



**T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIĞIR SÜRÜLERİNDE SOLUNUM SİSTEMİ VİRUSLARININ  
ENFEKSİYON DİNAMİĞİNİN SEROLOJİK TAKİBİ VE KLİNİK OLGULARDAN  
VİRUS TESPİTİ**

**Pelin TUNCER**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Bursa-2013**



T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SİĞİR SÜRÜLERİNDE SOLUNUM SİSTEMİ VİRUSLARININ  
ENFEKSİYON DİNAMİĞİNİN SEROLOJİK TAKİBİ VE KLİNİK OLGULARDAN  
VİRUS TESPİTİ

Pelin TUNCER

(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Kadir YEŞİLBAĞ

Bursa-2013

## İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET	IV
İNGİLİZCE ÖZET	V
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV)	3
Parainfluenza Virus Tip 3 (PI-3)	5
İnfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis Virus 1 (Bovine Herpesvirus 1, BHV-1)	7
Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV)	10
Bovine Adenovirus Tip 3 (BAV-3)	13
Bovine Coronavirus (BCoV)	15
Tezin Amacı	17
GEREÇ ve YÖNTEM	18
GEREÇ	18
Örnekleme Yapılan İşletmeler	18
Örneklenen Hayvanlar	19
Etik Kurul İzin Belgesi ve Anket Formu	22
Kan Örnekleri	22
Svab Örnekleri	22
Akciğer Örnekleri	23
Hücre Kültürleri	24
Testlerde Kullanılan Kontrol Virusları	24
Ticari Antijen ELISA Kiti	27
İmmunoperoksidaz Testi	27
YÖNTEM	27
Serum Örneklerinin Hazırlanması	27
Svab Örneklerinin Hazırlanması	27

Doku Örneklerinin Hazırlanması	28
Hücre Kültürleri	28
Virusların Üretilmesi	28
Virus Titresinin Belirlenmesi	29
Serolojik Çalışmalar	29
Serum Nötralizasyon 50 (SN <sub>50</sub> ) Değerinin Belirlenmesi	29
Virolojik Çalışmalar	30
ELISA ile Antijen Tespiti	30
Virus İzolasyonu	31
İmmunoperoksidaz Testi	31
İstatistik Analiz	32
<b>BULGULAR</b>	<b>33</b>
Virusların Titre Değerleri	33
Anket Sonuçları	33
Serolojik Çalışmalar	36
Büyük Ölçekli İşletmelerde (Hayvan Sayısı >100) Elde Edilen Bulgular	36
İşletme 1'e Ait Bulgular	36
İşletme 2'ye Ait Bulgular	40
İşletme 3'e Ait Bulgular	44
A. Dört Aylık Yaşta Aşı Uygulanan Buzağılar	44
B. Dört Aylık Yaşta Aşı Uygulanmayan Buzağılar	47
İşletme 4'e Ait Bulgular	52
Orta Ölçekli İşletmelerde (20 < Hayvan Sayısı >100) Elde Edilen Bulgular	56
İşletme 5'e Ait Bulgular	56
İşletme 6'ya Ait Bulgular	60
Küçük Ölçekli İşletmelerde (20 < Hayvan Sayısı) Elde Edilen Bulgular	64
İşletme 7'ye Ait Bulgular	64
İşletme 8'e Ait Bulgular	68
İşletme 9'a Ait Bulgular	72
İşletme 10'a Ait Bulgular	76
Bulguların İşletme Büyüklüklerine Göre Değerlendirilmesi	80
Büyük Ölçekli İşletmelere Ait Bulgular	80
Orta Ölçekli İşletmelere Ait Bulgular	85

Küçük Ölçekli İşletmelere Ait Bulgular	89
Tüm Aşısız Buzağılara Ait Kümülatif Veriler	93
Yeni Enfeksiyonla Tanışan Buzağı Sayılarının Aylık Dağılımı	97
İstatistikî Analiz Sonuçları	99
İşletme Büyüklüklerine Göre Enfeksiyon Görülme Sıklığı	99
Dişi ve Erkek Buzağılarda Enfeksiyon Görülme Sıklığı	99
Aşılı ve Aşısız Buzağılarda Enfeksiyon Görülme Sıklığı	100
Buzağılara Maternal Antikor Geçişi	100
Klinik Bulguların Mevsimsel Dağılımı	100
Virolojik Çalışmalar	101
ELISA ile Antijen Tespiti Sonuçları	101
Dörtlü Antijen ELISA Sonuçları	101
BHV-1 Antijen ELISA Sonuçları	101
BVDV Antijen ELISA Sonuçları	101
Virus İzolasyon Sonuçları	104
İmmunoperoksidaz Testi (IPX) Sonuçları	105
BVDV Antijen ELISA ve İmmunoperoksidaz Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması	107
<b>TARTIŞMA ve SONUÇ</b>	109
Enfeksiyonların Aşısız Buzağı Popülasyonundaki Seyri	110
İşletme Büyüklüklerine Göre Enfeksiyon Görülme Sıklığı	115
Dişi ve Erkek Buzağılarda Enfeksiyon Görülme Sıklığı	116
Aşılı ve Aşısız Buzağılarda Enfeksiyon Görülme Sıklığı	117
Buzağılara Maternal Antikor Geçişi	118
Virolojik Çalışmalar	119
ELISA ve İmmunoperoksidaz Testi	119
Persiste Enfeksiyon Tespiti	121
Sonuç	123
<b>EK</b>	126
<b>KAYNAKLAR</b>	131
<b>TEŞEKKÜR</b>	144
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	145

## ÖZET

Bu tez çalışması ile Bursa'daki sığırlarda solunum yolu enfeksiyonuna neden olan önemli viral patojenlerden bovine respiratory syncytial virus (BRSV), bovine parainfluenza virus tip 3 (PI-3), bovine herpesvirus 1 (BHV-1), bovine viral diarrhoea virus (BVDV), bovine adenovirus tip 3 (BAV-3) ve bovine coronavirus (BCoV) enfeksiyonlarının dinamiklerinin ortaya çıkarılması; böylece araştırılan her bir etkene karşı mevcut maternal antikorların gerileme dönemleri ve işletmelerde uygulanması gereken optimum aşılama zamanlarının ortaya konulması hedeflenmiştir.

Bu amaçla serolojik çalışmalar için hayvan sayısına göre gruplanan işletmelerde aynı ay içinde doğan buzağılardan (n=112) yaşamlarının 1., 2., 3., 4., 6., 8., 10. ve 12. aylarında annelerinden ise 1. ay örnekleme sırasında kan örneği alındı. Virolojik çalışmalar için ise mezbahadan lezyonlu akciğer doku örnekleri ve hem çalışma kapsamındaki işletmelerde hem de civar işletmelerdeki bulunan solunum yolu enfeksiyonu klinik belirtileri gösteren buzağılardan göz ve burun svabları toplandı.

Antikor titrelerini belirleyebilmek için 8 defa örneklenen 112 hayvanın serum örneklerine serum nötralizasyon testi (SN<sub>50</sub>) uygulandı. Antijen tespiti amacıyla ticari ELISA kiti ile BRSV, PI-3, BVDV ve BHV-1 antijen taraması, virus izolasyonu ve nonsitopatojen BVDV suşlarının tespiti için immunoperoksidaz yöntemlerinden yararlanıldı.

Çalışma sonunda BRSV, PI-3, BVDV, BAV-3 ve BCoV'un buzağıları erken yaşta enfekte ettiği ve sürüdeki seronegatif buzağuların yıl boyunca enfeksiyonun sirkülasyonunda rol oynadığı belirlendi. BRSV, PI-3, BVDV, BAV-3'e karşı 3. ayda, BCoV'a karşı ise 4. ayda maternal antikorların kaybolmaya başladığı görülürken, BHV-1'e karşı maternal antikor varlığı tespit edilemedi.

Sonuç olarak, maternal antikorların 2. aydan itibaren gerilemeye başladığı, buzağuların yeni enfeksiyonla 4.-8. aylarda karşılaştığı ve enfeksiyonların doğal olarak popülasyonda sirküle olduğu tespit edildi. Elde edilen bu verilere dayanılarak buzağılarda ilk aşılamanın 2.-4. aylar arasında yapılması ve pasif immunitenin aşı üzerinde yapabileceği olumsuz etkiyi en aza indirmek ve daha güçlü bir bağışıklık sağlayabilmek için 1 ay sonra tekrar dozunun uygulanmasının yararlı olacağı değerlendirildi.

**Anahtar kelimeler:** Solunum sistemi virusları, Sığır, Enfeksiyon dinamiği, BRSV, PI-3, BHV-1, BVDV, BAV-3, BCoV

## SUMMARY

### SEROLOGICAL DETECTION OF INFECTION DYNAMICS OF RESPIRATORY VIRUSES IN CATTLE HERDS AND VIRUS ISOLATION FROM CLINICAL CASES

The aim of this PhD thesis is to reveal infection dynamics of bovine respiratory syncytial virus (BRSV), bovine parainfluenza virus type 3 (PI-3), bovine herpesvirus 1 (BHV-1), bovine viral diarrhoea virus (BVDV), bovine adenovirus type 3 (BAV-3) and bovine coronavirus (BCoV) which are important viral pathogens of respiratory disease complex of ruminants. By this way regression period of maternally antibodies and optimum vaccination time can be recommended.

Farms are grouped according to their animal population. For serological studies, blood samples are collected from calves (n=112) which are born in the same month and blood samples were gathered from these animals during their 1st, 2nd, 3rd, 4th, 6th, 8th, 10th and 12th months old. Also blood samples were taken from calves' mother during first sampling. For virological studies nose and eye swab samples were taken from clinically ill calves which are found from studied and unstudied farms.

For detecting antibody titers serum neutralization test (SN<sub>50</sub>) was applied to blood sera. Besides detecting antigen commercial ELISA kit (BRSV, PI-3, BVDV and BHV-1 antigen detection kit), virus isolation and for non cytopathic BVDV strain immunoperoxidase test was used.

At the end infection with BRSV, PI-3, BVDV, BAV-3 and BCoV at early ages of calves and role of seronegative calves in circulation of infections was determined. For BRSV, PI-3, BVDV, BAV-3 in the 3rd month and for BCoV in the 4th month maternally antibodies are started to decrease. During this period no maternal antibody was detected for BHV-1.

In conclusion it was observed that maternally antibodies started to decrease from the 2nd month, first exposure of viruses to calves were encountered between 4th and 8th months and circulation of naturally infections were detected. On this basis, first vaccination should be done between 2nd and 4th month and it was judged that implementation of after 1 month booster shot can be useful.

**Key words:** Respiratory viruses, Ruminant, Infection dynamic, BRSV, PI-3, BHV-1, BVDV, BAV-3, BCoV



## GİRİŞ

Sığır solunum yolu enfeksiyonları buzağı yetiştirilen sürülerde en sık rastlanan problemdir (1). Yeni doğanlarda postpartum dönemde birçok fizyolojik değişiklik meydana gelir. Bu sırada çeşitli sindirim ve solunum yolu hastalıklarının belirtileri şiddetli olarak gözlemlenebilir. Özellikle anneden buzağıya kolostrum yoluyla geçen antikorların mevcut olmaması hastalık insidensinin daha da artmasına neden olan ana faktördür (2). Ayrıca kötü bakım şartları altında ve kalabalık ortamda barındırma gibi stres yaratan koşulların adrenokortikal immunsupresyona neden olduğu ve yalnız buzağılarda değil her yaştaki hayvanlarda hastalık görülme riskini artırdığı bilinmektedir (1).

Sığır solunum sistemi enfeksiyonları yetiştiriciyi olduğu kadar ülke ekonomisini de direkt ilgilendirdiği için son derece önemlidir. Bu enfeksiyonlara ilişkin maddi kayıplar; hayvan ölümleri, canlı ağırlık kaybı, verim düşüklüğü, veteriner hekim ücretleri ve ilaç maliyetlerinden ileri gelmektedir. Örneğin; 1991 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) solunum yolu enfeksiyonlarının meydana getirdiği ekonomik kaybın 600 milyon doların üzerinde olduğu tahmin edilmektedir (3).

Solunum yolu enfeksiyonlarının etiolojisinde tek bir etken bulunabileceği gibi birden fazla viral etkene de rastlanabilir (4). Bunlar arasında en önemli olanlar bovine respiratory syncytial virus (BRSV), bovine herpesvirus tip 1 (BHV-1), bovine parainfluenza virus tip 3 (PI-3), bovine viral diarrhoea virus (BVDV) ve bovine adenovirus serotip 1-2-3 ve 7'dir (BAV-1, BAV-2, BAV-3, BAV-7) (4-10). Bovine rhinovirus, bovine coronavirus ve bovine reovirus serotip 3'ün de zaman zaman sığırların solunum sisteminden izole edildiği görülmüştür (10-15). Bu etkenlere *Mycoplasma bovis* ve *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni* ve *Pasteurella multocida* gibi bakteriyel etkenlerin de eşlik edebileceği ve oluşan çoklu enfeksiyon tablolarında prognozun kötüleştiği birçok araştırmada gösterilmiştir (5, 6, 8, 16-18).

Sığırlarda solunum sistemi enfeksiyonlarından izole edilen ilk etken BHV-1'dir (4). Yapılan bir çalışmada hem solunum yolu hem de enterik bulguları olan bir hayvanda PI-3 ve BVDV bir arada görülmüş, başlangıçta BVDV'nin yalnız enterik problemlere yol açtığı düşünülse de daha sonra solunum sistemini de etkilediği anlaşılmıştır. Parainfluenza-3 etkeninin solunum sisteminde BVDV'nin yanında BRSV ve adenovirus gibi birden fazla

virusla birlikte bulunduğu gösterilmiştir. İlerleyen dönemlerde ABD’de BAV-1 ve BAV-2, İngiltere’de ise BAV-3’ün solunum sistemi enfeksiyonlarındaki rolü tanımlanmıştır. BRSV ise 1970 yılının başında 2 yaşından küçük sığırlardan izole edilmiştir (4). BRSV ve BCoV’un sürülerde subklinik olarak kaldığını ve enfeksiyonun devamlılığının bu şekilde sağlandığını gösteren veriler bulunmaktadır (18-20). Birçok araştırımcı solunum sistemi enfeksiyonlarında primer etkenin virus olduğunu daha sonra tabloya bakterilerin katıldığını düşünmektedir. Örneğın; PI-3 ve BVDV hücrel immunite üzerine etki ederek immunosupresyona neden olur, böylece hayvan sekonder enfeksiyonlara predispoze hale gelir (4). Türkiye genelinde sığırlarda BRSV’nin %44,6-%94,4; PI-3’ün %38,2-%92,8; BHV-1’in %17,1-%74; BAV-3’ün %14,2-%92,3; BCoV’nin ise %4,4-%100 arasında değişen seroprevalans değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir (21-28). BVDV’nin seroprevalans değerleri ise kamu işletmelerinde %0,6-%90, halk elindeki hayvanlarda %45 olarak belirlenmiştir (29).

Bu tez çalışması ile Bursa’daki sığırlarda solunum yolu enfeksiyonuna neden olan önemli viral patojenlere ilişkin enfeksiyon dinamiklerinin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir. Böylece araştırılan her bir etkene karşı mevcut maternal antikoların gerileme dönemleri ve işletmelerde uygulanması gereken optimum aşılama zamanlarını ortaya koymanın mümkün olabileceği değerlendirilmiştir.

## GENEL BİLGİLER

Sığırların solunum sistemi enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan viral etkenler bovine respiratory syncytial virus (BRSV), bovine parainfluenza virus tip 3 (PI-3), bovine herpesvirus tip 1 (BHV-1), bovine viral diarrhoea virus (BVDV), bovine adenovirus serotip 3 (BAV-3) ve bovine coronavirustur (BCoV). Bu virusların oluşturdukları enfeksiyonlara ilişkin genel bilgiler aşağıda sunulmuştur.

### **Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV)**

Bovine respiratory syncytial virus, *Mononegavirales* dizinindeki *Paramyxoviridae* ailesinde *Pneumovirus* genusu içerisinde sınıflandırılmıştır. Bu ailedeki virionlar zarflı ve helikal simetrik nükleokapsid ile çevrili ve 150-300 nm çapındadır. Viral zarfta hemaglütinin (H) ve füzyon (F) glikoproteinleri olarak isimlendirilen iki viral glikoprotein ve 1-2 adet glikozillenmemiş viral protein bulunmaktadır. Hemaglütinin glikoproteini virusun konak hücreye adsorbsiyonundan sorumludur. Virusun hücre reseptörlerine adsorbe olmasını inhibe eden nötralizan antikorlar bu glikoproteine karşı oluşur. Füzyon glikoproteini ise virus penetrasyonunda, virus partikülünün hücreden hücreye nakledilmesinde ve enfekte hücrelerin birleşerek sinsityum oluşturmada görev alır (30). Nöyraminidaz aktivitesi yeni nesil virionların konak hücreden ayrılması ve müköz membranlardaki mûsin inhibitörlerinin yıkılmasında rol alır. Füzyon proteini bu ailedeki tüm genoslarda bulunur fakat BRSV'nin yer aldığı *Pneumovirus* genusunda hemaglütinin glikoproteini mevcut değildir, bunun yerine virus adsorbsiyonundan ve immuniteden sorumlu olan fakat hemaglütinasyon ve nöyraminidaz özelliği göstermeyen G proteini bulunur (31).

Tek iplikçikli ve negatif anlamlı olan BRSV RNA'sının uzunluğu 15-16 kb'dır. Viral genom 11 adet protein kodlayan 10 adet subgenomik RNA'ya transkribe olur (32). Etken sitoplazmada çoğalır ve plazma membranından zarfını alarak tomurcuklanır. Parainfluenza-3 virusu ile benzer sitopatojenik etki oluşturan BRSV konak hücrelerde intrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimcikleri ile sinsityum meydana getirerek ürer (33).

Tüm paramyxoviruslarda olduğu gibi BRSV çevre şartlarına oldukça duyarlıdır ve virion yapısı dondurup-çözdürme işlemi bile zarar görebilir. Virus ısı, genel amaçlı dezenfektanlar ve yağ eriticileriyle kolaylıkla inaktive olur (31).

BRSV 1967 yılında Japonya, Belçika ve İsviçre’de tespit edilmiş; kısa bir süre sonra da İngiltere ve ABD’de ilk virus izolasyonu gerçekleşmiştir (34). Danimarka’da yapılan bir çalışmada BRSV’nin buzağı pnömonisinde en sık rastlanan virus olduğu görülmüştür (35). Günümüzde enfeksiyonun tüm dünyada yaygın olduğu bilinmektedir. BRSV enfeksiyonları özellikle süt emen buzağılarda ve genç hayvanlarda pnömoni, intersitisyel pulmoner ödem ve amfizeme neden olmaktadır. Yaşla ilişkisi olduğu düşünülen enfeksiyonun genellikle 6 aylıktan küçük buzağılarda görüldüğü saptanmıştır (36).

Hastalık sıkışık olarak barındırılan hayvanlarda genellikle kış aylarında görülse de yaz aylarında ortaya çıktıktan vakalarda gözlemlenmiştir (20). Etken solunum yolu ekskretleri ile saçılmakta ve duyarlı bireyler tarafından aerosol ya da damlacık yolu ile alınmaktadır (36). Doğal enfeksiyondan sonra oluşan bağışıklığın kısa süreli olabileceği ve re-enfeksiyonların sıkça görülebileceği hatta seropozitif buzağılarda kolostrum ile aktarılan maternal antikorların enfeksiyona karşı etkili bir koruma sağlayamayabileceği, ancak yüksek titrede maternal antikor varlığının hastalığın şiddetini azaltabileceği ve bu hayvanların enfeksiyonu subklinik olarak geçirdiği bildirilmiştir (20, 37). BRSV ile subklinik enfekte hayvanlar sürü için virus kaynağıdır ve stres durumlarında virus duyarlı bireylerde akut enfeksiyona neden olabilmektedir (34, 37).

Hastalık; ateş, abdominal solunum, letarji, rhinitis, nazal akıntı ve öksürük gibi solunum yolu enfeksiyonu belirtileri ile baş gösterir (30). Olgunun intersitisyel ödem ve amfizeme kadar ilerlemesi şiddetli bronkopnömoniye hatta ölüme neden olabilir (36). Salgın durumlarında morbidite yüksek olsa bile mortalite genellikle düşük düzeylerde kalmaktadır. Virus enfekte olan buzağılarda silier epitelin 8-10 gün içerisinde yıkımlanmasına dolayısıyla hayvanın sekonder enfeksiyonlara açık hale gelmesine neden olmaktadır. Karakteristik olarak, akciğerlerde parainfluenza-3 enfeksiyonunda görülenlerden daha büyük yapıda sınırsız hücreler görülür (38). Olguya mikoplazma ve bakterilerin karıştığı durumlarda ise akciğerlerde amfizeme ek olarak konsolidasyon alanları görülebilmektedir (34).

Ülkemizde BRSV'ye karşı yapılan serolojik taramalarda %44,6 ile %94,4 oranları arasında değişen seropozitif sığır varlığı saptanmıştır (23, 24, 28). Koyun ve keçilerde de BRSV için yapılan seroprevalans çalışmalarında yüksek oranlarda seropozitivite belirlenmiştir (39, 40). Bu durum koyun ve keçi popülasyonunun sığırlar için enfeksiyon kaynağı olabileceğini düşündürmektedir.

Enfeksiyonun teşhisi için virus izolasyonu sığır hücre kültürlerinde yapılabilmektedir. Ancak paramyxoviruslar çevre koşullarına oldukça duyarlı olduğu için izolasyonda başarı oranı düşüktür. Serolojik incelemeler için nötralizasyon, komplement fikzasyon, agar jel immunodiffüzyon ve immunofloresan testlerinden yararlanılabilmektedir (41). Virolojik incelemeler için nazal svablardan direkt ELISA, immunofloresan testi ve RT-PCR yapılabilmektedir (38, 42-45).

Enfeksiyondan korunma için stres faktörlerinden mümkün olduğunca kaçınılması ve uygun bakım-besleme şartlarının oluşturulması önemlidir. Etkene yönelik birçok inaktive veya attenüe aşı geliştirilmiş ve kullanıma girmiştir (30, 46).

### **Parainfluenza Virus Tip 3 (PI-3)**

BRSV ile aynı ailede (*Paramyxoviridae*) yer alan PI-3 virusu *Respirovirus* generi içerisinde sınıflandırılmaktadır. Zarflı ve negatif anlamlı olan virion tek iplikçikli RNA genomu taşır (5). Bu genusta yer alan virusların hemagglütinin glikoproteini aynı zamanda nöyraminidaz aktivitesi (HN) de taşır (31). PI-3 virusunun esas çoğalma bölgesi solunum sistemi epitel hücreleridir (47). Ancak monositlerde çoğalmaya bağlı olarak viremi de gerçekleşebilir (48).

PI-3 enfeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak görülmekte ve etken tek başına enfeksiyon meydana getirdiğinde BRSV'ye göre daha hafif bir hastalık tablosu oluşturmaktadır. PI-3'ün solunum sistemi hastalıklarının etiyolojisinde BRSV, adenovirus ve BVDV ile birlikte rol aldığı gösterilmiştir (4). Deneysel olarak yapılan bir çalışmada PI-3'ün tek başına daha hafif seyirli bir hastalık oluşturduğu, BHV-1 ile beraber hayvana verildiğinde ise hastalığın şiddetinin arttığı gözlemlenmiştir (49). Solunum yolu ile vücuda alınan etken (50) buzağılarda ateş, nazal akıntı, depresyon, dispne ve öksürük ile seyredir. Birçok hayvanda çok az klinik belirti görülürken bazı hayvanlarda (özellikle stres altında

olanlarda) sadece anterior akciğer lobunda yangısal konsolidasyon alanlarının meydana geldiği intersitisyel pnömoni gelişebilir. Virus bronşiol ve alveolar epitel hücrelerinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri ve sinsityum meydana getirerek ürer (51).

Etkenin alveolar makrofajları enfekte etmesi sonucu bu hücrelerin bakterileri öldürme yeteneğinde azalma olduğu, fagozom-lizozom füzyonunda kısıtlanma olduğu ve diğer fagositoz fonksiyonlarında inhibisyona neden olan arakhidonik asit gibi metabolitlerin oluşumunun arttığı hem *in vivo* hem de *in vitro* ortamlarda gösterilmiştir (52). Bu nedenle PI-3'ün lökositlerde immunosupresyona neden olması ve mukosilier sistemi tahrip etmesi diğer enfeksiyonlar için predizpozisyon yaratmasının ana nedeni olarak düşünülmektedir (5, 53).

Virusun en önemli bulaşma yolu aerosoller ve nazal akıntılarla kontamine olmuş fomitlerdir (54). Ayrıca virus barsak içeriğinden, süttten ve aborte fötustan da izole edilmiştir (34). Fakat bu kaynakların bulaşma yönünden önemi henüz kesinleşmemiştir.

İyileşen hayvanlarda güçlü fakat kısa süreli bir immun yanıtın oluştuğu hemaglütinasyon ve nöyraminidaz etkinliğini inhibe eden nötralizan antikorların varlığı ile saptanmıştır (34). İmmunitenin kısa süreli olması birkaç ay sonra aynı hayvanın tekrar enfekte olabileceğini göstermektedir.

Türkiye'de yapılan araştırmalarda PI-3 virusunun varlığı gösterilmiş ve seroprevalans değerlerinin %38,2 - %92,8 arasında değiştiği saptanmıştır (23-26, 28, 55). PI-3'e yönelik olarak koyun ve keçilerde seropozitivite saptanmış olması bu enfeksiyonda da küçük ruminantların sığırlar için enfeksiyon kaynağı olabileceğini düşündürmektedir (40).

Etkenin teşhisi için sığır hücre kültürlerine ekim, virus nötralizasyon, immunofloresan veya enzim immunoassay testlerinden yararlanılmaktadır (56). Serolojik incelemeler amacıyla hemaglütinasyon inhibisyon, serum nötralizasyon, immunofloresan ve indirekt ELISA kullanılmaktadır (50).

Enfeksiyondan korunmak amacıyla mukozal yüzeylerde IgA oluşumunu sağlayan intranazal ve parenteral uygulanabilen pek çok aşı mevcuttur. PI-3 virus aşıları genellikle kombine aşı şeklinde hazırlanmaktadır (34).

## **İnfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis Virus (Bovine Herpesvirus 1, BHV-1)**

İnfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis virusu 1950'li yılların sonlarında izole edilmiştir (57). Virionlar; zarflı ve 120-200 nm çapındadır. Nükleokapsid ise ikosahedral simetridir ve 100 nm çapındadır. Genom linear ve çift iplikçikli olup 125-135 kb büyüklüğünde DNA'dan oluşmaktadır (58). Kapsid ile zarf arasındaki bölgede globüler yapıda proteinlerden oluşmuş bir tabaka (tegüment) bulunur (31). Herpesvirus virionları 6 adedi nükleokapsitte, 2 adedi DNA ilişkili olmak üzere toplamda 30 adet yapısal proteine sahiptir. Yaklaşık 12 adet olan glikoproteinler ise zarfta yer alır ve peplomer olarak isimlendirilir. Zarf glikoproteinlerinden biri olan glikoprotein E (gE) Fc reseptör aktivitesine sahiptir ve IgG'lere bağlanır (34).

Virusun konak hücreye girişi virion zarfında yer alan glikoprotein peplomerlerinin hücre zarındaki reseptörlere tutunmasından sonra füzyon ya da endofagositoz yolu ile gerçekleşir. Virus çoğalması hücre çekirdeğinde meydana gelir. Virionlar zarfını çekirdek zarından tomurcuklanma sırasında alır ve endositik kesecikler içinde plazma membranına taşınır. Virus çoğalmasına bağlı olarak hücrelerde intranükleer inklüzyon cisimciklerini de içeren sitopatolojik etkiler görülür (59).

*Herpesviridae* ailesi *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* ve *Gammaherpesvirinae* olarak isimlendirilen 3 alt aileye bölümlendirilmiştir. Bu alt ailelerin her biri kendilerine özgün persistens mekanizmalarına sahiptir (31). Tüm herpesvirus enfeksiyonlarında döngüsel ya da devamlı saçılımın olduğu latent persiste enfeksiyon meydana gelebilir (58). *Alphaherpesvirinae* alt ailesinde yer alan BHV-1 virusunun solunum sistemi enfeksiyonunun ardından trigeminal veya genital sistem enfeksiyonundan sonra sakral sinir gangliyonlarına yerleşerek latent kaldığı (60) ve latent enfeksiyonun stres, nakil, soğuk veya aşırı kalabalık gibi faktörlerin etkisiyle reaktif olabildiği gözlenmiştir (58, 61). Latent enfeksiyona sahip olan hayvanlarda reaktivasyon genellikle subklinik, fakat bu hayvanlar sürü içinde enfeksiyon kaynağı olarak rol alır (61).

BHV-1; viral DNA'nın restriksiyon endonükleaz enzimi ile yapılan analizlerine göre; BHV-1.1 (solunum sistemi), BHV-1.2 (genital sistem) ve BHV-1.3 (ensefalit) olmak üzere üç alt gruba ayrılmıştır (62). Daha sonra BHV-1.3, BHV-5 adıyla ayrı bir virus türü olarak sınıflandırılmıştır (63). BHV-1.2 ise kendi içinde BHV-1.2a ve BHV-1.2b olarak iki alt gruba ayrılmıştır (61, 63). BHV 1.1.'in solunum sistemi enfeksiyonları yanında BHV 1.2a

ile birlikte aborta neden olabileceği, BHV 1.2b'nin ise abort olgularıyla ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir (64, 65). Ayrıca BHV-1.2 suşlarının deneysel olarak solunum sisteminde hastalık yapabileceği ve bu enfeksiyonların klinik olarak fark edilemeyen primer enfeksiyon ya da reaktivasyon ile oluşan enfeksiyon şeklinde gelişebileceği bildirilmiştir (66, 67).

Bovine herpesvirus 1 sığırlarda rhinotrakeitis, vulvovaginitis, balanopostitis, konjunktivitis, enteritis, abort, yeni doğanlarda generalize hastalık ve ensefalitis gibi birçok bozukluğa neden olmaktadır. Virusun nazal, oral ya da genital akıntılar ile saçılmaktadır (58). Bulaşma ise genellikle mukozal temasla olurken etkenin damlacık enfeksiyonu ile de yayıldığı gösterilmiştir (59).

Etken solunum sisteminde subklinik, ılımlı veya şiddetli bir enfeksiyon meydana getirilebilir. Komplikasyonlar sonucunda morbidite %100'e, mortalite ise %10'a ulaşabilir. Başlangıçta ateş, depresyon, iştahsızlık ve önceleri seröz olan, daha sonra mukopurulent karakter kazanan bol nazal akıntı görülür. Nazal mukoza hiperemiktir. Burun boşluğunda tespit edilmesi güç olan lezyonlar meydana gelebilir. Dispne, ağızdan nefes alma, salivasyon ve genellikle lakrimasyonla beraber tek ya da çift taraflı konjunktivit görülür (34). Yeterli maternal bağışıklığa sahip olmayan 3 aylıktan küçük buzağılarda görülen herpesvirus enfeksiyonlarında hemen hemen tüm organ ve dokularda nekroz odakları olduğu görülmektedir (59). Üst solunum yollarında virus fareks ve tonsillerden sinirler ve lenfler aracılığıyla göze, beyine, lenf nodüllerine ve sindirim sistemine ulaşmaktadır. Buzağuların abomazumları ruminant olmayan canlıların midelerine benzemektedir. Virus abomazumda düşük pH ile karşılaşınca inaktive olur (68). Hayvanlarda pH yeterince düşük değilse (normal pH 1,7-2) virus inaktive olması gereken abomazumdan kolaylıkla geçerek sistemik enfeksiyon oluşturur ve latent kalabilir. Sindirim sisteminin kaudal kısmının pH'sı ise yaklaşık 7'dir. Sindirim sisteminden inaktive olmadan geçen virus genital sistemi kolaylıkla enfekte edebilir. Ayrıca etken viremi ile tüm organlara hatta gebelerde fötusa ulaşabilir ve gebelik abort ile sonlanabilir (59, 68).

BHV-1 genellikle BVDV ve PI-3 viruslarıyla beraber görülmektedir. PI-3 virusuna benzer şekilde BHV-1'de akciğer sülfektan maddesine etki ederek hayvanın sekonder enfeksiyonlara duyarlı hale gelmesine neden olur (36). Bu nedenle birden fazla etkenin birlikte seyrettiği enfeksiyonların şiddeti daha fazladır.



Enfeksiyon latent kalabildiği için viremi ya da saçılım dönemi haricinde etkenin kendisini tespit etmek zordur. Bu nedenle BHV-1'in teşhisi için daha çok serolojik yöntemler kullanılmaktadır. ELISA ile antijen tespiti genellikle aborte fötustan ve nekropsi materyalinden yapılmaktadır. BHV-1 enfeksiyonlarının teşhisinde virolojik olarak virusa duyarlı hücre hatları, virus nötralizasyon testi, elektron mikroskopi, direkt ELISA, direkt immunofloresan testi ve PCR yöntemleri kullanılmaktadır (58, 68). Virus izolasyonu, direkt ELISA ve direkt immunofloresan testleri karşılaştırıldığında en duyarlı yöntemin hücre kültüründe virus izolasyonu olduğu görülmüştür. Serolojik yöntemlerden ise serum nötralizasyon testi ve indirekt ELISA yaygın olarak kullanılmaktadır (68).

Enfeksiyondan korunmak için uygun bakım ve besleme koşullarına uyulmalıdır. Enfeksiyonun yayılmasını kontrol altında tutabilmek amacıyla bovine herpesvirus 1 aşıları tek ya da birden fazla etken ile kombine olarak attenüe ya da inaktif aşılar şeklinde hazırlanmaktadır (58). Eradikasyon için sürüdeki enfeksiyonun yaygınlığına ve işletmenin ekonomik gücüne göre çeşitli yöntemler (aşılama, ayıklama, vb. ) tercih edilebilir (69, 70). Günümüzde BHV-1 eradikasyon programlarında marker aşılar önemli bir yer tutmaktadır. Marker BHV-1 aşıları daha çok gE delesyonu ile elde edilmektedir (71). Bunun yanında marker antijen (protein) inzersiyonuyla üretilen ve pozitif marker aşısı olarak isimlendirilen aşılar ve subünit aşılar da kullanım olanağı bulunmaktadır. Marker aşılar canlı veya inaktive olabilir. Aşının her iki formu da humoral ve hücresele bağışıklığı sağlayarak virus saçılımını azaltmaktadır (58). Bulaşma riskinin yüksek olduğu sürülerde BHV-1 marker aşısı kullanılabilir. Bu sürülerde spesifik izotiplendirme teknikleri kullanılarak marker aşılı hayvanlar ile enfekte hayvanlar kolaylıkla ayırt edilmektedir (55). Uygun mücadele programları oluşturulduğunda BHV-1 enfeksiyonlarının ülke düzeyinde eradike edilebileceği gösterilmiştir (70, 72-75).

Türkiye'de sığırlarda BHV-1 virusuna karşı nötralizan antikorların varlığı ilk defa 1971 yılında saptanmıştır (76). Sonraki dönemlerde ülkemizde BHV-1'in yaygınlığına ilişkin birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışma verilerine göre sığırlarda BHV-1 seroprevalansının %17,1 ile %74 arasında değiştiği görülmektedir (21, 23-25, 28, 55, 77-80). Manda, koyun ve keçilerde de etkene yönelik antikor tespit edilmesi ve küçük gevişgetirenler ile sığırlar arasında türler arası virus naklinin söz konusu olması, değişik ruminant türlerinin bir arada barındırılması ve aynı meralardan otlatılması gibi nedenlerle

diğer ruminantların sığır popülasyonu için enfeksiyon kaynağı olabileceği değerlendirilmektedir (40, 81-83).

### **Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV)**

New York'ta 1946 yılında klinik olarak bildirilen BVD'ye ilişkin ilk virus izolasyonu 1957 yılında gerçekleştirilmiştir (84, 85).

*Flaviviridae* ailesinden *Pestivirus* genusuna dâhil edilen BVDV linear, pozitif anlamlı ve tek iplikçikli 12,5 kb büyüklüğünde bir RNA genomu taşımaktadır. BVDV'nin çıplak RNA'sı da enfeksiyöz özelliktedir. Viral genom tek bir open reading frame içerir. Sentezlenen poliprotein translasyon sonrasında enzimatik yolla parçalanarak 4 tane yapısal (C, Erns, E1, E2) ve 7 tane yapısal olmayan (P7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) toplam 11 adet proteine ayrılır. NS2 (p54) ve NS3 (p80) proteinleri NS2-3 (p125) öncü proteininden köken alır. Bu öncü protein sitopatojen BVDV suşlarında ikiye ayrılarak NS2 ve NS3'ü oluşturur. Sitopatojen olmayan virus suşlarında ise NS2-3 olarak kalır (86, 87). Yapısal proteinlerden biri olan E2 glikoproteini özel bir öneme sahiptir. Çünkü BVDV enfeksiyonunda şekillenen nötralize edici antikorların büyük bir bölümü E2 proteinine karşı oluşur. Ancak E2 proteini mutasyonel değişimlerden çok sık etkilenir. Dolayısıyla virusun antijenik yapısı farklılaşır. Böylece sahada enfeksiyon oluşturan suşlar arasında önemli antijenik/serolojik farklılıklar ortaya çıkar (88).

Virus, reseptör ilişkili endositoz ile hücre içine girer ve hücre sitoplazmasında çoğalarak olgunlaşır. Yeni nesil virionlar ekzositoz yoluyla ya da hücre lizisi ile hücreden saçılır. Kübik simetrik olan virion yaklaşık 40-60 nm çapa sahiptir ve zarf taşımaktadır (89). Flaviviruslar çevre şartları ve dezenfektanların etkisiyle kolaylıkla inaktive olurlar (31).

BVDV'nin sitopatojen (cpe) ve sitopatojen olmayan (nonsitopatojen, ncpe) iki biyotipi mevcuttur (90). Bu iki biyotipin de sığırlarda plasentayı geçebildiği bilinmektedir. Ek olarak sitopatojen biyotip nonsitopatojen biyotipe göre daha dayanıksızdır ve fütusta immun yanıtın oluşmasıyla kolaylıkla elimine edilebilir (91).

Etkenin BVDV-1 ve BVDV-2 olmak üzere iki genotipi vardır (92) BVDV-1'in 16 adet (1a-p) (93-97), BVDV-2'nin ise 4 adet (BVDV 2a-d) alt genotipi olduğu bilinmektedir (98). Solunum yolu enfeksiyonlarında her iki genotipin de varlığı gösterilmiş (99) ve BVDV 1b'nin solunum yolu enfeksiyonlarında baskın altgenotip olduğu tespit edilmiştir (100). Ülkemizde her iki biyotipin ve genotipin var olduğu bilinmektedir (88, 96, 101, 102). Saha enfeksiyonlarının %90'ından fazlasında nonsitopatojen suşların rol oynadığı bildirilmiştir (96, 103). Türkiye'deki yerel BVDV suşlarının önemli bir kısmının BVDV-1 içerisinde yer aldığı, ancak bazı izolatların daha önceki alt gruptan farklı olarak yeni bir alt grupta (BVDV-11) yer alabileceği gösterilmiştir (96, 104).

Dünyada yaygın bir hastalık olan BVD direkt temasla, tüm sekret ve ekskretlerle, kontamine fomitlerle, iatrojenik yolla, modifiye canlı aşılarla ve konjenital yolla, gerek fetal dönemde gerekse postnatal dönemde enfeksiyona neden olmaktadır (105). BVDV her yaştaki hayvanda enfeksiyon oluşturmaktadır. Buzağılarda maternal antikörlerin azalmasıyla birlikte enfeksiyona yakalanma riskinde de artış meydana gelir (34).

BVDV enfeksiyonlarının patogenezi enfeksiyon sırasındaki virus suşu, virusun biyotipi, hayvanın yaşı, gebelik durumu, transplasental enfeksiyonun meydana gelmesi ve buna bağlı olarak immun toleransın şekillenmesi, gebeliğin ortalama 120. gününde fetal immun yanıtın oluşması gibi bir takım koşullardan etkilenir. Gebe olmayan hayvanlarda ateş, nazal ve oküler akıntı, eroziv stomatitis, lökopeni, ishal ve ineklerde süt veriminde azalma gözlemlenir (106). Gebe hayvanlardaki enfeksiyon tablosu ise virus suşuna ve gebeliğin dönemine yani fötusun yaşına bağlı olarak değişen klinik bulgularla sonuçlanmaktadır. Gebeliğin ilk trimesterinde virusun fötusa geçmesi genellikle resorbsiyon ve embriyonik ölümle sonuçlanır. Sığır fötuslarında immunokompedans gelişimi yaklaşık olarak fetal hayatın 90-120. günleri arasında yani ikinci trimesterin başlangıcında tamamlanmaktadır. Bu dönemde organogenezis ve fetal immun yanıtın gelişimi tamamlanır. Dolayısıyla birinci ve fetal immun yanıtın gelişim aşmasına bağlı olarak ikinci trimesterde nonsitopatojen BVDV suşu ile enfekte olan fötüs etkene karşı antikor yanıtı oluşturamayabilir ve fetal ölüm olabileceği gibi yavru malformasyonlarla ya da düşük doğum ağırlığı ile dünyaya gelebilir. Yaşamaya devam edenler hayat boyu virus taşıyıcısı olarak kalır ve devamlı virus saçar. Bu şekilde oluşan enfeksiyon 'immunotolere persiste enfeksiyon (PE)' olarak isimlendirilir. Bu hayvanların yaklaşık %50'si

yaşamlarının ilk yılında ölürlür. Persiste enfekte (PE) hayvanlarda postnatal dönemde homolog bir sitopatojen BVDV biyotipinin vücuda alınmasıyla ya da nonsitopatojen BVDV biyotipinde meydana gelen mutasyonel değişiklikler sonucunda mukozal hastalık (mucosal disease) (107) gelişimi gözlenir (108). PE hayvanların bir sürüde bulunma olasılığı %0.5'den %2'ye kadar değişebilir. Bu hayvanlar devamlı virus saçıcısı (99) konumunda olduklarından dolayı tüm sürü için çok büyük önem taşır. Yine immun yanıtın gelişim aşamasına bağlı olarak ikinci ve üçüncü trimester de virusla karşılaşan fötüs genellikle antikor yanıtı oluşturur ve etkeni elimine ederek antikor pozitif olarak dünyaya gelir. Abort ise gebeliğin her döneminde meydana gelebilir (34).

Etkenle daha önce herhangi bir teması olmayan sürülerde duyarlı hayvan sayısı fazla olduğundan BVDV'nin sürüye girmesiyle birlikte meydana getirdiği klinik tabloların daha ağır olması ve sürülerde büyük kayıplar oluşturması beklenebilir.

*In vivo* ve *in vitro* çalışmalarda etkenin immun sistem üzerine pek çok etkisi olduğu gösterilmiştir (109). BVDV'nin alveolar makrofajlar üzerine etkilerinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda (110, 111) kullanılan sitopatojen BVDV suşunun Fc ve komplement reseptörlerinin üretimini azalttığı tespit edilmiştir. Fagositik ve mikrobiyel aktiviteler yanında nötrofillerin kemotaktik etkilerinin de bozulduğu görülmüştür (110). Bu şekilde vücudun savunma mekanizmasında bir takım aksaklıklar meydana gelmekte ve hayvanın sekonder enfeksiyonlara olan duyarlılığı artmaktadır.

Yapılan deneysel bir çalışmada BHV-1'in tek başına meydana getirdiği enfeksiyonda yalnız üst solunum yollarından izole edildiği, BVDV ile ortak oluşturulan enfeksiyonda ise hem üst, hem alt solunum yollarından ayrıca karaciğer, dalak, beyin ve barsaklardan izole edildiği görülmüştür (36). Farklı bir çalışmada ise yine BVDV'nin BHV-1'in patojenitesinde artışa neden olduğu saptanmıştır (10). BVDV'nin BHV-1 ve PI-3'ün yanında BRSV ile de sıklıkla sinerji gösterdiği ve diğer patojenlerle beraber seyrettiği zaman tek başına oluşturduğu enfeksiyondan daha şiddetli bir hastalık tablosu meydana getirdiği bildirilmiştir (36).

Türkiye'de BVDV varlığı ilk kez 1964'te Öncül ve ark. (112) tarafından ortaya konulmuştur. Yine ülkemizde Burgu ve arkadaşları (113) tarafından yapılan bir çalışmada örneklenen 3360 sığırdaki seroprevalans değeri %64,2, persiste enfeksiyon oranı ise %0,25 olarak tespit edilmiştir. İşletme özellikleri ve yetiştiricilik tipi enfeksiyon prevalansına

direkt etkiyen faktörlerdir. İşletme büyüklüğü arttıkça sürüdeki seropozitif hayvanların oranının da arttığı görülmüştür (23). Türkiye’de entansif yetiştiricilik yapılan kapalı devlet işletmelerinde BVDV seroprevalansının %0,6-%70 arasında değiştiği tespit edilmiştir (29). Ülkemizde gerçekleştirilen çalışmalar enfeksiyonun tüm bölgelerde bulunduğunu göstermektedir (23-25, 28, 29, 55, 96, 114-117).

Mandalarda Gür ve Akça’nın (83), koyun ve keçilerde Yeşilbağ ve Güngör’ün (40) gerçekleştirdiği çalışmalarında BVDV’ye karşı seropozitiflik tespit edilmiştir. Bu durum manda, koyun ve keçi popülasyonunun sığırlar için enfeksiyon kaynağı olabileceğini düşündürmektedir.

BVDV enfeksiyonlarının laboratuvar teşhisinde virus izolasyonu, viral antijen tespiti, seroloji ve viral RNA tespitine yönelik testler kullanılmaktadır (118, 119). Hücre kültüründe nonsitopatojen BVDV biyotipine dâhil suşların üretilmesi direkt olarak tespit edilemediğinden bu etkenlere spesifik konjugatlarla gerçekleştirilen immunoperoksidaz ve immunofloresan testleri kullanılmaktadır (99, 120).

Enfeksiyondan korunmak amacıyla sürünün durumuna, enfeksiyonun yaygınlığına ve işletmenin ekonomik gücüne göre önerilen çeşitli kontrol ve eradikasyon yöntemleri mevcuttur (121-123). Önerilen mücadele yöntemlerinin temeli PE hayvanların tespit edilerek sürüden ayıklanması ve sürüye yeni katılacak hayvanların BVDV yönünden kontrollerinin yapılmasına dayanmaktadır. BVDV’ye karşı kullanılan monovalan ve polivalan ticari aşılar mevcuttur.

### **Bovine Adenovirus Tip 3 (BAV-3)**

Adenovirusların önemli bir bölümü insanlar ve hayvanlarda genellikle üst solunum yollarında ve bazen de gaitada saptanabilmekte ve çoğunlukla üst solunum yollarında subklinik enfeksiyon meydana getirmektedir (124).

*Mastadenovirus, Aviadenovirus, Atadenovirus, Siadenovirus ve Ichtadenovirus* genuslarından oluşan *Adenoviridae* ailesi zarfsız, kübik simetrik ve 80-100 nm çapına sahip virionlardan oluşmaktadır (125). Kübik simetrik yapının birleşim köşelerinden çıkan 12 adet penton iplikciği bulunmaktadır. Bu yapılar adenoviruslara tipik bir morfoloji

kazandırır. Bu iplikcikler virionun konak hücreye tutunmasında görev alır ve virusa hemagglütinasyon aktivitesi kazandırır (31). Etken çift iplikçikli 26-45 kb büyüklüğünde linear DNA genomu taşır (125). Virus replikasyonu konak hücrenin çekirdeğinde gerçekleşir. Olgunlaşan yeni nesil virionlar hücre lizisi ile konak hücreden saçılır. Sığır adenovirusları çoğaldığı hücrede intranükleer inklüzyon cisimcikleri oluşturur. *Adenovirus* genusu içerisinde değişik canlı türlerinde görülen yaklaşık 50 serotip mevcuttur (126). Adenovirus serotipleri farklı canlıların eritrositlerini aglütine edebilmektedir. Örneğin; BAV-1 rat eritrositlerini, BAV-2 hem rat, hem fare eritrositlerini BAV-3 ise maymun eritrositlerini aglütine etmektedir (127, 128). Sığır adenovirusları pH 2 ve pH 11'e, %0.25'lik tripsin çözeltisine, 30°C'de 50 dk süresince uygulanan ısıya ve hatta 7 gün boyunca uygulanan 41°C'lik ısıya dayanıklıdır. Fakat uygun konsantrasyonda kullanılan klorin türevi dezenfektanlara duyarlıdır (129). BAV-3 buzağılarda eozinofilik ve bazofilik karaktere sahip intranükleer inklüzyon cisimcikleriyle birlikte yaygın nekrotize bronşitis, bronşiolitis ve alveolitis meydana getirmektedir (130, 131). Bazı adenoviruslar (sığır adenoviruslarından serotip 3, 7, 9 ve insan adenoviruslarından serotip 12, 18) ise rodentler için onkojeniktir (127).

Sığır adenoviruslarının bilinen 10 adet serotipi vardır. Bunlardan bovine adenovirus 1, 2, 3, 9 ve 10 *Mastadenovirus*, bovine adenovirus 4, 5, 6, 7 ve 8 ise *Atadenovirus* genusunda yer almaktadır (132). Adenoviruslar akciğer ve barsaklara affinitesi olan etkenlerdir (132). Genellikle asemptomatik seyrederek veya hafif solunum yolu enfeksiyonuna neden olurlar (36, 133). Enfeksiyonun direkt solunum yolunu ya da fekal-oral yolu takip ederek bulaştığı bilinmektedir. Etkenin transplasental yolla geçtiği de gösterilmiştir ancak bu bulaşma yolunun görülme sıklığı hakkında kesin bir bilgi yoktur (132). Sekonder enfeksiyonların devreye girmesiyle enfeksiyon klinik olarak görülmeye başlanabilir. Enfeksiyon sonrası meydana gelen ağırlık kaybı, büyümede gerilik ve sekonder pnömoni ile ağır ekonomik kayıplar meydana gelmekte bu durum enfeksiyonun yetiştiricilik yönünden ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Bazı olgularda hasta hayvanlar iyileşmekte fakat enfeksiyon sırasında oldukça zayıf düşmüş olanlar genellikle ölmektedir (134). Deneysel bir enfeksiyon sonrasında buzağılarda klinik olarak herhangi bir bulgu görülmezken patolojik olarak akciğerlerinde nekrotize ve proliferatif bronşiolitis, bronkopnömoni ve bronşiol epitel hücrelerinde intranükleer inklüzyon cisimcikleri görülmüştür (132).

Solunum yolu enfeksiyonuna sahip sığır sürülerinden BAV-3'ün izolasyonu 1979 yılında Lehmukhul ve arkadaşları (135) tarafından gerçekleştirilmiştir. Türkiye'de sığırlarda adenovirus enfeksiyonlarının varlığı ilk kez Toker tarafından 1983 yılında ortaya konulmuştur (136). Ülkemizde yapılan serolojik çalışmalarda BAV-1 ve BAV-3'e karşı %89,5 ve %92,3 gibi yüksek oranlarda seroprevalans değerleri saptanmıştır (23, 26, 28, 80, 137, 138). Koyun ve keçilerde ise BAV-1'e karşı %86, BAV-3'e karşı ise %93 gibi yüksek oranlarda seropozitivite saptanmış olması bu hayvanların sığırlar için enfeksiyon kaynağı olabileceğini düşündürmektedir (40).

Adenovirus enfeksiyonlarının teşhisinde kullanılan virolojik yöntemler virus izolasyonu, virus nötralizasyon testi, direkt ELISA, direkt immunofloresan testi ve PCR iken, serolojik yöntemler ise serum nötralizasyon, agar jel presipitasyon, hemagglütinasyon inhibisyon ve indirekt ELISA testleridir (23, 139).

### **Bovine Coronavirus (BCoV)**

*Coronaviridae* ailesi zarflı, 80-220 nm büyüklüğünde ve helikal simetrik virionlara sahiptir. Bu ailede *Coronavirinae* ve *Torovirinae* olmak üzere 2 alt aile mevcuttur. *Coronavirinae* alt ailesi; *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* ve *Gammacoronavirus* olmak üzere 4 genusa ayrılmaktadır. Bu genoslarda insan ve hayvanları enfekte edebilen birçok virus yer almaktadır. Fakat bovine coronavirusun bu sınıflandırmadaki yeri henüz kesin olarak belirlenmemiştir (140).

*Coronaviridae* ailesindeki viruslar at nalı benzeri peplomerlere sahiptir. Coronavirus genomu tek iplikçikli ve pozitif anlamlı linear bir RNA'dır. Bilinen en büyük viral RNA genomudur (20-32 kb). Çoğalma sırasında komplementer RNA çıkarılır ve bundan 5-7 adet subgenomik mRNA sentezlenir. Virus sitoplazmada çoğalır. Viral zarf endoplazmik retikulum ya da golgi aygıtından köken alır ve virion hücreden tomurcuklanma yolu ile saçılır (31).

Coronavirus enfeksiyonlarında akla ilk gelen tablo ishale seyreden enfeksiyon tablosu olsa da buzağı pnömoni salgınlarda da BCoV'un varlığı gösterilmiştir (6, 141-145). Park ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (146) enterik coronavirusun buzağılarda hem sindirim, hem de solunum yollarına olmak üzere iki bölgeye de tropizmi olduğu ve bu

virusun solunum yolu etkenleri ile sinerjik etki yaratarak stres durumunda buzağılarda pnömoniye neden olabileceği öngörülmüştür.

Solunum yolundan izole edilen coronavirus ile enterik yoldan izole edilen coronavirusun biyolojik ve antijenik özellikleri yönünden bazı araştırmalarda herhangi bir fark tespit edilmezken (147, 148) diğer bazı araştırmalarda suşlar arasında bazı farkların olduğu ileri sürülmektedir (142, 149). Bu sonuçlar enterik coronavirus ve respiratorik coronavirus arasında çapraz bağışıklığın mümkün olabileceğini göstermektedir.

Virusun epidemiyolojik karakterini anlayabilmek için virus saçılımı ile enterik ve solunum formları arasındaki ilişkinin açıklığa kavuşturulması gereklidir. Virusun saçılmasında artışa neden olan faktörler arasında diğer solunum sistemi viruslarında olduğu gibi nakil sırasında oluşan stresli koşullar ve kalabalık ortamlar sayılabilir.

