23), 22-30 günlük buzağılarda ise %7,14 (1/14) olarak bildirmişlerdir. Al Mawly ve ark. (123) Yeni Zelanda'da süt besisi çiftliklerindeki 1283 adet ishalleri buzağılarda ELISA ile enteropatojenlerin varlığını belirledikleri çalışmada, yaş gruplarına göre pozitiflik oranlarını BCoV için ise 1-5 günlük buzağılarda %5,4, 9-21 günlük buzağılarda %6,1 olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada yaş gruplarına göre pozitiflik; 1-7 günlük buzağılar için %20,0 (1/5), 8-14 günlükler için %0,0, 15-21 günlükler için %0,0, 22-30 günlük buzağılar için ise %7,02 (4/57) ve 31 günlük ve daha yaşlı buzağılar için ise %0,0 (0/17) olarak belirlenmiştir. Bu veriler Garcia ve ark. (109) ile kıyaslandığında elde edilen değerlerin 1-7 yaş grubunda oldukça yakın olmasına rağmen diğer yaş gruplarından ise oldukça düşük olduğu, Al Mawly ve ark. (123) 1-7 günlük pozitiflerin daha yüksek iken aksine 8-14 günlük veriler ise düşük olarak görülmektedir. Bu durum bu çalışmada coronavirus pozitifliğinin diğer çalışmalara göre oldukça düşük olması ve örnekleme yaptığımız buzağıların ekseri 21-30 günlük olması etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca çalışmalarda yeni doğmuş buzağıların yaşamlarının ilk haftasında enfeksiyona karşı oldukça duyarlı oldukları vurgulanmış olup BCoV ile enfekte olan buzağıların ortalama yaşlarını Alkan (91) 13 gün olarak tespit ederken, Saklı (120) ise 1-30 günlük ishal semptomları gösteren buzağılardan örnekleme yapmış ve dışkı örneklerinde BCoV varlığı tespit edilen buzağıların ortalama yaşlarının 14,5 gün olduğunu belirlemiştir. Bu çalışmada 1 günden 2 aya kadar yaşlara sahip BCoV yönünden pozitif olarak tespit edilen buzağıların ortalama yaşları daha önce hayvanların yaş ortalamasını inceleyen diğer araştırmacıların (91, 109, 115, 120) sonuçlarıyla karşılaştırıldığında bu çalışmada elde edilen 23,4 yaş ortalamasının daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni örnekleme



yapılan buzağuların diğer faktörler ile birlikte yaş gruplarının sayısal dağılımının da etkili olabileceği düşünülmüştür. Tablo 2.2 incelendiğinde; bu çalışmada toplanan örneklerin büyük bir çoğunluğu (57/94) 21-30 günlük buzağulardan oluşmaktadır ve pozitiflik buzağı sayısının 4/5 (%80) bu yaş grubundandır. Buna rağmen 0-7 günlük buzağuların örnek sayısı diğer yaş gruplarına göre daha az olsa da BCoV için en yüksek pozitiflik (%20) bu yaş grubunda tespit edilmesi yukarıda söz edilen çalışmaların verilerini desteklemektedir.

Alkan (91) bu durumun buzağuların annelerinden aldıkları kolostrumla ilgili olabileceğini ifade etmiştir. Alkan (91) ortalama enfeksiyon yaşının etkilendiği en önemli etkenlerden birisinin maternal immünite olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada örnek alınan buzağuların genellikle annelerinden kolostrum aldığı bilinmektedir. Bu da çalışmada örnek alınan buzağuların annelerinden aldıkları kolostrumun maternal immüniteyi uyardığı ve çalışmada belirtilen yaşlara göre pozitiflik oranlarına etki ettiğini göstermiştir.

Yenidoğanların BCoV enfeksiyonuna karşı korunmaları sağlamak için, gerekli bakım ve beslemenin yapılmasının yanında, hijyen şartlarının sağlanması, yenidoğanların kolostrum ve süt alması, hastalığın yoğun olarak belirlendiği işletmelerde aşılama programlarının uygulanmaya konulması önemlidir. Coura ve ark. (108) Brezilya’da sağlıklı ve ishelli sığırların bulunduğu bir süt sığırı işletmesinde enteropatojenik ajanları belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada %68,6 (46/67) oranında BCoV yönünden pozitiflik bildirmişlerdir. Coura ve ark. (108) ishal etkeni olan enteropatojenik ajanların en yaygın olarak ilk 3 hafta içinde saptanabildiğini tespit etmişler, üreticilerin ve veterinerlerin buzağı ishallerini azaltmak için biyogüvenlik, immünite, iyi beslenme koşulları ve hayvan refahı gibi noktalarda gerekli önlemleri alması gerektiğini bildirmişlerdir.

Yenidoğanların BCoV enfeksiyonlarından korunmasında annelerin aşılması oldukça önemli olduğunu vurgulayan araştırmacılar Bovine Rotavirus (BRV) ile birlikte alışıla yapılmasının daha faydalı olacağını önermektedir. Maternal immünite ile ilgili olarak yapılan birçok çalışmada (124-126) aşılama müteakip annenin serum antikor titresinin artış olması ve bu aşılama annelerin buzağularının diğer buzağulara oranla hastalanma oranlarının azalmasını yanında, hastalanan buzağularda da enfeksiyonun daha az şiddette geçmesinin yanında, süresi ve neticelenmesi yönünden de olumlu sonuçlar bildirilmiştir Alkan ve ark. (127) da Rotavirus ve Coronavirus aşısı uygulanan

annelerin buzağlarının hastalanma oranları %30 iken aşı uygulanmayan annelerin doğan buzağlarının hastalanma oranlarının daha yüksek olduğunu (%54,5) bildirmişlerdir.

