



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI
VVR-YL-2014-002

**AYDIN VE İZMİR İLLERİNDEKİ KOYUN VE KEÇİLERDE
BOVİNE HERPESVİRUS-1 (BHV-1) ENFEKSİYONUNUN
SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Veli Özgür ÇAĞLAV

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Nural EROL

AYDIN-2014

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI
VVR-YL-2014-002**

**AYDIN VE İZMİR İLLERİNDEKİ KOYUN VE KEÇİLERDE
BOVİNE HERPESVİRUS-1 (BHV-1) ENFEKSİYONUNUN
SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Veli Özgür ÇAĞLAV

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Nural EROL

AYDIN-2014

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Viroloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Vet. Hekim Veli Özgür ÇAĞLAV tarafından hazırlanan “Aydın ve İzmir İllerindeki Koyun ve Keçilerde Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması” başlıklı tez, 28.11.2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

Yrd. Doç. Dr. Nural EROL

Prof. Dr. M.Tolga TAN

Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ

Üniversitesi :

Adnan Menderes Üniversitesi

Adnan Menderes Üniversitesi

Adnan Menderes Üniversitesi

İmzası:

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans/Doktora Tezi Enstitü Yönetim Kurulunun..... Sayılı kararıylatarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) hayvan yetiştiriciliğini olumsuz etkileyen, ruminantlarda verim kayıplarına ve dolayısıyla önemli ekonomik kayıplara neden olan viral ajanlardan biridir. Başta solunum sistemi ve genital sistem olmak üzere birçok organa affinite göstermektedir. Virus sığırlarda Infectious Bovine Rhinotracheitis- Infectious Pustular Vulvovaginitis (IBR-IPV) veya Infectious Pustular Balanopostitis (IBR-IPB) isimleriyle anılan hastalık tablolarını meydana getirmektedir.

Sığırlarda yapılan epizootiyolojik çalışmalarda enfeksiyonun Türkiye’de ve Dünya’nın birçok yerinde yaygın olduğu bildirilmiştir. Virus sığırlarda meydana getirdiği et, süt ve döl verimi kayıpları sebebiyle yetiştiriciliğin en büyük sağlık sorunlarından birini oluşturmaktadır. BHV-1 primer olarak sığırları etkilemektedir. Ancak enfeksiyonun diğer ruminant türlerindeki varlığı ve türler arasında enfeksiyon naklinin mümkün olduğu da bilinmektedir. Bölgemizdeki koyun ve keçilerde BHV-1 enfeksiyonu ile ilgili bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Aydın ve İzmir yöresinde bulunan koyun ve keçilerde BHV-1 enfeksiyonunun varlığı serolojik olarak araştırılmış ve yaygınlığı tespit edilmiştir.

Çalışmada, Aydın ve İzmir illerinde küçükbaş hayvan yetiştiriciliği yapan küçük aile işletmeleri veya organize işletmelerde bulunan tesadüfi olarak seçilmiş 250 adet koyun ve 210 adet keçiden olmak üzere toplam 460 adet hayvandan kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örnekleri virus nötralizasyon testi ile BHV-1 virusuna karşı oluşan antikorlar yönünden test edilmiştir. Araştırmanın sonuçları, daha sonra yapılacak hastalıkla mücadeleyi ve kontrol önlemlerini içine alan daha geniş kapsamlı çalışmalar için bir ön hazırlık niteliği taşımakta olup BHV-1’in bölgemiz koyun ve keçi yetiştiriciliği için önem taşıyıp taşımadığına ve küçükbaş hayvanların BHV-1 enfeksiyonunun epizootiyolojisi için öneminin belirlenmesine ışık tutacağına inanılmaktadır.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
EKLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Tarihçe.....	2
1.2. Etiyoloji.....	2
1.3. Epizootiyoloji.....	3
1.4. BHV-1 Enfeksiyonunun Dünya'daki ve Türkiye'deki Yaygınlığı.....	4
1.5. Patogenez ve Patoloji.....	5
1.6. Klinik Belirtiler.....	8
1.7. İmmunite.....	10
1.8. Teşhis.....	12
1.9. Aşılama.....	14
1.9.1. Modifiye Canlı Virus Aşılıarı.....	14
1.9.2. İnaktif Aşılama.....	15
1.9.3. Subunit Aşılama.....	15
1.9.4. Marker Aşılama.....	16
1.10. Kontrol.....	16
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
2.1. Gereç.....	18
2.1.1. Örneklenen Hayvanlar.....	18

2.1.2. Hücre Kültürü	22
2.1.3. Virus	23
2.2. Yöntem	23
2.2.1. Serum Örneklerinin İşlenmesi.....	23
2.2.2. Hücrelerin Üretilmesi.....	23
2.2.3. Virusun Üretilmesi	24
2.2.4. Virusun Titresinin Belirlenmesi (Titrasyon Testi).....	24
2.2.5. Virus Nötralizasyon ve Nötralizasyon ₅₀ (SN ₅₀) Testi	25
2.3. İstatistiksel Değerlendirme.....	25
3. BULGULAR	26
3.1. Hayvan Türlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları	26
3.2. İllere Göre Seropozitiflik Dağılımları.....	26
3.3. Yaşlara Göre Seropozitiflik Dağılımları	27
3.4. Hayvanların Cinsiyetlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları.....	29
3.5. Hayvanların Irklarına Göre Seropozitiflik Dağılımları	29
3.6. Seropozitif Örneklerin Serum Nötralizasyon 50 (SN ₅₀) Sonuçları	30
4. TARTIŞMA.....	31
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	37
ÖZET	38
SUMMARY	40
KAYNAKLAR.....	42
ÖZGEÇMİŞ.....	50
TEŞEKKÜR	51
EKLER DİZİNİ	52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BHV-1	: Bovine Herpesvirus 1
BPI 3	: Bovine Parainfluenza 3
BRD	: Bovine Respiratoric Diseases
BRSV	: Bovine Respiratory Syncytial Virus
BVD	: Bovine Viral Diarrhoe
DKID ₅₀	: Doku Kültürü Enfektif Doz % 50
DMEM	: Dulbecco's Minimal Essential Doz % 50
EDTA	: Ethylene-Diamine- Tetra- Acetic-Acid
FDS	: Fötal Dana Serum
IBP	: Infectious Balanoposthitis
IBR	: Infectious Bovine Rhinotracheitis
ICTV	: International Comitee on Taxonomy of Viruses
IFN	: Interferon
Ig	: Immunglobulin
IPV	: Infectious Pustuler Vulvovaginitis
KKKS	: Koyun Keçi Kayıt Sistemi
MDBK	: Madine Darby Bovine Kidney
µl	: Mikrolitre
MLV	: Modifiye Canlı Virus
NK	: Natural Killer
PBS	: Phospat Buffered Saline
PK-15	: Pig Kidney-15
PCR	: Polimerase Chain Reaction
rpm	: Revolutions Per Minute
SN ₅₀	: Serum Nötralizasyon % 50
SPSS	: Statistical Package For Social Sciences
Cpe	: Sitopatolojik Efekt
VNT	: Virus Nötralizasyon Testi

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Tür bazında illere göre örneklenen hayvan ve işletme sayıları.....	18
Çizelge 2.2. İzmir'deki işletmelere göre örneklenen hayvan sayısı.....	20
Çizelge 2.3. Aydın'daki işletmelere göre örneklenen hayvan sayısı.....	20
Çizelge 2.4. Yaşlarına göre örneklenen toplam koyun ve keçi sayısı.....	21
Çizelge 2.5. Tür bazında cinsiyetlerine göre örneklenen toplam koyun ve keçi sayısı.....	21
Çizelge 2.6. Keçi ırklarına göre örneklenen hayvan sayısı.....	22
Çizelge 2.7. Koyun ırklarına göre örneklenen hayvan sayısı.....	22
Çizelge 3.1. Hayvan türlerine göre seropozitiflik dağılımları.....	26
Çizelge 3.2. İllere göre keçilerdeki BHV-1 seropozitiflik dağılımları.....	26
Çizelge 3.3.1. Keçilerin yaşlarına göre seropozitiflik dağılımları.....	28
Çizelge 3.3.2. Koyunların yaşlarına göre seropozitiflik dağılımları.....	28
Çizelge 3.4. Keçilerin cinsiyetlerine göre BHV-1 seropozitiflik dağılımları.....	29
Çizelge 3.5. Keçiler için ırklara göre BHV-1 seropozitiflik dağılımları.....	30

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. BHV-1 seropozitif hayvanlarda antikor titre dağılımları	30

EKLER DİZİNİ

	Sayfa
Ek 1. İllere ve hayvan türlerine göre seropozitiflik dağılımları	52
Ek 2. İzmir ilinde toplanan kan örneklerinin işletmelere göre seropozitiflik dağılımları	53
Ek 3. Aydın ilinde toplanan kan örneklerinin işletmelere göre seropozitiflik dağılımları	54
Ek 4. Keçilerin ırk ve cinsiyetlerine göre seropozitiflik dağılımları	55
Ek 5. Koyunların ırk ve cinsiyetlerine göre seropozitiflik dağılımları.....	56

1. GİRİŞ

Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) hayvan yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen ve ekonomik kayıplara neden olan önemli viral ajanlardan biridir. Başta solunum sistemi ve genital sistem olmak üzere birçok organa affinite göstermektedir. Infectious Bovine Rhinotracheitis, Infectious Pustular Vulvovaginitis (IBR-IPV) veya Infectious Pustular Balanoposthitis (IBR-IPB) isimleriyle anılan hastalık tablolarını meydana getirmektedir.

Virus, herpesvirusların genel karakteri olan latentlik özelliği taşır. Viral genom akut enfeksiyonu takiben trigeminal ve sakral ganglionlarda latent olarak kalmaktadır. Sonraki dönemlerde özellikle gebelik, nakil vb. stres faktörleri veya kortikosteroid uygulamalarının etkisiyle virus aktivasyonu şekillenebilir. Virusun her reaktivasyonunda klinik bulgular görülebilir ve virusun saçılımı gerçekleşir.

Virus primer olarak sığırları etkilemektedir. Ancak enfeksiyonun diğer ruminant türlerindeki varlığı ve türler arasında enfeksiyon naklinin mümkün olduğu da bilinmektedir. Enfekte keçi ve koyunların, enfeksiyonun epidemiyolojisinde rol oynayabileceği ve enfeksiyonla mücadelede türler arası geçiş olasılığının da üzerinde durulması gereken bir konu olduğu bildirilmiştir. Bu durum, sığırlarda özellikle BHV-1 kontrol ve eradikasyon programlarının başarıyla uygulanabilmesinin önünde bir sorun olarak görülebilir (Yeşilbağ ve ark. 2006).

Türkiye’de sığırlarda BHV-1 enfeksiyonunun yaygın olduğu ve ekonomik kayıplara yol açan enfeksiyöz ajanlardan olduğu bilinmektedir. Virusun küçük ruminantlarda da enfeksiyona yol açtığı bilinmesine rağmen enfeksiyonun koyun ve keçilerde meydana getirdiği zararlar ve yaygınlığı konusunda bilgiler sınırlıdır. Türkiye’deki çeşitli illerde yapılan araştırmalarda enfeksiyonun koyunlarda %1,74 ve %2,44; keçilerde ise %0,7 ve %5,52 oranlarında saptanmıştır. Enfeksiyonun Ege Bölgesi’nde bulunan koyun ve keçilerdeki durumu, bu hayvanların BHV-1 epizootiyolojisindeki önemi hayvancılığa verdiği zararlar hakkında bilgi bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, Aydın ve İzmir yöresinde bulunan koyun ve keçilerde BHV-1 enfeksiyonu varlığının serolojik olarak araştırılması ve yaygınlığının tespit edilmesi

amaçlanmıştır. Bu çalışma ile koyun ve keçilerin bölgedeki BHV-1 enfeksiyonunun epidemiyolojisindeki rolünün belirlenmesi hedeflenmiştir.

1.1. Tarihçe

Bovine Herpesvirus 1 ilk olarak 1841 yılında Almanya'da Buchner ve Trommsdorf tarafından infeksiyöz püstüler vulvovaginitis olarak tanımlanmıştır. Daha sonra 1928 yılında Reisinger ve Reimann tarafından viral yapı incelenmeye başlanmıştır (Muylkens ve ark. 2007). BHV-1 1886 yılından bu yana genelde sığır yetiştiriciliğinde ekonomik açıdan önemli olan bir enfeksiyon olarak değerlendirilmektedir. Hastalık sığırlarda görülen son derece bulaşıcı akut ve latent seyirli viral bir enfeksiyondur (Siebert ve ark. 1995). 1950'lerde Kuzey Amerika'da hastalığın solunum formu olan IBR tespit edildi. 1958 yılında ilk defa virus izole edilerek antijenik yapısı incelenmiştir. Daha sonra virus *Herpesviridae* ailesi altında sınıflandırılmıştır (Biswas ve ark. 2013).

1.2. Etiyoloji

Bovine Herpesvirus 1 *Herpesviridae* ailesinin *Alphaherpesvirinae* alt ailesinde *Varicellovirus* genusunda bulunmaktadır (ICTV 2012). Virus yaklaşık 135-140 kbp büyüklüğünde çift iplikli linear DNA'dan oluşan genomu sahiptir (Mayfield ve ark. 1983). Virusun genomu, 100 nm çapında ve 162 kapsomerden (150 hekzamer ve 12 pentamer) oluşan ikozahedral bir kapside sahiptir (Nandi ve ark. 2009).

Bovine Herpesvirus 1 için dünyada BHV-1.1, BHV-1.2a, BHV-1.2b, BHV-1.3 (BHV-5) olmak üzere 4 alt tip tanımlanmıştır (Nandi ve ark. 2009). BHV-1.1 ve BHV-1.2a Kuzey Amerika, Avrupa'nın büyük bölümünde gözlenirken Avustralya ve Yeni Zelanda'da tespit edilememiştir. BHV-1.2b ve BHV-1.3 diğer suşlara göre daha az virulent olduğu rapor edilmiştir (Nandi ve ark. 2009).

Virusun genomunda bulunan 73 adet açık okuma bölgesinde (open reading frames; ORF), 33'ü yapısal ve 13'ü yapısal olmayan protein kodlanmaktadır (Liang ve ark. 1996). Bunlardan, gK, gC, gB, gH, gM, gL, gG, gD, gI ve gE olmak üzere 10 tanesi glikoproteindir (Muylkens ve ark. 2007).

Bovine Herpesvirus 1 genel olarak çevresel etkenlere dirençli olmakla birlikte sıcaklık, pH, ışık ve nem şiddetine bağlı olarak inaktive olabilmektedir. Virus 4°C'de bir ay stabil kalırken 56°C'de 21 dakikada inaktive olabilmektedir. Bunun yanında 37°C'de 10 gün, 22°C'de 50 gün enfektivitesini korur. Yemde 30 günden fazla hayatta kalabilir (Biswas ve ark. 2013). Zarlı virus kloroform, eter, aseton gibi organik solventlere duyarlıdır ve %0,5 NaOH, %0,01 HgCL₂, %1'lik fenol, %10'luk lügol ve %5'lik formalin ile kısa sürede inaktive olur (Biswas ve ark. 2013).

Virus sığırların fotal böbrek, akciğer ve deri hücre kültürlerinde yuvarlaklaşma ve lizis ile karakterize sitopatolojik efekt (cpe) oluşturarak ürer. Bunun yanında BHV-1'in üretilmesinde devamlı hücre kültürü olarak Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) ve Pig Kidney (PK-15) hücre kültürleri de kullanılmaktadır. Tavşan, hamster ve kokarcalar virusa karşı duyarlıdır (Fenner ve ark. 1987).

1.3. Epizootiyoloji

Sığırlar BHV-1 enfeksiyonu için primer konakçılardır. Etkenin diğer ruminant türlerindeki varlığı ve enfeksiyonun türler arasında naklinin gerçekleştiği yapılan farklı çalışmalar ile gösterilmiştir. Bu durumun, sığırlarda BHV-1 kontrol ve eradikasyon programlarının başarıyla uygulanabilmesinin önünde irdelenmesi gereken bir sorun olduğu araştırmacılar tarafından tartışılmaktadır (Taylor ve ark. 1977; Brako ve ark. 1984; Wafula ve ark. 1985; Lehmkul ve ark. 1985; Goyal ve ark. 1988; Six ve ark. 2001; Yeşilbağ ve ark. 2003; Yeşilbağ ve ark. 2006).

Koyun ve keçilerde BHV-1 antikorlarının farklı oranlardaki yaygınlığının; hayvan hareketlerine, çevre koşullarına ve maruz kalma ihtimallerine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Yeşilbağ ve Bilge Dağalp 2006). Yapılan araştırmalarda keçilerin BHV-1'e karşı dirençli olmadığı, koyunlarda ise BHV-1 antikorlarının çok düşük düzeylerde tespit edildiği belirlenmiştir (Brako ve ark 1984). Bunun dışında artiodactyla (çift tırnaklılar), koyun, keçi, manda ve develerin enfekte olduğu yapılan birçok çalışma ile belirlenmiştir (Whetstone ve ark. 1988). Koyunlarda BHV-1 ile akut ve latent enfeksiyonun şekillendiği belirlenirken, sığırlara bulaşmada koyunların rol oynamadığı bildirilmiştir (Hage ve ark. 1997). BHV-1'e spesifik antikorlar Asya fillerinde (*Elephas maximus*) klinik semptom göstermeksizin belirlenmiştir (Bhat ve ark. 1997). BHV-1

antilop, vizon ve yaban gelinciklerinden izole edilmiştir (Porter ve ark. 1975). Tavşanlar deneysel BHV-1 ile enfekte olabilmektedir (Biswas ve ark. 2013).