Türkiye’de sığır solunum sistemi enfeksiyonlarına yönelik yapılan bir araştırmada BCoV’un fekal ve nazal yoldan saçılımı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (12). Fakat bu sonucun örneklenen hayvan sayısının az olmasından kaynaklabileceği yazar tarafından da öngörülmüştür. Türkiye’de yapılan bir araştırmada ishalleri buzağuların %15,4’ünün sadece coronavirusu, %13,4’ün de hem coronavirus hem de rotavirusu birlikte saçtığı bildirilmiştir (150). Etkene karşı gelişen antikorların re-enfeksiyon olmadan yıllar sonra bile tespit edilebildiği gösterilmiştir (151). İşletmelerde yapılan seroprevalans çalışmalarında ishalleri ve klinik olarak sağlıklı görünümlü buzağı ve erişkin sığırlarda %4,4 ile %100 arasında değişkenlik gösteren antikor varlığı saptanmıştır (27, 152-154).



## **Tezin Amacı**

Solunum sistemi enfeksiyonları sığır yetiştiriciliğine etki eden, buzağı ölümleri ve ekonomik olarak kayıplara neden olan önemli bir sorundur. Genellikle multifaktöriyel bir sorun olmasına karşın solunum sistemi enfeksiyonlarının büyük bir bölümünde virusların birincil etken olarak yer aldığı gösterilmiştir. Özellikle buzağılarda söz konusu enfeksiyonlara karşı maternal antikorların tespit edilme süresi ve yeni enfeksiyonlarla karşılaşma yaşının belirlenebilmesi proflaksi çalışmaları açısından önem taşımaktadır.

Bu tez çalışması ile Bursa'daki sığırlarda solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan önemli viral patojenlerin sürü bazında enfeksiyon dinamiklerinin serolojik olarak takip edilmesi amaçlanmıştır. Böylece araştırılan her bir etkene karşı mevcut maternal antikorların gerileme dönemleri, buzağının muhtemel ilk enfeksiyona maruz kalma yaşı ve işletmelerde uygulanması gereken optimum aşılama zamanlarına ilişkin verilerin elde edilmesi planlanmıştır. Ayrıca tez kapsamında virolojik çalışmaların da yürütülmesi ve elde edilen serolojik verilerin virolojik verilerle desteklenmesi hedeflenmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Gereç

#### Örnekleme Yapılan İşletmeler

Tez çalışmasında kullanılan hayvanlar Bursa iline bağlı Karacabey, Mustafakemalpaşa ve Yenişehir ilçelerinde yer alan işletmelerden seçildi (Şekil-1). Bu kapsamda farklı bakım koşulları ve hayvan yoğunluğuna sahip 10 adet süt sığırı işletmesinden örnekleme yapıldı. Bu işletmeler hayvan sayısı 20'den az (küçük ölçekli işletme), 20-100 arası (orta ölçekli işletme) ve 100'den fazla (büyük ölçekli işletme) yetişkin hayvan olacak şekilde üç gruba ayrıldı. Çalışmada örneklemenin yapıldığı işletmelere ait bilgiler aşağıdaki tabloda sunudu (Tablo-1).



Şekil-1. Örnekleme çalışmalarının yürütüldüğü bölgeler

Tablo-1. Araştırma kapsamında örnekleme yapılan işletmeler ve yetiştirme özellikleri

İşletme no	Bölge	İşletme büyüklüğü*	Hayvan sayısı	İşletme türü
İşletme 1	Karacabey	Büyük	500-1000 arası	Yarı açık
İşletme 2	Karacabey	Büyük	>1000	Yarı açık
İşletme 3	Karacabey	Büyük	>1000	Yarı açık
İşletme 4	Yenişehir	Büyük	500-1000 arası	Yarı açık
İşletme 5	Mustafakemalpaşa	Orta	20- 100 arası	Yarı açık
İşletme 6	Mustafakemalpaşa	Orta	20- 100 arası	Yarı açık
İşletme 7	Mustafakemalpaşa	Küçük	<20	Yarı açık
İşletme 8	Mustafakemalpaşa	Küçük	<20	Kapalı ahır
İşletme 9	Mustafakemalpaşa	Küçük	<20	Kapalı ahır
İşletme 10	Mustafakemalpaşa	Küçük	<20	Kapalı ahır

\* Hayvan sayısı 20'den az olan işletmeler "küçük", 20-100 arası olan işletmeler "orta" ve 100'den fazla olan işletmeler "büyük" ölçekli olarak sınıflandırılmıştır.

### Örneklenen Hayvanlar

Çalışma kapsamında, yukarıda özellikleri verilen süt sığırcı işletmelerinde bulunan Holstein ırkı hayvanlar kullanıldı. İncelenen enfeksiyonların buzağılarda aylık takibinin yapılabilmesi amacıyla söz konusu işletmelerde 1 aylık süre zarfında doğan buzağılar çalışmaya dâhil edildi ve kan örnekleri toplandı. Çalışmaya 129 adet buzağı ile başlanmış olmasına karşın çalışma süresince ölüm ve elden çıkarma gibi işlemlerden dolayı toplam 17 buzağı araştırma dışı kaldı. Böylece 1 yıllık süreç sonunda 112 adet buzağının tam verileri elde edilmiş oldu. Ayrıca çalışmada kullanılan tüm buzağılar sadece kendi annelerinin sütü ile beslendi.

İşletme 2'de örneklenen 29 buzağının 14 adedi Haziran ayında, geriye kalan 15 adedi 30 gün sonra yani Temmuz ayında doğduğu için 2 grubun örnekleme arasında 1 aylık fark oldu.

İşletme 3'te hem aşılı hem aşısız buzağılar örneklendiği için bu işletme içerisinde yapılacak değerlendirmeler aşılı ve aşısız buzağılar olmak üzere 2 gruba ayrılarak yapıldı.

Böylece işletmede bulunan 18 adet aşılı buzağı toplam popülasyona dâhil edilmedi. Dolayısıyla 94 adet buzağı aşısız toplam buzağı popülasyonunu oluşturdu (Tablo-2).

Örneklenen buzağuların annelerinin bağışıklık durumunu saptamak ve maternal bağışıklık üzerine değerlendirmeler yapabilmek için buzağulardan yapılan ilk örnekleme sırasında buzağuların annelerinden de kan örneği alındı. İşletme 3’de bulunan 10 adet anne doğumdan hemen sonra işletmeden çıkarıldığı için bu hayvanlardan örnekleme yapılamadı. Dolayısıyla toplam 102 anneden kan örneği sağlanmış oldu. Takip edilen işletmelerde örnekleme yapılan buzağular ve annelerine ait bilgiler Tablo-2’de sunuldu.

Tablo-2. Araştırma kapsamında örneklenen işletmelerden hayvanlara ait bilgiler

İşletme no	İşletme büyüklüğü	Buzağılara ait bilgiler					Annelere ait bilgiler	
		Toplam Sayı	Dişi	Erkek	Aşılı	Aşısız	Sayı	Anneye uygulanan aşılar
İşletme 1	Büyük	14	9	5	-	14	14	BVDV, BHV-1 ve BCoV
İşletme 2	Büyük	31	31	-	-	31	31	BVDV, BHV-1 ve BCoV
İşletme 3	Büyük	39	18	21	18*	21	29**	BVDV tip-1 ve tip-2, BHV-1, BRSV, PI-3 ve BCoV
İşletme 4	Büyük	6	4	2	-	6	6	BVDV tip-1 ve tip-2, BHV-1, BRSV, PI-3 ve BCoV
İşletme 5	Orta	9	5	4	-	9	9	BCoV
İşletme 6	Orta	3	-	3	-	3	3	BCoV
İşletme 7	Küçük	1	-	1	-	1	1	AŞISIZ
İşletme 8	Küçük	5	3	2	-	5	5	AŞISIZ
İşletme 9	Küçük	2	2	-	-	2	2	AŞISIZ
İşletme 10	Küçük	2	2	-	-	2	2	AŞISIZ
<b>Toplam</b>	<b>10</b>	<b>112</b>	<b>74</b>	<b>38</b>	<b>18</b>	<b>94</b>	<b>102</b>	

\*Bu işletmedeki dişi buzağılar inaktif BVDV tip 1ve 2, BHV-1, PI-3 ve BRSV içeren ticari aşı ile 4 aylık yaşta aşılanmışlardır.

\*\* Bu işletmelerdeki 10 adet anne doğumdan hemen sonra işletmeden çıkarıldığı için bu annelerden örnekleme yapılamamıştır. Bu hayvanlardan 16 tanesi aşıli buzağuların annesi iken diğer 13 tanesinin aşısız buzağuların annesi olduğu kaydedildi.

## **Etik Kurul İzin Belgesi ve Anket Formu**

Tez çalışması sırasında hayvanlardan alınan kan ve svab örnekleri için gerekli izin Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından 23.02.2010 tarihli ve 2010-02/01 nolu karar ile onaylandı.

İşletmelere ait olası risk faktörlerini belirleyebilmek amacıyla işletmelerde çalışan sorumlu veteriner hekimler ile birlikte doldurulmak üzere EK-1’de örneği sunulan anket formu kullanıldı.

### **Kan Örnekleri**

Tez çalışması kapsamında 04/06/2010 - 29/07/2010 tarihleri arasında doğan 112 adet buzağıdan doğumu takiben 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 ve 12 aylık olduklarında serolojik incelemeler için kan örneği alındı. Buzağılardan yapılan ilk örnekleme sırasında buzağuların annelerinden (102 adet) de antikoagülsüz tüplere kan örnekleri alınarak değerlendirildi.

### **Svab Örnekleri**

Çalışma süresince solunum yolu enfeksiyonu klinik belirtileri gösteren hayvanlardan svab örnekleri toplandı. Sahadaki virus sirkülasyonunun takip edilebilmesi amacıyla örnekler hem tez kapsamındaki 10 işletmeden, hem de tez kapsamında olmayan işletmelerden temin edildi. Burun ve göz akıntısı görülen hayvanlarda her iki bölgeden svab alınırken sadece burun akıntısı görülen hayvanlardan yalnız burun svabı örnekleri alındı. Bu kapsamda toplam 80 adet burun svabı ve örneklenen hayvanların 18 adedinden de göz svabı örneklendi (Tablo-3).

Tablo-3. Svab örnekleri ve örnekleme dönemleri

Örneğin alındığı işletme	Svab sayısı		Örnekleme dönemi ve mevsimi
	Burun	Göz	
İşletme 6	1	-	Ağustos 2010 -Yaz
İşletme 7	1	-	Kasım 2010 - Sonbahar
İşletme 2	2	2	Kasım 2010 - Sonbahar
İşletme 1	1	1	Kasım 2010 - Sonbahar
İşletme 2	11	4	Aralık 2010 - Kış
İşletme 9	3	3	Aralık 2010 - Kış
İşletme 2	7	-	Ocak 2011 - Kış
İşletme 1	1	-	Ocak 2011 - Kış
İşletme 3	1	-	Ocak 2011 - Kış
M.Kemalpaşa kapalı işletme 1*	4	1	Ocak 2011 - Kış
İşletme 2	1	1	Nisan 2011 - İlkbahar
İşletme 4	1	-	Haziran 2011- Yaz
İşletme 4	1	1	Temmuz 2011 - Yaz
İşletme 4	13	3	Eylül 2011 - Sonbahar
Muğla kapalı işletme*	12	-	Kasım 2011- Sonbahar
İşletme 4	1	-	Aralık 2011 - Kış
Yenişehir kapalı işletme 1*	2	2	Haziran 2012 - Yaz
M.Kemalpaşa kapalı işletme 2*	9	-	Haziran 2012 - Yaz
Yenişehir kapalı işletme 2*	8	-	Haziran 2012 - Yaz
<b>Toplam</b>	<b>80</b>	<b>18</b>	

\*: Düzenli takip edilen işletmeler haricindeki işletmeler

### Akciğer Örnekleri

Tez çalışmasında öngörülen virolojik çalışmaları gerçekleştirebilmek amacıyla takip edilen işletmelere ilave olarak mezbaha çalışmaları da yürütüldü. Bu amaçla çalışmanın yürütüldüğü işletmelerden bağımsız olarak mezbahada kesilen hayvanların lezyonlu akciğerlerinden 5 cm<sup>3</sup> büyüklüğünde doku örnekleri alındı (Tablo-4).

Tablo-4. Akciğer dokularının örneklenme dönemleri

Örnekleme yapılan bölge	Örnek sayısı	Örnekleme dönemi
Mustafakemalpaşa*	1	07/01/2011
Çalı/Bursa	5	13/12/2011
Çalı/Bursa	13	19/12/2011
Çalı/Bursa	13	26/12/2011
Çalı/Bursa	7	02/01/2012
<b>Toplam</b>	<b>39</b>	

\*: Örnekleme sırasında ağır solunum problemi gösteren ve ölen 10 günlük buzağı

### Hücre Kültürleri

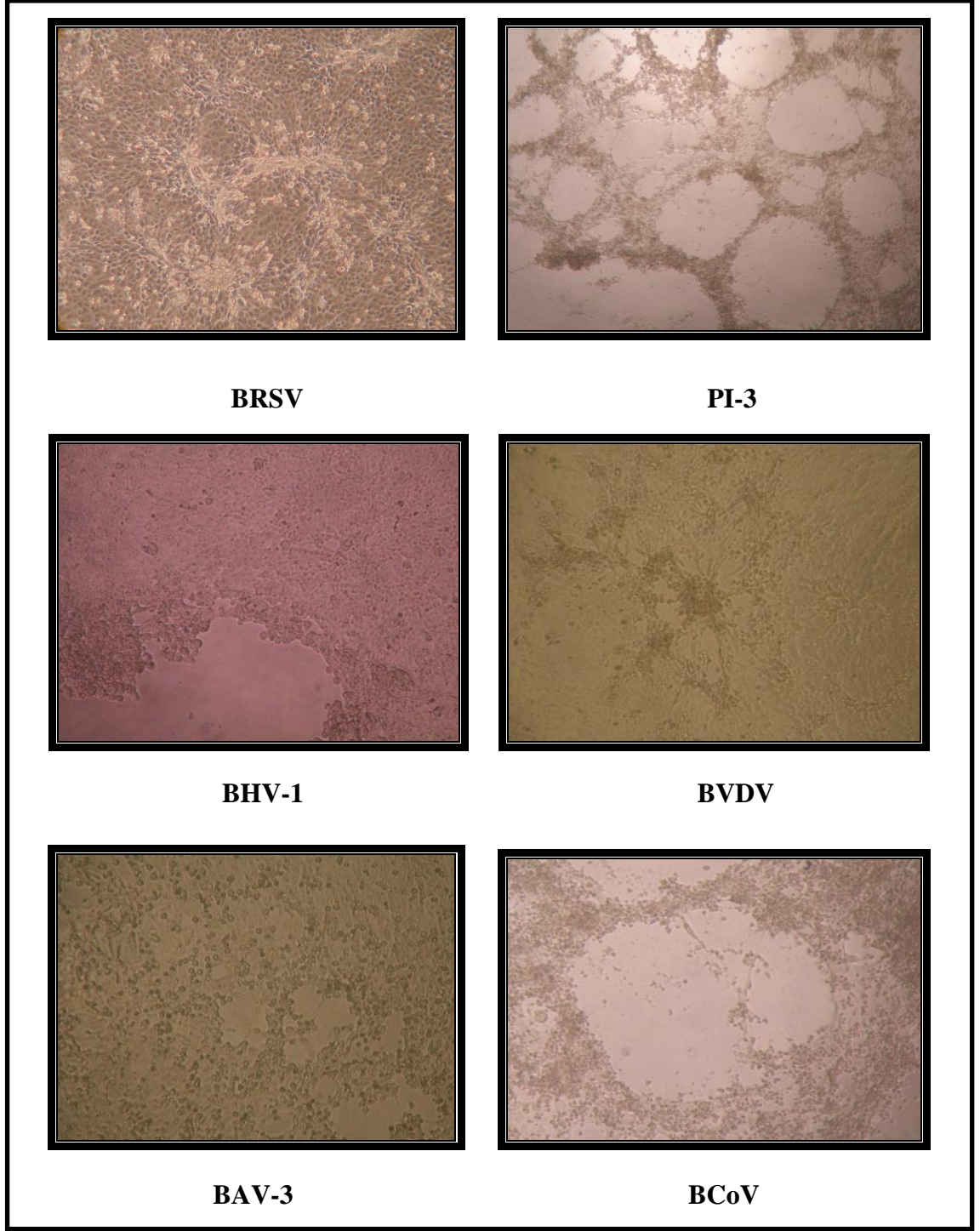
Araştırmada kullanılan virusların üretilmesi, titrasyonu ve serolojik test aşamalarında Justus-Liebig Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Enstitüsü'nden daha önce temin edilmiş olan Madin Derby Bovine Kidney (MDBK) hücre hattı kullanıldı. Hücre kültürleri tez çalışması süresince pestivirus kontaminasyonu yönünden düzenli olarak kontrol edildi.

### Testlerde Kullanılan Kontrol Virusları

Çalışma kapsamındaki serolojik testlerde kullanılmak üzere Justus-Liebig Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Enstitüsü'nden orijin alan BRSV-Atue suşu, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'ndan orijin alan BVDV NADL referans suşu, BHV-1 Cooper referans suşu, PI-3 SF-4 referans suşu, BAV serotip 3 virus suşu ve Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden sağlanmış olan BCoV-Mebus suşu kullanıldı. Tamamı sitopatojenik karakterde olan söz konusu viruslar Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı virus koleksiyonundan temin edildi.



Çalışmanın virolojik incelemeler kısmında yürütülen immunoperoksidaz testinde ise kontrol virusu olarak BVDV-FLK (FLK hücre hattından izole edilen bir nonsitopatojen BVDV suşu) kullanıldı. Tez çalışmasında kullanılan virusların MDBK hücre kültüründe oluşturduğu sitopatolojik etkilerin invert ışık mikroskobu ile elde edilen görüntüleri Şekil-2'de yer almaktadır.



Şekil-2. Tez çalışmasında kullanılan virusların hücre kültüründe oluşturduğu sitopatolojik etkiler (x10 büyütme)

## **Ticari Antijen ELISA Kiti**

Klinik olgulardan ve mezbahadan toplanan örneklerde virolojik teşhis amacıyla BVDV, BHV-1, BRSV ve PI-3 olmak üzere 4 virusun tespitine olanak sağlayan (BioK 240, Biox Diagnostics, Belçika), yalnız BVDV tespitine olanak sağlayan bir kit (Herdcheck, İsviçre) ve yalnız BHV-1 tespitine olanak sağlayan bir kit (BioK 335/1, Biox Diagnostics, Belçika) ayrı ayrı kullanıldı. Her üç antijen ELISA kiti de ticari olarak temin edildi.

## **İmmunoperoksidaz Testi**

İmmunoperoksidaz testinde kullanılmak üzere daha önce Justus-Liebig Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Enstitüsünden temin edilen ve tüm BVDV suşlarını tanıdığı bildirilen (155) monoklonal antikor 1/4/7 kullanıldı. İki aşamalı olan biotin ile işaretli anti-mouse konjugatı (Pierce, 31800, ABD) ve streptavidin-HRPO konjugatı (Pierce, 21124, ABD) ticari olarak temin edildi.

## **Yöntem**

### **Serum Örneklerinin Hazırlanması**

Vakumlu katkısız tüplere alınan kan örnekleri soğuk zincir altında hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırıldı. Soğutmalı santrifüjde (Nüve, NF 800R, Türkiye) 10 dakika, +4°C’de, 3000 rpm hızda santrifüj edilen kan örneklerinden serumlar çıkarıldı. Ayrılan serumlar stok tüplerine aktarılarak 56°C’de 30 dakika süresince su banyosunda (Nüve, BM 402, Türkiye) inaktive edildi ve test aşamasına kadar -20°C’de muhafaza edildi.

### **Swab Örneklerinin Hazırlanması**

Steril 2 ml phosphate buffered saline (PBS) içeren tüplere konularak soğuk zincir altında ivedilikle laboratuvara ulaştırılan svab örnekleri soğutmalı santrifüjde +4°C’de, 3000 rpm’de 20 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant ayrılarak stok tüpüne konuldu. Takiben 200 nm

filtreden geçirildikten sonra test aşamasına kadar -80°C derin dondurucuda (Revco, Elite, ABD) dondurularak muhafaza edildi.

### **Doku Örneklerinin Hazırlanması**

Akciğer örneklerinin homojenizatları virus izolasyonu ve ELISA uygulamalarında kullanılmak üzere homojenizatör (Sartorius, Potter S, Almanya) ve havan yardımıyla PBS içerisinde homojenize edildi. Hazırlanan süspansiyon soğutmalı santrifüjde +4°C’de, 3000 rpm’de 20 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant ayrılıp 200 nm filtreden geçirilerek stok tüpüne konuldu. Hazırlanan homojenizatlar test aşamasına kadar -80°C’de dondurularak muhafaza edildi.

### **Hücre Kültürleri**

Araştırmada kullanılan MDBK hücre kültürlerinin hazırlanmasında pestivirus kontaminasyonu yönünden test edilmiş olan %10 oranında fetal dana serumu (FDS) (PAA Laboratories GmbH, Avusturya) ilave edilen Dulbecco’s Modified Eagle Medium (DMEM) (BIOCHROM, Almanya) kullanıldı. Hücre kültürlerine ayrıca olası bakteri ve mantar kontaminasyonunu engellemeye yönelik olarak 100 UI/ml oranında Penisilin, 100 mg/ml Streptomisin ve 250 mg/ml Amfoterisin B solüsyonu kullanıldı.

### **Virusların Üretilmesi**

Tüm viruslar 150 cm<sup>2</sup>’lik tek kullanımlık hücre kültür şişesinde (Orange Scientific, Belçika) hazırlanan MDBK hücre kültürlerine ekilerek üretildi. Bu amaçla adsorsiyona bağlı yöntem kullanılarak virus inokulasyonu gerçekleştirildi (156). Yöntem kısaca şu şekilde uygulandı:

Bir gün önce hazırlanan kültür içerisindeki vasat boşaltılarak hücre kültürü steril PBS ile yıkandı ve şişe hacminin %1’i oranında virus ekildi. Kültürler 37°C’ye ayarlı ve %5 CO<sub>2</sub>

ihativa eden inkübatöre (Jouan, TGO 150, Fransa) kaldırılarak 1 saat süre bekletildi. Hücre kültür şişeleri 15 dakikalık periyotlarla hareket ettirilerek inokulumun tüm hücreler ile temas etmesi sağlandı. Süre sonunda kültür şişelerine serumsuz vasat (DMEM) ilave edilerek inkübatör kaldırıldı. Oluşan sitopatolojik etki günlük olarak invert ışık mikroskobu (Nikon Eclipse TS100, Japonya) ile takip edildi. Virus üremesine bağlı olarak hücre kültüründe gözlemlenen sitopatolojik etki %70-80 civarındayken kültürler -80°C'ye ayarlanmış derin dondurucuya kaldırılarak donduruldu. Takiben 37°C'ye ayarlanmış su banyosunda çözdürülerek hücrelerin tamamen parçalanması sağlandı ve virus partikülleri açığa çıkarıldı. Elde edilen kültür sıvısı +4°C'de, 3000 rpm'de 20 dk santrifüj edildi ve süpernatant 1,5 ml ependorf tüplere (CITOTEST, Çin) porsiyonlanarak testlerde kullanılmak üzere -80°C'ye ayarlanmış derin dondurucuda muhafaza edildi.

### **Virus Titresinin Belirlenmesi**

Üretilen virusların ilgili testlerde kullanılabilmesi için titreleri sulandırma yöntemiyle belirlendi (156). Bu amaçla virusun DMEM içerisinde 10 basamak olacak şekilde 10 katlı (Log 10) sulandırması hazırlandı. Hazırlanan virus sulandırmalarının her basamağından 96 gözlü pleytte (Corning, ABD) ayrılan 4 göze 100 µl konuldu. Ayrıca hücre kontrol gözüne 100 µl DMEM ve virus kontrol gözüne 50 µl DMEM ile 50 µl sulandırılmamış virus konuldu. Test için kullanılan tüm gözlere hücre yoğunluğu 300.000 hücre/ml olacak şekilde hazırlanmış MDBK hücre süspansiyonundan 50 µl eklendi ve 37°C'deki %5 CO<sub>2</sub> ihtiva eden inkübatör kaldırıldı. Günlük olarak invert ışık mikroskobu ile hücrelerde oluşan sitopatolojik etki takip edildi. Elde edilen veriler Spearman-Kaerber yöntemine (156) göre değerlendirilerek virus titreleri belirlendi.

### **Serolojik Çalışmalar**

#### **Serum Nötralizasyon 50 (SN<sub>50</sub>) Değerinin Belirlenmesi**

Serum örneklerinde ilgili virusa karşı mevcut antikor titrelerini belirlemek amacıyla SN<sub>50</sub> testi uygulandı. Test Frey ve Liess (157) tarafından açıklanan yöntemine göre gerçekleştirildi.

Bu aşamada 96 gözlü mikroplyetlerde her serum örneği için iki göz ayrıldı ve ilk gözlere BHV-1 ve BRSV için 1:2'lik; PI-3, BVDV, BCoV için 1:5'lik; BAV-3 için ise 1:16'lık sulandırmalar olacak şekilde serum örneklerinden 50 µl konuldu. Her örnek için 6 basamak ilerleyecek şekilde (sırasıyla 1:2-1:64, 1:5-1:160, 1:16-1:512) iki katlı sulandırmalar hazırlandı. Hücre kontrol (HK) gözüne 100 µl, virus kontrol (VK) gözüne ise 50 µl hücre üretme vasatı konuldu. Hücre kontrol gözü dışındaki tüm gözlere titresi oranında sulandırılmış test virusundan 50 µl konulduktan sonra mikroplyetler 37°C'deki %5 CO<sub>2</sub> ihtiva eden inkübatörde BHV-1 için 2 saat, diğer viruslar için 1'er saat süreyle nötralizasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra tüm gözlere 300.000 hücre/ml olacak şekilde hazırlanan ve %10 FDS içeren MDBK hücre süspansiyonundan 50 µl eklendi. Mikroplyetler inkübatöre kaldırıldı ve günlük olarak invert ışık mikroskobu ile takip edildi. Son sulandırma basamağında bile antikor pozitif sonuç veren örnekler sulandırma basamakları uzatılarak tekrar test edildi. Bu aşamada sulandırma basamakları BHV-1 için 1:2048'e, BAV-3 için 1:4096'ya, PI-3, BVDV, BCoV için 1:10240'a ve BRSV için 1:16384'e kadar yükseltildi.

Elde edilen antikor titrelerinin bir işletme içerisinde ve test edilen hayvan popülasyonunda değerlendirebilmesi amacı ile geometrik ortalama değerleri kullanıldı.

## **Virolojik Çalışmalar**

### **ELISA ile Antijen Tespiti**

Hazırlanan svab örnekleri ve akciğer homojenizatları (toplam 137 adet örnek) BVDV, BHV-1, BRSV ve PI-3 antijenlerine yönelik olarak ticari antijen ELISA kiti (BioK 240, Biox Diagnostics, Belçika) kullanılarak test edildi. Test sonucunda birden fazla hayvanda şiddetli klinik olgular bulunmasına karşın sadece 1 adet akciğer dokusunun BVDV antijeni yönünden pozitif sonuç elde edilmesi üzerine tüm örnekler yalnız BVDV antijenlerine (Herdcheck, İsviçre) ve yalnız BHV-1 antijenlerine (BioK 335/1, Biox Diagnostics, Belçika) yönelik ticari antijen ELISA kitleri ile tekrar test edildi. Test protokolleri üretici firmaların önerdiği şekilde uygulandı. Test pleytleri ELISA okuyucuda (Thermo-Multiskan EX, Finlandiya) 450 nm dalga boyunda okutularak değerlendirildi.

## **Virus İzolasyonu**

Virus izolasyonu amacıyla Özkul ve arkadaşlarının (119) izlediği protokolde bir takım modifikasyonlar yapıldı ve işlem aşağıda açıklanan şekilde uygulandı.

Svab ve akciğer örneklerinden elde edilen süpernatantlar MDBK hücre kültürüne ekildi. Virus izolasyonu amacıyla 24 gözlü hücre kültür pleytlerinin her gözüne (Corning, ABD) 100.000 hücre/ml oranında hazırlanan MDBK hücre kültürü süspansiyonundan 1 ml konuldu. Ertesi gün her örnekten bir göze 200 µl ekim yapıldı. Ekim yapılan hücre kültür pleytları 5 dk oda sıcaklığında çalkalayıcıda (Heidolph Unimax 1010, Almanya) bekletildikten sonra 37°C'deki %5 CO<sub>2</sub> ihtiva eden inkübatöre kaldırıldı. Gözlerdeki vasat 24 saat sonra değiştirildi ve pleytlar 3-5 gün süresince sitopatolojik değişimleri saptayabilmek için invert ışık mikroskop ile incelendi. Sürecin sonunda pleytlar -80°C'ye kaldırılarak donduruldu. Aynı işlem dondurulan gözlerin 37°C'deki su banyosunda çözündürülmesi ve ekim için üst sıvılarının kullanılması yoluyla 2 defa daha tekrarlandı (toplam 3 kör pasaj). Örneklerdeki muhtemel nonsitopatojen BVDV suşlarının tespitine yönelik olarak 3. kör pasaj sonunda immunoperoksidaz testi uygulandı.

## **İmmunoperoksidaz Testi**

Araştırmada, muhtemel nonsitopatojen BVDV suşlarını tespit edebilmek amacıyla immunoperoksidaz testi kullanıldı. Bu amaçla temel olarak Özkul ve arkadaşlarının (119) kullandığı test protokolü uygulandı.

Hücre kültür pleytinin her gözünde 100.000 hücre/ml olacak şekilde hazırlanan hücre kültürüne bir günlük inkübasyonu takiben kör pasaj üst sıvılarından 200 µl ekim yapıldı. İnkübasyonu takiben pleytlar ters çevrilerek vasat uzaklaştırıldı ve hücreler 1/3'lük PBS ile 3 kez yıkandı. Hücrelerin fizyasyonu 80°C'ye ayarlanmış inkübatörde (Nüve ES110) 3 saat bekletilerek gerçekleştirildi. Yıkama işleminden sonra hücre duvarı geçirgenliğini artırmak amacıyla tüm gözlere 200 µl O-D-glikopyranosid (Sigma, 03757, ABD) konuldu ve pleytlar 5 dakika oda sıcaklığında tutuldu. Tween-PBS (%0,05, Tween 20) içerisinde 1:40 oranında sulandırması hazırlanan anti-BVDV monoklonal antikorundan (1/4/7) tüm gözlere 200 µl konuldu ve pleytlar 90 dk süreyle 37°C'ye ayarlanmış inkübatörde inkübasyona bırakıldı. İki

aşamalı konjugattan ilki olan biotin ile işaretli anti-mouse konjugatının (Pierce, 31800, ABD) Tween-PBS (%0,05, Tween 20) içerisinde 1:400 oranında sulandırması hazırlandı ve tüm gözlere 200 µl konularak pleytler 90 dk 37°C’de inkübe edildi. Her inkübasyon periyodundan sonra pleytler 1/3’lük PBS ile 3 kez yıkandı. Daha sonra yine Tween-PBS (%0,05, Tween 20) içerisinde 1:300 oranında sulandırılan streptavidin-HRPO konjugatından (Pierce, 21124, ABD) tüm gözlere 200 µl konuldu. Pleytler 90 dk 37°C’de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkandı ve tüm gözlere 200 µl substrat çözeltisi (AEC/DMF (Sigma, A5754) (2 mg/0.3 ml) 300 µl, sodyum asetat buffer 4,7 ml, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> %0.05) konuldu. Pleytler 15-30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra reaksiyonu durdurmak için substrat uzaklaştırılarak tüm gözlere PBS konuldu. Hücre içi kırmızı-kahverengi boyanma tespit edilen test gözleri pozitif olarak değerlendirildi.

### **İstatistikî Analiz**

Bu tez çalışmasında antikor titrelerinin bir işletme içerisinde ve test edilen hayvan popülasyonunda grup ortalamalarını belirlemek amacı ile geometrik ortalama değerleri kullanıldı. Seropozitiften seronegatifeye geçen hayvan sayılarının işletme büyüklüğü, cinsiyet ve aşıllı-aşısız gruplarda değişiminin istatistiksel kontrolü ‘Fisher’in Kesin Ki-Kare Metodu’ ile yapıldı. Buzağuların maternal antikor titreleri ile anne antikor titreleri arasındaki ilişki incelenirken ise ‘Spearman Korelasyon Analizi’nden yararlanıldı.



## BULGULAR

### Virusların Titre Değerleri

Serum nötralizasyon testinde kullanılmak üzere üretilen virusların titre değerleri Tablo-5’de sunulmuştur.

Tablo-5. Testlerde kullanılan virusların titre değerleri

<b>Virus</b>	<b>100DKID<sub>50</sub>*</b>
BVDV	10 <sup>-5</sup> /0,1 ml
BHV-1	10 <sup>-4,75</sup> /0,1 ml
PI-3	10 <sup>-4,75</sup> /0,1 ml
BAV-3	10 <sup>-3,5</sup> /0,1 ml
BCoV	10 <sup>-3,5</sup> /0,1 ml
BRSV	10 <sup>-2,25</sup> /0,1 ml

\*100DKID<sub>50</sub>: Doku kültürü infektif doz 50

### Anket Sonuçları

Tez kapsamında çalışmaya dâhil edilen işletmelere ait risk faktörlerini belirleyebilmek amacıyla işletmelerde çalışan sorumlu veteriner hekimler tarafından doldurulan anket formundan elde edilen bilgiler Tablo 6’da verilmiştir.

Anket incelendiğinde biyogüvenlik kurallarının büyük ölçekli işletmelerde titizlikle uygulandığı, orta ve küçük ölçekli işletmelerde ise tam olarak uygulanamadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Tablo-6. Örnekleme yapılan işletmelere ait risk faktörleri\*

	İşletme büyüklüğü	Girişte dezenfeksiyon havuzu var mı?	Sürü geçmişi 2 yıldan uzun mu?	Dışarıdan hayvan alınıyor mu?	Karantina bölümü var mı?	Çiftliğin kendi hekimi var mı?	Hayvan grupları homojen mi?	Buzağılar bireysel barındırılıyor mu?
İşletme 1	Büyük	Evet	Evet	Hayır	Evet	Evet	Evet	Evet
İşletme 2	Büyük	Evet	Evet	Hayır	Evet	Evet	Evet	Evet
İşletme 3	Büyük	Evet	Evet	Hayır	Evet	Evet	Evet	Evet
İşletme 4	Büyük	Evet	Evet	Evet	Hayır	Evet	Evet	Evet
İşletme 5	Orta	Hayır	Evet	Hayır	Evet	Hayır	Hayır	Hayır
İşletme 6	Orta	Hayır	Evet	Hayır	Evet	Evet	Hayır	Evet
İşletme 7	Küçük	Evet	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
İşletme 8	Küçük	Hayır	Evet	Evet	Evet	Evet	Hayır	Hayır
İşletme 9	Küçük	Hayır	Evet	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
İşletme 10	Küçük	Hayır	Evet	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır

\*Çalışma kapsamındaki işletmelerden örneklenen buzağı sayıları arasında önemli sayıda fark olduğu için belirlenen risk faktörlerinin enfeksiyonlar üzerine direkt etkileri istatistiki olarak değerlendirilememiştir.

Tablo-6 (devam). Örnekleme yapılan işletmelere ait risk faktörleri \*

	Günlük ortalama ziyaretçi sayısı	Çevredeki işletmeler ile mesafe (kuş uçuşu)	Ahırın temizlik durumu	İnek ve buzağı barınaklarının uzaklığı	Hasta ve sağlıklı hayvanlar arasındaki mesafe
İşletme 1	2	3 km	İyi	10-15 m	2 m
İşletme 2	2	3 km	İyi	45 m	30 m
İşletme 3	10	3 km	İyi	11 m	5 m
İşletme 4	5	2 km	İyi	40 m	10 m
İşletme 5	5	500 m	Orta	10 m	10 m
İşletme 6	15	1 km	İyi	6 m	1 m
İşletme 7	1	200 m	Kötü	12 m	-
İşletme 8	2	200 m	İyi	20 m	10 m
İşletme 9	2	200 m	Orta	2 m	-
İşletme 10	2	200 m	Orta	2 m	-

\*Çalışma kapsamındaki işletmelerden örneklenen buzağı sayıları arasında önemli sayıda fark olduğu için belirlenen risk faktörlerinin enfeksiyonlar üzerine direkt etkileri istatistiki olarak değerlendirilememiştir.

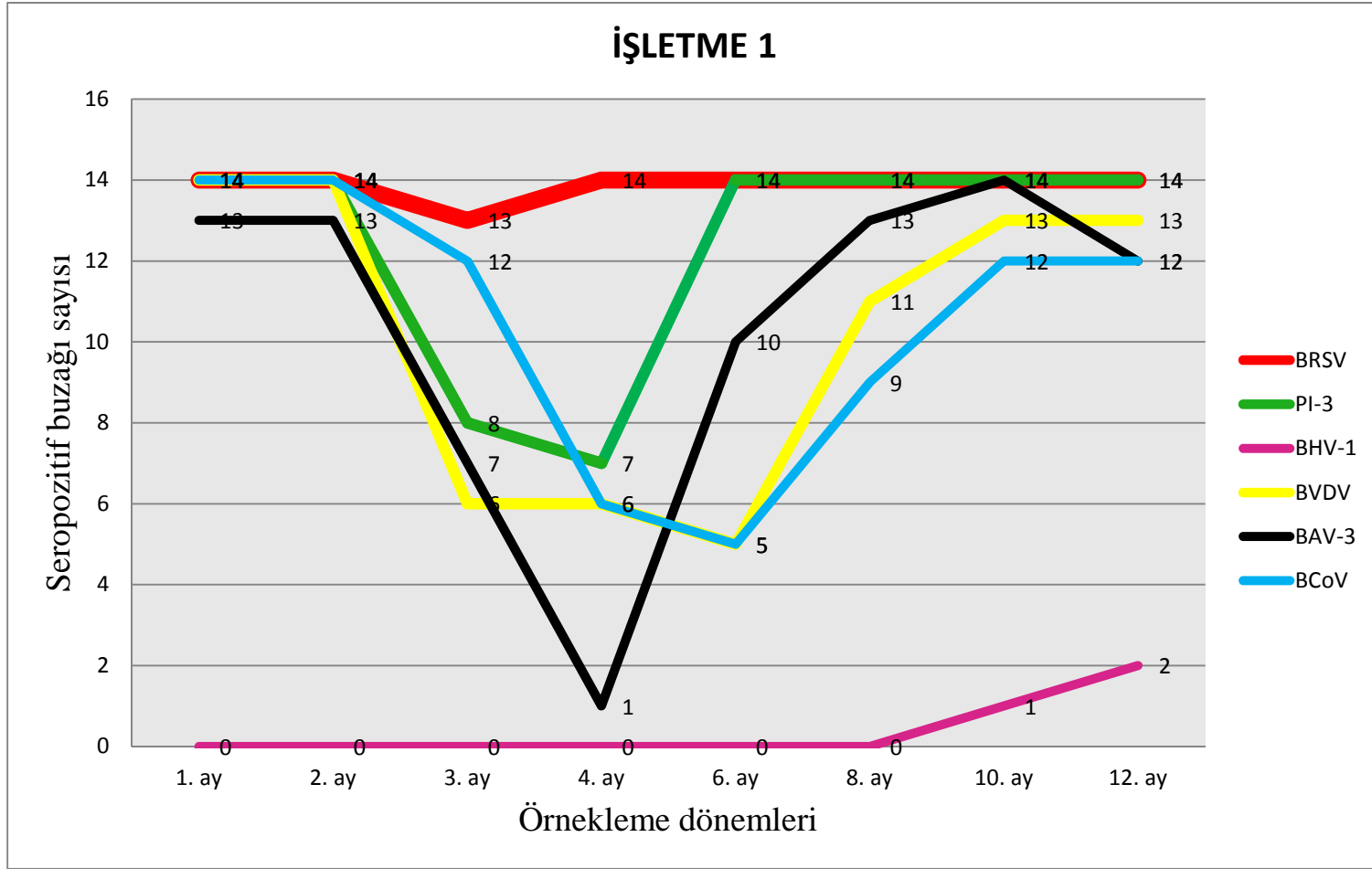
## Serolojik Çalışmalar

### Büyük Ölçekli İşletmelerde (Hayvan Sayısı >100) Elde Edilen Bulgular

#### İşletme 1'e Ait Bulgular

İşletme 1'de bulunan buzağılar ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikor titre değerleri Şekil-3, -4, -5 ve -6'da sunulmuştur. Örneklenen buzağı sayısının 14 olduğu İşletme 1'de BRSV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren hafif azaldığı (Şekil-3), buzağuların 3. ayda bu etkene maruz kaldığı ve buna bağlı olarak antikor titrelerinde artış şekillendiği (Şekil-4) belirlendi. PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren hızla düşmeye başladığı ve buzağuların 4. ve 6. aylar arasında bu etkene maruz kaldığı belirlendi. PI-3 için antikor titre değerlerinin 10. ayda saptanan azalış hariç seropozitif buzağı sayısı ile doğru orantılı seyrettiği saptandı. Başlangıçta BHV-1'e karşı maternal antikora sahip herhangi bir buzağı tespit edilemezken buzağuların bu etkenle 8. ve 10. aylar arasında karşılaştığı gözlemlendi. Antikor titrelerinin seropozitif buzağı sayısı ile düşük seviyede olsa da paralel seyrettiği görüldü. BVDV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının yine 2. ayda düşmeye başladığı ve buzağuların 6. ve 8. aylar arasında bu enfeksiyona maruz kaldığı görüldü. BVDV için de antikor titrelerindeki değişimin seropozitif buzağı sayısındaki değişim ile uyumlu olduğu tespit edildi. Seropozitif hayvan sayıları temel alındığında BAV-3; PI-3'ün çizdiği tabloyu tekrar ederken BCoV ise BVDV ile aynı tabloyu verdi (Şekil-3). BAV-3 ve BCoV içinde seropozitif buzağı sayısı ile antikor titre grafiğinin uyum içerisinde seyrettiği belirlendi (Şekil-4).

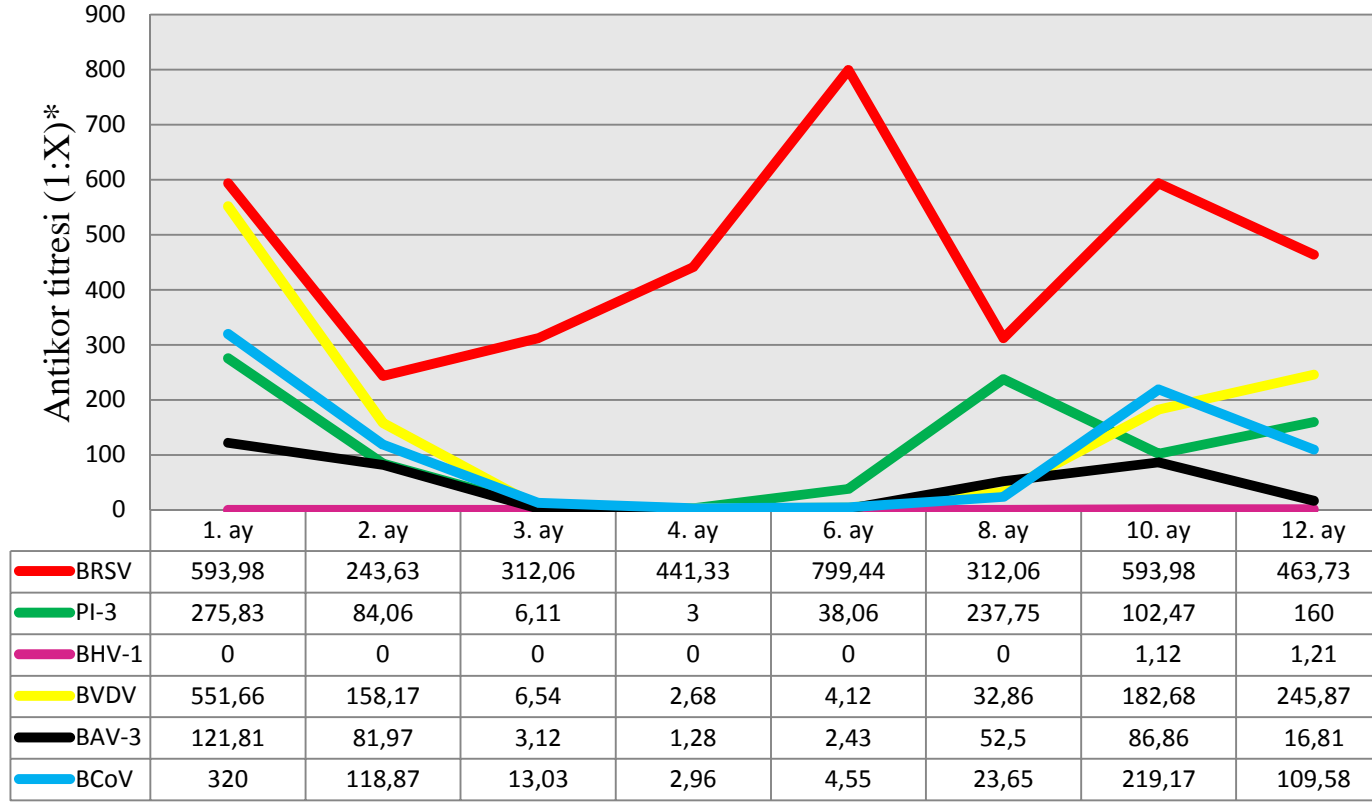
Annelerin serumlarında yapılan incelemeler sonucunda en düşük seropozitif hayvan sayısının ve antikor titre değerinin BHV-1'e ait olduğu görüldü (Şekil-5). Diğer etkenlere karşı seropozitif olan anne sayısının %92 (13/14) üzerinde olduğu, annelerdeki en yüksek antikor titre değerinin ise (1:285.2) BCoV'a ait olduğu belirlendi (Şekil-6).



n=14

Şekil-3. İşletme 1'de enfeksiyonlara göre seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

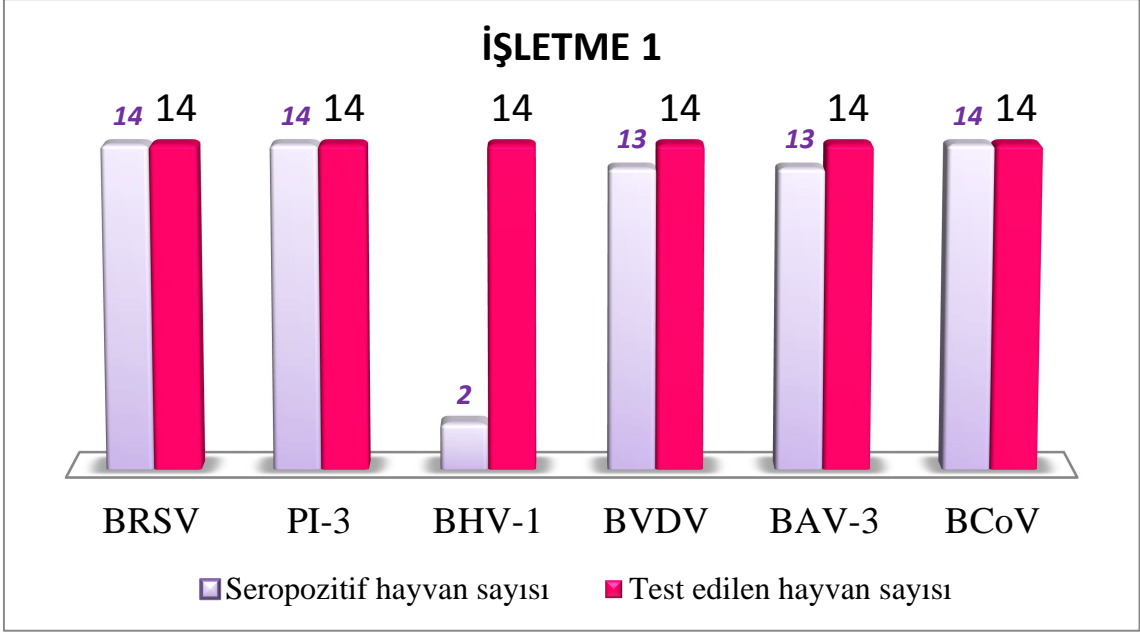
## İŞLETME 1



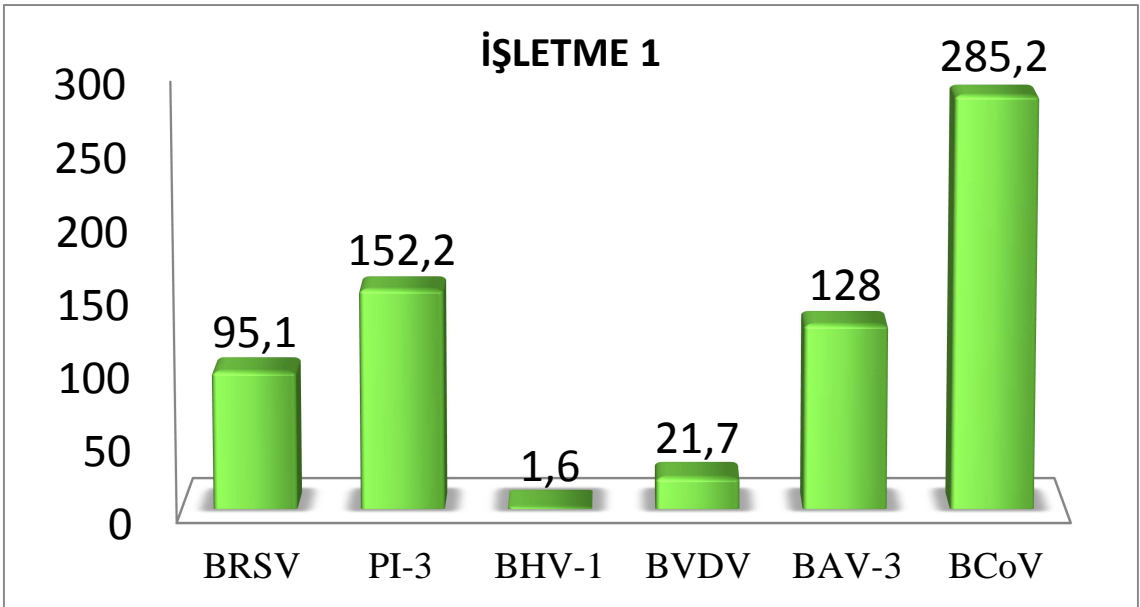
Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresi

\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=14

Şekil-4. İşletme 1'de enfeksiyonlara göre buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil-5. İşletme 1’de seropozitif olduğu saptanan anne sayısı



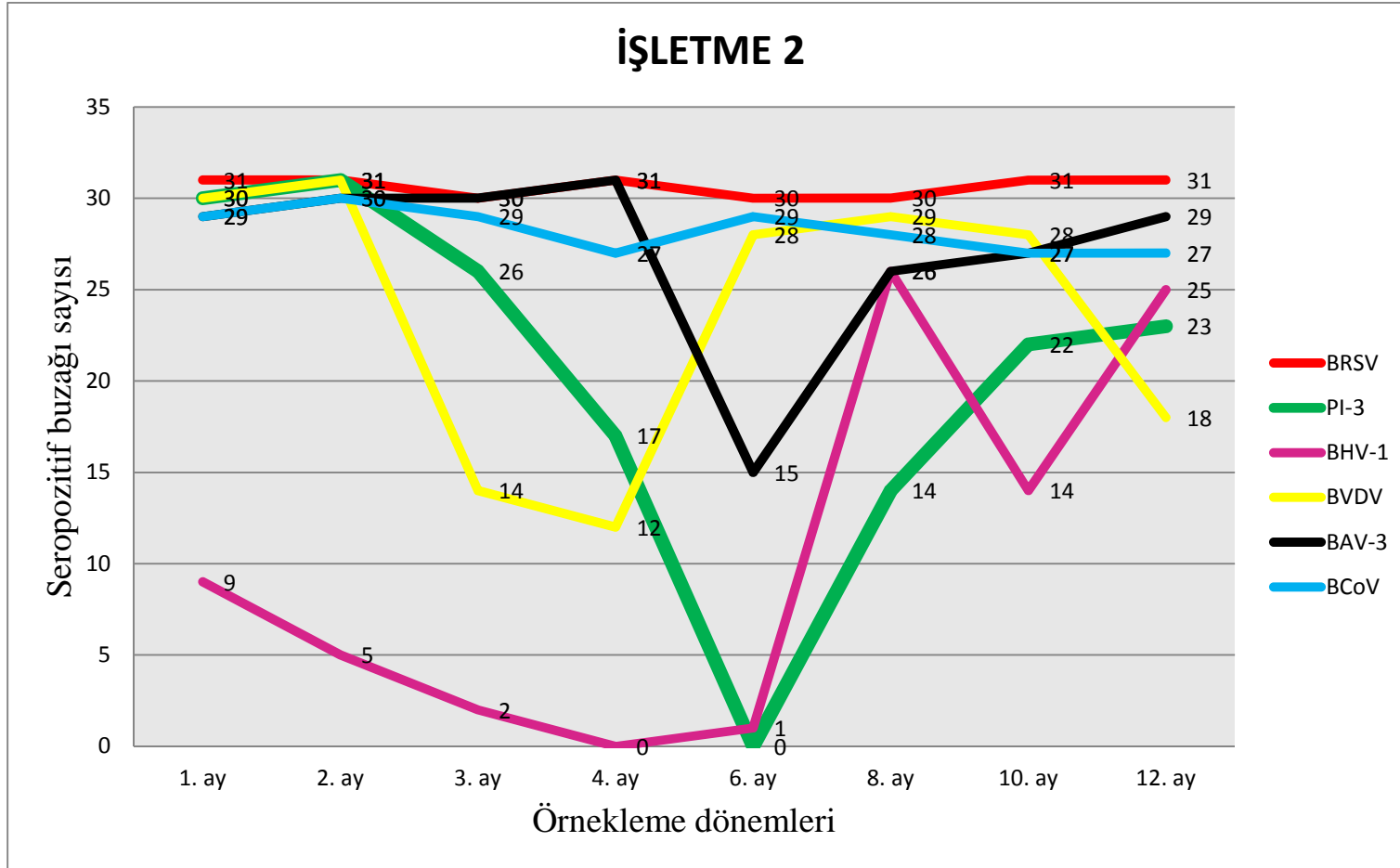
Şekil-6. İşletme 1’deki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

## İşletme 2'ye Ait Bulgular

İşletme 2'de bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikör titre değerleri Şekil-7, -8, -9 ve -10'da sunulmuştur. Örneklenen buzağı sayısının 31 olduğu İşletme 2'de BRSV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının ve antikör titre değerinin 2. ile 10. aylar arasında dalgalı seyrettiği ve buzağuların enfeksiyonla ilk defa 3. ve 4. aylar arasında karşılaştığı görüldü (Şekil-7,-8). PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren 6. aya kadar hızla düştüğü, buzağuların 6. ve 8. aylar arasında bu enfeksiyonla karşı karşıya kaldığı ve antikör titre değerlerinin bu tablo ile uyumlu olduğu belirlendi. BHV-1'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının ise başlangıçta da az olduğu görülürken bu hayvanların sayısının 4. aya kadar azaldığı ve 4. ve 6. aylar arasında örneklenen hayvanların bu etkene maruz kaldığı tespit edildi. Antikör titrelerinin de bu tablo ile paralel seyrettiği saptandı (Şekil-8). BVDV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren 4. aya kadar azaldığı ve bu hayvanların 4. ve 6. aylar arasında enfeksiyona maruz kaldığı tespit edildi. Yine antikör titre değeri eğrisinin seropozitif buzağı sayısı eğrisi ile uyumlu olduğu görüldü. BAV-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 4. aydan itibaren düşmeye başladığı ve buzağuların esasen 6. ve 8. aylar arasında bu enfeksiyona maruz kaldığı tespit edildi. Antikör titre değerleri düşük olsa da yükseliş eğrisinin burada da seropozitif buzağı sayısı ile paralel seyrettiği görüldü. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 3. ayda hafif bir azalış gösterdiği ve buzağuların 4. ve 6. aylar arasında bu etkenle karşılaştığı görüldü.