Bovine coronavirus enfeksiyonlarına ait klinik belirtiler tanıda kesin kriter değildir. Ayrıca diğer patojenlerle miks enfeksiyon oluşturmaktadır. Bu sebeple virolojik, serolojik, patolojik veya histopatolojik etken teşhisin önemi büyüktür. Bu nedenlerden dolayı BCoV'un sahada hızlı tanısı ve veteriner teşhis laboratuvarlarında çabuk ve etkili test teknikleri ile tespiti önemlidir. Hızlı teşhis, epidemiyolojik verilere çabuk ulaşmanın hızlı tanı testleri önemli avantajları vardır. Bu ihtiyaca yönelik son yıllarda saha şartlarında daha avantajlı olan hızlı immunokromatografik testler yardımıyla yaklaşık olarak 10-15 dakika gibi kısa bir sürede buzağı dışkısında farklı enteropatojenlerin teşhisi yapılarak, profilaksi ve tedavi planlaması yapılabilmektedir (128). Teşhisin hızlı konulması ile hastalığın benzer klinik semptomlara yol açan diğer enfeksiyonlardan ayırıcı tanısında yapılacak laboratuvar tetkiklerini azaltıp, hastalığın ekonomik yükünü de azaltır.

Fakat avantajlarının yanında yapılan hızlı tanı testlerinin duyarlılığının düşük olması yanlış sonuçların görülmesine neden olur. Cho ve ark. (65) bovine enterik patojenlerini belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, ticari hızlı tanı kitlerini mutipleks PCR metoduyla karşılaştırmışlardır. Hızlı testlerin sensitivitesini BCoV için %60, olarak bulmuşlardır. Bu nedenle de özgünlük ve duyarlılık bakımından hızlı tanı testlerinin dikkatle yorumlanması gerektiğini ve kesin yorum için yetersiz olduğu belirtilmiştir.

Saklı (120) Günümüzde veteriner saha hekimlerinin BRV ve BCoV başta olmak üzere diğer virus kaynaklı enfeksiyonların hızlı bir şekilde tespit edebilmeleri ve buna uygun olarak bir tedavi programına başlayabilmeleri için hızlı tanı kitlerinin kullanımı faydalı olduğu, ancak yaptıkları çalışmada Saklı (120) elde ettikleri veriler ışığında hızlı tanı kitlerinin özellikle BCoV varlığının belirlenmesinde yetersiz kaldığı gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda Şanlıurfa yöresinde yeni doğan buzağuların ishal etkenlerinden birinin de coronaviruslar olduğu teyit edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen oran (%5.32) ise düşük olarak değerlendirmiştir. Bununla birlikte gerekli tedbirlerin alınmaması durumunda bu oranın rahatlıkla yükselebileceği ve neonatal ölümlerin artmasında coronavirusların etkili olabileceği uzak bir ihtimal olarak görülmemelidir.
2. Yeni doğmuş buzağuların enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmaları yeterli değildir. İneklerde annedan fetusa antikör geçişi plasentanın yapısı nedeniyle olmadığından, buzağular doğduklarında antikör düzeyi yönünden yetersizdir. Yavruya doğumdan sonra en kısa sürede yeterli miktarda kolostrum içirilmesi diğer patojenler ile birlikte coronaviruslara karşı da yavruyu koruyarak ölümleri azaltacaktır.
3. Coronaviruslar yetişkin sığırlarda çoğunlukla subklinik seyretmekte ve bu hayvanlar ve klinik enfekte hayvanların gaita ve idrarları diğer hayvanların yem ve sularını kontamine ederek enfeksiyonun yayılmasına neden olmaktadır. Gıdaların kontaminasyonunu engellemek için gerekli hijyen tedbirlerinin alınması ekonomik kayıpları azaltacağı düşünülmektedir.
4. Coronavirus ishalleri doğumdan hemen sonra meydana gelebilmekte bu nedenle yavruya aşı uygulaması bir fayda sağlamaz. Bununla birlikte, annenin aşılınması neticesinde annelerde oluşturulan yüksek antikörler, doğum sonrası yeni doğmuş buzağulara kolostrum vasıtası ile aktarılmasının buzağuları coronavirus enfeksiyonlarına karşı korumada önemli derecede rol oynayabileceği düşünülmektedir.
5. Sonuç olarak; neonatal buzağuların enterit olgularının etiyolojisinde birden fazla etkenin rol oynadığı ve bu etkenlerin birlikte enfeksiyon oluşturması, çözümün tek yönlü olmadığını göstermektedir. Bu sebeple, ishal etkenlerine karşı koruma amaçlı önlem olarak, yavruya kolostrum içirilmesi, buzağuların bakım ve besleme şartlarının düzeltilmesi, yetiştiricilerin eğitilmesi ve işletmelerde gebe ineklere coronavirus aşısının yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Mostl K. Coronaviridae, Pathogenetic and clinical Aspects: An Update, *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 1990; 13(4): 169-180.
2. Oxford JS, Bossurt S and Lam. A new infectious disease challenge: Urbani severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus, *Immunology* 2003; 109: 326-328.
3. Holmes KV and Enjuanes L. *Virology*, The SARS coronavirus: a postgenomic era, *Science* 2003; 300: 1377-1378.
4. Perlman S. and J. Netland. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7(6): 439-450.
5. Barker, S.C. *Desk Encyclopedia of General Virology*. 2008. p. 445-453.
6. Perlman S. and Dandekar A.A. Immunopathogenesis of coronavirus infections: implications for SARS. *Nat Rev Immunol* 2005; 5(12): 917-927.
7. White DO, Fenner FJ. *Medical Virology*. 4th ed. California: Academic Press Inc; 1994.
8. Gagneur A, Vallet S, Talbot PJ, Legrand-Quillien MC, Picard B, Payan C, Sizun J. Outbreaks of human Coronavirus in a paediatric and neonatal intensive care unit. *Eur J Pediatr* 2008; 167 (12): 1427-1434.
9. Theamboonlers A, Samransamruajkit R, Thongme C, Amonsin A, Chongsrisawat V, Poovorawan Y. Human Coronavirus infection among children with acute lower respiratory tract infection in Thailand. *Intervirology* 2007; 50 (2): 71-77.
10. Gerna G, Passarani N, Battaglia M, Rondanelli EG. Human enteric Coronaviruses: antigenic relatedness to Human Coronavirus OC43 and possible etiologic role in viral gastroenteritis. *J Infect Dis* 1985; 151: 796-803.
11. Lu G, Hu Y, Wang Q, Qi J, Gao F, Li Y et al. Molecular basis of binding between novel human coronavirus MERS-CoV and its receptor CD26. *Nature* 2013; 500(7461): 227-31.
12. Lai MMC, Perlman S, Anderson LJ Coronaviridae. In Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 1305-1335.

