



**ERZURUM YÖRESİ SIĞIRLARINDA
BOVINE VIRAL DIARRHEA VİRUS (BVDV)'un
VARLIĞININ İMMUNOHİSTOKİMYASAL
YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI**

Gökşad Cemil KOTAN

Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Mustafa ÖZKARACA

Yüksek Lisans Tezi - 2018

T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ERZURUM YÖRESİ SIĞIRLARDA BOVINE VİRAL
DIARRHEA VİRUS (BVDV)' un VARLIĞININ
İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE
ARAŞTIRILMASI

Gökşad Cemil KOTAN

Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mustafa ÖZKARACA

ERZURUM
2018

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK PATOLOJİSİ ANABİLİM DALI

ERZURUM YÖRESİ SIĞIRLARINDA
BOVINE VİRAL DIARRHEA VİRUS (BVDV)'un VARLIĞININ
İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI

Gökşad Cemil KOTAN

Tez Savunma Tarihi : 09.07.2018

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Mustafa ÖZKARACA

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Harun ÖZER

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Serkan YILDIRIM

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Duygu ARIKAN
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM - 2018

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Etiyoloji	2
2.2. Bulaşma	2
2.3. Patogenez.....	4
2.3.1. Akut Enfeksiyon	4
2.3.2. Transplental Enfeksiyon.....	5
2.3.3. Persiste Enfeksiyon.....	5
2.3.4. Mukozal Hastalık.....	5
2.4. Klinik Belirtiler.....	6
2.4.1. Makroskopik Bulgular	7
2.4.2. Mikroskopik Bulgular.....	8
2.5. Teşhis.....	9
2.6. Tedavi ve Koruma	10
3. MATERYAL VE METOT	11
3.1.Çalışma Materyali.....	11
3.2. Makroskopik İnceleme	11
3.3. Mikroskopik İnceleme	11
3.3.1. Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi	11

3.3.2. İmmunohistokimyasal BoyamaYöntemi	11
4. BULGULAR.....	13
4.1. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	13
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	19
5. TARTIŞMA.....	24
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	27
KAYNAKLAR	28
EKLER	39
EK-1 ÖZGEÇMİŞ	39
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	40

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, insani ve bilimsel yardımlarını esirgemeyen, danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mustafa ÖZKARACA'ya içtenlikle teşekkür ederim.

Çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM'a, Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Doç. Dr. Kübra Asena TERİM KAPAKİN, Dr. Öğr. Üyesi Serkan YILDIRIM, Dr. Öğr. Üyesi Serdar ALTUN ve Dr. Öğr. Üyesi Selim ÇOMAKLI'ya şükranlarımı sunarım. Hayatımın her anında yanımda olan, sıkıntılarımı paylaşan ve en büyük destekçim olan aileme teşekkür ederim.

Gökşad Cemil KOTAN

ÖZET

Erzurum Yöresi Sığırlarda Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV)'un Varlığının İmmunohistokimyasal Yöntemle Araştırılması

Amaç: Erzurum ve yöresindeki sığırlarda Bovine Viral Diarrhea Virus'un, serolojik çalışmalardan farklı olarak özellikle persiste enfekte sığırların immunohistokimyasal olarak teşhisine yönelik epidemiyolojik bir çalışma yapılmasıdır.

Materyal ve Metot: Irk, cinsiyet, ağırlık vb. ayrımı yapılmadan kesimi gerçekleştirilen 100 adet sığır cinsi hayvandan alınan ileum örnekleri makroskopik, histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemeye tabi tutuldu.

Bulgular: Makroskopik olarak herhangi bir patolojik bulgu göstermeyen örneklerin immunohistokimyasal incelemelerinde %27 oranında Bovine Viral Diarrhea Virus viral antijeni tespit edildi. Pozitif örneklerde histopatolojik olarak kript epitel hücrelerinde hiperplazi ve yer yer mitotik figürler, lamina propria'da ağırlıklı olarak histiyositlerden oluşan mononükleer hücre infiltrasyonları, 16' sında peyer plaklarında deskuamasyon, dejenerasyon ve nekroz, 9' unda ise lamina propria'da hemoraji tespit edilmiştir.

Sonuç: Erzurum ve yöresinde sığırlarda %27 oranında Bovine Viral Diarrhea Virus immunpozitifliği bulunmuş ve sığır yetiştiriciliği açısından önemli bir etken olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bağırsak, Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), Histopatoloji, İmmunohistokimya, Sığır

ABSTRACT

Immunohistochemical Investigation of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) in Cattles in Erzurum Region

Objective: An epidemiological study of the Bovine Viral Diarrhea Virus in Erzurum and its surroundings to immunohistochemically diagnose especially persistent infected cattle, unlike serological studies.

Materials and Methods: Race, sex, weight, etc. histopathologic and immunohistochemical examinations of the ileum specimens taken from 100 cattle breeding animals that had been cut without discrimination were subjected to microscopic, histopathologic and immunohistochemical examinations.

Results: Bovine Viral Diarrhea Virus viral antigen was detected in 27% of immunohistochemical analysis of specimens without any pathological findings macroscopically. In the positive specimens, mitotic figures in crypts, hyperplasia in crypt epithelial cells and mononuclear cell infiltrates predominantly histiocytes in lamina propria, desquamation, degeneration and necrosis in pyloric plaques at 16 and haemorrhage in lamina propria were detected.

Conclusion: Bovine viral diarrhea virus immunopositivity was found in 27% of cattle in Erzurum and its region and was determined that it was an important factor in cattle breeding.

Keywords: Bovine, Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), Histopathology, Immunohistochemistry, Intestine

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BVD	: Bovine Viral Diarrhea
BVDV	: Bovine Viral Diarrhea Virus
DAB	: 3,3 diaminobenzidine
H&E	: Hematoksilen- Eozin
IBR	: İnfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis
MD	: Mucosal Disease
PBS	: Phosphate Buffer Solution
PI	: Persistente Enfekte
PI3	: Parainfluenza Tip 3
RSV	: Respiratory Syncytial Virus

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No

Sayfa No

- Şekil 4.1.** İleum, Lamina epitelyalis' te BVDV immunpozitifliği (ok başı), IHK,
Bar:20µm. 14
- Şekil 4.2.** İleum, Lamina epitelyalis' te BVDV immunpozitifliği (ok başı), IHK,
Bar:10µm. 15
- Şekil 4.3.** İleum, Lamina propria'da villuslara yakın bölgedeki yangısal hücrelerde
BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:20µm. 15
- Şekil 4.4.** İleum, Lamina propria'da villuslara yakın bölgedeki yangısal hücrelerde
BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:20µm. 16
- Şekil 4.5.** İleum, Lamina propria'da kriptler ile peyer plakları arasındaki yangısal
hücrelerde BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:20µm..... 16
- Şekil 4.6.** İleum, Lamina propria'da yangısal hücrelerde BVDV immunpozitifliği (ok
başı) , IHK, Bar:10µm. 17
- Şekil 4.7.** İleum, Kript epitel hücrelerinde BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK,
Bar:20µm. 17
- Şekil 4.8.** İleum, Kript epitel hücrelerinde BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK,
Bar:10µm. 18
- Şekil 4.9.** İleum, Peyer plaklarındaki lenfoid hücrelerde BVDV immunpozitifliği (ok
başı) , IHK, Bar:20µm. 18
- Şekil 4.10.** İleum, Peyer plaklarındaki lenfoid hücrelerde BVDV immunpozitifliği (ok
başı) , IHK, Bar:10µm. 19
- Şekil 4.11.** İleum, Kript epitellerinde mitotik figür (ok başı), H&E, Bar:20µm. 21
- Şekil 4.12.** İleum, Kript epitellerinde hiperplazi (ok başı) , H&E, Bar:20µm. 22

Şekil 4.13. İleum, Lamina propria’da mononükleer hücre infiltrasyonları (*), H&E,

Bar:20µm. 22

Şekil 4.14. İleum, Lamina propria’da hiperemi (ok başı), hemoraji, H&E, Bar:20µm. 23

Şekil 4.15. İleum, Peyer plaklarında deskuamasyon, dejenerasyon ve nekroz (*), H&E,

Bar:50µm. 23



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 4.1. BVDV viral antijenlerinin yerleşim yerleri	13
Tablo 4.2. BVDV pozitif örneklerin H&E boyamasında görülen histopatolojik bulgular	20



1. GİRİŞ

Flaviviridae familyasında, Pestivirus alt grubunda yer alan Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), Bovine Viral Diarrhea (BVD) hastalığının etkenidir. BVD dünya genelinde yaygın gözlenen ve işletmeler için önemli kayıplara neden olan enfeksiyonlar arasında yer almaktadır.

Sığırlarda yaygın olan BVD enfeksiyonları, sindirim sistemi enfeksiyonları ve transplasental enfeksiyonlara bağlı olarak şekillenen reproduktif bozuklukların yanında, abort ve mastitis gibi problemlere de yol açabilmektedir. BVDV'nin özellikle yeni doğan hayvanlarda ve akut tablolarda şiddetli ishal meydana getirebildiği yapılan çalışmalar neticesinde ortaya koyulmuştur. Kısaca, BVD enfeksiyonu, süt ve et amaçlı sığır yetiştiriciliğinde yol açtığı direkt ve indirekt ekonomik kayıplar nedeniyle ülke ekonomisinin önemli problemlerinden birisidir.

Erzurum ve yöresindeki yapılan bu çalışma ile sığırlarda Bovine Viral Diarrhea Virus'un, serolojik çalışmalardan farklı olarak özellikle persiste enfekte sığırların immunohistokimyasal yöntemle tespitine yönelik epidemiyolojik bir çalışmanın yapılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Bovine Viral Diarrhea Virus kaynaklı enfeksiyonlar ilk kez 1946 yılında Olafson ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Klinik olarak, ateş, gastroenteritis, şiddetli ishal, ağızda lezyonlar ve lökopeni gibi belirtiler gösteren, persiste akut bir enfeksiyondur.¹ Daha sonraki yıllarda, semptomatik olarak BVDV enfeksiyonuna çok benzemesine rağmen semptomların daha şiddetli seyrettiği ve mortalitesi daha yüksek olan “Mucosal Disease” (MD) bildirilmiştir.² Doğal yollarla şekillenen BVD/MD enfeksiyonlarından izole virusların incelenmesi sonucunda, BVDV’un hücre kültürlerinde sitopatojenik etki oluşturan (sitopatojen) ve oluşturmayan (non-sitopatojen) olmak üzere iki biyotipi olduğu tespit edilmiştir.^{3,4} BVDV’un dağılımı sadece Kuzey Amerika ve Avrupa ile sınırlı değil, tüm dünyada yaygındır.⁵⁻⁷ Ülkemizde ise araştırmalar neticesinde seroprevalansının yüksek olduğu bildirilmiştir.⁸⁻¹¹

2.1. Etiyoloji

Bovine Viral Diarrhea Virusu Flaviviridae ailesinin, Pestivirus genusuna ait, rekombine olabilen bir RNA virusudur.¹² Yapısal olarak tek iplikçikli, 40-60 nm çapında, zarflı ve küresel bir virustur.¹³

Bovine Viral Diarrhea Virus, 69 virusun bulunduğu Flaviviridae ailesinin, Pestivirus alt grubunda yer alır. Bu ailede yer alan viruslar, başta Louping ill, Wesselbron ve Japon ensefalitisi gibi hastalıkların da bulunduğu, veteriner hekimlik açısından önemli enfeksiyonlara yol açarlar. Yine bu ailede yer alan virusların 30 kadarı konakçısı insan olan ve artropodlarla bulaşan hastalıkları meydana getirirler. Pestiviruslar ailesinde yer alan BVDV büyük ruminantlarda BVD enfeksiyonunu meydana getirir.¹⁴

2.2. Bulaşma

Hastalıkta epidemiyolojik olarak önem arz eden immuntolere persiste

enfeksiyon, BVDV'un non-sitopatojen suşları tarafından meydana getirilir. Primer konakçıları büyük ruminantlar olan BVDV, yol açtığı BVD enfeksiyonunun etkileri nedeniyle hayvan yetiştiriciliği açısından en çok öneme sahip hastalıklardan birisidir.¹⁵ BVDV iletimi bulaşıcı virüs saçan enfekte hayvanlar ile gerçekleşir. Virüs iki hafta boyunca doğrudan temas, vücut salgıları ve kirlenmiş fomitler yoluyla bulaşabilir.¹⁶

Bovine Viral Diarrhea Virus'un konakçıları evcil ve yabani ruminant türleri ile domuzlardır. Persiste enfekte sığırlar ise hastalığın rezervuar konakçıları olarak karşımıza çıkar. Buzağı enfeksiyonları prenatal dönemde transplasental olarak meydana gelir.¹⁷

Birçok ülkede yapılan antikör taramalarında bulunan yüksek sonuçlar, BVD'nin dünya çapında çok geniş dağılım gösterdiğini ortaya koymuştur. Enfeksiyon genellikle akut ya da persiste enfekte hayvanlar ile duyarlı hayvanların doğrudan teması neticesinde ortaya çıkar.¹⁸ Bunun yanı sıra, indirekt temas ile enfekte hayvanların gözyaşı, burun akıntıları, tükürük, semen, dışkı, idrar, ter ve süt gibi salgılarıyla da bulaşır. Tüm bunların dışında, iatrojenik yollarla, kontamine aşılar, embriyo transferi, aşılama ve enjeksiyon gibi araçlarla da bulaşabilir.¹⁹ Bulaşmaya yol açan canlı bir vektör hakkında herhangi bir bilgilendirme yoktur. Yıl boyunca her dönemde BVD'ye rastlamak mümkün olsa da, hayvanların daha çok iç içe bulunduğu kış mevsiminde hastalığın insidensi artar.²⁰

