

*A.Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji Kürsüsü*  
*Prof. Dr. Selahattin Gürtürk*

---

## **YURDUMUZ SIĞIRLARINDA ENFEKSİYÖZ RHİNOTRACHEİTİS (IBR) ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

### **II- Spontan bir hastalık belirtisi göstermeyen sığırlarda IBR virusuna karşı antikor titresi**

**Prof. Dr. S. Gürtürk\* Doç. Dr. E. Finci\*\* Dr. İ. Burgu\*\*\***

**The research on Infectious Bovine Rhinotracheitis in Turkey**

**II- The antibody titer of Bovine IBR virus of the animals which does not exhibit the clinical signs of the disease**

**Untersuchungen über die Infektiöse Rhinotracheitis bei Rindern in der Turkei**

**II- Der Antikörper titer von IBR bei Rindern in der Turkei, welche keine klinischen Erscheinungen dieser Krankheit zeigen.**

**Summary:** 131 out of 561 sera that were found to be positive (1/4) against IBR virus, were controlled with micro-neutralisation test and were also found to be positive, but giving a higher titer as 1/32. Four of these 131 high titer sera were obtained from governmental (0.3%) as the rest was collected from public breeding units. This result suggested that Infectious Bovine Rhinotracheitis is present in Turkish cattle, but showed a latent infection. During the period of 1969-1973 highly serious vaccination campaign were applied against rinderpest. In the same period, the titers against IBR virus obtained from the governmental animals kept in barns were considerably lower than the titers of freely pasturing public cattle, which means no synergetic activity can occur between bovine pest vaccination and the antigenicity of IBR virus.

**Zusammenfassung:** 561 Rinderseren erwiesen sich Anwendung des Neutralisationstestes gegenüber dem IBR-Virus als positiv (1/4). 131 reagierten gleichfalls positiv, jedoch ergaben sie einen höheren Titer als 1/32.

---

\* A.Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji Kürsüsü Profesörü

\*\* A.Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji Kürsüsü Doçenti

\*\*\* A.Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji Kürsüsü Asistanı

Vier seren mit hohem titer stammten von Staatlichen (0.3 %) und der rest wurde von privaten Züchtvereiuigungen gewonnen Dieses Ergebnis laesst darauf schliesen, dass die Infekiöse Rhinotracheitis der Rinder zwar bei Türkischen Rindern vorkommt, jedoch im Sinne einer latenten Infektion.

Waehrend der Zeit von 1969-1973 wurde regelmaessing Impfungen mit lebenden Vakzienen gegen die Rinderpest durchgefuehrt. Im gleichen Zeitraum lagen die Titer gegenüber dem IBR-Virus bei im Sfall gehaltenen Tieren betracchlich niedriger als bei weide Rindern, Das Bedeutet, dass zwischen der Rindergestvakzination und der Antikörperbildung durch den IBR-Virus keine syncrgetische Aktivitaet besteht.

**Özet:** Mikronötralizasyon test ile IBR virusuna karşı 1/4 pozitif reaksiyon veren 561 sığır serumundan 131 adedi 1:32 den yüksek titre vermiştir.

Yüksek titre veren serumların 4 adedi (% 0.3) kamu sektörü, geri kalan özel sektör hayvanlarıdır. Bu durum enfeksiyöz rhinotracheitis hastalığının Türkiye'de sığırlarda latent olarak seyretmekte olduğunu göstermektedir. Türkiye'de 1969-1973 yılları arasında muntazam bir şekilde canlı sığır vebasası aşısı uygulanmış olup, IBR virusuna karşı inekhane ve hara hayvanlarında antikor titresinin, merada serbest barınan hayvanlardan çok daha düşük olması, sığır vebasası aşısının IBR virusunun antikor teşkil etme yeteneği üzerinde herhangi bir sinerjetik etki yapmadığı ortaya çıkarmıştır.

### Giriş:

Türkiye'de sığırlarda enfeksiyöz rhinotracheitis (IBR) virusuna karşı nötralizan antikorların varlığı ilk defa 1971 yılında saptanmıştır (2).