Annelerin serumlarında yapılan incelemeler sonucunda BHV-1 antikoru tespit edilen anne sayısının düşük ve antikör titrelerinin geometrik ortalamalarının sıfıra yakın olduğu görüldü. Diğer 5 virusa karşı hemen hemen tüm annelerde antikör varlığı tespit edilirken (Şekil-9), en yüksek antikör titresini (1:535,1) BCoV'a karşı saptandı (Şekil-10).

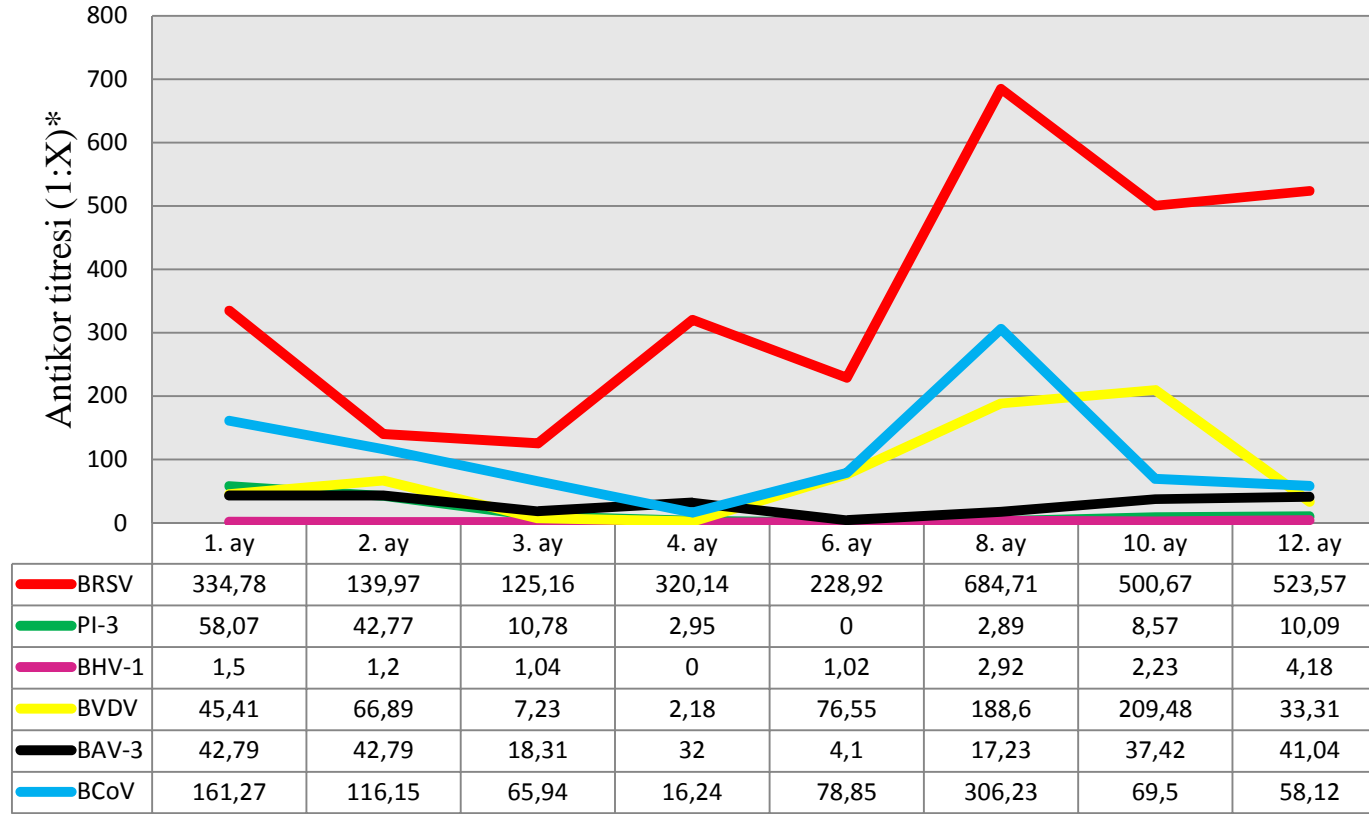




n=31

Şekil-7. İşletme 2’de enfeksiyonlara göre seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

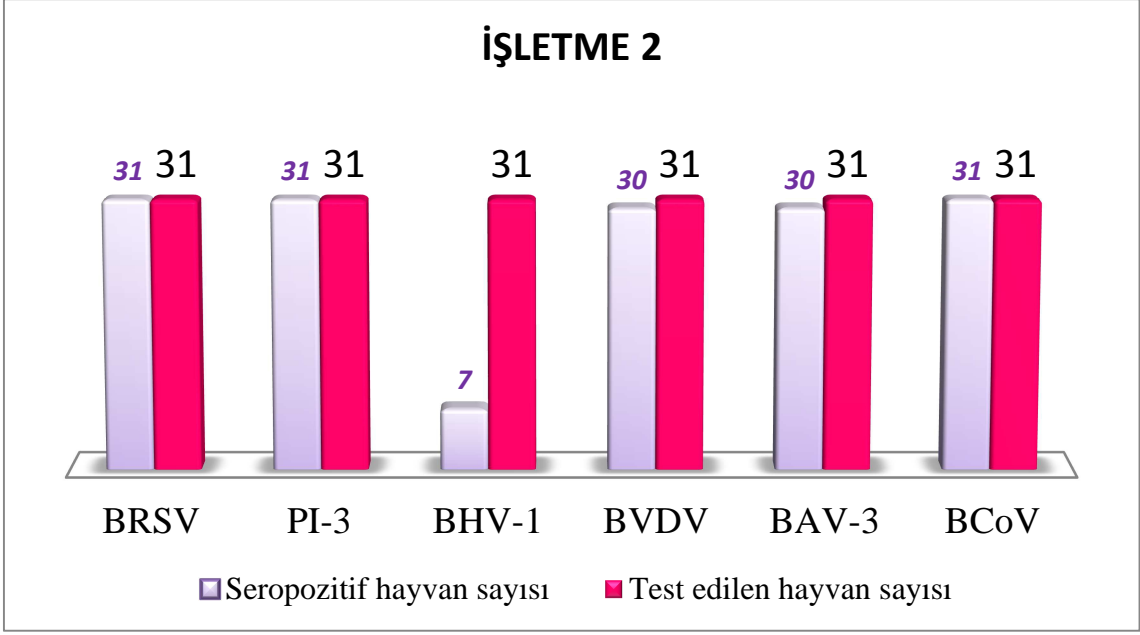
## İŞLETME 2



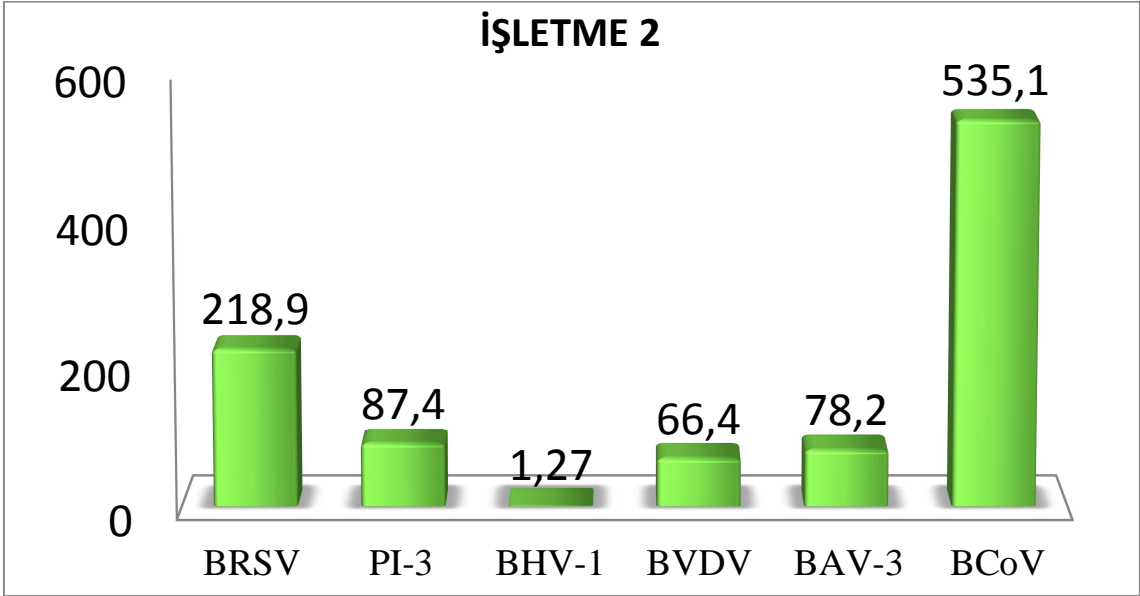
Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresi

\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=31

Şekil-8. İşletme 2’de enfeksiyonlara göre buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil-9. İşletme 2’de seropozitif olduğu saptanan anne sayısı



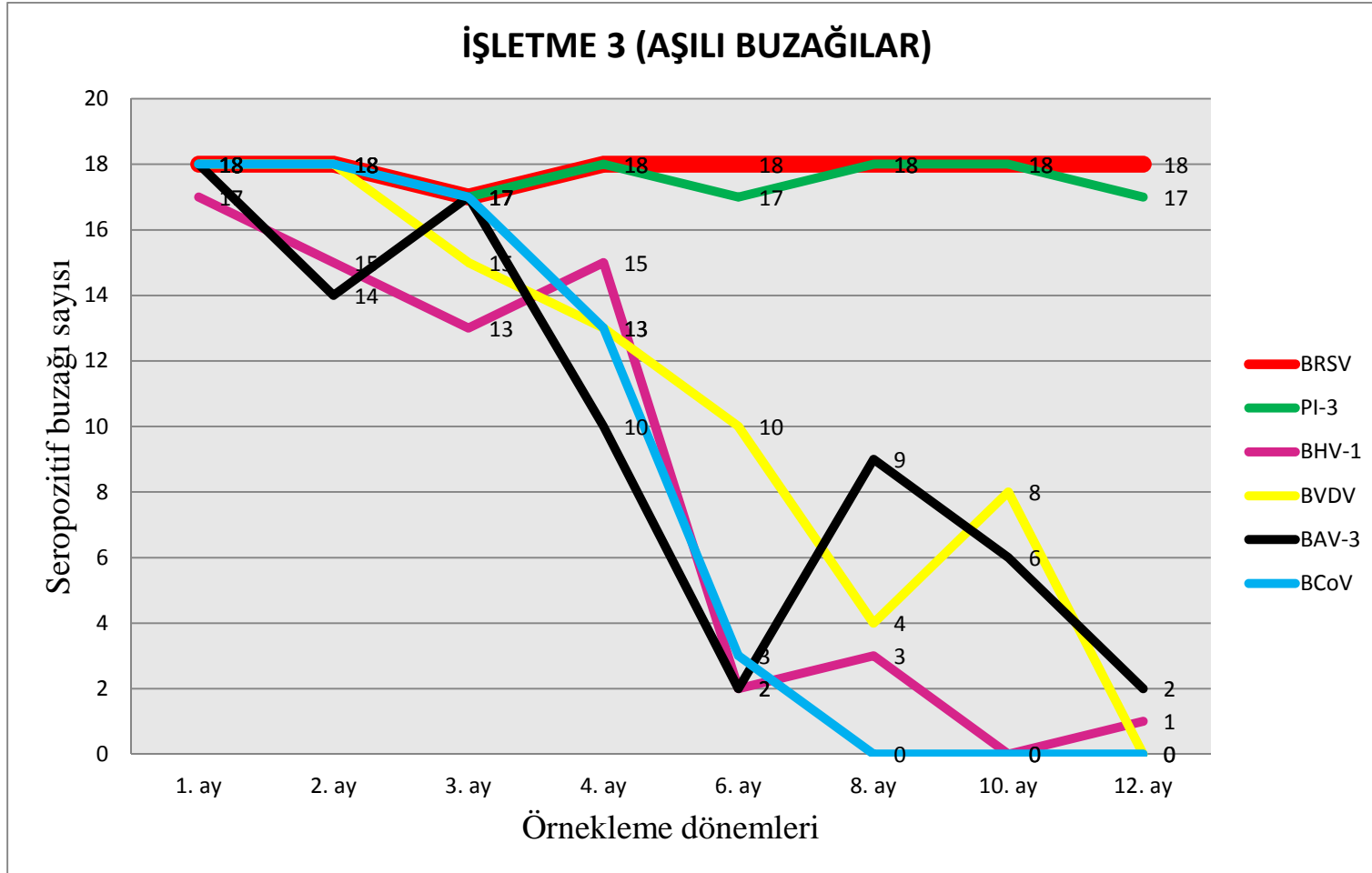
Şekil-10. İşletme 2’deki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

## İşletme 3'e Ait Bulgular

### A. Dört Aylık Yaşta Aşı Uygulanan Buzağular

İşletme 3'te bulunan aşılı buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikör titre değerleri Şekil-11 ve -12'de sunulmuştur. İşletme 3'te 18 adet buzağıya 4. aylarında BVDV tip 1 ve 2, BHV-1, PI-3 ve BRSV içeren ticari aşı uygulaması yapıldığı için enfeksiyonların doğal seyrini incelemek 4. aydan itibaren söz konusu olamadı. Dolayısıyla bu buzağular aşı uygulanmayan buzağılardan ayrı bir grup olarak incelendi.

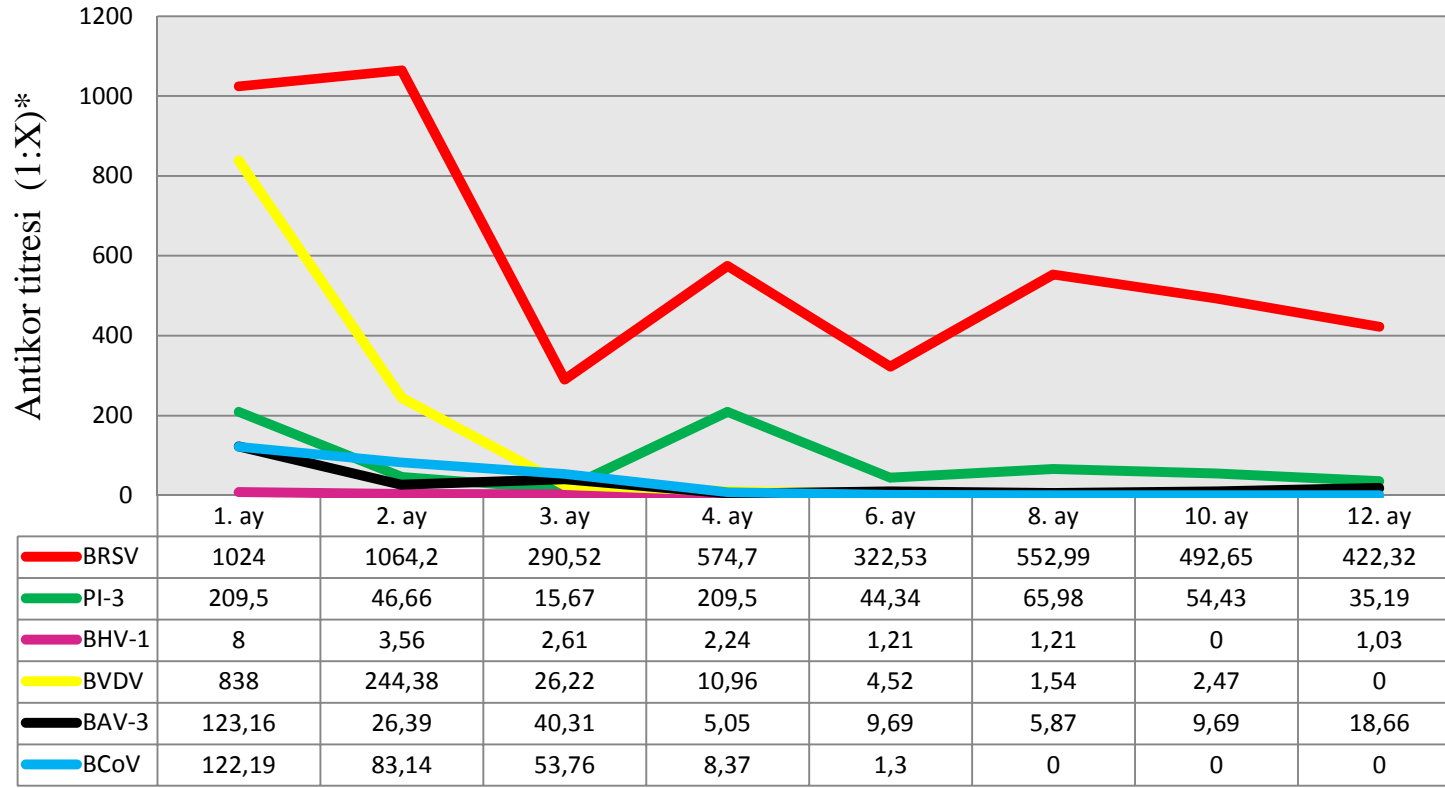
BRSV'ye karşı maternal antikör taşıyan aşılı buzağı sayısında 2. ayda hafif bir azalış görülürken; 3. ayda antikora sahip buzağı sayısının tekrar arttığı ve bu aydan itibaren antikör taşıyan buzağı sayısında bir değişiklik olmadığı belirlendi (Şekil-11). Antikör titrelerinin ise dalgalı seyrettiği tespit edildi (Şekil-12). PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının birer ay aralıkla dalgalandığı gözlemlendi. PI-3'e karşı ilk üç ay içerisinde buzağuların antikör titrelerinde azalma görülürken 4. ayda antikör titresinin en yüksek seviyeye ulaştığı, sonrasında ise dalgalı seyrettiği belirlendi. Örneklemenin başlangıcında BHV-1'e karşı maternal antikör tespit edilen buzağı sayısında 6. ayda ani bir azalış gözlemlendi, bu azalışın 10. ayda sifıra ulaşarak 12. ayda tekrar yükselişe geçtiği, ortalama antikör titre değerlerinin ise 4. aydaki aşımaya rağmen sürekli azalış eğiliminde olduğu saptandı (Şekil-12). BVDV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren düzenli şekilde düştüğü ve 8. ve 10. aylar arasında buzağuların muhtemelen etkenle karşılaştığı belirlendi. BAV-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısındaki esas azalmanın 3. aydan itibaren olduğu, 6. ayda enfeksiyona sahip buzağı sayısında artışın gözlenmesiyle birlikte bu ayda buzağuların etkenle karşı karşıya kaldığı görüldü. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 3. aydan itibaren düzenli olarak azaldığı ve 8. ay itibarıyla buzağılarda antikör tespit edilmediği görüldü. Bu grupta yer alan hayvanlarda BVDV, BAV-3 ve BCoV antikör titrelerinin 3. aydan itibaren önemli düzeyde azaldığı ve bu durumun 4. ayda uygulanan aşılardan etkilenmediği anlaşılmaktadır.



n=:18

Şekil-11. İşletme 3’de enfeksiyonlara göre aşıli seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

### İŞLETME 3 (AŞILI BUZAĞILAR)



Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresi

\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=18

Şekil-12. İşletme 3’de enfeksiyonlara göre aşıli buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri

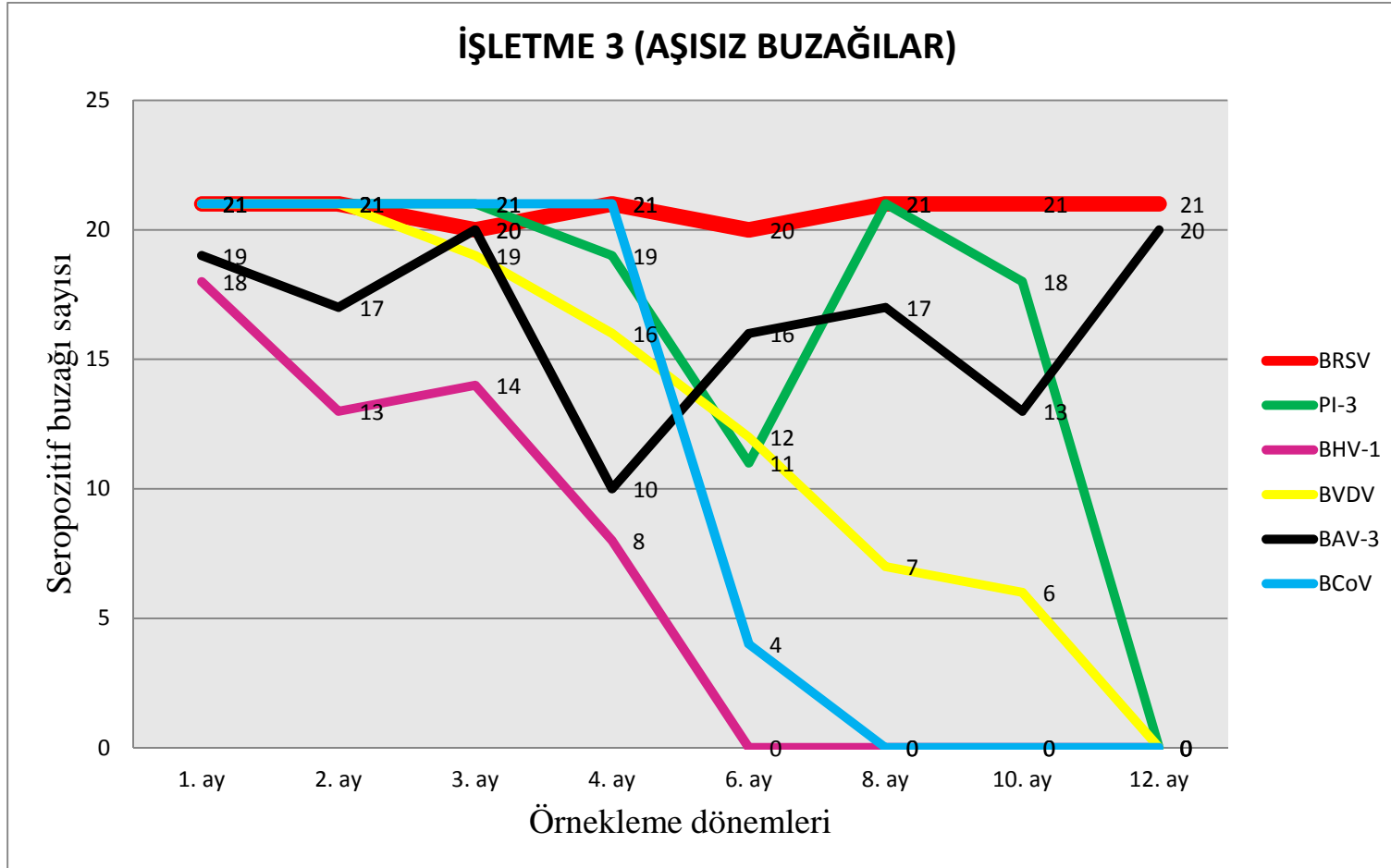
## B. Dört Aylık Yaşta Aşı Uygulanmayan Buzağular

İşletme 3'te bulunan aşısız buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikör titre değerleri Şekil-13, -14, 15 ve -16'da sunulmuştur. İşletme 3'te yer alan 21 adet buzağıya araştırma sürecinde herhangi bir aşı uygulaması yapılmamış olması bu buzağularda enfeksiyonların doğal seyrinin takip edilebilmesine olanak sağlamıştır. Bu buzağular arasında BRSV'ye karşı maternal antikör taşıyan buzağı sayısında 3. ayda hafif bir azalış saptanırken; 3. ve 12. aylar arasında seropozitif buzağı sayısının sürekli olarak yüksek seyrettiği tespit edildi. Bu işletmede başlangıçta oldukça yüksek (1:1024) olan BRSV ortalama antikör titre değerlerinin 6. aya kadar azaldığı, sonraki dönemlerde ise belirli bir düzeyde seyrettiği görüldü (Şekil-14). PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 3. aydan itibaren düştüğü, buzağuların etkenle 6. ve 8. aylar arasında karşılaştığı ve kısa süren enfeksiyon tablosunun 8. aydan itibaren hızlı bir şekilde azalarak sıfırlandığı belirlendi. Bu tablonun antikör titresini eğrisi uyum içinde seyrettiği görüldü. Örneklem döneminin başlangıcında BHV-1'e karşı maternal antikör tespit edilen buzağı sayısının 3. aydan itibaren azaldığı ve 6. ayda sıfıra ulaştığı, ortalama antikör titrelerinin de çok düşük düzeylerde seyrettiği saptandı. BVDV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren düzenli şekilde azaldığı ve 12. ayda sıfırlandığı, antikör titre eğrisinde ise başlangıçtan itibaren ciddi bir azalış şekillendiği ve 3. aydan itibaren minimal seviyede seyrettiği belirlendi. BAV-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. ayda azaldığı ve örneklenen buzağuların etkenle muhtemelen ilk defa 3. ayda karşılaştığı saptandı. Antikör taşıyan buzağı sayısındaki esas azalmanın 4. ayda olduğu ve 6. ayda enfeksiyona sahip buzağı sayısında artışın gözlenmesiyle birlikte bu ayda buzağuların tekrar etkenle karşı karşıya kaldığı değerlendirildi. Aynı dalgalanma 8 ve 12. aylar arasında da görüldü. Burada antikör titre eğrisinin seropozitif buzağı sayısına benzer şekilde dalgalı seyrettiği görüldü. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 4. aydan itibaren hızla azaldığı belirlendi ve 8. ay itibariyle buzağularda antikör tespit edilmedi. Antikör titre grafiğinde de ilk aydan itibaren başlayan gerilemenin 8. ay ve sonrasında minimal düzeye ulaştığı tespit edildi.

Annelerde incelenen etkenlere karşı mevcut antikör durumuna ve bu antikörlerin geometrik ortalamalarına bakıldığında; BAV-3 için 1 anne hariç, diğer 5 etken içinse tüm

annelerin antikor taşıdığı saptandı. BAV-3 ve BHV-1'e karşı mevcut antikorların titrelerinin oldukça düşük olduğu, diğer 4 enfeksiyona karşı ise 1:132.1 (PI-3) ve üzeri miktarda antikor taşıdıkları görüldü.

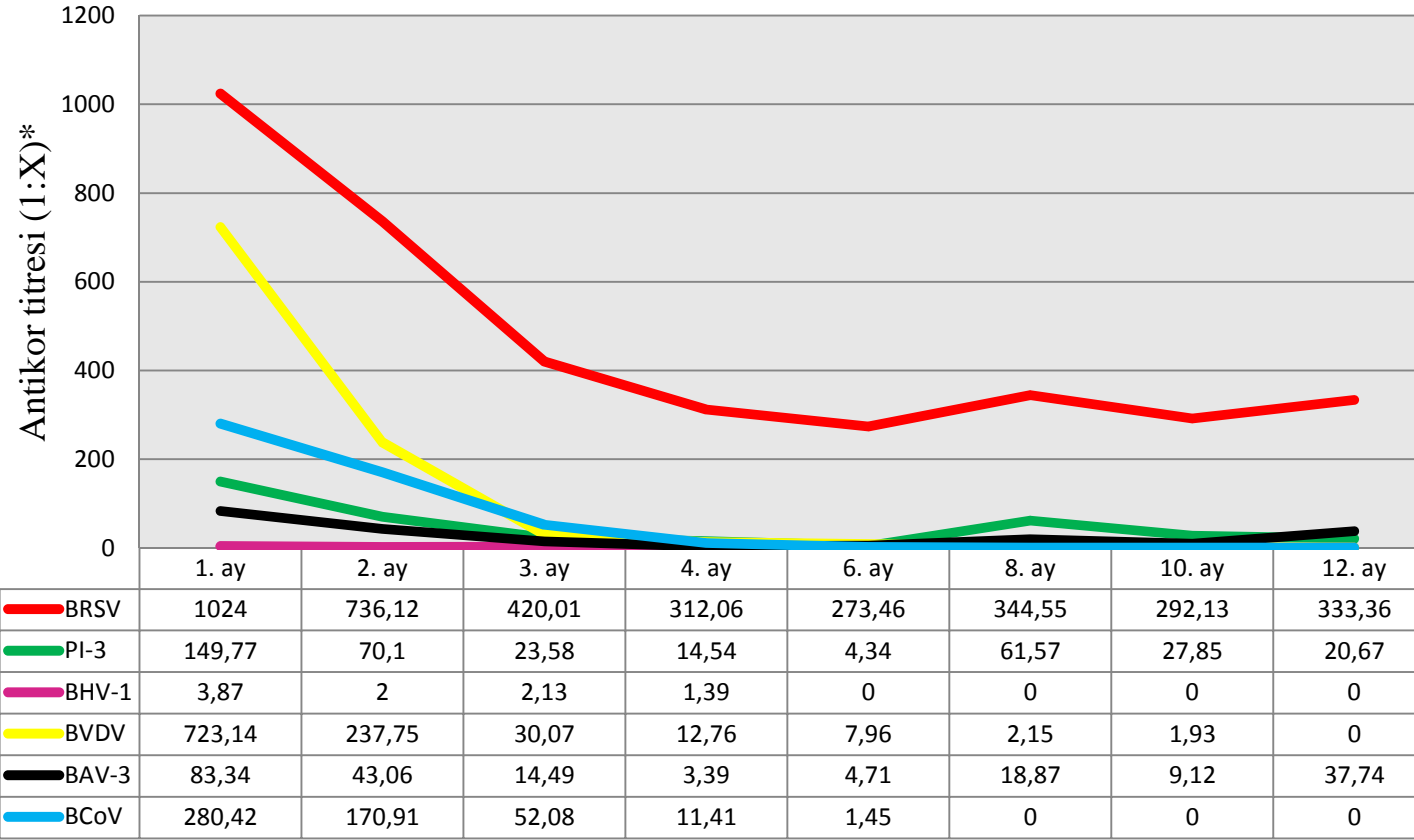




n=21

Şekil-13. İşletme 3’de enfeksiyonlara göre aşısız seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

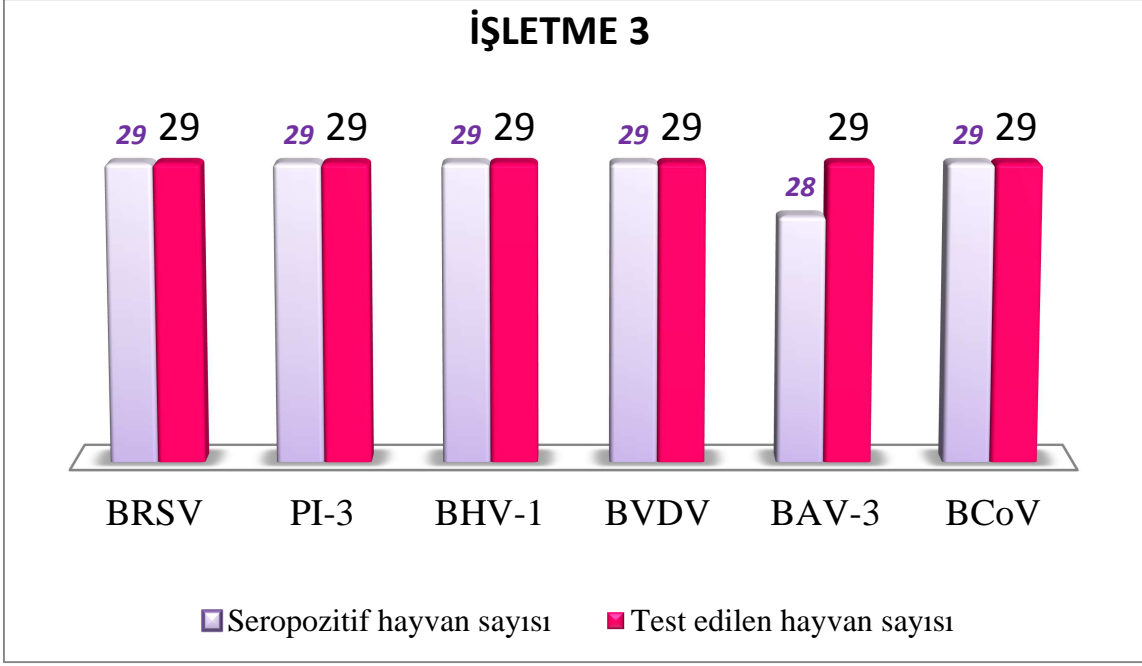
### İŞLETME 3 (AŞISIZ BUZAĞILAR)



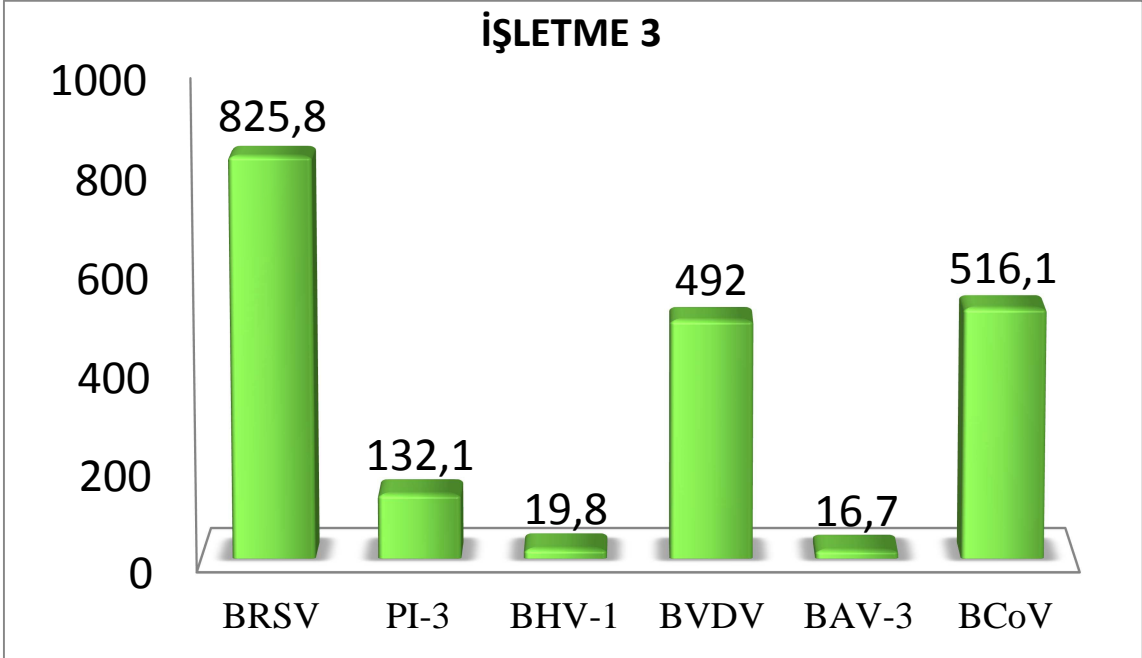
Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresi

\*: Buzağılardaki antikor titrelerinin değerleri geometrik ortalaması, n= 21

Şekil-14. İşletme 3’de enfeksiyonlara göre aşısız buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil- 15. İşletme 3’de seropozitif olduğu saptanan anne sayısı

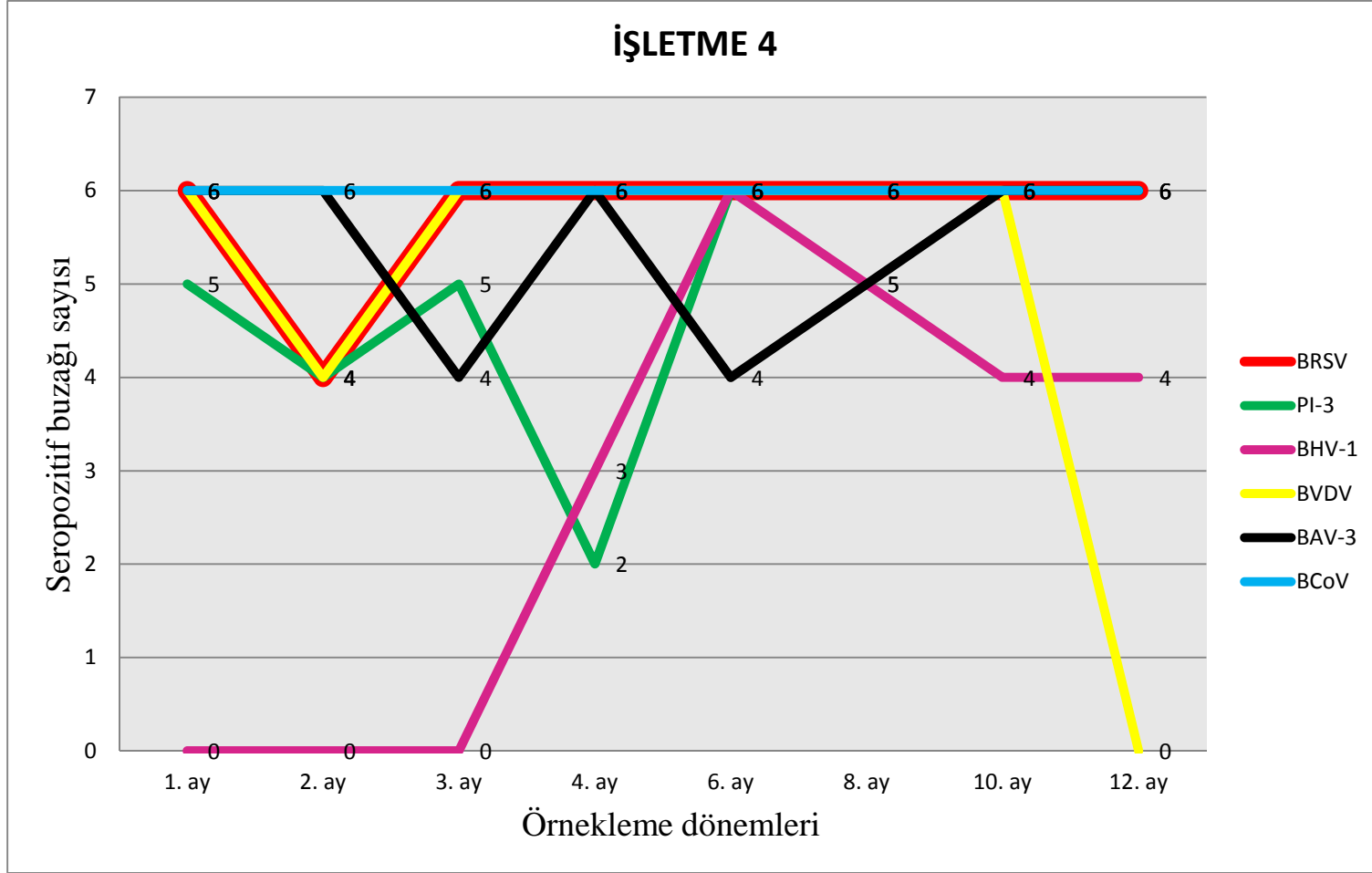


Şekil- 16. İşletme 3’deki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

## İşletme 4'e Ait Bulgular

İşletme 4'te bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikor titre değerleri Şekil-17, -18, -19 ve -20'de sunulmuştur. Örneklenen buzağı sayısının 6 olduğu İşletme 4'de BRSV'ye karşı maternal antikor taşıyan buzağı sayısında 1. ayda azalış görülürken 2. ve 3. aylar arasında buzağuların enfeksiyona maruz kaldıkları ve seropozitif hayvan sayısının arttığı tespit edildi. Antikor titrelerinin de bu tabloya uygun olduğu ayrıca 8. ayda en yüksek seviyeye ulaştığı ve sonrasında azalmaya başladığı saptandı. PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının esasen 3. aydan itibaren azaldığı, ayrıca 4. ve 6. aylar arasında enfekte buzağuların sayısında artış olduğu belirlendi. Örnekleme başlangıcında BHV-1'e karşı hiçbir buzağıda antikor tespit edilemezken 3. ve 6. aylar arasında enfekte buzağı sayısında artış saptandı. BVDV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. ayda düştüğü fakat 3. ve 4. aylar arasında artarak esas azalışın 12. ayda yaşandığı tespit edildi. BAV-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 3. ayda azaldığı, 3. ile 6. aylar arasında antikor taşıyan buzağı sayısında dalgalanma olduğu ve 6. aydan başlayan düzenli artışla 10. ayda tüm buzağuların enfekte olduğu görüldü. PI-3, BHV-1, BVDV ve BAV-3 için antikor titre eğrilerinin seropozitif buzağı sayısı eğrileri ile uyumlu seyrettiği belirlendi. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısında örnekleme süresince herhangi bir değişiklik saptanmazken, antikor titrelerinin dalgalı seyrettiği görüldü.

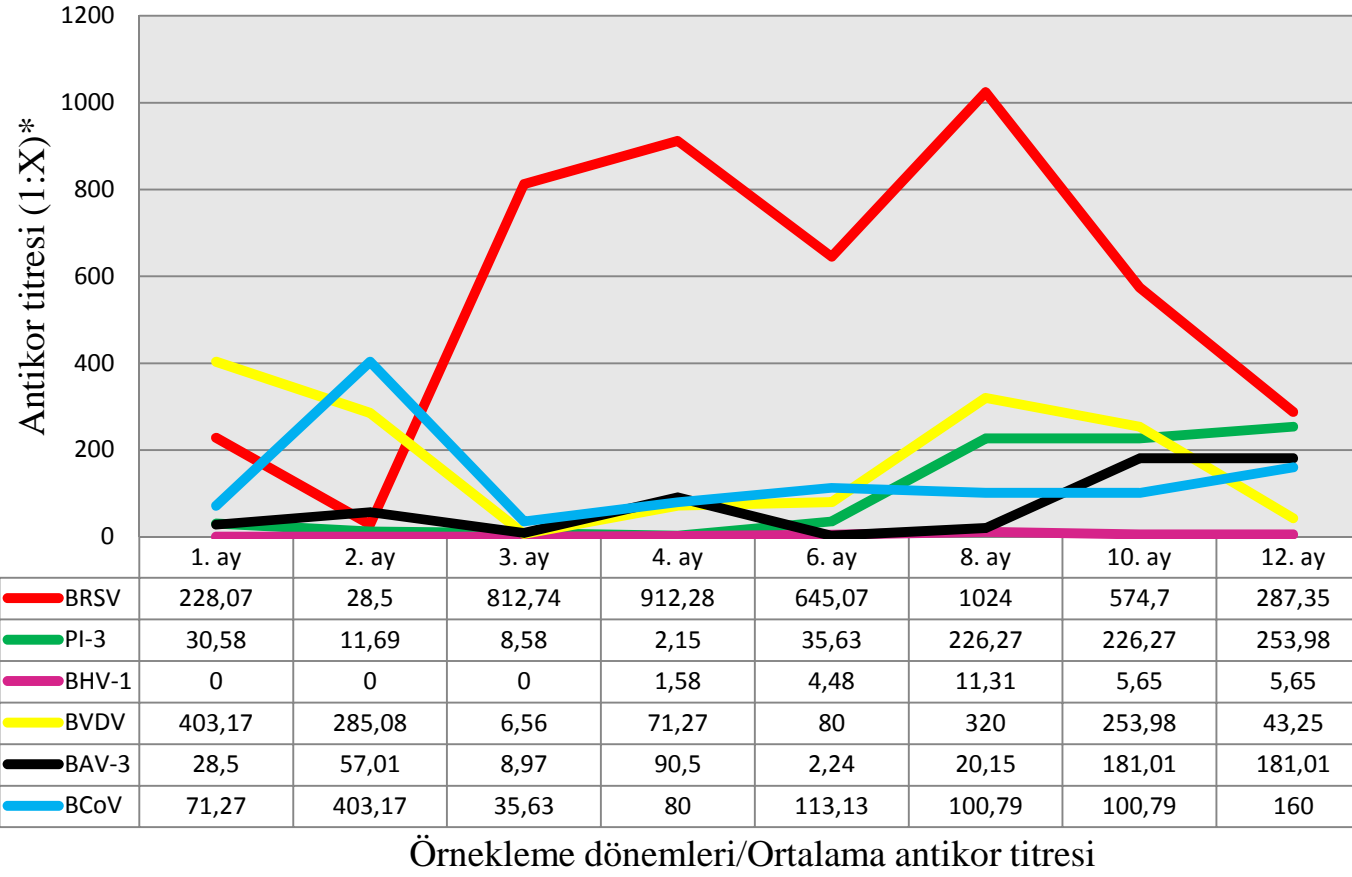
İşletme 4'de BHV-1 dışındaki tüm etkenlere karşı hemen hemen tüm annelerde antikor varlığı tespit edilirken bu antikorların ortalama titre değerlerinin 1:27.2 (PI-3) ile 1:285 arasında değiştiği saptandı.



n=6

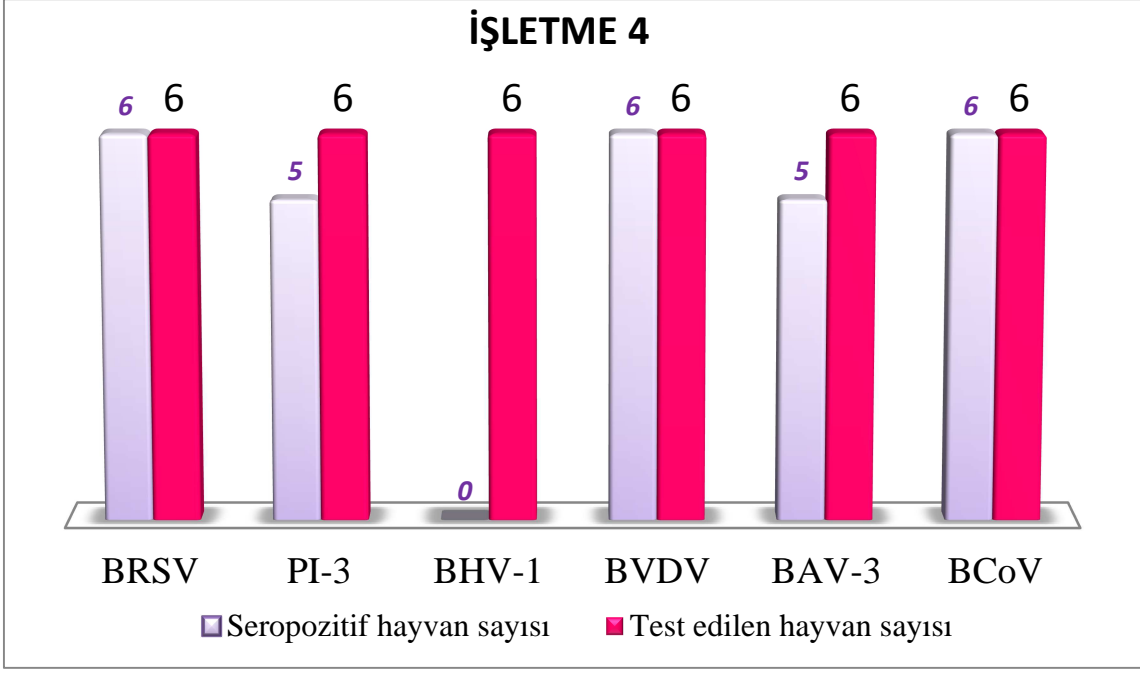
Şekil-17. İşletme 4’de enfeksiyonlara göre seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

## İŞLETME 4

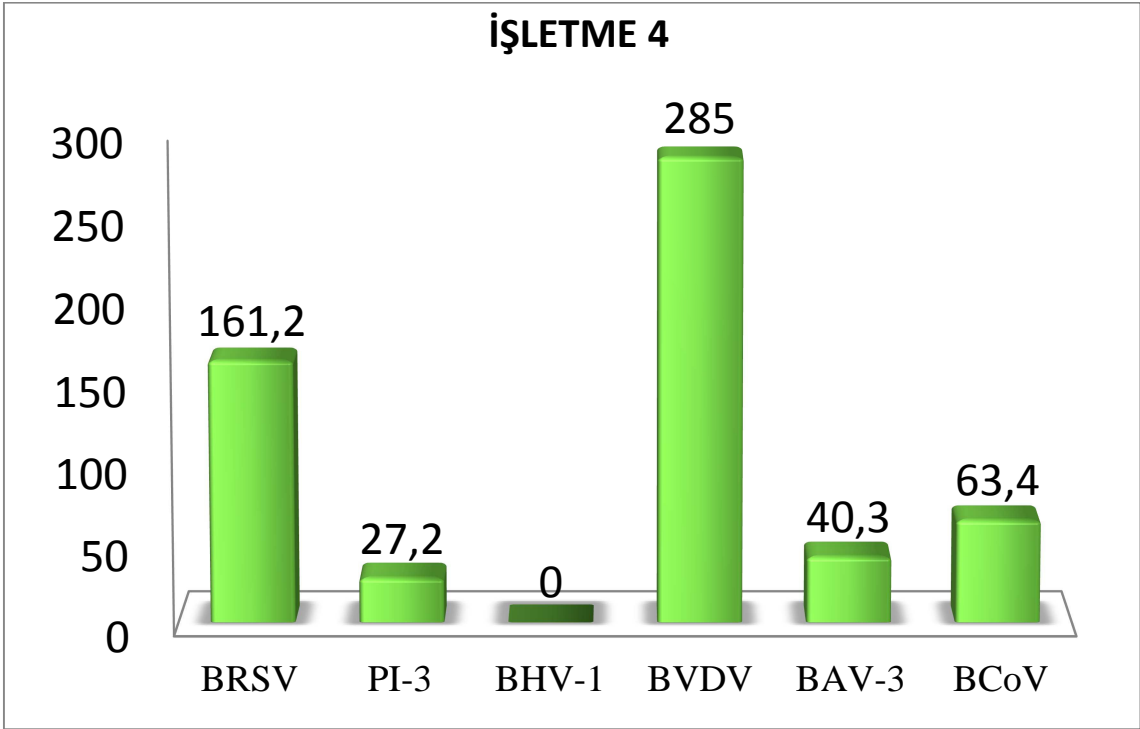


\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=6

Şekil-18. İşletme 4’de enfeksiyonlara göre buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil-19. İşletme 4’de seropozitif olduğu saptanan anne sayısı



Şekil-20. İşletme 4’deki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

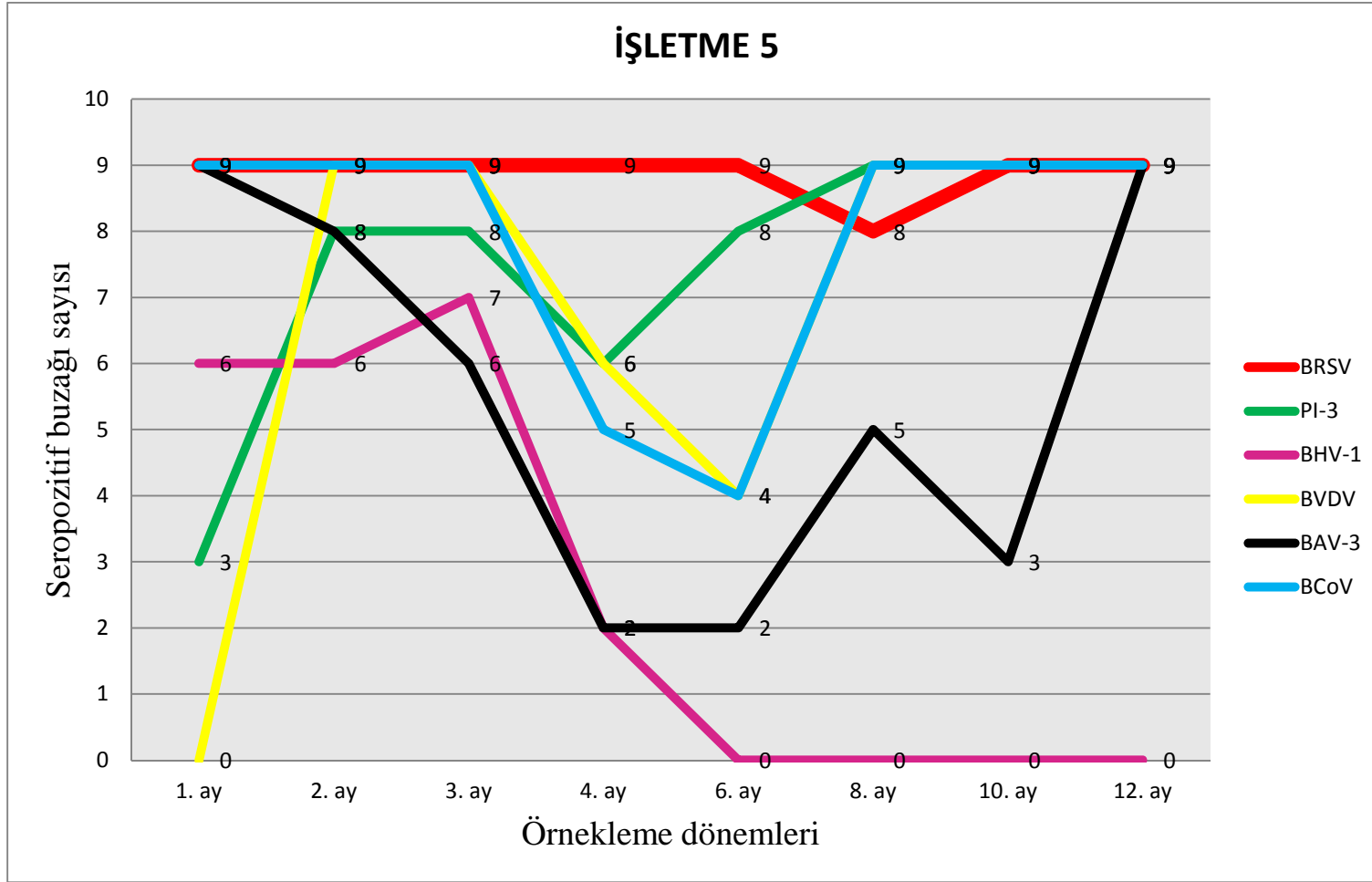
## Orta Ölçekli İşletmelerde (20 < Hayvan Sayısı >100) Elde Edilen Bulgular

### İşletme 5' e Ait Bulgular

İşletme 5'te bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikör titre değerleri Şekil-21, -22, -23 ve -24'de sunulmuştur. Örneklenen buzağı sayısının 9 olduğu İşletme 5'de BRSV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 6. ile 12. aylar arasında hafif bir azalış olduğu görüldü. İlk altı aydaki antikör titrelerinin dalgalı seyrettiği 6. ile 10. aylar arasındaki azalışın yerini 10. aydan itibaren yükselişe bıraktığı görüldü (Şekil-22). PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 1. aydan itibaren arttığı, 4. ayda enfekte buzağı sayısının azaldığı ve buzağuların 4. ve 6. aylar arasında bu etkenle karşı karşıya kaldığı belirlendi. BHV-1'e karşı antikora sahip buzağı sayısının ise 2. ve 3. aylar arasında arttığı ve 3. ay itibariyle hızla düşerek 6. ayda sıfırlandığı görüldü. Her iki etken için de seropozitif buzağı sayısındaki tablo ile antikör titre değerleri tablosunun uyumlu olduğu görüldü. Bu işletmede başlangıçta BVDV'ye karşı maternal antikora sahip herhangi bir buzağı yokken enfekte buzağı sayısının 2. ayda hızla arttığı, 3. ve 6. aylar arasında düştüğü ve 6. ve 8. aylar arasında buzağuların tekrar enfeksiyona maruz kaldıkları belirlendi. Antikör titre değerlerinin ise ilk 3 ayda arttığı, 4. aydaki düşüşten sonra 8. ayda tekrar yükseldiği görüldü. Böylece bu işletmedeki buzağuların 1 yaşına kadar 2 kez BVDV enfeksiyonuna maruz kaldığı belirlendi. BAV-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren hızla düşmeye başladığı ve buzağuların 6. ve 8. aylar arasında bu etkene maruz kaldığı tespit edilirken, 8 ve 10. aylar arasında görülen azalışı takiben hızlı bir yükseliş saptandı. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının ise 3. aydan itibaren azaldığı ve buzağuların 6. ve 8. aylar arasında bu etkenle karşılaştığı görüldü. BAV-3 ve BCoV için de antikör titre eğrilerinin seropozitif buzağı sayılarındaki değişimle uyumlu olduğu belirlendi.