Başka etkenlerle birlikte de seyredabilen BVDV'un saha şartlarında bir arada görüldüğü etkenler çoğunlukla; İnfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis (IBR), Parainfluenza Tip 3 (PI3), Respiratory Syncytial Virus (RSV) ve Pasteurella haemolytica etkenleridir. Miks solunum sistemi enfeksiyonlarında genellikle ana etkenin BVDV olduğu dile getirilmektedir.^{21,22}

Prognoz, enterik (Rotavirus, Coronavirus ve Salmonella spp.) ve respiratorik

(IBR, PI3, RSV) etkenlerin dahil olduğu vakalarda daha ağırdır.²² Ayrıca akut BVDV enfeksiyonunundan sonra hastalarda bakteriyemi tablolarında artış olduğu bildirilmiştir.²³ Miks enfeksiyonlarda şekillenen patolojik bulgular, çoğunlukla diğerk enfeksiyon etkenlerine bağlıdır.²²

2.3. Patogenez

Klinik olarak BVDV'un oral ve/veya nazal olarak bulaşmasından sonra etken, primer olarak oropharynx bölgesinde çoğalmaya başlar.²⁴ Primer virüs çoğalması, virusun oral ya da nazal yol ile bulaşmasından sonra, enfeksiyonun giriş yaptığı bölgenin yakınındaki mukozalarda ve/veya bağırsak kript hücrelerinde görülür.²⁵ Oronazal mukoza epitellerinde, primer çoğalma sonucunda mukozada ülser görülebilir. Etken daha sonra fagositik hücreler tarafından lenfoid dokulara taşınır.²⁶ Vücudun tamamına yayılması viremi neticesinde ortaya çıkar ve bu süreç boyunca birkaç gün depresyon, ateş, ishal ve lökopeni tabloları ile karşılaşılabilir.²⁷

2.3.1. Akut Enfeksiyon

Akut vakalar, yaşa bağlı olmaksızın, seronegatif, immunokompetan duyarlı büyük ruminantların enfeksiyona ilk kez maruz kalmaları sonucunda görülür.²⁴ Bu vakalarda enfeksiyon genellikle nazal ve/veya oral olarak şekillenmektedir.²⁸ BVDV önce, tonsiller, lenf dokusu, nazal ya da orofarengeal dokuların mukozalarında çoğalır.²⁹ Oro-nazal mukozanın epitellerinde süratle replike olan virüs, mukozalarda ülserele, salya ve burun akıntısına yol açar.²⁴ Sistemde BVDV'un yayılması dolaşım sistemi yoluyla olabileceği gibi, virusun kendisinin ya da enfekte hücrelerin fagositler aracılığıyla periferdeki lenf dokularına geçişi de mümkündür. Bazı suşların virulensinin yüksek olması bu yayılmanın uzun süre devam etmesine sebep olsa bile, enfeksiyondan itibaren 24 saat içinde viremi şekillenebilir ve 3 ila 10 gün boyunca kan ve nazal akıntılarda virus tespit edilebilir.^{16, 24, 30} BVDV'un sisteme dağılması sürecinde etkenin

lenfoid dokuların yanı sıra diğer dokulara da nüfuz etmesi mümkündür.³⁰

2.3.2. Transplasental Enfeksiyon

Hayvanın gebe olduğu durumlarda şekillenen akut enfeksiyonlar ağır sonuçlara yol açmaktadır. BVDV, plasentayı geçerek ve intrauterin enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Transplasental enfeksiyon, gebelikten önce kontamine semen vasıtasıyla, venereal olarak maruz kalınan akut enfeksiyonlar yoluyla, gebelik süreci içinde annenin akut enfeksiyona yakalanmasıyla veya annenin persiste enfekte olması neticesinde görülür.³¹

2.3.3. Persiste Enfeksiyon

Gebeliğin ilk üç aylık döneminde immun sistemi henüz gelişmeyen fötüs non-sitopatojen BVDV ile enfekte olduğunda fötüs antikor yanıt geliştiremez, bu nedenle bağışıklık sistemi geliştiğinde de BVDV yabancı antijen olarak algılanmaz ve sonuç olarak Persiste enfekte (PI) yavrular ortaya çıkar.^{16, 32, 33} Bu yavrular doğumun hemen sonrasında ve kolostrum almadan incelenirse antikor negatif ve antijen pozitif oldukları görülür. Maternal antikor almaları durumunda bile vücut salgılarında BVDV bulunur.³⁴ Vücutlarındaki maternal antikor miktarı azaldıkça daha yüksek titrede non-sitopatojen BVDV saçarlar.^{16, 35, 36} PI canlılar non-sitopatojen BVDV ile enfekte olduklarında değil fakat diğer biyotiplerle enfekte olduklarında immun yanıt geliştirebilirler.³⁷ PI yavruların doğum ağırlıkları sağlıklı olanlara göre daha düşüktür ve doğumdan sonra da gelişimlerinde gerilik görülür.²⁶

2.3.4. Mukozal Hastalık

Mucosal Disease, sadece non-sitopatojen BVDV ile persiste enfekte hayvanlarda, antijenik olarak homolog sitopatojen suşla süperenfeksiyon şekillenmesiyle gelişmektedir.³² MD vakalarında iki biyotip arasındaki benzerlik enfeksiyonun gelişimini belirler. Süperenfeksiyonun gelişimi farklılıklar gösterebilir.

Horizontal olarak bulaşan, homolog bir sitopatojen virus süşunun yanısıra, mutasyona uğramış bir non-sitopatojen virüs da bu duruma yol açabilir. Bu mutasyon sonucunda virusun antijenik yapısı değişime uğramasa da, sitopatojen virüsün konakçı organizmanın savunması tarafından tanınmadan replike olmasını sağlar.³⁸ Enfeksiyon başladıktan sonra, virus tonsil epitel hücrelerinde çoğaldıktan sonra, bölgesel lenf yumrularına, peyer plaklarına, barsaklarda mukoza ilişkili lenfoid dokuya ve akciğer ya da nazal lenf folliküllerine yayılmaktadır. Enfeksiyonun epitel dokuda şekillenmesi, önce lenfoid doku enfeksiyonunun gerçekleşmesine bağlıdır ve bu dokularda oluşan lezyonların temelinde apoptotik hücrelerin ölümündeki artış rol alır. Barsak mukozasında enterositlerin enfekte olması da bazolateral yüzeyden olmaktadır.²⁹

2.4. Klinik Belirtiler

BVDV enfeksiyonu lökopeni, salivasyon, burun akıntısı, öksürük, depresyon, ishal, anoreksi ve ülserasyon ile karakterizedir.^{1, 39} Subklinik ya da orta şiddetli enfeksiyonlarda 10–90. günler arasında gebe hayvanlarda abort görülebilir.²⁰

İnkubasyon süresi 5–7 gün olan akut vakalarda morbidite yüksek olmasına rağmen mortalite düşüktür.²⁴ Gebe olmayan hayvanların bir çoğunda 8–24 aylık dönemde görülür ve enfeksiyon genellikle subklinik olarak seyreder. 3–8 aylık yavrular maternal antikolar tarafından korunabilir fakat bu koruma kaybolduktan sonra enfeksiyon ortaya çıkabilir. Genel semptom olarak hayvanlarda ateş, lökopeni ve iştahsızlık görülebilir. Daha şiddetli vakalarda, göz ve burun akıntısı, eroziv stomatitis, diyare ve süt veriminde düşüş, akut enfeksiyonda ise ortaya çıkan lökopeni sonucunda diğer enfeksiyonlara da duyarlılık ortaya çıkar.²⁰

Dışilerde erken gebelik periyodunda annenin enfekte olması embriyonik ölüm ve rezorbsiyona yol açar. Gebe hayvanların enfeksiyona maruz kalmaları halinde ortaya çıkan diğer tablolar ise; abort^{36, 37, 40} fütal mumifikasyon⁴¹, beyin ve göz lezyonları³⁶,

intrauterin gelişim geriliği^{16, 35, 37} ve persiste enfekte buzağı doğumlarıdır⁴². Enfeksiyon, gebe hayvanlarda çoğunlukla semptomsuz veya hafif seyrederek ve anne bağışık hale gelir.²⁰

Persiste viremik buzağular doğum ağırlıkları bakımından normalden daha düşüktür ve doğum sonrasında ise büyüme geriliği gösterirler.⁴² Gözlenen klinik semptomlar, yüksek ateş, lökopeni ve burun akıntısıdır.²⁴ Persiste enfekte hayvanlar immun sistemin baskılanmış olması nedeni ile başka enfeksiyon ajanlarına karşı daha duyarlıdırlar ve bunun sonucunda da MD gelişebilir.²⁰

Bovine Viral Diarrhea Virus enfeksiyonu, reproduktif açıdan infertilite, abort ve mastitis gibi problemlere yol açabilir.⁴³ Solunum sistemi açısından da bir patojen olarak bilinen BVDV'nin yeni doğan hayvanlarda, akut tablolarda diyare meydana getirebildiği yapılan çalışmalar neticesinde ortaya koyulmuştur.²⁰

Bovine Viral Diarrhea Virus saha şartlarında, özellikle IBR, PI3, RSV ve Pasteurella haemolytica etkenleri ile miks olarak karşımıza çıkabilir. Ayrıca birçok miks solunum sistemi enfeksiyonunda temel etkenin BVDV olduğu bildirilmektedir.^{21,}

22

Bovine Viral Diarrhea Virus'un enterik olarak, Rotavirus, Coronavirus ve Salmonella spp. gibi ve respiratorik olarak IBR, PI3, RSV ve Pasteurella spp. gibi etkenlerle birlikte görüldüğü miks enfeksiyonlarda hastalığın seyri daha ağırdır.²² Bunun dışında akut vakalardan sonra bakteriyemi oluşumunun arttığı bildirilmiştir.²³ Miks enfeksiyonlar sonucunda oluşan patolojik tablolar genellikle diğer ajanlara bağlıdır.²¹

2.4.1. Makroskobik Bulgular

Bovine Viral Diarrhea Virus enfeksiyonları genelde subkliniklidir. Özellikle 6 aylıktan büyük hayvanlarda bazen enfeksiyon çok daha şiddetli olarak gözlenir. İnce

bağırsak serozası ve mezenteriumda yoğun kanamalar gözlenir.⁴⁴

Burun akıntısı, salya artışı, mukozalarda ülserler ve kript hücrelerinde ve bağırsak lenfoid dokularında nekrozlar ortaya çıkar.²⁵

Abomazumda kanama ve yaygın ülserler şekillenir. İleum, kolon ve sekumda hemorajik ve fokal ülserler şekillenir. Peyter plakları nekrozludur. Mezenterik lenf nodüllerinde ödem ve buna bağlı olarak şişkinlikler vardır, hemorajiler meydana gelir.⁴⁵

Bağırsaklarda difteroid membranlı ülserler görülür. Peyter plakları yapısal olarak hiperplastiktir ve yüzeylerinde kitlesel nekrozlar, pıhtı veya difteroid membranlı ülserler vardır. Kranial ve servikal lenf düğümleri büyümüştür ve kesitleri ödemli ve kanamalıdır.⁴⁶

Gebelikte, enfeksiyonun şekillendiği döneme göre fötüs rezorbsiyonu, mumifikasyon, abortus, mikroensefali, serebellum hipoplazisi, hidraensefali, omurilikte miyelinleşme, mikroftalmi, kas ve iskelet deformasyonları ve intrauterin gelişim geriliği gibi konjenital malformasyonlara neden olur.⁴⁴

Gözlerde, katarakt, retina dejenerasyonu, atrofi, displazi ve optik nöritis gibi dejenerasyonlara yol açar.⁴⁴

Subakut veya kronik vakalar, ağız lezyonları ve diyare ile kendini gösterir. Kronik hastalarda interdigital dermatitis, koronitis ve laminitis görülür. Makroskobide ağız mukozası hiperemiktir ve üstünde ince, gri renkli katarakt oluşur. Bu odaklarda erozyon ve ülserler oluşur ve genişler. Meme dokusu ve çevresinde de erozyon ve ülserler oluşur.⁴⁴

2.4.2. Mikroskobik Bulgular

Mikroskobik olarak, mukozalarda erozyon, nekroz, ülser, lamina propriyada yoğun hücre infiltrasyonu ve hiperemi görülür.^{44, 46, 47} Enfeksiyonunu takiben dil ve özafagus mukozasında polimorf nükleer hücre infiltrasyonu şekillenir.⁴⁸ İnce

bağırsaklarda kript epitellerinin yıkımlanması karakteristik lezyondur. Payer plaklarında nekroz, submukozal ve mezenterik arteriyollerde hyalin dejenerasyonu, fibrinoid vaskülit ve perivasküler hücre infiltrasyonları görülmektedir. Başlangıçta bu infiltrasyon sınırlıdır fakat daha sonra nötrofillerin de epitele infiltrasyonu başlar. Hücre infiltrasyonundaki yoğunlaşma ve hiperemi, lamina propria'daki erozyon ve ülserler neticesinde ortaya çıkar.^{44, 46, 47}

Damar lezyonları bağırsaklarla sınırlı değildir. Kalp, beyin ve adrenal kortekslerde de bulunabilir.^{46, 47}

2.5. Teşhis

Sürü kayıtlarında BVDV'nin ortaya çıkarabileceği sorunların görülmesi (MD, infertilite, abort, doğum anomalileri) ve klinik bulgular akla BVD enfeksiyonunu getirebilir.⁴⁹ Teşhis için laboratuvar çalışmaları önemlidir. Lenfoid organların biyopsi ve nekropsisi, fötüs dokuları, oral ve/veya nazal akıntılar, süt, idrar ve gaita örneklerinin çalışılması ve viral olarak da kan numuneleri önemlidir.^{50, 51}

Hastalarda BVDV'nin tespit edilmesi Peroksidaz Linked Antibody (PLA),⁵² Direkt Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)^{53, 54}, İmmunhistokimya, İmmunofloresan Test,⁵⁵ ve Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction (RT-PCR)⁵⁶ testleri uygulanabilir.