13. Holmes KV, Lai MMC. Coronaviridae: The Viruses and Their Replication. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al, editors. *Fundamental Virology*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996. p. 541-559.
14. Geo F, Brooks KCC, Butel JS, Stephen A, Jawetz M. Coronaviruses. Melnick, & Adelberg's *Medical Microbiology*. 26th ed. Vol. 41. 2016. p.613-618.
15. Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, Nix WA, Campagnoli R, Icenogle JP et al. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science* 2003; 300(5624): 1394-1399.
16. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*. 2015; 1282: 1-23.
17. Saif LJ. Animal coronaviruses: What can they teach us about the severe acute respiratory syndrome. *Rev sci tech off int Epiz* 2004; 23: 643-660.
18. Bridger JC, Woode GN, Meyling A. Isolation of coronaviruses from neonatal calf diarrhoe in Great Britain and Denmark. *Vet Microbiol* 1978; 3: 101-113.
19. Reynolds DJ, Morgan JH, Chante N, Jones PW, Bridger JC, DebneyTG, Bunch KJ. Microbiology of calf diarrhoea in southern Britain. *Veterinary Record* 1986; 119: 34-39.
20. Tsunemitsu H, Yonemichi H, Hirai T, Kudo T, Oneo S, Mort K, Shimizu M. Isolation of bovine coronavirus from feces and swabs of calves with diarrhea. *J Vet Med Sci* 1991; 53(3): 433-437.
21. Durham PJK, Hasard LE, Armstrong KR, Naylor JM. Coronavirus-associated diarrhea (Winter dysentery) in adult cattle. *Can Vet J* 1989; 30: 825-827.
22. Benfield DA and Saif LJ. Cell culture propagation of a coronavirus isolated from cows with winter dysentery. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1454-1457.
23. Athanassious R, Marsolais G, Assaf R. Detection of bovine coronavirus and type A rotavirus in neonatal calf diarrhea and winter dysentery of cattle in Quebec Evaluation of three diagnostic methods. *Can Vet J* 1994; 35: 163-169.
24. McNulty MS, Brryson DG, Allan GM, Logan EF. Coronavirus infection of the bovine respiratory tract. *Vet Microbiol* 1984; 9: 425-434.
25. Hasöksüz M, Kayar A, Dodurka T, Ilgaz A. Detecton of respiratory and enteric shedding of bovine coronaviruses in cattle in Northwestern Turkey, *Acta Veterinaria Hungarica* 2005; 53(1): 137-146.

26. Fukutomi T, Tsunemitsu H and Akashi H. Detection of bovine coronaviruses from adult cows with epizootic diarrhea and their antigenic and biological diversities. *Arch Virol* 1999; 144: 997-1006.
27. Hasöksüz M, Lathrop S, Al-dubaib MA, Levis P and Saif LJ. Antigenic variation among bovine enteric coronaviruses (BECV) and bovine respiratory coronaviruses (BRCV) detected using monoclonal antibodies. *Arch Virol* 1999; 144: 2441-2447.
28. Hasöksüz M, Lathrop SL, Gadfield KL and Saif LJ. Isolation of bovine respiratory coronaviruses from feedlot cattle and comparison of their biological and antigenic properties with bovine enteric coronaviruses. *Am J Vet Res* 1999; 60: 1227-1233.
29. Kapil S, Richardson KL, Maag TR and Goyal SM Characterization of bovine coronavirus isolates from eight different states in the USA. *Vet Microbiol* 1999; 67: 221- 230.
30. Cavanagh D, Brien DA, Brinton M, Enjuanes L, Holmes KV, Horzinek MC et al. Revision of the Taxonomy of the Coronavirus, Torovirus and Arterivirus Genera. *Archives of Virology* 1994; 135(1-2): 227-237.
31. Holmes KV. Coronaviruses. In Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 1187-1204.
32. McIntosh K, Anderson LJ. Coronaviruses, Including Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)-associated Coronavirus. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005. p. 1990-2003.
33. Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, Skalka AM. *Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses*. 2nd ed. Washington D.C: ASM Press; 2004.
34. Saif LJ. Animal Coronaviruses: Lessons for SARS. In Knobler S, Mahmoud A, Lemon S, Mack A, Slutsky L, Oberholtzer K, editors. *Learning from SARS: Preparing for the Next Disease Outbreak*. Washington D.C: National Academies Press; 2004. p. 138-149.
35. Lau SKP, Woo PC, Li KS, Huang Y, Tsoi HW, Wong BH et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *PNAS* 2005; 102: 14040-14045.
36. Poon LL, Chu DK, Chan KH, Wong OK, Ellis TM, Leung YH et al. Identification of a novel Coronavirus in bats. *J Virol* 2005; 79 (4): 2001-2009.

37. Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC and Studdert MJ. *Veterinary Virology*, Academic Press; California: USA 1999.
38. Siddell SG, Ziebuhr J, Snijder EJ. Coronaviruses, Toroviruses and Arteriviruses. In Mahy BW, ter Muelen V, editors. *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 10th ed. London: ASM Press; 2005. p. 823-856.
39. Akan E. Genel ve Özel Viroloji. İzmir: Saray Medikal Yayıncılık 1994
40. Siddell S, Wege H, Meulen MT. The biology of coronaviruses. *J Gen Virol* 1983; 64 (4): 761-776.
41. Murray PR, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Medical Microbiology*. 5th ed. Pennsylvania: Elsevier Mosby Press; 2005.
42. Makino S, Stohlman SA, Lai MMC. Leader sequences of murine Coronavirus mRNAs can be freely reassorted: evidence for the role of free leader RNA in transcription. *P Natl Acad Sci USA*. 1986; 83: 4204-4208.
43. Spaan W, Cavanagh D, Horzinek MC. Coronaviruses: structure and genome expression. *J Gen Virol* 1988; 69: 2939-2952.
44. Brian DA, Hogue BG, Kienzle TE. The Coronavirus Hemagglutinin Esterase Glycoprotein. In Siddell SG, editor. *The Coronaviridae*. New York: Plenum Press; 1995. P. 165-179.
45. Haijema BJ, Volders H, Rottier PJ. Switching species tropism: an effective way to manipulate the feline coronavirus genome. *J Virol* 2003; 77: 4528-4538.
46. Rottier PJ, Nakamura K, Schellen P, Volders H, Haijema BJ. Acquisition of macrophage tropism during the pathogenesis of feline infectious peritonitis is determined by mutations in the feline coronavirus spike protein. *J Virol* 2005; 79: 14122-14130.
47. Murphy FA, *Virus Taxonomy an Update*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 1994; 10: R2-R3.
48. Thiel V. *Coronaviruses: molecular and cellular biology*. Caister Academic Press, Norfolk, UK. 2007.
49. Denison MR. Coronavirus Research: Keys to Diagnosis, Treatment and Prevention of SARS. In Knobler S, Mahmoud A, Lemon S, Mack A, Sluitz L, Oberholtzer K, editors. *Learning from SARS: Preparing for the Next Disease Outbreak*. Washington D.C. National Academies Press; 2004. p. 149-157.

50. Pfeleiderer M, Routledge E, Herrler G, Siddell SG. High level transient expression of the murine Coronavirus haemagglutinin-esterase. *J Gen Virol* 1991; 72: 1309-1315.
51. Topçu AW, Yumuk Z. Coronaviruslar ve Ağır Akut Solunum Yetmezliği Sendromu (SARS). Topçu AW, Söyletir G, Doganay M, editörler. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Sistemlere Göre enfeksiyonlar*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. s. 1759-1768.
52. Hasöksüz M, Lathrop S, Al-dubaib MA, Lewis P, Saif LJ. Antigenic variation among Bovine Enteric Coronaviruses (BECV) and Bovine Respiratory Coronaviruses (BRCV) detected using monoclonal antibodies. *Arch Virol* 1999; 144 (12): 2441-2447.
53. Sturman LS, Holmes KV, Behnke J. Isolation of Coronavirus envelope glycoproteins and interaction with the viral nucleocapsid. *J Virol* 1980; 33: 449-462.
54. Liu DX, Yuan Q, Liao Y. Coronavirus envelope protein: a small membrane protein with multiple functions. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64 (16): 2043-2048.
55. An S, Chen CJ, Yu X, Leibowitz JL, Makino S. Induction of apoptosis in murine Coronavirus-infected cultured cells and demonstration of E protein as an apoptosis inducer. *J Virol* 1999; 73: 7853-7859.
56. Yang Y, Xiong Z, Zhang S, Yan Y, Nguyen J, Ng B et al. Bcl-xL inhibits T-cell apoptosis induced by expression of SARS Coronavirus E protein in the absence of growth factors. *Biochem J* 2005; 392: 135-143-1
57. Siddell S. *The coronaviridae*. Plenum, New York; 1995 London. p.181-189
58. Weiss SR, Navas-Martin S. Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2005; 69(4): 635-664.
59. Masters PS, Perlman S. *Coronaviridae*. In *Fields Virology*, Knipe DM, Howley PM, et al, editors. *Fields Virology*. 6rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 2014. p. 825-858.
60. Saif LJ. Bovine Respiratory Coronavirus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2010; 26(2): 349-364.
61. Bergmann CC, Lane TE, Stohlman SA. Coronavirus infection of the central nervous system: host-virus stand-off. *Nat Rev Microbiol* 2006; 4: 121-132.
62. Pyrc K, Berkhout B, Van Der Hoek L. Antiviral strategies against human Coronaviruses. *Infectious disorders- drug targets* 2007; 7: 59-66.