Kürsümüzde 1974 yılında yapılan bir araştırmada (4) çeşitli bölgelerden sağlanan 1029 sığır serumundan 561 adet serum mikronötralizasyon testde IBR virusu ile 1/4 pozitif sonuç vermiştir.

IBR virusu ile pozitif nötralizasyon veren serumlardan takriben % 7 si hara ve inekhanelerde, geri kalanlar da doğu ve orta Anadolu bölgelerinde bulunan sığırlara ait olup, daha evvel sığır vebasasına karşı aşılanmış hayvanlardır. Çalışmanın ikinci bölümünde bir taraftan spontan bir hastalık belirtisi göstermeyen sığırlarda IBR virusuna karşı gelişmiş antikor titresini, diğer taraftan sığır vebasası aşısının IBR antikorları üzerinde antagonistik ya da sinerjetik etkisi olup olmadığını saptamak amacıyla bu araştırma yapılmıştır.

### Literatür Bilgisi:

Hans ve arkadaşları (5) tarafından parainfluenza-3 ve rhino virus ile enfekte edilmiş sığırlardan elde edilen çiçek aşısı ile yapılan

bağışıklık denemelerinde; parainfluenza-3 ve rhino-viruslar, vaccinia virusunun üremesini biraz olsun zayıflatmakta ise de, vaccinia virusunun antikor teşkili üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır.

Sığırların enfeksiyöz rhinotracheitis hastalığında hastalığın bütün organizmaya yayıldığı vak'alarda hem sellüler ve hem de humoral bağışıklık meydana gelmektedir. Bu tür hastalık geçiren sığırların kan serumlarında 14-18 ay süre ile komplementi bağlayıcı ve nötralizan antikorlar bulunur (10).

Frank (3) Herpes grubu viruslardan Aujeszky, Rhinopneumonitis, Infeksiöse Bovine Rhinotracheitis ve Infeksiöse Laryngotracheitis virusları üzerinde yapmış olduğu mukayeseli serolojik muayenelerde Agar Jel-presipitasyon reaksiyonu ile bu viruslar arasındaki serolojik münasebetlerin ayırdedilemeyeceğini saptamıştır. Çünkü enfekte doku veya yumurta kültürleri ile hazırlanan presipitan serumlarda virus antijenine karşı olduğu gibi kültürlerdeki hücre ya da vasatlardaki normal komponentlere karşı da presipitan antikorlar teşekkül etmekte ve spesifik antikorlar gibi bunlarda reaksiyonda heterolog serumlarla pozitif sonuçlar vermektedir. Buna karşılık nötralizan serumlarda sadece homolog virus türüne karşı nötralizan antikorlar bulunduğu için gerek serum sulandırması ve gerekse virus sulandırması yöntemleriyle uygulanan nötralizasyon reaksiyonlarında her virus türü sadece homolog serumu ile pozitif reaksiyon vermekte ve heterolog serumlar aynen kontrol serumlar gibi çalışmaktadır.

Enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IPV) geçiren sığırlarda nötralizan antikorlar bulunmadığı halde, hastalığın enfeksiyöz rhinotracheitis (IBR) şeklini geçirenlerde bağışıklık teşekkül etmekte ve kan serumlarında nötralizan antikorlar bulunmaktadır. Hatta sadece nekahat dönemindeki hayvanlarda değil, hiçbir klinik belirti göstermeden hastalığın latent seyrettiği hayvanların kan serumlarında da nötralizan antikorların varlığı saptanmıştır.

Staub (13) Almanya'da 18 bölgede yapmış olduğu araştırmada sığırlarda % 33.2 IBR virusuna karşı nötralizan antikor bulunduğunu bildirmiştir. Enfeksiyöz rhinotracheitis hastalığının serolojik teşhisi veya izole edilen virusun idantifikasyonu nötralizasyon reaksiyonundan başka, pratik değeri olmamakla beraber komplement fikzasyon, agar-jel-diffüzyon testleri ile de yapılabilir. Fakat, tavuk, kobay, koyun, sığır ve insan eritrositleri ile yapılan hemagglütinasyon ve hemadsorbsiyon reaksiyonları pozitif sonuç vermemektedir (11).