Yaş, cinsiyet ve sürü büyüklüğü BHV-1'in yaygınlığını etkileyen faktörlerdir. Buna göre kalabalık sürülerde 3-6 yaş arasındaki erkek hayvanların BHV-1'e daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Bulaşma, burun, göz ve genital akıntısı ile hayvanlar arası direk temas yoluyla gerçekleşir. Bunun yanında kontamine sperma kullanımı, embriyo transferi uygulamaları, kontamine materyaller bulaşmada önemli rol oynamaktadır. Spermayı dondurarak saklamada bile virusun enfekte etme özelliği devam ettiği için erkek sığırların suni tohumlama yönteminde BHV-1 etkenini taşımamaları gerekmektedir (Muylkens ve ark. 2007).

Hayvancılık sektöründe ciddi ekonomik kayıplara neden olan BHV-1 enfeksiyonunun yayılmasında akut ve latent enfekte hayvanlar ile sperma ve embriyo transferi önemli rol oynar. Bu bakımdan seropozitif olan damızlık hayvanlar özellikle boğalar epidemiyolojik açıdan virus taşıyıcısı ve saçıcısı olarak kabul edilmelidir (Burgu ve Akça 1986).

Bovine Herpes Virus 1'e karşı immun yanıt ya doğal enfeksiyon ya da aşılama sonrası geliştiği, oluşan bu antikorların virusun sistemik yayılışının başlamasına kadar hayvanı klinik hastalıktan koruduğu bildirilmiştir (Wyler ve ark. 1989; Babiuk ve ark. 1996; Bosch ve ark. 1996; Castrucci ve ark. 2002; Dispas ve ark. 2003). Latent safhadaki virusun reaktivasyonu ve sekretlerle tekrar saçılımı, doğum transport gibi stres oluşturan durumlar ve kortikosteroid tedavisi gibi çeşitli uyarıcı faktörlerden sonra meydana gelmektedir (Pastoret ve ark. 1985).

1.4. BHV-1 Enfeksiyonunun Dünya'daki ve Türkiye'deki Yaygınlığı

Dünya çapında yaygın olan BHV-1 enfeksiyonu yapılan serosurveylans çalışmaları sonucu antikor varlığı sığırlarda %48-54 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Pharande ve ark. 2004). Uygulanan kontrol ve eradikasyon programı sonucu Avusturya, Danimarka, Finlandiya, İsveç, İtalya, İsviçre ve Norveç gibi ülkelerin hastalıktan ari statüsünde olduğu bildirilmektedir (Nandi ve ark. 2009).

Türkiye’de BHV-1’e spesifik antikorlar ilk kez sığırlarda 1971’de belirlenmiştir. Ardından ilk virus izolasyonu 1987 yılında gerçekleştirilmiştir. Sonraki yıllarda sığırlarda yapılan seroprevalans çalışmalarında 1974 yılında %54 (Gürtürk ve ark. 1974), 1994 yılında %68 (Çabalar ve ark. 1994), 1997 yılında %59 (Alkan ve ark. 1997), 1998 yılında %74 (Bilge S. 1998), 2006 yılında %19,5 (Tan ve ark. 2006), 2012 yılında %43,5 (Öztürk ve ark 2012), 2013 yılında %72,88 (Avcı ve ark 2013) olarak belirlenmiştir.

Dünya’nın farklı bölgelerinde koyunlarda BHV-1 seropozitifliği Bulgaristan’da %2,4 (Rusanova ve ark 2009), Kanada’da %0 (Lamontagne ve ark. 1985), ABD’de %1,2 (Fulton ve ark. 1982), Minnesota’da %0,5 (Goyal ve ark. 1988), Kanada’da %10,8 (Elazhary ve ark. 1984) ve Nijerya’da %2,9 (Taylor ve ark. 1977) olarak rapor edilmiştir. Farklı ırktan keçilerde birçok araştırmacı, BHV-1 seroprevalansını %5.52-12 arasında bildirmişlerdir (Fulton ve ark. 1982; Elazhary ve ark. 1984; Wafula ve ark. 1985; Zarkov ve ark. 2000; 2004; Rusanova ve ark. 2009)

Türkiye’de ise farklı illerde yapılan araştırmalarda BHV-1 enfeksiyonunun koyunlarda %1,74-2,44; keçilerde ise %0,7-5,52 oranları arasında seyrettiği rapor edilmiştir. İller bazında koyunlarda seropozitiflik oranları Ankara (%3,63), Konya (%1,36-15), Sivas (%1,04), Amasya (%4,25), Batman (%8,33), Aydın (%2,04), Denizli (%22,72) olarak belirlemişlerdir (Yavru ve ark. 1999; Yeşilbağ ve Bilge Dağalp 2006). Keçilerde ise iller bazında BHV-1 seropozitifliği Van (%0,7), Edirne (%2), Çanakkale (%2-6), Balıkesir (%23,33), Denizli (%4,16), Isparta (%31,27) %5,52 (Ataseven ve ark. 2010; Yeşilbağ ve ark. 2003) olarak saptanmıştır.

1.5. Patogenez ve Patoloji

Bovine Herpesvirus 1’in doğal olarak vücuda girişi üst solunum yolu ya da genital kanalların mukoz membranlarıdır. Enfeksiyon ayrıca konjunktival epitelyuma inokulasyon aracılığı ile iletilir. BHV-1 öncelikle direkt temas yoluyla yayılır. Ancak hava yolu ile yayılması da kısa mesafeler için geçerlidir. Genital enfeksiyon direkt temasla gerçekleşir. Virusla kontamine olmuş sperma aracılığı ile de genital enfeksiyon meydana gelmektedir. Spermayı dondurarak saklamada bile virusun enfekte etme özelliği devam ettiği için erkek sığırların suni tohumlama yönteminde BHV-1 etkenini taşımamaları gerekmektedir (Muylkens ve ark. 2007).

Bovine Herpesvirus 1 virusu hedef epitel hücrelerine penetre olduktan sonra BHV-1 litik replikasyon siklusunun oluşmasına yol açar. Bu durumda birbirini izleyen viral genlerin oluşumuna ve yeni projeni virusların üremesine ve hücre ölümlerine sebebiyet verir. BHV-1 hücrede intranükleer inkluzyon cisimciklerinin artması ve hücre balonlaşması ile karakterize sitopatolojik efekt (cpe) oluşturur. BHV-1'in replikasyon siklusu boyunca hücrede apoptosis ve nekrozla karakterize hücre ölümleri şekillenir (Muylkens ve ark. 2007).

Bovine Herpesvirus 1'in doğal olarak portal yollarla girmesi sonucunda büyük çapta virus yayılması gerçekleşir. Yeni oluşan projeni viruslar nasal mukusla yüksek miktarda etrafa saçılır ve bu da sığır sürüleri arasında enfeksiyonun hızlı bir şekilde yayılmasına yol açar. Yeni oluşan projeni viruslar enfekte hayvanlarda lokal, sistemik ve nöronal yayılım gösterirler (Engels ve Ackermann 1996; Muylkens ve ark. 2007).

Boğalarda genital enfeksiyon esnasında distal üretra kısmındaki prepusyal akıntıdan virus izolasyonu 2-10 gün içerisinde yapılabilir. Fakat proksimal üretradan, eklenti bezlerinden (accessory gland), epididimisten veya testislerden virus izolasyonu yapılamaz (Engels ve Ackermann 1996).

Respiratorik kanalda meydana gelen virus çoğalması rhinitise, laryngitise ve soluk borusundaki mikrovililerin azalması sonucunda ortaya çıkan tracheitis vb. yangısal değişikliklerin oluşmasına sebebiyet verir (Nandi ve ark. 2009).

Sığırlardaki *M. haemolytica*, *P. multocida* ve *H. somnis* vb. gibi bakteriyel enfeksiyonlara maruz kalma sonucunda BHV-1 enfeksiyonuna karşı hücresel bağışıklıkta ve dirençte azalma meydana gelir (Leite ve ark. 2002).

Lezyonlar nasal kanaldan gözlerin iç kısmındaki nasolacrimal kanal içlerine kadar yayılım gösterebilir. Bunun sonucunda burun akıntısı ve konjunktivitis görülebilir. Virus nasal mukozadan trigeminal sinirler aracılığı ile beyin dokusuna geçiş gösterebilmektedir. Bunun sonucunda buna bağlı olarak meningoencephalitis şekillenebilmektedir. Virus ayrıca plasentaya ulaşıp fötusa geçerek abortla sonuçlanan belirtilere sebebiyet verebilmektedir (Nandi ve ark. 2009).

Genç buzağılarda hastalığın sistemik formunda sıklıkla yüksek mortalite oranları görülebilmektedir. Buzağılarda BHV-1'in inokulasyonunu takiben virus prepisyumdan izole edilebilmektedir (Ackermann ve Engels, 2005).

Bovine Herpesvirus 1 DNA genomuna sahip olup, herpesvirusların genel karakteri olan latentlik özelliği taşır. Viral genom akut enfeksiyonu takiben trigeminal ve sakral gangliyonlara yerleşerek latent enfeksiyon gerçekleşmektedir (Ackermann ve ark. 1982; Ackermann ve Wyler 1984; Straub 1991).

Virus kandaki monositleri enfekte edebilir. Lenfositlere tutunabilir. Alfaherpesvirus enfeksiyonlarındaki viremide lenfatik invazyon sonucunda lenf düğümleri ve lenf nodülleri aracılığıyla sistemik yayılım gerçekleşir (Nandi ve ark. 2009). Virus mukozal yüzeyde meydana gelen primer enfeksiyon sırasında mukoza içindeki sinir uçları yoluyla nöronları enfekte eder ve merkezi sinir sistemine doğru ilerler (Muylkens ve ark. 2007). İlk replikasyon esnasında herpesviruslar lokal sinir uçlarındaki aksonlara girerler, sonra aksonlar arası geçiş ile intraaksonal yayılım yoluyla bölgesel gangliyonlara ulaşır ve burada latentlik şekillenir (Nandi ve ark. 2009).

Bovine Herpesvirus 1, üst solunum yolu, genital kanal mukozaları veya konjunktival epitelyum yolu ile vücuda girer ve ilk bu dokularda replike olarak primer enfeksiyonu oluşturur. Etken primer enfeksiyonun ardından lokal sensör nöronlara geçerek ilişkili (trigeminal ve sakral) gangliyonlarda latent olarak kalır (Ackermann ve Wyler 1984; Straub 1991). Sonraki dönemlerde özellikle gebelik, nakil vb. stres faktörleri veya kortikosteroid uygulamalarının etkisiyle virus aktivasyonu şekillenebilir. Virusun her reaktivasyonunda klinik bulgular görülebilir ve virusun saçılımı gerçekleşir (Ackermann ve ark. 1982; Ackermann ve Wyler 1984; Straub 1991).

Bovine Herpesvirus 1, Bovine Viral Diarrhe (BVD), Bovine Parainfluenza 3 (BPI3), Bovine Respiratorik Sinsityal Virus (BRSV) ile birlikte kompleks solunum yolu hastalığı (Bovine Respiratory Disease) (BRD) patojenlerinden biridir (Biswas ve ark 2013).

Virusun hücreye girişi en az iki hücresel reseptör ve birkaç glikoprotein içerir ve bu olay birkaç aşamalı süreç içerisinde meydana gelir (Mettenleiter 1994). Öncelikle

glikoprotein C hücre yüzeyindeki heparan sülfata bağlanır. Bu reseptör moleküller pek çok hücrede bulunmaktadır. Bu durum değişik hücre tiplerinde herpesviruslerin tutunmasına izin vermektedir. Glikoprotein C (gC)'nin heparan sülfat kısmına bağlanması gevşek bir tutunmaya yol açmaktadır ve bu durum glikoprotein D' nin varsayımsal olarak 2. Hücrel reseptöre bağlanması sürecini izler. gD' nin bağlanması virus girişinin başlangıcı için gereklidir ve virus tutunmasının ve membran füzyonunun (diğer hücrel veya viral bileşenlerle etkileşime geçerek) aşamaları için gereklidir (Nandi ve ark. 2009).

Glioprotein C (gC)' nin çıkarılması ve aynı zamanda glikoprotein E (gE) eksikliği durumlarında virusun enfektivitesinde azalma olduğu ortaya konmuştur (Engels ve Ackermann 1996).

1.6. Klinik Belirtiler

Bovine Herpes Virus 1 (BHV-1) özellikle sığırlarda, bulaşıcı, akut ve latent seyirli enfeksiyonlara yol açan önemli bir viral patojendir. Virus, başta üst solunum yolu (IBR) ve genital kanal enfeksiyonu (IPV, IBP) olmak üzere yerleştiği dokuya göre değişen farklı klinik tablolar oluşturmaktadır. BHV-1 rhinitis, trakeitis, ateş, konjunktivitis, süt veriminde düşme, abort, genital sistemde lezyon, repeat breeding (döl tutmama) ve genç sığırlarda ensefalitise neden olur ve hastalık Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) olarak adlandırılır. Virus aynı zamanda genital enfeksiyonlara da neden olduğundan meydana getirdiği hastalık formu İnfeksiyöz Pustular Vulvovaginitis ve İnfeksiyöz Pustular Balanopostitis (IBR-IPV) olarak da belirtilmektedir (Wyler ve ark. 1989).

Doğal enfeksiyonda inkubasyon periyodu sığırlarda 10-20 gün arasında değişiklik göstermektedir. Solunum formu (Respiratorik form), genital form, oküler ve ensefalomiyelitik form olmak üzere klinik belirtiler göstermektedir (Nandi ve ark. 2009). Respiratorik form (IBR) %100 morbidite ve %10 mortalite ile seyreder. Hafif seyirli vakalarda seröz burun ve oküler akıntı gözlenir. IBR için yüksek ateş (40.5-42°C), iştahsızlık, solunum sayısında artma, dispne, depresyon, öksürük ve süt veriminde düşme ile karakterizedir. Bilateral burun akıntısı başlangıçta seröz hastalığın ilerleyen döneminde ise mukopurulenttir. Nazal mukoza hiperemiktir ve lezyonlar pustuler nekrozdan geniş hemorajik ve ülseratif alanlara kadar değişiklik göstermektedir (Murphy ve ark. 1999).

Eğer bu bölgelerdeki kabuk kaldırılırsa altındaki doku hiperemiktir ve bu nedenle enfeksiyon kırmızı burun (rednose) olarak da bilinmektedir (Nandi ve ark. 2009).

Komplike olmayan akut vakalar 5-10 gün içinde sonuçlanır ve hayvanlar hızla düzelir. Fakat virusun taşıyıcısı hale gelirler (Tikoo ve ark. 1995). BHV-1'in solunum formu seronegatif gebe ineklerde aborta neden olabilmektedir. Viremide BHV-1 maternal-fötal bariyeri (plasenta bariyeri) geçerek fötusta letal enfeksiyon oluşturabilir (Owen ve ark. 1974).

Konjonktivit: BHV-1 enfeksiyonunun 'epidemik konjonktivit'i andıran konjonktival formu oldukça seyrek görülür. Ara sıra korneaya yayılabilmekte ve panoftalmit olabilmektedir (İşcan 2010). BHV-1 enfeksiyonunun konjonktival formu sığırlarda unilateral ve bilateral olarak bol gözyaşı akıntısıyla şekillenir. Enfekte hayvanlarda fotofobi gözlenir. Gözyaşı akıntısında sekonder bakteriyel etkenler ve irin bulunabilir. Kornea genellikle enfekte olmaz fakat sekonder bakteriyel enfeksiyonlar sonucu keratitis ve korneal ülserasyonlar şekillenir (Murphy ve ark. 1999). Komplike olmayan semptomlar 5-10 gün içerisinde ortadan kalkar (Nandi ve ark. 2009).

Bovine Herpesvirus 1 enfeksiyonunun genital formunda (IPV/IPB) akut IPV çiftleşmeden 1-3 gün sonra sık idrar yapma ve kuyruğunu sallama (swishing) karakteristik olarak şekillenir. Enfekte hayvanlarda ateş, depresyon, anoreksi meydana gelir. Vulva hiperemik ve 1-2 mm çapında küçük püstüller bulunur. Vajinal akıntı irinlidir ve sekonder bakteriyel etkenleri barındırır. Lezyonlar 10-14 gün içerisinde gerilerken, bazı hayvanlarda haftalar boyunca purulent vaginal akıntı gözlenmektedir (Turin ve Russo 2003). IPB 1-3 günlük inkubasyon periyodu ardından penis ve prepisyum mukozasında IPV'ye benzer lezyonlar ile şekillenir. Bu durumda çiftleşme devam ederse skar (nedbe) dokusu şekillenir. Komplike olmayan vakalarda 10-14 gün içerisinde iyileşme görülmesine rağmen bazı hayvanlarda libido kaybı, ağırlı ereksiyon ve ejakulasyon gözlemlenir (Tikoo ve ark. 1995).