63. Mebus CA, Stair EL, Rhodes MB and Twiehaus MJ. Neonatal calf diarrhea: Propagation, attenuation, and characteristics of a coronavirus, like agent. *AM J Vet Res* 1973; 34: 145-150.
64. Saif LJ, Redman DR, Moorhead PD, Theil KW. Experimentally induced coronavirus infections in calves: Viral replication in respiratory and intestinal tracts. *Am J Vet Res* 1986; 47(7): 1426-32.
65. Cho Y I, Sun D, Cooper V, Dewell G, Schwartz K, Yoon K J. Evaluation of a commercial rapid test kit for detecting bovine enteric pathogens in feces. *J Vet Diagn Invest* 2012; 24(3): 559-562.
66. Hasöksüz M, Hoet AE, Loerch SC, Wittum TE, Nielsen PR and Saif LJ. Detection of respiratory and enteric shedding of bovine coronaviruses in cattle in an Ohio feedlot. *J Vet Dagn Invest* 2002; 14: 308-313.
67. Crouch CF, Raynbould TJ and Acres SD. Monoclonal antibody capture ELISA for detection of bovine enteric coronavirus. *J Clin Microbiol* 1984; 19: 388-393.
68. Crouch CF, Bielefeldt Ohmann H, Watts TC, Babluk LA. Chronic shedding of bovine enteric coronavirus antigen-antibody complexes by clinically normal cows. *J Gen Virol* 1985; 66: 1489-1500.
69. Collins JK, Riegel CA, Olson JD and Fountein A. Shedding of enteric coronavirus in adult cattle. *Am J Vet Res* 1987; 48(3): 361-365.
70. Bulgin MS, Ward ACS, Barrett DP and Lane VM. Detection of rotavirus and coronavirus shedding in two beef cow herds Idaho. *Can Vet J* 1989; 30: 235-239.
71. Benfield DA and Saif LJ. Cell culture propagation of a coronavirus isolated from cows with winter dysentery. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1454-1457.
72. Clark MA. Bovine Coronavirus. *Br Vet J* 1993; 149(1): 51-70.
73. Saif LJ. A review of evidence implicating bovine coronavirus in the etiology of winter dysentery in cows: An enigma resolved. *Cornell Vet* 1990; 80: 303-311.
74. Traven M, Björnerot L and Larsson B. Nationwide survey of antibodies to bovine coronavirus in bulk milk from Swedish dairy herds. *Vet Record* 1999; 144: 527-529.
75. Cho K-O, Hoet AE, Loerch SC, Wittum TE and Saif LJ. Evaluation of concurrent shedding of bovine coronavirus via the respiratory tract and enteric route in feedlot cattle. *Am J Vet Res* 2001; 62(9): 1436-1441.

76. Milli ÜH ve Hazıroğlu R. Bağırsağın viral hastalıkları “Veteriner Patoloji”, 84, Özkan Matbaacılık 1.Cilt, 2000 Ankara.
77. Ikemori Y, Otha M, Umeda K, Icatlo Jr FC, Kuroki M, Yokoyama H et al. Passive protection of neonatal calves against bovine coronavirus-induced diarrhea by administration of egg yolk or colostrum antibody powder. *Vet Microbiol* 1997; 58: 105-11.
78. Heckert RA, Saif LJ, Myers GW and Agnes AG. Epidemiologic factors and isotypespecific antibody responses in serum and mucosal secretions of dairy calves with bovine coronavirus respiratory tract and enteric tract infections. *Am J Vet Res* 1991; 52 (6): 845-851.
79. Mebus CA. Neonatal calf diarrhea virus. In: *Virus Infections of Ruminants*. Ed. By Z Dinter and B Morein Elsevier Science Publishers. The Netherlands 1990; 297-300.
80. Gül Y. Yeni doğan buzağılarda ishal ile seyreden infeksiyöz hastalıklar. *Veteriner* 1999; 48-54.
81. Reynolds DJ, Chasey D, Scott AC and Bridger JC. Evaluation of ELISA and electron microscopy for detection of coronavirus and rotavirus in bovine faeces. *Vet Rec* 1984; 114: 397-401.
82. De Rycke J, Bernard S, Lporte J, Naciri M, Popoff MR and Rodolakis A. Hy Prevalence of various enteropathogens in the feces of diarrheic and healthy calves. *Ann Rech Vet* 1986; 17: 159-168.
83. Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC and Studdert MJ. *Veterinary Virology*, Academic Press, California, USA; 1999.
84. Schoenthaler SL and Kapil S. Development and applications of a bovine coronavirus antigen detection Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6: 130-132.
85. Czerny CP and Eichhorn W. Characterization of monoclonal and polyclonal antibodies to bovine enteric coronavirus: Establishment of an efficient ELISA for antigen detection in feces. *Vet Microbiol* 1989; 20: 111-122.
86. Carman PS and Hazlett MJ. Bovine coronavirus infection in Ontario, 1990-1991, *Can Vet J* 1992; 33: 812-814.
87. Van Kruiningen HJ, Khairallah LH, Sasseville VG, Wyand MS and Post JE. Calfhood coronavirus enterocolitis: A clue to the etiology of winter dysentery. *Vet Pathol* 1987; 24: 564-567.