Louping-ill virusu ile enfekte olan koyunlar aynı zamanda Rus İlkbahar-yaz-ensefalitis hastalığına karşı da bağışıklık kazanır. Sero-lojik yöntemlerle louping-ill, kene ensefalitis'i ve çift dönemli meningoensefalitis arasında kesin bir ayırım yapılamamaktadır (12).

Straub (14) parainfluenza-3 ve IBR-IPV viruslar ile enfekte edilen gebe ineklerin kolostrum sütleri ile antikor alan buzağularda passif bağışıklığın 6 ay kadar sürdüğünü bildirmektedir. Humoral bağışıklığın ne kadar süre dayandığı hakkındaki görüşler değişiktir. Esas olarak doğal koşullar altında bulunan hayvanlar sürekli olarak yeniden enfekte oldukları için, ahırda bulunan hayvanlara nazaran antikor titresini yüksekliğini daha uzun bir zaman muhafaza ederler.

Atlarda influenza virusuna karşı doğal enfeksiyonlardan sonra meydana gelen bağışıklık Mayr (6)ın bildirdiğine göre insanların grip hastalığında olduğu gibi bir yıl içinde kaybolur. Murel (7) tip A-equi/2 virusuna karşı kolostrum sütü ile geçen antikorların yavruyu 3-4 ay influenza'ya karşı koruduğunu bildirmektedir. Aynı şekilde rhinopneumonitis virusuna karşı anadan kolostrum sütü ile alınan passif bağışıklık da taylarda 2-3 ay kadar devam eder (8, 9).

### Materyal ve Metod:

Çalışmalarımızda enfeksiyöz rhinotracheitis virusu (IBR) olarak Almanya'dan Tübingen Devlet Virus Araştırma Enstitüsünden sağlanan schönböken suşu kullanılmıştır. Doku kültürü olarak Hannover Veteriner Yüksek Okulu Viroloji Enstitüsünden sağlanan (Madin-Darby Bovin Kidney "MDBK" pasaj 36) devamlı sığır böbrek hücreleri ve hücre üretme vasatı olarak da % 10 inaktif dana serumu katılmış Hank's kullanılmıştır(4). Doku kültürü çalışmalarında difco 1:250 tripsin % 0.25 oranda kullanılmış ve fosfat buffer solusyonu (PBS) da Dulbecco ve Vogt (1) yöntemine göre hazırlanmıştır.

Araştırmada kullanılan serumlar 56°C da 30 dakika ısıtılarak inaktive edilmiş ve antibiyotik katılarak sterilite kontrolleri yapıldıktan sonra mikronötralizasyon testine tabi tutulmuştur. Pozitif reaksiyon veren serumlar titre edilmek için - 30° C de saklanmıştır.

Kontrol olarak kullanılan hiperimmün serumlar araştırmanın birinci kısmında belirtildiği şekilde tavşanlardan elde edilmiştir.

Birinci araştırmamızda mikronötralizasyon testi ile 1:4 oranında pozitif reaksiyon veren 561 serum titre edilmiştir.

Antijen olarak kullandığımız IBR schönböken virusu ile tavşanlardan elde edilen hiperimmun serumların titreleri araştırmanın birinci kısmında yazıldığı şekilde tesbit edilmiştir.