Bovine Herpesvirus 1 enfeksiyonunun encephalitik formunda ise kaslarda koordinasyon bozukluğu, spazmlar ve titreme ile karakterize belirtiler gözlemlenir. Etkilenen hastalarda belirtilerin devamında tökezleyip düşme görülür. Bacak kaslarındaki spazmın yanında bel ve boyun kaslarında opistotonus şekillenir. Nörolojik belirtilerin akut

safhasında genellikle 4 gün içinde koma ve ölümler gözlemlenebilir. Encephalitik forma yakalanan hastaların bazılarında iyileşme görülebilmektedir (Schudel ve ark. 1986).

Sığır respiratuar hastalık kompleksi (Bovine Respiratory Disease Complex) BHV-1, Bovine Viral Diyare virus, Parainfluenza-3 virus ile *Pasteurella multocida* etkenlerinden oluşur. Hastalık kompleksi Shipping fever olarak da bilinir ve atipik intersitisyel pneumoni ve buzağılarda enzootik pneumoniye neden olur. Taşıma sırasında kalabalık ortam, yorgunluk, yetersiz beslenme ve su ile iklim değişiklikleri sonucu ortaya çıkan stres faktörleri hastalık kompleksi semptomlarının oluşumunu tetikler (Biswas ve ark. 2013).

1.7. İmmunité

Herpesvirus enfeksiyonlarında hem humoral hem de hücrel immun yanıt oluşur. Humoral immun yanıt BHV-1 enfeksiyonlarının iyileşmesinde büyük rol oynar. Hücrel immun yanıt ise daha çok rekurrent enfeksiyonları önlemeye çalışır. Çünkü immun supresyondan dolayı latent BHV-1 enfeksiyonu gelişebilir (Yıldırım 2003).

Doğumdan sonraki ilk saatlerde BHV-1'e karşı bağışık olan annelerden kolostrum alabilen yavruarda yeterli seviyede antikor bulunur. Anneden alınan antikor miktarına bağlı olarak maternal antikorlar yavruyu ilk birkaç ay koruyabilmektedir (İşcan 2010). Fakat antikoru düşük miktarlarda taşıyan anneleri emen yavruarda ve aynı zamanda doğumdan sonraki ilk saatlerde kolostrum alamamış yavruarda hastalık şiddetli ve sistemik seyretmektedir (Kahrs ve ark. 1977).

Primer enfeksiyonu takiben BHV-1 enfeksiyonuna karşı oluşan ilk cevap spesifik olmayan yangısal ve hücrel reaksiyon olarak meydana gelir. Virus replikasyonunun ardından indüklenen IFN salınımı ve komplement aktivasyonu spesifik olmayan mekanizmalardandır. Erken sitokin salınımı, makrofaj, polimorf nükleer nötrofiller, büyük granüler lenfositler ve doğal öldürücü hücreleri (Natural Killer Cells-NK) gibi hücrelerin aktivasyonuna neden olur. Nonspesifik aktive olan immun sistem hücreleri BHV-1'e karşı spesifik immun yanıtın başlamasında önemlidir (Muylkens ve ark. 2007; Babiuk ve ark. 1996).

Spesifik hücrel immun yanıt enfeksiyondan sonraki 5. gün belirlenir ve enfeksiyondan sonraki 7 ila 10 günde en yüksek seviyeye ulaşır (Muylkens ve ark. 2007). BHV-1 enfeksiyonlarına karşı oluşan hücrel immun yanıt makrofajların, interleukin-2 ve interferon-gama üretiminin, doğal öldürücü hücrelerinin (Natural Killer Cells) ve doğal öldürücü hücrelerinin aktivitelerinin, viral gC ve gD- spesifik CD4⁺T-cells proliferasyonunun ve aynı zamanda sitotoksik T lenfosit aktivitelerinin uyarılmasının kontrolü altındadır (Tikoo ve ark. 1995). Majör tegument proteinlerine ek olarak gB, gC ve gD proliferatif yanıtta önemli rol üstlenirler ve hücrel immun yanıtta rol oynamaktadırlar. Buna ek olarak bu proteinler üzerindeki epitoplara CD⁺4 T lenfositleri stimüle ederek aktivasyonuna yol açmaktadırlar (Babiuk ve ark. 1996).

İnterferon-gama, interferon- α ve interferon- β hem farelerde deneysel enfeksiyonlarda viral yayılmayı önler hem de enfeksiyonlara karşı korunmayı sağlar (Abril ve ark. 2004). BHV-1 enfeksiyonuna yanıt temel olarak hem T1 Yardımcı hücre hem de T2 Yardımcı hücre yanıtıyla olmasına rağmen (Babiuk ve ark. 1996) bunun yanında diğer hücre içi patojenlerde T Yardımcı hücre 1 ile yanıt olmaktadır (Mena ve ark. 2002).

Spesifik humoral immun yanıt enfeksiyonun 10. gününden itibaren saptanabilir (Muylkens ve ark. 2007). İnfeksiyon sonrasında kanda farklı türden immunglobulinler sentezlenir. IgA ve IgM ikinci hafta sonunda maksimum titreye ulaşırken, IgG ise 2-4 hafta sonra maksimum titreye ulaşır (İşcan 2010). Antikorlar primer enfeksiyonun iyileşmesinde daha az öneme sahip olsa da antikor yanıtı sekonder enfeksiyonların önlenmesinde kritik bir öneme sahiptir. Kolostral (maternal) antikorlar tarafından oluşan pasif immunité sistemik ve letal hastalıklara karşı korunmada oldukça etkilidir (Babiuk ve ark. 1996; Muylkens ve ark. 2007).

Doğal enfeksiyonun yanısıra deneysel enfeksiyon ve aşılama viremiye karşı glikoproteinlerinin (gB, gC, gD ve gE) korunmasına karşı antikorları işaret eder (Tikoo ve ark. 1995) ve pek çok hastalıkla ilişkilendirilebilir (Mechor ve ark. 1987). Antikor tepkisi genellikle nötralize edilen antikorları içerir ve antiviral antikor-bağımlı hücrel sitotoksositeye yol açar (Tikoo ve ark. 1995). BHV-1 virus enfeksiyonundan üç yıl sonra bile sirkülasyondaki antikorların dayanıklılığını koruduğu görülmüştür (Hage ve ark. 1997).

IBR ile meydana gelen enfeksiyonda primer immün yanıt sonucu Ig G1 şekillenir, enfeksiyona tekrar maruz kalma durumu söz konusu olduğunda Ig G2 antikorları bu kez sentezlenmeye başlar (Guy ve Potgieter 1985). Antikorlar kanda uzun süre yüksek titrede kalmazlar, antikor titresinde azalma ile birlikte latent olan virus tekrar reaktif olup saçılmaya başlar (Huck ve ark. 1973).

1.8. Teşhis

Bovine Herpesvirus 1 enfeksiyonlarında belirgin klinik semptomlar, histopatolojik ve epidemiyolojik bulgular gözlemlenmekle birlikte, hastalığa özgü patognomonik bir bulgu bulunmamaktadır (OIE 2010). Enfeksiyonun kesin teşhisi ancak laboratuvar analizleri sonucu konulabilmektedir (Rola ve ark. 2005).

Bovine Herpesvirus 1 enfeksiyonlarının teşhisi amacıyla antijenin tespit edilebilmesi için kan, süt, abort materyalleri ve mukozal swablar gibi numuneler kullanılmaktadır (Edwards ve ark. 1983). Alınacak örnekler +4°C'de en kısa sürede laboratuvara gönderilmelidir.

Bovine Herpesvirus 1 enfeksiyonlarının, hücre kültürleri, seroloji, histopatoloji, PCR ve elektron mikroskop ile teşhisi yapılabilmektedir (Biswas 2013).

Bovine Herpesvirus 1 kolaylıkla primer olarak hücre kültürlerinde, sekonder olarak sığır böbrek, akciğer, testis, trakea ve Madin–Darby Bovine Kidney (MDBK) veya CRIB hücre hatlarından izole edilebilir (Nandi ve ark. 2009). Virus ayrıca nasal, konjunktival, vaginal sıvaplardan, prepusyal akıntidan, plasentada bulunan kotiledonlardan, aborte fötustan fötal karaciğer, akciğer, dalak, böbrek, lenf nodülleri, solunum sistemi müköz membranları, tonsiller ve akciğerlerdeki virus transport ortamı içinde bulunan yerlerden de izole edilebilmektedir. Virusun varlığı sitopatolojik efekt oluşturmasıyla algılanır. BHV-1 enfeksiyonlarında CPE görülmesi karakteristiktir ve inokulasyondan 3 gün içinde genellikle görülmektedir. Hücre kültüründe mikroplağın etrafında yuvarlak hücrelerin üzüm salkımı şeklinde kümeleri mevcuttur. Hücreler çok fazla hücre kültürlerinde bekletilirse hücreler parçalanır. Numuneler ile inokule edilmiş hücre kültürleri 7 gün içinde gözlenir. Örnekler negatif olarak nitelendirilmeden önce hücre kültürleri en fazla üç kez pasajlanır (Straub 1990; Turin ve Russo 2003).

Histopatolojik olarak Cowdry A tipindeki intranükleer inkluzyon cisimcikleri sıklıkla erken safhada vaginal biyopsi sonucu alınan dokudaki epiteliyal hücrelerinden tanımlanmaktadır (Nandi ve ark. 2009). Bu inkluzyon cisimcikleri aynı zamanda aborte fötüs dokularında ve encephalitis durumunda beyinde de bulunmaktadır. Bu inkluzyonlar geçici olduğu için histolojik incelemeler tanı için sınırlı bir değer taşır (Turin ve Russo 2003). BHV-1 enfeksiyonlarının encephalitik formunda nöron dejenerasyonları, hemorajiler, satellitosis ve perivasküler nörofajiler görülür (Belknap ve ark. 1994; Meyer ve ark. 2001; Perez ve ark. 2003).

Elektron mikroskop kullanımı klinik materyaldeki virus partikülünü tanımlamada teşhiste hızlı bir metot olarak kullanılmaktadır. Fakat hastalığın erken safhasında kullanılmalıdır (Nandi ve ark. 2009).

Enfeksiyonun akut ve kronik dönemindeki antikorların ve titrelerinin belirlenmesinde çeşitli serolojik testler kullanılmaktadır. Ig G ve Ig M antikorlarının formasyonunun belirlenmesi ile deneysel BHV-1 enfeksiyonuna karşı oluşan primer yanıtın karakteri belirlenir. İkincil immün yanıtta Ig G2'lerin yapısı baz alınır (Biswas ve ark. 2013).

Virus Nötralizasyon Testi (VNT) diğer testlerle karşılaştırıldığında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Perrin ve ark. 1996). VN testleri BHV-1'e özgü antikorları belirlemede hassas olması nedeniyle eradikasyon programlarında referans test olarak kullanılmaktadır (Wylter ve ark. 1989). Bununla birlikte Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) de BHV-1'e özgü antikorları tespit etmede kullanılan bir diğer tekniktir. Serolojik teşhiste ELISA (indirekt ELISA, kompetitif ELISA, sandviç ELISA), serum nötralizasyon antikor teşhisinde kullanılan spesifik, duyarlı ve pratik testlerdir. Hücre aracılı immün yanıt ilk olarak enfeksiyondan 5 gün sonra tespit edilmeye başlanırken en yüksek seviyeye enfeksiyondan 8-10 gün sonra ulaşır. Nötralizan antikorlar (Ig M ve Ig G) enfeksiyondan yaklaşık 7 gün sonra belirlenir. Ticari BHV-1 gE'yi saptayan blocking ELISA aşılı ve doğal enfeksiyonun ayrılmasında kullanılır (Turin ve Russo 2003).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction; PCR) ise virusun hızlı tespitinde virus izolasyonu kadar duyarlı alternatif bir testtir. PCR virus izolasyonuna oranla çok kısa bir sürede sonuç alınmasını sağlar. Nasal sıvapta deneysel enfeksiyondan

14 gün sonra PCR ile virus belirlenir. Bunun yanında spermadan ve f3tal serumda da viral partik3ller tespit edilir (Biswas ve ark. 2013; Nandi ve ark. 2009).

Bovine Herpesvirus 1 enfeksiyonlarının teŒhisinde ELISA, Virus N3tralizasyon testi ve PCR'ın yanısıra antikorların teŒhisinde İndirekt hemaglutinasyon test (Karadzhev ve ark. 1979), İmmunodif3zyon (Straub ve ark. 1982), couterimmunoelctrophoresis (Aguilar ve ark. 1980) ve komplement fikzasyon test (Karadzhev ve ark. 1980) gibi bir takım testler de kullanılabilir.

1.9. AŒılama

BHV-1 enfeksiyonlarının y3ksek oranda seyrettiği 3lkelerde BHV-1 enfeksiyonunun kontrol3nde virus sirk3lasyonunu en aza indirmek i3in aŒılama 3zerinde durulmaktadır (Burgu ve ark. 1999). BHV-1 enfeksiyonlarının kontrol3nde Modifiye Canlı Virus aŒıları (MLV- modified live virus vaccine), inaktif veya 3l3 virus aŒıları, sub3nit aŒılar ve marker aŒılar olmak 3zere d3rt 3eŒit aŒılama mevcuttur (Nandi ve ark. 2009)

1.9.1. Modifiye Canlı Virus AŒıları

Modifiye Canlı Virus aŒılarının (Modified Live Virus Vaccine; MLV) 33 tipi mevcuttur. Parenteral aŒılama sığır f3tal b3brek doku k3lt3rlerinden yapılır. Bunun yanısıra iki tip intranasal uygulanan aŒı da tavŒan doku k3lt3rlerinden ya da sığır doku k3lt3rlerinden yapılmaktadır ve BHV-1'in mutant formunu i3ermektedir (Nandi ve ark. 2009). MLV aŒılması lokal mukozal bađıŒıklıđa g3re daha hızlı immun cevabın oluŒmasına neden olur (Whetstone ve ark. 1986). Hem parenteral aŒılama hem de intranasal aŒılama humoral antikorların oluŒmasını stim3le eder. İntanasal aŒılama burun mukozasında lokal interferon ve lokal antikor 3retimini uyarır ve gebe sığırda kullanımı g3venlidir. Ayrıca abortun 3nlenmesinde olduk3a etkilidir. İntanasal aŒılar verililiŒinden 72 saat i3erisinde solunum formuna karŒı koruma sağlar. İntanasal aŒılama i3in 2 ml'lik sulandırılmıŒ aŒı bir burun deliğinden dikkatli bir Œekilde verilmelidir; 33nk3 bu aŒı sadece nasal mukozada 3rer. Parenteral MLV aŒısı potansiyel olarak aborta neden olabilir ve bađıŒık olmayan gebe hayvanlarda kullanılmamalıdır. MLV aŒısındaki virus bazen aŒının yapılmasından sonra latent kalabileceğinden farkına varılmalıdır (Biswas ve ark. 2013).

Canlı virus aşılarının en büyük dezavantajı aşı virusunun latent kalabilmesi ve aşılardan sonra da değişik periyotlarla virusun saçılmasıdır. MLV aşıları seronegatif dişilere uygulandığında ovarial lezyonlara neden olmaktadır. Canlı aşıların virusun latent halde kalmasını engelleyemediği ancak antikor titresini yükselterek tekrarlayan enfeksiyonlarda hastalığın şiddetini ve ölümleri indirgediği belirtilmektedir (Smith ve ark. 1994; Straub 1990; Burgu ve Bilge-Dağalp 1999).

1.9.2. İnaktif Aşılama

İnaktive edilen aşıların MLV aşıları üzerinde bazı avantajları vardır. Çünkü aborta, immunsupresyona veya latentliğe neden olmaz. Genellikle 10-14 gün aralığında iki doz uygulanır ve 2. dozun uygulanmasından 7-10 gün içinde koruma gözlenir (Patel 2005). İnaktive aşılar MLV aşıları kadar etkili değildir, çünkü alkileştirilmiş ajanlar tarafından yürütülen inaktivasyon süreci boyunca bazı koruyucu antijenler potansiyel yıkım yaratabilir. Etkiyi arttırmak için adjuvant mutlaka eklenmelidir (Johannes ve ark. 2004). İnaktif virus aşıları gebe hayvanlarda rahatça kullanılabilse de inaktif aşılarla sağlanan immunitenin yetersiz olduğu belirtilmektedir (Smith ve ark. 1994).

1.9.3. Subunit Aşılama

Subunit aşılar patojenik ajanların (belirli immünolojik glikoproteinler) fragmentlerinden üretilmiş aşıları tanımlar. Bu aşıların özel olarak saflaştırılmış versiyonları marker aşı olarak kullanılabilir. Bununla birlikte bu metot ile canlı aşı üretimi mümkün olamamaktadır (Burgu ve Bilge-Dağalp 1999).