88. Zhang Z, Andrews GA, Chard-Bergstrom C, Minocha HC and Kapil S. Application of immunohistochemistry and in situ hybridization for detection of bovine coronavirus in paraffin-embedded, formalin-fixed intestines. *J Clin Microbiol* 1997; 35(11): 2954-2955.
89. Gaber F and Kapil S. Development of antigen spot test for detection of coronavirus in bovine fecal samples. *Clin Diag Lab Immunol* 1999; 6: 542-544.
90. Sato M and Akashi H. Detection of bovine coronavirus by ELISA using monoclonal antibodies. *J Vet Med Sci* 1993; 55 (5): 771-774.
91. Alkan F. Buzağı ishallerinde rotavirus ve coronavirusların rolü. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1998; 45(1): 29-37.
92. Hasöksüz M, Sreevatsan S, Cho KO, Hoet AE, Saif LJ. Molecular analysis of the S1 subunit of the spike glycoprotein of respiratory and enteric bovine Coronavirus isolates. *Virus Res* 2002; 84: 101-109.
93. Saif LJ, Heckert RA, Miller KL and Tarek MM. Cell culture propagation of bovine coronavirus. *J Tiss Cult Methods* 1988; 1: 139-145.
94. Toth TE. Trypsin-enhanced replication of neonatal calf diarrhea coronavirus in bovine embryonic lung cells. *Am J Vet Res* 1982; 43: 967-972.
95. Holmes KV, Lai MMC. Coronaviridae: The Viruses and Their Replication. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al, editors. *Fundamental Virology*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996. p. 541-559.
96. Cho K-O, Hasöksüz M, Nielsen PR, Chang K-O, Lathrop S and Saif LJ. Crossprotection studies between respiratory and calf diarrhea and winter dysentery coronavirus strain in calves and RT-PCR and nested PCR for their detection. *Arch Virol* 2001; 146: 2401-2419.
97. Hasöksüz M, sreevatsan S, Cho K-Oh, Hoet AE and Saif LJ. Molekular Analysis of the S1 subunit of spike glycoprotein of respiratory and enteric bovine coronavirus isolates. *Virus Research* 2002; 84: 101-109.
98. Alkan F, Bilge-Dağalp S, Can-Şahna K, Özgünlük İ. Sığırlarda coronavirus enfeksiyonlarının epidemiyolojisi. *Ankara Üniv. Vet. Derg.* 2003; 50: 59-64.
99. Alenius S, Niskanen R, Juntti N and Larsson B. BCV as the causative agent of winter dysentery: Serological evidence. *Acta Vet Scand* 1991; 32(2): 163-170.

100. Atterhem K, Fossum C, Traven M, Linde N, Naslund K and Larsson B. Type 1 interferon and virus-specific IgA and IgM antibodies as an aid in the diagnosis of ongoing infections in calves. *Swedish J Agric Res* 1996; 26: 101-104.
101. Crouch CF, Oliver S, Hearle DC, Buckley A, Chapman AJ and Francis Mj. Laktogenic immunity following vaccination of cattle with bovine coronavirus. *Vaccine* 2001; 19: 189-196.
102. Saif LJ. Coronaviruses immunogens. *Vet mikrobiol*, 1996; 37: 235-297.
103. Al M, Balıkcı E. Neonatal İshalli Buzağlarda Rotavirus, Coronavirus, E. coli K99 ve *Cryptosporidium parvum*'un Hızlı Test Kitleri ile Teşhisi ve Enteropatojen ile Maternal İmmünite İlişkisi. *F.Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg* 2012; 26 (2): 73- 78.
104. Baljer G, Wieler L. Etiology, pathogenesis and immunoprophylaxis of calf neonatal diarrhea. *Vet J* 1989; 5: 18-26.
105. De la Fuente R, Garcia A, Ruiz-Santa-Quiteria JA. Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain. *Prev Vet Med* 1998; 36: 145-152.
106. Gulliksen SM, Jor E, Lie KI, Hamnes IS, Løken T, Akerstedt J, Osteras O. Enteropathogens and risk factors for diarrhea in norwegian dairy calves. *J Dairy Sci* 2009; 92: 5057–5066.
107. Abraham G, Roeder PL, Zewdu R. Agents associated with neonatal diarrhoea in Ethiopian dairy calves. *Trop Anim Hlth Prod* 1992; 24: 74-80.
108. Coura FM, Freitas MD, Ribeiro J, De Leme RA, De Souza C, Alfieri A. Heinemann MB. Longitudinal study of *Salmonella* spp. Diarrheagenic *Escherichia coli*, Rotavirus, and Coronavirus isolated from healthy and diarrheic calves in a Brazilian dairy herd. *Trop Anim Health Prod* 2015; 47(1): 3-11.
109. Garcia A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Orden JA, Cid D, Sanz R, Gómez-Bautista M, de la Fuente R. Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 2000; 23: 175- 183.
110. Izzo MM, Kirkland PD, Mohler VL, Perkins NR, Gunn AA, House JK. Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Aust Vet J* 2011; 89(5): 167-173.
111. Bok M, Miño S, Rodriguez D, Badaracco A, Nuñez I, Souza SP et al. Molecular and antigenic characterization of bovine Coronavirus circulating in Argentinean cattle during 1994–2010. *Vet Microbiol* 2015; 7122, 9.