### **Mikrotitrasyon Metodu ile Serum Titrelerinin Tayini:**

Nötralizan antikor titresi tayin edilecek serum önce serumsuz Earle vasatı ile 1/2 oranda sulandırılmıştır. Her serum sulandırması için mikrotitrasyon tablasında 4 er gözlük yer ayrılmış, serum numunesi tablanın ilk sırasındaki 4 göze 0.1 ml olarak konmuştur. Sonra bu sıranın altındaki gözlere aynı hizada olmak üzere aşağıya kadar özel pipetle 0.05 ml vasat ilave edilmiştir. Daha sonra özel mikro sulandırıcı pipetler vasıtasıyla en üst sırada bulunan serum sulandırmasından başlamak ve daha alt sıralardaki gözlere 0.05 ml taşımak suretiyle 1/2 den 1/128 e kadar serum sulandırması yapılmıştır. Bu sulandırma esnasında özellikle, kullanılan mikrosulandırıcıların mikrotitrasyon tablası gözlerinin tabanına değmemesine dikkat edilmiştir. Serum sulandırması tamamlandıktan sonra yine 0.05 ml lik özel pipet vasıtasıyla tabladaki bütün gözlere titresi bilinen virusa göre hesap edilmiş sabit virus sulandırmasından 0.05 ml ilave edilmiştir. Mikrotitrasyon tablasının üzeri hücreler için toksik etkisi bulunmayan yapıştırıcı bant ile kapatıldıktan sonra bir gece 4°C da buzdolabında tutulmuş ve ertesi gün band açılarak gözlere 250.000 hücre/ml MDBK hücre süspansiyonundan 0.05 ml ekilmiş ve tablanın üzeri band ile tekrar kapandıktan sonra 37°C lik etüve konmuştur. Dört gün sonra serum sulandırmalarında meydana gelen sitopatolojik değişiklikler mikroskop altında saptanarak nötralizan antikor titresi hesaplanmıştır. Reaksiyon yapılırken hücre ve virus kontrolleri da birlikte yapılmış ve sonuçlar boyanmakla makroskopik olarak da saptanmıştır.

### **Sonuçlar:**

Titrasyonda antijen olarak kullanılan IBR schönböken virusunun titresi  $10^{-5}$  DKID<sub>50</sub>/0.1 ml olarak ve tavşanlardan elde edilen hiperimmun serumun nötralizan antikor titresi de 1:64 olarak tesbit edilmiştir. Araştırmanın birinci kısmında mikro-nötralizasyon yöntemi ile pozitif reaksiyon veren 561 sığır serumunun 1:32 nin üstünde titre gösteren 131 inin yöre ve miktarları çizelge 1'de gösterilmiştir. 131 serumun ayrıca titreleri ile titrelerine göre miktarlar da saptanmış (çizelge 2) bunlardan İnanlı İnekhanesine ait 39 serumdan 2 adedi 1:63.1, 1 adedi 1:89.1 ve 1 adedi de 1:209 SN<sub>50</sub> titre göstermiştir (çizelge 3). Doğu ve Orta Anadolu Bölgesine ait 129 sığır serumundan

Mikro-nötralizasyon testi ile enfeksiyöz bovin rhinotracheitis (IBR) yönünden kontrol edilen serumların toplu sonuçları

Çizelge: 1

Serumların temin edildiği yerler	ND 1:4 Pozitif se- rumlar	ND 1:31.6	Pozitif serumların cn yüksek titresi
Et ve Balık Kurumu Ankara Mezbahası (Doğu ve Orta Anadolu bölgesi)	521	127	1:512 SN <sub>50</sub>
Boztepe İnekhanesi	1	-	-
Karacabey Harası	0	-	-
İnanlı İnekhanesi	39	4	1:209 SN <sub>50</sub>
<b>T O P L A M</b>	561	131	

Nötralizasyon testi ile kontrol edilen serumların serum nötralizasyon titrelerinin toplu sonuçları

Çizelge: 2

Serum adedi	SN <sub>50</sub>	Serum 1: 31.6 Üzeri
15	1:31.6	
4	1:32.1	
6	1:37.2	
18	1:44.7	
8	1:52.5	
12	1:63.1	
7	1:74.1	
16	1:89.1	
10	1:106.0	
6	1:126.2	
7	1:148.0	
4	1:178.0	
10	1:209.0	
3	1:251.0	
3	1:295.0	
1	1:355.0	
1	1:512.0	
<b>Toplam : 131</b>		

Serum mikro-nötralizasyonları (SN<sub>50</sub>) toplu sonuçları

Çizelge: 3

Serumların geldiği yer	Serum sulandırmaları ve SN <sub>50</sub> titrasyonları sonuçları					Toplam
	1:4	1:32	1:63.1	1:89.1	1:209.0	
İnanlı İnekhanesi	35 serum		2 serum	1 serum	1 serum	39 serum

% 65 inde 1:89 un altında % 35 inde 1:100 -1:512 arasında SN<sub>50</sub> titre yüksekliği saptanmıştır (çizelge 4).