Subunit aşılama koruyucu bağışıklığı harekete geçirmek için gerekli olan bir veya daha fazla virus antijeni taşır, nükleik asitten yoksundur ve diğer bileşenleri istenmeyen yan etkilere neden olabilir (Brunner ve ark. 1988). BHV-1'de gB, gC ve gD glikoproteinleri immunojeniktir ve virustan etkilenen hücrelerden ayrılmıştır ve peptid sentez haline gelmiştir (Nandi ve ark. 2009).

1.9.4. Marker Aşılama

Marker aşuların canlı gE, ölü gE, ölü gG, canlı gC, subunit gD, subunit gB ve etkisiz replikasyon gD gibi farklı tipleri mevcuttur. Buzağular 7 haftalık iken aşılanır ve intranasal aşılamadan sonra 3. gün içinde, intramuskuler enjeksiyondan sonra ise 7. gün içinde klinik belirtilerde bir azalma söz konusudur (Biswas ve ark. 2013). Marker aşular, saha virusunda bulunan bir veya birden çok antijenik proteinleri eksik olduğu için saha virusu ile enfeksiyondan sonra oluşan antikor yanıtından ayrılabilen bir antikor yanıtı oluştururlar. Böylece aşı ve doğal enfekte hayvanların ayrımı yapılabilmekte ve sürüde virus taşıyıcı (latent enfekte) hayvanların belirlenmesi ile eliminasyonuna olanak sağlanabilmektedir (Burgu ve Bilge-Dağalp 1999).

1.10. Kontrol

BHV-1 hastalığının yayılması ulusal düzeyde bir aşılama programının uygulanmasıyla düşürülebilir. Buna karşın Danimarka, Finlandiya, İsveç, Avusturya, İsviçre ve Fransa gibi ülkeler hayvanları uzaklaştırarak ve hayvanları imha politikası izleyerek hastalığı eradike etmeye çalışmışlardır (Ackermann ve Engels 2005). Aşılama eliminasyon programları Almanya'da yürütülmektedir (Van Drunen Littel-Van den Hurk 2006). Marker aşılanmanın kullanılması aşılanmış ve doğal yolla enfekte olmuş hayvanların ayrılmasını sağladığı için önerilmektedir. Böylece her iki durumda da virus taşıdığı için marker aşular ile aşılanmış ve doğal yolla enfekte olmuş hayvanlar arasındaki farklılık gösterilmiş olacaktır. Ayrıca hareket kontrolünü sağlayabilmek adına enfekte olmuş hayvanların sıkı bir şekilde izole edilmesi gerekmektedir (Xiao ve ark. 2004). Çeşitli Avrupa ülkeleri başarılı bir şekilde eradike edilmiş BHV-1'i kullanmaktadırlar. Ancak diğerleri hala enfeksiyonu eradike etmek için çaba sarfetmektedirler. Etkili gözetim ve kontrol araçları BHV-1'in olmadığı sürü/çiftliklerde BHV-1'in yeniden tanıtılması riskinden kaçınmak için gereklidir. Doğru çiftlik yönetim uygulamaları, hayvan hijyeni, hijyenik araçlar ayrıca uygulanmalıdır (Noordegraaf ve ark. 2000; Boelaert ve ark. 2005).

Koyun ve Keçi yetiştiriciliğinde yüksek verimin elde edilebilmesi için, enfeksiyöz hastalıklardan koruma önemli bir rol oynamaktadır. Bu amaçla, ülkemizde son yıllarda yapılan çalışmalarda koyun ve keçilerde görülen mavidil, maedi-visna, caprine arthritis-encephalitis ve parainfluenza virus-3 gibi viral enfeksiyonlar bölgesel düzeyde detaylı

olarak incelenmiştir (Ataseven ve ark. 2010; Azkur ve ark. 2011b). Viral hastalıkların tanısının yapılması ve bu şekilde detaylı epidemiyolojik durumlarının araştırılması, mücadele yöntemlerinin belirlenmesi ve geliştirilmesi için önemli bir kriterdir. Viral hastalıkların epidemiyolojik kontrol ve analizlerinin düzenli olarak yapılması ve teşhis edilmesi ile bölgedeki varlıklarının ve yaygınlıklarının belirlenmesi mücadele, kontrol ve eradikasyon açısından çok önemli olup, bu hastalıklardan kaynaklanan ekonomik kayıpların azaltılmasına ve hatta ortadan kaldırılmasına yardımcı olabilmektedir.

Hastalık etkenlerinin bilinmesi ve yöredeki durumunun belirlenmesi hastalıklarla mücadelede başarıya ulaştıran önemli faktörlerdendir. Bu çalışma ile Aydın ve İzmir illerindeki koyun ve keçi yetiştiren küçük aile işletmelerinde BHV-1 enfeksiyonunun serolojik olarak varlığının ve yaygınlık oranının saptanması amaçlanmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen bilgiler ışığında enfeksiyonun küçükbaş hayvanlar için bir tehlike oluşturup oluşturmadığının ve koyun ve keçilerin hastalığın epizootiyolojisindeki rolünün belirlenmesi hedeflenmiştir. Ayrıca çalışma sonuçları ile birlikte yetiştiricilere gerekli bilginin verilmesi, hastalık ve diğer enfeksiyonlara karşı alınması gereken önlemler konusunda önerilerde bulunulması ve yetiştirici ile üniversite olanakları arasında bir köprü kurulması planlanmıştır. Bu araştırma ile bölgedeki hastalıktan kaynaklanan kayıpların azaltılması ve enfeksiyonla mücadele edilmesi amacıyla daha sonra yapılacak olan geniş kapsamlı araştırmalara ışık tutabileceğine inanılmaktadır. Bunların sonucunda, söz konusu olan viral enfeksiyondan kaynaklanan ekonomik kayıpları en az düzeye indirmek hedeflenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Örneklenen Hayvanlar

Bu araştırmada, Aydın ve İzmir illerinde bulunan özel sektöre ait sürü kapasiteleri 20 ile 600 arasında değişen 47 adet işletmede bulunan koyun ve keçide BHV-1 enfeksiyonu varlığı araştırıldı. Örneklenen koyun ve keçiler bir arada veya birbirlerine yakın çiftliklerde yetiştirilmekteydi. Örnekleme esnasında hayvanların hangi işletmede oldukları, hayvanlara ait tür, kulak numarası, cinsiyet, ırk, doğum tarihleri, sağlık durumu, hayvan sahibinin adı, soyadı, adresi vb. bilgiler kaydedildi. Hayvanların tamamı Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Koyun ve Keçi Kayıt Sistemi (KKKS)'nden tüm bilgiler kontrol edildi.

Kan örnekleri steril kaolinli vakumlu tüplere vena jugularis'ten alındı ve kısa sürede laboratuvara ulaştırılarak test edilmeye hazır hale getirildi.

Araştırmada, genel olarak 47 adet işletmeden 128'i keçi, 332'si koyun olmak üzere toplam 460 adet hayvandan kan örneği alındı. İzmir ilindeki 27 adet işletmeden 39'u keçi ve 211'i koyun olmak üzere toplam 250 adet hayvan, Aydın ilinden ise 20 adet işletmede 89'u keçi ve 121'i koyun olmak üzere toplam 210 adet hayvan örneklendi (Çizelge 2.1.).

Çizelge 2.1. Tür bazında illere göre örneklenen hayvan ve işletme sayıları

	İşletme	Keçi	Koyun	Toplam Hayvan
İzmir	27	39	211	250
Aydın	20	89	121	210
Toplam	47	128	332	460

Araştırmada İzmir ve Aydın yöresi ayrı ayrı incelendiği zaman İzmir yöresinde; I no'lu işletmede 21 adet, II no'lu işletmede 4 adet, III no'lu işletmede 24 adet, IV no'lu işletmede 1 adet, V no'lu işletmede 25 adet, VI no'lu işletmede 25 adet, VII no'lu işletmede 1 adet, VIII no'lu işletmede 6 adet, IX no'lu işletmede 1 adet, X no'lu işletmede

6 adet, XI no'lu işletmede 35 adet, XII no'lu işletmede 1 adet, XIII no'lu işletmede 34 adet, XIV no'lu işletmede 1 adet, XV no'lu işletmede 14 adet, XVI no'lu işletmede 6 adet, XVII no'lu işletmede 1 adet, XVIII no'lu işletmede 1 adet, XIX no'lu işletmede 1 adet, XX no'lu işletmede 2 adet, XXI no'lu işletmede 1 adet, XXII no'lu işletmede 3 adet, XXIII no'lu işletmede 22 adet, XXIV no'lu işletmede 5 adet, XXV no'lu işletmede 7 adet, XXVI no'lu işletmede 1 adet ve XXVII no'lu işletmede 1 adet olmak üzere toplam 250 adet koyun ve keçiden kan örneği toplandı (Çizelge 2.2.).

Aydın yöresinde ise I no'lu işletmede 29 adet, II no'lu işletmede 6 adet, III no'lu işletmede 15 adet, IV no'lu işletmede 1 adet, V no'lu işletmede 23 adet, VI no'lu işletmede 1 adet, VII no'lu işletmede 2 adet, VIII no'lu işletmede 1 adet, IX no'lu işletmede 22 adet, X no'lu işletmede 1 adet, XI no'lu işletmede 1 adet, XII no'lu işletmede 18 adet, XIII no'lu işletmede 2 adet, XIV no'lu işletmede 12 adet, XV no'lu işletmede 1 adet, XVI no'lu işletmede 2 adet, XVII no'lu işletmede 25 adet, XVIII no'lu işletmede 4 adet, XIX no'lu işletmede 42 adet ve XX no'lu işletmede 2 adet olmak üzere toplam 210 adet koyun ve keçiden kan örneği toplandı (Çizelge 2.3.).

Çizelge 2.2. İzmir'deki işletmelere göre örneklenen hayvan sayısı

İşletme No	Toplam Hayvan Sayısı	İşletme No	Toplam Hayvan Sayısı
I	21	XV	14
II	4	XVI	6
III	24	XVII	1
IV	1	XVIII	1
V	25	XIX	1
VI	25	XX	2
VII	1	XXI	1
VIII	6	XXII	3
IX	1	XXIII	22
X	6	XXIV	5
XI	35	XXV	7
XII	1	XXVI	1
XIII	34	XXVII	1
XIV	1		
TOPLAM			250

Çizelge 2.3. Aydın'daki işletmelere göre örneklenen hayvan sayısı

İşletme No	Toplam Hayvan Sayısı	İşletme No	Toplam Hayvan Sayısı
I	29	XI	1
II	6	XII	18
III	15	XIII	2
IV	1	XIV	12
V	23	XV	1
VI	1	XVI	2
VII	2	XVII	25
VIII	1	XVIII	4
IX	22	XIX	42
X	1	XX	2
TOPLAM			210

Hayvanların yaşları baz alınarak BHV-1 enfeksiyonu dağılımlarının incelenmesi için Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın Koyun Keçi Kayıt Sistemi (KKKS) verilerine göre koyun ve keçiler 6 aydan ile 8 yaşına kadar gruplandırıldı. Keçilerin 5 adedi 8 yaşında, 28 adedi 7 yaşında, 13 adedi 6 yaşında, 12 adedi 5 yaşında, 13 adedi 4 yaşında , 15 adedi 3 yaşında, 23 adedi 2 yaşında ve 19 adet keçi ise 6 ay ile 1 yaş arasındaydı. (Çizelge 2.4.).

Koyunların ise 19 adedi 8yaşlı, 9 adedi 7 yaşlı, 26 adedi 6 yaşlı, 43 adedi 5 yaşlı, 63 adedi 4 yaşlı, 35 adedi 3 yaşlı, 98 adedi 2 yaşlı ve 39 adedi 6 Ay-1 yaş aralığındaydı (Çizelge 2.4.).

Çizelge 2.4. Yaşlarına göre örneklenen toplam koyun ve keçi sayısı

Doğum Tarihleri	Keçi Sayısı	Koyun Sayısı	Toplam
6 Ay-1 Yaş	19	39	58
2 Yaş	23	98	121
3 Yaş	15	35	50
4 Yaş	13	63	76
5 Yaş	12	43	55
6 Yaş	13	26	39
7 Yaş	28	9	37
8 Yaş	5	19	24
TOPLAM	128	332	460

Tür bazında cinsiyetlerine göre yapılan değerlendirmede toplamda 332 adet koyundan 307'sinin dişi, 25'inin erkek olduğu; 128 adet keçiden ise 91'inin dişi, 37'sinin erkek olduğu Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın Koyun ve Keçi Kayıt Sisteminden belirlenmiştir (Çizelge 2.5.).

Çizelge 2.5. Tür bazında cinsiyetlerine göre örneklenen toplam koyun ve keçi sayısı

Tür	Dişi	Erkek	Toplam
Koyun	307	25	332
Keçi	91	37	128

Aydın ve İzmir illerindeki bütün işletmelerdeki 128 adet keçiden ve 332 adet koyundan olmak üzere toplam 460 adet kan örneği alındı. Koyun ve keçiler ayrı ayrı ırklarına ayrılarak incelendiğinde Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın KKKS verilerine göre bu keçilerden 55 adedinin Kıl Keçisi, 4 adedinin Kıl Keçisi Melezi, 37 adedinin Saanen Keçisi, 17 adedinin Saanen Keçisi Melezi, 13 adedinin Malta Keçisi Melezi, 2 adedinin Honamlı Keçisi olduğu belirlendi (Çizelge 2.6.).

Koyunların ise yine KKKS verileri esas alındığında 124 adedinin Sakız Melezi, 19 adedinin Sakız, 22 adedinin Kıvırcık, 66 adedinin Tahirova Melezi, 9 adedinin Kıvırcık

Melezi, 72 adedinin Tahirova, 19 adedinin İle De Frans ve 1 adedinin Karya ırkı olduğu saptandı (Çizelge 2.7.).

Çizelge 2.6. Keçi ırklarına göre örneklenen hayvan sayısı

Keçi Irkları	Toplam Hayvan Sayısı
Kıl Keçisi	55
Kıl Keçisi Melezi	4
Saanen Keçisi	37
Saanen Keçisi Melezi	17
Malta Keçisi Melezi	13
Honamlı Keçisi	2
TOPLAM	128

Çizelge 2.7. Koyun ırklarına göre örneklenen hayvan sayısı

Koyun Irkları	Toplam Hayvan Sayısı
Sakız Melezi	124
Sakız	19
Kıvrırcık	22
Tahirova Melezi	66
Kıvrırcık Melezi	9
Tahirova	72
İle De Frans	19
Karya	1
TOPLAM	332

2.1.2. Hücre Kültürü

Virus Nötralizasyon testi, Serum Nötralizasyon₅₀ (SN₅₀) değerinin hesaplanması, BHV-1 virusunun üretilmesi ve enfeksiyözite gücünün hesaplanması için Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) (ATCC, CCL-22) hücre kültürü kullanıldı.

Hücrelerin üretilmesi için ve vasat olarak %2-10 oranları arasında değişen miktarlarda Fötal Dana Serum (FDS) ilave edilmiş Eagle's Minimal Essential Medium (EMEM) (EMEM, Biochrom T-031- 10, Almanya) kullanıldı. Virusun üretilmesi, virusun enfeksiyözite gücünün hesaplanması (virusun titresinin belirlenmesi), VNT ve SN₅₀

değerinin hesaplanması için ise Dulbecco's Modified Minimal Essential Medium (DMEM) tercih edildi.

2.1.3. Virus

Bu çalışmada virus spesifik antikorların tespiti için BHV-1 virusunun referans suşu olan "IBR/ IPV Colorado Suşu" kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Serum Örneklerinin İşlenmesi

Kaolin içeren, vakumlu ve silikonlu steril kan tüplerine alınmış olan kan örnekleri 3000 g'de 10 dk. santrifüj edildi. Üst kısımda biriken serum 4 ml' lik steril stok tüplerine aktarıldıktan sonra inaktivasyon için benmaride 56°C' de 30 dk. süreyle tutularak non-spesifik immun sistem faktörleri inaktive edildi. Serum örnekleri serolojik testlerde daha sonra kullanılmak üzere -20°C'de donduruldu.

2.2.2. Hücrelerin Üretilmesi

Steril polisistren flasklar (250 ml'lik) içerisine %5'lik FDS içeren Eagle's Minimal Essential Medium (EMEM) vasatı flask hacminin %10'u kadar (25ml) konuldu. Flask içerisindeki vasata 150000 hücre/ ml olacak şekilde MDBK hücresi eklendi ve 37°C'de %5'lik CO₂'li etüvde inkube edildi. Hücreler hergün inverted mikroskopta incelenerek, monolayer şekilde flask yüzeyini kaplayıncaya kadar (2-3 gün) beklenildi. Daha sonra hücreler PBS ile bir kez yıkanarak, %0,25 lik Versen-Tripsin ile hücrelerin flask yüzeyinden ayrılması sağlandı. Süspansiyon halde bulunan hücreler 800 devirde 10 dk santrifüjlendikten sonra üstte ulunan süpernatant döküldü. Hücre peleti yeniden vasat ile süspansiyon edildikten sonra Thoma lamında hücre sayımı yapıldı. Hazırlanan hücreler amaca uygun şekilde (VNT, SN₅₀ değerinin hesaplanması, virusun üretilmesi veya virus titrasyonu için) kullanıldı.