Örneklenen tüm annelerin BRSV, BVDV ve BAV-3'e karşı, 7 annenin BHV-1 ve BCoV'a karşı ve 4 annenin PI-3'e karşı seropozitif olduğu belirlendi. Annelerdeki antikör titrelerinin geometrik ortalamaları incelendiğinde en yüksek antikör titresinin 1:877.8 ile BRSV'ye karşı, en düşük antikör titresinin ise 1:5.1 ile PI-3'e karşı olduğu görüldü.

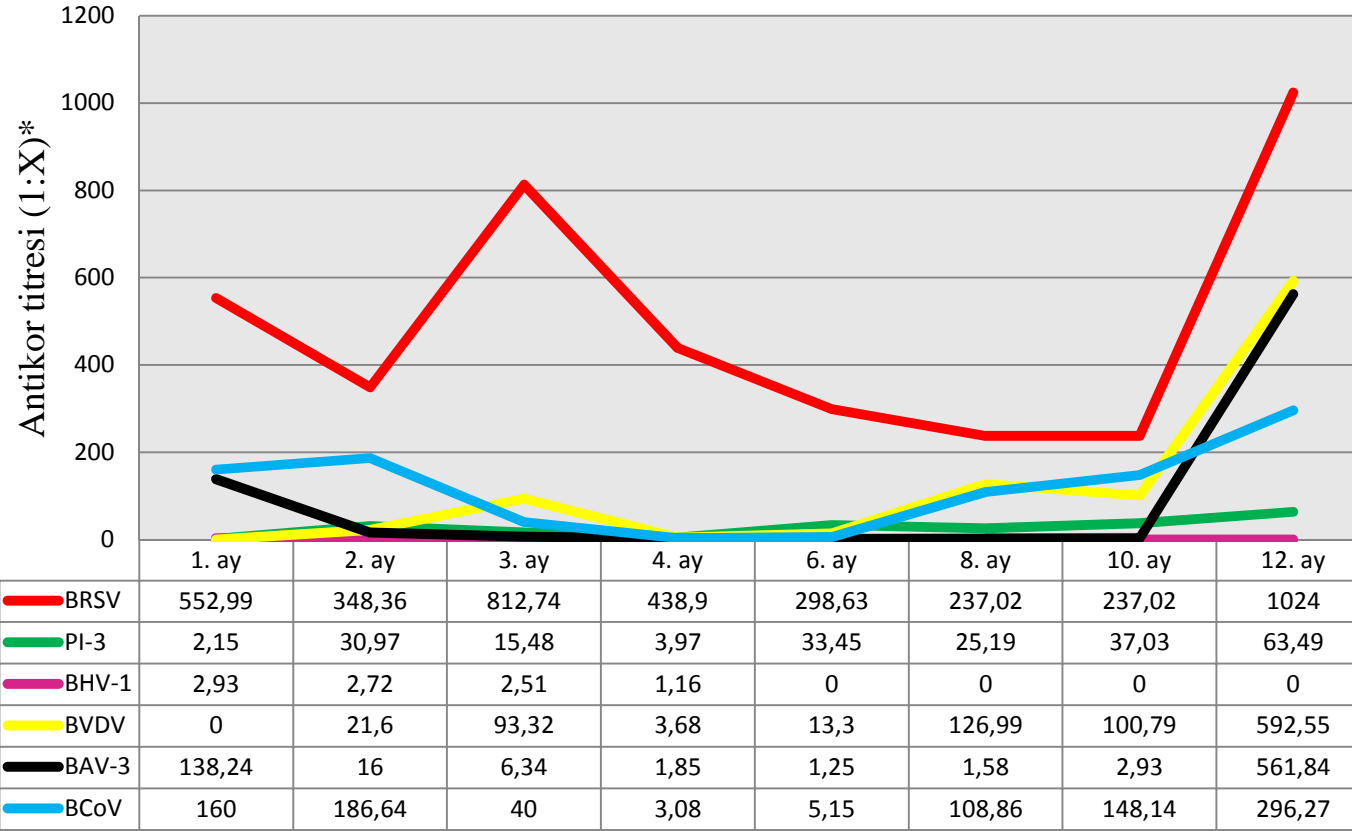




n=9

Şekil-21. İşletme 5’de enfeksiyonlara göre seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

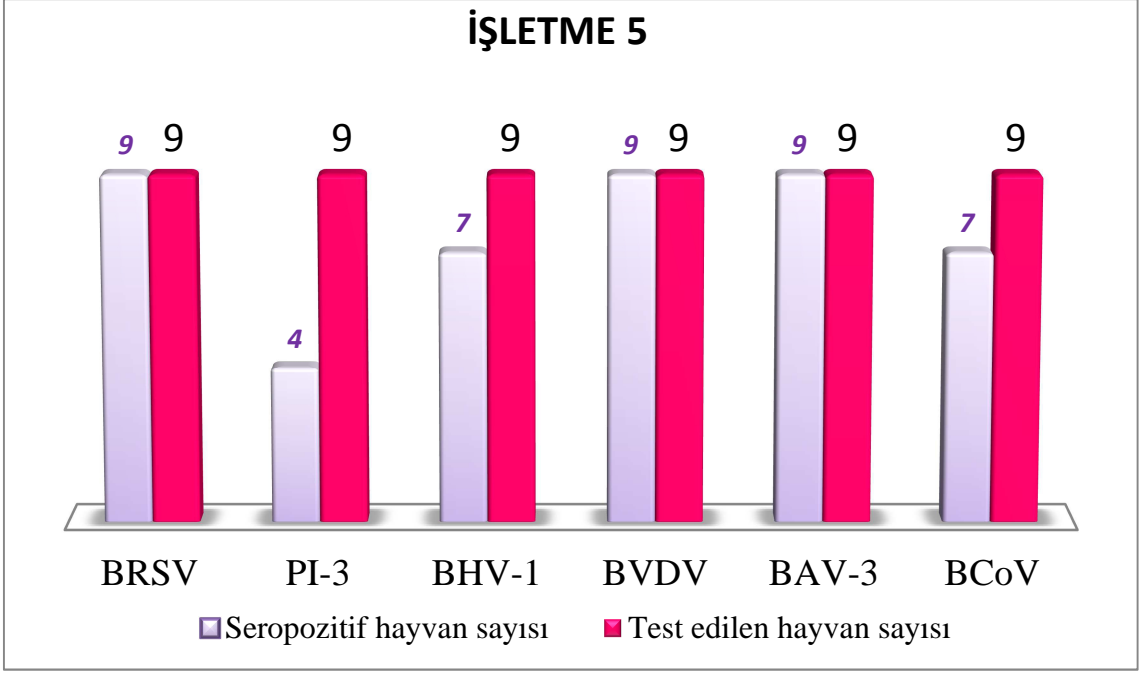
## İŞLETME 5



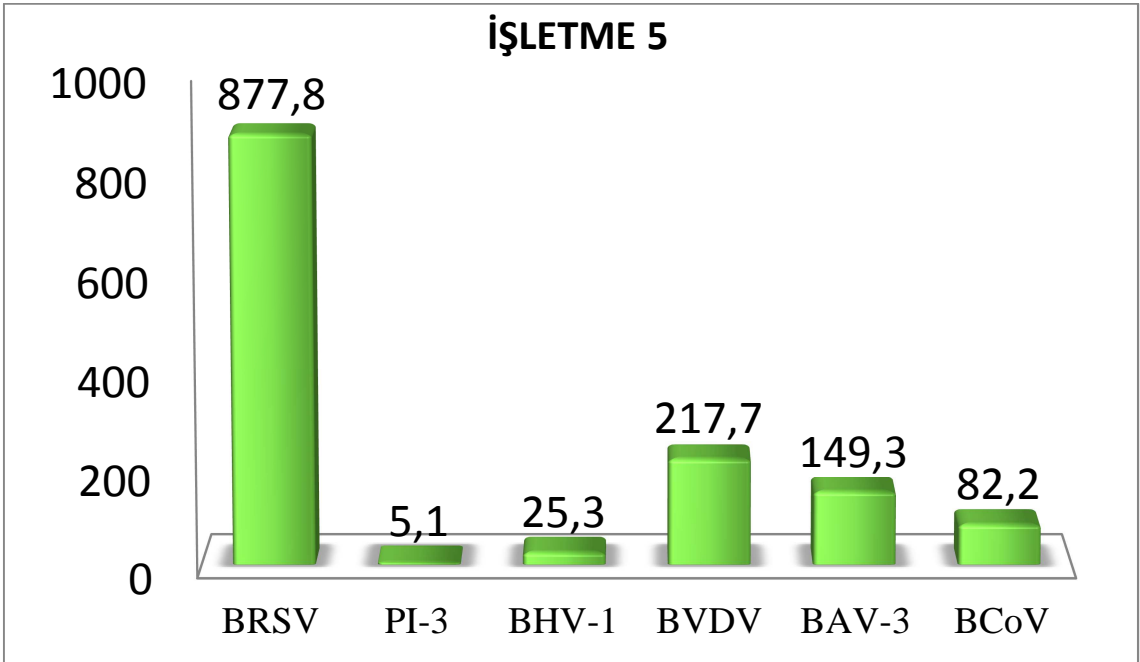
Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresi

\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=9

Şekil-22. İşletme 5’de enfeksiyonlara göre buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil-23. İşletme 5’de seropozitif olduğu saptanan anne sayısı

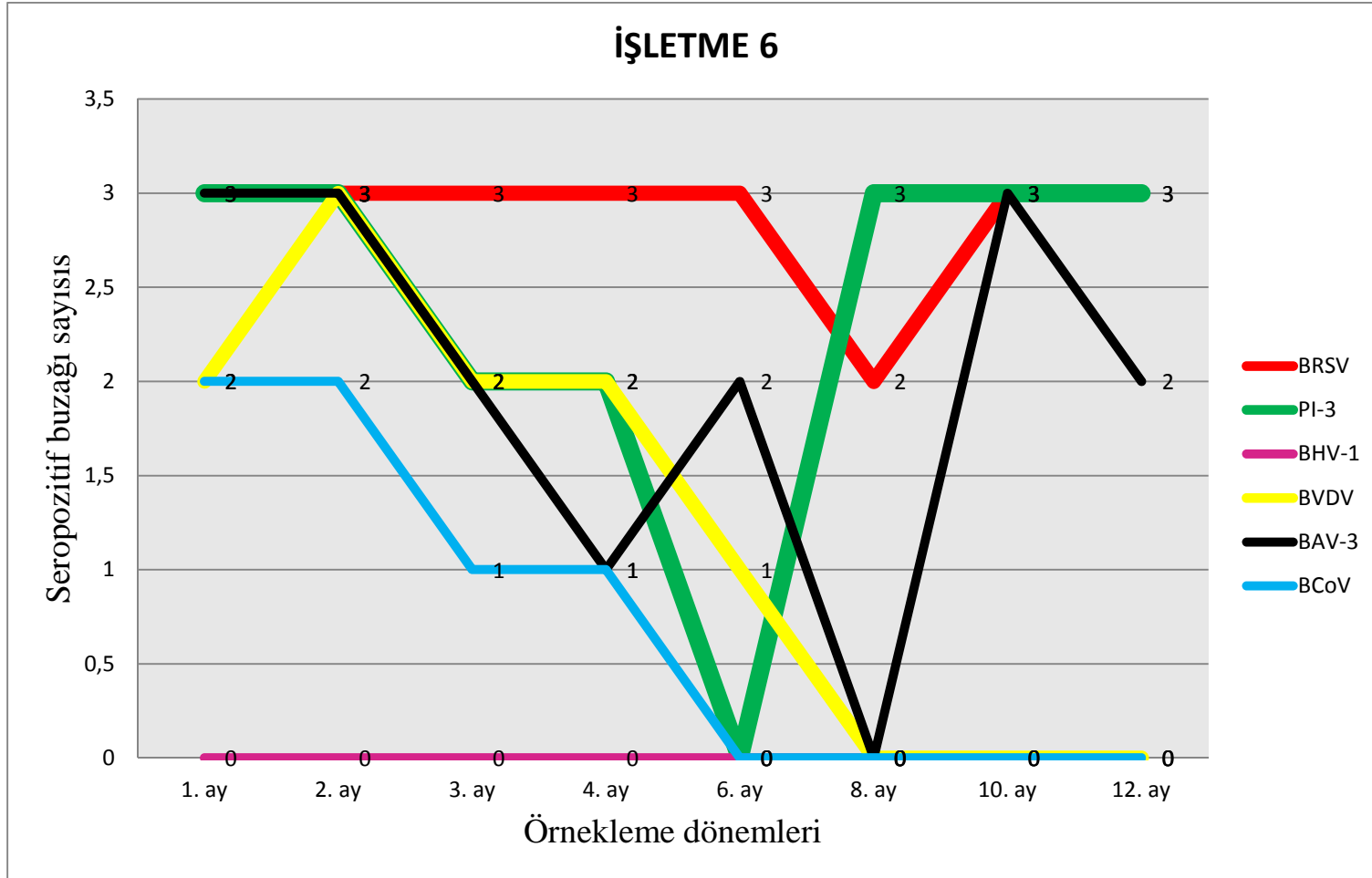


Şekil-24. İşletme 5’deki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

## İşletme 6'ya Ait Bulgular

İşletme 6'da bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikör titre değerleri Şekil-25, -26, -27 ve -28'de sunulmuştur. Örneklenen buzağı sayısının 3 olduğu İşletme 6'da BRSV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 6. ve 8. aylar arasında hafif bir azalış gösterdiği, 8. ve 10. aylar arasında ise buzağuların etkenle karşılaştığı saptandı. PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren 6. aya kadar düştüğü, 6. ve 8. aylar arasında buzağuların bu etkenle karşı karşıya kaldığı belirlendi. BHV-1'e karşı örnekleme döneminde antikör varlığı saptanamadı. BVDV'ye karşı antikora sahip buzağı sayısı 1. ve 2. aylar arasında artış gösterirken devamında ise düzenli şekilde azalış gösterdi. BAV-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren hızla düşmeye başladığı ve buzağuların 4. ve 6. aylar arasında BAV-3'e maruz kaldığı ve 8. aya kadar şekillenen ikinci azalışın muhtemel re-enfeksiyonla tekrar yükseldiği tespit edildi. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren düzenli azaldığı görüldü. Tüm etkenler için buzağuların antikör titrelerindeki değişimlerin ilgili tablolarla uyumlu olduğu belirlendi.

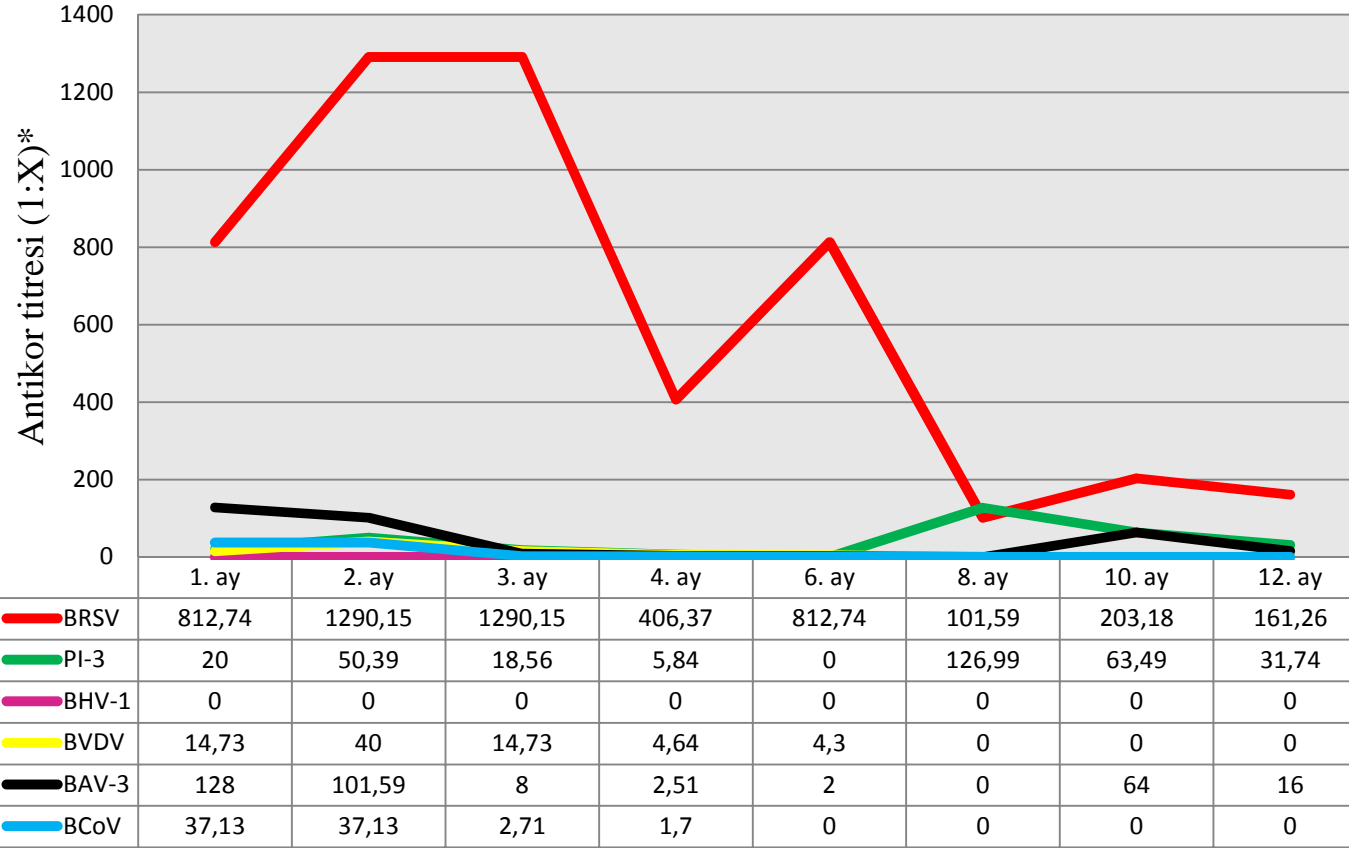
Annelerin serumlarında yapılan incelemeler sonucunda BHV-1 ve BCoV hariç diğer 4 virusa karşı hemen hemen tüm annelerin seropozitif olduğu saptandı. Antikör titrelerinin geometrik ortalamaları incelendiğinde ise BCoV ve BHV-1'e karşı titre değerlerinin sıfır olduğu görülürken, diğer etkenlere karşı tespit edilen antikör titre değerlerinin en düşük 1:23.3 ile BVDV'ye, en yüksek 1:406.3 ile BRSV'ye karşı olduğu saptandı.



n=3

Şekil-25. İşletme 6'da enfeksiyonlara göre seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

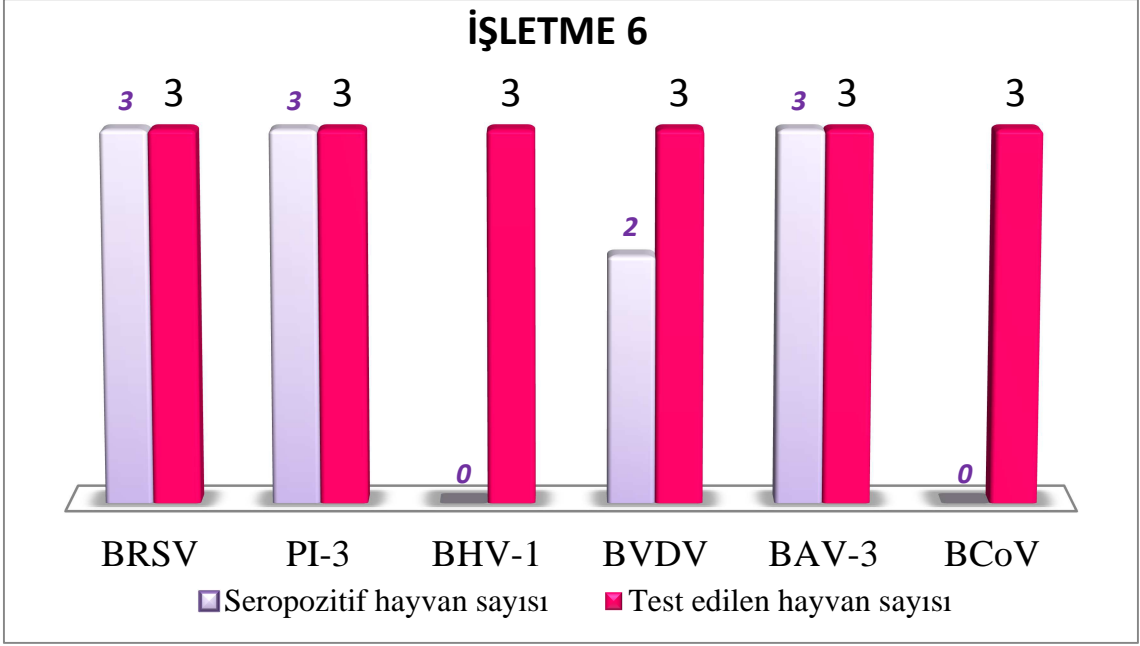
## İŞLETME 6



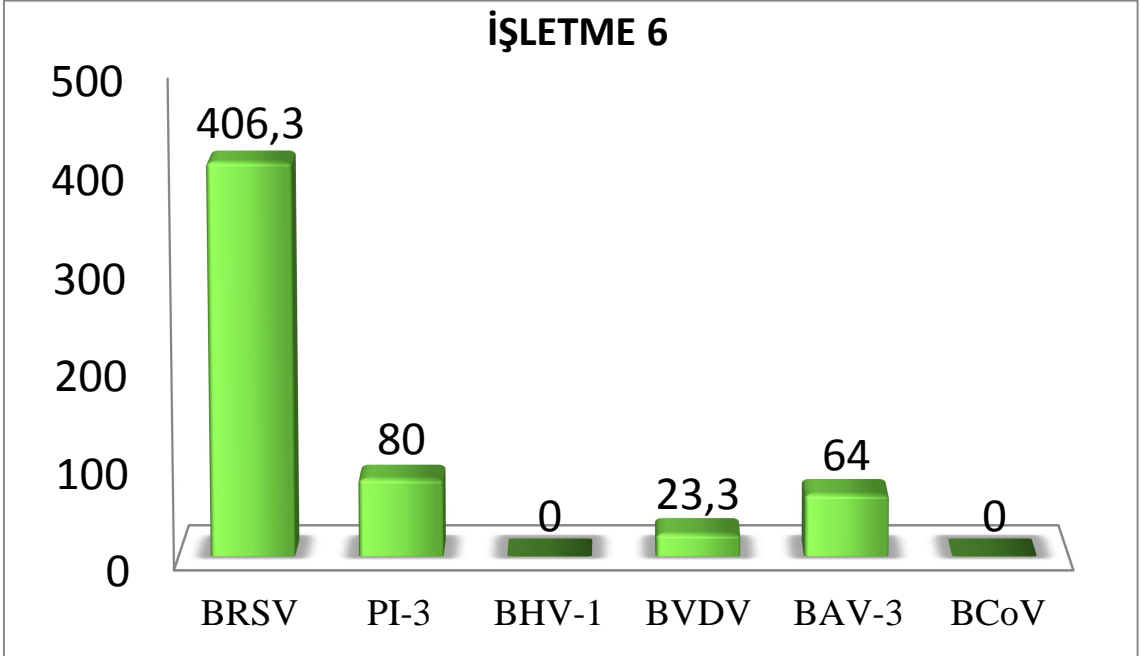
Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresi

\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=3

Şekil-26. İşletme 6'da enfeksiyonlara göre buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil-27. İşletme 6’da seropozitif olduğu saptanan anne sayısı



Şekil-28. İşletme 6’daki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

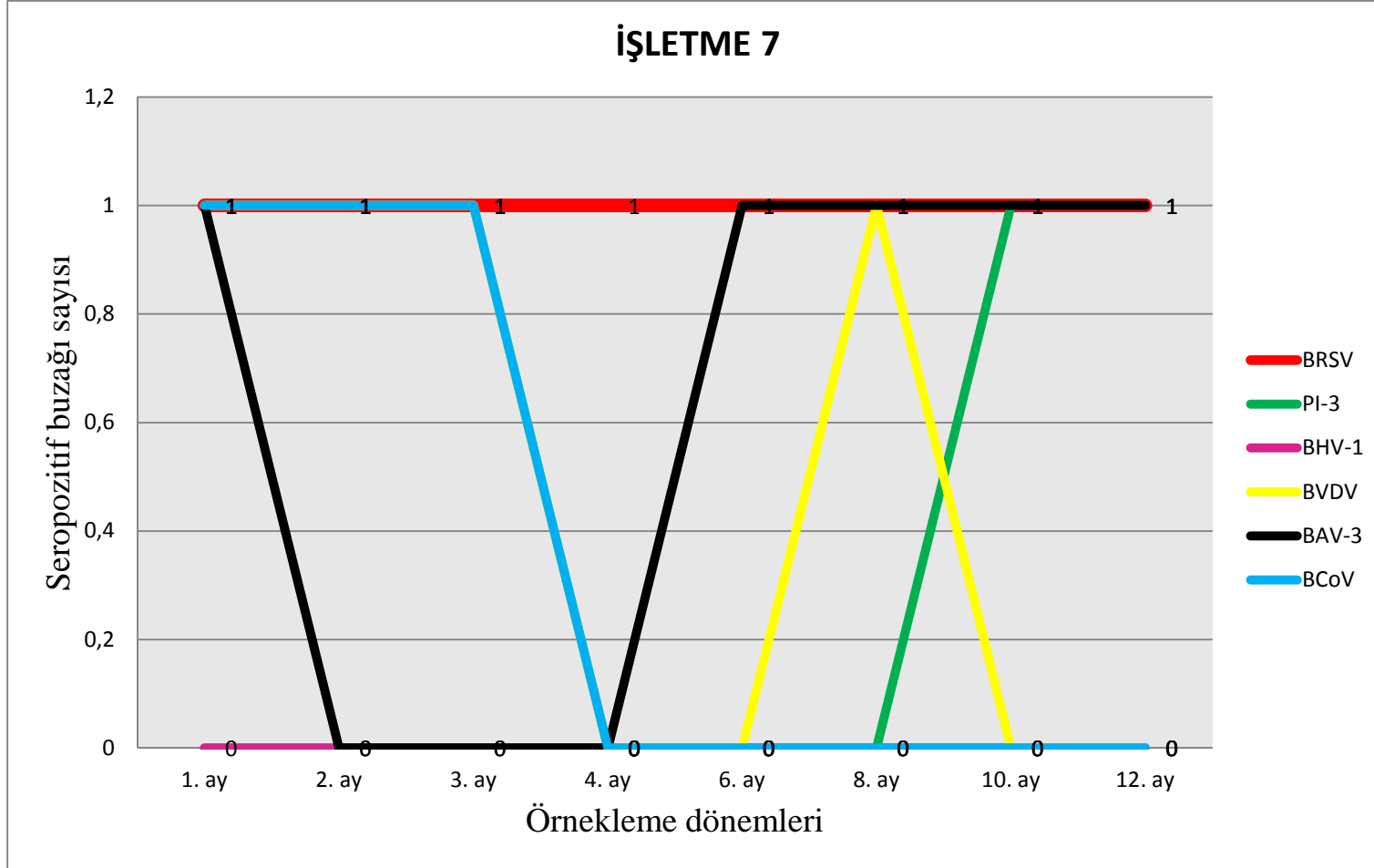
## Küçük Ölçekli İşletmelerde (20 < Hayvan Sayısı) Elde Edilen Bulgular

### İşletme 7'ye Ait Bulgular

İşletme 7'de bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikor titre değerleri Şekil-29, -30, -31 ve -32'de sunulmuştur. İşletme 7'de yalnız 1 adet buzağı örnekleterek takip edilebildiği için burada geometrik ortalama alınmadı, dolayısıyla ham veriler kullanıldı. Örneklenen buzağının BRSV'ye karşı devamlı ve yüksek titrede antikor taşıdığı, PI-3'e karşı maternal antikorların 3. ayda gerilemeye başladığı ve buzağının 8. ve 10. aylar arasında etkenle karşılaştığı belirlendi. BHV-1'e karşı örnekleme döneminde antikor varlığı saptanamadı. BVDV'ye karşı mevcut maternal antikorun 3. ayda azalmaya başladığı, buzağının etkenle 6. ve 8. aylar arasında karşılaştığı ve oluşan bağışıklığın kısa süreli olduğu görüldü. BAV-3'e karşı mevcut maternal antikorların 1. aydan itibaren düştüğü ve buzağının 4. ve 6. aylar arasında BAV-3 enfeksiyonuna maruz kaldığı tespit edildi. BCoV'a karşı olan maternal antikorun 3. aydan itibaren düştüğü ve sıfırlandığı görüldü. Tüm etkenler için buzağının seropozitiflik grafiği ile antikor titre grafiğinin uyumlu olduğu belirlendi.

Anneye yapılan testler sonucu BHV-1 ve BCoV hariç diğer 4 etkene karşı 1:80 (PI-3) ve 1:1024 (BRSV) titre değerleri arasında değişen antikor mevcudiyeti saptandı.

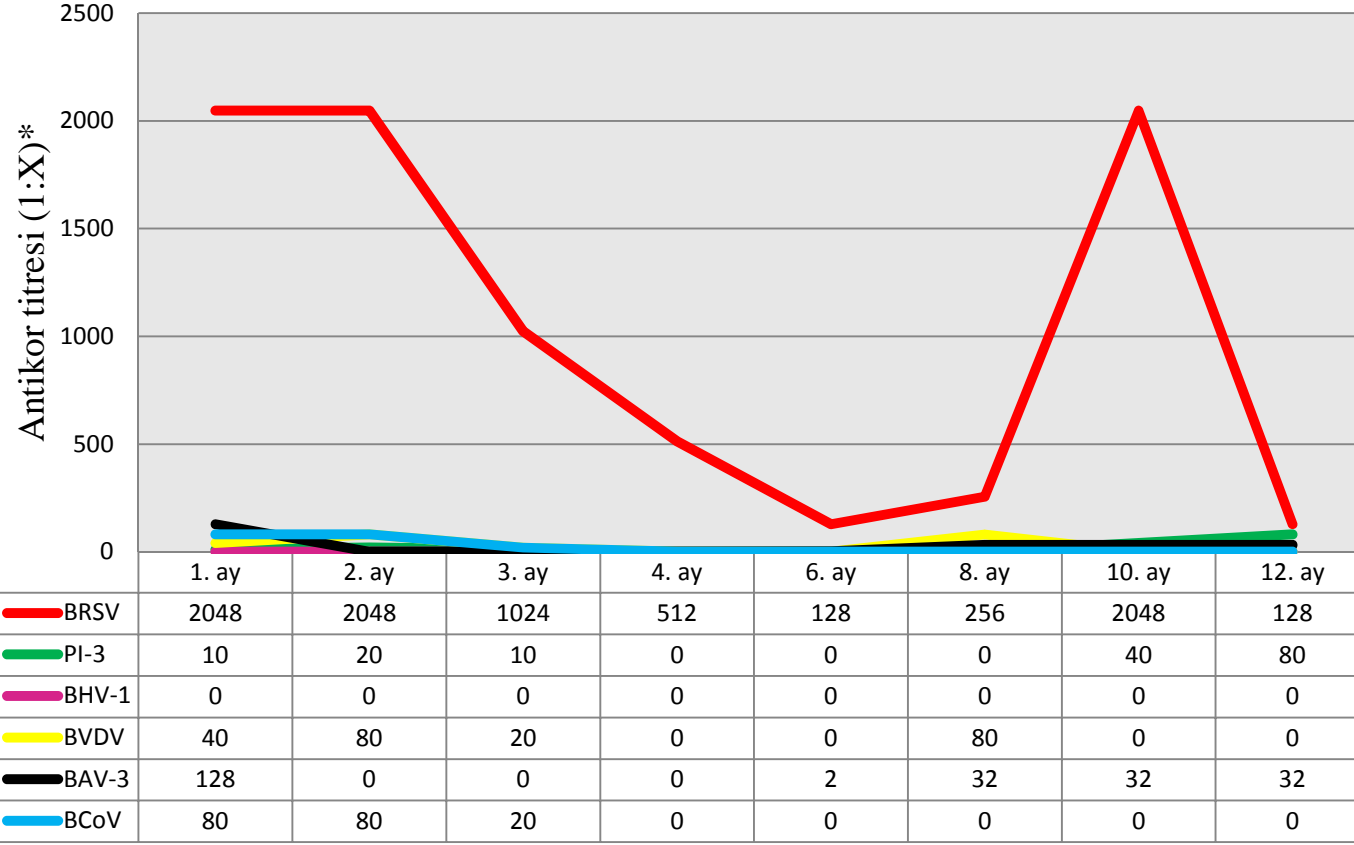




n=1

Şekil-29. İşletme 7’de enfeksiyonlara göre seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

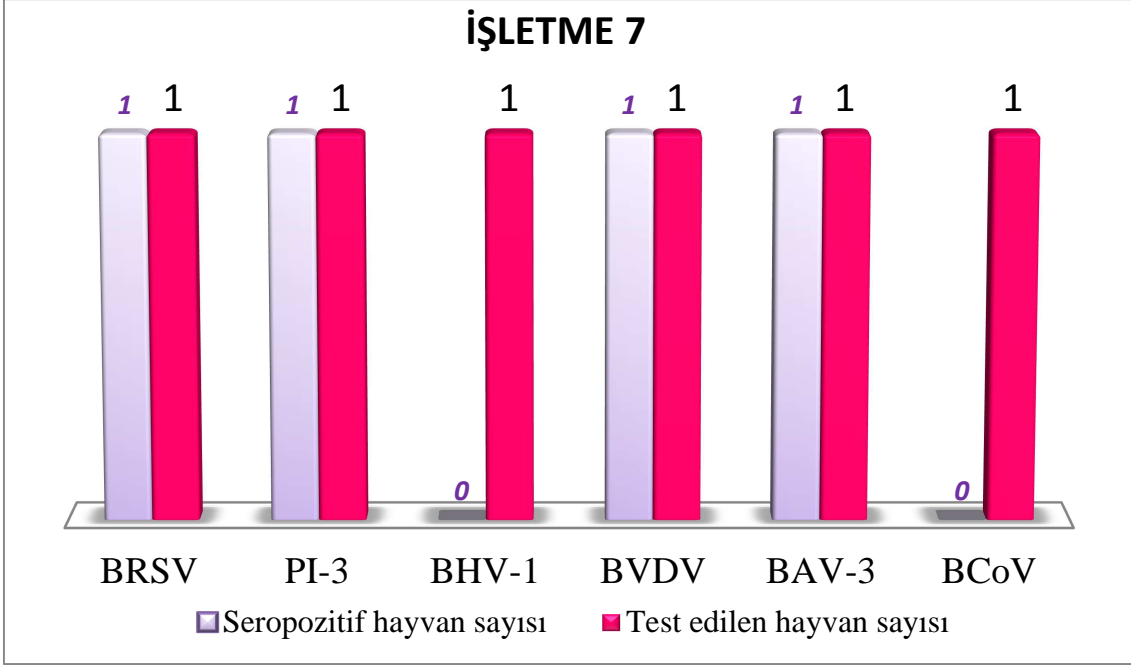
## İŞLETME 7



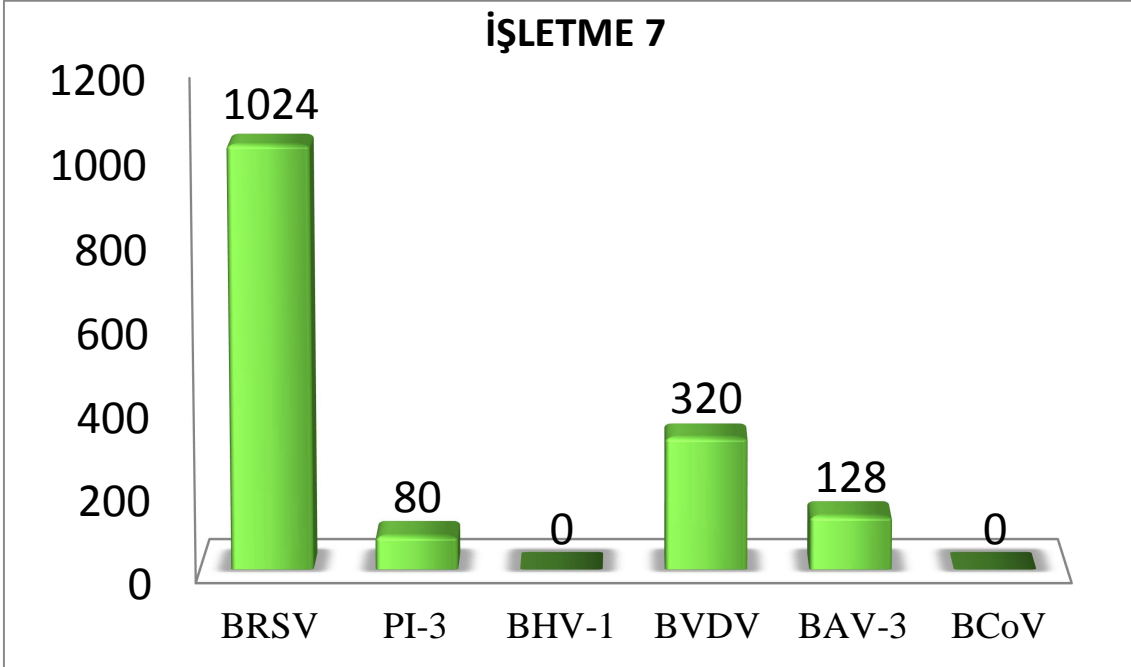
Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresi

\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=1

Şekil-30. İşletme 7’de enfeksiyonlara göre buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil-31. İşletme 7’de seropozitif olduğu saptanan anne sayısı

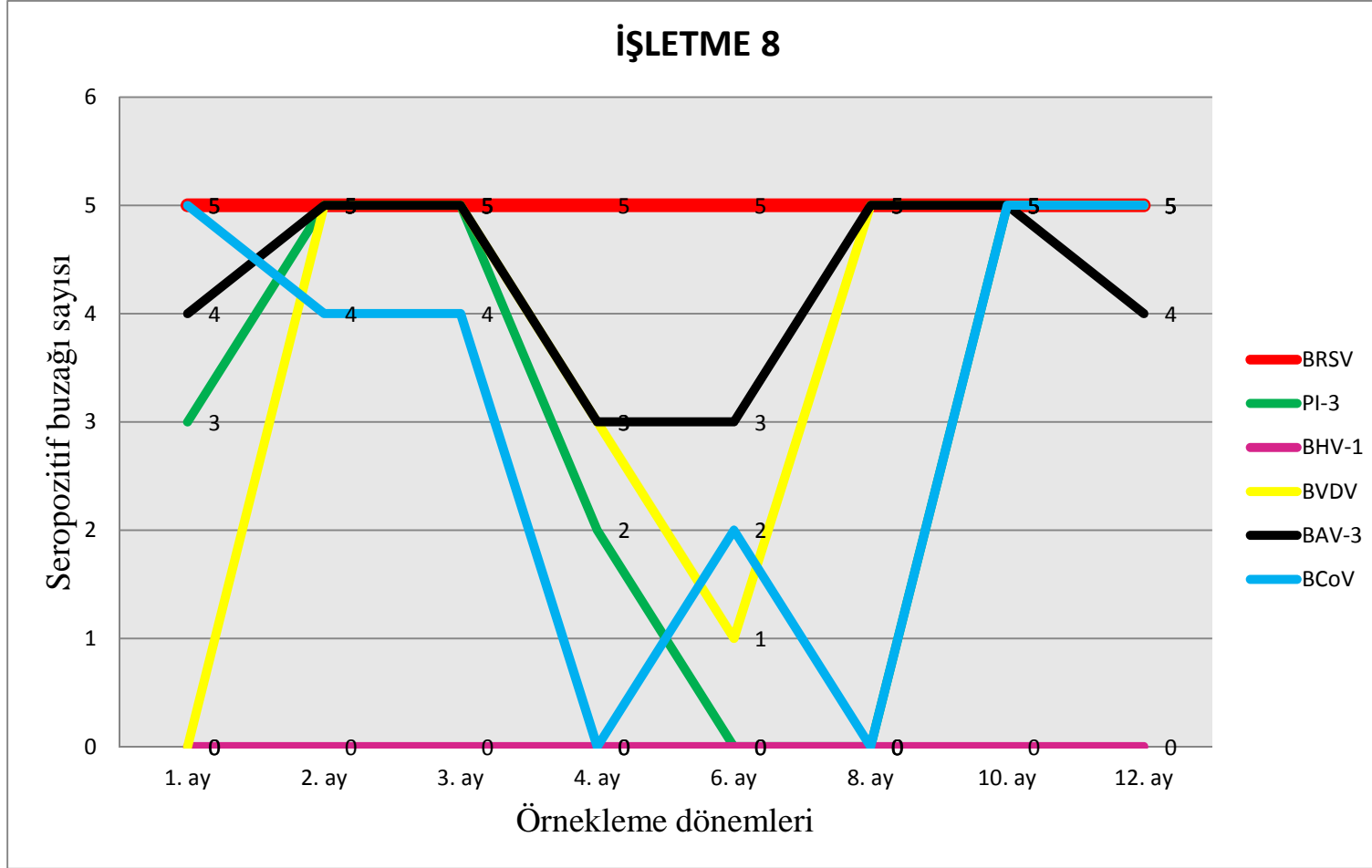


Şekil-32 İşletme 7’deki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

## İşletme 8'e Ait Bulgular

İşletme 8'de bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikor titre değerleri Şekil-33, -34, -35 ve -36'da sunulmuştur. Örneklenen buzağı sayısının 5 olduğu İşletme 8'de tüm buzağuların BRSV'ye karşı tüm örnekleme dönemlerinde antikor taşıdığı, antikor titre değerlerinin ise 3. ayda en yüksek seviyeye ulaştığı ancak dalgalı seyrettiği saptandı. PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. ayda arttığı, bu artışın 3. aydan itibaren azalışa geçtiği ve buzağuların 8.-10. aylar arasında etkenle tekrar karşılaştığı görüldü. BHV-1'e karşı örnekleminin hiçbir döneminde antikor saptanamadı. BVDV'ye karşı antikora sahip buzağı sayısı başlangıçta sıfır iken 2. ayda tüm buzağularda antikor saptandı. Dördüncü ayda enfekte buzağuların sayısındaki azalışın 6. ve 8. aylar arasında gerçekleşen muhtemel re-enfeksiyonla tekrar arttığı görüldü. BAV-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısında 2. ayda görülen artıştan sonra antikor taşıyan buzağı sayısının 3. aydan itibaren düşmeye başladığı ve buzağuların 6. ve 8. aylar arasında BAV-3'e maruz kaldığı saptandı. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren düzenli azalış gösterdiği görüldü. Dördüncü ve altıncı aylar arasında gerçekleşen ilk enfeksiyon sonrasında 8. ve 10. aylar arasındaki muhtemel re-enfeksiyonla birlikte tüm buzağularda antikor varlığı görüldü. PI-3, BHV-1, BVDV, BAV-3 ve BCoV için antikor titre değerlerine ait eğrilerin seropozitif buzağı sayısı eğrileri ile uyumlu olduğu saptandı.

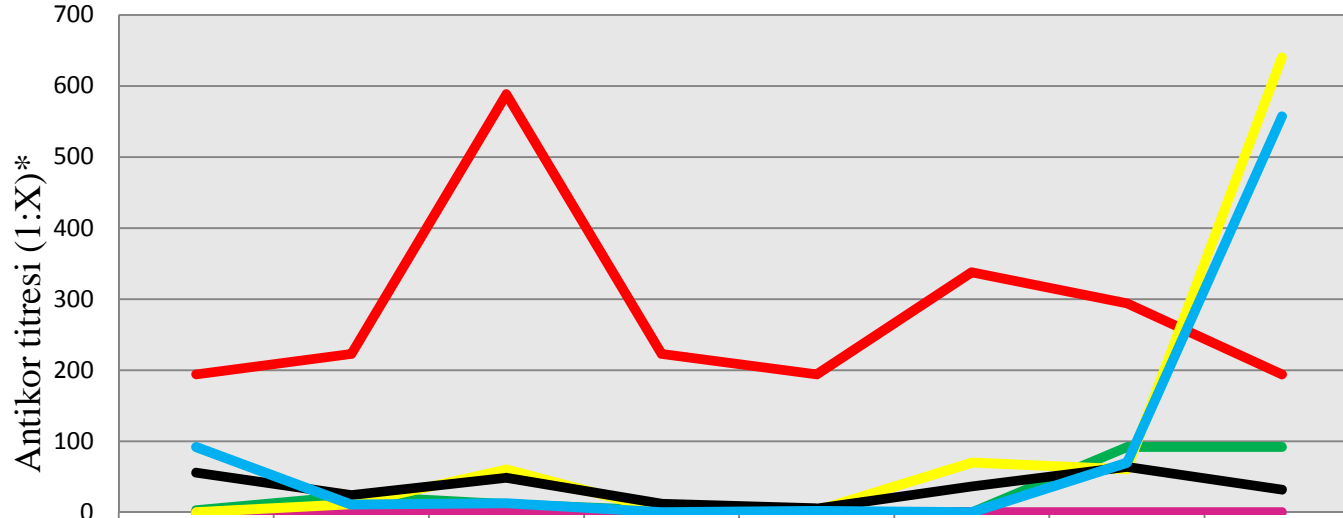
Annelerin serumlarında yapılan testler sonucunda BHV-1 dışındaki virüslere karşı tüm annelerin seropozitif olduğu ve antikor titrelerinin geometrik ortalamalarının 1:16 (BAV-3) ile 1:675.5 (BRSV) arasında değiştiği belirlendi.



n=5

Şekil-33. İşletme 8’de enfeksiyonlara göre seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

## İŞLETME 8

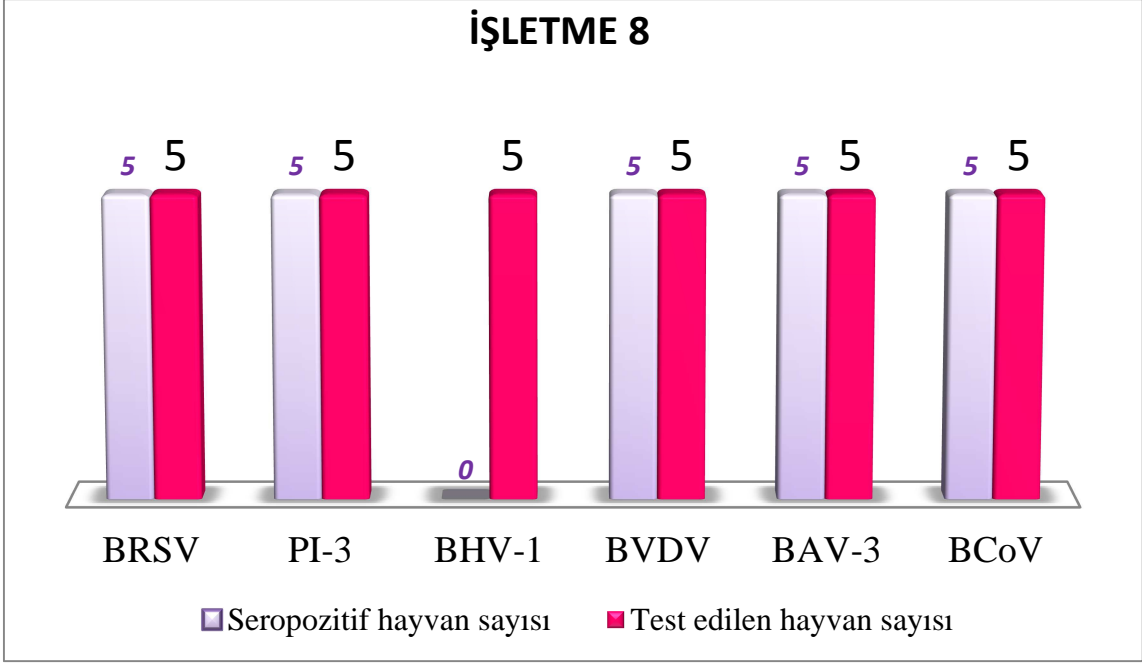


	1. ay	2. ay	3. ay	4. ay	6. ay	8. ay	10. ay	12. ay
BRSV	194,01	222,86	588,13	222,86	194,01	337,79	294,06	194,01
PI-3	3,01	22,97	11,48	2,18	0	0	91,89	91,89
BHV-1	0	0	0	0	0	0	0	0
BVDV	0	11,48	60,62	3,01	2,75	69,64	60,62	640
BAV-3	55,71	24,25	48,5	12,12	5,27	36,75	64	32
BCoV	91,89	10,98	12,61	0	1,9	0	69,64	557,15

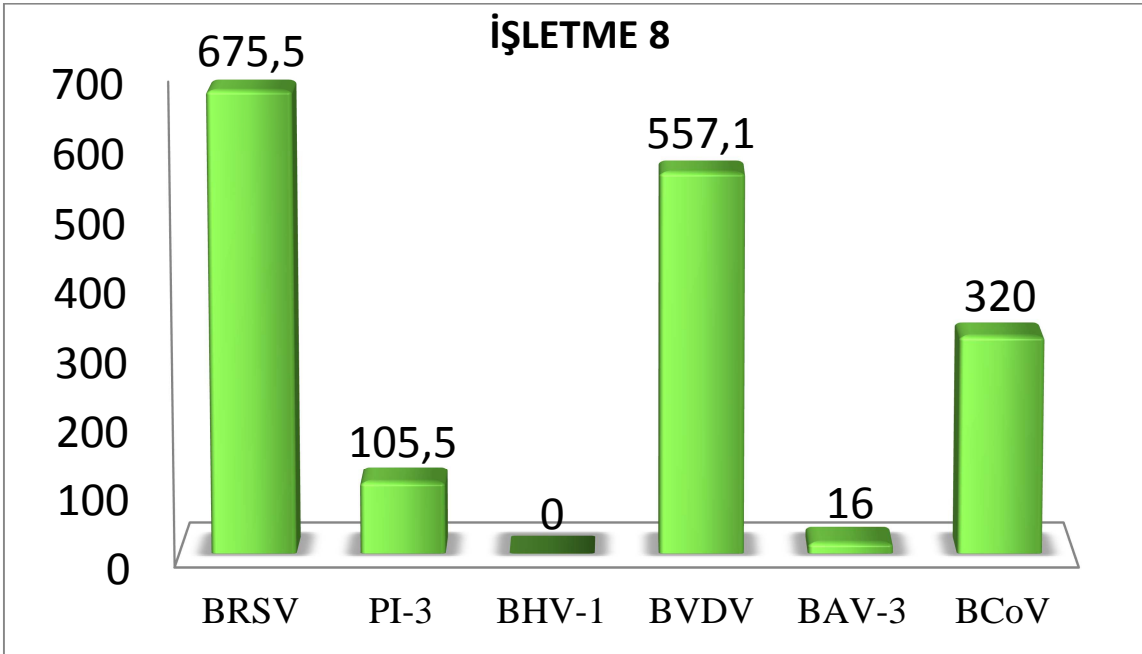
Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresi

\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n= 5

Şekil-34. İşletme 8'de enfeksiyonlara göre buzağılarda ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil-35. İşletme 8’de seropozitif olduğu saptanan anne sayısı



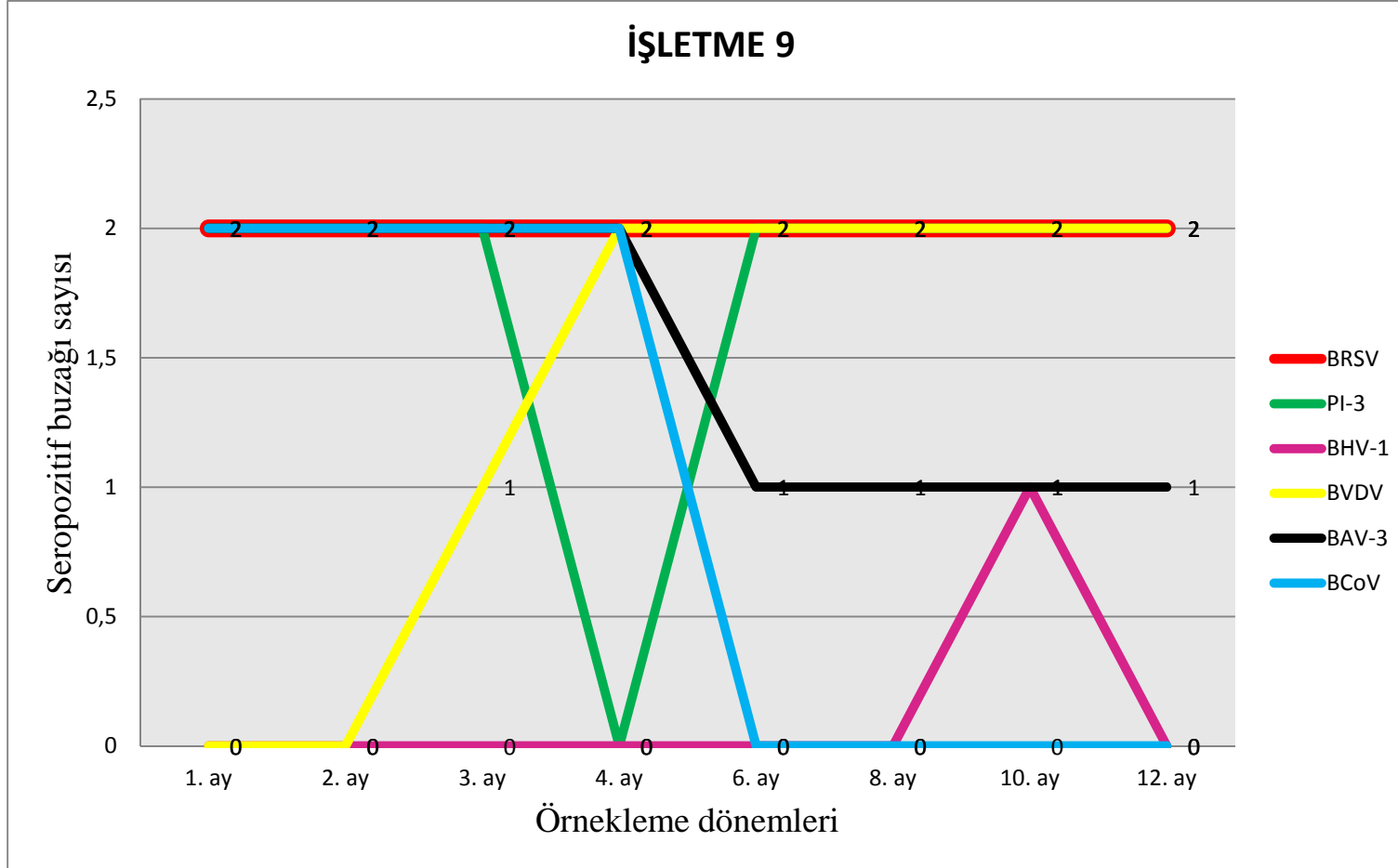
Şekil-36. İşletme 8’deki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

## İşletme 9'a Ait Bulgular

İşletme 9'da bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikör titre değerleri Şekil-37, -38, -39 ve -40'da sunulmuştur. Örneklenen buzağı sayısının 2 olduğu İşletme 9'da buzağuların her ikisinin de BRSV'ye karşı tüm örnekleme dönemlerinde değişen titrede antikör taşıdığı saptandı. PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 3. ayda azaldığı ve buzağuların 4. ve 6. aylar arasında etkenle karşılaştığı görüldü. BHV-1 enfeksiyonunun örneklemenin 8. ve 10. ayları arasında sürüye girdiği belirlendi. Ancak 1 buzağıda saptanan bu zayıf antikör titresinin kısa sürede kaybolduğu değerlendirildi. BVDV'nin ise 2. ve 3. aylar arasında ilk enfeksiyonu başlattığı belirlendi. Antikör titre değerlerinin öncelikle 2. ayda arttığı sonrasında ise azaldığı görüldü. BAV-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 4. aydan sonra düştüğü tespit edildi. Bu etkene karşı antikör titre değerlerinin ilk 4 ayda dalgalı seyrettiği, 4. aydan itibaren ise seropozitif buzağı sayısı ile uyumlu olarak azaldığı belirlendi. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının da 4. aydan itibaren azaldığı ve 6. ayda sıfırlandığı görüldü. Antikör titre eğrisinin bu tablo ile uyumlu olduğu tespit edildi.