Akut vakalarda virusun teşhisi, enfeksiyondan itibaren 3. ila 8–10. günler arasında alınan materyallerden sağlanabilir. Hastaların bazılarında bu sürenin 2–3 gün ile sınırlı olabilmesi virusun izolasyonunu güçleştirir.⁵¹ Virus, lökosit fraksiyonundan, mukoza ve burun svaplarından ve kan serumundan da izole edilebilse de en uygun materyal tam kandır.²⁰

Virusu izole etmenin güçlüğü ve her seferinde olumlu sonuç alınamaması yüzünden, tüm vakalarda serolojik teşhis de kullanılmalıdır.⁴⁹ Serolojik teşhis için

kullanılan Virus Nötralizasyon Test (VNT)^{49, 51, 57} ve Nötralizasyon Peroksidaz Linked Antibody (NPLA)^{58, 59} testlerinde BVDV spesifik antikor aranmasıdır.

2.6. Tedavi ve Koruma

BVDV enfeksiyonunda temel hedef sürünün virustan tamamen ari hale getirilmesidir. Bunun için, patogenezinin karmaşıklığı ve subklinik de seyrebildiği de hatırlanarak laboratuvar testleri göz ardı edilmemelidir.²⁰

Sürüye aşı uygulaması yapılmadan önce mutlaka antikor taraması yapılmalıdır.²⁰ İntranasal olarak uygulanan canlı aşular yeterli bağışıklık sağlarlar.²⁰ Ancak gebe hayvanlara inaktif aşı kullanılması önerilmektedir.⁶⁰ Çünkü erken dönemdeki gebelerin, canlı aşularla aşılınması, fötuslarda ve yavrularda sanki doğal enfeksiyon şekillenmiş gibi bozukluklara yol açabilir.^{61, 62} Bunun dışında inaktif aşuların da taşıyıcı bireyler için sakıncalı olduğu unutulmamalıdır.⁶⁰ Hastalık oluşturmadan yeterli bağışıklığı sağlamaları nedeni ile buzağılardaki ilk aşı uygulaması için inaktif aşuların tercih edilmesi gerekir.^{63, 64}

Maternal bağışıklığın yeterli olması yavrularda 9 aya kadar koruma sağlasa da,⁶⁵ bu durum alınan maternal antikor titresi ve sütün verilme şekline göre değişiklik gösterir.⁶⁶ Virus vücuda oral olarak girdiği için antikor titresinin yüksek olması enfeksiyonu önleyemeyeceği bildirilmiştir.⁶⁶ Bu nedenle ilk aşılama zamanını doğru tayin etmek önemlidir.²⁰

3. MATERYAL VE METOT

3.1.Çalışma Materyali

Çalışma materyalini 2015 Ekim-Aralık ayları arasında mezbahada kesilen hayvanlardan düzenli aralıklarla, hayvanların aynı işletmeye ait olmamasına dikkat edilerek ve ırk, cinsiyet, ağırlık vb. ayırım yapılmadan alınan 100 adet sığıra ait ileum dokusu oluşturdu.

3.2. Makroskobik İnceleme

Makroskobik incelemede herhangi bir patolojik bulgu göstermeyen 100 adet sığıra ait ileum örneği çalışmada kullanıldı.

3.3. Mikroskobik İnceleme

3.3.1. Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi

Alınan ileum örnekleri %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi. Dokular tespit işleminden sonra çeşme suyunda yıkandı. Takip cihazından (Shandon Citadel 2000) geçirilen dokular parafin bloklara alındı. Bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler normal ve polilizinli lamlara alındı. Normal lamlara alınan kesitler Hematoksilen- Eozin (H&E) ile boyandı. Boyama işleminden sonra kesitler üzerine entellan damlatılarak kapatıldı. Histopatolojik olarak kesitler, nekrotik, dejeneratif ve yangısal değişiklikler yönünden ışık mikroskobunda (Olympus BX-51) incelendi ve tipik histopatolojik bulgulara ait fotoğraflar alındı.

3.3.2. İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi

İmmunohistokimyasal boyama ile BVDV viral antijenlerinin varlığı araştırıldı. Boyama; Streptavidin-Biotin Kompleks metoduna göre ilgili firmanın önerdiği şekilde yapıldı (LSAB+ System- HRP, DAKO Carpinteria, USA). Bu amaçla polilisinli lamlara alınan 5 µm' lik kesitler ksilol ve alkol serilerinden geçirildi. Kesitler Phospate Buffer Solution (PBS) ile yıkandıktan sonra %3'lük H₂O₂'de 10 dk. tutularak endojen

peroksidaz inaktivasyonu sağlandı. Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak amacıyla antijen retrieval solüsyonu ile mikrodalga fırında 2x5 dk 500 watt' da muamele edildi. PBS ile yıkanan dokular Anti-BVD anti-serumu (VMRD, Katalog no. 210-70-BVD) ile 37° C de 1/500 dilusyon oranında 30 dk. süreyle inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda PBS ile yıkanan dokular biyotinlenmiş antikor ve Streptavidin-HRP'de 15'er dk bekletildi. Kromojen olarak 3,3 diaminobenzidine (DAB) kullanıldı. Yaklaşık 2 dk kromojende bekletilen kesitler saf su ile yıkandıktan sonra Mayer's Hematoksilen ile zıt boyama yapıldı. Kesitler üzerine entellan damlatılarak ışık mikroskopunda BVDV viral antijenleri var(+), yok (-) olarak incelendi. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile BVDV pozitifliği konfirme edilmiş parafin bloktaki akciğer örneği pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

4. BULGULAR

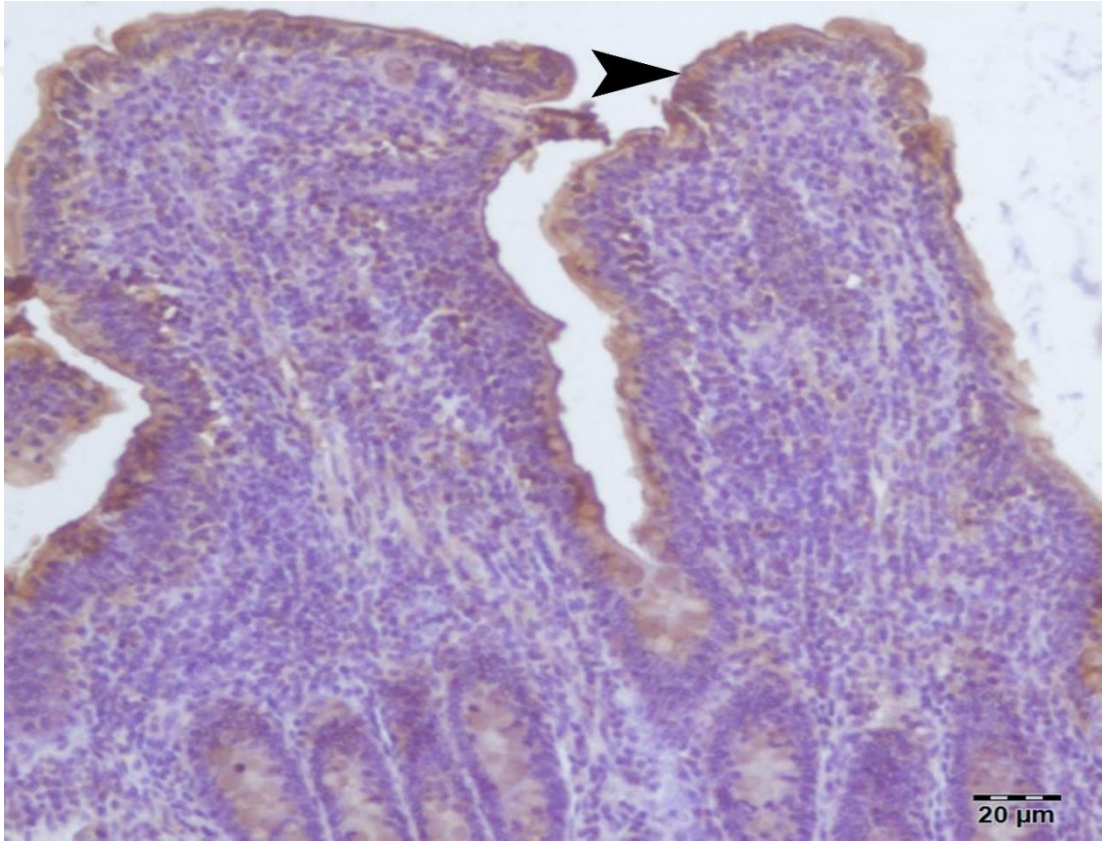
4.1. İmmunohistokimyasal Bulgular

İmmunohistokimyasal olarak boyaması yapılan 100 ileum örneğinin 27' sinde (%27) BVDV viral antijenleri tespit edildi. Viral antijenlerin organa ait lokalizasyonu Tablo 4.1'de verildi.

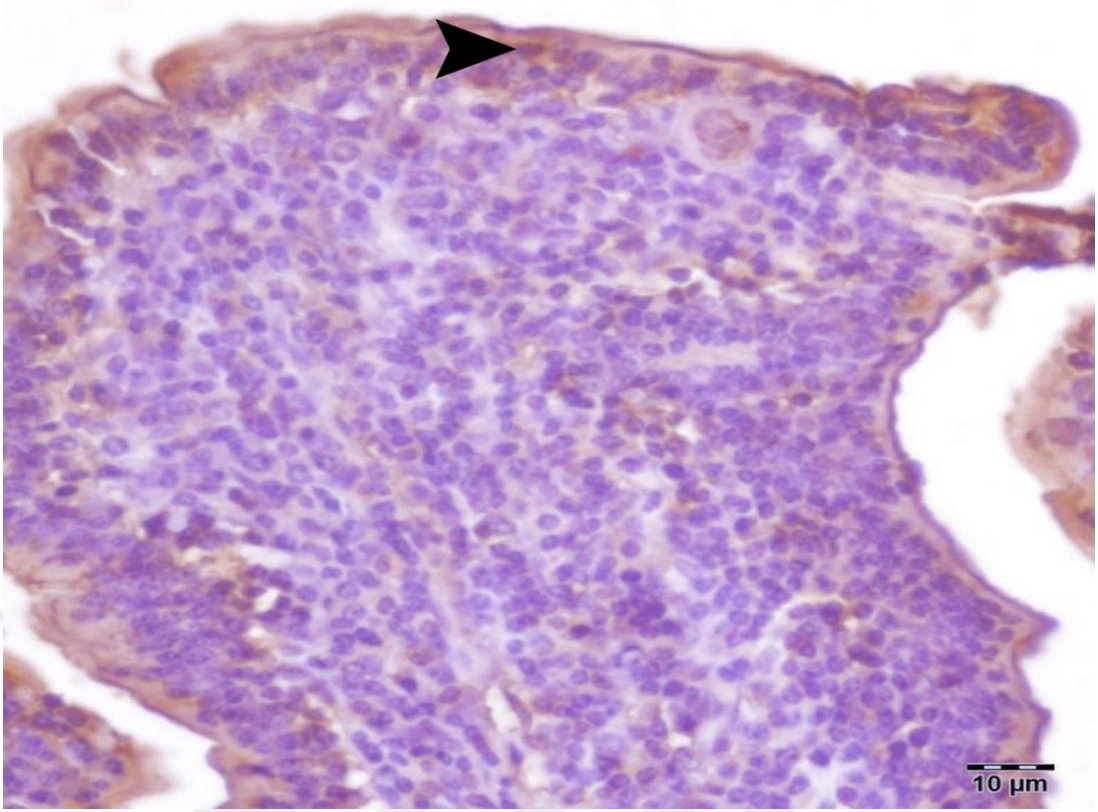
Tablo 4.1. BVDV viral antijenlerinin yerleşim yerleri

Örnek	Lamina epitelyalis	Lamina propria'daki mononükleer hücrelerde	Kript epitel hücrelerinde	Peyer plaklarındaki lenfoid hücrelerde
1	+	+	-	-
2	-	+	-	-
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	-	+
7	+	+	+	+
8	+	+	+	+
9	+	+	+	+
10	+	+	-	+
11	+	+	+	+
12	+	+	-	-
13	-	+	+	+
14	+	+	+	+
15	+	+	-	+
16	+	+	-	+
17	-	+	-	-
18	+	+	+	+
19	+	+	+	+
20	-	+	-	+
21	-	+	-	+
22	-	+	-	-
23	+	+	+	+
24	+	+	-	+
25	-	+	-	-
26	+	+	+	+
27	-	+	+	+
Toplam	19	27	14	21