2.2.3. Virusun Üretilmesi

Hücre kültürü flasklarında monolayer olarak üretilen MDBK hücreleri flask yüzeyinin %80'ini kaplayıncaya kadar beklendikten sonra BHV-1 virusunun referans suşu 'Colorado' adsorbsiyonsuz yöntemle inokule edildi. Virusla enfekte hücreler 37°C'ye ayarlanmış %5'lik CO₂'li etüv'de inkube edildi. Hücre kültürleri yaklaşık 24-48 saat sonra yoğun olarak virus üremesine bağlı dejenerasyonun görülmesinin ardından (virus için karakteristik olan sitopatolojik değişiklikler ve yaygın hücre yıkımlanması net olarak gözlemlendikten sonra) flasklar -80°C'de donduruldu. Donma vasıtasıyla, hücrelerin parçalanması sağlanmış ve içerisindeki viruslar açığa çıkarılmış oldu. Daha sonra oda ısısında eritilerek çözdürülen virus süspansiyonları 4000 rpm' de 20 dk. süreyle santrifüj edildi, santrifüj tüpündeki süpernatantın üst kısmından alınan virus süspansiyonu ayrı bir erlende pipete edilip steril cryo tüplerde 1'er cc'lik porsiyonlara ayrıldı ve -80°C' ye kaldırıldı.

2.2.4. Virusun Titresinin Belirlenmesi (Titrasyon Testi)

Virusun enfeksiyözite gücünün (titresinin) tespiti amacıyla Frey ve Liess'in (1971) bildirdikleri yöntem kullanıldı. Daha önce porsiyonlanmış olan virus tüplerinden bir tanesi çözdürülerek DMEM ile Logaritma 10 tabanına göre 10⁻⁸'e kadar bir dizi tüp içerisinde sulandırıldı. Her sulandırma basamağından mikropleyitin aynı sırada bulunan dört gözüne 100'er µl konuldu. Hazırlanan sulandırmalara ek olarak kontrollerde 4'er göz olarak hazırlandı. Virus kontrol amacıyla dört göze 50µl serumsuz DMEM ve 50µl saf virus; hücre kontrol için ayrılan dört göze ise %10 oranında FDS içeren DMEM vasatından 100µl konuldu. Hemen ardından beklenilmeden tüm gözlere MDBK hücre süspansiyonundan (300.000 hücre/ml) 50µl konuldu ve pleyt 37°C'lik CO₂' li etüvde inkubasyona bırakıldı. Sonraki bir ve ikinci günlerde pleytler doku kültürü mikroskobunda kontrol edildi ve sitopatolojik effekt gelişimine göre Kaerber'in (1964) bildirdiği şekilde titre hesaplamaları sonra yapıldı.

Bu çalışmada yapılan mikrotitrasyon test sonucuna göre BHV-1 virusunun 100 DKID₅₀/0,05ml değeri 10^{-3,5} olarak bulundu.

2.2.5. Virus Nötralizasyon ve Nötralizasyon₅₀ (SN₅₀) Testi

Elde edilen kan serum örneklerinde BHV-1 spesifik nötralizan antikor varlığının tespiti için Frey ve Liess'in (1971) bildirdikleri yöntemden yararlanılarak, Virus Nötralizasyon Testi (VNT) uygulandı. Bunun için 96 gözlü hücre kültür pleytinin iki gözüne BHV-1 için her bir serum örneği sulandırılmaksızın 50 µl hacimde konuldu. Enfeksiyözite gücü daha önce belirlenmiş olan viruslar 100DKID₅₀/0,05 ml oranında sulandırılarak eşit hacimde her bir serum örneğinin üzerine konuldu. Virus kontrole 50' şer µl virus ve serumsuz vasat, hücre kontrole ise 100 µl serumlu vasat konuldu. Daha sonra pleytler % 5 karbondioksitli (CO₂) 37°C'ye ayarlı etüvde iki saat süreyle nötralizasyona bırakıldı. Sürenin bitiminde tüm gözlere 300.000 hücre/ml olacak şekilde hazırlanmış olan MDBK hücre süspansiyonu ilave edildi ve etüvde inkubasyona bırakıldı. CO₂' li etüvde 1-3 günlük inkubasyon süresi sonunda pleytler doku kültürü mikroskopunda sitopatojenitenin görülüp görülmemesine göre değerlendirildi. Seropozitif olduğu saptanan serumları, antikor titrelerinin belirlenmesi için Serum Nötralizasyon₅₀ (SN₅₀) testine tabi tutuldu.

BHV-1 için serum numunelerinin 96 gözlü pleyt üzerine iki sıra halinde vasat ile 1/1, 1/2, 1/4,...1/128 oranlarında serum sulandırmaları hazırlandı. Üzerlerine titresi oranında (100 DKID₅₀ /0,05 ml olacak şekilde) sulandırılmış virus konulduktan sonra BHV-1 için iki saat süreyle nötralizasyona bırakıldı. Daha sonra MDBK hücre süspansiyonu ilave edilerek aynı şartlarda inkubasyona bırakıldı ve süre sonunda test doku kültürü mikroskopunda incelenerek değerlendirmeye tabi tutuldu (titre değerleri belirlendi).

2.3. İstatistiksel Değerlendirme

Aydın ve İzmir illerindeki keçi ve koyunlarda tür, coğrafik konum, yaş, cinsiyet ve ırklara göre seropozitiflik oranlarının istatistiksel karşılaştırmaları için x² testi kullanıldı (Steel ve Torrie 1980). İstatistiksel analizler SPSS (Statistical package for social sciences) paket programı kullanılarak yapıldı (Özdamar 2004).

3. BULGULAR

3.1. Hayvan Türlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları

Çalışmada toplam 460 adet hayvandan 85 adedinin (%18,5) seropozitif olduğu, 375 adedinin ise seronegatif olduğu görüldü. Genel olarak Aydın ve İzmir yöresinden örneklenen bütün keçilerde BHV-1'e karşı antikor pozitiflik oranı %64,84 (83/128), koyunlarda ise %0,6 (2/322) olarak saptandı (Çizelge 3.1). Her iki türün seropozitiflik oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarındaki farklılık anlamlı bulundu ($P<0,001$).

Çizelge 3.1. Hayvan türlerine göre seropozitiflik dağılımları

Tür	n	Seropozitif	%	χ^2
Keçi	128	83	64,8	P<0,001
Koyun	332	2	0,6	
Toplam	460	85	18,5	

n: Test edilen hayvan sayısı

3.2. İllere Göre Seropozitiflik Dağılımları

İllere göre yaygınlık oranlarına bakıldığında Aydın'da bulunan 121 koyundan iki tanesi (%1,6) seropozitif bulunurken, İzmirden örneklenen koyunlarda seropozitiflik saptanmadı (%0). Aydın ve İzmir illerindeki keçilerde BHV-1 virusuna karşı antikor pozitiflik yaygınlığı Çizelge 3.2.'de gösterilmiştir. İzmir'de bulunan 39 adet keçiden 25 adedinde (%64,1) seropozitiflik saptandı. Aydın'dan örneklenen 89 adet keçiden 58 adedinin (%65,2) seropozitif olduğu görüldü. İller bazında keçilerdeki enfeksiyon yaygınlık oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($P>0,53$).

Çizelge 3.2. İllere göre keçilerdeki BHV-1 seropozitiflik dağılımları

İl	n	Seropozitif	%	χ^2
Aydın	89	58	65,2	P>0.53
İzmir	39	25	64,1	
Genel Toplam	128	83	64,8*	

n: Test edilen hayvan sayısı

İller bazında bütün hayvanlarda BHV-1 spesifik antikor pozitif hayvan sayıları ve yaygınlık oranları Ek Çizelgeler bölümünde (Ek 1) belirtilmiştir.

Aydın ve İzmir illerinde örneklenen her bir işletmedeki seropozitiflik oranları Ek 2 ve 3'de (bkz. Ekler Dizini) gösterilmiştir.

3.3. Yaşlara Göre Seropozitiflik Dağılımları

Örneklenen keçilerin yaşlarına göre BHV-1'e karşı antikor pozitiflik oranları çizelge 3.3.a'da gösterilmiştir.

Keçilerde 8 yaşında toplam 5 hayvandan hepsinin (%100), 7 yaşında toplam 28 hayvandan 26'sının (%92,85), 6 yaşında toplam 13 hayvandan 10'unun (%76,92), 5 yaşında toplam 12 hayvandan 11'inin (%91,66), 4 yaşında toplam 13 hayvandan 9'unun (%69,23), 3 yaşında toplam 15 hayvandan 11'inin (%73,33), 2 yaşında toplam 23 hayvandan 10'unun (%43,47), 6 Ay- 1 yaşında toplam 19 hayvandan ise 1'inin (%5,26), genel toplamda ise 128 adet hayvandan 83'ünün (%64,84) seropozitif olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.3.a.). Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu keçilerin yaşlarına göre seropozitiflik oranları arasındaki farklılık anlamlı bulundu ($P<0.001$).

Çizelge 3.3.1. Keçilerin yaşlarına göre seropozitiflik dağılımları

Yaş	n	Seropozitif	%	χ^2
6 Ay-1 yaş	19	1	% 5,26	P<0,001
2 yaş	23	10	% 43,47	
3 yaş	15	11	% 73,33	
4 yaş	13	9	% 69,23	
5 yaş	12	11	% 91,66	
6 yaş	13	10	% 76,92	
7 yaş	28	26	% 92,85	
8 yaş	5	5	% 100	
Toplam	128	83	% 64,84	

n: Test edilen hayvan sayısı

Seropozitif olarak tespit edilen koyunlardan biri 4 yaşlı diğeri ise 5 yaşlı olduğu görüldü (Çizelge 3.3.b.).

Çizelge 3.3.2. Koyunların yaşlarına göre seropozitiflik dağılımları

Yaş	n	Seropozitif	%
6 Ay-1 yaş	39	0	% 0
2 yaş	98	0	% 0
3 yaş	35	0	% 0
4 yaş	63	1	% 1,58
5 yaş	43	1	% 2,32
6 yaş	26	0	% 0
7 yaş	9	0	% 0
8 yaş	19	0	% 0
Toplam	332	2	% 0,60

n: Test edilen hayvan sayısı

3.4. Hayvanların Cinsiyetlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları

Örneklenen erkek keçilerin %29,72'si (11/37), dişi keçilerin ise %79,12'si (72/91) antikor pozitif bulundu. Keçilerin cinsiyetlerine göre yapılan istatistik analizinde erkek ve dişi hayvanlardaki seropozitiflik oranları arasındaki farklılık anlamlı bulunmuş olup ($P<0,001$), dişi hayvanlarda enfeksiyon oranının daha yüksek olduğu saptandı (Çizelge 3.4.).

Çizelge 3.4. Keçilerin cinsiyetlerine göre BHV-1 seropozitiflik dağılımları

	n	Seropozitif	%	χ^2
Dişi	91	72	79,12*	P<0,001
Erkek	37	11	29,72*	
TOPLAM	128	83	64,84	

n: Test edilen hayvan sayısı

Keçilerin ırklarına ve cinsiyetlerine göre hayvan sayıları ve seropozitiflik oranları Ek Çizelgeler listesinde (bkz. Ek 4.) verilmiştir.

Seropozitif olan her iki koyunun da dişi olduğu belirlendi (bkz. Ek 5.)

3.5. Hayvanların Irklarına Göre Seropozitiflik Dağılımları

Keçilerin ırklarına göre hayvan sayıları ve seropozitiflik oranları Çizelge 3.5'te sunulmuştur. Kıl keçilerinde %63,63 (35/55), Kıl keçisi melezi olanlarda %0 (0/4), saanen keçilerinde %59,45 (22/37), Saanen keçisi melezlerinde %100 (17/17), Malta Keçisi Melezlerinde %69,23 (9/13) oranında antikor pozitiflik bulundu. Test edilen iki adet Honanlı keçisinde antikor saptanmadı. Irklarına göre yapılan istatistik analizinde (χ^2 testi) seropozitiflik oranları arasındaki farklılığın anlamlı olduğu saptandı ($P>0,001$).

Seropozitif olan iki koyundan birinin Sakız Melezi diğerinin ise Tahirova ırkındandı (Ek 5).

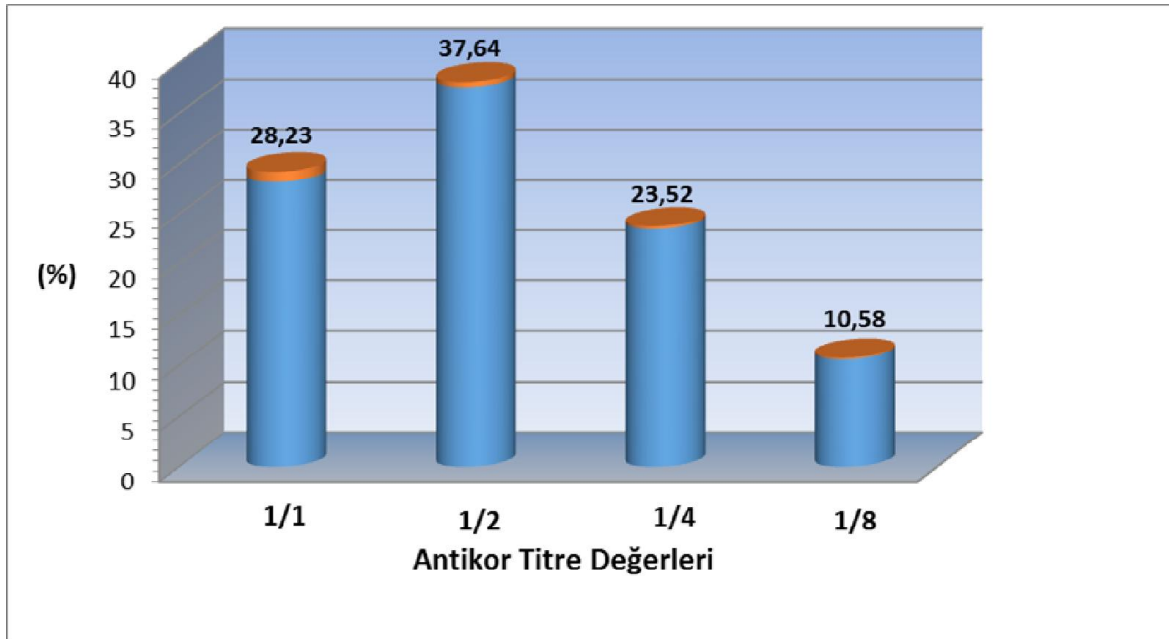
Çizelge 3.5. Keçiler için ırklara göre BHV-1 seropozitiflik dağılımları

Irklar	%	Seropozitif	n
Kıl Keçisi	% 63,63	35	55
Kıl Keçisi Melezi	% 0	0	4
Saanen Keçisi	% 59,45	22	37
Saanen Keçisi Melezi	% 100	17	17
Malta Keçisi Melezi	% 69,23	9	13
Honanlı Keçisi	% 0	0	2
Toplam	% 64,84	83	128

n: Test edilen hayvan sayısı

3.6. Seropozitif Örneklerin Serum Nötralizasyon 50 (SN₅₀) Sonuçları

BHV-1 için pozitif olduğu saptanan 85 adet örneğin SN₅₀ değerlerinin (antikor titrelerinin) 1/1 ile 1/8 aralığında olduğu saptandı. 1/1 titre değerinde olan 24 adet (%28,23), 1/2 titre değerinde olan 32 adet (%37,64), 1/4 titre değerinde olan 20 adet (%23,52), 1/8 titre değerine sahip ise 9 adet (%10,58) hayvan bulunmakta olup Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. BHV-1 seropozitif hayvanlarda antikor titre dağılımları

4. TARTIŞMA

Hayvancılık sektöründe sağlıklı hayvanların yetiştirilmesi ve yüksek verim elde edilebilmesi için, enfeksiyöz hastalıklardan korunma önemlidir. Bu amaçla, yetiştiricilik yapılan bölgede sirküle olan hastalıkların bilinmesi ve viral hastalıklar yönünden sürekli kontrollerin yapılması büyük önem arz etmektedir. Viral hastalıkların kontrol ve eradikasyonu için enfeksiyöz etkenin tanısının yapılması ve epidemiyolojik durumunun araştırılması gerekmektedir. Bu amaçla geliştirilecek kontrol programları, enfeksiyona bağlı ekonomik kayıpların azaltılmasına yardımcı olabilmektedir.

Bovine Herpesvirus 1 enfeksiyonu, büyükbaş hayvan yetiştiriciliğinde özellikle sığırlarda önemli ekonomik kayıplara sebep olan viral bir enfeksiyondur. BHV-1'in Amerika Birleşik Devletleri, Zaire, İtalya, Belçika, Hindistan gibi ülkelerdeki sığırlarda oldukça yaygın olduğu rapor edilmiştir (Castrucci ve ark. 1997; Boelaert ve ark. 2000; Rajkhowa ve ark. 2004). Türkiye'de sığırlarda BHV-1 enfeksiyonunun Dünya'da olduğu gibi yaygın olduğu ve ekonomik kayıplara yol açan enfeksiyöz viral ajanlardan biri olduğu yapılan araştırmalar ile belirlenmiştir (Bilge Dağalp 1998; Yeşilbağ ve ark. 2003).