112. Al Mawly J, Grinberg A, Prattley D, Moffat J, Marshall J. and French N. Riskfactors for neonatal calf diarrhoea and enteropathogen shedding in New Zealand dairy farms. *Vet. J* 2015b; 203: 155-60.
113. House TA. Economic impact of rotavirus and other neonatal disease agent of animals. *J Am VetMed Assos* 1978; 173: 573-576.
114. Eskiizmirli SN, Öncel T, Beyazıt A, Mısırlıoğlu OZ. Türkiye'nin değişik illerindeki ishallerde buzağularda rotavirus, coronavirus ve cryptosporidiosis yayılımı. *Vet Hek Mikrobiyal Derg* 2001; 2: 35-42.
115. Erdoğan HM, Ünver A, Güneş V. Çitil M Kars. Kars yöresindeki Neonatal Buzağularda Rotavirus ve Coronavirus Yaygınlığı. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg* 2003; 9 (1): 65-68.
116. Hasırcıoğlu S. Buzağularda Enterik Bovine Coronavirus Enfeksiyonlarının Araştırılması ve Epidemiyolojide Klinik Olarak Sağlıklı Sığırların Rolü. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji (Vet) Anabilim Dalı 2005, Konya.
117. Çabalar M, Kaya A, Arslan S. Yeni doğan buzağuların ishal olgularında rotavirus ve coronavirus araştırılması. *Vet Bil Derg* 2007; 23 (3-4): 103-106.
118. Gümüşova SO, Yazıcı Z, Albayrak H, Meral Y. Rotavirus and coronavirus prevalence in healthy calves and calves with diarrhea. *Medycyna Wet* 2007; 63: 62-64.
119. Yavru S, Yapıcı O, Kale M, Sahinduran S, Pehlivanoglu F, Albay MK, Avcı O. Bovine coronavirus (BoCV) infection in calves with diarrhoea and their dams. *Acta Scientiae Veterinariae* 2016; 44: 01-07.
120. Saklı GU. İshallerde Buzağı Dışkılarında Sığır Coronavirusu ve Sığır Rotavirusunun Hızlı Tanı Kiti ve RT-PCR ile Araştırılması. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü 2017, Konya.
121. Ok M, Güler L, Turgut K, Ok U, Sen I, Gündüz IK, Birdane MF, Güzelbekteş H. The Studies on the Aetiology of Diarrhoea in Neonatal Calves and Determination of Virulence Gene Markers of Escherichia coli Strains by Multiplex PCR. *Zoonoses Public Health* 2009; 56: 94–101.
122. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW. *Veterinary Medicine A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. Philadelphia Saunders 2007; p. 673-762.
123. Al Mawly J, Grinberg A, Prattley D, Moffat J, French N. Prevalence of endemic enteropathogens of calves in New Zealand dairy farms. *New Zealand Veterinary Journal* 2015; 63(3): 147-152.

124. Kohara J, Hirai T, Mori K, Ishizaki H, Tsunemitsu H, Enhancement of passive immunity with maternal vaccine against newborn calf diarrhea. *J Vet Med Sci* 1997; 59: 1023-1025.
125. Snodgrass DR. Diarrhoea in dairy calves reduced by feeding colostrum from cows vaccinated with rotavirus. *Res Vet Sci* 1982; 32: 70-73.
126. Kohara J, Tsunemitsu H. Correlation between maternal serum antibodies and protection against bovine rotavirus diarrhea in calves. *J Vet Med Sci* 2000; 62: 219-221.
127. Alkan F, Burgu İ, Şahna KC, Çokçalışkan C. Yenidoğan buzağı ishallerine karşı ticari aşı ile aşılanan sığırlardan doğan yavrularda pasif bağışıklık düzeyi. *AÜ Vet Fak Derg* 2004; 51: 47-53.
128. Klein D, Kern A, Lapan G, Evaluation of rapid assays for the detection of bovine coronavirus, rotavirus A and *Cryptosporidium parvum* in faecal samples of calves. *Vet J* 2009; 182: 484-486.

## 8.EKLER

### 8.1.Etik kurul belgesi



Sayı : 2016/21

Konu : Yerel Etik Kurul Kararı

10/06/2016

**DOLLVET A.Ş.**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**  
**(DOLLVET-HADYEK)**

Sayın: Yrd. Doç. Dr. İrfan ÖZGÜNLÜK

02.06.2016 tarihinde kurulumuza yapmış olduğunuz “ Şanlıurfa İlindeki İshalli Buzağılarda Coronavirusların ELİSA Yöntemi ile Araştırılması ” isimli HÜBAK projenizde yapacağınız hayvan denemeleri kurulumuza taahhülle bulunduğunuz çerçevede dâhilinde olması şartı ile uygun bulunmuştur.

Dr. Hüseyin ZENGİN  
Sorumlu Yönetici

**Ek:**

- Karar onayı

Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretim Sanayi ve Ticaret A.Ş.

Tel: +90 414 3691133 • Fax: +90 414 3691662 • Gsm: +90 533 6900 26 • 1. Organize Sanayi Bölgesi 8. Cad. No: 3 ŞANLIURFA

Ticaret Sicil No: 6776/9048 • Mersis: 0 3100 3407 6700 012

www.dollvet.com.tr • dollvet@dollvet.com.tr

**DOLLVET A.Ş.**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (DOLLVET-HADYEK)**

**Karar No :** 2016/21  
**Konu :** Yerel Etik Kurul Kararı

02.06.2016 tarihinde kurulumuza yapmış olduğunuz “ Şanlıurfa İlindeki İshalli Buzağılarda Coronavirusların ELISA Yöntemi ile Araştırılması ” isimli HÜBAK projenizde yapacağınız hayvan denemeleri kurulumuza taahhülle bulunduğunuz çerçevede dâhilinde olması şartı ile uygun bulunmuştur.

Yapılan başvuru formunun incelenmesi sonucu çalışmanın uygun olduğu görüşüne oy birliğince karar verilmiştir.