Her iki annenin serum örnekleri BHV-1 hariç diğer 5 virusa spesifik antikörler yönünden pozitif sonuç verdi. Saptanan antikörlerin titre değerlerinin geometrik ortalamaları incelendiğinde en yüksek titrenin BRSV'ye (1:2896.3) karşı saptandığı bunu sırasıyla BCoV (1:113.1), PI-3 (1:80), BAV-3 (1:22.6) ve son olarak BVDV'nin (1:14.1) izlediği görüldü.

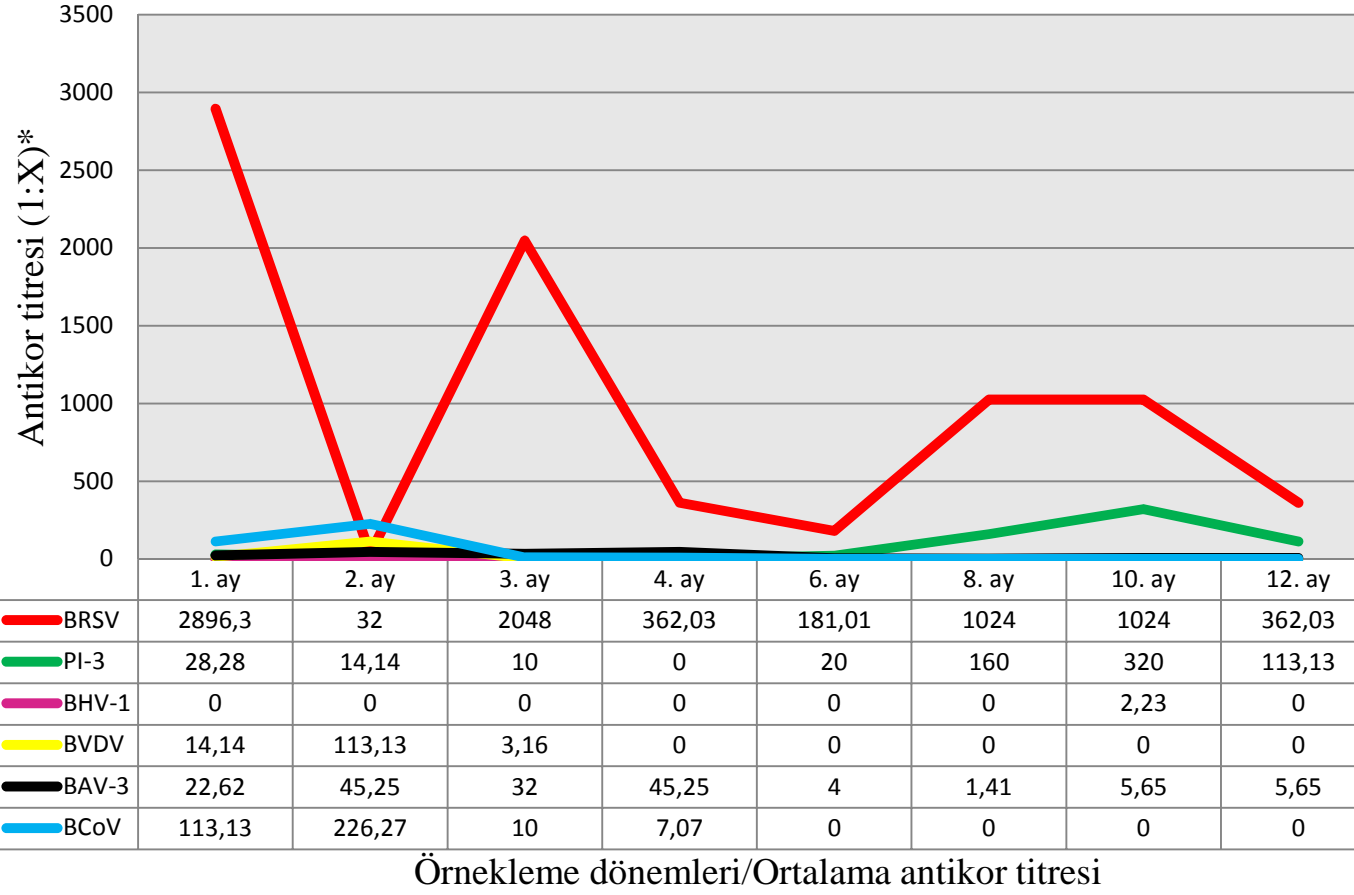




n=2

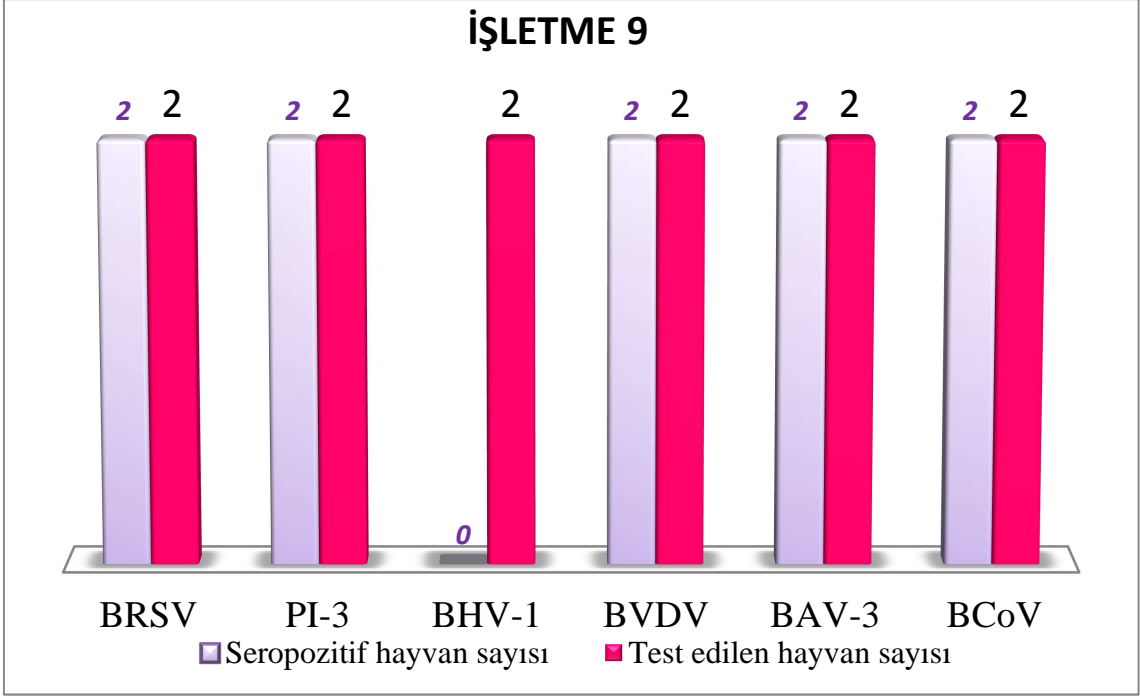
Şekil-37. İşletme 9'da enfeksiyonlara göre seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

## İŞLETME 9

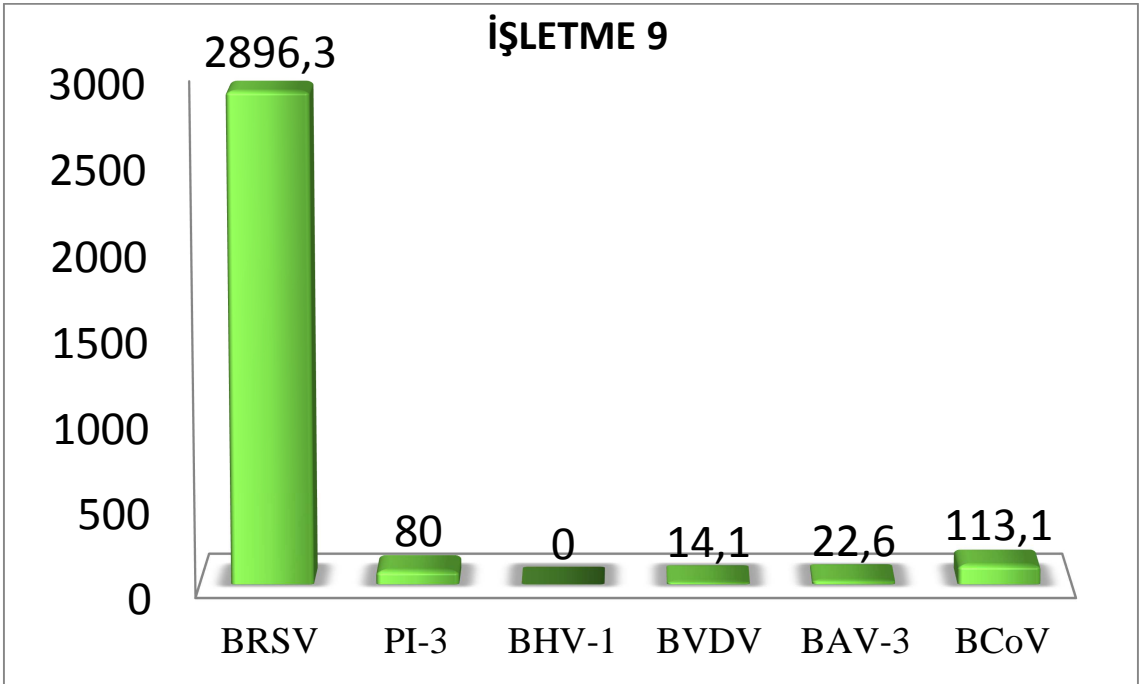


\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=2

Şekil-38. İşletme 9'da enfeksiyonlara göre buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil-39. İşletme 9’da seropozitif olduğu saptanan anne sayısı

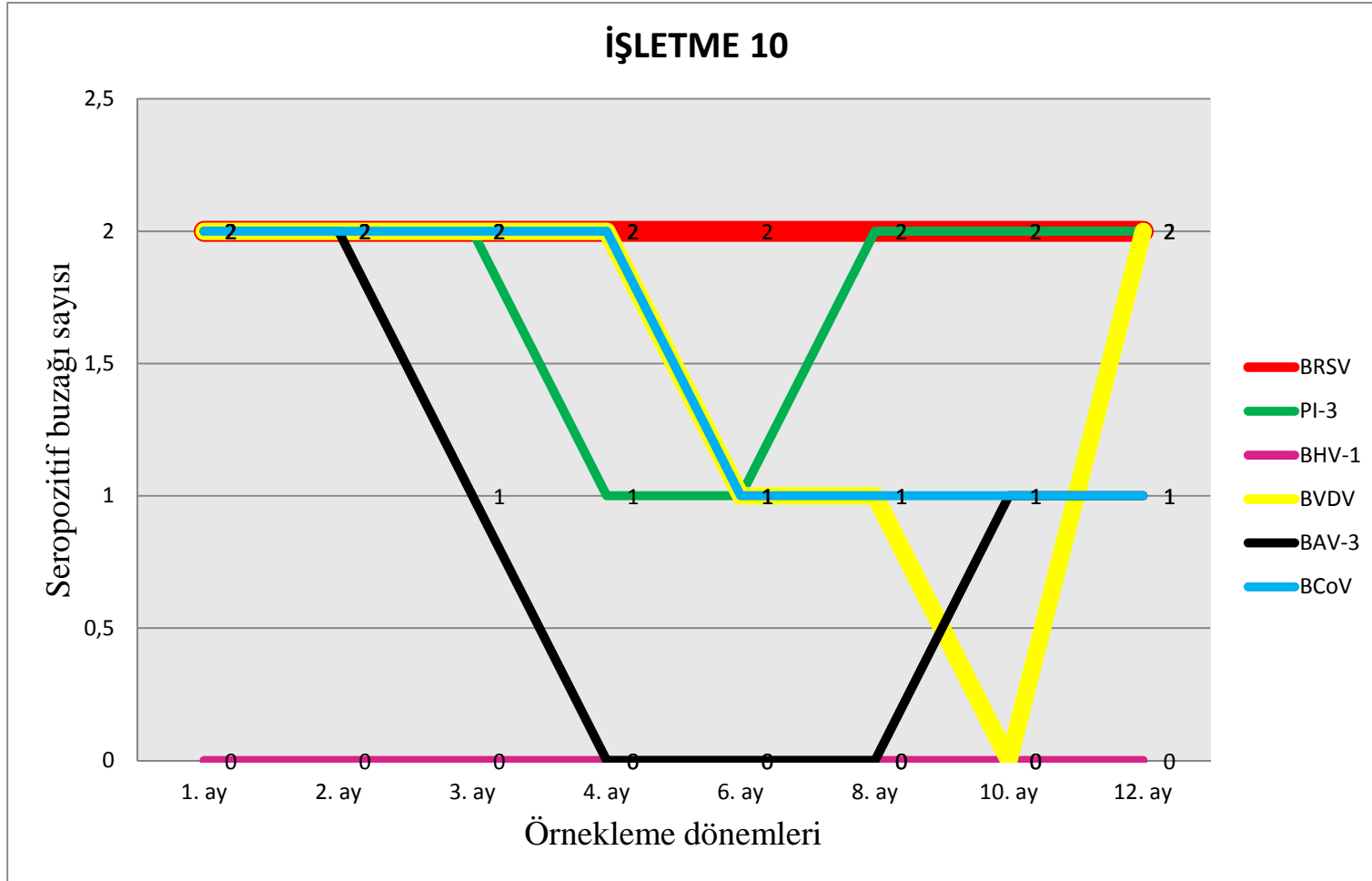


Şekil-40. İşletme 9’daki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

## İşletme 10'a Ait Bulgular

İşletme 10'da bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikör titre değerleri Şekil-41, -42, -43 ve -44'de sunulmuştur. Örneklenen buzağı sayısının 2 olduğu İşletme 10'da buzağuların her ikisinin de BRSV'ye karşı tüm örnekleme dönemlerinde ve değişen titrelerde antikör taşıdığı saptandı. PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 3. ayda azaldığı ve buzağuların 6. ve 8. aylar arasında etkenle karşılaştığı görüldü. BHV-1'e karşı örneklemin hiçbir döneminde enfeksiyon saptanamadı. BVDV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 4. aydan itibaren düştüğü ve buzağuların etkene 10. aydan sonra maruz kaldığı belirlendi. BAV-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren azaldığı ve buzağuların etkenle 8.-10. aylar arasında karşılaştığı belirlendi. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 4. aydan itibaren azaldığı görüldü. PI-3, BVDV, BAV-3 ve BCoV'a karşı antikör titre değerlerinin 2. ayda arttığı, daha sonraki sürecin seropozitif buzağı sayısı eğrileri ile uyum içinde seyrettiği saptandı.

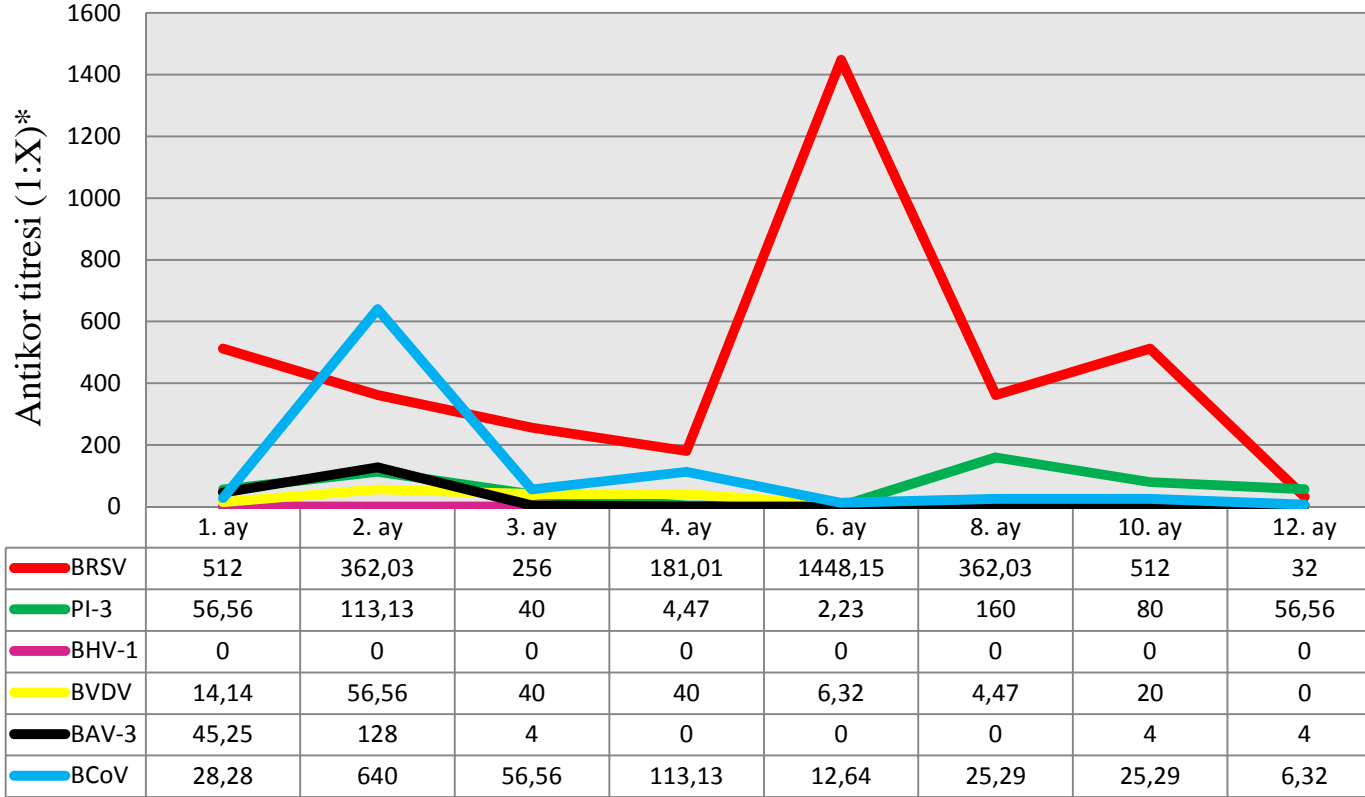
Annelerin serum örneklerinin ikisi de BHV-1 hariç diğer 5 virusa spesifik antikörler yönünden pozitif sonuç verdi. Saptanan antikörlerin titre değerlerinin geometrik ortalamaları incelendiğinde en yüksek titrenin BRSV'ye (1:256) karşı olduğu bunu sırasıyla BCoV (1:160) ve PI-3 (1:160), BAV-3 (1:32) ve son olarak BVDV'nin (1:28.2) izlediği görüldü.



n=2

Şekil-41. İşletme 10'da enfeksiyonlara göre seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

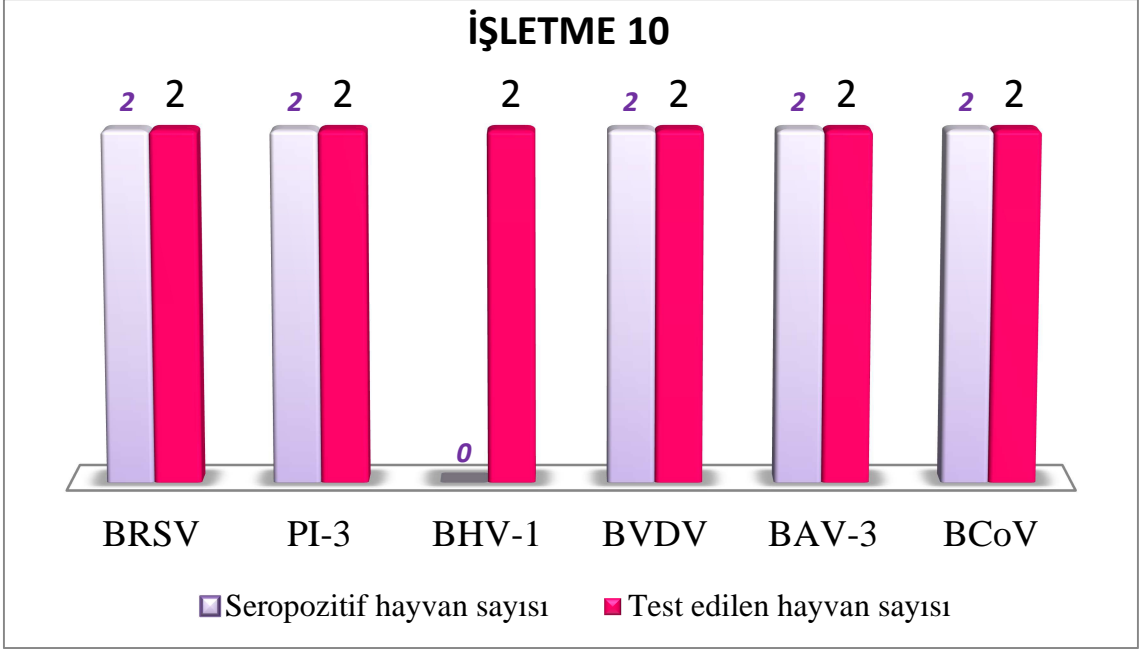
## İŞLETME 10



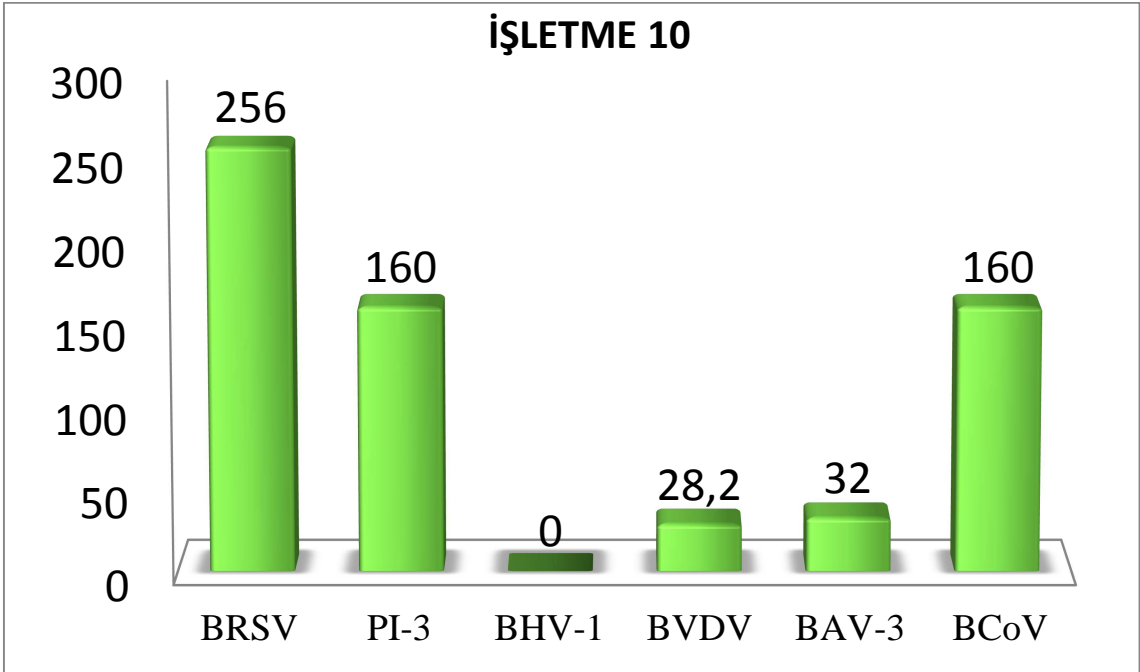
Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresi

\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=2

Şekil-42. İşletme 10'da enfeksiyonlara göre buzağılardaki ortalama antikor titresinin aylar bazında seyri



Şekil-43. İşletme 10’da seropozitif olduğu saptanan anne sayısı



Şekil-44. İşletme 10’daki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

## Bulguların İşletme Büyüklüklerine Göre Değerlendirilmesi

### Büyük Ölçekli İşletmelere Ait Bulgular

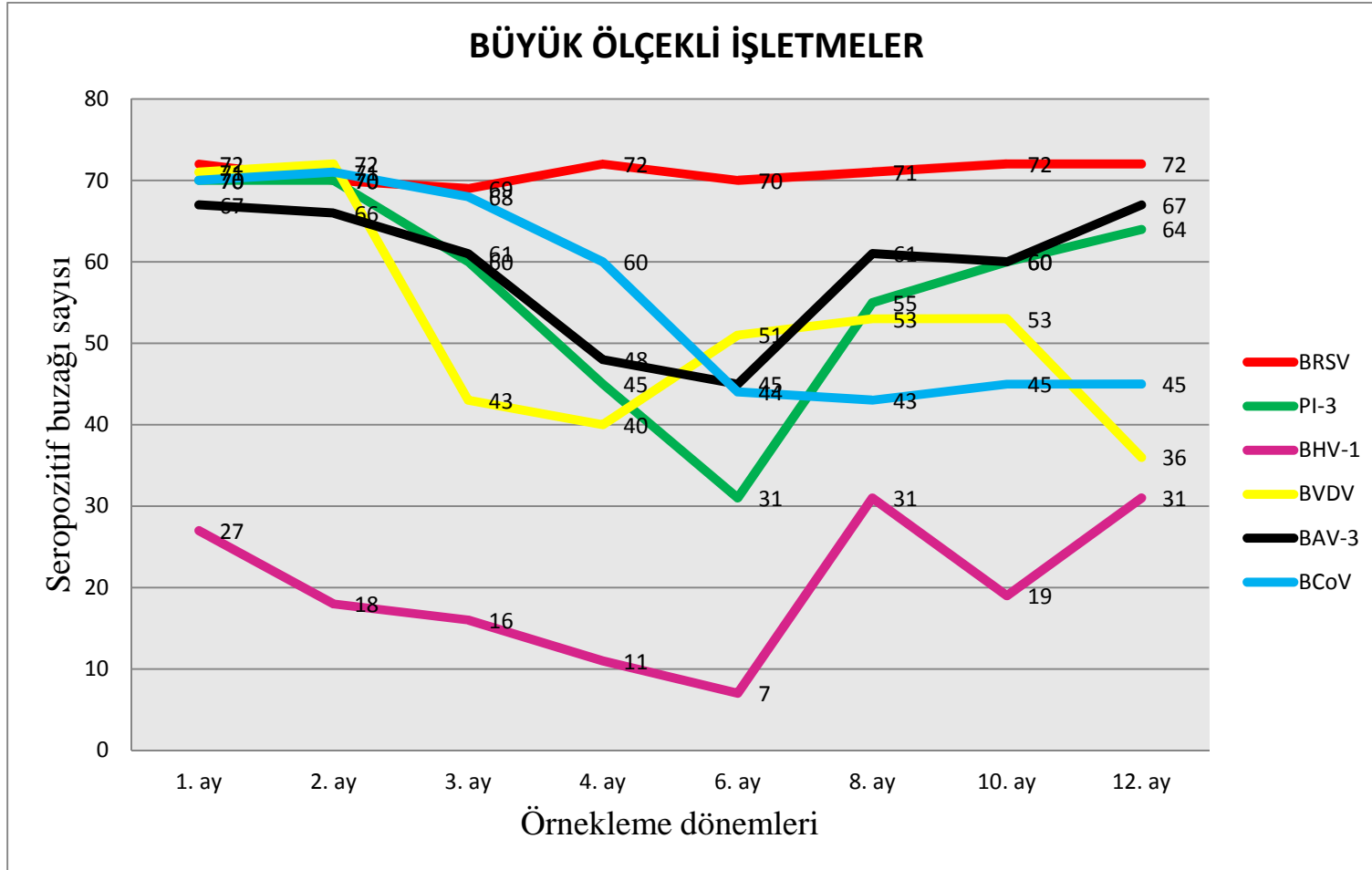
Büyük ölçekli işletmelerde bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikör titre değerleri Şekil-45, -46, -47 ve -48'de sunulmuştur. Büyük ölçekli işletmelerden birisinde 18 adet aşılı buzağı yer aldığı için bu buzağular değerlendirilmeye alınmamış, dolayısıyla çalışma kapsamında değerlendirilen aşısız buzağı sayısı 72 olmuştur. Büyük ölçekli işletmelerde bulunan aşısız tüm buzağular ele alındığında BRSV'ye karşı maternal antikör taşıyan buzağı sayısında 1. ve 3. aylar arasında görülen azalışın buzağuların 4. ayda etkenle karşılaşmasından sonra yükselişe döndüğü görüldü. PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren düştüğü, buzağuların enfeksiyonla 6. ve 8. aylar arasında karşılaştığı ve örnekleme periyodunun sonuna kadar enfeksiyonun buzağular arasında düzenli şekilde yayıldığı gözlemlendi. BHV-1'e karşı maternal antikör tespit edilen buzağı sayısının diğer enfeksiyonlara kıyasla oldukça düşük (n=27) olduğu ve bu sayının 6. aya kadar azaldığı, 6. ve 8. aylar arasında buzağuların muhtemel yeni enfeksiyona maruz kaldığı tespit edildi. BVDV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren düştüğü ve 4. ile 6. aylar arasında buzağuların etkene maruz kaldıkları tespit edildi. BAV-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren 6. aya dek azaldığı ve örneklenen buzağuların etkenle ilk defa 6. ve 8. aylar arasında karşılaştığı saptandı. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren azaldığı ve 6. aydan itibaren belli bir düzeyde kaldığı görüldü. BRSV antikör titresinin en yüksek düzeyde olduğu (1:502.23), ilk ay düşüş gösteren antikör titresinin 2. aydan itibaren düzenli artış gösterdiği belirlendi (Şekil-46). BRSV'yi takiben BCoV ve BVDV antikör titrelerinin yüksek düzeylerde (1:202 ve 1:198) başladığı ancak tüm enfeksiyonlara ilişkin antikör titre değerlerinin hızlı bir şekilde azalarak 3.-6. aylar arasında minimal düzeyde seyrettiği ve 6. aydan sonra bir miktar artış gösterdiği görüldü. Seropozitif buzağı sayılarında olduğu gibi antikör titre değerleri arasında da en düşük değerler BHV-1'e karşı elde edildi.

İşletme 3'te 10 adet annenin serum örneği hayvanların işletmeden çıkarılması nedeniyle alınamamıştı. Bu hayvanlardan 5 tanesi aşısız buzağuların anneleri olduğu için



toplam anne sayısından (n=72) düşüldüğünde büyük ölçekli işletmelerde değerlendirmeye alınan toplam anne sayısı 67'ye inmiş oldu.

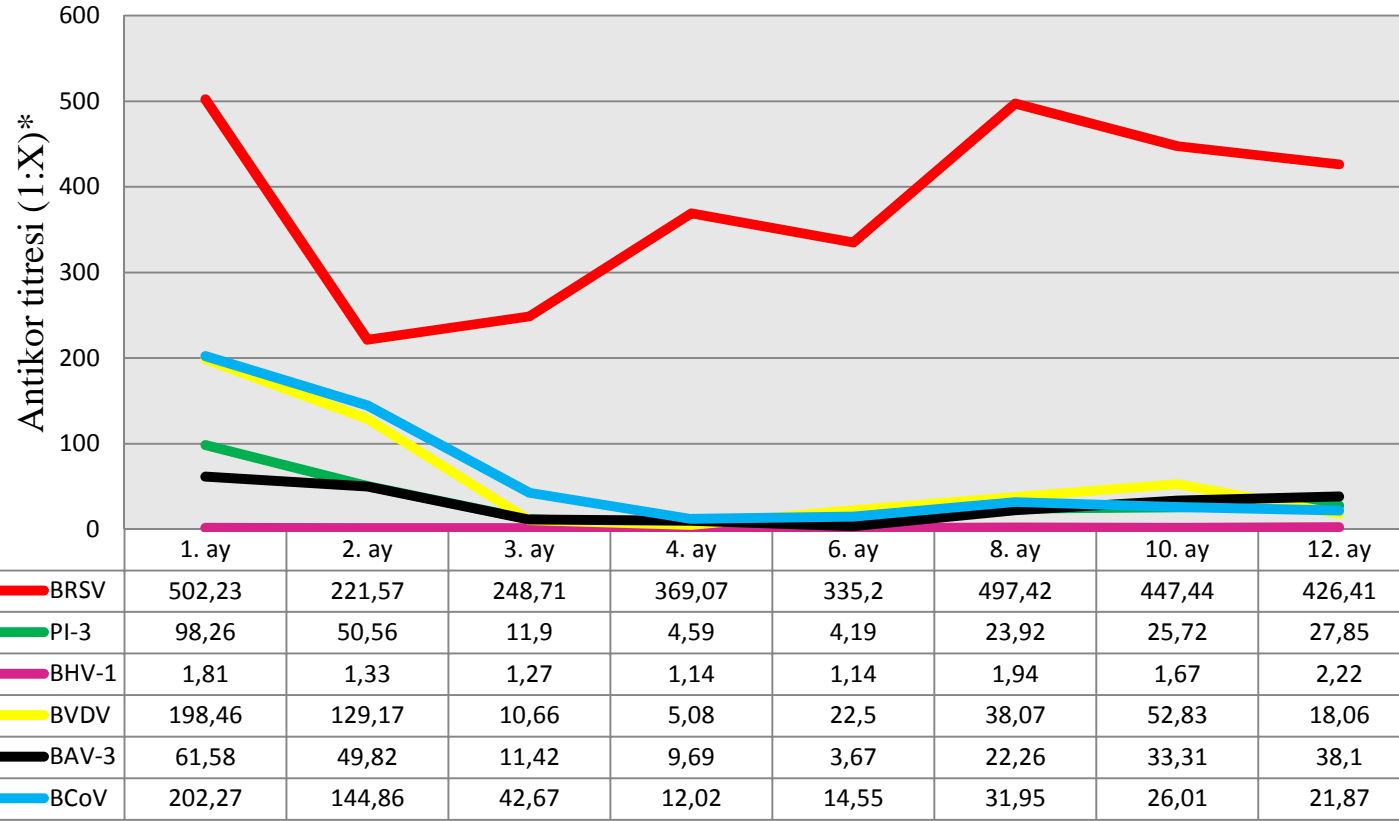
Büyük ölçekli işletmelerdeki toplam aşısız buzağuların annelerinin serum örneklerinde incelenen etkenlere karşı seropozitiflik durumuna ve bu antikor titrelerinin geometrik ortalamalarına bakıldığında, tüm etkenlere karşı en az 25 annenin antikor taşıdığı görülürken, en düşük ortalama antikor titresinin BHV-1'e karşı (1:2.2), en yüksek antikor titresinin ise BCoV'a karşı (1:396.3) olduğu saptandı.



n=72

Şekil-45. Büyük ölçekli işletmelerde enfeksiyonlara göre seropozitif aşısız buzağı sayısının aylar bazında seyri

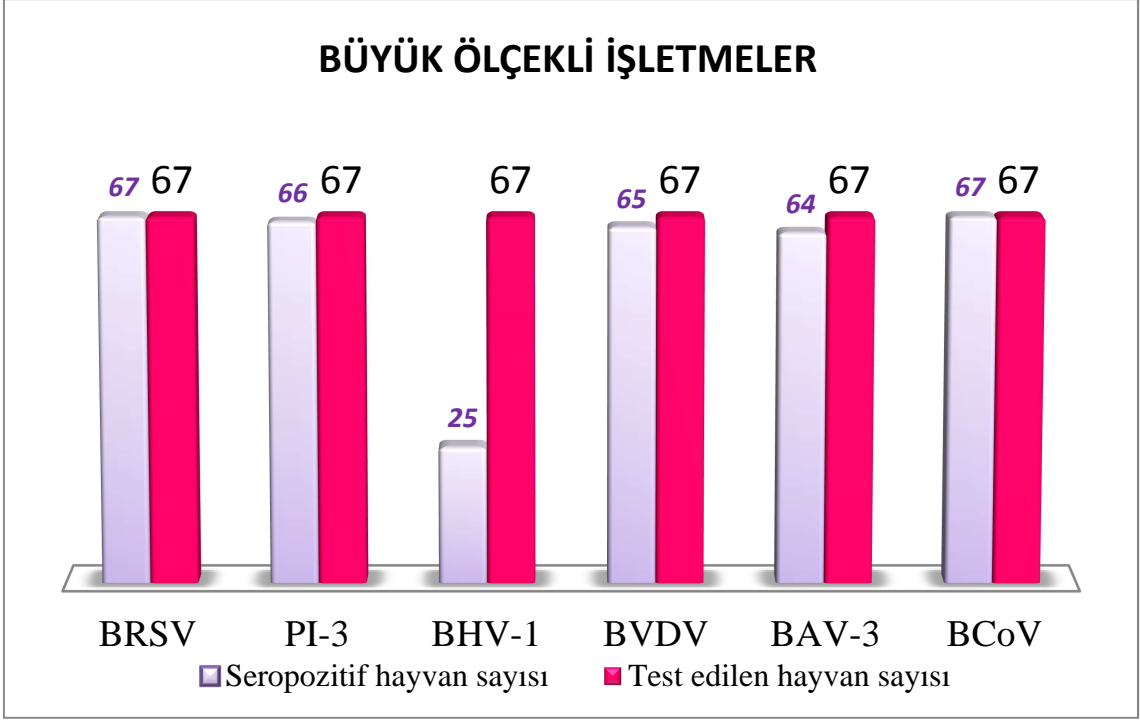
## BÜYÜK ÖLÇEKLI İŞLETMELER



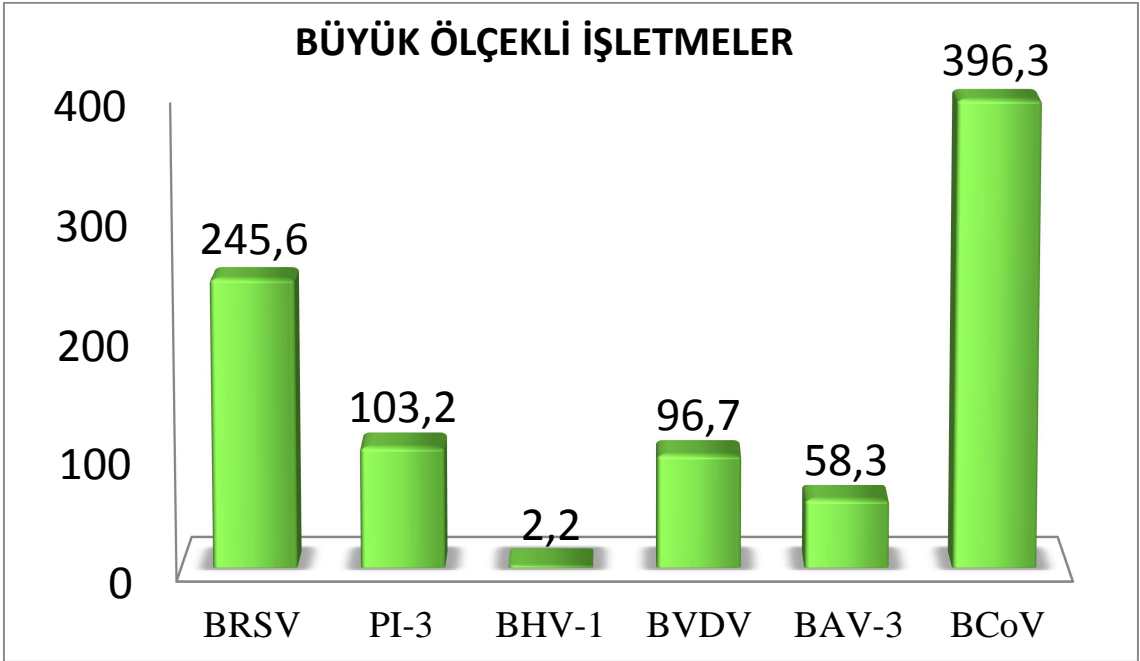
Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresini

\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=72

Şekil-46. Büyük ölçekli işletmelerde enfeksiyonlara göre aşısız buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil-47. Büyük ölçekli işletmelerde seropozitif olduğu saptanan anne sayısı

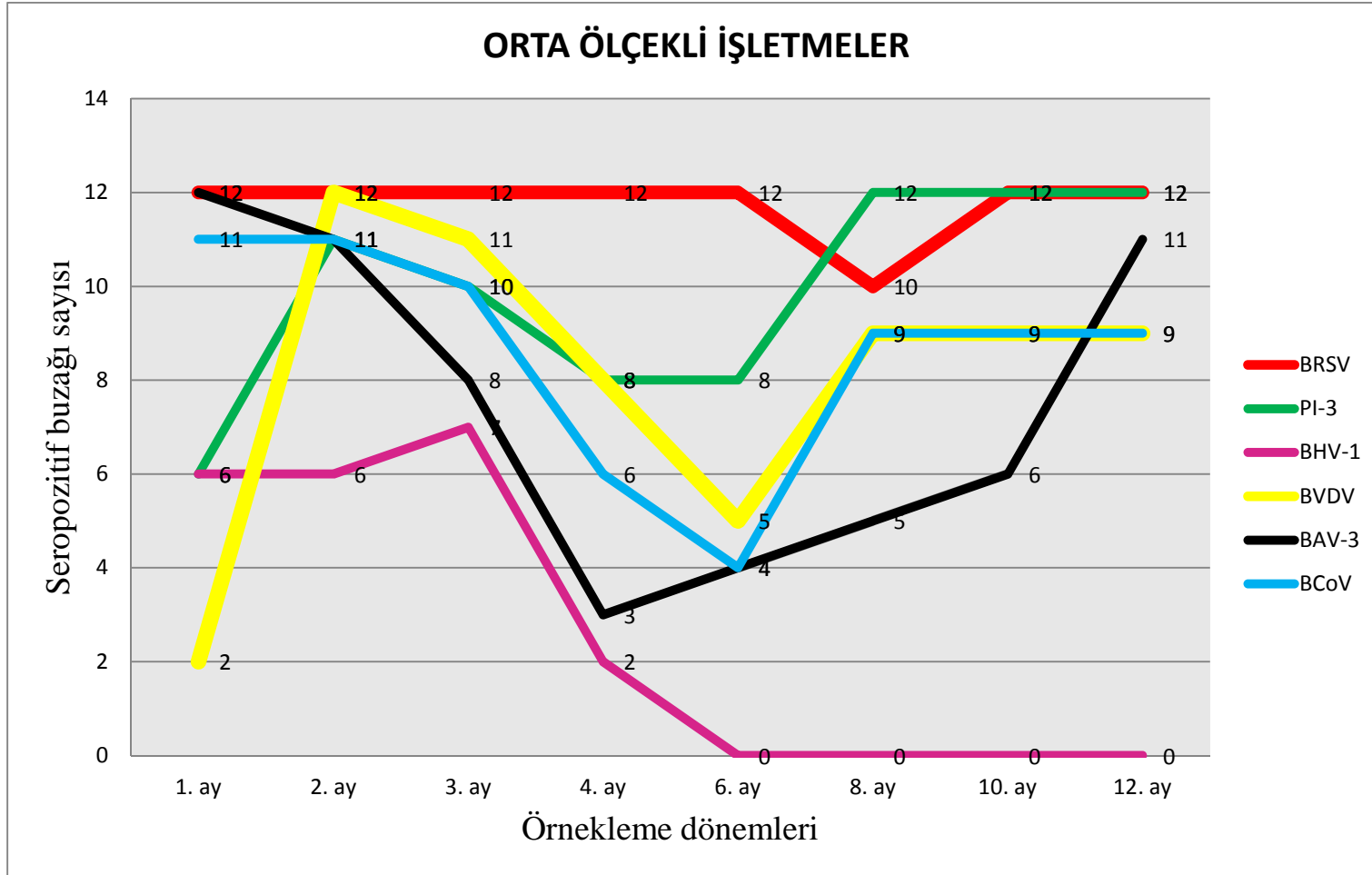


Şekil-48. Büyük ölçekli işletmelerdeki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

## Orta Ölçekli İşletmelere Ait Bulgular

Orta ölçekli işletmelerde bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikör titre değerleri Şekil-49, -50, -51 ve -52’de sunulmuştur. Örneklenen buzağı sayısının 12 olduğu orta ölçekli 2 işletmede BRSV’ye karşı seropozitif buzağı sayısının 8. ayda hafif bir azalış gösterdiği, ancak takip eden örnekleme döneminde yine tüm hayvanların seropozitif olduğu tespit edildi. PI-3’e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. ayda arttığı ve 3. aydan itibaren seropozitif sayısında azalış olduğu, 6. ve 8. aylar arasında ise tekrar artış gerçekleştiği belirlendi. BHV-1’e karşı maternal antikör taşıyan buzağı sayısının genel olarak 3. ve 4. aylar arasında azaldığı saptandı ve 6. ay itibariyle antikör taşıyan buzağı sayısı sıfıra indiği görüldü. BVDV’ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısı başlangıçta oldukça az iken, 2. ayda sayıda artış olduğu, sonrasında 6. aya kadar azaldığı ve 6. ile 8. aylar arasında muhtemel re-enfeksiyonun gerçekleştiği tespit edildi. BAV-3’e karşı maternal antikör taşıyan buzağı sayısının 2. aydan itibaren düşmeye başladığı ve 4. ve 10. aylar arasında buzağuların ilk defa enfeksiyonla tanıştıkları belirlendi. BCoV’a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren düzenli olarak azalış gösterdiği, buzağuların 6. ay itibariyle etkene maruz kaldığı görüldü. BAV-3’e karşı 4. ve 8. aylar arasında geç gelişen antikör yanıtı hariç diğer etkenlere ait antikör titre değerlerinin seropozitif buzağı sayısı eğrileri ile uyumlu olduğu saptandı.