Virusun primer konakçısı sığırlar olmasına rağmen, enfeksiyonun diğer ruminant türlerindeki varlığı bilinmekte olup, türler arasında enfeksiyon nakli mümkündür (Yeşilbağ ve ark. 2006). Dünya'nın farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda koyunlarda BHV-1 seropozitifliği Minnesota'da %0,5 (Goyal ve ark. 1988); Kanada'da %10,8 (Elazhary ve ark. 1984) ve Nijerya'da %2,9 (Taylor ve ark. 1977) olarak rapor edilmiştir. Benzer şekilde Rusenova ve ark. (2009) Bulgaristan'da 199 adet kan örneğinde BHV-1'e karşı seroprevalansın koyunlarda %2,4, keçilerde %3,4 olduğu bildirilmiştir.

Türkiye'de ise farklı illerde yapılan araştırmalarda BHV-1 enfeksiyonunun koyunlarda %1,74 ile %2,44; keçilerde ise %0,7 ile %5,52 oranları arasında seyrettiği rapor edilmiştir. Yavru ve ark. (1999) Ankara ve Konya'da entansif yetiştiricilik yapılan iki adet koyun sürüsünde BHV-1 seroprevalansını sırası ile %3,63 ve %15 olarak belirlemişlerdir. Çabalar ve Ataseven (1999) Van'da yetiştirilen koyunlarda BHV-1'e spesifik antikor varlığı tespit edememişlerdir. Yeşilbağ ve Bilge Dağalp (2006) Türkiye'nin değişik bölgelerinde örnekleme yaptıkları 14 ilden altısında ve test edilen

1024 koyun serum örneğinin ise 25'inde (%2,44) BHV-1'e spesifik antikor belirlemişlerdir.

BHV-1 enfeksiyonunun Batı Ege Bölgesi'nde bulunan koyun ve keçilerdeki durumu ile bu hayvanların BHV-1 epizootiyolojisindeki önemi hakkında literatürde kayıtlı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu araştırmada Aydın ve İzmir'den seçilen 47 işletmede bulunan 332 koyun ve 128 keçi olmak üzere toplam 460 küçükbaş hayvanda virus nötralizasyon testi ile BHV-1 seroprevalansı incelenmiştir. Genel olarak koyun ve keçilerde BHV-1 seroprevalansı %18,5 (85/460) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.1). Seropozitiflik oranları tür bazında incelendiğinde keçilerde %64,84 (83/128) ve koyunlarda %0,6 (2/322) olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.1). İstatistiksel değerlendirme sonucunda koyun ve keçilerde saptanan seropozitiflik oranları arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($P < 0,001$). Çalışmada örneklenen koyun ve keçilerin bir arada yetiştirilmelerine rağmen, keçilerde enfeksiyon oranının yüksek olması, BHV-1 enfeksiyonuna keçilerin koyunlardan daha duyarlı olduğunu göstermektedir.

Albayrak ve ark. (2007) Türkiye'nin kuzey bölgelerindeki 8 farklı ilden 1146 adet koyundan alınan serum örneklerinde nötralizasyon testi ile koyunlarda BHV-1'e karşı saptanan antikorların yüzdesini genel olarak %1,74 (20/1146) olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada illere göre seropozitiflik oranları Samsun'da %0,51, Tokat'ta %4,5, Amasya'da %2,4 ve Sinop'ta %0,58 olarak belirlenirken, Ordu, Giresun, Rize ve Trabzon'un ilçelerinde koyunlarda BHV-1'e spesifik antikor varlığı saptayamamışlardır. Bu çalışmada örneklenen koyunlarda illere göre seropozitiflik oranlarına bakıldığında Aydın'da %1,6 (2/121) olarak belirlenirken, İzmir'den örneklenen koyunlarda BHV-1'e karşı spesifik antikor varlığına rastlanmamıştır (Çizelge 3.1.). Koyunlarda belirlenen %0,6 (2/322) BHV-1 seropozitifliğinin yukarıda belirtilen çalışmalarda rapor edilen oranlar ile uyumlu olduğu görülmüştür (Albayrak ve ark. 2007; Yeşilbağ ve ark. 2006; Yeşilbağ ve Bilge Dağalp 2006; Yavru ve ark. 1999; Rusenova ve ark. 2009; Elazhary ve ark. 1984; Taylor ve ark. 1977; Goyal ve ark. 1988).

Taylor ve ark. (1977) BHV-1 enfeksiyonuna keçilerin koyunlardan daha duyarlı olduklarını ve spesifik nötralizan antikorların keçilerde koyunlara oranla daha yüksek oranda tespit edildiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada koyun ve keçilerde tespit edilen bu farklılığın, türler arası duyarlılıktan veya yetiştirme tarzından kaynaklanabileceği ileri

sürülmüştür. Benzer şekilde birçok araştırmacı tarafından keçilerin koyunlara oranla BHV-1'e karşı daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (Fulton ve ark. 1982; Jetteur ve ark. 1990; Six ve ark. 2001). Yapılan araştırmalar sonucu farklı ırktan keçilerde BHV-1 seroprevalansının %1,8 - %12 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Fulton ve ark. 1982; Elazhary ve ark. 1984; Wafula ve ark. 1985; Lamontagne ve ark. 1985; Yeşilbağ ve ark. 2003; Zarkov ve ark. 2004; Afshar ve Tadjbakhsh 2004).

Ülkemizde Yeşilbağ ve ark. (2003) 5 farklı ilde keçi sürülerinden topladıkları kan örneklerinde BHV-1 seroprevalansını %5,52 (34/615) olarak saptamışlardır. Örnekleme yaptıkları illere göre enfeksiyon yaygınlığını %2 ile %31,57 arasında değiştiğini gözlemlemişlerdir. Ataseven ve ark. (2010) Van Merkez ve ilçelerinde yetiştirilen keçi sürülerinden alınan 407 adet kan serum örneğinde BHV-1'e spesifik antikorların varlığını virus nötralizasyon testi ile araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda serum örneklerinin 3 adedinde %0,7 oranında BHV-1'e karşı spesifik antikor varlığını tespit etmişlerdir.

Bu tezde keçilerde BHV-1 seropozitifliği %64,84 (83/128) olarak tespit edilmiştir. İller bazında ise bu oranlar İzmir'de %64,1 (25/39), Aydın'da %65,2 (58/89) olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.2.). İller bazında keçilerdeki yaygınlık oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiş olup ($P>0.01$), saptanan seropozitiflik oranları daha önce Dünya'da ve Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde keçilerde rapor edilen oranlardan yüksek olduğu gözlenmiştir. Keçilerde yüksek bir prevalans saptanmasının nedeni sığır ve keçilerin sürekli temas halinde bulunmaları olabilir. Bölgedeki sığırlarda keçilerde saptanan seropozitiflikten çok daha düşük oranlarda (%19,5) BHV-1 enfeksiyonu görülmektedir (Tan ve ark. 2006). Bu durum sığır ve keçiler arasında çapraz bulaşmanın olduğunu ve keçilerin enfeksiyonun epizootiyolojisinde önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca enfeksiyonun asemptomatik şekilde keçiden keçiye bulaşması dolayısı ile keçiler arasında yaygınlığın artması da sözkonusu olabilir. Bu nedenle epizootiyolojik ve deneysel araştırmaların genişletilmesi gerekmektedir.

Mahmoud ve ark. (2009) Mısır'da 12 farklı ilden toplamda 1096 koyun ve 504 keçi olmak üzere toplamda 1600 serum örneğinde BHV-1 varlığını keçilerde %27,6; koyunlarda ise %23,8 oranında olduğunu bildirmişlerdir. Seropozitifliğin keçilerde daha yüksek oranlarda seyrettiğini görmüşlerdir. Araştırma yapılan bölgelerdeki koyun ve keçiler arasındaki farklılığı, çevre koşullarına, hayvan hareketlerine ve bu hayvanların

BHV-1 enfeksiyonuna maruz kalma ihtimallerine bağlamışlardır. Mahmoud ve ark. (2009) tarafından bildirilen pozitiflik oranlarının bu çalışmada örneklenen keçilerde belirlenen BHV-1 seropozitiflik oranından (%64.84), daha düşük olduğu, ancak koyunlarda belirlenen oranla (%0,6) daha yüksek olduğu görülmektedir.

Yeşilbağ ve ark. (2003) keçilerde BHV-1 seropozitifliğini %5,52 olarak belirledikleri çalışmada örnekleme yaptıkları keçilerin 2-3 yaş aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Albayrak ve ark. (2007) koyunlarda BHV-1 seropozitifliğini örnekleme yaptıkları 1-2 yaşlı koyunlarda %0.83 (4/480), 2 yaşından büyük koyunlarda ise %2.40 (16/666) olarak rapor etmişlerdir. Mahmoud ve ark. (2009) 2 yaşından büyük koyun ve keçilerde BHV-1 seropozitifliğini %3,91 olarak belirlerken, 1-2 yaş aralığındaki koyun ve keçilerde bu oranı %3,3 olarak saptamışlardır. Bu tezde örneklenen işletmelerdeki hayvanlar yaşlarına göre BHV-1'e karşı antikor pozitiflikleri incelendiğinde 8 yaşındaki keçilerde %100 (5/5), 7 yaşındaki keçilerde %92,85 (26/28), 6 yaşındaki keçilerde %76,92 (10/13), 5 yaşındaki keçilerde %91,66 (11/12), 4 yaşındaki keçilerde %69,23 (9/13), 3 yaşındaki keçilerde %73,33 (11/15), 2 yaşındaki keçilerde %43,47 (10/23), 6- ay-1 yaş arasındaki keçilerde ise %5,26 (1/19) olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.3.a.). Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu keçilerin yaşlarına göre seropozitiflik oranları arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($P<0.001$). Buna göre keçilerde seropozitiflik oranının 6 ay-1 yaş arası keçilerde en düşük düzeyde olduğu ve 3 yaştan itibaren belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir. Elde edilen verilerin Yeşilbağ ve ark. (2003), Albayrak ve ark. (2007) ve Mahmoud ve ark. (2009) ile uyumlu olduğu anlaşılmıştır. Bu tezde koyunlarda seropozitif olarak tespit edilen 2 örnekten birinin 4 yaşlı ve diğerinin 5 yaşlı olduğu görülmüştür. Mahmoud ve ark. (2009) koyun ve keçilerde BHV-1 enfeksiyonunu cinsiyet bazında incelediklerinde BHV-1 pozitifitesini erkek hayvanlarda %3 ve dişi hayvanlarda %3,2 olarak rapor etmişlerdir. Bu tezde keçiler cinsiyetlerine göre BHV-1 yönünden değerlendirildiğinde; erkek keçilerin %29,72'sinde (11/37), dişi keçilerin ise %79,12'sinde (72/91) BHV-1'e karşı spesifik antikor varlığı belirlenmiştir (Çizelge 3.4.). Keçilerin cinsiyetlerine göre yapılan istatistiksel çalışmada erkek ve dişi hayvanlardaki seropozitiflik oranları arasındaki farklılığın anlamlı olduğu ($P<0,001$) ve dişi hayvanlarda BHV-1 enfeksiyon oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Seropozitif olan her iki koyunun ise dişi olduğu belirlenmiştir.

Bilindiği kadarıyla, günümüze kadar koyun ve keçilerde BHV-1 enfeksiyonunda ırk farklılıkları ve önemi araştırılmamıştır. Pestiviruslar üzerine Azkur ve ark (2011a)'larının yaptıkları bir çalışmada pestivirus seropozitifliğini koyun ırkları düzeyinde incelediklerinde akkaraman (%42,6), kangal (%26,6) ve merinos (%5,3) olarak tespit ettikleri çalışmada koyun ırklarının pestiviruslara farklı duyarlılıkta olduklarını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada keçiler için ırklara göre BHV-1 seropozitiflik oranları incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup, en yüksek seropozitiflik saanen melezi keçilerde saptanmıştır. (Çizelge 3.5.). Koyunlarda ise BHV-1 yönünden antikor pozitif tespit edilen iki örneğin Sakız Melezi ve Tahirova ırkından koyunlara ait olduğu tespit edilmiştir. Bölgemizdeki keçi ırkları %100 saf ırk olmamasına rağmen çalışmada ırklar arasındaki seropozitiflik oranlarının istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve enfeksiyon yaygınlığında ırk farklılıklarının önemli olduğu görülmüştür. Farklı keçi ırkları ile BHV-1'in ilişkisinin incelendiği literatüre kayıtlı bir çalışma bulunmadığı için bu çalışmada elde edilen verilerin daha geniş kapsamlı araştırmalar için önemli bir bilgi niteliğinde olduğu düşünülmektedir.

Ataseven ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada virus nötralizasyon testi ile kontrol ettikleri keçi serumlarında 1/2 titrede BHV-1 spesifik antikor varlığını %0.7 (3/407) oranında tespit etmişlerdir. Bu tezde BHV-1 için pozitif olduğu saptanan toplam 85 örneğin SN₅₀ değerleri 1/1 ile 1/8 olduğu saptanmıştır. 1/1 titre değerinde olan 24 adet (%28,23), 1/2 titre değerinde olan 32 adet (%37,64), 1/4 titre değerinde olan 20 adet (%23,52), 1/8 titre değerine sahip ise 9 adet (%10,58) hayvan bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 1).

Türkiye'de ve Dünya'daki BHV-1 yaygınlık oranlarıyla bu araştırmanın sonuçları kıyaslandığı zaman genel itibariyle Türkiye'deki koyunlarda BHV-1 enfeksiyonu yaygınlığının keçi ve sığırlara oranla düşük düzeyde olduğunu göstermektedir. Ancak bu çalışmada örneklenen keçilerde saptanan BHV-1 seropozitiflik oranı (%64,84) dünyada ve Türkiye'de şimdiye kadar bildirilen en yüksek seroprevalanstır. Bu sonuç, BHV-1'in bölge hayvancılığı ve keçiler için yadsınamayacak kadar önemli olduğunu düşündürmektedir. Çalışmanın verileri ışığında, küçük ruminantlar ile sığırlar arasında türler arası virus naklinin mümkün olması ve Türkiye'de özellikle ekstansif yetiştiricilik yapılan işletmelerde farklı ruminant türlerinin bir arada barındırılması veya ortak meralarda

otlatılması gibi nedenlerle, koyun ve keçilerin sığır popülasyonu için bir enfeksiyon kaynağı olabileceği kanısına varılmıştır.

Bu araştırmada Aydın İli Damızlık Koyun ve Keçi Yetiştiricileri Birliği ile koordineli olarak çalışılması sonucunda yöre halkına hizmet götürülmüş olup ayrıca yetiştiricilere gerekli bilginin verilmesi, hastalık ve diğer enfeksiyonlara karşı alınması gereken önlemler konusunda önerilerde bulunulması ve yetiştirici ile üniversite olanakları arasında bir köprü kurulması mümkün olmuştur. Bu araştırma, bölgedeki koyun ve keçi yetiştiren işletmelerde hastalıktan kaynaklanan kayıpların azaltılması ve enfeksiyonlarla mücadele edilmesi amacıyla daha sonra yapılacak olan geniş kapsamlı araştırmalara ışık tutabilecektir. Bunların sonucunda, söz konusu olan viral enfeksiyondan kaynaklanan ekonomik kayıpları en az düzeye indirmek mümkün olabilecektir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Viral hastalık etkenlerinin bilinmesi ve yaygınlık durumunun belirlenmesi, hastalık ile mücadelede başarıya ulaştıran önemli faktörlerdendir. Ege Bölgesi'nde BHV-1 enfeksiyonunun koyun ve keçilerdeki durumu hakkında bilgi bulunmamaktadır. Bu durumda küçükbaş hayvanların BHV-1 enfeksiyonunun epidemiyolojisindeki rolü ve yetiştiricilikte ne ölçüde kayıplar verdiği hakkında bilgiler sınırlı kalmaktadır.

Bu araştırmada örnekleme yapılan Aydın ve İzmir illerindeki koyun ve keçi yetiştiriciliği yapılan işletmelerde BHV-1 enfeksiyonunun hayvan türüne bağlı olarak oldukça yaygın olduğu belirlenmiştir. Enfeksiyonun keçilerde koyunlara nazaran daha yüksek oranda gerçekleştiği saptanmıştır.

Çalışmada elde edilen bulgular, keçilerin BHV-1 enfeksiyonuna daha duyarlı olduğunu göstermekte olup, enfeksiyonun epizootiyolojisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda, keçilerde BHV-1 enfeksiyonu üzerine epizootiyolojik, virolojik ve deneysel çalışmalarının genişletilmesi önerilebilir. Çalışmada keçilerdeki BHV-1'e spesifik antikor pozitiflik oranlarının dişi hayvanlarda ve yaşlı hayvanlarda daha yüksek saptanması nedeniyle BHV-1 enfeksiyonuna yaş ve cinsiyet faktörlerinin etki ettiği kanısına varılmıştır. Ayrıca enfeksiyonda ırk duyarlılığı da sözkonusu olabilir.