Dr. Hüseyin ZENGİN  
Sorumlu Yönetici

Hülya KAPLAN  
Veteriner Hekim  
Deney Hayvanları Üretim ve  
Araştırma Laboratuvarı  
Sorumlusu

Dr. Nilay ÜNAL  
Veteriner Hekim  
Kalite Güvence Birimi  
Sorumlusu

Cahit BAYBURS  
Veteriner Hekim  
Üretim Sorumlusu

Müzeyyen KENDİRCİ  
Veteriner Hekim  
Kalite Kontrol Birimi  
Sorumlusu

Rojda KIZILTAŞ  
Veteriner Hekim  
Hayvan Refahı Birimi  
Sorumlusu

İbrahim YAŞAR  
Biyolog  
Bakteriyel Aşılar Üretim  
Laboratuvarı

Ramazan ABİKOĞLU  
Biyolog  
Paraziter Aşlar Üretim  
Laboratuvarı Sorumlusu

Ahmet Özgür YAHLİZEDE  
Veteriner Hekim  
Damızlık Sığır Yetiştiricileri  
Birliği Üyesi  
Sivil Üye ( T.C. Vatandaşı )

Aziz YALÇIN  
Veteriner Hekim  
Süt Üreticileri Birliği Üyesi  
Sivil Üye ( T.C. Vatandaşı )



## 8.2.Orijinallik Raporu



T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

### TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ

<b>Öğrencinin</b>	
Numarası	: 145334001
Adı, Soyadı	: Ramazan ABİKOĞLU
Anabilim Dalı (Bölümü)	: VİROLOJİ (VETERİNER)
Programı	: <input checked="" type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora
Tezin Adı:	<b>Şanlıurfa İlindeki İshalli Buzağularda Coronavirusların ELISA Yöntemi ile Araştırılması</b>

### SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yukarıda başlığı belirtilen **Yüksek Lisans Tez** çalışmamın; *kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç* kısımlarından oluşan toplam ...36..... sayfalık kısmına ilişkin,22/07/2019. tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, benzerlik oranı %..5'tir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç
- 3- Alıntılar hariç
- 4- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yukarıda bilgileri verilen tezin, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından kabul edilen lisansüstü orijinallik raporu alınması uygulama esasları ile belirlenen azami benzerlik oranlarını aşmadığını ve bütün bilgilerin, akademik kurallara uygun olarak toplanıp sunulduğunu, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları andığımı, blok şeklinde alıntılar yapmadığımı ve tüm alıntılarım bilimsel atıf kuralları çerçevesinde kaynağını gösterdiğimi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ile Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesinin 8. maddesinde yer alan etik ihlallerden her hangi birisinin yer almadığını, etik ihlal tespiti halinde, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca, diplomamın iptal edilmesini kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim. 22/07/2019

#### Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı-Soyadı:

Ramazan BİKOĞLU

İmzası:

Yukarıda yer alan raporun ve beyanın doğruluğunu onaylarım. 22/07./2019

#### Danışmanın

Unvanı-Adı-Soyadı:

Dr Öğrt. Üyesi İrfan ÖZGÜNLÜK

İmzası:

### 8.3.Turnitin çıktısı

## ŞANLIURFA İLİNDEKİ İSHALLİ BUZAĞILARDA CORONAVİRUSLARIN ELISA YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

### ORJİNALLİK RAPORU

% <b>5</b>	% <b>5</b>	% <b>2</b>	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

### BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	<a href="http://www.igdir.edu.tr">www.igdir.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	%4
2	<a href="http://geb.uni-giessen.de">geb.uni-giessen.de</a> İnternet Kaynağı	<%1
3	<a href="http://scholarbank.nus.edu.sg">scholarbank.nus.edu.sg</a> İnternet Kaynağı	<%1
4	<a href="http://mdpi.com">mdpi.com</a> İnternet Kaynağı	<%1
5	<a href="http://www.ichastaliklarihemsireligi.com">www.ichastaliklarihemsireligi.com</a> İnternet Kaynağı	<%1
6	"Coronaviridae", Virus Taxonomy, 2012 Yayın	<%1
7	<a href="http://elib.tiho-hannover.de">elib.tiho-hannover.de</a> İnternet Kaynağı	<%1
8	<a href="http://patric.vbi.vt.edu">patric.vbi.vt.edu</a> İnternet Kaynağı	<%1

## 8.4. Tez veri giriş formu

23.07.2019


Ulusal Tez Merkezi | Tez Form Yazdır

T.C  
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10273071
Yazar Adı / Soyadı	RAMAZAN ABİKOĞLU
T.C.Kimlik No	53365639606
Telefon	5427107313
E-Posta	r.abikoglu@gmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	ŞANLIURFA İLİNDEKİ İSHALLİ BUZAĞILARDA CORONAVİRUSLARIN ELISA YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI
Tezin Tercümesi	INVESTIGATION OF CORONAVIRUSES BY ELISA METHOD IN DIARRHEIC CALVES IN SANLIURFA PROVINCE
Konu	Veteriner Hekimliği = Veterinary Medicine
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Viroloji Anabilim Dalı
Bilim Dalı	
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	0
Tez Danışmanları	DR. ÖĞR. ÜYESİ İRFAN ÖZGÜNLÜK
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	Coronavirus = Coronavirus ELISA = ELISA Buzağı ishali = Calf diarrhoea Şanlıurfa = Sanliurfa

23.07.2019

İmza: 

<https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezFormYazdir.isp?sira=0>

1/1