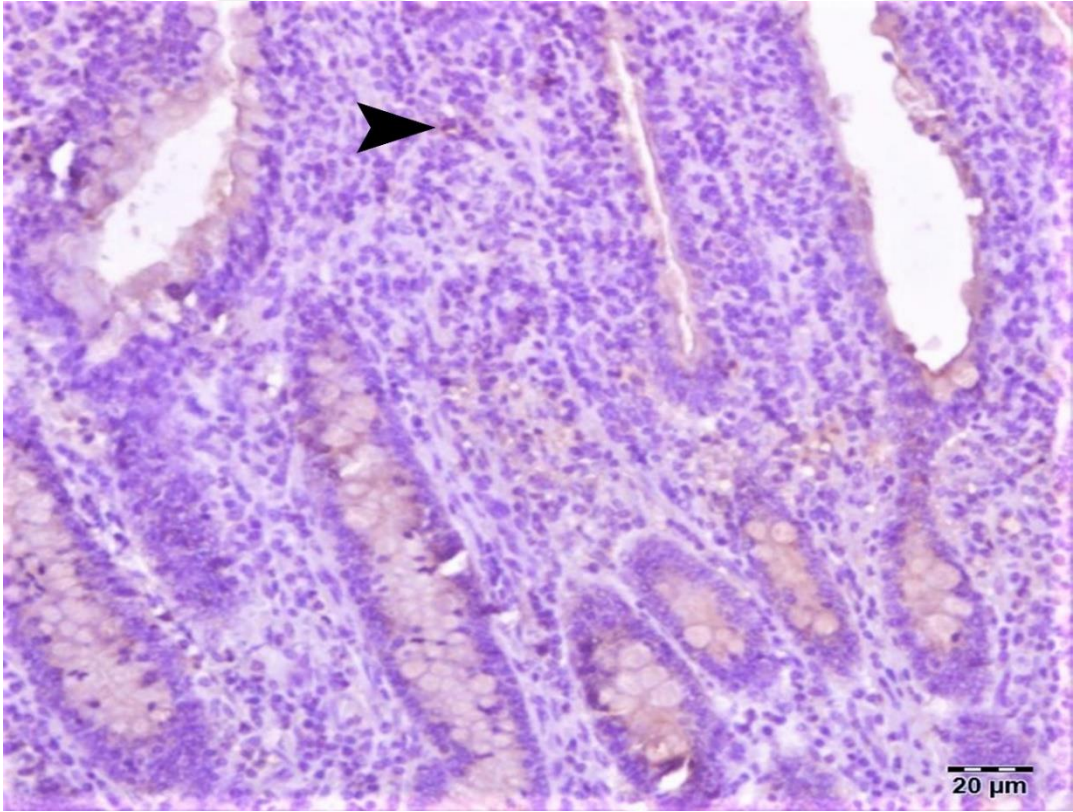
İmmunpozitif olarak tespit edilen örneklerin tamamında lamina propria'da BVDV viral antijenleri tespit edildi. Belirlenen immunpozitiflikler, 19 örnekte lamina epitelyaliste (Şekil 4.1, 4.2), 27 örneğin tamamında lamina propriada, kriptler ile peyer plakları arasındaki yangısal hücre infiltrasyonlarında intrasitoplazmik yerleştiği tespit edildi. (Şekil 4.3 - 4.6) Ayrıca 14 örnekte kript epitellerinde BVDV immunpozitifliği belirlendi. (Şekil 4.7, 4.8) 21 örnekte ise peyer plaklarındaki lenfoid hücrelerde BVDV immunpozitifliği belirlendi. (Şekil 4.9, 4.10)



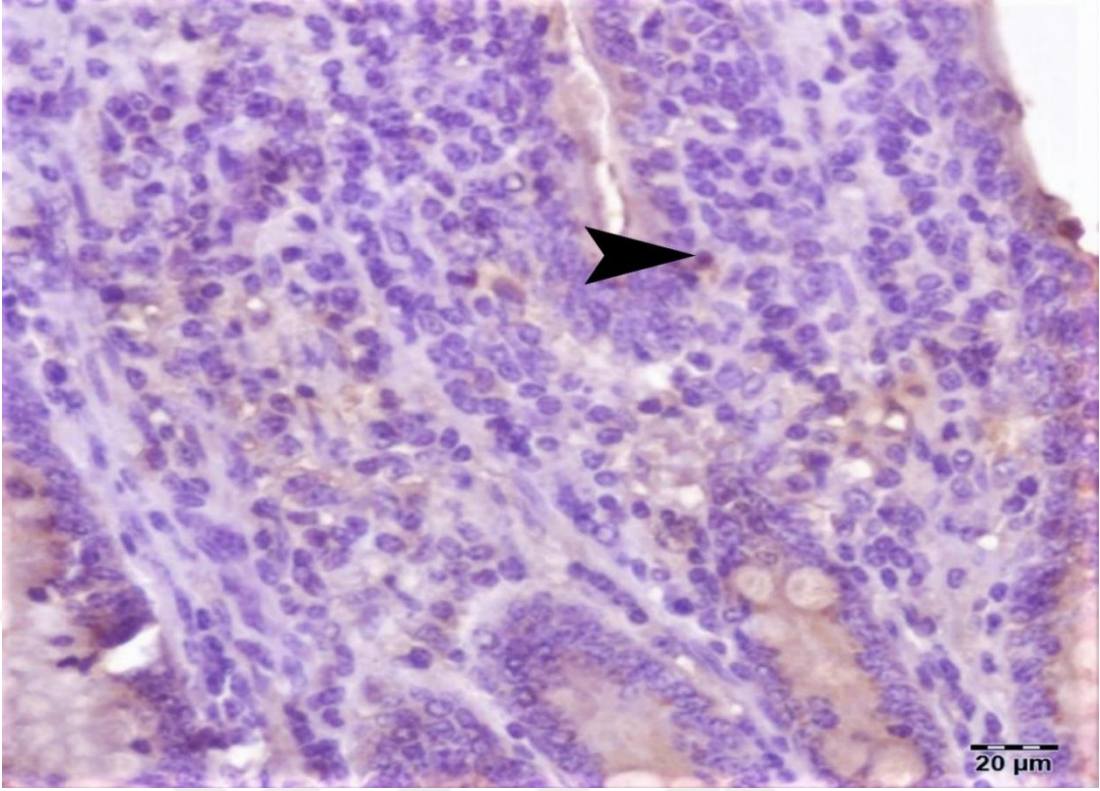
Şekil 4.1. İleum, Lamina epitelyalis' te BVDV immunpozitifliği (ok başı), IHK, Bar:20µm.



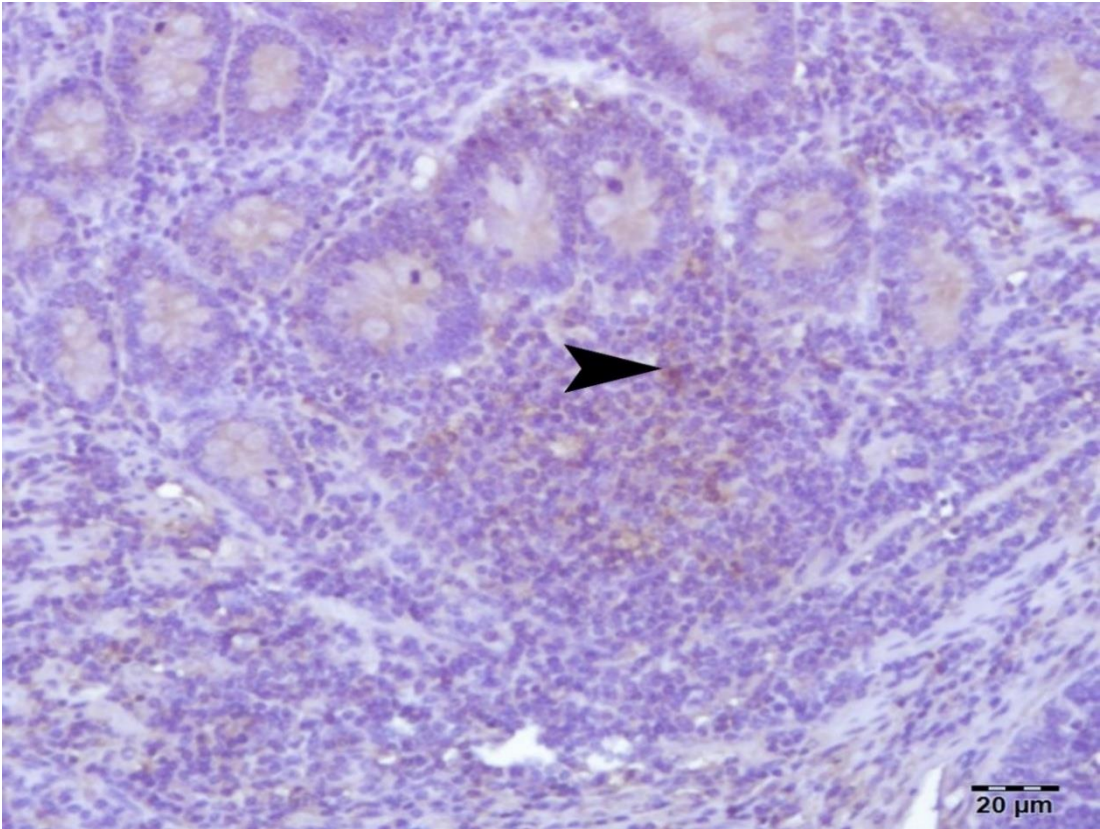
Şekil 4.2. İleum, Lamina epitelyalis' te BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:10µm.



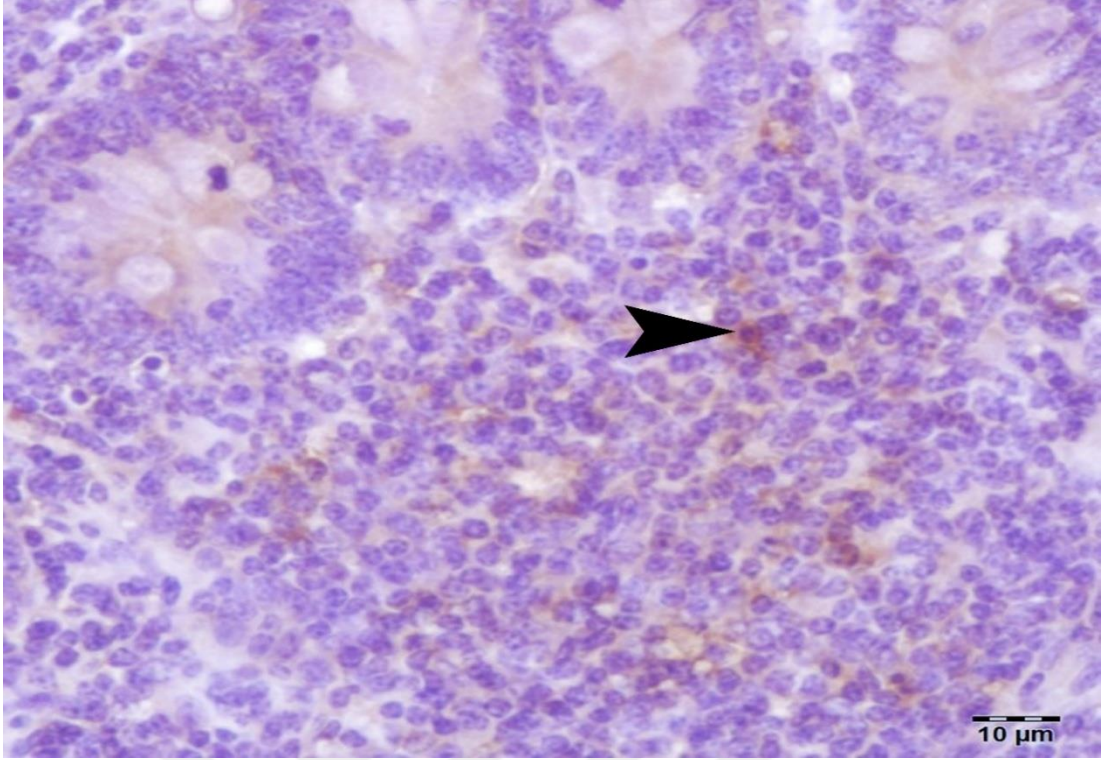
Şekil 4.3. İleum, Lamina propria'da villuslara yakın bölgedeki yangısal hücrelerde BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:20µm.