Bu çalışmanın sonuçlarının bölgedeki enfeksiyonla mücadele edilmesi amacıyla daha sonra yapılacak olan geniş kapsamlı araştırmalara ışık tutabileceğine inanılmaktadır.

ÖZET

Aydın ve İzmir İllerindeki Koyun ve Keçilerde Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması

Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) hayvancılığı olumsuz yönde etkileyen, büyük ruminantlarda verim kayıplarına ve dolayısıyla önemli ekonomik kayıplara neden olan viral etkenlerden biridir. Virus primer olarak sığırları etkilemektedir. Sığırlarda meydana getirdiği et, süt ve döl verimi kayıpları sebebiyle yetiştiriciliğin en büyük sağlık sorunlarından birini oluşturmaktadır. Ancak enfeksiyonun diğer ruminant türlerindeki varlığı ve türler arasında enfeksiyon naklinin mümkün olduğu da bilinmektedir. Bölgemizdeki koyun ve keçilerde BHV-1 enfeksiyonu ile ilgili bilgi bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, Aydın ve İzmir İllerinde yetiştirilen koyun ve keçilerde BHV-1 enfeksiyonunun varlığı ve yaygınlığının serolojik olarak belirlenmesi amaçlandı. Ayrıca BHV-1 seropozitifliği ile ırk, yaş, cinsiyet ve örnekleme yapılan iller arasındaki ilişki araştırıldı.

Çalışmada, Aydın ve İzmir illerinde bulunan karma küçükbaş hayvan yetiştiriciliği yapan işletmelerden 128 adet keçi ve 332 adet koyun olmak üzere toplam 460 adet hayvandan kan serumu elde edildi. Serum örneklerinde BHV-1 spesifik antikor varlığı virusun IBR/ IPV Colorado suşu kullanılarak Virus Nötralizasyon Testi ile araştırıldı.

Keçilerin %64,84'ünde (83 /128) ve koyunların ise %0,60'ında (2 /332) BHV-1'e karşı antikor tespit edildi. İstatistiksel değerlendirme sonucunda koyun ve keçilerde saptanan seropozitiflik oranları arasındaki farklılık anlamlı bulundu ($P < 0.001$). İzmir ilinden örneklenen 39 adet keçiden 25 adedinde (%64.1) seropozitiflik saptanırken, Aydın'dan örneklenen 89 adet keçiden 58 adedinin (%65,17) seropozitif olduğu görüldü. Yaş düzeyinde keçilerde seropozitiflik oranınının 6 ay-1 yaş arası hayvanlarda en düşük düzeyde olduğu ve 3 yaştan itibaren belirgin şekilde arttığı gözlemlendi ($P < 0,001$). Seropozitiflik oranınının dişi keçilerde (%79,12) erkek keçilerden (%29,72) daha yüksek olduğu belirlendi ($P < 0,001$). Ayrıca keçilerde seropozitiflik oranları ile ırklar arasında bir bağlantı tespit edilirken ($P < 0,001$), örnekleme yapılan iller ile belirlenen pozitif antikor cevabı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenemedi.

Sonuç olarak, BHV-1 enfeksiyonunun keçilerde koyunlara nazaran daha yaygın olduğu görülmüştür. Bu bulgular, keçilerin BHV-1 enfeksiyonuna daha duyarlı olduğunu göstermekte ve enfeksiyonun epizootiyolojisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca örneklemlerin yapıldığı her iki ilde de enfeksiyonun oldukça yaygın olduğu görülmektedir. Bu bağlamda, keçilerde BHV-1 enfeksiyonu üzerine epizootiyolojik ve virolojik çalışmalarının genişletilmesi önerilebilir.

Çalışmada elde edilen bulgulara göre enfeksiyon duyarlılığının tür, cinsiyet, yaş ve ırklara göre değiştiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bovine Herpesvirus 1, Seroprevalans, Kei, Koyun

SUMMARY

A Serological Investigation of the Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) Infection in Sheep and Goats in Aydın and İzmir Provinces

Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) is one of the viral agents causing significant economic losses in large ruminants and adversely affecting livestock production. Infection with the virus which results in the loss of meat and milk production and fertility is one biggest health problems in cattle husbandry. The infection primarily affects cattle. However, presence of infection in other ruminants as well as transmission among species is known. There are no data available on BHV-1 infection in sheep and goats in our region.

In this study it was determined to the serological presence and prevalence of BHV-1 infection in sheep and goats in the Aydın and İzmir provinces. And it was investigated the relationship between BHV-1 seropositivity and breeds, age, gender and sampling provinces.

In this thesis, 460 blood serum samples were collected from 128 goats and 332 sheep in Aydın and İzmir provinces. BHV-1 specific antibodies in the serum samples were investigated using IBR / IPV Colorado strain of the virus in Virus Neutralization Tests.

Antibodies against BHV-1 were detected in 64.84% (83/128) of the goats, and in 0.60% (2/332) of the sheep. Statistical analysis showed that seropositivity in the goats and sheep were significantly different ($P < 0.001$). 25 of the 39 (64.1%) goat samples from İzmir and 58 of the 89 (65.17%) goat samples from Aydın were seropositive. The lowest seropositivity seen in 6 months-1 year age goats and it was observed that significantly increased from 3 years age ($P < 0,001$). It was determined that the seropositivity was higher in female goats (%79,12) than male goats (%29,72) ($P < 0,001$). The significant difference was found between breed and seropositivity ($P < 0,001$), but unable to determine a statistically significant correlation between positive antibody response and the sampled provinces.

The results of the study, BHV-1 infection in goats than sheep were found to be more common. These findings indicate those goats are more sensitive to the BHV-1 infection, and might play a role in infection epizootiologia. It also appears to be quite common infection in both cities. In this context, it is suggested that the epizootiologic and virological studies of BHV-1 infection in goats should be improved.

According to the findings obtained in this study, it is concluded that the susceptibility of infection varies according to species, gender, age and breed.

Keywords: Bovine Herpesvirus 1, Seroprevalance, Goat, Sheep

KAYNAKLAR

Abril C, Engels M, Liman A, Hilbe M, Albini S, Franchini M, Suter M, Ackermann M. Both viral and host factors contribute to neurovirulence of bovine herpesviruses 1 and 5 in interferon receptor-deficient mice. *Journal of Virology*. 2004; 78: 3644–3653.

Ackermann M and Engels M. Pro and contra IBR eradication. *Veterinary Microbiology* 2005; 113: 293-302.

Ackermann M, Peterhans E, Wyler R. DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia of latently infected calves. *American Journal of Veterinary Research* 1982; 43, 36-40.

Ackermann M, Wyler R. DNA of an IPV strain of bovid herpesvirus type 1 in the sacral ganglia during latency after intravaginal infection. *Veterinary Microbiology*, 1984; 9, 53-63.

Afshar A, Tadjbakhsh H. Occurrence of precipitating antibodies to bovine herpesvirus (infectious bovine rhinotracheitis) in sera of farm animals and man in Iran. *Journal of Comparative Pathology*, 2004; 80, 307-310.

Aguilar-Setien A, Pastoret PP, Schwers A. Etude chez le bovin par neutralisation et immunoprecipitation des reactions serologiques croisees entre le virus de la rhinotracheite infectieuse bovine (Bovine Herpesvirus-1, BHV-1) et celui de la maladie d'Aujeszky (Sus Herpesvirus-1, SHV-1). *Annales de Médecine Vétérinaire* 1980; 124, 199–209.

Albayrak H, Yazıcı Z, Okur-Gümüşova S. Seroprevalence to bovine herpesvirus type 1 in sheep in Turkey. *Veterinarski Arhiv* 2007; 77 (3), 257-263.

Alkan F, Özkul A, Karaođlu MT, Bilge S, Akça Y, Burgu I, Yeşilbağ K, Ođuzođlu TC. Sığırlarda viral nedenli solunum sistemi enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi* 1997; 44(1), 73–80.

Aly NM, Shehab GG, El-Rahim H. Bovine viral diarrhoea, bovine herpesvirus and parainfluenza-3 virus infection in three cattle herds in Egypt. *Revue scientifique et technique*. 2003; 22, 879-892.

Ataseven VS, Bařaran Z, Yılmaz V, Dağalp SB. Van Bölgesi Keçilerinde Parainfluenza Virus - 3 (PIV-3) ve Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) Enfeksiyonlarının Seroprevalansı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi* 2010; 21 (1), 7 – 9.

Avcı O, Yavru S. Investigation of Bovine Herpesvirus-1, Bovine Viral Diarrhea Virus and Bovine Herpesvirus-4 in a dairy herd with naturally infected in Konya *Eurasian Journal of Veterinary Science*, 2013; 29; 082-086.

Azkur AK, Gazyağcı S, Aslan ME, Ünal N. Molecular and Serological Characterization of Pestivirus Infection Among Sheep in Kirikkale, Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi*, 2011a; 17, 83-92.

Azkur AK, Gazyağcı S, Aslan ME. Serological and Epidemiological Investigation of Bluetongue, Maedi-Visna and Caprine Arthritis Encephalitis Viruses in Small Ruminant in Kirikkale District in Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2011b; 17, 803-808.

Babiuk LA, van Drunen Littel S, van den Hurk S, Tikoo SK. Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Veterinary Microbiology* 1996; 53: 31-42.

Belknap EB, Collins JK, Ayers VK, Schultheiss PC. Experimental infection of neonatal calves with neurovirulent bovine herpesvirus type 1.3. *Veterinary Pathology* 1994; 31: 358-365.

Bhat MN, Manickam R, Kumanan K. Serological evidence of bovine herpesviruses 1 and 2 in Asian elephants. *Journal of wildlife diseases* 1997; 33: 919-920.

Bilge S. Kan ve süt serumlarında IBR/IPV antikorlarının notralizasyon testi ile saptanması ve süt örneklerinden virus izolasyonu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1998; 45, 313-321

Biswas S, Bandyopadhyay S, Dimri U, Patra PH. Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) - a re-emerging concern in livestock: a revisit to its biology, epidemiology, diagnosis, and prophylaxis. *Veterinary Q.* 2013; Jun; 33(2): 68-81.

Boelaert F, Biront P, Soumare M, Dispas E, Vanopdenbosch JP, Vermeersch A, Raskin J, Dufey D, Berkvens P, Kerkhofs P. Prevalence of bovine herpesvirus-1 in the Belgian cattle population. *Preventive Veterinary Medicine* 2000; 45, 285-295.

Boelaert F, Speybroeck N, de Kruif A, Burzykowski T, Molenberghs G and Berkven DL. Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositivity. *Preventive Veterinary Medicine* 2005; 69: 285-295.

Bosch JC, Kaashoek MJ, Kroese AH, Oirschot JT. An attenuated bovine herpesvirus 1 marker vaccine induces a better protection than two inactivated marker vaccines. *Veterinary Microbiol* 1996; 56: 223-234.

Brako EE, Fulton RW, Nicholson SS, Amborski GF. Prevalence of bovine herpesvirus 1, bovine viral diarrhea, parainfluenza 3, goat respiratory syncytial, bovine leukemia and blue tongue viral antibodies in sheep. *American Journal of Veterinary Research* 1984; 45(4): 813-816.

Burgu İ, Akça Y. Türkiye’de suni tohumlamada kullanılan bazı damızlık boğalarda Enfeksiyöz bovine rhinotracheitis/enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) enfeksiyonu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1986; 33: 113-121.

Burgu İ, Bilge-Dağalp S. IBR-IPV Virus Enfeksiyonunun Kontrol ve Eradikasyonu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1999; 46, 263-267.

Castrucci G, Frigeri F, Salvatori D. A study on latency in calves by five vaccines against bovine herpesvirus-1 infection, *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 2002; 25: 205-215.

Castrucci G, Frigeri F, Salvatori D, Martin WB, Ferrari M, Tagliati S, Cuter V. Serological survey of herpesvirus 1 infection in selected dairy herds in Northern and Central Italy. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 1997; 20, 315-317.

Çabalar M, Akça Y. Fertilité problemlí ineklerde enfeksiyöz bovine rhinotracheitis, enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) virus izolasyonu ve seroepidemiyojisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi* 1994; 41(3-4), 337-349.

Çabalar M, Ataseven VS. Van yöresinde koyunlarda PI-3, BHV-1 ve RSV enfeksiyonlarının serolojik olarak araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 1999; 5, 73-78.

Dispas M, Schynts F, Lemaire M, et al. Isolation of a glycoprotein E-deleted bovine herpesvirus type 1 strain in the field, *Veterinary Record* 2003; 153: 209-212.

Edwards S, Chasey D, White H. Experimental infectious bovine rhinotracheitis: Comparison of four antigen detection methods. *Research in Veterinary Science* 1983; 34, 42-45.

Elazhary M, Slim A, Dea S. Prevalence of antibodies to bovine respiratory syncytial virus, bovine viral diarrhea, bovine herpes virus-1, and bovine parainfluenza-3 virus in sheep and goats in Quebec. *American Journal of Veterinary Research* 1984; 45, 1660-1662.

Engels M, Ackermann M. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Veterinary Microbiol.* 1996; 53: 3-15.

Fenner F, Bachmann PA, Gibbs PBJ, Murphy FA, Studdert MJ, White DO. In: *Veterinary Virology* 1987; Academic press, Orlando Florida, USA.

Frey HR, Liess B. Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit eines stark zytopatogenen VD-MD Virus stammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotitermethode. *Zentbl. Veterinary Medicine*, 1971; 18, 61-71.

Fulton RW, Downing MM and Hagstad HV. Prevalence of bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhea, RUSENOVA N., et al. *Trakia Journal of Sciences*, Vol. 7, No. 4, 2009 62 parainfluenza-3, bovine adenoviruses-3 and -7, and goatrespiratory syncytial viral antibodies in goats. *American Journal of Veterinary Research*, 1982; 43: 1454-1457.

Goyal SM, Khan MA, McPherson SW, Robinson RA, Boylan WJ. Prevalence of antibodies to seven viruses in a flock of ewes in Minnesota *American Journal of Veterinary Research*, 1988; 49, 464-467.

Guy JS, Potgieter LND. Bovine herpesvirus-1 infection of cattle. Kinetics of antibody formation after intranasal exposure and abortion induced by the virus. *American Journal of Veterinary Research* 1985; 46: 893-898.

Gürtürk S, Finci E, Burgu İ. Yurdumuz sığırlarında enfeksiyöz rhinotracheitis üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1974; 8, 1–2.

Hage JJ, Vellema P, Schukken YH, Barkema HW, Rijsewijk FA, Oirschot JT, Wentink GH. Sheep do not have a major role in bovine herpesvirus 1 transmission, *Veterinary Microbiol.* 1997; 57: 41-54.

ICTV (International Comitee on Taxonomy of Viruses) 2012. Erişim Adresi:<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>, Erişim Tarihi: 15 Mayıs 2014.

İşcan UT. İskilip (Çorum) yöresindeki süt sığırlarında Bovine Herpesvirus Tip 1 (BHV-1)'in prevalansı. Yüksek Lisans Tezi, 2010; Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.

Jetteur P, Thiry E, Pastoret PP. Serological survey of IBR, CHV-2, PI-3, bovine respiratory syncytial virus and rinderpest virus in sheep and goats in Zaire. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 1990; 43, 435-437.

Johannes AK, Malcolm B, Martin B, Pierre K, Myriam P, Gerard JW, Van Oirschot JT. Evaluation of tests for antibodies against bovine herpesvirus 1 performed in national referencelaboratories in Europe. *Veterinary Microbol* 2004; 102: 169–181.

Kaerber G. In diagnostic procedures for viral and rickettsial disease. *Public Health. Ass.* (New York) 1964; 3,48–50.

Kahrs RF, Johnson ME, Bender GM. Studies on the detection of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus in bovine semen. *Proceedings of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians* 1977; 20: 187–208.

Karadzov I, Ignatov G, Khristova V. Serological diagnosis of IBR. *Veterinarnomed Nauki* 1979; 16, 65–71.

Karadzov I, Khristova V. Preparation of antigen from IBR/IPV virus and its use in the microcomplement fixation test for bovine infectious rhinotracheitis. *Veterinarnomed Nauki* 1980; 17, 17–22.

Lamontagne L, Descoteaux JP and Roy R Epizootiological Survey of Parainfluenza-3, Reovirus-3, Respiratory Syncytial and Infectious Bovine Rhinotracheitis Viral Antibodies in Sheep and Goat Flocks in Quebec. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1985; 49: 424-428.

Lehmkuhl HD, Cutlip RC. Protection from Parainfluenza-3 Virus and Persistence of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus in Sheep Vaccinated with a Modified Live IBR-PI-3 Vaccine. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 1985; 49: 58-62.