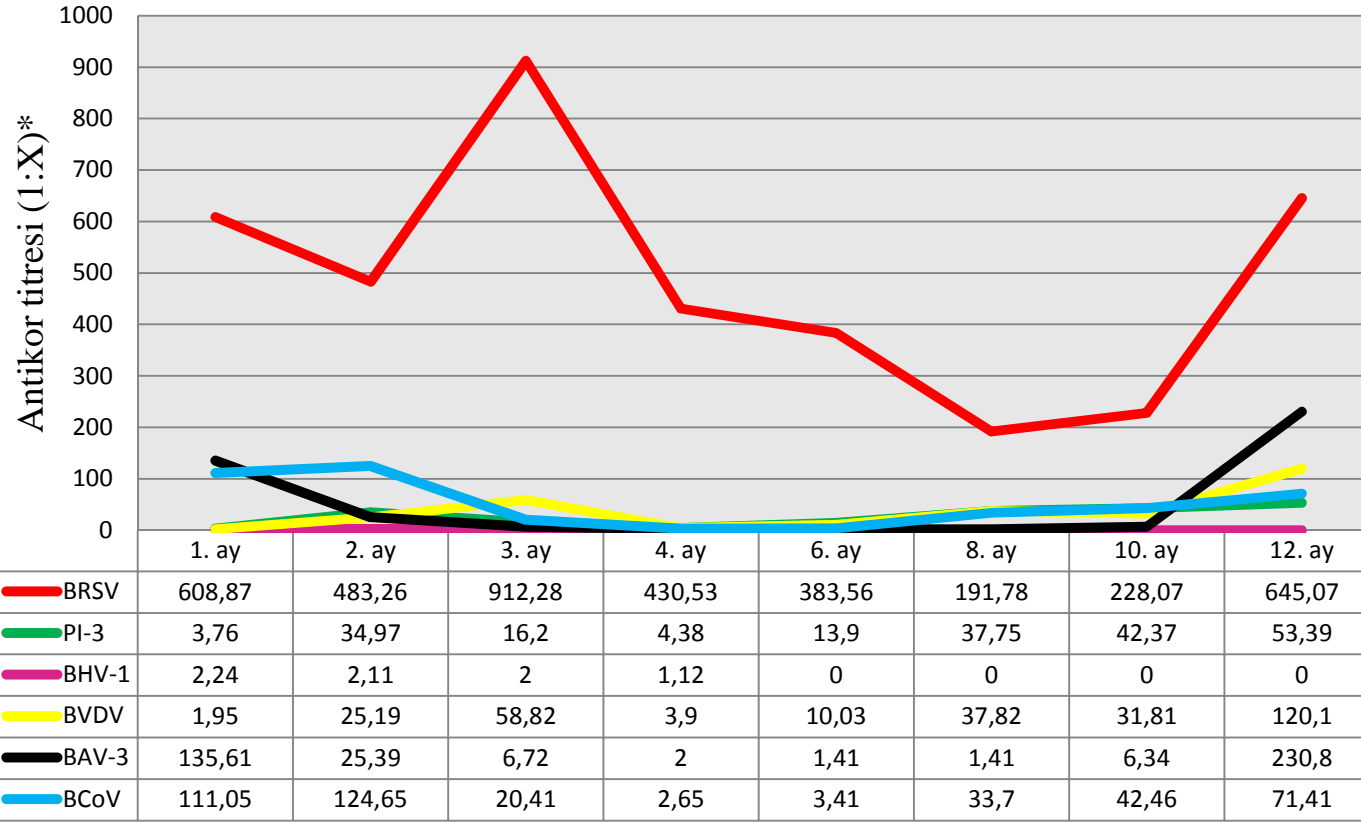
Orta ölçekli her iki işletmedeki annelerin serumlarından yapılan incelemeler sonucunda tüm etkenlere karşı en az 7 hayvanda antikör varlığı saptandı. Antikör titre değerlerinin ise 1:724 (BRSV) ile 1:10.2 (PI-3) arasında değiştiği belirlendi.



n=12

Şekil-49. Orta ölçekli işletmelerde enfeksiyonlara göre seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

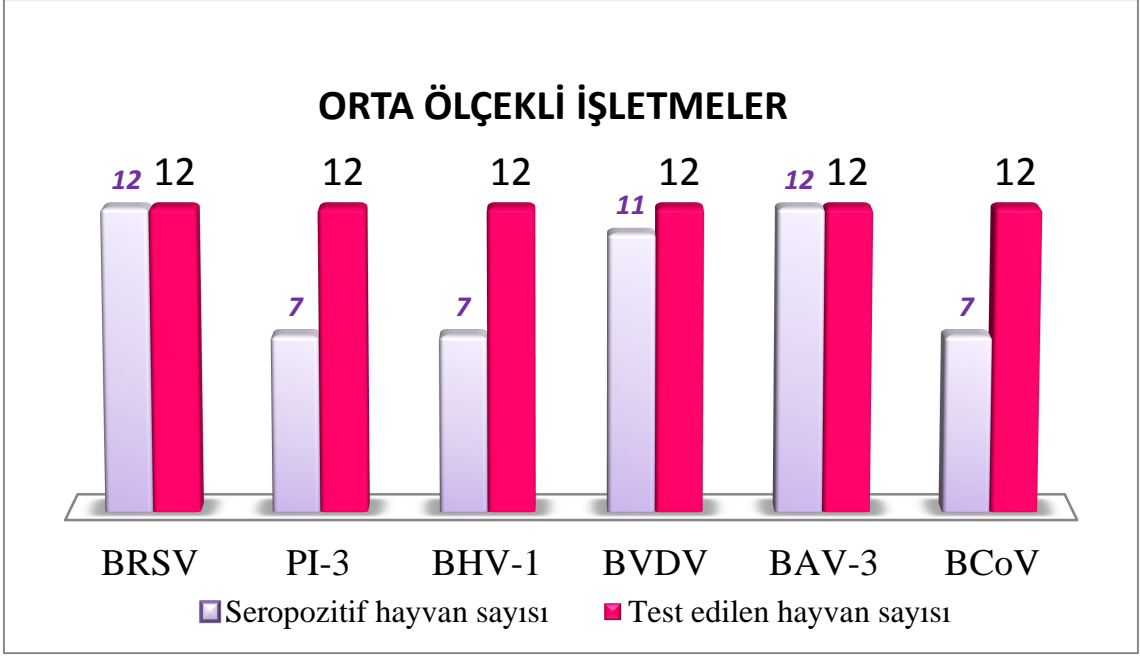
## ORTA ÖLÇEKLİ İŞLETMELER



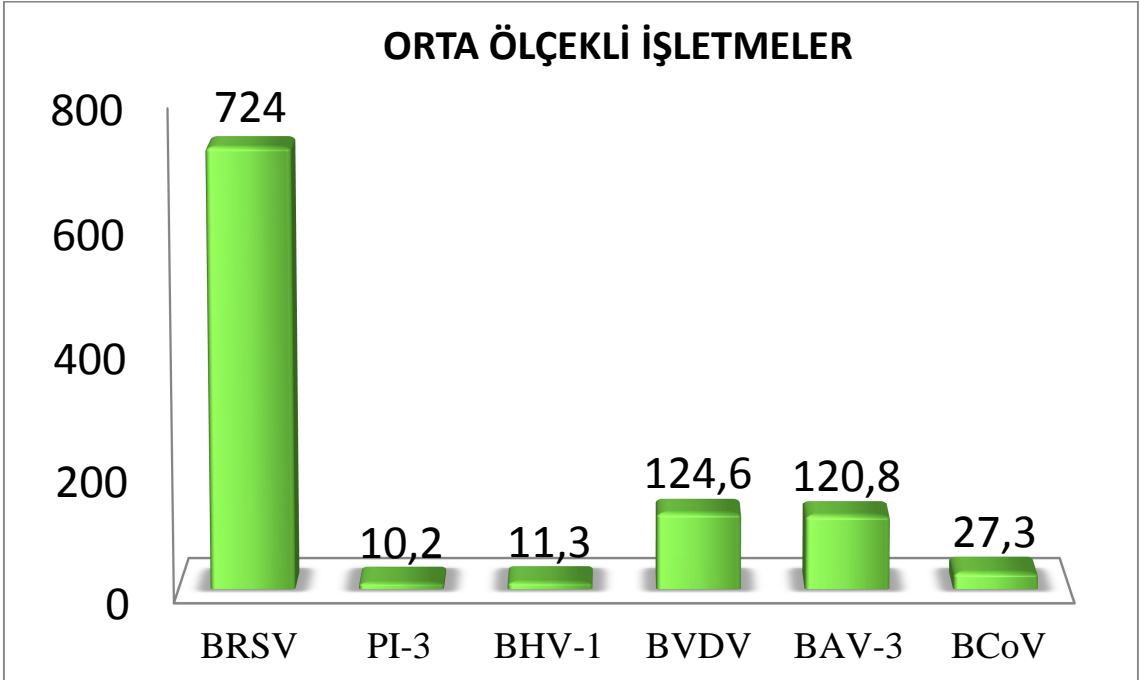
Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresi

\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=12

Şekil-50. Orta ölçekli işletmelerde enfeksiyonlara göre buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil-51. Orta ölçekli işletmelerde seropozitif olduğu saptanan anne sayısı



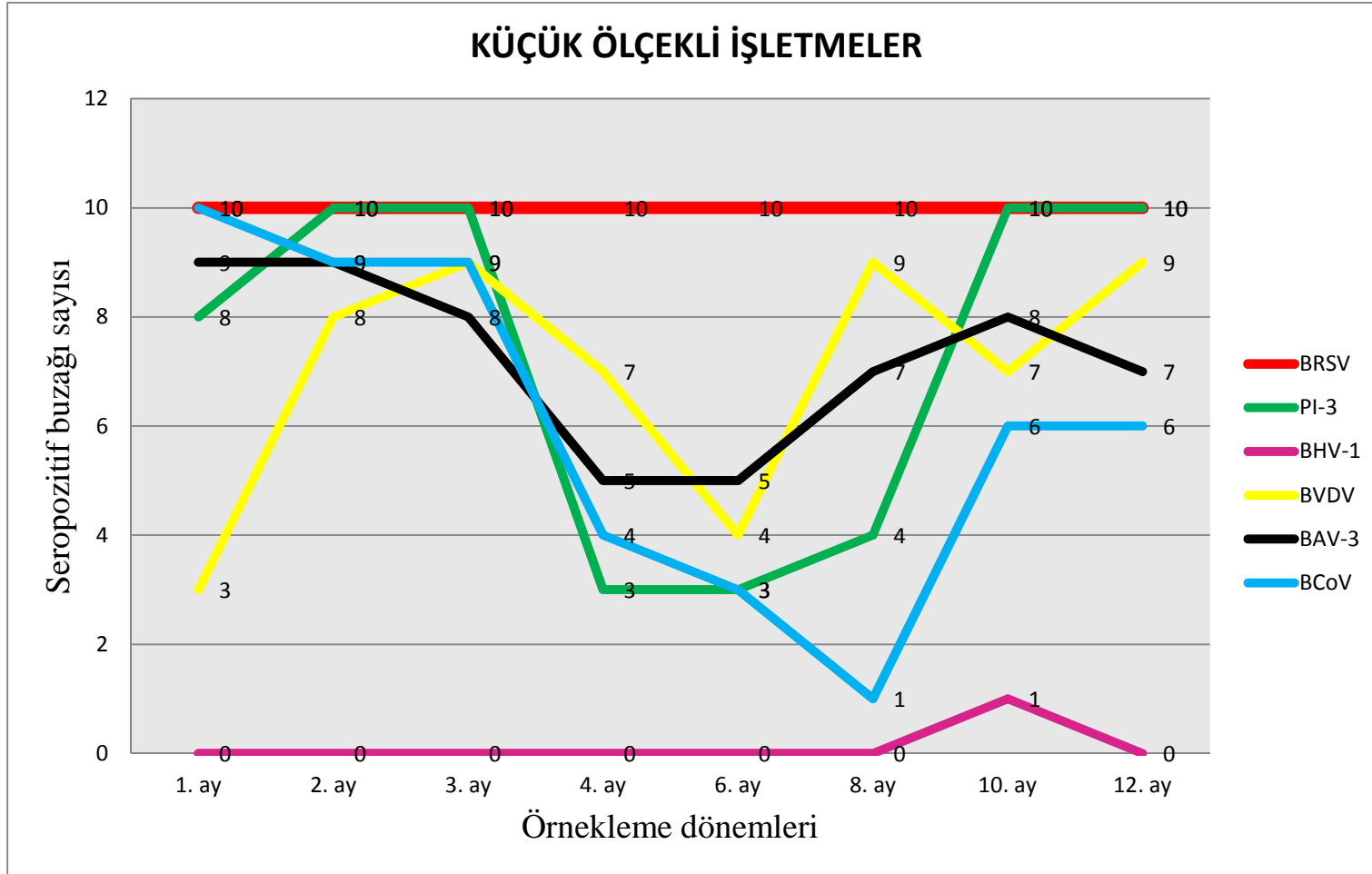
Şekil-52. Orta ölçekli işletmelerdeki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)



## Küçük Ölçekli İşletmelere Ait Bulgular

Küçük ölçekli işletmelerde bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikor titre değerleri Şekil-53 -54, -55 ve -56'da sunulmuştur. Örneklenen buzağı sayısının 10 olduğu küçük ölçekli işletmelerde buzağuların tümünün BRSV'ye karşı tüm örnekleme dönemlerinde ve değişen titrede antikor taşıdığı saptandı. PI-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. ayda arttığı ve 3. aydan itibaren seropozitif buzağuların sayısında azalma olduğu, 8. ve 10. aylar arasında ise muhtemel re-enfeksiyonun gerçekleştiği değerlendirildi. Örneklemenin başlangıcında BHV-1'e karşı hiçbir buzağıda antikor tespit edilemezken, 10. ayda enfekte buzağı sayısında küçük bir artış saptandı. BVDV'ye karşı maternal antikora sahip buzağı sayısı başlangıçta oldukça az iken, 2. ayda sayıda artış olduğu, 3. ve 6. aylar arasında azaldığı ve enfeksiyonun 6. ve 8. aylar arasında tekrar gerçekleştiği tespit edildi. BAV-3'e karşı maternal antikor varlığı saptanan buzağı sayısının 2. ay itibariyle düşmeye başladığı ve buzağuların 6. ve 10. aylar arasında etkene maruz kaldıkları belirlendi. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren düzenli azaldığı, buzağuların 8. ve 10. aylar arasında etkene maruz kaldığı görüldü. Tüm etkenlere yönelik antikor titre eğrilerinin seropozitif buzağı sayısı eğrileri ile uyum içinde seyrettiği saptandı. Küçük ölçekli işletmelerde de en yüksek maternal antikor titresini BRSV'ye karşı elde edildi (1:512). Hızlı azalan BRSV antikor titresinin 3. aydan itibaren tekrar yükseldiği ve dalgalı bir seyir izlediği belirlendi. Diğer enfeksiyonlara ilişkin titre değerlerinin zamanla azalış eğiliminde olduğu ancak PI-3 antikor titresinde özellikle 10. ayda önemli bir yükseliş olduğu gözlemlendi (Şekil-54).

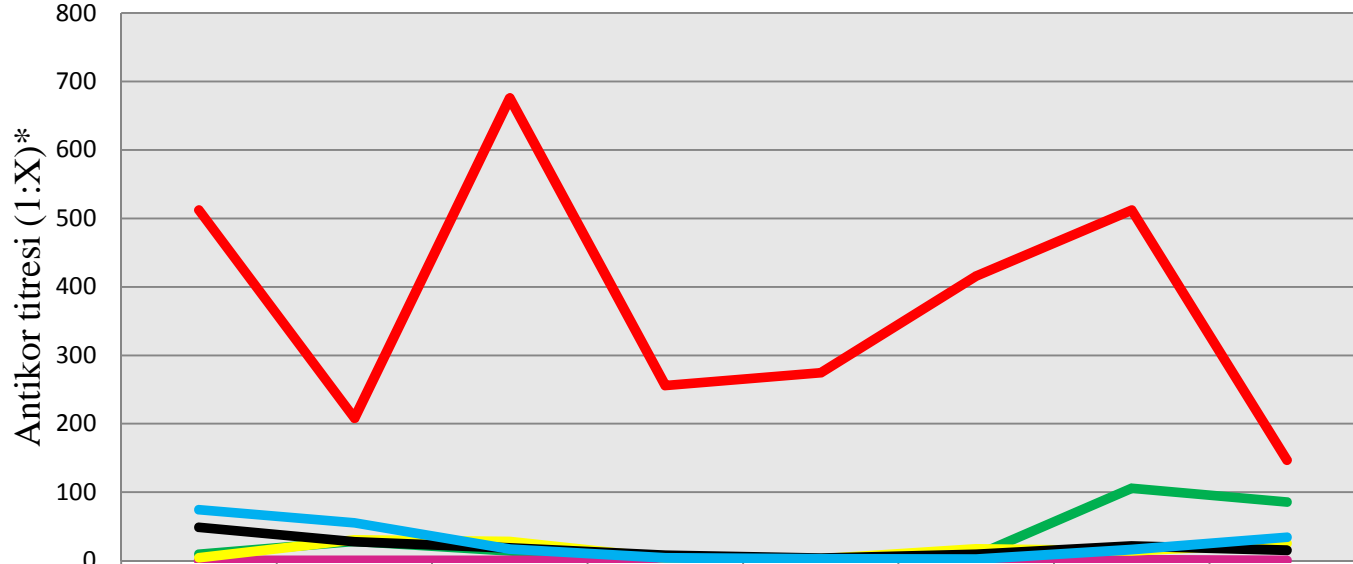
Küçük ölçekli her iki işletmedeki annelerin serumlarından yapılan incelemeler sonucunda BHV-1 hariç diğer 5 virusa karşı en az 9 hayvanda olmak üzere antikor varlığı saptandı. Antikor titre değerlerinin ise 1:24.2 (BAV-3) ile 1:776 (BRSV) arasında değiştiği görüldü.



n=10

Şekil-53. Küçük ölçekli işletmelerde enfeksiyonlara göre seropozitif buzağı sayısının aylar bazında seyri

## KÜÇÜK ÖLÇEKLI İŞLETMELER

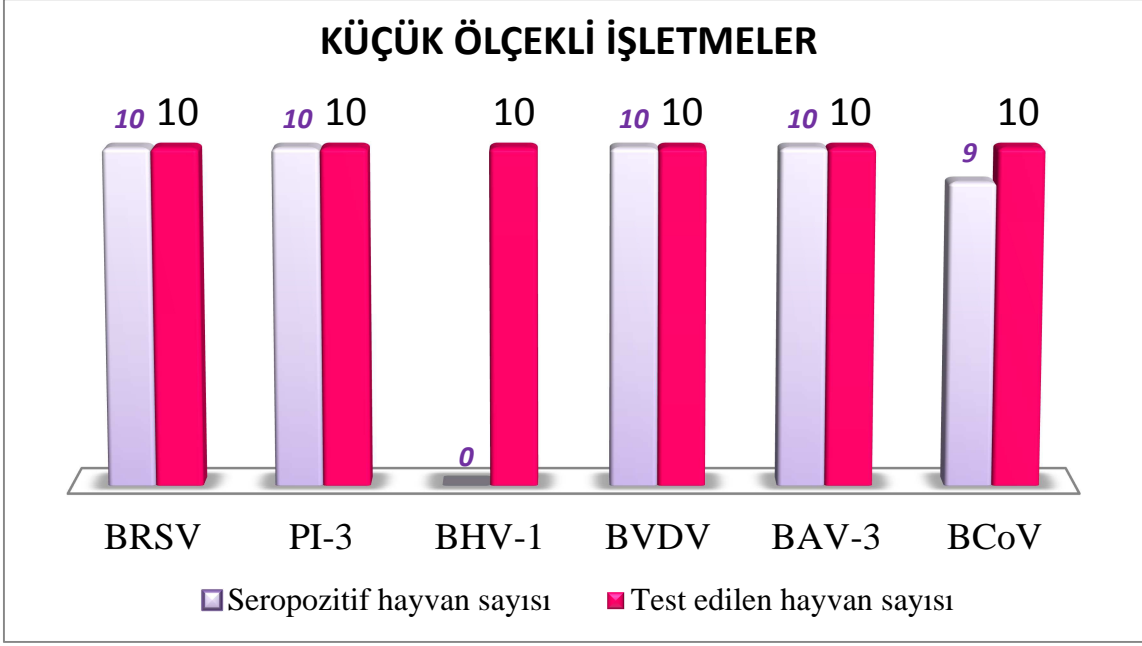


	1. ay	2. ay	3. ay	4. ay	6. ay	8. ay	10. ay	12. ay
<span style="color: red;">—</span> BRSV	512	207,93	675,58	256	274,37	415,87	512	147,03
<span style="color: green;">—</span> PI-3	9,56	28,28	14,14	1,99	2,13	7,61	105,56	85,74
<span style="color: magenta;">—</span> BHV-1	0	0	0	0	0	0	1,17	0
<span style="color: yellow;">—</span> BVDV	4,17	30,31	27,66	3,63	2,4	17,45	14,17	25,29
<span style="color: black;">—</span> BAV-3	48,5	27,85	18,37	7,46	3,24	9,18	21,11	14,92
<span style="color: blue;">—</span> BCoV	74,64	55,32	17,02	3,8	2,29	1,9	15,92	34,13

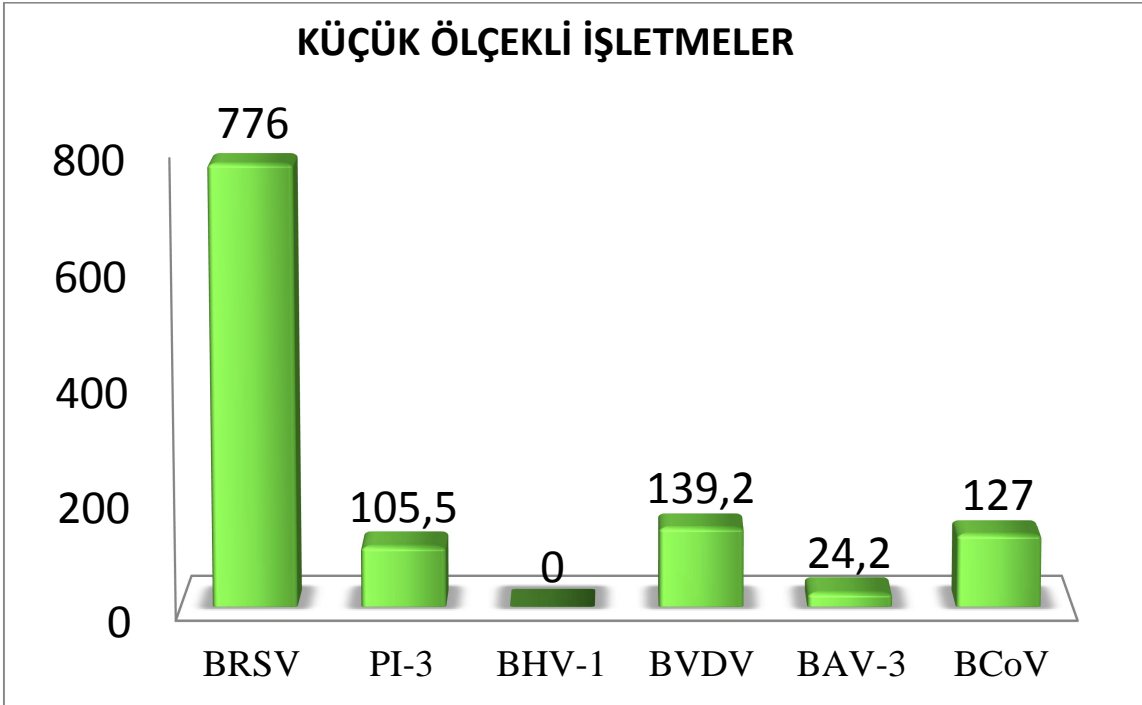
Örnekleme dönemleri/Ortalama antikor titresi

\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=10

Şekil-54. Küçük ölçekli işletmelerde enfeksiyonlara göre buzağılardaki ortalama antikor titrelerinin aylar bazında seyri



Şekil-55. Küçük ölçekli işletmelerde seropozitif olduğu saptanan anne sayısı



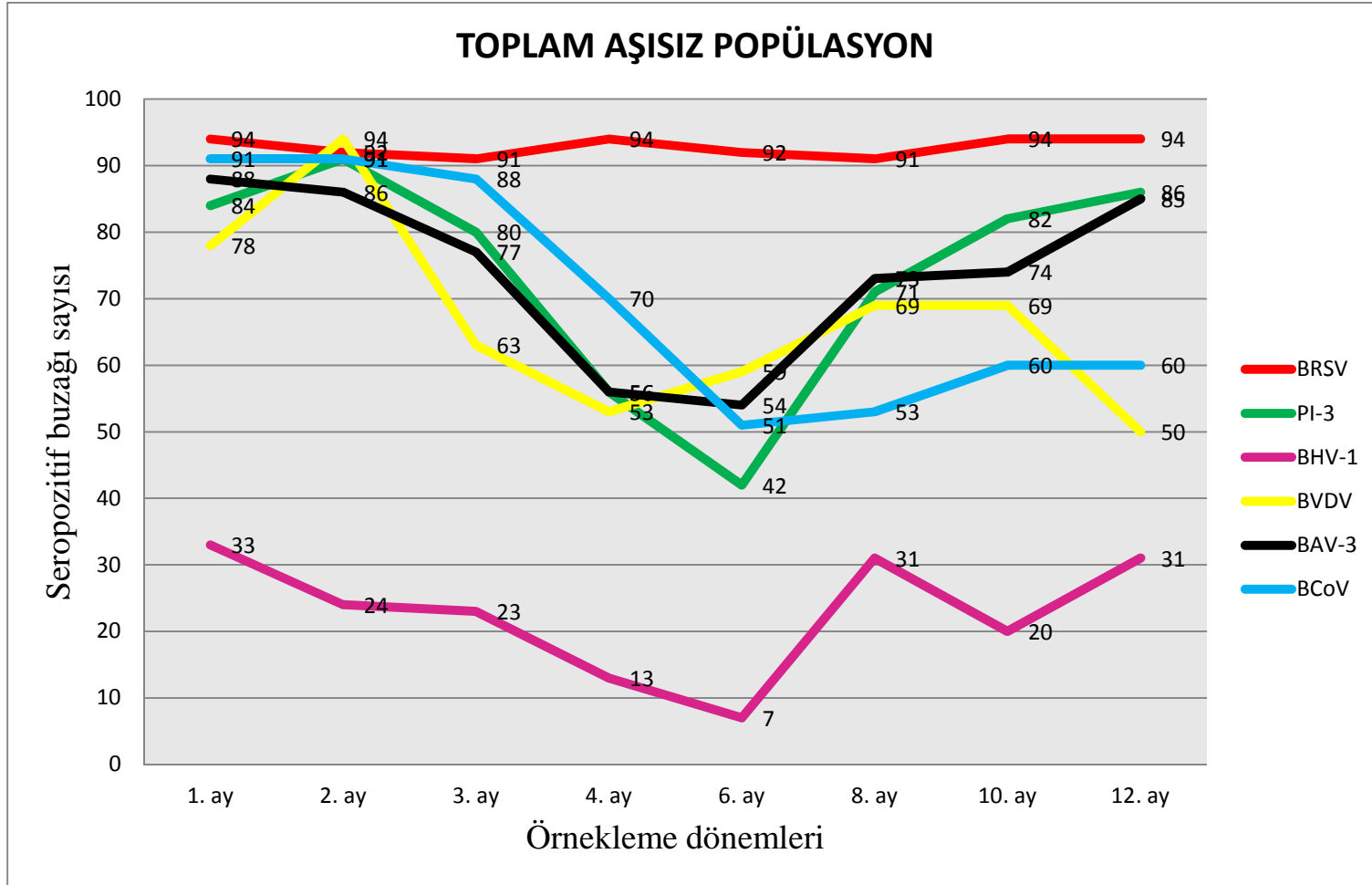
Şekil-56. Küçük ölçekli işletmelerdeki seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)

## Tüm Aşısız Buzağılara Ait Kümülatif Veriler

Toplam aşısız popülasyonda bulunan buzağular ve annelerine ilişkin seropozitif hayvan sayıları ve bunlardaki ortalama antikor titre değerleri Şekil-57, -58, -59 ve -60'da sunulmuştur. Toplam aşısız buzağı popülasyonu incelendiğinde buzağuların tümünün BRSV'ye karşı tüm örnekleme dönemlerinde ve değişen titrelerde antikor taşıdığı saptandı. PI-3'e karşı antikora sahip buzağı sayısının 1. ve 2. aylar arasında arttığı ve 2. aydan itibaren 6. aya kadar azaldığı, buzağuların etkenle muhtemelen 6. ve 8. aylar arasında tekrar karşılaşması sonucu enfeksiyonun buzağular arasında düzenli şekilde yayıldığı gözlemlendi. BHV-1'e karşı maternal antikor tespit edilen buzağı sayısının 6. aya kadar azaldığı, 6. ve 8. aylar arasında ise buzağuların enfeksiyona maruz kaldığı tespit edildi. BVDV'ye karşı antikora sahip buzağı sayısının 1. ve 2. aylar arasında arttığı, daha sonra giderek düştüğü, 4. ve 8. aylar arasında buzağuların enfeksiyonla tekrar karşılaştığı saptandı. BAV-3'e karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 1. aydan itibaren 6. aya dek azaldığı ve örneklenen buzağuların etkenle ilk defa 6. ve 8. aylar arasında karşılaştığı saptandı. BCoV'a karşı maternal antikora sahip buzağı sayısının 2. aydan itibaren azaldığı ve 6. ve 10. aylar arasında antikor taşıyan buzağı sayısının arttığı ve 10. ay itibariyle antikor taşıyan buzağı sayısının sabitlendiği belirlendi. BRSV ve BHV-1 hariç diğer 4 etkene yönelik antikor titre eğrilerinin seropozitif buzağı sayısı eğrileri ile uyum içinde seyrettiği saptandı.

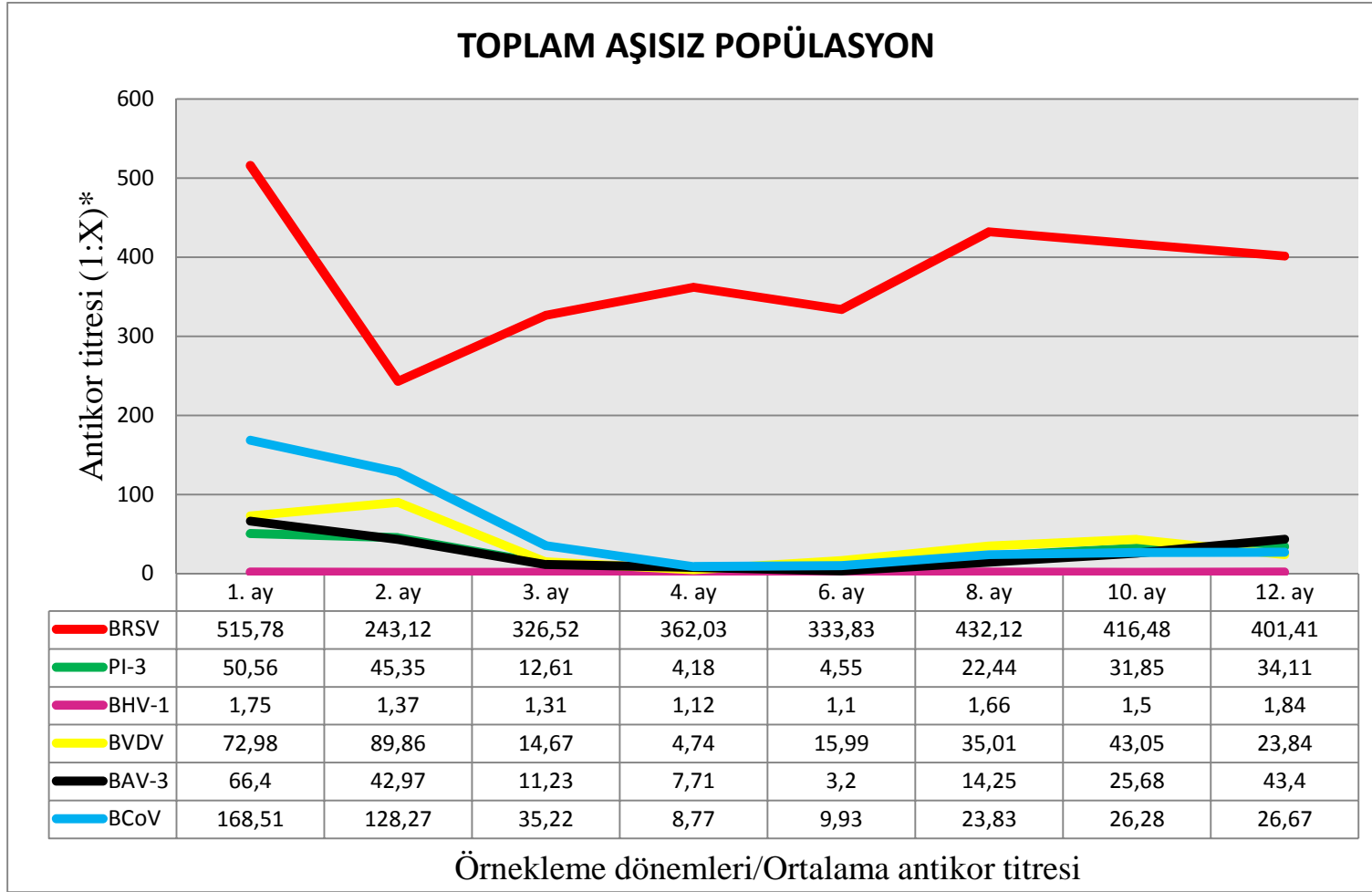
İşletme 3'te 10 adet annenin serum örneği hayvanların elden çıkarılması nedeniyle alınamamıştı. Alınan serum örneklerinin içerisindeki aşılı hayvanların annelerine ait olan 5 adet serum çıkarıldığında, toplam aşısız buzağı sayısı 94 iken bunlara ilişkin anne sayısı 89'da kaldı.

Tüm aşısız buzağuların annelerinden sağlanan serum örneklerinde incelenen etkenlere karşı mevcut antikor durumuna ve bu antikor titrelerinin geometrik ortalamalarına bakıldığında, annelerin hemen hemen tamamının BHV-1 hariç diğer viral etkenlere karşı antikor taşıdığı ve en yüksek antikor titre değerinin BRSV'ye (1:323.3), en düşük titre değerinin ise BHV-1'e (1:2.5) karşı olduğu saptandı.



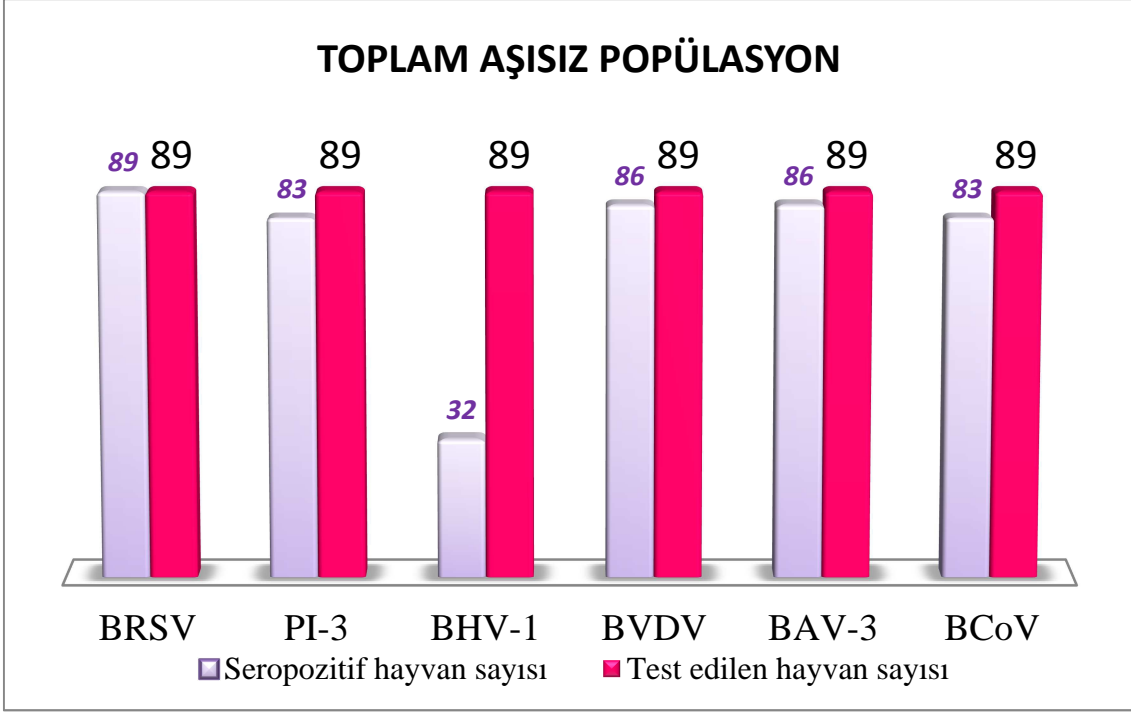
n=94

Şekil-57. Tüm aşısız buzağular arasında seropozitif birey sayısının aylar bazında seyri

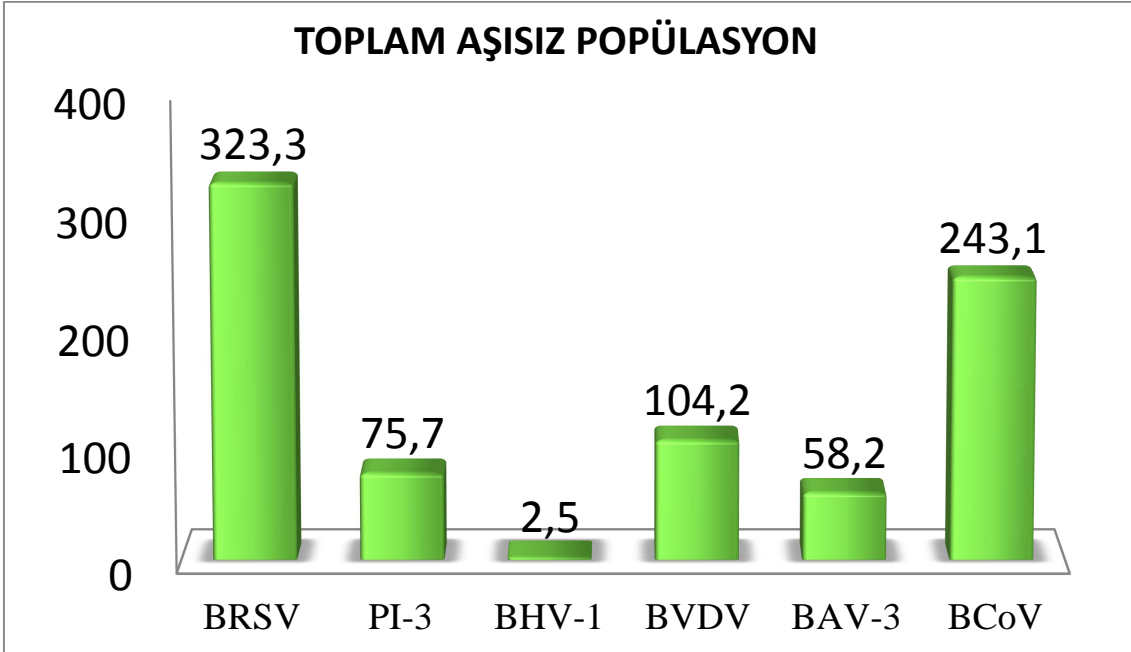


\*: Buzağılardaki antikor titre değerlerinin geometrik ortalaması, n=94

Şekil-58. Tüm aşısız buzağılara ilişkin antikor titre değerlerinin aylar bazında seyri



Şekil-59. Toplam popülasyonda seropozitif olduğu saptanan anne sayısı



Şekil-60. Toplam popülasyonda seropozitif annelerin ortalama antikor titre değerleri (1:X)



## Yeni Enfeksiyonla Tanışan Buzağı Sayılarının Aylık Dağılımı

İşletme büyüklüğünün, cinsiyet faktörünün ve aşıli-aşısız gruplarda enfeksiyonların görülme sıklığının incelenebilmesi amacıyla örnekleme yapıldığı her ay için enfeksiyonla yeni tanışan buzağı sayısı belirlendi. Daha sonra maternal antikörlerin gerileme zamanı ve buzağuların yeni enfeksiyonlarla karşılaştığı muhtemel zaman dilimleri göz önüne alınarak enfeksiyonla yeni tanışan buzağı sayıları 1.-4. aylar ve 6.-12. aylar arasında olmak üzere iki grupta toplanarak gruplandırıldı.

Tablo-7. İşletme büyüklüklerine göre enfeksiyonla yeni tanışan buzağı sayıları

		Gruplar	
		1.-4. aylar	6.-12. aylar
Büyük ölçekli işletmeler	BRSV	6	3
	PI-3	4	43
	BHV-1	13	29
	BVDV	9	41
	BAV-3	13	55
	BCoV	2	13
Orta ölçekli işletmeler	BRSV	0	2
	PI-3	5	5
	BHV-1	4	0
	BVDV	9	0
	BAV-3	1	10
	BCoV	0	6
Küçük ölçekli işletmeler	BRSV	0	0
	PI-3	2	7
	BHV-1	0	0
	BVDV	5	0
	BAV-3	0	7
	BCoV	1	4

Tablo-8. Cinsiyete göre enfeksiyonla yeni tanışan buzağı sayıları

		Gruplar	
		1.-4. aylar	6.-12. aylar
Dişi	BRSV	4	3
	PI-3	6	35
	BHV-1	10	30
	BVDV	17	33
	BAV-3	8	42
	BCoV	3	15
Erkek	BRSV	2	2
	PI-3	5	20
	BHV-1	7	2
	BVDV	7	9
	BAV-3	6	29
	BCoV	0	8

Tablo-9. Aşılı-aşısız gruplarda enfeksiyonla yeni tanışan buzağı sayıları

		Gruplar	
		1.-4. aylar	6.-12. aylar
Aşılı	BRSV	1	0
	PI-3	1	1
	BHV-1	4	1
	BVDV	1	9
	BAV-3	3	14
	BCoV	0	0
Aşısız	BRSV	1	1
	PI-3	0	11
	BHV-1	6	0
	BVDV	0	6
	BAV-3	4	14
	BCoV	0	0

## **İstatistikî Analiz Sonuçları**

### **İşletme Büyüklüklerine Göre Enfeksiyon Görülme Sıklığı**

İşletme büyüklükleri ile enfeksiyon düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesi için örnekleminin yapıldığı her ayda yeni enfeksiyonla tanışan buzağı sayısı belirlendi (Tablo-7). Daha sonra maternal antikorların gerileme zamanı ve buzağuların yeni enfeksiyonlarla karşılaştığı muhtemel zaman dilimleri göz önüne alınarak enfeksiyonla yeni tanışan buzağı sayıları 1.-4. aylar ve 6.-12. aylar arasında olmak üzere iki grupta toplanarak gruplandırıldı. Ortaya çıkan iki grup (1.-4. ay ve 6.-12. ay arası) için işletme büyüklükleri arasında 'Fisher'in Kesin Ki-Kare' yöntemi kullanılarak karşılaştırma yapıldı. Yapılan analiz sonucunda BRSV, BAV-3 ve BCoV için büyük, orta ve küçük ölçekli işletmeler arasında enfeksiyonların görülme sıklığı için herhangi bir fark saptanamadı (sırasıyla  $p=0.182$ ,  $p=0.580$ ,  $p=0.758$ ).

PI-3, BHV-1 ve BVDV için ise enfeksiyonların görülme sıklığı bakımından işletme büyüklükleri arasında anlamlı farklılıklar olduğu tespit edildi ( $p=0.006$ ,  $p=0.015$ ,  $p<0.001$ ). PI-3 ve BHV-1 için büyük-orta ölçekli işletmeler arasında anlamlı bir fark olduğu ( $p=0.0053$ ,  $p=0.0146$ ), BVDV'nin ise hem büyük-orta hem de büyük-küçük işletmeler arasında görülme sıklığı açısından anlamlı düzeyde farklı olduğu tespit edildi ( $p<0.001$ ,  $p=0.006$ ).

### **Dişi ve Erkek Buzağularda Enfeksiyon Görülme Sıklığı**

Dişi ve erkek hayvanlardaki enfeksiyon düzeylerinin incelenmesi için hayvanlar yukarıda anlatıldığı üzere iki grupta toplandı (Tablo-8). Fisher'in Kesin Ki-Kare yöntemi kullanılarak yapılan analiz sonucunda BRSV, PI-3, BVDV, BAV-3 ve BCoV için dişi ve erkek hayvanlar arasında enfeksiyonların görülme düzeyi için herhangi bir fark saptanamadı ( $p>0.05$ ,  $p=0.735$ ,  $p=0.556$ ,  $p>0.05$ ,  $p=0.529$ ). BHV-1 enfeksiyonunun görülme sıklığının ise dişi ve erkek buzağular arasında anlamlı düzeyde farklı olduğu ve dişilerde görülme olasılığının daha yüksek olduğu saptandı ( $p=0.005$ ).

## **Aşılı ve Aşısız Buzağlarda Enfeksiyon Görülme Sıklığı**

İşletme 3'te 4. ayda aşı uygulaması yapılan 18 adet buzağı ile aşı uygulanmayan 21 adet buzağı arasında enfeksiyonların düzeylerine ilişkin inceleme yapılabilmesi için hayvanlar yukarıda anlatıldığı gibi gruplandı (Tablo-9). 'Fisher'in Kesin Ki-Kare' yöntemi kullanılarak yapılan analiz sonucunda aşılı ve aşısız buzağlar arasında BRSV, PI-3, BHV-1, BVDV BAV-3, BCoV enfeksiyonlarının görülme sıklığı arasında herhangi bir fark saptanamadı ( $p>0.05$ ,  $p=0.154$ ,  $p=0.455$ ,  $p>0.05$ ,  $p>0.05$ ,  $p>0.05$ ).

## **Buzağlara Maternal Antikor Geçişi**

Annelerin serum örneklerinde tespit edilen antikor titreleri ile buzağların 1. aylarında tespit edilen maternal antikor titreleri arasındaki ilişki istatistiki olarak araştırıldı. Analiz sonucunda BCoV hariç diğer 5 etken için pozitif yönde korelasyon saptandı. Korelasyon katsayıları ve p değerleri şu şekilde sıralandı. BRSV için  $r= 0.241$ ,  $p=0.015$ ; PI-3 için  $r= 0.483$ ,  $p<0.001$ ; BHV-1 için  $r= 0.574$ ,  $p=0.001$ ; BVDV için  $r=0.264$ ,  $p=0.007$ ; BAV-3 için  $r= 0.248$ ,  $p=0.012$ ; BCoV için  $r=0.04132$ ,  $p=0.752$ .

## **Klinik Bulguların Mevsimsel Dağılımı**

Solunum enfeksiyonu klinik bulgusuna sahip buzağlardan yapılan örnekleme sonucunda 1 adet örnek ilkbahar sezonunda, 22 adet örnek yaz sezonunda, 29 adet örnek sonbahar sezonunda ve 28 adet örnek ise kış sezonunda temin edildi (Tablo-3). Klinik bulguların mevsimsel dağılımının istatistiki olarak incelenmesinde 'Fisher'in Kesin Ki-Kare' yöntemi kullanıldı. Yapılan analiz sonucunda ilkbahar sezonuna göre diğer 3 sezonda incelenen enfeksiyonların görülme riskinin daha yüksek olduğu saptandı ( $p<0.001$ ).

## **Virolojik Çalışmalar**

### **ELISA ile Antijen Tespiti Sonuçları**

#### **Dörtlü Antijen ELISA Sonuçları**

Tez çalışması kapsamında örneklenen toplam 137 adet svab ve doku örneği BVDV, BHV-1, BRSV ve PI-3 antijenlerine yönelik olarak ticari antijen ELISA kiti ile test edildi. Bu testte sadece 1 adet doku örneği pozitif sonuç verdi.

#### **BHV-1 Antijen ELISA Sonuçları**

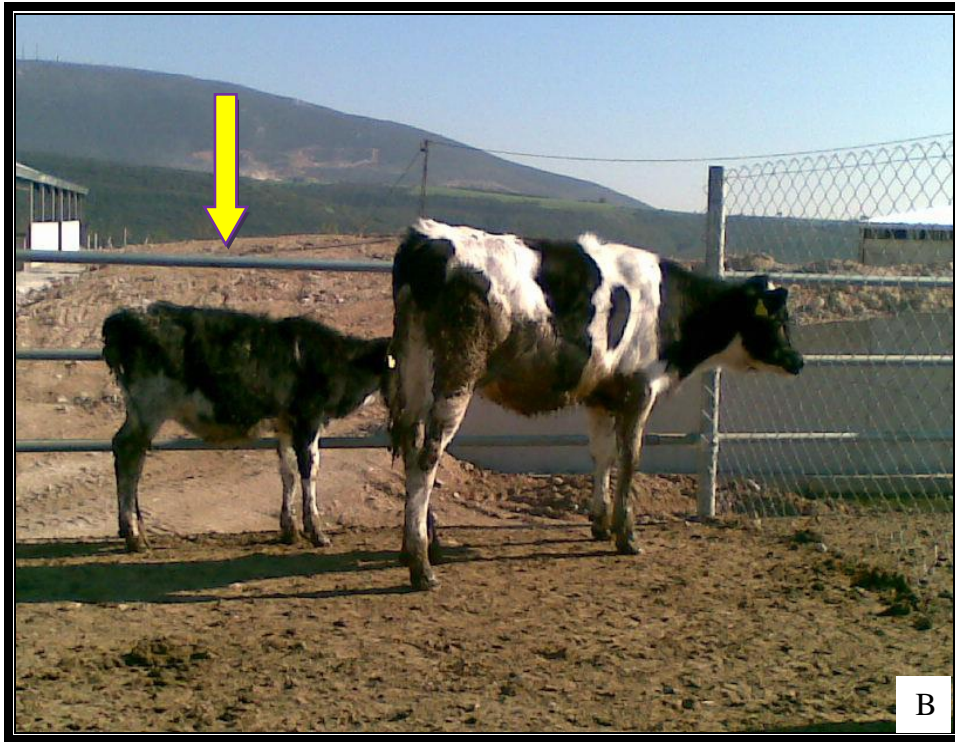
Çalışma kapsamında değerlendirilen 80 adet burun svabı, 18 adet göz svabı ve 39 adet akciğer olmak üzere toplam 137 adet örnek BHV-1 antijen ELISA kiti ile test edildi ve tüm örneklerde negatif sonuç alındı.

#### **BVDV Antijen ELISA Sonuçları**

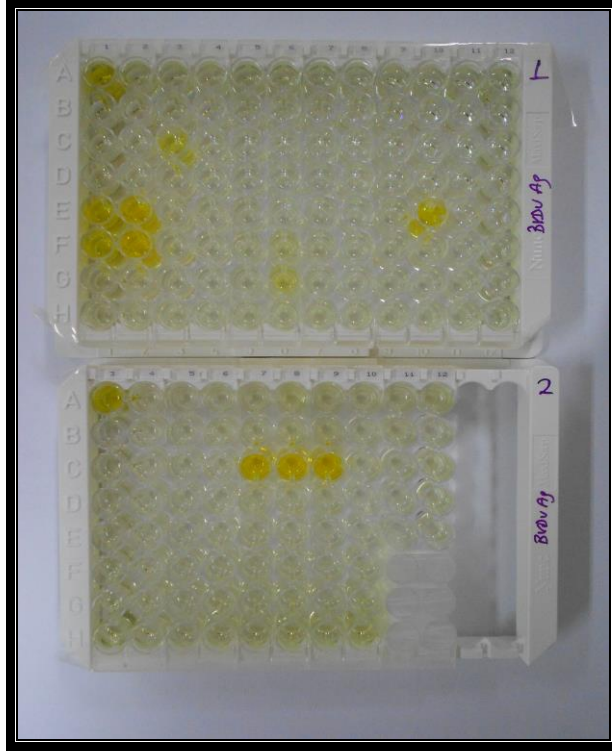
80 adet burun svabı, 18 adet göz svabı ve 39 adet akciğer örneği BVDV antijen ELISA kiti ile test edildi (Şekil-62). Testin sonucunda 8 adet burun svabında, 2 adet göz svabında ve 3 adet akciğer doku örneğinde olmak üzere toplam 13 adet örnekte (%9.48) BVDV antijenlerinin varlığı belirlendi. Geriye kalan 72 adet burun svabı, 16 adet göz svabı ve 36 adet akciğer örneği ise negatif sonuç verdi.

Pozitif sonuç veren svab örneklerinin 2 tanesinin 4 ay ara ile aynı hayvandan alınmış olması ve örnekleme sırasında 7. ayda ölmesi nedeniyle çalışma kapsamından çıkarılan 1026 numaralı buzağının yaşlılarına göre gelişim geriliği göstermesi (Şekil- 61) bu bireylerde muhtemel persiste enfeksiyon olabileceğini düşündürdü. Bu nedenle söz konusu işletmede (İşletme-2) yer alan ve svab örnekleri BVDV antijen ELISA kitinde pozitif sonuç veren buzağılar persiste BVDV enfeksiyonu yönünden incelendi. Bu aşamada çalışma sürecinde örneklenmiş olan svab örneklerinde BVDV antijeni saptanan üç buzağının (Buzağı no:16, 42 ve 1026) tüm serum örnekleri ve annelerinin serumları

BVDV antijen ELISA'ya tabi tutuldu. Her 3 buzağının tüm serum örnekleri (1.-12. aylar, 8 örnek) ve bir buzağının (no: 16) annesinden sağlanan serum örneği BVDV antijenleri yönünden pozitif sonuç verdi. Böylece her 3 buzağının da BVDV ile PE olduğu belirlenmiş oldu. İşletmedeki 16 nolu PE buzağının annesinde ise tek serum örneğinde çalışma yapılmış olması sebebiyle annenin persiste enfeksiyon durumu ile ilgili kesin bir değerlendirme yapılamadı (Tablo-10).



Şekil-61. A-B: Yaştlarına göre gelişim geriliği gösteren 1026 numaralı buzağı



Şekil-62. Svab ve doku örneklerine uygulanan BVDV antijen ELISA (Dış bakı)

### **Virus İzolasyon Sonuçları**

Değerlendirmeye alınan 80 adet burun svabı, 18 adet göz svabı ve 39 adet akciğer örneği olmak üzere toplam 137 adet örnek MDBK hücre kültürüne ekilerek birbirini takip eden 3 kör pasaj işlemine tâbi tutuldu. Süreç sonunda hiçbir örneğin ekildiği hücre kültüründe sitopatolojik etki saptanamadı.

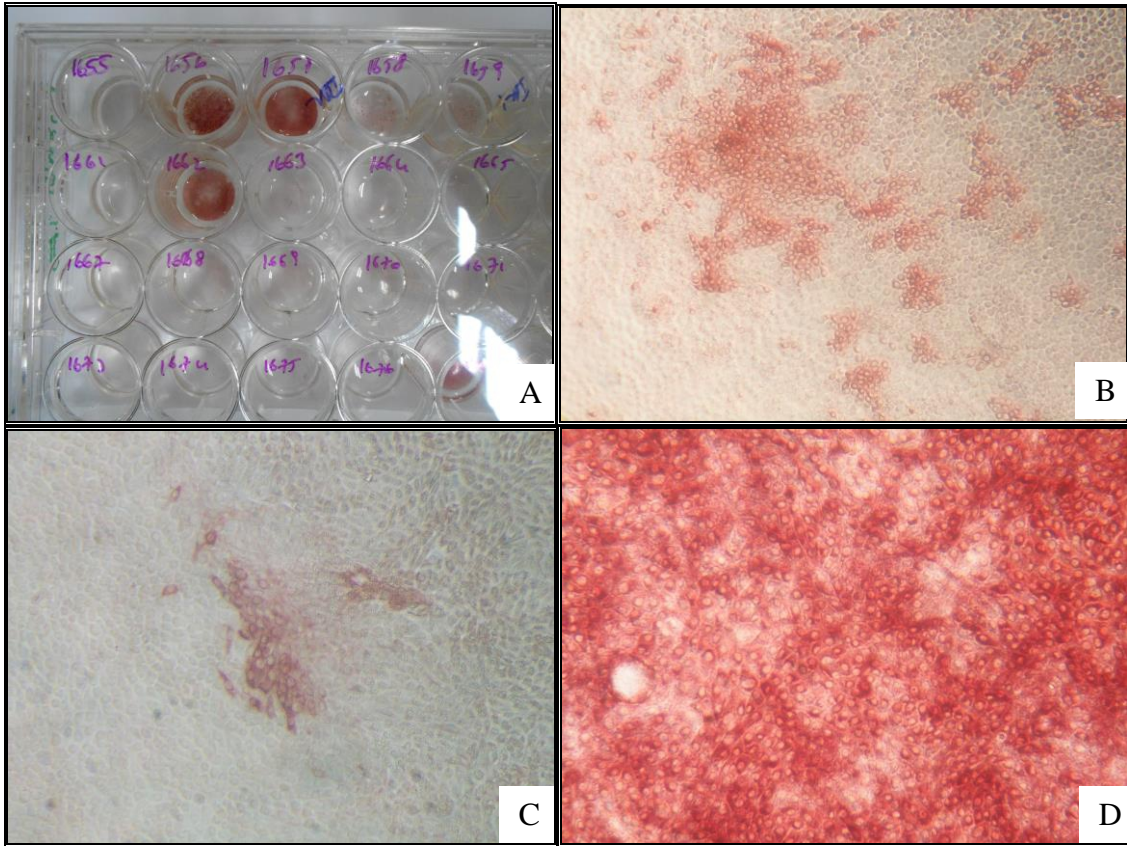
Virus izolasyonu işlemi PE olduğu değerlendirilen buzağuların ve annelerinin serum örneklerine de uygulandı. Bu örneklerin ekildiği hücre kültürlerinde de sitopatolojik etki yaratan herhangi bir virus üremesi tespit edilemedi.