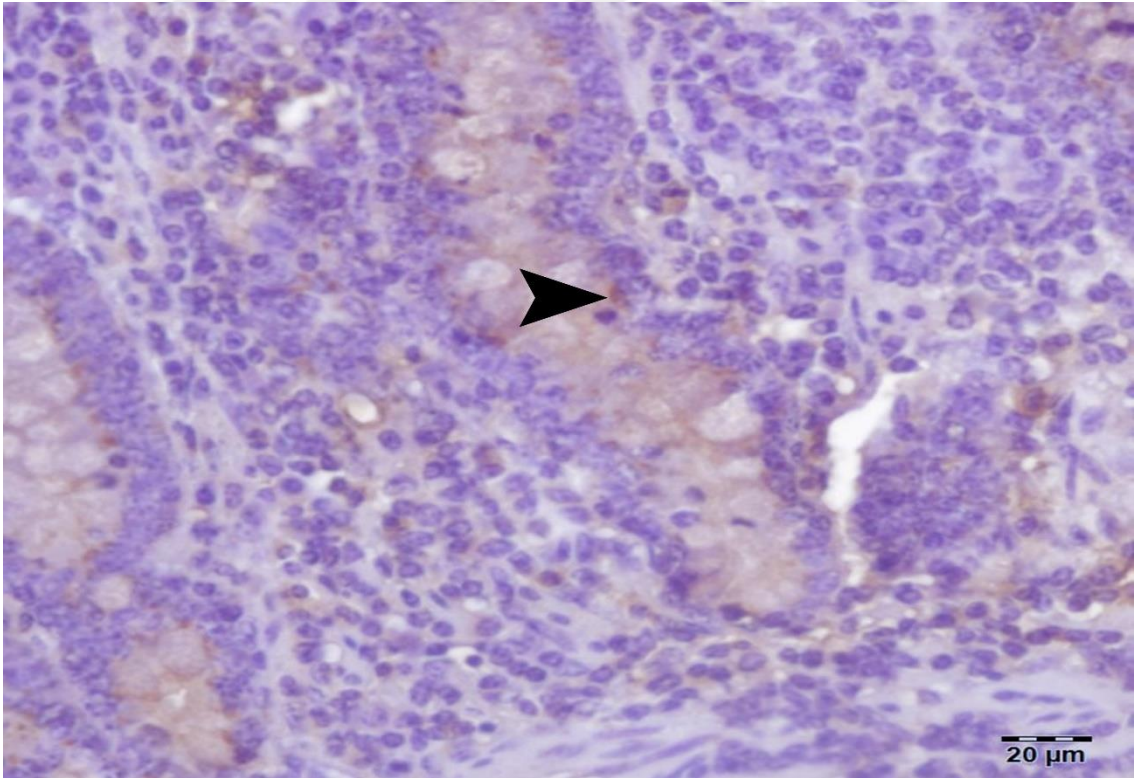
Şekil 4.4. İleum, Lamina propria'da villuslara yakın bölgedeki yangısal hücrelerde BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:20µm.



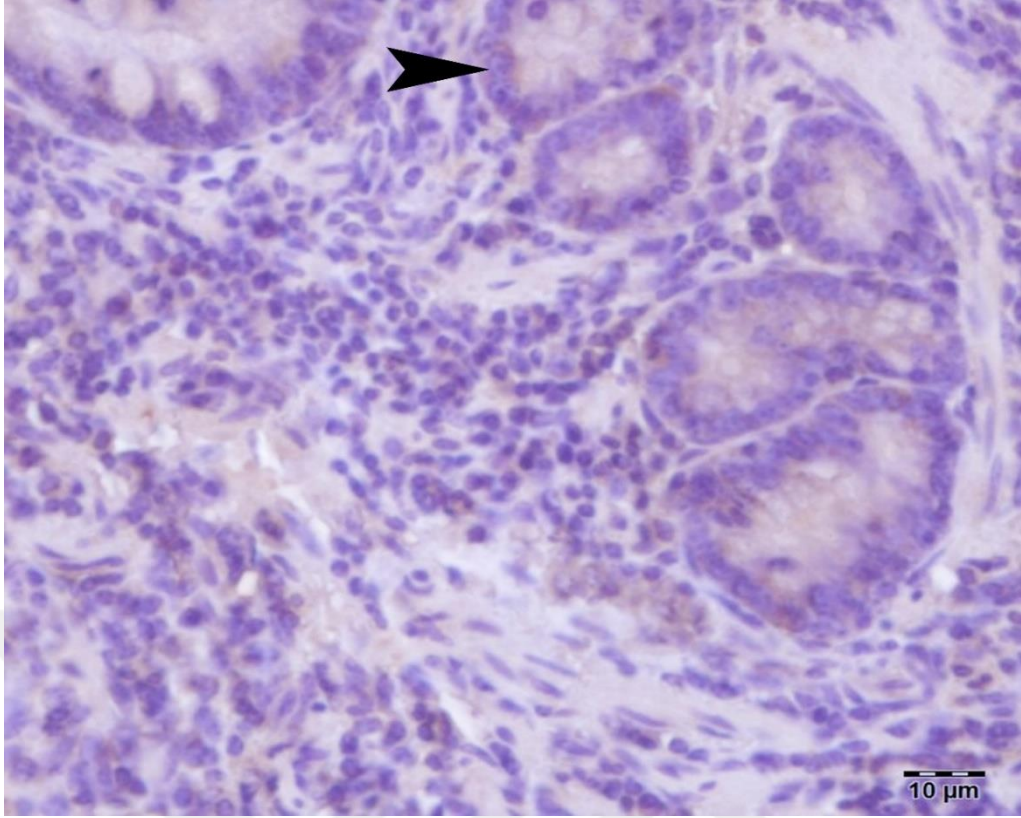
Şekil 4.5. İleum, Lamina propria'da kripler ile peyer plakları arasındaki yangısal hücrelerde BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:20µm.



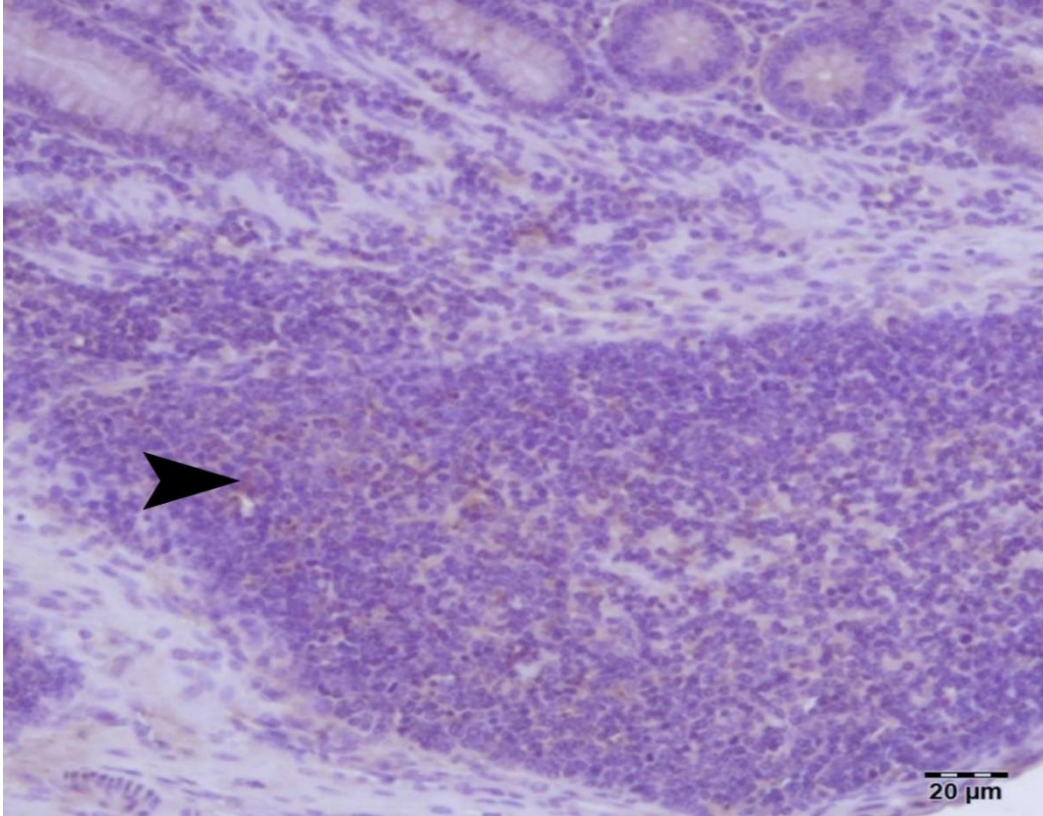
Şekil 4.6. İleum, Lamina propria'da yangısal hücrelerde BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:10µm.



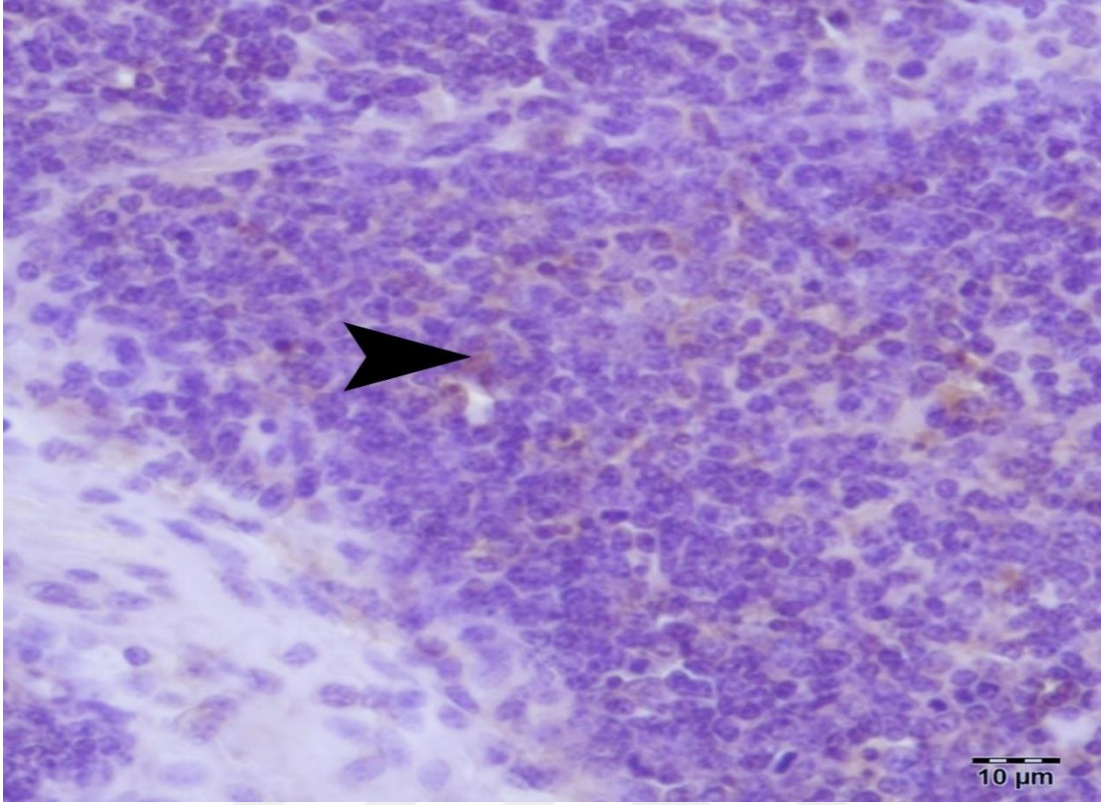
Şekil 4.7. İleum, Kript epitel hücrelerinde BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:20µm.



Şekil 4.8. İleum, Kript epitel hücrelerinde BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:10µm.



Şekil 4.9. İleum, Peyer plaklarındaki lenfoid hücrelerde BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:20µm.



Şekil 4.10. İleum, Peyer plaklarındaki lenfoid hücrelerde BVDV immunpozitifliği (ok başı) , IHK, Bar:10µm.

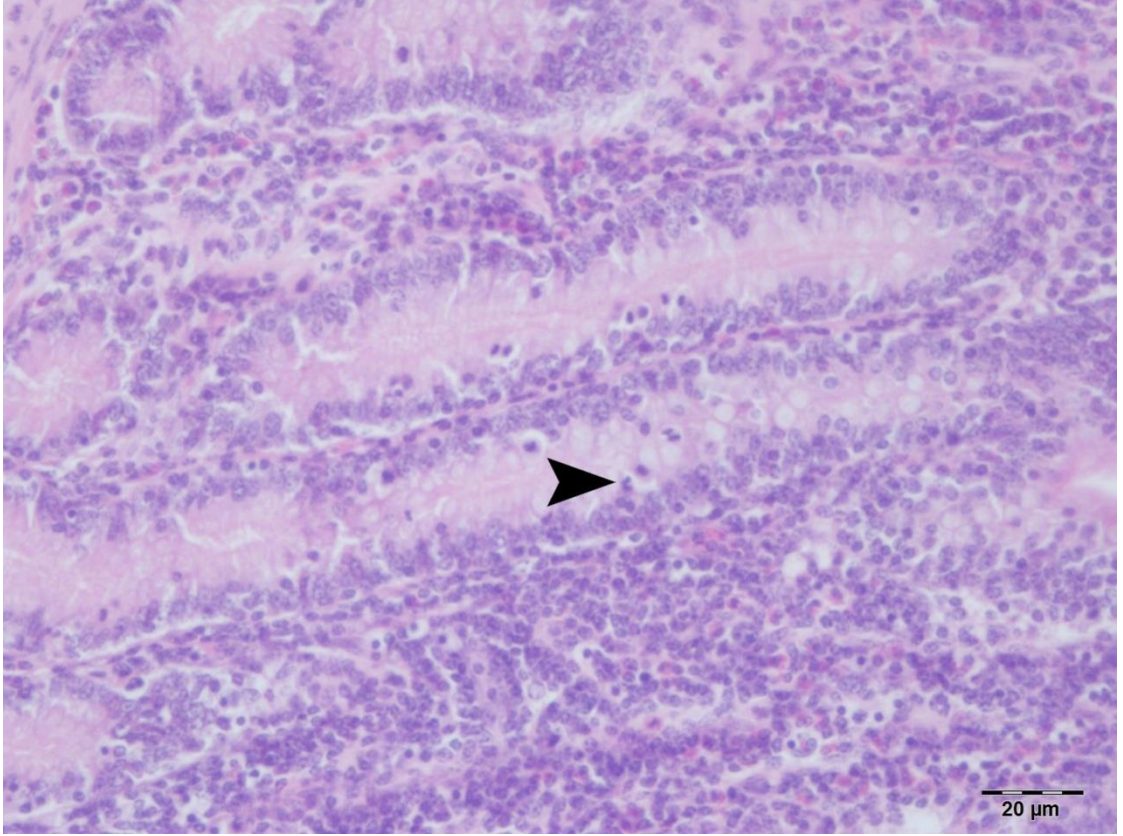
4.2. Histopatolojik Bulgular

BVDV viral antijenlerinin immunpozitif olduğu 27 örneğin H&E ile yapılan boyamasında tespit edilen histopatolojik bulgular Tablo 4.2’de verildi.