- Leite F, Sylte MJ, O'Brien S, Schultz R, Peek S, van Reeth K and Czuprynski CJ. Effect of experimental infection of cattle with bovine herpesvirus (BHV-1) on the ex vivo interaction of bovine leukocytes with *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* leukotoxin. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2002; 84: 97-100.
- Liang X, Chow B, Raggo C, Babiuk LA. Bovine Herpesvirus 1 UL49.5 homolog gene encodes a novel viral envelope protein that forms a disulfide-linked complex with a second virion structural protein. *Journal of Virology* 1996; 70: 1448-1454.
- Mahmoud MA, Ahmed SA. Prevalence of Bovine Herpesvirus-1 in Sheep and Goats in Egypt. *Global Veterinaria* 2009; 3 (6): 472-479.
- Mayfield JE, Good PJ, Vanoort HJ, Campbell AR, Reed DE. Cloning and cleavage site mapping of DNA from Bovine Herpesvirus 1 (Cooper strain). *Journal of Virology* 1983; 47: 259-264.
- Mechor GD, Rousseaux CG, Radostits OM, Babiuk LA, Petrie L. Protection of newborn calves against fatal multisystemic infectious bovine rhinotracheitis by feeding colostrum from vaccinated cows. *Canadian Journal of Veterinary Research* 1987; 51: 452-459.
- Mena A, Ioannou XP, Van Kessel A, Van Drunen Little-Van Den Hurk, Popowych Y, Babiuk LA, Godson DL. Th1/Th2 biasing effects of vaccination in cattle as determined by real-time PCR. *Journal of Immunological Methods* 2002; 263: 11-21.
- Mettenleiter TC. Initiation and spread of alfa herpesvirus infections. *Trends in Microbiology* 1994; 2: 2-4.
- Meyer G, Lemaire M, Ros C, Belak K, Gabriel A, Cassart D, Coignoul F, Belak S, Thiry E. Comparative pathogenesis of acute and latent infections of calves with bovine herpesvirus types 1 and 5. *Archives of Virology* 2001; 146: 633-652.
- Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ. *Veterinary Virology*. 3rd edn. New York: 1999; Academic Press.
- Muylkens B, Thiry J, Kirten P, Schynts F, Thiry E. Bovine Herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Veterinary Research* 2007; 38. 181-209 EDP Science.
- Mweene AS, Fukushi H, Pandey GS, Syakalima M, Simuunza M, Malarmo M, Nambota A, Samui KL, Tsubota T, Nakazato Y, Onuma M, Yasuda J. The prevalence of bovine herpesvirus in traditional cattle in Southern Province, Zambia. *Revue scientifique et technique* 2003; 22, 873-877.
- Nandi S, Kumar M, Manohar M, Chauhan RS. *Bovine Herpesvirus Infections in cattle*. Cambridge University Press. *Animal Health Research Reviews* 2009; 10 (1); 85-98.

Noordegraaf AV, Jalvingh AW, de Jong MCM, Franken P and Dijkhuizen AA. Evaluating control strategies for outbreaks in BHV-1 free areas including stochastic and spatial simulation. *Preventive Veterinary Medicine* 2000; 44: 21–42.

OIE. Infectious Bovine Rhinotracheitis/Infectious Pustular Vulvovaginitis. Chapter 2.4.13. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* 2010; OIE Terrestrial Manual Office International des Epizooties.

Owen NV, Chow TL, Molello JA. Bovine fetal lesions experimentally produced by infectious bovine rhinotracheitis virus. *American Journal of Veterinary Research* 1964; 25: 1617-1626.

Özdamar K. Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi. 5. Baskı. 2004; Eskişehir: Kaan Kitabevi.

Öztürk D, Kale M, Pehlivanoğlu F, Hasırcıoğlu S, Türütoğlu H. Evaluation for some bacterial and viral abortions of dairy cattle farms in Burdur district of Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2012; 18; 255-258.

Pastoret PP, Thiry E. Diagnosis and prophylaxis of infectious bovine rhinotracheitis: the role of virus latency. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*. 1985; 8: 35-42.

Patel JR. Relative efficacy of inactivated bovine herpesvirus 1 (BHV-1) vaccines. 2005; 23: 4054–4061.

Perez SE, Vagnozzi A, Sur JH, Odriozola E, Campero CM, Odeon AC. Analisis retrospectivo de casos con diagnóstico de necrosis cerebrocortical y su relación con herpesvirus bovino tipo 5. *Revista Argentina de Microbiología* 2003; 35: 69–73.

Perrin B, Calud T, Cordioli P, Coudert M, Edwards S, Eloit M, Guerin B, Kramps JA, Lenihan P, Paschaleri E, et al. Selection of European Union standard reference sera for use in the serological diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis. *Revue scientifique et technique de l'OIE*. 1996; 13: 947–960.

Pharande RR, Deshmukh VV, Gujar MB. Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis in Marathwada region of Maharashtra state. *Indian Journal of Comparative Microbiology, Immunology and Infectious Disease* 2004; 25: 115-116.

Porter DD, Larsen AE, Cox NA. Isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from Mustelidae. *Journal of Clinical Microbiology* 1975; 1: 112-113.

Rajkhowa SC, Rajkhowa H, Rahman KMB. Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis in mithun in India. *Revue scientifique et technique* 2004; 23, 821-829.

Rola J, Larska M, Polak MP. Detection of bovine herpesvirus 1 from an outbreak of infectious bovine rhinotracheitis. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2005; 49: 267-271.

Rusenova N, Bochev I. Comparison of the seroprevalence against some respiratory viruses in mixed sheep-goat herds in two regions of Bulgaria. *Trakia Journal of Sciences* 2009; Vol. 7, No. 4, pp 58-62, Copyright © Trakia University.

Schudel AA, Carillo BJ, Wyler R, Metzler AE. Infections of calves with antigenic variants of BHV-1 and neurological disease. *Journal of Veterinary Medicine* 1986; 33B: 303-310.

Siebert S, Auer S, Heinen E, et al. Marker vaccines-new opportunities for IBR control Pan 1 BHV-1 infections. *Tierarztl Umschau* 1995; 50: 530-533.

Six A, Banks M, Engels M, Bascunana C, Ackermann M. Latency and reactivation of bovine herpesvirus -1 (BHV-1) in goats and of caprine herpesvirus-1 (CaHV-1) in calves. *Archives of Virology* 2001; 146, 1325-1335.

Smith GA, Young PL, Radwell BJ, Kelly MA, Storie GJ, Farrah CA, Mattick JS. Development and trial of a Bovine Herpesvirus 1- thymidine kinase deletion virus as a vaccine. *Australian Veterinary Journal* 1994; 71 (3): 65-70.

Steel RGD, Torrie JH. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach* 1980; 2nd Ed. New York.

Straub OC. Infectious bovine rhinotracheitis virus. In: Dinter Z and Morein B. Editors. *Virus infections of ruminants*. Oxford: Elsevier Science Publishers BV 1990; p.71-108.

Straub OC. BHV-1 Infections: relevance and spread in Europe. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 1991; 14: 175-186.

Straub OC, Wettke K, Weiland F. Seuchenhaftes Auftreten von IBR-IPV Virus Aborten. *Tierarztl Umschau* 1982; 37, 613-617.

Tan MT, Yıldırım Y, Erol N, Güngör AB. The seroprevalence of Bovine Herpes Virus 1 (BHV-1) and Bovine Leukemia Virus (BLV) in Selected Dairy Cattle Herds in Aydın Province, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2006; 30, 353-357.

Taylor WP, Okeke AN, Shidaki NN. Prevalence of bovine virus diarrhoea and infectious bovine rhinotracheitis antibodies in Nigerian Sheep and goats. *Tropical Animal Health Production* 1977; 9, 171-175.

Tikoo SK, Campos M, Babiuk LA. Bovine herpesvirus 1 (BHV-1): biology, pathogenesis and control. *Advances in Virus Research* 1995; 45: 191-223.

Turin L, Russo S. BHV-1 infection in cattle: an update. *Veterinary Bulletin* 2003; 73: 16-21.

Van Drunen Littel-van den Hurk S. Rationale and perspectives on the success of vaccination against bovine herpesvirus-1. *Veterinary Microbiology* 2006; 113: 283–291.

Wafula JS, Mushi EZ, Wamwayi H. Reaction of goats to infection with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Research in Veterinary Science* 1985; 39, 84-86.

Whetstone CA, Evermann JF. Characterization of bovine herpesviruses isolated from six sheep and four goats by restriction endonuclease analysis and radioimmunoprecipitation. *American Journal of Veterinary Research* 1988; 49: 781-785.

Whetstone CA, Wheeler JG, Reed DE. Investigation of possible vaccine-induced epizootics of infectious bovine rhinotracheitis, using restriction endonuclease analysis of viral DNA. *American Journal of Veterinary Research* 1986; 47: 1789–1795.

Wyler R, Engels M. Schwyzer. M. Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis. In: Wittmann G. Editor, *Herpesvirus Diseases of Cattle, Horses and Pigs*. Kluwer Academic Publishers 1989; Boston, Dordrecht, London. 1–72.

Xiao DH, Li LH, Jiang HX and Wang LY. Research in prevention and cure of infectious bovine rhinotracheitis. *China Dairy Cattle* 2004; 4: 43–45.

Yavru S, Öztürk F, Gürhan İ, Şimşek A, Ünver G, Duman R, Yapkiç O. Koyunlarda solunum yolu viruslarının serolojik olarak araştırılması. *Hayvancılık Araştırma Dergisi* 1999; 9, 53-60.

Yeşilbağ K, Bilge-Dağalp S. Koyunlarda bovine herpesvirus -1 enfeksiyonunun seroprevalansı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2006; 53, 141-143.

Yeşilbağ K, Bilge-Dağalp S, Okur-Gümüşova S, Güngör B. Studies on herpesvirus infections of goats in Turkey: prevalence of antibodies to bovine herpesvirus-1. *Revue de Médecine Vétérinaire* 2003; 154, 772-774.

Yıldırım Y. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki sığırlarda Mavidil (BT), IBR, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı. *Doktora Tezi*. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2003; Ankara, Türkiye.

Zarkov I and Bochev I. Comparative studies of goats from two regions for antiviral antibodies. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 7 2004; Supplement 1: 95-102.

Zarkov I and Sandev N. Detection of antibodies against the viruses of parainfluenza-3, bovine viral diarrhoea, adenoviruses and bovine herpes virus-1 in caprine blood sera. I announcement. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 4 2000; Supplement 1: 27-34.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı : Veli Özgür
Soyadı : ÇAĞLAV
Uyruğu : TC
Doğum Tarihi ve Yeri : 12.04.1986
Medeni Hali : Evli
Telefon : 0533 510 90 84
Fax : 0312 311 09 96
e-mail : ozgurcaglav@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lise	Muğla Anadolu Lisesi	2004
Yüksek Lisans	Adnan Menderes Üni. Vet. Fakültesi	2009

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2011	Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı/ ANKARA	Veteriner Hekim

Yabancı Dil

İngilizce, Almanca

Sunulan tezden elde edilen yayınlar:

Çağlav VÖ, Erol N (2014). Aydın ve İzmir İllerindeki Koyun ve Keçilerde Bovine Herpesvirus-1 (Bhv-1) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması. 11. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı). 21-24 Ekim 2014 Antalya.

TEŞEKKÜR

Bana olan sevgisi ve çalışmalarım boyunca göstermiş olduğu sabrı ile her konuda destekçim olan kıymetli eşim Ezgi Deniz ÇAĞLAV başta olmak üzere; tez konusunun seçimi ve çalışmalarımın yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen, çalışma süresince bana olan güveni ve eşsiz yardımları için tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Nural EROL'a, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. M. Tolga TAN'a, istatistik çalışmaları için Zootekni Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. M. Kenan TÜRKYILMAZ'a, laboratuvar çalışmalarımda her türlü olanağı bana sunan ve çalışmamı titizlikle yürüten Afyon Kocatepe Üniversitesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Sibel GÜR'e, hayatımda her zaman yanımda hissettiğim kıymetli annem, babam ve kardeşim ile ikinci aileme teşekkür ediyorum.

Ayrıca; çalışmalarımındaki katkıları için Veteriner Hekim Dr. M. Eren ASLAN'a, Doğum ve Jinekoloji Uzmanı Veteriner Hekim Resul KOÇYİĞİT'e, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'nda doktorasını yapmakta olan Araş. Gör. B. Taylan KOÇ' a, örneklemelerdeki yardımları için Veteriner Hekim Zafer Emin URAL'a, koordinasyonu sağlamadaki destekleri ve çalışmaları için Aydın İli Damızlık Koyun ve Keçi Yetiştiricileri Birliği Yönetim Kurulu Başkanı Halit KAHRAMAN başta olmak üzere Ziraat Yük. Müh. Orçun ORUÇOĞLU ve Ziraat Müh. Özlem ADIGÜZEL'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

EKLER DİZİNİ

Ek 1. İllere ve hayvan türlerine göre seropozitiflik dağılımları

İl	KEÇİ			KOYUN			TOPLAM		
	n	Seropozitif	%	n	Seropozitif	%	n	Seropozitif	%
İzmir	39	25	64,1	211	0	0	250	25	10**
Aydın	89	58	65,2	121	2	1,6	210	60	28,6**
Genel Toplam	128	83	64,8*	332	2	0,6*	460	85	18,5

n: test edilen hayvan sayısı *P<0.001 **P>0.53

Ek 2.İzmir ilinde toplanan kan örneklerinin işletmelere göre seropozitiflik dağılımları

İşletme No	n	Seropozitif	%
I	21	0	% 0
II	4	0	% 0
III	24	0	% 0
IV	1	0	% 0
V	25	0	% 0
VI	25	15	%60
VII	1	0	% 0
VIII	6	0	% 0
IX	1	0	% 0
X	6	0	% 0
XI	35	0	% 0
XII	1	0	% 0
XIII	34	0	% 0
XIV	1	0	% 0
XV	14	5	%35,71
XVI	6	4	%66,66
XVII	1	0	% 0
XVIII	1	0	% 0
XIX	1	0	% 0
XX	2	0	% 0
XXI	1	1	%100
XXII	3	0	% 0
XXIII	22	0	% 0
XIV	5	0	% 0
XV	7	0	% 0
XVI	1	0	% 0
XVII	1	0	% 0
Toplam	250	25	% 10

Ek 3. Aydın ilinde toplanan kan örneklerinin işletmelere göre seropozitiflik dağılımları

İşletme No	Seropozitiflik %	Seropozitif Hayvan Sayısı	n
I	% 0	0	29
II	% 0	0	6
III	% 0	0	15
IV	% 0	0	1
V	% 8,69	2	23
VI	% 0	0	1
VII	% 0	0	2
VIII	% 0	0	1
IX	% 54,54	12	22
X	% 0	0	1
XI	% 100	1	1
XII	% 33,33	6	18
XIII	% 0	0	2
XIV	% 0	0	12
XV	% 0	0	1
XVI	% 0	0	2
XVII	% 0	0	25
XVIII	% 100	4	4
XIX	% 78,57	33	42
XX	% 100	2	2
Toplam	% 28,57	60	210

Ek 4. Keçilerin ırk ve cinsiyetlerine göre seropozitiflik dağılımları

İrklar	DİŞİ			ERKEK			TOPLAM		
	%	Seropozitif	n	%	Seropozitif	n	%	Seropozitiflik	n
Kıl Keçisi	% 69,23	27	39	% 50	8	16	% 63,63	35	55
Kıl Keçisi Melezi	% 0	0	3	% 0	0	1	% 0	0	4
Saanen Keçisi	% 91,30	21	23	% 7,14	1	14	% 59,45	22	37
Saanen Keçisi Melezi	%100	16	16	%100	1	1	% 100	17	17
Malta Keçisi Melezi	%100	8	8	% 20	1	5	% 69,23	9	13
Honanlı Keçisi	%0	0	2	%0	0	0	% 0	0	2
Toplam	% 79,12	72	91	% 29,72	11	37	% 64,84	83	128

n: Test edilen hayvan sayısı

Ek 5. Koyunların ırk ve cinsiyetlerine göre seropozitiflik dağılımları

İrklar	Toplam Koyun Sayısı	Toplam Dişi Koyun Sayısı	Seropozitif Dişi Koyun Sayısı	Dişi Koyunlar İçin Seropozitiflik Yüzdesi	Toplam Erkek Koyun Sayısı	Seropozitif Erkek Koyun Sayısı	Erkek Koyunlar İçin Seropozitiflik Yüzdesi	Toplam Koyun Sayısına Göre Seropozitiflik Yüzdesi
Sakız Melezi	124	114	1	% 0,87	10	0	% 0	% 0,80
Sakız	19	17	0	% 0	2	0	% 0	% 0
Kıvırcık	22	20	0	% 0	2	0	% 0	% 0
Tahirova Melezi	66	62	0	% 0	4	0	% 0	% 0
Kıvırcık Melezi	9	9	0	% 0	0	0	% 0	% 0
Tahirova	72	69	1	% 1,44	3	0	% 0	% 1,38
İle De Frans	19	15	0	% 0	4	0	% 0	% 0
Karya	1	1	0	% 0	0	0	% 0	% 0
Toplam	332	307	2	%	25	0	% 0	% 0,60