## İmmunoperoksidaz Testi (IPX) Sonuçları

Kör pasaj işlemine tabi tutulmuş 137 adet örnek nonsitopatojen BVDV varlığı yönünden test edilmek üzere immünoperoksidaz testine alındı. Test sonucunda 5 adet burun svabı ile 5 adet akciğer örneği olmak üzere toplam 10 örnek nonsitopatojen BVDV yönünden pozitif olarak tespit edildi (Şekil-63).

PE olduğu antijen ELISA ile belirlenen 3 buzağıdan ikisine (buzağı no: 16 ve 42) ait birer serum örneğinde nonsitopatojen BVDV tespit edildi. Örneklerin 16 nolu buzağının 1. ayına ait ve 42 nolu buzağının 4. ayına ait serum örnekleri olduğu belirlendi.



Şekil-63. Çalışma kapsamında uygulanan immünoperoksidaz testinde elde edilen görüntüler

A: İmmünoperoksidaz testinde pletin görünümü, B: Serum örneği (x4 büyütme)  
C: Svab örneği (x10 büyütme), D: Akciğer örneği (x20 büyütme)

Tablo-10. PE buzağuların serum ve svab örnekleri ile annelerinin serum örneklerine uygulanan SN<sub>50</sub>, BVDV antijen ELISA ve virus izolasyonu- İmmunoperoksidaz testi sonuçları

Örnekleme dönemleri	Hayvan No													
	16 numaralı buzağı <sup>1</sup>				1026 numaralı buzağı <sup>2,*</sup>				42 numaralı buzağı <sup>2</sup>					
	Antikor titresi	Serum		Svab**		Antikor titresi	Serum		Svab**		Antikor titresi	Serum		Svab**
	AgELISA	IPX	Burun	Göz		Ag ELISA	IPX	Burun	Göz		Ag ELISA	IPX	Burun	Göz
1. ay	0	+	+			1:160	+	-			1:640	+	-	
2. ay	1:5	+	-			1:20	+	-			1:640	+	-	
3. ay	1:10	+	-			1:5	+	-			0	+	-	
4. ay	1:5	+	-			0	+	-			0	+	+	
6. ay	1:40	+	-	+	+	0	+	-	+	+	0	+	-	+
8. ay	1:40	+	-	-							0	+	-	
10. ay	1:20	+	-	+	-						0	+	-	
12. ay	1:20	+	-								0	+	-	
Anne	1:160	+	-			1:640	-	-			1:640	-	-	

<sup>1</sup>: Haziran ayı doğumlu buzağı, <sup>2</sup>: Temmuz ayı doğumlu buzağı

\*1026 nolu buzağının örnek toplama sürecinde 7. ayda ölmesi nedeniyle 6. aydan sonraki serum örnekleri mevcut değildir. Dolayısıyla bu hayvana ait örnekler SN<sub>50</sub> değerlendirilmesine alınmamıştır.

\*\* Hayvanlardan sadece klinik belirtilerin olduğu dönemde örnekleme yapılmıştır. BVDV antijen ELISA'da pozitif sonuç veren svab örnekleri virus izolasyonu-immunoperoksidaz testinde ise negatif sonuç vermiştir.

+: Pozitif, -: Negatif

## **BVDV Antijen ELISA ve İmmunoperoksidaz Testi Sonuçlarının Karşılaştırması**

Numunelerden hazırlanan 137 adet inokulumdan yapılan BVDV antijen ELISA sonucunda 13 adet örnek pozitif, 1 örnek şüpheli pozitif sonuç verirken 123 adet örnek negatif sonuç verdi (Tablo-11). Virus izolasyonu çalışmalarını takiben yapılan immunoperoksidaz testinde ise ELISA ile uyumlu olarak 2 örnek pozitif sonuç verirken, ELISA'da negatif olan 8 örnek immunoperoksidaz testinde pozitif sonuç verdi. Kalan 127 örnek ise immunoperoksidaz testinde negatif olarak değerlendirildi. İki testin herhangi birisinde pozitif sonuç veren 22 örneğin 3. pasaj üst sıvılarına tekrar BVDV antijen ELISA uygulandı ve 7 örnek pozitif sonuç verdi. Bu testin sonucu ile immunoperoksidaz testinin sonuçları karşılaştırıldığında ise 7 örneğin her iki testte de pozitif olduğu görülürken, immunoperoksidaz testinde pozitif olup ELISA'da negatif olan 3 örnek tespit edildi. Kalan 12 örnek de yine immunoperoksidaz testi ile uyumlu olarak negatif sonuç verdi.

Tablo-11. BVDV yönünden pozitif olduğu saptanan svab ve doku örneklerine ilişkin veriler\*

Sıra no	İşletme no/ Mezbaha	Hayvan no	Örnek	Direkt numuneden yapılan ELISA sonucu	IPX sonucu	3. kör pasaj üst sıvısı ELISA sonucu
1	2	16	Göz svabı	+	-	-
2	2	16	Burun svabı	+	-	-
3	2	1026	Burun svabı	+	-	-
4	2	1026	Göz svabı	+	-	-
5	2	42	Burun svabı	+	-	-
6	2	16	Burun svabı	+	-	-
7	Muğla	3343	Burun svabı	-	+	-
8	Muğla	7174	Burun svabı	+	+	+
9	Mezbaha	8	Akciğer	+	-	-
10	Mezbaha	15	Akciğer	-	+	+
11	Mezbaha	16	Akciğer	+	+	+
12	Mezbaha	17	Akciğer	-	+	+
13	Mezbaha	18	Akciğer	-	+	+
14	Mezbaha	21	Akciğer	-	+	+
15	Mezbaha	24	Akciğer	+	-	-
16	Yenişehir 1	729	Burun svabı	-	+	-
17	Yenişehir 2	616	Burun svabı	-	+	-
18	Yenişehir 2	505	Burun svabı	-	+	+
19	Yenişehir 2	8710	Burun svabı	+	-	-
20	Yenişehir 2	2954	Burun svabı	+	-	-
21	Yenişehir 2	5825	Burun svabı	+	-	-
22	Yenişehir 2	5826	Burun svabı	?+	-	-
<b>Toplam</b>				<b>13 (+), 1 (?+), 8(-)</b>	<b>10 (+), 12(-)</b>	<b>7 (+), 15 (-)</b>

\*Tabloda yer almayan örnekler her iki testte de negatif olarak saptanmıştır,  
 +: Pozitif, -: Negatif, ?+: Şüpheli pozitif

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Sığır solunum yolu enfeksiyonları buzağı yetiştirilen sürülerde en sık rastlanan problem olmasının yanı sıra (1) yetiştiriciyi olduğu kadar ülke ekonomisini de direkt ilgilendirdiği için son derece önemlidir. Bu enfeksiyonlara ilişkin maddi kayıplar; hayvan ölümleri, canlı ağırlık kaybı, verim düşüklüğü, veteriner hekim ücretleri ve ilaç maliyetlerinden ileri gelmektedir. Örneğin; 1991 yılında ABD’de sığır solunum yolu enfeksiyonlarının meydana getirdiği ekonomik kaybın 600 milyon doların üzerinde olduğu tahmin edilmektedir (3).

Sığırların solunum yolu enfeksiyonlarının oldukça yaygın ve ekonomik yönden önemli olması (3) nedeniyle bu tez çalışmasında süt sığırı işletmelerinde solunum sistemi viral hastalıklarının 1 yıl süresince serolojik takibi yapılmıştır. Buradaki temel amaç serolojik testlerle araştırılan her bir etkene karşı mevcut maternal antikorların gerileme dönemleri, buzağuların muhtemel ilk enfeksiyona maruz kalma yaşı ve buzağular için optimum aşılama zamanıyla ilgili veriler toplamak ve öneriler geliştirmektir. Bu çalışmalara paralel olarak yürütülen virolojik çalışmalarla da solunum yolu enfeksiyonlarından virus tespitine gidilmiş ve daha sonra yapılabilecek muhtemel çalışmalar için temel olabilecek veriler elde edilmiştir.

Çalışmada solunum sistemi enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan etkenlerden bovine respiratory syncytial virus (BRSV), bovine herpesvirus 1 (BHV-1), bovine parainfluenza virus tip 3 (PI-3), bovine viral diarrhoea virus (BVDV), bovine adenovirus tip 3 (BAV-3) ve yine sığırların solunum sisteminden izole edilen bovine coronavirus (BCoV) (4-10, 12-14) yönünden incelemeler yapılmıştır.

Sığır sürülerinde erişkin hayvanlar genellikle yukarıda açıklanan patojenlere karşı bağışık durumdadır. Bu virüslere ilişkin hastalık tabloları daha çok maternal immuniteden aktif immuniteye geçiş döneminde olan genç hayvanlarda görülmektedir (37). Bu nedenle araştırmada kullanılan hayvanlardaki örnekleme çalışmaları 1 aylık yaştan başlanarak 12 aylık yaşa kadar sürdürülmüştür.

## Enfeksiyonların Aşısız Buzağı Popülasyonundaki Seyri

Örneklenen 112 adet buzağının 18'ine 4. aylarında BRSV, PI-3, BVDV tip 1- tip 2 ve BHV-1'e yönelik karma aşı uygulandığından bu hayvanlarda incelenen enfeksiyonların doğal seyrini izlemek mümkün olmamıştır. Geriye kalan 94 buzağıda 1 yıllık süreç boyunca tespit edilen seropozitif buzağı sayısı incelendiğinde (Şekil-57) tüm etkenlerin aşısız toplam popülasyon içerisinde devamlı var olduğu görülmüştür. Bu çalışmada olduğu gibi birçok araştırmada da sığır solunum yolu enfeksiyonlarında birden fazla etkenin birlikte görüldüğü gösterilmiştir (4, 36). Bu durumun BRSV, PI-3 ve BCoV'un subklinik, BHV-1'in latent persiste ve BVDV'nin ise immunotolere persiste olarak sürü içerisinde kalabilme mekanizmalarından (7, 18-20, 158, 159) ileri gelebileceği değerlendirilmektedir.

Bu çalışmada BRSV'nin örneklenen aşısız popülasyonda hemen hemen sabit düzeyde seyretmesinin Hägglund ve arkadaşlarının (7) çalışması ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu durumun maternal bağışıklığın kısa süreli olması nedeniyle farklı bağışıklık durumunda olan hayvan sayısının fazla olması sonucu sürüde virus sirkülasyonunun devamlı olmasından (160) kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ek olarak BRSV maternal antikorlarının etkenin replikasyonunu ve saçılmasını önleyemediği (20), maternal antikor titresi yüksek olan hayvanlarda da enfeksiyonun gerçekleştiği (34), enfeksiyonun subklinik olarak sürü içerisinde kalabileceği, re-enfeksiyonlarla sıkça karşılaşabileceği ve seropozitif buzağılarda da enfeksiyon şekillenebileceği gösterilmiştir (20). Ek olarak kazanılmış bağışıklık sonrası BRSV'ye karşı oluşan antikorların re-enfeksiyon olmadan yıllar sonra bile tespit edilebildiği gösterilmiştir (151, 161). Dolayısıyla tespit edilen antikorların daha önce geçirilmiş bir enfeksiyondan dolayı kazanılmış bağışıklıktan ileri gelebileceği de unutulmamalıdır.

Toplam aşısız popülasyona ait seropozitif buzağı sayısı (Şekil-57) ve antikor titresi geometrik ortalama grafiği incelendiğinde (Şekil-58) BRSV'nin tüm aylarda %96'nin üzerinde seropozitivite ve bununla birlikte diğer etkenlerle kıyasladığında daha yüksek antikor titresi ile seyrettiği açıkça görülmektedir. Elvander'in (161) çalışmasında da serokonverte buzağı sayısının PI-3, BVDV ve BCoV enfeksiyonlarına kıyasla en fazla BRSV enfeksiyonunda olduğu görülmüştür. Dolayısıyla bu çalışmada BRSV ile ilgili elde edilen veriler daha önce Elvander (161) tarafından bildirilen verileri desteklemektedir. Yine aynı çalışmada akut BRSV salgınlarında risk altındaki popülasyonda yer alan özellikle yetişkin sığırlar ile gebe ya da yeni doğum yapmış ineklerin daha ağır hastalık

tabloları sergiledikleri görülmüştür. Daha sonra enfeksiyonun genç hayvanlar üzerinden endemik olarak sürü içerisinde kaldığı bildirilmiştir. Buna göre PI-3, BHV-1, BVDV, BAV-3 ve BCoV'un sığır solunum sistemi hastalıkları kompleksi için direkt risk faktörü olmayabileceği, esas etkenin BRSV olduğu ve diğer etkenlerin ise sığır solunum yolu hastalıkları kompleksine katkıda bulunduğu Raaperi ve arkadaşlarının çalışmasına (162) paralel olarak söylenebilmektedir. PI-3 ve BVDV'nin immunsupresyon mekanizmaları sayesinde çok etkenli solunum sistemi enfeksiyonlarına ve bu enfeksiyonların şiddetinin artmasına neden olduğu ve bu şekilde ana etken olarak değil de hazırlayıcı etkenler olarak değerlendirilebilecekleri düşünülmektedir (4, 163). Diğer taraftan örneklenen tüm buzağı popülasyonu dikkate alındığında (Şekil-57) seropozitif buzağı sayıları bakımından PI-3 ve BVDV enfeksiyonlarının benzer bir seyir izlediği anlaşılmaktadır.

Bu araştırmada ele alınan etkenlerin bulaşma stratejilerine bağlı olarak örneklenen popülasyondaki yaygınlıkları da değerlendirilebilir. Örneğin; BVDV, BHV-1 ve BRSV'nin deneysel olarak hava yolu ile yayılabildiği gösterilmiştir (164). Fakat BCoV için Ohlson ve arkadaşlarının (165) yaptığı çalışmada yakın mesafedeki sürülerin bir kısmı BCoV pozitif çıkarken, bir kısmıysa BCoV negatif çıkmıştır. Dolayısıyla hava yolu ile bulaşmanın BCoV epidemiyolojisinde geçerli olmayabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada da BCoV'la ilgili olarak destekleyici veriler elde edilmiştir. BCoV ile ilgili olarak tespit edilen seropozitifliklerin muhtemel bir nedeninin de erken yaşam dönemlerinde geçirilen gastrointestinal enfeksiyonlar olabileceği göz ardı edilmemelidir. Maternal antikörlerin zamana bağlı olarak gerilemesine uyumlu olarak BCoV yönünden seropozitif buzağı sayısının düzenli azaldığı (Şekil-57) ve yeni/ani bir artış göstermediği anlaşılmaktadır. Paralel olarak antikör titre değerleri de gerileme göstermiştir.

BRSV, PI-3, BHV-1 ve BAV-3 enfeksiyonları için örnekleme 8. ayında; BVDV ve BCoV için ise örnekleme 6. ayında seropozitif buzağı sayısında artış olduğu tespit edilmiştir. Bu ayların diğer çalışmalarda (20, 166) olduğu gibi kış sezonuna denk geldiği görülmüştür. Buna uyumlu olarak klinik belirtilerin görüldüğü 80 hayvandan alınan svab örneklerinin mevsimsel dağılımının; ilkbaharda %1.25, yaz aylarında %27.5, sonbaharda % 36.25 ve kış aylarında %35 şeklinde olduğu belirlenmiştir. Bu durum özellikle yaz, sonbahar ve kış aylarının solunum sistemi hastalıkları için risk faktörü olduğunu teyit etmektedir ( $p<0.001$ ).

Klinik olgulardan virus tespiti için alınan svablar içinde BVDV pozitif sonuç veren örneklerin yarısının kış aylarına diğer yarısının ise yaz aylarına denk geldiği görülmüştür. Yine seropozitif buzağı sayısına bakarak buzağuların 8-10 aylık yaşlar arasında BRSV, PI-3, ve BCoV virüsleri ile enfeksiyona yakalandığı ve bu sonucun Hägglund ve arkadaşlarının (7) yaptığı çalışmaya paralel olduğu görülmüştür. Birçok çalışmada (20, 37, 166) buzağuların muhtemelen 9 aylık yaşta BRSV ve PI-3'e yakalandıkları gösterilmiştir. Ayrıca örnekleme 8. ayında tüm enfeksiyonlar için seropozitif buzağı sayısında artış olması incelenen tüm etkenlerin aynı anda popülasyon içinde doğal olarak sirküle olduğunu göstermektedir.

Örneklenen aşısız popülasyon ele alındığında diğer 4 etkenden (BRSV, BHV-1, BAV-3, BCoV) farklı olarak BVDV'ye yönelik seropozitif buzağı sayısının ve ortalama antikor titresinin 2. ayda arttığı görülmüştür (Şekil-57 ve -58). BVDV'ye karşı gelişen antikor yanıtının enfeksiyonu takiben 2-3 hafta içerisinde tespit edilebilecek düzeye geldiği bilinmektedir (167). Bu durum maternal antikorların yanında erken dönem enfeksiyonlarından kaynaklanan antikor yükselmesinin de olabileceğini göstermiştir. Dolayısıyla doğumu takiben erken dönemlerdeki buzağular arasında BVD virusunun sirkülasyon halinde olabileceği veya intrauterin enfeksiyon gerçekleştirmiş olabileceğine işaret etmektedir. Doğal olarak 1. ayda tespit edilen antikorların bir bölümünün maternal kaynaklı olmayabileceği de değerlendirilebilir.

PI-3 için de 2. ayda seropozitif buzağı sayısının arttığı fakat BVDV'den farklı olarak ortalama antikor titre değerinin azaldığı görülmüştür (Şekil-57 ve 58). Burada da erken dönem enfeksiyonlarının varlığı akla gelmektedir. PI-3 için ortalama antikor titresindeki azalmanın ise enfekte olan buzağularda düşük titrede antikor yanıtının gelişmesinden ve aynı zamanda maternal antikorlarda yüksek oranda yıkımlanmanın meydana gelmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Antikor titrelerinin geometrik ortalamaları incelendiğinde (Şekil-58) BRSV'nin tüm örnekleme dönemlerinde yüksek titrede antikor varlığı ile seyrettiği görülmüştür. PI-3, BVDV ve BCoV etkenlerine karşı buzağulardaki antikorların 4. ayda, BAV-3'e karşı 6. ayda en düşük seviyeye ulaştığı, BHV-1 için ise tüm örnekleme dönemlerinde çok düşük bir antikor titre ortalaması şekillendiği tespit edilmiştir. Bu süreç içinde enfekte olan buzağular olsa da geometrik ortalamaların düşmesine esasen maternal antikorların hızlı yıkımlanmasının neden olduğu değerlendirilmiştir. Maternal antikor miktarının annelerin



bağışıklık durumuna, kolostrum kalitesine ve kolostrum miktarına bağlı olarak değişmekle birlikte BRSV, PI-3, BHV-1 ve BVDV için maternal antikorların tespit edilemeyecek seviyeye gelmesinin 6 aya kadar sürebildiği birçok çalışmada gösterilmiştir (160, 168-172). Bu çalışmada her ne kadar tüm örnekleme dönemlerinde tespit edilebilir düzeylerde ortalama antikor titresini görülsede bu titrelerin özellikle 3. aydan itibaren çok düşük düzeylere gerilediği görülmektedir. BHV-1'e karşı ise seropozitif buzağı sayısının diğer etkenlere göre az olmasıyla birlikte 1. ay dâhil olmak üzere örnekleme her döneminde antikor titrelerinin geometrik ortalama değerlerinin oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla BHV-1'e yönelik maternal antikorlara ilişkin yorum yapılması sağlıklı olmayacaktır. Bu durumun bireysel olarak örneklenen buzağuların etkene yönelik düşük titrede antikor taşımamasından ve tüm örnekleme süresince seropozitif buzağı sayısının oldukça sınırlı olmasından kaynaklandığı değerlendirilmektedir.

Örneklenen buzağuların annelerinin bir kısmı BAV-3 dışındaki virüslere karşı aşılanmış olduğundan annelerin verilerine bakılarak bu virüsler için değerlendirme yapma imkânı yoktur. Ancak antikor varlığına ve titre değerlerine bakılarak BAV-3'ün anne popülasyonunda doğal olarak sirküle olduğu söylenebilir (Şekil-59 ve 60).

Örneklenen aşısız buzağı popülasyonunda elde edilen veriler kullanılarak büyük, orta ve küçük ölçekli işletmeler için ayrı ayrı değerlendirme yapmak mümkün olmuştur. Buna göre; büyük ölçekli işletmelerde tüm etkenlerin sürü içerisinde doğal olarak sirküle olduğu seropozitif buzağı sayısındaki ve ortalama antikor titrelerindeki değişime (Şekil 45 ve 46) bakılarak söylenebilmektedir. BRSV ve BCoV için 10. ve 12. aylar arasında antikor taşıyan buzağı sayısının stabil hale gelmesinden dolayı bu dönemde sürü bağışıklığının sağlandığı değerlendirilmiştir. Büyük ölçekli işletmeler içinde yer alan İşletme 1 ve 2'de annelere BVDV tip 1 ve tip 2, BHV-1 ve BCoV'a, İşletme 3 ve 4'te ise BVDV tip 1 ve tip 2, BHV-1, BRSV, PI-3 ve BCoV'a yönelik aşı uygulandığından annelerin bu etkenlere karşı taşıdığı antikorların aşı kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Şekil 47 ve 48). Dolayısıyla annelerden elde edilen veriler sadece BAV-3'ün sürü içerisinde doğal olarak sirküle olduğunu desteklemektedir.

Orta ölçekli işletmelerde seropozitif buzağı sayısındaki ve ortalama antikor titrelerindeki değişime bakıldığında (Şekil-49 ve 50) BHV-1 hariç diğer 5 enfeksiyonun sürü içerisinde doğal olarak sirküle olduğu görülmektedir. BRSV, PI-3, BVDV ve BCoV için 8. ve 12. aylar arasında antikor taşıyan buzağuların sayısının sabitlenmesinden dolayı

sürü bağışıklığının sağlandığı görülmektedir. Büyük ölçekli işletmelerden (Şekil-45) farklı olarak orta ölçekli işletmelerde BHV-1 antikoru tespit edilen buzağı sayısının zamanla sıfırlandığı görülmektedir. Bu durum söz konusu işletmelerde BHV-1 sirkülasyonunun çok sınırlı düzeyde olduğunu teyit etmektedir. Orta ölçekli işletme grubunda yer alan İşletme 5 ve 6'da annelere enterik BCoV'a yönelik aşı uygulanmıştır. Dolayısıyla annelerin serumları incelendiğinde elde edilen tablodaki BCoV antikorlarının aşından mı yoksa doğal enfeksiyondan mı kaynaklandığı ayırt edilememektedir (Şekil-51 ve 52). Anne ve buzağuların test sonuçları birlikte incelendiğinde ise BHV-1 hariç diğer enfeksiyonların doğal olarak sirküle olduğu görülmektedir.

Küçük ölçekli işletmelerde ise hiçbir hayvana aşı uygulanmadığı için tüm etkenlerin bu işletmelerde doğal olarak sirküle olduğu değerlendirilmiştir (Şekil-53 ve 54). BRSV'ye karşı artan ve azalan titre değerlerinde antikor seyri görüldüğünden seropozitif hayvan sayısı sabit olsa bile enfeksiyonun sürü içerisinde seropozitif hayvanlar arasında sirküle olabildiğini göstermektedir. Bu durum antikor varlığının hayvanlarda tekrar BRSV enfeksiyonu gelişmesini engelleyemediğine işaret etmektedir. Bu grupta yer alan işletmelerin hiçbirisinde annelere aşı uygulanmamıştır. Dolayısıyla BHV-1 hariç diğer 5 enfeksiyonun sürü içerisinde doğal olarak seyrettiği annelere ait grafiklerden de (Şekil-55 ve 56) anlaşılmaktadır.

Bu araştırmada elde edilen verilere bakıldığında muhtemel re-enfeksiyon tabloları çalışma boyunca açıkça izlenebilmektedir. Örneğin; İşletme 4'te PI-3 yönünden (Şekil-17 ve 18), İşletme 6'da BAV -3 yönünden (Şekil-25 ve 26), İşletme 8'de BVDV ve BCoV yönünden (Şekil-33 ve 34), orta ölçekli işletmelerde BVDV yönünden (Şekil-49 ve 50) ve küçük ölçekli işletmelerde PI-3 yönünden (Şekil-53 ve 54) seropozitif buzağı sayısında ve antikor titrelerinde görülen paralel dalgalanmalar söz konusu etkenlerin sürü içerisinde dolaştığını ve muhtemel re-enfeksiyonlara neden olduğunu göstermektedir. Büyük ölçekli işletmelerde BRSV için seropozitif buzağı sayısındaki dalgalanmanın enfekte olan buzağuların iyileşme süreci ile yeni enfekte olan buzağuların aynı döneme denk gelmesinden kaynaklandığı, dolayısıyla seropozitif buzağı sayısı artarken antikor titrelerinin geometrik ortalamasındaki azalışın (Şekil-45 ve 46) normal olduğu düşünülmüştür.

Annelerin serumlarında yapılan incelemeler sonucunda BHV-1 antikoru tespit edilen anne sayısının işletme 1, 2 ve 4'te düşük olması (Şekil-5, 9, 19) bu işletmelerde BHV-1'e

ilişkin maternal antikor saptanan buzağı sayısının neden az olduğunu açıklamaktadır (Şekil-4, 8, 18). Ek olarak söz konusu işletmelerin annelere yönelik aşılama programı uyguladığı dikkate alındığında her üç işletmenin de annelere uygulanan aşılama ile BHV-1 yönünden istenilen verimi alamadığı anlaşılmaktadır (Şekil-5, 9, 19).

Özetle; elde edilen verilerde görüldüğü üzere toplam popülasyon incelendiğinde seropozitif buzağı sayısının BRSV ve BHV-1 için 2. ayda, PI-3, BVDV, BAV-3 ve BCoV için 3. ayda azaldığı görülürken maternal antikorların BRSV için 2. ayda, PI-3, BVDV, ve BCoV için 4. ayda, BAV-3 için ise 6. ayda en düşük seviyeye ulaştığı, BHV-1'e karşı ise örnekleminin her döneminde sifıra yakın düzeyde antikor tespit edildiği görülmektedir. Buzağuların tüm etkenlere yönelik yeni enfeksiyonlarla 4. ve 8. aylar arasında kalan zaman diliminde karşılaştığı görülmüştür. Bu verilere istinaden söz konusu virüslere yönelik olarak buzağularda ilk aşılamanın 2. ve 3. aylar arasında yapılması ayrıca pasif immunitenin aşı üzerinde yapabileceği olumsuz etkiyi en aza indirmek ve daha güçlü bir bağışıklık sağlayabilmek için 1 ay sonra tekrar dozunun yapılması önerilebilir. Diğer taraftan bazı virüsler için 8.-12. aylar arasında yeniden virus sirkülasyonu olduğu ve seropozitif buzağı sayısının arttığı görülmektedir (Şekil-57). Bu durum 2. aşılama 5-6 ay sonra tekrar bir aşılama yapılabileceğini işaret etmektedir.

### **İşletme Büyüklüklerine Göre Enfeksiyon Görülme Sıklığı**

Bazı yazarlar farklı yaş gruplarında BRSV, BHV-1 ve BVDV için sürü büyüklüğü ile seropozitif hayvan sayısı arasında pozitif yönde ilişki olduğunu savunmaktadır (23, 173-175). Bu tez çalışmasında 1 yaşından küçük buzağularda maternal antikorların gerilemesi ve enfeksiyonların doğal seyrinin belirlenebilmesi açısından işletme büyüklükleri ile enfeksiyonların görülme/yayılma oranlarını değerlendirmekte mümkün olabilmıştır.

Üç grup işletmede seropozitif buzağı sayısının zamana göre değişimi incelendiğinde (Şekil-45, -49, -53) BRSV, BCoV ve BAV-3 enfeksiyonları için işletme grupları arasında her hangi bir fark bulunamamıştır. İstatistiki olarak PI-3 ve BHV-1'in büyük ölçekli işletmelerde, BVDV'nin ise hem büyük hem de orta ölçekli işletmelerde daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir. Ayrıca BVDV'nin büyük ölçekli işletmelere, BCoV'un ise orta ölçekli işletmelere diğer işletme tiplerine kıyasla 1 ay erken girdiği belirlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen veriler ışığında her etken için sürü büyüklüğü ile seropozitif hayvan sayısının paralel olmayabileceği görülmüştür. Bu noktada seropozitif hayvan sayısının sürü büyüklüğü ile ilişkilendirilmesinden çok sürüdeki seronegatif yani duyarlı birey sayısı ve işletmelerin bulunduğu bölgelerdeki enfeksiyonların prevalansı ile ilişkilendirilmesi gerektiği vurgulanmalıdır. Bu konudaki önemli bir diğer unsur da virusun bulaşma yolu ve bireyler arasında yayılma hızıdır.

Sürü büyüklüğü, bir bölgedeki çiftlik-hayvan yoğunluğu, hayvanların birbirleriyle olan direkt temasları ve işletmelere günlük giden ziyaretçi sayısı, biyogüvenlik kurallarının ne kadarının uygulandığı, vb. faktörler enfeksiyonların yayılımlarındaki temel risk faktörleri olarak sıralanabilir. Bu kriterler dikkate alındığında işletme büyüdükçe hayvan sayısı, hayvanların birbirleri ile olan teması ve ziyaretçi sayısı artacağından ana risk faktörü olarak sürü büyüklüğünün ele alınması yanlış bir yaklaşım değildir.

Daha önce yapılan araştırmalarda (23, 175) hayvanlardan bir defa örnek alınarak belirlenen seroprevalans değerleri ile işletme büyüklüğü arasında ilişki kurulmuş ve değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ise örneklenen popülasyon 1 yıl boyunca takip edilerek işletme büyüklükleri ile enfeksiyonla yeni tanışan hayvan sayısı arasında değerlendirme yapılmıştır. Dolayısıyla bu araştırmada tespit edilen farklılıklar olgulara yaklaşım farklılığından kaynaklanmakla birlikte daha geçerli sonuçlar sunabilir.

### **Dişi ve Erkek Buzağılarda Enfeksiyon Görülme Sıklığı**

Araştırma kapsamında ele alınan toplam 94 adet aşısız buzağı popülasyonu içinde 38 adet erkek ve 56 adet dişi buzağı bulunmaktadır. Dolayısıyla araştırılan enfeksiyonların görülme sıklığının cinsiyetler arasında herhangi bir fark taşıyıp-taşımadığının değerlendirilmesi de mümkün olmuştur.

PI-3 enfeksiyonlarının dişilerde daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (176). Bu çalışmada ele alınan popülasyonda yaşamın ilk 1 yıllık döneminde PI-3 enfeksiyonları yönünden gruplar arasında önemli bir fark tespit edilememiş ve etkenin her iki grupta da 8. aydan sonraki dönemde yoğun olarak yeni enfeksiyonlara neden olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırmada Durham ve Hassard'ın (176) çalışmasına zıt olarak BRSV için de iki grup arasında istatistikî fark tespit edilememiştir.

Elde edilen veriler araştırılan enfeksiyonlar arasında yalnızca BHV-1 enfeksiyonunun dişilerde istatistiki olarak daha fazla görüldüğüne işaret etmektedir (p=0.0051). Durham ve Hassard'ın (176) çalışmasında da küçük bir farkla da olsa 4-10 aylık buzağular arasında dişilerdeki prevalansın daha yüksek olduğu görülmektedir.

Bazı çalışmalarda BVDV enfeksiyonu için cinsiyetler arasında herhangi bir fark tespit edilemezken (175), Durham ve Hassard (176) 4-10 aylık buzağular içinde dişilerde daha yüksek seroprevalans değeri saptadıklarını bildirmiştir. Bu çalışmada BVDV enfeksiyonunun her iki grupta da benzer sıklıkta görüldüğü fakat etkenin seropozitif erkek buzağı sayısında sadece 2. ayda, seropozitif dişi buzağı sayısında ise 6-10. aylar arasında olmak üzere daha geç yükselişe neden olduğu görülmüştür.

BAV-3'e karşı mevcut maternal antikoların erkek buzağularda daha hızlı gerilediği, etkenin erkeklerde 6. aydan, dişilerde ise 8. aydan sonra yoğun olarak enfeksiyona neden olduğu ve enfeksiyonun dişi buzağular arasında yayılım hızının daha fazla olduğu görülmüştür.

BCoV'un ise dişileri 8. ay, erkekleri ise 10. aydan sonra daha yoğun olarak enfekte ettiği ve yayılım hızının dişilerde daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada BHV-1 hariç diğer etkenlerin oluşturdukları enfeksiyonların cinsiyetler arasında istatistiki açıdan önemli herhangi bir fark taşımadığı tespit edilmiştir. BHV-1'in ise dişilerde yüksek oranda görülebileceği belirlenmiştir. Şüphesiz ki işletmelerdeki dişi hayvan sayısı, erkek-dişi bireylerin ayrılması, bakım-korunma, vb. uygulamalar bu oranlar üzerine etki yaratabilecek faktörlerdir.

### **Aşılı ve Aşısız Buzağularda Enfeksiyon Görülme Sıklığı**

İncelenen enfeksiyonların doğal seyri izlendiği bu çalışmada toplam popülasyondan ayrı olarak incelenmesi gereken aşılı buzağuların yer aldığı İşletme 3'te dişi buzağulara 4 aylık yaşlarında BVDV tip 1, tip 2, BRSV, PI-3 ve BHV-1 etkenlerini içeren kombine aşı uygulanmıştır. İstatistiki analiz sonucunda aşılı ve aşısız buzağular arasında, enfeksiyonla yeni tanışan buzağı sayıları temel alındığında, incelenen tüm enfeksiyonlar yönünden önemli herhangi bir fark saptanamamıştır.

Aşılama sonrası BHV-1 ve BVDV yönünden seropozitif hayvan sayısındaki azalışın hızlandığı görülmektedir (Şekil-11). Elde edilen antikor titrelerinin geometrik ortalamaları incelendiğinde (Şekil-12), aşılamaı takip eden süreçte aşının içinde yer alan tüm etkenlere yönelik antikor titre ortalamalarında azalma şekillenmiştir. Bu durumun maternal antikorların varlığı sırasında aşı ile oluşması beklenen aktif immunitenin baskılanmasından ve aşının kısa süre içinde tekrar dozunun yapılmaması ile aktif bağışıklığın uyarılmamasından kaynaklanabileceği şeklinde değerlendirilebilir (46, 168, 169, 177). Aşı uygulamasıyla arzu edilen bağışıklık düzeylerinin elde edilememe sebepleri olarak aşının muhafaza, nakil ve uygulama koşulları da göz ardı edilmemesi gereken faktörlerdir.

### **Buzağılara Maternal Antikor Geçişi**

Sığırlarda plasenta yapısı nedeniyle anne karnında iken buzağıya antikor geçişi söz konusu değildir. Dolayısıyla buzağılar maternal antikorları ancak doğumdan sonraki ilk 12 saat içinde kolostrum ile alabilmektedir (178-180).

Maternal antikor geçişinin değerlendirilmesinde bireysel olarak anne ve yavruda (1. ay) elde edilen antikor titre değerlerinin korelasyonuna bakılmıştır. Bu çalışmada kolostral antikorların yavruya geçişi bireysel veriler üzerinden incelendiğinde BRSV, PI-3, BHV-1, BVDV ve BAV-3 için pozitif yönde anlamlı bir korelasyon olduğu saptanmıştır.

BCoV antikorları için ortalamalar açısından yüksek değerler görülse de (Şekil-58 ve 60) bireysel olarak anneler ve buzağılardaki antikor titre değerleri arasında korelasyon saptanamamıştır. Bu durumun muhtemel sebeplerinden birisi BCoV'a karşı gebeliğin son dönemlerinde aşılama yapılarak antikor titresinin artırılması ve kolostrumla geçen antikor miktarının yükseltilmesi olabilir. Bu durumda annedeki antikor titresi doğum sonrası dönemde hızla gerilemekte ancak buzağılardaki maternal antikor yıkımlanması normal seyrini izlemektedir.

## **Virolojik Çalışmalar**

### **ELISA ve İmmunoperoksidaz Testi**

Tez kapsamında yer alan virolojik çalışmalar antijen ELISA kitleri (dörtlü antijen ELISA, BVDV antijen ELISA, BHV-1 antijen ELISA), virus izolasyonu ve takiben immunoperoksidaz testi olmak üzere 3 farklı yöntem kullanılarak yürütülmüştür. Dörtlü antijen ELISA ile test edilen 137 adet örnekten sadece 1 adet doku örneği pozitif sonuç vermiştir. Ancak BVDV antijeni yönünden pozitif olabileceğinden şüphe duyulan farklı bir örneğin BVDV antijen ELISA kiti ile test edilmesiyle pozitif sonuç alınması tüm örnekleri bir defa da BVDV antijen ELISA kitiyle tarama gerekliliğini doğurmuştur. Dörtlü antijen ELISA kitinin sonuçları ile BVDV antijen ELISA kitinin sonuçları arasındaki uyumsuzluğun örnekleme sırasında virus saçılımının az olmasına bağlı olarak kitin duyarlılığının düşük olmasından ya da kit üretiminde problem olmasından kaynaklanabileceği şeklinde değerlendirilmiştir. Bu olasılıklar dikkate alınarak yine dörtlü antijen ELISA kiti içeriğinde yer alan etkenlerden ve tek etkene yönelik üretimi gerçekleştirilen bir diğer kit olan BHV-1 yönünden de tekli antijen ELISA kiti kullanılarak tüm örnekler test edilmiştir. Bu test sonucunda da tüm örneklerin BHV-1 antijeni yönünden negatif olduğu saptanmıştır.

Örnekleme sürecinde hem çalışma kapsamında yer alan hem de çalışma kapsamında olmayan işletmelerdeki solunum yolu enfeksiyonu klinik belirtileri gösteren buzağılardan svab örnekleri temin edilmiştir. Burun ve göz akıntısı görülen hayvanlarda her iki bölgeden svab örneği alınırken sadece burun akıntısı görülen hayvanlardan yalnız burun svabı örnekleri alınmıştır. Bu kapsamda toplam 80 adet burun svabı ve bu hayvanların 18 adedinden de göz svabı örneklendirilmiştir. Değişik zamanlarda klinik bulgu göstermesi sebebiyle bir kereden fazla örneklenen hayvanlar (4 hayvan) toplamdan çıkarıldığında çalışma süresince 76 adet buzağının solunum yolu enfeksiyonu klinik belirtileri gösterdiği görülmektedir. Bu hayvanlar içinde 12 tanesinin (%15.78) ve mezbahadan toplanan 39 adet akciğer dokusundan ise 7 tanesinin (%17.94) BVDV antijenleri yönünden pozitif olduğu tespit edilmiştir. Örneklenen her üç materyalde de (burun svabı, göz svabı, akciğer) BVDV antijeni saptanması (Tablo-11) rutin teşhis çalışmalarında bu örneklerin uygun teşhis materyalleri olduğunu teyit etmektedir.

Tablo-11’de görüldüğü üzere direkt numuneden yapılan ELISA, immunoperoksidaz ve 3. kör pasaj üst sıvısından yapılan ELISA sonuçları arasında bir takım uyumsuzluklar ortaya çıkmıştır. Her üç testte pozitif sonuç veren 2 örnekte hücrede üreme yeteneğine sahip enfektif virionların yoğun miktarda olduğu anlaşılmaktadır. Direkt numuneden yapılan ELISA’da pozitif, immunoperoksidaz testinde negatif sonuç veren 12 örnekte ise hücrede üreme yeteneğine sahip olmayan virusların (inaktif ya da defektif virus partikülleri) varlığı düşünülebilir. Direkt numuneden yapılan ELISA’da negatif, immunoperoksidaz testinde ise pozitif sonuç veren 8 örnekte hücre kültürlerinde üreyebilen enfektif virus partiküllerinin olduğu anlaşılmaktadır. Bu durum orijinal örnekte çok az sayıda virus bulunması nedeniyle virusun ELISA’da saptanamayabileceği ancak hücrede kültüre edildikten sonra immunoperoksidaz testi ile enfekte hücrelerin tespit edilebilmesiyle açıklanabilir. Nitekim 3 kör pasaj işlemini takiben uygulanan immunoperoksidaz testinde oldukça sınırlı sayıda enfekte hücrenin tespit edilmesi de bu yaklaşımı doğrular niteliktedir (181).

Virolojik çalışmalarda immunoperoksidaz testinde pozitif sonuç alınmasına karşın gerek orijinal örneğe gerekse 3. kör pasaj üst sıvısına uygulanan ELISA’da negatif sonuç veren 3 örnek saptanmıştır. Normal koşullar altında beklenmeyen bir tablo olduğu için sonuçları teyit edebilmek amacıyla hem immunoperoksidaz testi, hem de BVDV antijen ELISA birer kere daha tekrarlanmış ve aynı sonuçlar elde edilmiştir. Her iki immunoperoksidaz testinde de enfekte hücre sayısının oldukça az olduğu görülmüştür (Şekil-63C). Virus izolasyonu ve takiben uygulanan immunoperoksidaz testinin BVD virus tespitine yönelik olarak oldukça duyarlı bir yöntem olduğu daha önce gösterilmiştir (181). Bu noktada BVDV antijen ELISA kitinin çok az sayıda virus partikülü bulunan durumlarda yeterli performans gösterememesi söz konusu olabilir. Diğer taraftan ELISA kitinde kullanılan monoklonal antikor yapısal bir protein olan ( $E^{ms}$ ) glikoproteinine spesifite göstermektedir. Yapısal proteinlerde meydana gelen mutasyonlar saha suşları açısından oldukça önemli bir konudur (182). Bu tür değişimler virus suşlarının farklılaşması yanında teşhis faaliyetlerini olumsuz etkilemekte ve teşhis kitlerinin duyarlılığını da azaltabilmektedir (182, 183). Bu tez çalışmasında uygulanan immunoperoksidaz testinde kullanılan monoklonal antikor süspansiyonu yapısal olmayan bir protein olan NS3’e karşı üretilmiş 3 farklı monoklonal antikorun (1/4/7) birleştirilmesiyle elde edilmiş ve tüm pestivirus gruplarını tanıyabildiği gösterilmiştir (155). Dolayısıyla kullanılan ELISA kitinin teşhis kapasitesinin test edilen örneklerde



bulunan yerel BVDV suşlarının tespitinde yetersiz kalabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu konunun daha fazla sayıda virus suşu ve/veya saha örneğiyle ayrıca değerlendirilmesi yararlı olabilir. Bunlara ek olarak günümüzde BVD virusunun tespiti için kullanılan ELISA kitlerinin ağırlıklı olarak persiste enfeksiyon tespitine yönelik olduğu ve akut enfeksiyonların tespitinde yetersiz kalabildiği de bazı araştırmacılar tarafından dile getirilmektedir (184). Birçok çalışmada ELISA'nın güvenilir sonuçlar verdiği bildirilmiş olsa da (185, 186) bu tez çalışmasında elde edilen bulgular teşhis faaliyetlerinde ELISA sonuçlarının tek başına yeterli olamayabileceğini ve virus izolasyonu - immunoperoksidaz testi uygulamalarıyla desteklenmesinin yararlı olacağını göstermektedir

Bu çalışmada uygulanan ELISA protokolleri ve virus izolasyonu çalışmalarıyla bazı örneklerde BVDV saptanırken diğer solunum sistemi viruslarının tespiti yapılamamıştır. Bu durumu yaratan başlıca sebep uygulanan teşhis yöntemlerinin sınırlandırıcı etkisi olabilir. Sığır solunum sistemi enfeksiyonlarına yol açan npe BVDV dışındaki virusların tamamı sitopatojenik niteliktedir. Bu çalışmada uygulanan virus izolasyonu çalışmalarında hiçbir örneğin ekildiği hücre kültürlerinde cpe tespit edilememiştir. Başta BRSV ve PI-3 olmak üzere solunum sistemi enfeksiyonlarına yol açan virusların çevre şartlarına aşırı duyarlı olduğu ve kısa sürede enfektivitesini kaybedebildiği bilinmektedir (187). Dolayısıyla virus izolasyonu çalışmalarında BVDV dışındaki viruslar için pozitif sonuç alınmaması örneklerde virus bulunmamasından kaynaklanabileceği gibi bu örneklerdeki virusların kolaylıkla inaktive olmasından da kaynaklanmış olabilir. Bu tür örneklerle yapılan teşhis çalışmalarında direkt olarak doku hücrelerine uygulanacak immunohistokimyasal testler (187) ve PCR protokollerinin (187) de duyarlı sonuçlar verebileceğini göz önünde bulundurmak gerekir.

### **Persiste Enfeksiyon Tespiti**

İşletme 2'de bir buzağıdan 4 ay ara ile alınan svab örneklerinde ELISA kiti ile BVDV'nin tespit edilmesi, bu hayvanla aynı işletmede yer alan farklı 2 buzağının daha svab örneklerinin aynı test ile pozitif sonuç vermesi ve 1 buzağıda yaşitlarına göre gelişim geriliği gözlemlenmesi (Şekil-61) işletmede muhtemel persiste enfeksiyon varlığını düşündürmüştür. Yapılan testler sonucu 3 buzağının BVDV ile PE olduğu belirlenmiş ve bu buzağılardan birinin annesinde de BVDV enfeksiyonu tespit edilmiştir (Tablo-10).

Ancak annenin persiste enfeksiyon konumu mevcut verilerimizle kesin olarak teyit edilememiştir.

PE buzağuların tüm serum örneklerinde ELISA ile BVDV antijen varlığı tespit edilmiştir (Tablo-10). Buna istinaden 3 buzağının aylık BVDV antikor titreleri incelendiğinde 1. ay örneklerinde 1:640, 1:160 ve 0 titre değerleri görülürken takip eden aylardaki örneklemelerde sadece bir buzağıda antikor varlığı saptanmıştır. PE buzağular yaşam boyunca virolojik testlerde pozitif sonuç verirken genel olarak BVDV antikorları yönünden negatif konumdadırlar (188). PE 2 buzağıda (1026 ve 42) tespit edilen antikor titreleri anneden kaynaklanan maternal antikorlardır ve 3. ay itibariyle kaybolduğu görülmektedir. Nadir durumlarda da olsa PE hayvanlarda antikor gelişimi görüldüğü ve buna persiste enfeksiyonu oluşturan virus suşundan farklı (heterolog) bir BVDV suşuyla gerçekleşen enfeksiyonların neden olduğu gösterilmiştir (189). Bu araştırmada PE olduğu belirlenen 16 nolu buzağıda yaşamının 2. ayından itibaren BVDV antikorları tespit edilmeye başlanmıştır. Elde edilen bu bulgu BVDV ile PE buzağuların diğer bireyler gibi yaşamın erken dönemlerinde heterolog virus suşlarıyla gerçekleşecek enfeksiyonlara açık olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan heterolog bir suşa karşı antikor yanıtının gelişmesinin PE bireylerden virus saçılımını veya kanlarında virus tespitini engellemediği de anlaşılmaktadır. Ancak bu araştırmada elde edilen veriler PE bireylerden saçılan veya kanlarında bulunan virus miktarının değişip değişmediği hakkında fikir yürütmeye yeterli değildir.

İşletmedeki 16 nolu PE buzağının annesinde tek serum örneğinde çalışma yapılmış olması sebebiyle ve 1:640 titre değerinde antikor varlığı tespit edildiğinden annenin persiste enfeksiyon durumu ile ilgili kesin bir değerlendirme yapılamamıştır (Tablo-10).

Yapılan bir çalışmada PE hayvanlarda BVDV maternal antikorlarının 3. aydan sonra tespit edilemediği, PE olmayan hayvanlarda ise maternal antikorların 8. aya kadar görülebildiği belirtilmektedir (175). Bu tez çalışmasında sadece PE buzağılarda değil aynı işletmede doğan 15 buzağının tümünde maternal antikorların erken gerileyebildiği görülmüştür. Dolayısıyla buradaki farkın annelerin bağışıklık durumundan yani kolostrum kalitesinden ya da kolosturumun içiriliş zamanından ileri gelme ihtimalinin daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır.

Bir popülasyonda PE hayvan sayısının genellikle %0.5-2 arasında olması beklenirken (113, 114, 190-192), Taylor ve arkadaşlarının (193) çalışmasında olduğu gibi yüksek oranlara da rastlanabilmektedir. Bu çalışmada saptanan persiste enfeksiyon oranının %2.67 olması (3:112 buzağı) diğer çalışmalarla uyumlu iken, PE buzağuların tek bir işletmede olması nedeniyle bu işletmeden örneklenen popülasyona göre persiste enfeksiyon oranının daha yüksek (%10.34) olduğu görülmektedir. Bu durum söz konusu işletmede BVD virusunun belirli bir dönemde sirküle olduğu ve o dönemde gebeliğin ilk 90 gününde olan ineklerin yavrularında yüksek oranda persiste enfeksiyon riski yarattığını göstermektedir.

Bu araştırmada serolojik incelemeler için örneklenen serumlar serum nötralizasyon testinde kullanılmak üzere 56°C'de 30 dk boyunca su banyosunda inaktive edilmiştir. İlerleyen aşamalarda virolojik çalışmalarda bazı buzağularda persiste enfeksiyon şüphesi ortaya çıktığında bu hayvanlara ait serum örnekleri hem antijen ELISA hem de virus izolasyonuna alınmıştır. Bu hayvanların serum örnekleri uygulanan tüm ELISA kitleri ile pozitif sonuç vermiş, 2 hayvanın birer örneğinde ise ncp BVDV izolasyonu yapılmıştır. Bu durum muhtemelen serumlara uygulanan inaktivasyon işleminin antijen ELISA kitinin performansı üzerine olumsuz etki yaratmadığını göstermektedir. Diğer taraftan inaktivasyon işleminin BVD virusunun etkinliğini tamamen ortadan kaldırmaya yeterli olamayacağı da ortaya çıkarılmış bulunmaktadır. Bu veriler BVDV'nin çevresel şartlara nispeten daha dayanıklı olduğu ve tam olarak virus inaktivasyonu için uzun süreli ve yüksek ısı uygulanması gerekliliğini (194, 195) desteklemektedir.

## **Sonuç**

Sığırların vücutlarına oranla akciğerlerinin küçük ve segmentli olması, kollateral ventilasyonun olmaması ve bağ dokunun fazla olması gibi anatomik ve fizyolojik nedenler bu hayvanlarda solunum yolu enfeksiyonlarına yatkınlığa neden olmaktadır (196). Bu nedenle sığır solunum sistemi enfeksiyonlarında korunmaya yönelik uygulamalar öncelik taşımaktadır. Bu araştırmada elde edilen sonuçlara göre; buzağularda başta BRSV ve PI-3 olmak üzere sığır solunum sistemi viruslarına karşı oluşan kolostral bağışıklık son derece kısa sürelidir ve yaşamın 1. - 2. aylarından itibaren hızla gerilemektedir. Bu durum

buzağuları yeni enfeksiyon riskiyle erken dönemde karşı karşıya bırakmakta ve yaşamın ilk aylarından başlayarak bireyler yeni enfeksiyonlara maruz kalmaktadır.

Sonuç olarak BRSV, PI-3, BVDV, BAV-3 ve BCoV'un buzağuları erken yaşta enfekte ettiği ve sürüdeki seronegatif buzağuların yıl boyunca enfeksiyonun sirkülasyonunda rol oynadığı belirlenmiştir. Bunun yanında incelenen etkenlerden BHV-1 dışındakilere ilişkin yüksek seropozitiflik değerlerinin önceki çalışmalarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir. İncelen işletmelerde BHV-1'in buzağular arasında diğer enfeksiyonlardan farklı bir seyir izlediği açıkça ortaya konulmuştur. Bu kapsamda sığırcılık işletmelerinde BHV-1 epidemiyolojisinin ayrıca ele alınması daha doğru bir yaklaşım olacaktır.

Bu araştırmada elde edilen verilere göre toplam popülasyon incelendiğinde seropozitif buzağı sayısının BRSV ve BHV-1 için 2. ayda, PI-3, BVDV, BAV-3 ve BCoV için 3. ayda azaldığı görülürken maternal antikorların BRSV için 2. ayda, PI-3, BVDV, ve BCoV için 4. ayda, BAV-3 içinse 6. ayda en düşük seviyeye ulaştığı, BHV-1'e karşı ise örneklemenin her döneminde sifıra yakın düzeyde antikor tespit edildiği görülmektedir. Ancak işletmeler hatta buzağular bireysel olarak incelendiğinde her etken için maternal antikor gerileme zamanının ve buzağuların etkene maruz kalma zamanının farklı olabildiği görülmektedir. Bu farklılık annenin antikor düzeyi, kolostrum kalitesi, kolostrumun veriliş zamanı ve miktarı, maternal antikorların yıkımlanma süresi ile birlikte bakım ve beslenme koşulları gibi indirekt etkilerden de ileri gelebilmektedir. Buzağular için ilk aşılama yaşının belirlenmesinde bütün bu faktörlerinde dikkate alınması zorunlu görülmektedir. Bu araştırmada elde edilen veriler ışığında optimum aşılama zamanının 2. ayda başlaması önerilebilir. Ancak yukarıda sıralanan faktörler de göz önüne alınarak işletme bazında değerlendirmelerin yapılması daha sağlıklı sonuçlar doğuracaktır.

Yukarıdaki bilgiler ışığında bu araştırmada ulaşılan sonuçları aşağıdaki şekilde sıralamak mümkündür:

1. Buzağularda kolostrumla alınan maternal antikorlar 2. aydan itibaren gerilemeye başlamaktadır.
2. Buzağular yeni viral enfeksiyonlarla büyük oranda 4.-8. aylarda karşılaşmaktadır.