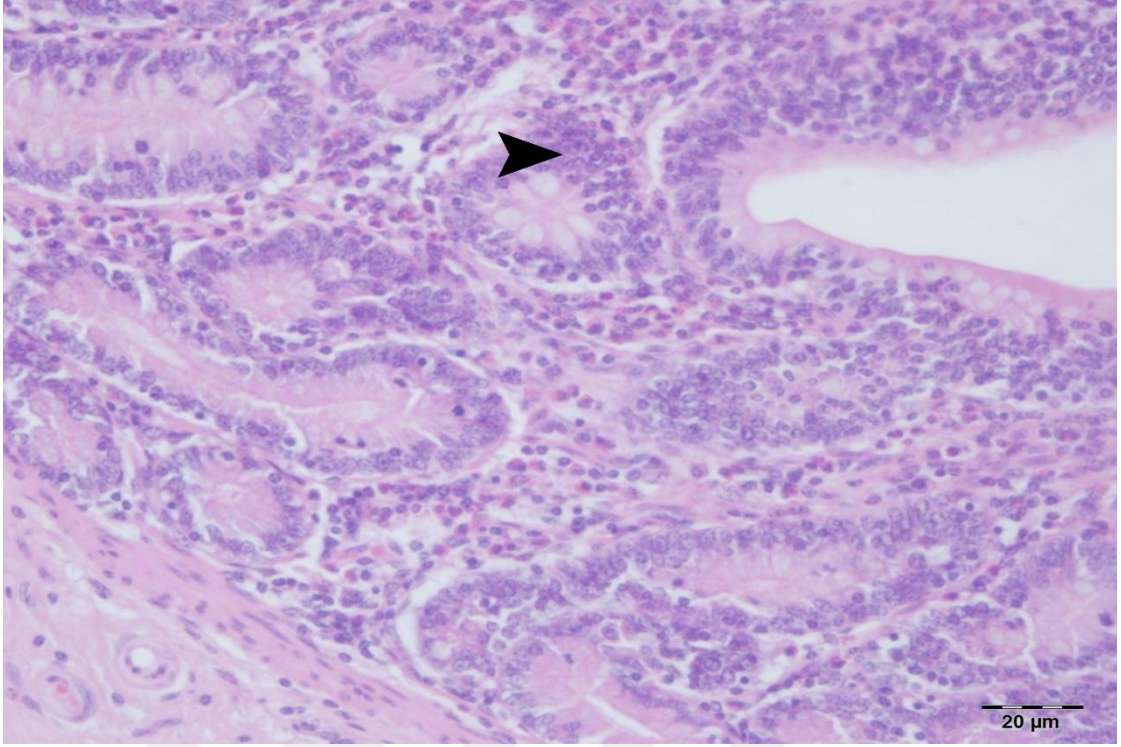
Tablo 4.2. BVDV pozitif örneklerin H&E boyamasında görülen histopatolojik bulgular

Örnek	Kript epitellerinde mitotik figür	Kript epitellerinde hiperplazi	L.propria'da yansal hücre infiltrasyonu	Hemoraji	Peyer plaklarında deskuamasyon, dejenerasyon ve nekroz
1	+	+	+	-	-
2	+	+	+	-	-
3	+	+	+	-	+
4	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+
6	+	+	+	-	+
7	+	+	+	+	+
8	+	+	+	-	-
9	+	+	+	+	+
10	+	+	+	-	+
11	+	+	+	+	-
12	+	+	+	-	+
13	+	+	+	-	-
14	+	+	+	+	+
15	+	+	+	-	+
16	+	+	+	-	-
17	+	+	+	-	-
18	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	+
20	+	+	+	-	-
21	+	+	+	-	-
22	+	+	+	-	-
23	+	+	+	-	+
24	+	+	+	-	+
25	+	+	+	-	-
26	+	+	+	+	+
27	+	+	+	-	+
Toplam	27	27	27	9	16

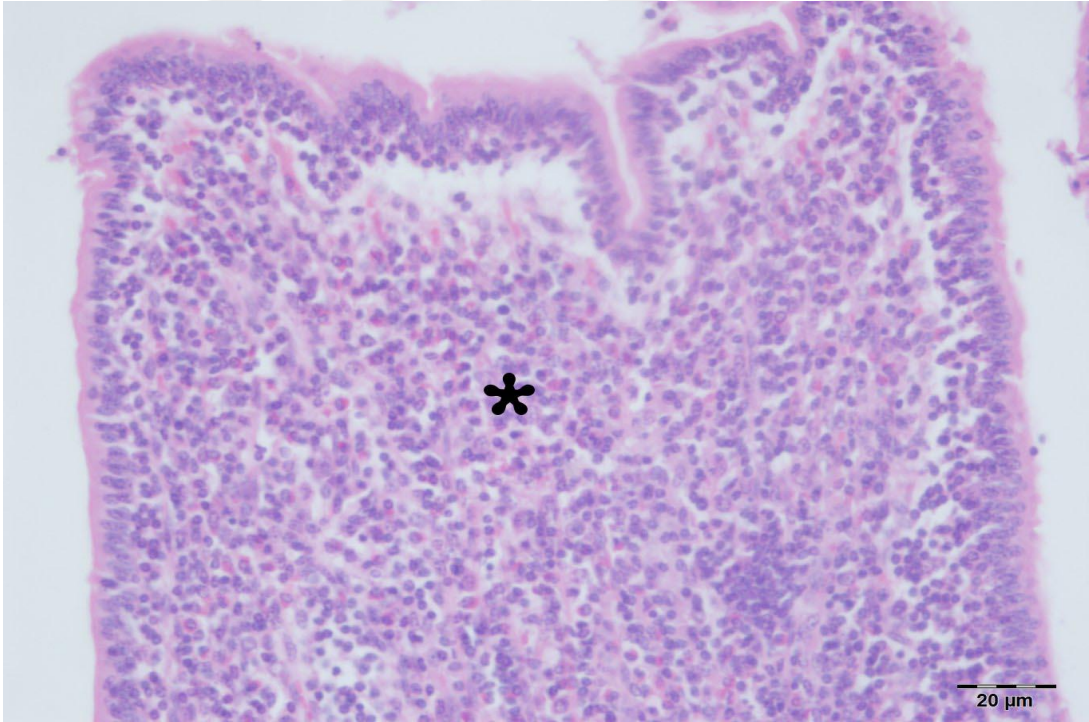
BVDV viral antijenlerinin pozitif olarak tespit edildiği tüm örneklerde kriptlerde mitotik figürler, kript epitel hücrelerinde hiperplazi ve lamina propria'da ağırlıklı olarak histiyositlerden oluşan mononükleer hücre infiltrasyonları tespit edildi (Şekil 4.11-4.13). 27 pozitif örneğin 9' unda lamina propria'da hemoraji, 16'sında ise peyer plaklarında deskuamasyon, dejenerasyon ve nekroz görüldü (Şekil 4.14, 4.15).



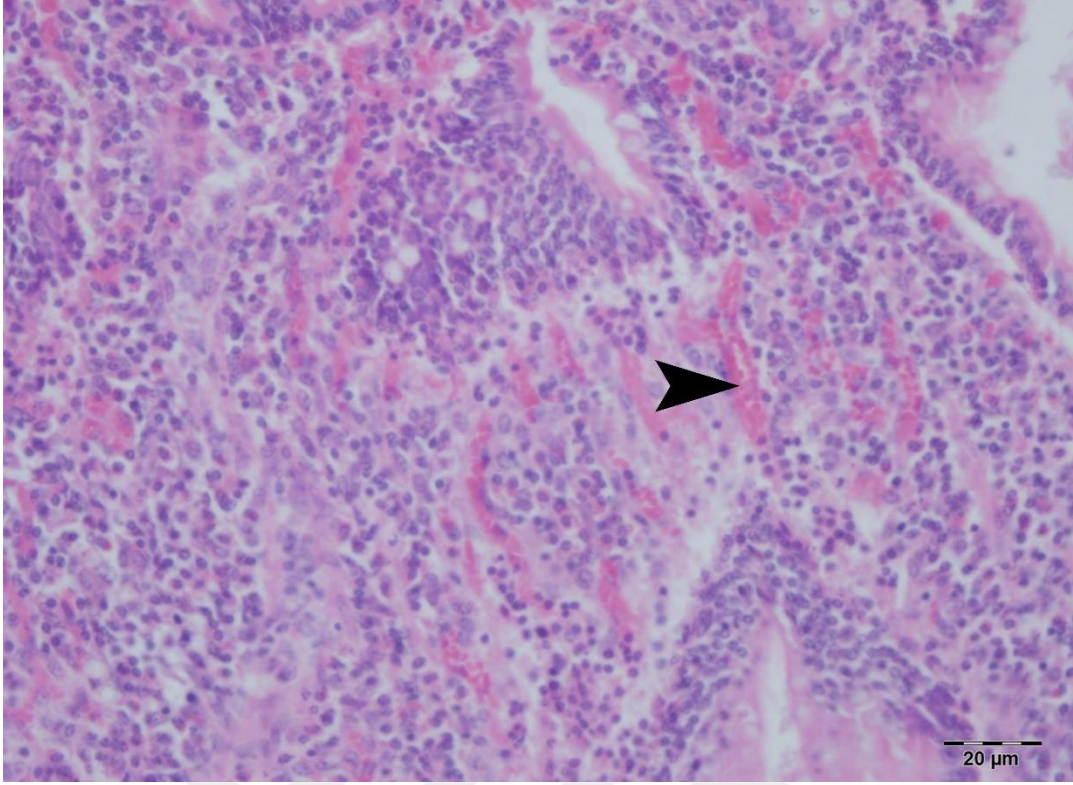
Şekil 4.11. İleum, Kript epitelinde mitotik figür (ok başı), H&E, Bar:20µm.



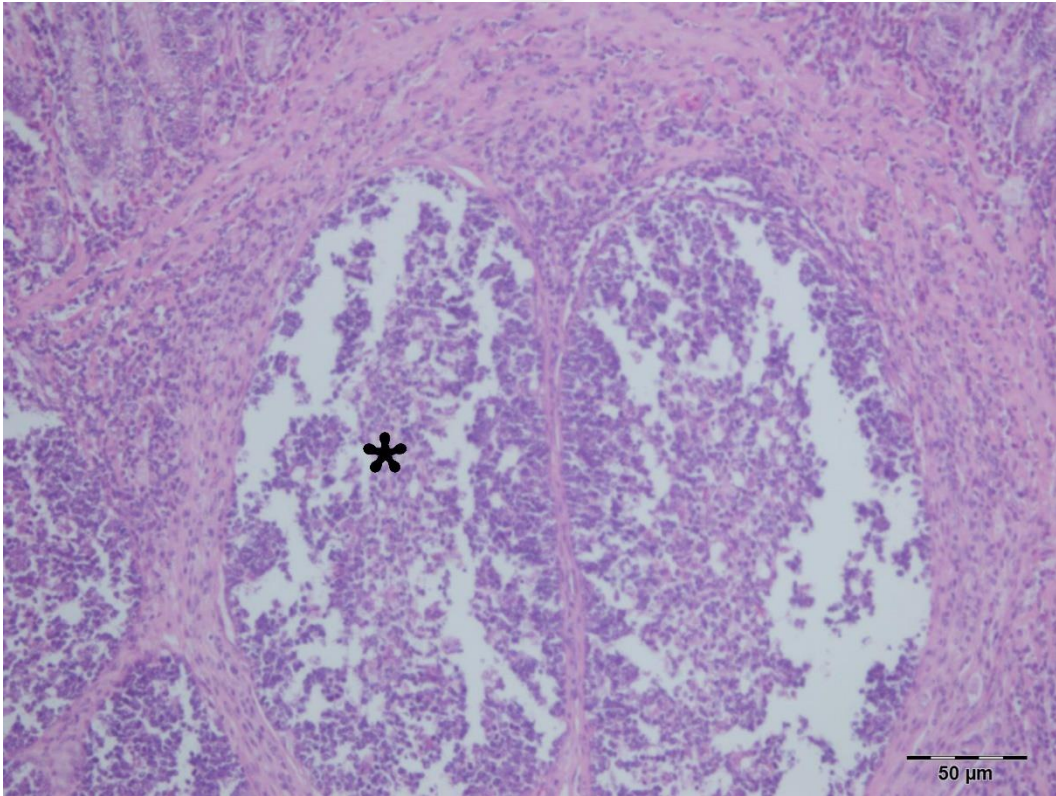
Şekil 4.12. İleum, Kript epitellerinde hiperplazi (ok başı) , H&E, Bar:20µm.



Şekil 4.13. İleum, Lamina propria'da mononükleer hücre infiltrasyonları (*), H&E, Bar:20µm.



Şekil 4.14. İleum, Lamina propria'da hiperemi (ok başı), hemoraji, H&E, Bar:20µm.



Şekil 4.15. İleum, Peyer plaklarında deskuamasyon, dejenerasyon ve nekroz (*), H&E, Bar:50µm.

5. TARTIŞMA

Özellikle sığırlar arasında geniş bir yayılım gösteren BVDV ile hayvanların büyük bir çoğunluğu yaşamlarının ilk yılında etken ile karşılaşmaktadır.⁹ Ülkemizde BVDV'un varlığı ile ilgili olarak çeşitli çalışmalar yapılmış olup bunlar ağırlıklı olarak serolojik özelliktedir.^{10, 67-72}.Yapılan bu çalışmalar neticesinde, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde%96.8,¹⁰ Kuzeydoğu Anadolu Bölgesinde %81.62,⁶⁷ Aydın Yöresinde %86,⁶⁸ Samsun, Sivas, Tokat illerini kapsayan bölgede %20.19,⁶⁹ Muğla yöresinde %49.9,⁷¹ Konya ve çevresinde %90.63,⁷² Afyonkarahisar'da %84.6⁷⁰ oranlarında seropozitiflik bulunduğu rapor edilmiştir. Sunulan çalışmada ise immunohistokimyasal olarak sığırların ileumlarında BVDV'un (100/27) %27 oranında bulunduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığın önceki yapılan çalışmaların serolojik özellikte olması ve kullanılan yöntemlerin farklılığı ile ilişkilendirilmiştir.

Gebelikte BVDV'a maruz kalan fötüs yaşamaya devam ederse virusa karşı bir tolerans geliştiği ve ömür boyu enfekte kaldığı bildirilmiştir. Böyle buzağılarda virusa karşı immun yanıt olmamaktadır. Bu tür hayvanlar etrafa sürekli virus saçabilmektedir. Bu durum persiste tolerant enfeksiyon olarak tanımlanmış olup, sürüdeki duyarlı diğer sığırlara etkenin bulaştırılmasında önemli rol oynamaktadırlar.^{73, 74} Sunulan çalışmada pozitif olguların tespit edildiği sığırların ince bağırsaklarında herhangi bir makroskobik lezyon göstermemesi persiste enfeksiyon olabileceğini düşündürmüştür.

Etkenin teşhisine yönelik olarak virüs izolasyonu, immunohistokimya gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır.⁷⁵⁻⁷⁷ İmmuohistokimyasal yöntemin ise virüs izolasyonuna göre daha hızlı ve ekonomik bir yöntem olduğu bildirilmiştir.⁷⁷⁻⁸⁰ Baszler ve ark. immunohistokimyasal yöntemin, gaita ve taze dokuda virüs izolasyonuna göre teşhiste daha güvenilir bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.⁸¹ İmmunohistokimyasal yöntem daha çok persiste hayvanları belirlemek için deri biyopsisi örneklerinde

kullanılmıştır.⁷⁷⁻⁸⁰ Fakat bu yöntemin persiste hayvanları belirlemede yeterli olamayacağı da düşünülmektedir. Çünkü Libler-Tenorio, Ridpath ve Neill yaptıkları bir çalışmada BVDV inoküle edilmiş hayvanlarda etkeni lenfoid dokularda ve bağırsaklarda tespit ederken, deride etkeni tespit edemediklerini bildirmişlerdir.⁸²

İmmunohistokimyasal olarak yapılan önceki çalışmalarda, BVDV viral antijenlerinin bağırsağın mukozasında, kan damarlarında, bağ dokusunda, histiyositlerinde, peyer plaklarında, interfolliküler alanlarında, myositlerinde olduğu bildirilmiştir.^{25, 82-85} Wilhemsen ve ark. deneysel olarak sağlıklı yetişkin 8 sığıra BVDV' u vererek 5-12 günler arasında nekropsilerini yapmışlar ve immunohistokimyasal olarak antijenlerin dağılımını inceledikleri çalışmalarda etkenlerin akciğer, lenf yumruları gibi organlara ilave olarak ileum ve kolondaki mononükleer hücrelerde intrasitoplazmik olarak olarak bulunduğunu tespit etmişlerdir.⁸³ Ellis ve ark. ise 35 günlük buzağılara BVDV vererek 10. günden sonra nekropsilerin yapmışlar ve bağırsaklardaki kan damarlarında ve peyer plaklarında BVDV antijenlerine rastlamışlardır.⁸⁵ Liebler-Tenorio ve ark. yaşları 3 hafta ile 3 ay arasında değişen 13 buzağıya BVDV inoküle ederek yaptıkları deneysel bir çalışmada persiste hayvanlarda makroskopik olarak herhangi bir bulguya rastlamazken, BVDV 'u immunohistokimyasal olarak bağırsağın ileum kısmındaki peyer plaklarında, submukozada, kan damar endotellerinde, interfolliküler alanlarda, myositlerde, lamina propria'daki mononükleer hücrelerde ve epitel hücrelerinde tespit etmişlerdir.⁸² Sunulan çalışmada da benzer şekilde BVDV immunpozitif olarak tespit edilen örneklerde viral antijenlere 27 örneğin tamamında lamina propria'da, 21'inde peyer plaklarındaki lenfoid hücrelerde, 19' unda lamina epitelyalis' te, 14' ünde ise kripte epitel hücrelerinde rastlanmıştır. Sunulan çalışmada, daha önceki çalışmalardan farklı olarak, viral antijenlerin kan damar endotellerinde tespit edilememesi ise, önceki çalışmaların daha çok deneysel ve kısa süreli olması ve

viral antijen miktarının fazlalığı ile ilgili olabileceği düşünülmüştür.

Wilhemsen ve ark. bağırsaklarda histopatolojik olarak kriptlerde abse, ince ve kalın bağırsağın lamina propria'sında hafif düzeyde eozinofil infiltrasyonları, tunika muskulariste ödem,⁸³ Ellis ve ark. ise peyer plaklarında yıkımlanma ve kriptlerde hafif düzeyde yangı tespit etmişlerdir.⁸⁵ Liebler-Tenorio ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada 6., 9. ve 13. günde nekropsileri yapılan buzağuların peyer plaklarında içinde olduğu bir çok lenfoid dokuda yıkımlanma olduğunu ve az miktardaki lenfoid dokuda mitotik figürlerin görüldüğünü, persiste hayvanlarda ise herhangi bir bulguya rastlanmadığını tespit etmişlerdir.⁸² Ohmann ise persiste hayvanlarda da lenfoid dokularda lokal ve hafif bir yıkımlanmanın olduğunu bildirmişlerdir.²⁶ Sunulan çalışmada ise BVDV viral antijenlerinin pozitif olarak tespit edildiği tüm örneklerde kriptlerde mitotik figürler, kript epitel hücrelerinde hiperplazi ve lamina propria'da ağırlıklı olarak histiyositlerden oluşan mononükleer hücre infiltrasyonları, 16' sında peyer plaklarında deskuamasyon, dejenerasyon ve nekroz, 9' unda ise lamina propria'da hemoraji tespit edilmiştir. Bu farklılık viral antijen miktarı ya da BVDV ile birlikte başka bir etkenin miks olabilme durumunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak; BVDV'un immunohistokimyasal olarak teşhisine yönelik Erzurum ve yöresinde daha önce epidemiyolojik bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışma ile Erzurum ve yöresinde sığırlarda %27 oranında BVDV immunpozitifliği bulunmuş ve sığır yetiştiriciliği açısından önemli bir etiyolojik ajan olduğu belirlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan çalışma neticesinde BVD'nin Erzurum yöresinde de yaygın olarak görülen bir enfeksiyon olduğu ortaya konulmuştur.

BVD ile ilgili olarak ülkemizde daha önce de çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda çoğunlukla serolojik yöntemler kullanılmış olup, hayvanlara uygulanan canlı ve inaktif aşuların serolojik değerleri etkilemesi neticesinde seropozitiflik değerlerinin daha yüksek çıktığı düşünülmüştür. Ancak sunulan çalışmada immunohistokimyasal yöntem tercih edilmiştir. Bu sayede etkenin doku düzeyinde varlığı ve lokalizasyonu belirlenmiştir.

Bulgularımıza göre BVD'nin subklinik olarak hayvanlarda önemli bir etken olduğu, hastalığa karşı korumada bu durumun gözardı edilmemesi gerektiği ve buna yönelik tedbirler alınmasının sürü sağlığı açısından önemli olduğu düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Olafson P, MacCallum A, Fox FH. An apparently new transmissible disease of cattle. *The Cornell Veterinarian*, 1946, 36: 205-213.
2. Ramsey FK, Chivers WH. Mucosal disease of cattle. *North Am Vet*, 1953, 34: 629-633.
3. Gillespie JH, Coggins L, Thompson J, Baker J. Comparison by neutralization tests of strains of virus isolated from virus diarrhea and mucosal disease. *The Cornell Veterinarian*, 1961, 51: 155.
4. Underdahl N, Grace O, Hoerlein A. Cultivation in Tissue-Culture of Cytopathogenic Agent from Bovine Mucosal Disease. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1957, 94: 795-797.
5. Chiocco D, Cavaliere N. Bovine viral diarrhoea/mucosal disease: epidemiological surveys on farms in the Puglia and Basilicata region. *Acta Medica Veterinaria*, 1990, 36: 437-440.
6. Akhtar S, Asif M. Epidemiologic association between antibody titres against bovine virus diarrhoea virus, rinderpest disease virus and infectious bovine rhinotracheitis virus in a buffalo herd. *Tropical Animal Health And Production*, 1996, 28: 207-212.
7. Guarino A, Fusco G, Serpe L, Gallo P, Romano M. Application of Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) to the detection of antibody response to BHV-1 and BVDV in buffaloes in Italy. *Buffalo Journal*, 1999, 15: 345-352.
8. Burgu İ, Ozkul A. Detection by cultural isolation of bovine virus diarrhoea (BVD) virus following field infections in cattle and their fetuses in Turkey. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 1993, 100: 361-363.

9. Karaoglu T. Sahadan izole edilen bovine viral diarrhoea virus (BVDV) izolatlarının immunoplak test ile biyotipik tayini. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1998, 45: 323-332.
10. Çabalar M, Karaoğlu M. Sığırlarda BVD virus enfeksiyonuna karşı antikor varlığının araştırılmasında Notralizasyon Immunperoksidaz (NPLA) ve Serum Notralizasyon (SN) testlerinin karşılaştırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1999, 46: 249-255.
11. Gür S, AKÇA Y. BVD seropozitif mandalarda IBR/IPV ve Sığır Vebasının Seroepidemiolojisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2008, 55: 45-50.
12. Lindenbach BD, Rice C. Flaviviridae: the viruses and their replication. *Fields Virology*, 2001, 1: 991-1041.
13. Maclachlan NJ, Dubovi EJ. *Fenner's veterinary virology*. 4 Baskı. New York, Academic Press, 2010: 475.
14. Baker JA, York CJ, Gillespie J, Mitchell GB. Virus diarrhoea in cattle. *American journal of veterinary research*, 1954, 15: 525-531.
15. Moennig V, Houe H, Lindberg A. BVD control in Europe: current status and perspectives. *Animal Health Research Reviews*, 2005, 6: 63-74.
16. Brownlie J, Clarke M, Howard C, Pocock D. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *Ann Rech Vet*, 1987, 18: 157-166.
17. Malmquist W. Bovine Viral Diarrhoea-Mucosal Disease-etiology pathogenesis and applied immunity. *Jurnal of the American Veterinary Medical Association*, 1968, 152: 763-768.
18. Roeder P, Drew T. Mucosal disease of cattle: a late sequel to fetal infection. *The Veterinary Record*, 1984, 114: 309-313.

19. Lohr CH, Evermann JF, Ward AC. Investigation of dams and their offspring inoculated with a vaccine contaminated by bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*, 1983, 78: 1263-1266.
20. Özel M. Yenidoğan buzağlarda ve annelerinde infectious bovine rhinotracheitis (IBR) ve bovine viral diarrhoea (BVD) enfeksiyonlarının serolojik olarak araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Viroloji Anabilim Dalı. Yüksek lisans tezi, Afyon: Afyon Kocatepe Üniversitesi, 2008.
21. Reggiardo C, Kaeberle M. Detection of bacteremia in cattle inoculated with bovine viral diarrhoea virus. *American journal of veterinary research*, 1981, 42: 218-221.
22. Potgieter L, McCracken M, Hopkins F, Walker R. Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on the distribution of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves. *American journal of veterinary research*, 1984, 45: 687-690.
23. Straub O. Infectious bovine rhinotracheitis virus. *Virus Infections of Ruminants*, 1990, 3: 71-108.
24. Brownlie J. The pathways for bovine virus diarrhoea virus biotypes in the pathogenesis of disease. İçinde: *Ruminant Pestivirus Infections*, Vienna, Springer, 1991: 79-96.
25. Odeón AC, Kelling CL, Marshall DJ, Estela ES, Dubovi EJ, Donis RO. Experimental infection of calves with bovine viral diarrhoea virus genotype II (NY-93). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1999, 11: 221-228.
26. Ohmann HB. Pathogenesis of bovine viral diarrhoea-mucosal disease: distribution and significance of BVDV antigen in diseased calves. *Research in veterinary science*, 1983, 34: 5-10.