3. BVDV ve PI-3 enfeksiyonları yaşamın çok erken dönemlerinde de (1. ay) gerçekleşebilmektedir.
4. İlk aşılamanın 2.-4. aylar arasında yapılması ve pasif immunitenin aşı üzerinde yapabileceği olumsuz etkiyi en aza indirmek için 1 ay sonra tekrar dozunun yapılması yararlı olacaktır.
5. PI-3, BHV-1 ve BAV-3'e karşı seropozitif buzağı sayısının 12. ayda tekrar arttığı izlenmiştir. Bu nedenle 2. aşılamadan 6 ay sonra tekrar aşılama yapılması işletme bazında hastalık kontrolü açısından yararlı olabilir.
6. Maternal bağışıklık düzeyini ve süresini uzatabilmek amacıyla doğum öncesinde annelere aşılama uygulaması yararlı olabilir.
7. Her işletme için risk faktörleri dikkate alınarak özel aşılama programları yapılmalıdır.
8. İşletmelerde özellikle BHV-1 ve BVDV gibi persiste seyirli enfeksiyonlar için uygun mücadele ve ayıklama çalışmaları yapılmalıdır.
9. Solunum sistemi enfeksiyonlarında virolojik teşhis çalışmaları yapılırken birden fazla teşhis yönteminin uygulanması daha başarılı sonuçlar doğurmaktadır.

**Bilgi Formu (Risk Faktörleri Değerlendirmesi)**

Vet. Hek. Pelin TUNCER

1. İşletmeye girişte dezenfeksiyon havuzu var mı?

Evet

Hayır

2. İşletmedeki sürü yeni mi oluşturulmuş yoksa en az iki yavru alınmış bir sürü mü?

.....

3. Sürüye dışarıdan hayvan alınıyor mu? Alınıyorsa hangi enfeksiyonlar yönünden test ediliyor?

.....

Evet

Hayır

4. Karantina bölümü var mı?

Var

Yok

5. Çiftliğin kendi veteriner hekimi var mı?

Evet

Hayır

6. Dışarıdan hekim geliyorsa ne kadar sıklıkta geliyor?

.....

7. Çiftliğe dışarıdan gelen ziyaretçi (yem arabası, veteriner hekim) çok mu? (Aylık ortalama bir değer)

Evet.....

Hayır

8. Yakın mesafede başka işletme ya da akarsu var mı? Varsa çiftlik ile arasındaki mesafe kuş uçuşu ne kadar?

.....

9. Hayvanlar açık, yarı-açık ya da kapalı sistemde mi barındırılıyor?

.....

10. Ahırın açık tarafı hangi yöne bakıyor?

.....

11. Ahırın temizlik durumu nasıl?

Çok kötü      Kötü      Orta      İyi      Çok iyi

12. Ahır havalandırması yeterli mi?

Evet      Hayır

13. Ahırın aydınlatması yeterli mi?

Evet      Hayır

14. Hayvanların suluğu nasıl?

Yalak      Otomatik

15. Yalak ise su akıyor mu, durgun mu?

.....

16. Suluk otomatik ise suluğun temizliği nasıl?

İyi      Kötü

17. Suyun soğukluğu nasıl?

Soğuk      Ilık

18. Yakın mesafede koyun-keçi bakılıyor mu? Aradaki mesafe yaklaşık ne kadar?

Evet.....      Hayır

19. Kaç hayvan bir arada bulunuyor?

.....

20. Buzağı kolostrum/ağız sütünü yeterli alıyor mu?

Evet      Hayır

21. Verilen kolostrum taze mi dondurulmuş mu?

Taze

Dondurulmuş

22. İlk ağız sütü ne zaman içiriliyor?

.....

23. Anne doğurmadan önce sağlıklı mı?

Evet

Hayır

24. Buzağılar anneden kaçınıcı gün ayrılıyor?

.....

25. Buzağı kendi annesini emerek mi, biberonla mı besleniyor?

Emerek

Biberonla

26. Sütü/kolostrumu yalnız annesinden mi alıyor yoksa birkaç ineğin sütü

karıştırılarak (tank sütü) mı veriliyor?

Anneden

Karışık

27. Buzağı süttten kaçınıcı gün kesiliyor?

.....

28. Süttten kesim programı nasıl uygulanıyor? (Tükettiğı yemin miktarına göre mi,  
gün hesabına göre mi?)

.....

29. Süttten kesilen buzağılara hangi yem ham maddeleri veriliyor?

.....

30. Buzağıya kaba yem veriliyor mu?

Evet

Hayır

31. Buzağıya kaliteli(yonca) kaba yem ne zaman verilmeye başlanıyor?

.....



32. Buzağıya su ne zaman verilmeye başlanıyor ve ne sıklıkla su veriliyor (serbest-  
öğünlü)?

33. Buzağıya silaj ne zaman verilmeye başlanıyor?

.....

34. Buzağıya saman ne zaman verilmeye başlanıyor?

.....

35. Buzağı yeminin protein, yağ içeriği nedir?

.....

36. Buzağılarda ne sıklıkla ishal görölüyor?

.....

37. İnekler ve buzağılar bir arada mı, ayrı ayrı mı barındırılıyor?

.....

38. İnekler ve buzağılar arası mesafe kaç metre?

.....

39. Buzağılar yavru kulübelerinde tek tek mi, bir arada mı duruyorlar?

Tek Bir arada

40. İneklere bakan bakıcı ile buzağılara bakan bakıcı farklı kişiler mi?

Evet Hayır

41. Beraber barındırılan hayvanların yaş dağılımı homojen mi heterojen mi?

Homojen Heterojen

42. Uygulanan aşı var mı? Varsa aşı takvimi nasıl?

Evet Hayır

.....

43. Hasta ve sağlıklı hayvanlar ayrılıyor mu?

Evet Hayır

44. Hasta ve sağlıklı hayvanlar arası mesafe yaklaşık kaç metre?

.....

45. Hasta ve sağlıklı hayvanlara bakan bakıcı farklı kişiler mi?

Evet

Hayır

46. Sürünün süt verimi kaç kilo?

.....

47. Sürüde kaç tane gebe hayvan var? (Döl tutma oranı nedir?)

.....

48. Atık oluyor mu? Oluyorsa ne kadar sıklıkta?

Evet .....

Hayır

49. İshal görülüyor mu? Görülüyorsa ne kadar sıklıkta?

Evet .....

Hayır

50. Tedavide genellikle kullanılan ilaçlar nelerdir?

.....

İşletmenin Adı:

İşletmenin Adresi:

Tarih:

Formu Dolduran Kişinin Adı Soyadı:

İmza:

## KAYNAKLAR

1. GULLIKSEN SM, LIE KI, LØKEN T, ØSTERÅS O. Calf mortality in Norwegian dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 92: 2782-2795, 2009.
2. THE MERCK VETERINARY MANUAL. 10th edition. Editör KAHN CM. Merk&co. Inc, USA, 2010.
3. SMITH RA. Effects of feedlot disease on economics, production and carcass value. *Bovine Practitioner*, 33: 125-128, 2000.
4. MORENO-LOPEZ J. Acute respiratory disease in cattle. Editör : DINTER Z, MOREIN B. *Virus Infections of Ruminants*, volume 3, Elsevier, Netherlands, page 551-553, 1990.
5. VALARCHER JF, HÄGGLUND S. Viral respiratory infections in cattle. *World Buiatrics Congress*, France, sayfa 2006.
6. AUTIO T, POHJANVIRTA T, HOLOPAINEN R, RIKULA U, PENTIKÄINEN J, HUOVILAINEN A, RUSANEN H, SOVERI T, SIHVONEN L, PELKONEN S. Etiology of respiratory disease in non-vaccinated, non-medicated calves in rearing herds. *Veterinary Microbiology*, 119: 256-265, 2007.
7. HÄGGLUND S, SVENSSON C, EMANUELSON U, VALARCHER JF, ALENIUS S. Dynamics of virus infections involved in the bovine respiratory disease complex in Swedish dairy herds. *The Veterinary Journal*, 172: 320-328, 2006.
8. HÄRTEL H, NIKUNEN S, NEUVONEN E, TANSKANEN R, KIVELÄ SL, AHO P, SOVERI T, SALONIEMI H. Viral and bacterial pathogens in bovine respiratory disease in Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 45: 193-200, 2004.
9. GULLIKSEN SM, JOR E, LIE KI, LØKEN T, ÅKERSTEDT J, ØSTERÅS O. Respiratory infections in Norwegian dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 92: 5139-5146, 2009.
10. RICHER L, MAROIS P, LAMONTAGNE L. Association of bovine viral diarrhea virus with multiple viral infections in bovine respiratory disease outbreaks. *The Canadian Veterinary Journal*, 29: 713-717, 1988.
11. DECARO N, CAMPOLO M, DESARIO C, CIRONE F, D'ABRAMO M, LORUSSO E, GRECO G, MARI V, COLAIANNI ML, ELIA G, MARTELLA V, BUONAVOGLIA C. Respiratory disease associated with bovine coronavirus infection in cattle herds in Southern Italy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20: 28-32, 2008.
12. HASÖKSÜZ M, KAYAR A, DODURKA T, ILGAZ A. Detection of respiratory and enteric shedding of bovine coronaviruses in cattle in Northwestern Turkey. *Acta Veterinaria Hungarica*, 53: 137-146, 2005.
13. PEIRIS JSM, LAI ST, POON LLM, GUAN Y, YAM LYC, LIM W, NICHOLLS J, YEE WKS, YAN WW, CHEUNG MT, CHENG VCC, CHAN KH, TSANG DNC, YUNG RWH, NG TK, YUEN KY. Members of the SARS Study Group. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *The Lancet*, 361: 1319-1325, 2003.
14. KSIAZEK TG, GOLDSMITH C, EMERY S, COMER JA, NGHIEM KH, HUMPHREY C, PADDOCK CD, DERISI J, LEDUC JW, The SARS Working Group. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 348: 1953-1966, 2003.
15. KUROGI H, INABA Y, TANAKA Y, ITO Y, SATO K, OMORI T. Isolation and properties of reovirus from cattle in an outbreak of acute respiratory disease. *National Institute of Animal Health Quarterly*, 16: 39-48, 1976.

16. DABO SM, TAYLOR JD, CONFER AW. *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews*, 8: 129-150, 2008.
17. RICE JA, CARRASCO-MEDINA L, HODGINS DC, SHEWEN PE. *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews*, 8: 117-128, 2008.
18. HECKERT RA, SAIF LJ, MYERS GW, AGNES AG. Epidemiologic factors and isotype-specific antibody responses in serum and mucosal secretions of dairy calves with bovine coronavirus respiratory tract and enteric tract infections. *American Journal of Veterinary Research*, 52: 845-851, 1991.
19. VALARCHER JF, BOURHY H, LAVENU A, BOURGES-ABELLA N, ROTH M, ANDREOLETTI O, AVE P, SCHELCHER F. Persistent infection of B lymphocytes by bovine respiratory syncytial virus. *Virology*, 291: 55-67, 2001.
20. VAN DER POEL WH, KRAMP JA, MIDDEL WG, VAN OIRSCHOT JT, BRAND A. Dynamics of bovine respiratory syncytial virus infections: a longitudinal epidemiological study in dairy herds. *Archives of Virology*, 133: 309-321, 1993.
21. BİLGE S. Kan ve süt serumu örneklerinde IBR-IPV antikorlarının nötralizasyon testi ile araştırılması ve süt örneklerinden virus izolasyonu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 45: 313-321, 1998.
22. ÖZKUL A, ÇABALAR M, BİLGE S, AKÇA Y, BURGU İ. Süt sığırcılığı işletmelerinde rastlanan IBR/IPV ve BVD virus enfeksiyonlarının infertilite olgularındaki rolü. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 42: 381-387, 1995.
23. YEŞİLBAĞ K, GÜNGÖR B. Seroprevalence of bovine respiratory viruses in North-Western Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, 40: 55-60, 2008.
24. ALKAN F, ÖZKUL A, KARAOĞLU MT, BİLGE S, AKÇA Y, BURGU İ, YEŞİLBAĞ K, OĞUZOĞLU TÇ. Sığırlarda viral nedenli solunum sistemi enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 44: 1-8, 1997.
25. YILDIRIM Y, BURGU İ. Kuzeydoğu Anadolu bölgesindeki sığırlarda mavidil (BT), BHV-1, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 52: 113-117, 2005.
26. EROL N, GÜR S, YILDIRIM Y, TAN MT. A serological investigation on parainfluenza-3 (PI-3) and bovine adenovirus (BAV) infections in dairy cow enterprises in Aydın province. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13: 43-47, 2007.
27. ALKAN F, BİLGE-DAĞALP S, CAN-ŞAHNA K, ÖZGÜNLÜK İ. Sığırlarda coronavirus enfeksiyonunun epidemiolojisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 50: 59-64, 2003.
28. DUMAN R, YAVRU S, KALE M, AVCI O. Seroprevalence of viral upper respiratory infections in dairy cattle. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15: 539-542, 2009.
29. BURGU İ, ALKAN F, ÖZKUL A, YEŞİLBAĞ K, KARAOĞLU T, GÜNGÖR B. Türkiye’de süt sığırcılığı işletmelerinde bovine viral diarrhoea virus (BVDV) enfeksiyonunun seroepidemiolojisi ve kontrolü. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 50: 127-133, 2003.
30. VALARCHER JF, TAYLOR G. Bovine respiratory syncytial virus infection. *Veterinary Research*, 38: 153-180, 2007.
31. YEŞİLBAĞ K. Genel Viroloji, Medipres, Malatya, page 63-69, 2010.

32. ACHENBACH JE, TOPLIFF CL, VASSILEV VB, DONIS RO, ESKRIDGE KM, KELLING CL. Detection and quantitation of BRSV using real time quantitative RT-PCR and quantitative competitive RT-PCR assays. *Journal of Virological Methods*, 121: 1-6, 2004.
33. KINGSBURY DW. Paramyxoviridae and Their Replication. In: *Fields Virology*. Eds. Fields, B.N. & Knipe, DM. Ravens Press. New York, pp. 945-96, 1990.
34. MURPHY FA, GIBBS EPJ, HORNIZEK MC, STUDDERT MJ. *Veterinary Virology*, 3rd edition, Academic Press, USA, page 119-566, 1999.
35. LARSEN LE, TJØRNEHØJ K, VIUFF B, JENSEN NE, UTTENTHAL A. Diagnosis of enzootic pneumonia in Danish cattle: reverse transcription-polymerase chain reaction assay for detection of bovine respiratory syncytial virus in naturally and experimentally infected cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11: 416-22, 1999.
36. HODGINS DC, CONLON JA, SHEWEN PE. Chapter 12 Respiratory viruses and bacteria in cattle. Editor: BROGDEN KA, GUTHMILLER JM. *Polymicrobial disease*, ASM Press, USA, page 33-229, 2002.
37. KIMMAN TG, ZIMMER GM, WESTENBRINK F, MARS J, VAN LEEUWEN E. Epidemiological study of bovine respiratory syncytial virus infections in calves: influence of maternal antibodies on the outcome of disease. *The Veterinary Record*, 123: 104-109, 1988.
38. ROSENQUIST BD. Isolation of respiratory syncytial virus from calves with acute respiratory disease. *The Journal of Infectious Diseases*, 130: 177-182, 1974.
39. GÖKÇE E, ERDOĞAN HM. Neonatal kuzularda pnömoni: yaygınlığı ve etki eden kimi risk faktörleri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14: 223-228, 2008.
40. YEŞİLBAĞ K, GÜNGÖR B. Antibody prevalence against respiratory viruses in sheep and goats in North-Western Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, 41: 421-425, 2009.
41. WELLEMANS G. Bovine respiratory syncytial virus. *Virus infections of ruminants*, volume 3, Elsevier, Netherlands, page 363-375, 1990.
42. POSPISIL Z, MENSIK J, VALICEK L. Isolation and identification of a bovine respiratory syncytial virus in Czechoslovakia. *Acta Veterinaria Brno*, 47: 79-86, 1978.
43. KIMMAN TG, ZIMMER GM, STRAVER P J, DE LEEUW PW. Diagnosis of bovine respiratory syncytial virus infections improved by virus detection in lung lavage samples. *American Journal of Veterinary Research*, 47: 143-147, 1986.
44. VILCEK S, ELVANDER M, BALLAGI-PORDÁNY A, BELÁK S. Development of nested PCR assays for detection of bovine respiratory syncytial virus in clinical samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 32: 2225-2231, 1994.
45. ALKAN F, ÖZKUL A, BİLGE-DAĞALP S, YEŞİLBAĞ K, OĞUZOĞLU T Ç, AKÇA Y, BURGU İ. Virological and serological studies on the role of PI-3 virus, BRSV, BVDV and BHV-1 on respiratory infections of cattle. I. the detection of etiological agents by direct Immunofluorescence technique. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 107: 193-195, 2000.
46. ELLIS JA, WEST K, CORTESE V, KONOBY C, WEIGEL D. Effect of maternal antibodies on induction and persistence of vaccine-induced immune responses against bovine viral diarrhoea virus type II in young calves. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 219: 3351-3356, 2001.

47. TSAI KS, THOMSON RG. Bovine parainfluenza type 3 virus infection: ultrastructural aspects of viral pathogenesis in the bovine respiratory tract. *Infection and Immunity*, 11: 783-803, 1975.
48. ADAIR BM, BRADFORD HEL, BRYSON DG, FOSTER JC, MCNULTY MS. Effect of parainfluenza-3 virus challenge on cell-mediated immune function in parainfluenza-3 vaccinated and non-vaccinated calves. *Research in Veterinary Science*, 68: 197-199, 2000.
49. GHAM A, REDDY PG, MORRILL JL, BLECHAR F, MINOCHA HC. Bovine herpesvirus-1 and parainfluenza-3 virus interactions: clinical and immunological response in calves. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 53: 62-67, 1989.
50. BRYSON DG. Parainfluenza-3 virus in cattle. *Virus infections of ruminants*, volume 3, Elsevier, Netherlands, page 319-334, 1990.
51. TIMONEY JF, GILLESPIE JA, SCOTT FW, BARLOUGH JE. Epidemiology of viral infections. Editor: HAGAN WA, TIMONEY JF. *Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals*, 8th edition, Cornell University Press, US, page 461-500, 1988.
52. LAEGREID WW, LIGGITT HD, SILFLOW R. M, EVERMANN JR, TAYLOR SM, LEID RW. Reversal of virus-induced alveolar macrophage bactericidal dysfunction by cyclooxygenase inhibition in vitro. *Journal of Leukocyte Biology*, 45: 293-300, 1989.
53. BRIGGS RE, KEHRLI M, FRANK GH. Effect of infection with parainfluenza-3 virus and infectious rhinotracheitis virus on neutrophil functions in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 49: 682-686, 1988.
54. CARRIERE PD, MAXIE MG, WILKIE BN, SAVAN M, VALLI VEO, JOHNSON JA. Exposure of calves to aerosols of parainfluenza-3 virus and *Pasteurella haemolytica*. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 47: 422-432, 1983.
55. ERTÜRK A, ÇİZMECİ ŞG, BARUT MF. Sığırlarda solunum sistemi enfeksiyonlarının viral etiyolojisi (2002-2005). *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 17: 1-2, 2006.
56. SHARP JM. Parainfluenza-3 virus in sheep. Editor: DINTER Z, MOREIN B. *Virus infections in ruminants*, volume 3, Elsevier, Netherlands, page 335-339, 1990.
57. STUDDERT MJ. Bovine Herpesvirus. Editor: GRANOFF A, WEBSTER RG. *Encyclopedia of virology*, Volume 1, 2nd edition, Academic Press, UK, page 180-183, 1999.
58. NANDI S, KUMAR M, MANOHAR M, CHAUHAN RS. Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews*, 10: 85-98, 2009.
59. MUYLKENS B, THIRY J, KIRTEN P, SCHYNTS F, THIRY E. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Veterinary Research*, 38: 181-209, 2007.
60. ROCK DL, HAGEMOSER WA, OSORIO FA, REED DE. Detection of bovine herpesvirus type 1 RNA in trigeminal ganglia of latently infected rabbits by in situ hybridization. *Journal of General Virology*, 67: 2515-2520, 1986.
61. GU X, KIRKLAND PD. *Infectious Bovine Rhinotracheitis*. Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedures, Elizabeth Macarthur Agricultural Institute, 2008.
62. METZLER AE, MATILE H, GASSMANN U, ENGELS M, WYLER R. European isolates of bovine herpesvirus 1: a comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides and reactivity with monoclonal antibodies. *Archives of Virology*, 85: 57-69, 1985.

63. D'OFFAY JM, ELY RW, BALDWIN CA, WHITENACK DL, STAIR EL, COLLIN JK. Diagnosis of encephalitic bovine herpesvirus type 5 (BHV-5) infection in cattle: virus isolation and immunohistochemical detection of antigen in formalin-fixed bovine brain tissues. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 7: 247-251, 1995.
64. EDWARDS S, WHITE H, NIXON P. A study of the predominant genotypes of bovid herpesvirus 1 found in the UK. *Veterinary Microbiology*, 22: 213-223, 1990.
65. MILLER JM, WHETSTONE CA, VAN DER MAATEN MJ. Abortifacient property of bovine herpesvirus type 1 isolates that represent three subtypes determined by restriction endonuclease analysis of viral DNA. *American Journal of Veterinary Research*, 52: 458-461, 1991.
66. SPILKI FR, ESTEVES PA, DE LIMA M, FRANCO AC, CHIMINAZZO C, FLORES EF, WEIBLEN R, DRIEMEIER D, ROEHE PM. Comparative pathogenicity of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) subtypes 1 (BHV-1.1) and 2a (BHV-1.2a). *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 24: 43-49, 2004.
67. EDWARDS S, NEWMAN RH, WHITE H. The virulence of British isolates of bovid herpesvirus 1 in relationship to viral genotype. *British Veterinary Journal*, 147: 216-231, 1991.
68. STRAUB OC. Infectious bovine rhinotracheitis virus. *Virus infections of ruminants*, volume 3, Elsevier, Netherlands, page 71-108, 1990.
69. VONK NOORDEGRAAF A, BUIJTELS JA. DIJKHUIZEN AA, FRANKEN P, STEGEMAN JA, VERHOEFF J. An epidemiological and economic simulation model to evaluate the spread and control of infectious bovine rhinotracheitis in the Netherlands. *Preventive Veterinary Medicine*, 36: 219-238, 1998.
70. ACKERMANN M, ENGELS M. Pro and contra BHV-1-eradication. *Veterinary Microbiology*, 113: 293-302, 2006.
71. DONG XN, CHEN YH. Marker vaccine strategies and candidate CSFV marker vaccines. *Vaccine*, 25: 205-230, 2007.
72. PAISLEY LG, THARALDSEN J, JARP J. A retrospective analysis of the infectious bovine rhinotracheitis (bovine herpes virus-1) surveillance program in Norway using Monte Carlo simulation models. *Preventive Veterinary Medicine*, 50: 109-125, 2001.
73. NYLIN B, MADSEN KG, RØNSHOLT L. Reintroduction of bovine herpes virus type 1 into Danish cattle herds during the period 1991-1995: a review of the investigations in the infected herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 39: 401-413, 1998.
74. NOORDEGRAAF AV, JALVINGH AW, DE JONG MC, FRANKEN P, DIJKHUIZEN AA. Evaluating control strategies for outbreaks in BHV1-free areas using stochastic and spatial simulation. *Preventive Veterinary Medicine*, 44: 21-42, 2000.
75. NUOTIO L, NEUVONEN E, HYYTIÄINEN M. Epidemiology and eradication of infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis (BHV-1/IPV) virus in Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49: 3-9, 2007.
76. ERHAN M, ONAR B, CSANTOS L, HOPKINS IG. Serological survey on some virus and brucellosis disease of cattle, sheep and horse. *Journal of Veterinary Center and Research Institute (Pendik)*, 4: 56-58, 1971.
77. TAN MT, YILDIRIM Y, EROL N, GÜNGÖR AB. The seroprevalence of bovine herpes virus type 1 (BHV-1) and bovine leukemia virus (BLV) in selected dairy cattle herds in Aydın province, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 30: 353-357, 2006.

78. GENÇAY A, BİLGE-DAĞALP S, ŞAHNA K. C, PINAR D, BAŞARAN Z. Kayseri bölgesindeki sığırlarda bovine herpesvirus tip 1 (BHV-1) enfeksiyonunun seroprevalansı. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 23: 47-52, 2009.
79. ÇABALAR M, AKÇA Y. Fertilité problemlili ineklerde enfeksiyöz bovine rhinotracheitis-enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (BHV-1-IPV) virus izolasyonu ve seroepidemiyojisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi, 41: 337-349, 1994.
80. BURGU İ, AKÇA Y. Gelemen Devlet Üretme Çiftliđi sığırlarında bazı viral enfeksiyonlara karşı serolojik araştırmalar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi, 29: 506-512, 1982.
81. YEŞİLBAĞ K, BİLGE-DAĞALP S. Koyunlarda bovine herpesvirus-1 enfeksiyonunun seroprevalansı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi, 53: 141-143, 2006.
82. YEŞİLBAĞ K, BİLGE-DAĞALP S, OKUR-GÜMÜŞOVA S, GÜNGÖR B. Studies on herpesvirus infections of goats in Turkey: Prevalance of antibodies to bovine herpesvirus 1. Revue de Medecine Veterinaire, 154: 772-774, 2003.
83. GÜR S, AKÇA Y. BVD seropozitif mandalarda BHV-1/IPV ve sığır vebasının seroepidemiyojisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi, 55: 45-50, 2008.
84. LEE KM, GILLESPIE JH. Propagation of virus diarrhea virus of cattle in tissue culture. American Journal of Veterinary Research, 18: 952-953, 1957.
85. UNDERDAHL NR, GRACE OD, HOERLEIN AB. Cultivation in tissue-culture of cytopathogenic agent from bovine mucosal disease. Experimental Biology and Medicine, 94: 795-797, 1957.
86. DONIS RO, DUBOVI EJ. Differences in virus-induced polypeptides in cells infected by cytopathic and noncytopathic biotypes of bovine virus diarrhea-mucosal disease virus. Virology, 158: 168-173, 1987.
87. KÜMMERER BM, TAUTZ N, BECHER P, THIEL HJ, MEYERS G. The genetic basis for cytopathogenicity of pestiviruses. Veterinary Microbiology, 77: 117-128, 2000.
88. YEŞİLBAĞ K, BURGU İ. Epitopic characterization of Turkish Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) isolates using monoclonal antibodies. Acta Veterinaria Hungarica, 51: 237-244, 2003.
89. HIETALA SK, CROSSLEY BM. Virus replication. Editor: GOYAL SM, RIDPATH JF. Bovine viral diarrhea virus diagnosis, management, and control, Blackwell Publishing, USA, page 81-89, 2005.
90. VAN DER POEL WHM, SCHOLL AT. Approach for control of infectious diseases in cattle herds. Editors: BRAND A, NOORDHUIZEN JPTM, SCHUKKEN YH. Herd health and production management in dairy practice, 3rd edition, Wageningen Press, Netherlands, page 475, 2001.
91. OĞUZOĞLU TÇ. Gevişgetiren hayvanlarda virusların neden olduğu transplental enfeksiyonlar. Sayfa: 11, Seminer, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1997.
92. RIDPATH JF. BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. Biologicals, 31: 127-131, 2003.
93. VILCEK S, PATON DJ, DURKOVIC B, STROJNY L, IBATA G, MOUSSA A, LOITSCH A, ROSSMANITH W, VEGA S, SCICLUNA MT, PAIFI V. Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups. Archives of Virology, 146: 99-115, 2001.



94. NAGAI M, HAYASHI M, ITOU M, FUKUTOMI T, AKASHI H, KIDA H, SAKODA Y. Identification of new genetic subtypes of bovine viral diarrhoea virus genotype 1 isolated in Japan. *Virus Genes*, 36: 135-9, 2008.
95. JACKOVA A, NOVACKOVA M, PELLETIER C, AUDEVAL C, GUENEAU E, HAFFAR A, PETIT E, REHBY L, VILCEK S. The extended genetic diversity of BVDV-1: typing of BVDV isolates from France. *Veterinary Research Communications*, 32: 7-11, 2008.
96. YEŞİLBAĞ K, FÖRSTER C, BANK-WOLF B, YILMAZ Z, ALKAN F, ÖZKUL A, BURGU İ, ROSALES SC, THIEL HJ, KÖNIG M. Genetic heterogeneity of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) isolates from Turkey: Identification of a new subgroup in BVDV-1. *Veterinary Microbiology*, 130: 258-267, 2008.
97. XUE F, ZHU YM, LI J, ZHU, LC, REN XG, FENG JK, SHI HF, GAO YR. Genotyping of bovine viral diarrhoea viruses from cattle in China between 2005 and 2008. *Veterinary Microbiology*, 143: 379-383, 2010.
98. GIANGASPERO M, HARASAWA R, WEBER L, BELLOLI A. Taxonomic and epidemiological aspects of the bovine viral diarrhoea virus 2 species through the observation of the secondary structures in the 5' genomic untranslated region. *Veterinaria Italiana*, 44: 319-345, 2008.
99. DEREGT D. Introduction and history. Editors: GOYAL SM, RIDPATH JF. *Bovine viral diarrhoea virus diagnosis management and control*, Blackwell Publishing, USA, page 3-34, 2005.
100. FULTON RW, RIDPATH JF, SALIKI JT, BRIGGS RE, CONFER AW, BURGE LJ, PURDY CW, LOAN RW, DUFF GC, PAYTON ME. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) 1b: predominant BVDV subtype in calves with respiratory disease. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 66: 181-190, 2002.
101. OĞUZOĞLU TÇ, MUZ D, YILMAZ V, ALKAN F, AKÇA Y, BURGU İ. Molecular characterization of bovine virus diarrhoea viruses species 2 (BVDV-2) from cattle in Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, 42: 1175-1180, 2010.
102. YILMAZ H, ALTAN E, RIDPATH J, TURAN N. Genetic diversity and frequency of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) detected in cattle in Turkey. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35: 411-416, 2012.
103. FULTON RW, SALIKI JT, CONFER AW, BURGE LJ, D'OFFAY JM, HELMAN RG, BOLIN SR, RIDPATH JF, PAYTON ME. Bovine viral diarrhoea virus cytopathic and noncytopathic biotypes and type 1 and 2 genotypes in diagnostic laboratory accessions: clinical and necropsy samples from cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 12: 33-38, 2000.
104. OĞUZOĞLU TÇ, MUZ D, YILMAZ V, TİMURKAN MÖ, ALKAN F, AKÇA Y, BURGU İ. Molecular characteristics of bovine viral diarrhoea virus 1 isolates from Turkey: approaches for an eradication programme. *Transboundary and Emerging Diseases*, 59: 303-310, 2012.
105. THURMOND MC. Virus transmission. Editor: GOYAL SM, RIDPATH JF. *Bovine viral diarrhoea virus diagnosis, management, and control*, Blackwell Publishing, USA, page 91-104, 2005.
106. MOERMAN A, STRAYER PJ, DE JONG MC, QUAK J, BAANVINGER T, VAN OIRSCHOT JT. Clinical consequences of a bovine virus diarrhoea virus infection in a dairy herd: a longitudinal study. *Veterinary Quarterly*, 16: 115-119, 1994.
107. HOWARD CJ, BROWNLIE J, CLARKE MC. Comparison by the neutralization assay of pairs of non-cytopathogenic and cytopathogenic strains of bovine virus

- diarrhoea virus isolated from cases of mucosal disease. *Veterinary Microbiology*, 13: 361-369, 1987.
108. BROWNLIE J, CLARKE MC, HOWARD CJ, POCOCK DH. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *Annals of Veterinary Research*, 18: 157-166, 1987.
109. POTGIETER LN. Immunology of bovine viral diarrhoea virus. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 11: 501-520, 1995.
110. WELSH MD, ADAIR BM, FOSTER JC. Effect of BVD virus infection on alveolar macrophage functions. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 46: 195-210, 1995.
111. LIU L, LEHMKUHL HD, KAEBERLE ML. Synergistic effects of bovine respiratory syncytial virus and non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus infection on selected bovine alveolar macrophage functions. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 63: 41-48, 1999.
112. ÖNCÜL S, MERİÇ İ, KORKUT F. Türkiye’de ilk defa Lalahan Zootečni Araştırma Enstitüsü Sığırlarında tespit edilen mucosal disease’in klinik yonu. *Lalahan Zootečni Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 4: 186-189, 1964.
113. BURGU İ, ALKAN F, YEŞİLBAĞ K. Türkiye’de sığırlarda persiste BVD virus enfeksiyonu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 46: 169-177, 1999.
114. ALKAN F, YEŞİLBAĞ K, BURGU İ. Persiste enfekte sığırlarda BVDV’nin organ dağılımı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 48: 111-115, 2001.
115. BULUT O, YAVRU S, YAPKIÇ O, KALE M, AVCI O, HASIRCIOĞLU S. Sütçü sığırların bovine herpesvirus 1 (bvh-1) ve bovine viral diarrhoea virus (bvdv) enfeksiyonları yönünden ELISA ile araştırılması. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 16: 18-24, 2006.
116. YILDIRIM Y, YILMAZ V, KALAYCIOĞLU AT, BİLGE-DAĞALP SB, MAJARASHIN ARF, ÇELEBİ Ö, AKÇA D. An investigation of a possible involvement of BVDV, BHV-1 and BHV-4 infections in abortion of dairy cattle in Kars district of Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17: 879-883, 2011.
117. ÖZER E, DUMAN R. Study of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10: 1557-1560, 2011.
118. SANDVIK T. Selection and use of laboratory diagnostic assays in BVD control programmes. *Preventive Veterinary Medicine*, 72: 3-16, 2005.
119. ÖZKUL A, YEŞİLBAĞ K, BURGU İ. Comparison of four diagnostic techniques for detecting bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in buffy coat samples after long-term storage. *Turkish Journal Veterinary and Animal Sciences*, 26: 1043-1048, 2002.
120. BEZEK DM, BAKER JC, KANEENE JB. Immunofluorescence of bovine virus diarrhoea viral antigen in white blood cells from experimentally infected immunocompetent calves. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 52: 288-290, 1988.
121. LAUREYNS J, RIBBENS S, DE KRUIF A. Control of bovine virus diarrhoea at the herd level: reducing the risk of false negatives in the detection of persistently infected cattle. *Veterinary Journal*, 184: 21-26, 2010.
122. HOUE H, LINDBERG A, MOENING V. Test strategies in bovine viral diarrhoea virus control and eradication campaigns in Europe. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18: 427-435, 2006.

123. WALTER O, KLEMENS F, JOSEF K. BVDV infection risk in the course of the voluntary BVDV eradication program in Styria/Austria. *Preventive Veterinary Medicine*, 72: 127-132, 2005.
124. MACLACHLAN NJ, DUBOVI EJ. Fenner's veterinary virology, 4th edition, Academic Press, China, page 203, 2011.
125. DAVISON AJ, BENKO M, HARRACH B. Genetic content and evolution of adenoviruses. *Journal of General Virology*, 84: 2895-2908, 2003.
126. WADELL G. Adenoviruses. Editor: GRANOFF A, WEBSTER RG, *Encyclopedia of virology*, Academic Press, UK, page 1-14, 1999.
127. SHENK TE. Adenoviridae: The viruses and their replication. Editor: KNIPE DM, HOWLEY PM, *Fields Virology*, volume 2, 4th edition, Lippincott Williams&Wilkins, USA, page 2266-2291, 2001.
128. TIMONEY JF, GILLESPIE JA, SCOTT FW, BARLOUGH JE. Bovine adenovirus infection. Editor: HAGAN WA, TIMONEY JF. *Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals*, 8th edition, Cornell University Press, US, page 543-545, 1988.
129. BURKI F. Bovine adenoviruses. Editor : DINTER Z, MOREIN B. *Virus infections of ruminants*, volume 3, Elsevier, Netherlands, page 161-170, 1990.
130. NARITA M, YAMADA M, TSUBOI T, KAWASHIMA K. Bovine adenovirus type 3 pneumonia in dexamethasone-treated calves. *Veterinary Pathology*, 40: 128-135, 2003.
131. NARITA M, YAMADA M, TSUBOI T, KAWASHIMA K. Immunohistopathology of calf pneumonia induced by endobronchial inoculation with bovine adenovirus 3. *Veterinary Pathology*, 39: 565-571, 2002.
132. THOMSON GR. Adenovirus infections. Editor: COETZER JAW, TUSTIN RC, *Infectious diseases of livestock*, volume 2, 2nd edition, Oxford University Press, page 819-826, 2004.
133. LEHMKUHL HD, CUTLIP RC, DEBEY BM. Isolation of a bovine adenovirus serotype 10 from a calf in the United States. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11: 485-490, 1999.
134. BURGU İ, TOKER A. Türkiye'de sığır adenoviruslarının (Tip1-2-3) serolojik olarak tespiti. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 32: 223-230, 1985.
135. LEHMUKHUL HD, SMITH MH, GOUGH PM. Neutralizing antibody to bovine adenovirus serotype 3 in healthy cattle and cattle with respiratory tract disease. *American Journal of Veterinary Research*, 40: 580-583, 1979.
136. TOKER A. Sığır adenoviruslarında (tip-1, tip-2 ve tip-3) serolojik reaksiyonlarla tip ayırımı üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 30: 245-258, 1983.
137. YILDIRIM Y, YILMAZ V, MAJARASHIN ARF. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi sınır illerinde bulunan sığırlarda viral solunum sistemi enfeksiyonlarının seroprevalansı. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15: 601-606, 2009.
138. ALKAN F. Rapid diagnosis of bovine adenovirus subgroup 1 infections in cattle with acute respiratory disease by direct immunofluorescence technique. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 45: 181-184, 1998.
139. ZHU YM, YU Z, CAI H, GAO YR, DONG XM, LI ZL, SHI HF, MENG QF, LU C, XUE F. Isolation, identification, and complete genome sequence of a bovine adenovirus type 3 from cattle in China. *Virology Journal*, 8: 557, 2011.
140. <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?bhcp=1>. Erişim Tarihi: 01.01.2013

141. THOMAS LH, GOURLAY RN, STOTT EJ, HOWARD CJ, BRIDGER JC. A search for new microorganisms in calf pneumonia by the inoculation of gnotobiotic calves. *Research in Veterinary Science*, 33: 170-182, 1982.
142. STORZ J, STINE L, LIEM A, ANDERSON GA. Coronavirus isolation from nasal swab samples in cattle with signs of respiratory tract disease after shipping. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 208: 1452-1455, 1996.
143. SAIF LJ, REDMAN DR, MOORHEAD PD, THEIL KW. Experimentally induced coronavirus infections in calves: viral replication in the respiratory and intestinal tracts. *American Journal of Veterinary Research*, 47: 1426-1432, 1986.
144. DA SILVA MR, O'REILLY KL, LIN X, STINE L, STORZ J. Sensitivity comparison for detection of respiratory bovine coronaviruses in nasal samples from feedlot cattle by ELISA and isolation with the G clone of HRT-18 cells. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11: 15-9, 1999.
145. LATHROP SL, WITTUM TE, LOERCH SC, PERINO LJ, SAIF LJ. Antibody titers against bovine coronavirus and shedding of the virus via the respiratory tract in feedlot cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 61: 1057-1061, 2000.
146. PARK SJ, KIM GY, CHOY HE, HONG YJ, SAIF LJ, JEONG JH, PARK SI, KIM HH, KIM SK, SHIN SS, KANG MI, CHO KO. Dual enteric and respiratory tropisms of winter dysentery bovine coronavirus in calves. *Archives of Virology*, 152: 1885-1900, 2007.
147. REYNOLDS DJ, DEBNEY TG, HALL GA, THOMAS LH, PARSONS KR. Studies on the relationship between coronaviruses from the intestinal and respiratory tracts of calves. *Archives of Virology*, 85: 71-83, 1985.
148. TSUNEMITSU H, YONEMICHI H, HIRAI T, KUDO T, ONOE S, MORI K, SHIMIZU M. Isolation of bovine coronavirus from feces and nasal swabs of calves with diarrhea. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 53: 433-437, 1991.
149. HASÖKSÜZ M, LATHROP SL, GADFIELD KL, SAIF LJ. Isolation of bovine respiratory coronaviruses from feedlot cattle and comparison of their biological and antigenic properties with bovine enteric coronaviruses. *American Journal of Veterinary Research*, 60: 1227-1233, 1999.
150. ALKAN F. Buzağı ishallerinde rotavirus ve coronavirusların rolü. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 45: 29-37, 1998.
151. ALENİUS S, NISKANEN R, JUNTTI N, LARSSON B. Bovine coronavirus as the causative agent of winter dysentery: serological evidence. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 32: 163-170, 1991.
152. OKUR GÜMÜŞOVA S, YAZICI Z, ALBAYRAK H, MERAL Y. Rotavirus and coronavirus prevalence in healthy calves and calves with diarrhoea. *Medycyna Weterynaryjna*, 63: 62-64, 2007.
153. HASİRCIOĞLU S, ŞİMŞEK A. Investigation of enteric bovine coronavirus infections in calves and the role of clinically healthy cattle in epidemiology of coronavirus infections. *Veterinarium*, 18: 43-49, 2007.
154. ÇABALAR M, KAYA A, ARSLAN S. Yeni doğan buzağuların ishal olgularında rotavirus ve coronavirus araştırılması. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 23: 103-106, 2007.
155. ROSALES SC. Charakterisierung ruminanter pestiviren mittels polymerasekettenreaktion und monoklonaler antikörper. Doktora tezi. Fachbereich Veterinärmedizin der Justus Liebig Universität, Giessen, 2004.
156. YEŞİLBAĞ K. Viroloji Laboratuvar Uygulamaları. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları Yayın No: 2004-1, Bursa, sayfa 32-37, 2004.

- 157.FREY HR, LIESS B. Vermehrungskinetik und verwendbarkeit eines stark zytotropen VD-MD virusstammes für diagnostische untersuchungen mit der mikrotiter method. Zentralblatt für Veterinarmedizin Reihe B, 18: 61-71, 1971.
- 158.LIN XQ, O'REILLY KL, STORZ J, PURDY CW, LOAN RW. Antibody responses to respiratory coronavirus infections of cattle during shipping fever pathogenesis. Archives of Virology, 145:2335-2349, 2000.
- 159.BROCK KV. The persistence of bovine viral diarrhea virus. Biologicals, 31: 133-135, 2003.
- 160.BAKER JC, AMES TR, MARKHAM RJ. Seroepizootiologic study of bovine respiratory syncytial virus in a dairy herd. American Journal of Veterinary Research, 47: 240-245, 1986.
- 161.ELVANDER M. Severe respiratory disease in dairy cows caused by infection with bovine respiratory syncytial virus. Veterinayr Record, 138: 101-105, 1996.
- 162.RAAPERI K, BOUGEARD S, ALEKSEJEV A, ORRO T, VILTROP A. Association of herd BRSV and BHV-1 seroprevalence with respiratory disease and reproductive performance in adult dairy cattle. Veterinaria Scandinavica, 54: 4-13, 2012.
- 163.KELLING CL, TOPLIFF CL. Bovine maternal, fecal and neonatal responses to bovine viral diarrhea virus infections. Biologicals, 1: 20-25, 2012.
- 164.MARS MH, BRUSCHKE CJM, van OIRSCHOT JT. Airborne transmission of BHV1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. Veterinary Microbiology, 66: 197-207, 1999.
- 165.OHLSON A, EMANUELSON U, TRAVEN M, ALENIUS S. The relationship between antibody status to bovine corona virus and bovine respiratory syncytial virus and disease incidence, reproduction and herd characteristics in dairy herds. Acta Veterinaria Scandinavica, 52: 37-43, 2010.
- 166.STOTT EJ, THOMAS LH, COLLINS AP, CROUCH S, JEBBETT S, SMITH GS, LUTHER PD, CASWELL R. A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease. Journal of Hygiene, 85: 257-270, 1980.
- 167.HOWARD CJ, CLARKE MC, SOPP P, BROWNLIE J. Immunity to bovine virus diarrhoea virus in calves: the role of different T-cell subpopulations analysed by specific depletion in vivo with monoclonal antibodies. Veterinary Immunology and Immunopathology, 32: 303-314, 1992.
- 168.FULTON RW, BRIGGS RE, PAYTON ME, CONFER AW, SALIKI JT, RIDPATH JF, BURGE LJ, DUFF GC. Maternally derived humoral immunity to bovine viral diarrhea virus (BVDV) 1a, BVDV 1b, BVDV2, bovine herpesvirus-1, parainfluenza-3 virus, bovine respiratory syncytial virus, *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in beef calves, antibody decline by half-life studies and effect on response to vaccination. Vaccine, 22: 643-649, 2004.
- 169.MENANTEAU-HORTA AM, AMES TR, JOHNSON DW, MEISKE JC. Effect of maternal antibody upon vaccination with infectious bovine rhinotracheitis and bovine virus diarrhea vaccines. Canadian Journal of Comparative Medicine, 49: 10-14, 1985.
- 170.VAN DER POEL WH, MIDDEL WG, SCHUKKEN YH. Antibody titer against bovine respiratory syncytial virus in colostrum-fed dairy calves born in various seasons. American Journal of Veterinary Research, 60: 1098-1101, 1999.
- 171.MUNOZ-ZANZI CA, THURMOND MC, JOHNSON WO, HIETALA SK. Predicted ages of dairy calves when colostrum-derived bovine viral diarrhea virus antibodies would no longer offer protection against disease or interfere with

- vaccination. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221: 678-685, 2002.
172. CORIA MF, McCLURKIN AW. Duration of active and colostrum-derived passive antibodies to bovine viral diarrhoea virus in calves. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 42: 239-243, 1978.
  173. NORSTRÖM M, SKJERVE E, JARP J. Risk factors for epidemic respiratory disease in Norwegian cattle herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 44: 87-96, 2000.
  174. TRAVEN M, BJÖRNEROT L, LARSSON B. Nationwide survey of antibodies to bovine coronavirus in bulk milk from Swedish dairy herds. *Veterinary Record*, 144: 527-529, 1999.
  175. MOCKELIŪNIENE V, SALOMSKAS A, MOCKELIŪNAS R, PETKEVICIUS S. Prevalence and epidemiological features of bovine viral diarrhoea virus infection in Lithuania. *Veterinary Microbiology*, 99: 51-57, 2004.
  176. DURHAM PJK, HASSARD LE. Prevalence of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenza 3, bovine respiratory syncytial and bovine viral diarrhoea viruses in cattle in Saskatchewan and Alberta. *Canadian Veterinary Journal*, 31: 815-820, 1990.
  177. BRAR JS, JOHNSON DW, MUSCOPLAT CC, SHOPE RE Jr, MEISKE JC. Maternal immunity to infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhoea viruses: duration and effect on vaccination in young calves. *American Journal of Veterinary Research*, 39: 241-244, 1978.
  178. SMITH EL, HOLM A. The transfer of immunity to the new-born calf from colostrum. Unpublished. 1948.
  179. FUKAI K, SAKAI T, FUJITA K, ABE S. Evaluation of serum neutralizing antibodies to bovine coronavirus in cows and their calves using Hmlu-1 cells. *Indian Journal of Medical Research*, 108: 8-11, 1998.
  180. BOLIN SR, RIDPATH JF. Assessment of protection from systemic infection or disease afforded by low to intermediate titers of passively acquired neutralizing antibody against bovine viral diarrhoea virus in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 56: 755-759, 1995.
  181. GOYAL SM. Diagnosis. Editors: GOYAL SM, RIDPATH JF. *Bovine viral diarrhoea virus diagnosis, management and control*. Blackwell Publishing, Iowa, page 199, 2005.
  182. GONES SD. The evolution of bovine viral diarrhoea: a review. *The Canadian Veterinary Journal*, 43: 946-954, 2002.
  183. GRIPSHOVER EM, GIVENS MD, RIDPATH JF, BROCK KV, WHITLEY EM, SARTIN EA. Variation in E<sup>ms</sup> viral glycoprotein associated with failure of immunohistochemistry and commercial antigen capture ELISA to detect a field strain of bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Microbiology*, 125: 11-21, 2007.
  184. DUBOVI EJ. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus. *Biologicals*, 41: 8-13, 2013.
  185. HORNER GW, THAM KM, ORR D, RALSTON J, ROWE S, HOUGHTON T. Comparison of an antigen capture enzyme-linked assay with reverse transcription-polymerase chain reaction and cell culture immunoperoxidase tests for the diagnosis of ruminant pestivirus infections. *Veterinary Microbiology*, 43: 75-84, 1995.
  186. KAMPA J, STAHL K, RENSTRÖM LHM, ALENIUS S. Evaluation of a commercial Erns-capture ELISA for detection of BVDV in routine diagnostic cattle serum samples. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49: 7-14, 2007.
  187. ENDERS G. Paramyxoviruses. Editor: BARON S. *Medical Microbiology*, 4th edition, page: The University of Texas Medical Branch at Galveston, Texas, 1996.

188. Mc CLURKIN AW, LITLEDIKE ET, CUTLIP RC, FRANK GH, CORIA MF, BOLIN SR. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhea virus. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. 48: 156-161, 1984.
189. LINDBERG ALE. Bovine viral diarrhoea virus infections and its control. *Veterinary Quarterly*, 25: 1-16, 2003.
190. BOLIN SR, McCLURKIN AW, CORIA MF. Frequency of persistent bovine viral diarrhea virus infection in selected cattle herds. *American Journal of Veterinary Research*, 46: 2385-2387, 1985.
191. HOWARD TH, BEAN B, HILLMAN R, MONKE DR. Surveillance of persistent bovine viral diarrhea virus infection in four artificial insemination centers. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196: 1951-1955, 1990.
192. BOCK RE, RODWELL BJ, McGOWAN M. Detection of calves persistently infected with bovine pestivirus in a sample of dairy calves in South-eastern Queensland. *Australian Veterinary Journal*, 75: 656-659, 1997.
193. TAYLOR LF, JANZEN ED, ELLIS JA, van den HURK JV, WARD P. Performance, survival, necropsy and virological findings from calves persistently infected with the bovine viral diarrhea virus originating from a single Saskatchewan beef herd. *The Canadian Veterinary Journal*, 38: 29-37, 1997.
194. RUIBAL BRUNET IJ, NOA ROMERO E, RIVERO MAS AT, MARTIN GARCIA RZ. Inactivation of BVDV (experimental model for hepatitis C) using low pH and heat treatment in intravenous human immunoglobulins. *Sangre*, 44: 352-356, 1999.
195. SAUERBREI A, WUTZLER P. Testing thermal resistance of viruses. *Archives of Virology*, 154:115-119, 2009.
196. CARRINGTON CAP. The role of *Mycoplasma* species in bovine respiratory disease complex in feedlot cattle in South Africa. PhD Thesis. University of Pretoria. 2007.

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitim programına beni kabul eden ve bunca deneyim kazanmamı sağlayan bu tez konusunu bana güvenerek veren danışman hocam sayın Prof. Dr. Kadir YEŞİLBAĞ başta olmak üzere saha çalışmam sırasında bana yardımcı olan Vet. Hek. Burak Güven'e, Vet. Hek. Ersin ÖZER'e, Vet. Hek. Rahmi DARICI'ya, Vet. Hek. Ali ALKAN'a, Dr. Abdurrahman ÖZLÜER'e, Vet. Hek. Hasan Can BEKTAŞ'a ve Ziraat Mühendisi Elif ABDULLAOĞLU'na, istatistik çalışmamda kapılarını ardına kadar açan Doç. Dr. Faruk BALCI ve Araş. Gör. Ender UZABACI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bursa'ya gelmeme vesile olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Uzm. Vet. Hek. Ersin CANPOLAT'a, bu zor ve uzun süreç sırasında hep yanımda olan, her daim sıkıntılarımı paylaşan çok sevgili dönem arkadaşım Araş. Gör. Gizem ALPAY'a ve son olarak aramıza yeni katılan Dokt. Öğr. Eda Baldan ÖNER'e yaptığı önemli katkılardan dolayı sonsuz minnetimi sunuyorum.

Herkesten önce beni okutarak bugünlere getiren, bana her zaman destek olarak başarılarımla gurur duyan, yıldıgım anda beni tekrar motive ederek devam etmemi sağlayan ve beni dünyanın en şanslı insanı gibi hissettiren anneme ve babama, yanımda oldukları için her gün şükrettiğim ablama ve kardeşime sonsuz minnetimi ve sevgilerimi sunuyorum. Elde ettiğim tüm başarıları biricik aileme ithaf ediyorum.



## ÖZGEÇMİŞ

Ankara'da 1984 yılında dünyaya gelen Pelin TUNCER, TED Ankara Koleji'nden mezun olduktan sonra Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni 2007 yılında bitirerek üniversite eğitimi tamamlamış ve Veteriner Hekim ünvanını almaya hak kazanmıştır. Aynı yıl Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Viroloji Bilim Dalı doktora öğrencisi olarak eğitimine başlamıştır. Araştırma görevlisi olarak 2009'da ataması yapılmış ve doktora eğitimini 2013 yılında tamamlamıştır. Uluslararası indekslerce taranan ve yurtiçi dergilerde yer alan araştırma makaleleri ve derlemeleri bulunmaktadır.

### AKADEMİK FAALİYETLER:

Yurt dışı faaliyetler:

\* 2012, Inst. for Virology, Justus-Liebig University Faculty of Veterinary Medicine, Giessen, Almanya (2 ay, proje çalışması)

Katıldığı Kurslar:

\* Deney hayvanları kullanım kursu. U.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu. 2008.

\* Monoklonal antikor üretimi ve home-made ELISA. 30.03-10.04.2009 ve 29.06-17.07. 2009 Tübitak, Gebze. Proje çalışması.

\* Viral hastalıkların tanısında PCR teknolojisi 2009-2010 Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji ABD. Lisansüstü yaz okulu dersi.

\* Optimization techniques for western blot, immunoprecipitation and immunohistochemistry. 27 Nisan 2012, İzmir.

\* Mikroskop ve kontrast yöntemleri, floresan mikroskopi yöntemleri ve ileri görüntüleme teknikleri. 22 Mayıs 2012, Bursa.

\* Araştırma projesi hazırlama ve yazma eğitimi (TÜBİTAK). 1-2 Kasım 2012/28-30 Kasım 2012, Bursa.

\* Bilimsel yazar çalışmayı, Elsevier. 31 Mayıs 2013, Uludağ Üniversitesi, Bursa.

Üye olduğu organizasyonlar:

- Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Derneği