27. Harkness J, Sands J, Richards M. Serological studies of mucosal disease virus in England and Wales. *Research in veterinary science*, 1978, 24: 98-103.
28. Kelling CL. Evolution of bovine viral diarrhoea virus vaccines. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2004, 20: 115-129.
29. Liebler-Tenorio EM, Ridpath JF, Neill JD. Distribution of viral antigen and development of lesions after experimental infection of calves with a BVDV 2 strain of low virulence. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2003, 15: 221-232.
30. Kapil S, Walz P, Wilkerson M, Minocha H. Immunity and immunosuppression. *Bovine Viral Diarrhoea Virus: Diagnosis, Management, and Control*, 2005: 157-170.
31. ALPAY G. Bovine viral diarrhoea virus türkiye izolatlarının serolojik özellikleri ve türkiye’de kullanılan aşuların yerel suşlara karşı oluşturduğu bağışıklık düzeylerinin belirlenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Bursa: Uludağ Üniversitesi, 2013.
32. Brownlie J. The pathogenesis of bovine virus. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, 1990, 9: 43-59.
33. Kendrick J. Bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus infection in pregnant cows. *American journal of veterinary research*, 1971, 32: 533-544.
34. Brown T, Schultz R, Duncan J, Bistner S. Serological response of the bovine fetus to bovine viral diarrhoea virus. *Infection and immunity*, 1979, 25: 93-97.
35. Baker J. Bovine viral diarrhoea virus: a review. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1987, 190: 1449.
36. Duffell S, Harkness J. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. *Veterinary Record*, 1985, 117: 240-245.

37. McClurkin A, Littledike E, Cutlip R, Frank G, Coria M, Bolin S. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1984, 48: 156.
38. Hamers C, Dehan P, Couvreur B, Letellier C, Kerkhofs P, Pastoret PP. Diversity among bovine pestiviruses. *The Veterinary Journal*, 2001, 161: 112-122.
39. Olafson P, Rickard C. Further observations on the virus diarrhoea (new transmissible disease) of cattle. *The Cornell Veterinarian*, 1947, 37: 104.
40. Brownlie J, Hooper L, Thompson I, Collins M. Maternal recognition of foetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV)—the bovine pestivirus. *Clinical and Diagnostic Virology*, 1998, 10: 141-150.
41. Weiss M, Hertig C, Strasser M, Vogt H, Peterhans E. Bovine virus diarrhoea/mucosal disease: a review. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 1993, 136: 173-185.
42. Liess B. Significance of immune tolerance for the pathogenesis of bovine virus diarrhoea. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, 1985, 98: 420.
43. Bolin S, McClurkin A, Cutlip R, Coria M. Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus by superinfection with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *American journal of veterinary research*, 1985, 46: 573.
44. Milli Ü, Hazıroğlu R. *Veteriner Patoloji Cilt I. 2 Baskı*. Ankara, Özkan Matbaacılık, 2000.
45. Brusckhe CJ, Haghparast A, Hoek A, Rutten VP, Wentink GH, Van Rijn PA, Van Oirschot JT. The immune response of cattle, persistently infected with noncytopathic BVDV, after superinfection with antigenically semi-homologous

- cytopathic BVDV. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1998, 62: 37-50.
46. Blowey R, Weaver AD. *Color atlas of diseases and disorders of cattle*. 2 Baskı. London, Mosby, 2003.
47. Blowey R, Weaver AD. *Color atlas of diseases and disorders of cattle e-book*. E-kitap Baskı. Elsevier Health Sciences, 2011.
48. Flores E, Gil L, Botton S, Weiblen R, Ridpath J, Kreutz L, Pilati C, Driemeyer D, Moojen V, Wendelstein A. Clinical, pathological and antigenic aspects of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) type 2 isolates identified in Brazil. *Veterinary Microbiology*, 2000, 77: 175-183.
49. Coetzer JAW, Thomson GR, Tustin RC. *Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa*. 1. Baskı. Oxford, Oxford University Press, 1994.
50. Howard T, Bean B, Hillman R, Monke D. Surveillance for persistent bovine viral diarrhoea virus infection in four artificial insemination centers. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1990, 196: 1951-1955.
51. Sandvik T. Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Veterinary microbiology*, 1999, 64: 123-134.
52. Katz J, Ludemann L, Pemberton J, Schmerr M. Detection of bovine virus diarrhoea virus in cell culture using an immunoperoxidase technique. *Veterinary Microbiology*, 1987, 13: 153-157.
53. Dutia BM, Entrican G, Nettleton PF. Cytopathic and non-cytopathic biotypes of border disease virus induce polypeptides of different molecular weight with common antigenic determinants. *Journal of General Virology*, 1990, 71: 1227-1232.

54. Gottschalk E, Greiser- Wilke I, Frey HR, Liess B, Moennig V. An antigen capture test for the detection of cattle viremic with bovine viral diarrhoea virus- a comparison with BVD virus isolation from buffy coat cells in bovine kidney cells. *Zoonoses and Public Health*, 1992, 39: 467-472.
55. Reuter R, Bowden M, Ellis T, Carman H. Abortion, stillbirth and illthrift in cattle associated with mucosal disease virus. *Australian Veterinary Journal*, 1987, 64: 92-93.
56. Hertig C, Pauli U, Zanoni R, Peterhans E. Detection of bovine viral diarrhoea (BVD) virus using the polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 1991, 26: 65-76.
57. Frey HR, Liess B. Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit eines stark zytopathogenen VD- MD- Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotiter- Methode. *Zoonoses and Public Health*, 1971, 18: 61-71.
58. Hyera J, Liess B, Frey H. A Direct Neutralizing Peroxidase- Linked Antibody Assay for Detection and Titration of Antibodies to Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Zoonoses and Public Health*, 1987, 34: 227-239.
59. Jensen MH. Detection of antibodies against hog cholera virus and bovine viral diarrhoea virus in porcine serum: a comparative examination using CF, PLA, and NPLA assays [peroxidase-linked antibody, microneutralization assay]. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1981, 22: 85-98.
60. Gutekunst D. Comments on vaccination for bovine viral diarrhoea-mucosal disease. *Journal of The American Veterinary Medical Association*, 1968, 152: 865-866.

61. Liess B, Orban S, Frey HR, Trautwein G, Wiefel W, Blindow H. Studies on transplacental transmissibility of a bovine virus diarrhoea (BVD) vaccine virus in cattle. *Zoonoses and Public Health*, 1984, 31: 669-681.
62. Ward G. Bovine viral diarrhoea-mucosal disease implicated in a calf with cerebellar hypoplasia and ocular disease. A case report. *Cornell Veterinarian*, 1971, 61: 224-228.
63. Coggins L, Gillespie J, Robson D, Thompson JD, Phillips W, Wagner W, Baker J. Attenuation of virus diarrhoea virus (strain Oregon C24V) for vaccine purposes. *The Cornell Veterinarian*, 1961, 51: 539.
64. Gillespie JH, Baker JA, McENTEE K. A cytopathogenic strain of virus diarrhoea virus. *Cornell Veterinarian*, 1960, 50: 73-79.
65. Kahrs R, Robson D, Baker J. Epidemiological considerations for the control of bovine virus diarrhoea. *Proceedings of the United States Livestock Sanitation Association*. Buffalo, New York, USA, 1966, 70: 145-153.
66. Liess B, Landelius L, Lackmann-Pavenstaedt B. Bovine Virusdiarrhoe (BVD)-Ergebnisse einer serologischen Langzeitstudie unter enzootischen Infektionsbedingungen in einem mittelgroßen Rinderzuchtbestand. *Prakt Tierarzt*, 1982, 63: 118-121.
67. Yıldırım Y, Burgu İ. Kuzeydoğu Anadolu bölgesindeki sığırlarda mavidil (BT), IBR, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 2005, 52: 113-117.
68. TAN MT, KARAOĞLU MT, Erol N, Yıldırım Y. Serological and virological investigations of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle herds in Aydın province. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2006, 30: 299-304.

69. Yazici Z, Okur G, Albayrak H. Serological profile of some viral infections in unvaccinated cattle in Turkey. *Medycyna Weterynaryjna*, 2007, 63: 187-189.
70. Nural E, Sibel G, Abuzer A. Afyonkarahisar ilinde bovine viral diarrhoea virus enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. *Kocatepe Veterinary Journal*, 2014, 7: 17-21.
71. ŞİŞMAN E, AKKAN HA. Muğla ili ve çevresinde sığırcılık işletmelerinde bovine viral diyare virus (bvdv) enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2011.
72. Kayacan G, Yapıcı O. Konya ve çevresinde bulunan süt sığırcılığı işletmelerindeki hayvanlara ait kan ve süt serumlarında bovine viral diarrhoea virus (BVDV)'una karşı oluşan antikorların ELISA ile araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Viroloji. Yüksek Lisans Tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi, 2008.
73. Fray M, Prentice H, Clarke M, Charleston B. Immunohistochemical evidence for the localization of bovine viral diarrhoea virus, a single-stranded RNA virus, in ovarian oocytes in the cow. *Veterinary pathology*, 1998, 35: 253-259.
74. Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ. *Veterinary Virology*. 3 Baskı. San Diego, USA, Academic press, 1999: 447-455.
75. Brodersen B, White A, Smith D. Immunohistochemical test on skin biopsies as a method for detection of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *American Association of Bovine Practitioners*, 1998, 31: 246.
76. Thür B, Zlinszky K, Ehrensperger F. Immunohistochemical detection of bovine viral diarrhoea virus in skin biopsies: a reliable and fast diagnostic tool. *Zoonoses and Public Health*, 1996, 43: 163-166.

77. Meiring T, Prozesky L, du Preez ER, Verwoerd DJ. The diagnosis and prevalence of persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in South African feedlot cattle. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 2011, 78: 1-8.
78. Hilbe M, Stalder H, Peterhans E, Haessig M, Nussbaumer M, Egli C, Schelp C, Zlinszky K, Ehrensperger F. Comparison of five diagnostic methods for detecting bovine viral diarrhoea virus infection in calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2007, 19: 28-34.
79. Houe H, Lindberg A, Moennig V. Test strategies in bovine viral diarrhoea virus control and eradication campaigns in Europe. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2006, 18: 427-436.
80. Luzzago C, Frigerio M, Tolari F, Mazzei M, Salvadori C, Del Piero F, Arispici M. Indirect immunohistochemistry on skin biopsy for the detection of persistently infected cattle with bovine viral diarrhoea virus in Italian dairy herds. *Microbiologica Bologna*, 2006, 29: 127.
81. Baszler T, Evermann J, Kaylor P, Byington T, Dilbeck P. Diagnosis of naturally occurring bovine viral diarrhoea virus infections in ruminants using monoclonal antibody-based immunohistochemistry. *Veterinary pathology*, 1995, 32: 609-618.
82. Liebler-Tenorio EM, Ridpath JF, Neill JD. Distribution of viral antigen and tissue lesions in persistent and acute infection with the homologous strain of noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2004, 16: 388-396.
83. Wilhelmssen C, Bolin S, Ridpath J, Cheville N, Kluge J. Experimental primary postnatal bovine viral diarrhoea viral infections in six-month-old calves. *Veterinary pathology*, 1990, 27: 235-243.

84. Shin T, Acland H. Tissue distribution of bovine viral diarrhoea virus antigens in persistently infected cattle. *Journal of Veterinary Science*, 2001, 2: 81-84.
85. Ellis JA, West KH, Cortese VS, Myers SL, Carman S, Martin KM, Haines DM. Lesions and distribution of viral antigen following an experimental infection of young seronegative calves with virulent bovine virus diarrhoea virus-type II. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 1998, 62: 161.





EKLER

EK-1 ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p>Adı Soyadı : Gökşad Cemil KOTAN Doğum tarihi : 24/04/1986 Doğum yeri : Kars Medeni hali : Evli Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti Adres : Tuzcuzade Mh. Barbaros Cd. Ferah Evler Sitesi. C Blok Kat:1 No:2 Merkez/BAYBURT Tel : 0505 235 21 73 Faks : E-mail : gckotan@gmail.com</p>
Eğitim
<p>Lise : İzzet Baysal Anadolu Lisesi Lisans : Yüzüncü Yıl Üniversitesi / Veteriner Fakültesi Yüksek lisans : Atatürk Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı Doktora :</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce : 2018 İlkbahar YDS : 81.25</p> <hr/> <p>2018 İlkbahar YÖKDİL : 88,75</p> <hr/>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

 T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ
ETİK ALT KURUL BAŞKANLIĞI
(AÜVFEAK) 


ETİK KURUL KARARI

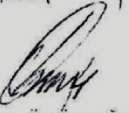
Karar Sayısı: 2015/11 Karar Tarihi: 31/08/2015

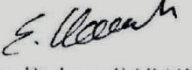
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÖZKARACA ve Vet. Hek. Gökşad Cemil KOTAN tarafından sunulan "Erzurum yöresel sığırlarında Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) un varlığının immunohistokimyasal olarak araştırılması" adlı bilimsel teze ait başvuru formu etik kurulumuz tarafından değerlendirilmiştir.

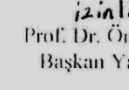
Çalışmada Erzurum ilinde mezhabadan toplanacak olan 100 adet sığır bağırsak ve mezenteriyel lenf yumrusu örneklerinde immunohistokimyasal yöntemlerle BVDV varlığı incelenecektir.

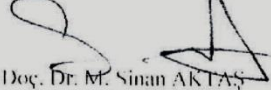
Sunulan bilimsel araştırmanın/tez çalışmasının Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ilkelerine uygun olduğuna karar verilmiştir.


Prof. Dr. Yunus Emre ÖZKANLAR
Başkan


Prof. Dr. Zekeriya ÖZİDOĞRU
Üye


Doç. Dr. Emre KARAKUŞ
Üye


Prof. Dr. Ömer UÇAR
Başkan Yardımcısı


Doç. Dr. M. Sinan AKTAŞ
Üye