Serum mikro-nötralizasyonları (SN<sub>50</sub>) toplu sonuçları

Çizelge: 4

Serumların geldiği yer	Serum sulandırılmaları ve SN <sub>50</sub> titrasyonları sonuçları				Toplam
	1:31.6	1:89.1	1:106.0	1:512.0	
Doğu ve orta anadolu bölgesi	84 adet serum		43 adet serum		127 serum

**Tartışma:**

Almanya'da 18 değişik bölgede yapılmış olan bir araştırmada IBR virusuna karşı sığırlarda % 33.2 oranda nötralizan antikor bulunduğu saptanmıştır (13). Yurdumuz sığırlarında ise IBR virusuna karşı % 54.51 nötralizan antikor olduğu bildirilmiştir (4).

Mikronötralizasyon testinde müspet reaksiyon veren hayvanlar % 23.4 ünde nötralizan antikor titresi 1:32 titrenin üstünde reaksiyon veren toplam 131 serumun 4 adedi İnanlı İnekhanesi (% 0.3) geri kalan 127 adedi doğu ve Orta Anadolu Bölgesi hayvanlarına aittir. Hara ve inekhanelerdeki hayvanların özel sektör veya köylü elindeki hayvanlar gibi hastalığın latent seyrettiği enfekte hayvanlarla sık sık temas etmemesi nedeni ile kamu sektöründeki hayvanlarda IBR virusuna karşı antikor oranı çok düşük bulunmuştur.

Türkiye'de 1964-1973 yılları arasında muntazam bir şekilde sığır vebasına karşı canlı aşı uygulamaları yapılmıştır. Hiç kuşkusuz özel sektör ve köylü elindeki hayvanlara nazaran hara ve inekhanelerde aşılama daha emin bir şekilde yapılmıştır. Çalışmalarımıza göre hara ve inekhanelerdeki sığırlarda IBR virusuna karşı antikor titresi diğerlerine nazaran çok düşük çıkmıştır.

Louping-ill virusu ile enfekte koyunlar Rus-İlkbahar-Yaz ensefalitis hastalığına karşı da bağışıklık kazandıkları halde sığır vebasısı virusu ile enfekte veya aşılı sığırlarda IBR virusuna karşı antikor titresinde bir artış kaydedilmemiştir.

**Literatür:**

- 1- **Dulbecco, R. and M. Vogt** (1954): *Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses.* J. exp. Med. 99, 167-182.
- 2- **Erhan, M., B. Onar, L. Csontos ve I.G. Hopkins** (1971): *Koyun sığır ve atların bazı virus ve bedsonya hastalıkları üzerinde serolojik çalışmalar.* Pendik Vet. Kon. ve Araş. Ens. Derg. 4 (2) , 51-58.

- 3- **Frank, T.** (1966): *Vergleichende serologische Untersuchungen über die Herpesviren der Tiere.* Inaug. Dissert. München.
- 4- **Gürtürk, S., E. Finci ve İ. Burgu** (1974): *Yurdumuz Sığırlarında enfeksiyöz rhinotracheitis (IBR) üzerinde araştırmalar, I.* A.Ü. Vet. Fak. Derg. XXI, 1-2, 34-44.
- 5- **Hans, A. und O.C. Straub** (1966): *Untersuchungen zur Frage der Verreinigung des Pockenschutzimpfstoffes mit Parainfluenza-3 und Rhinoviren des Rindes.* Arch. Für virusforsch. XIX, 3, 305-317.
- 6- **Mayr, A.** (1970): *Schutzimpfung gegen Pferdeinfluenza.* Tierärztl. umsch. 25, 63.
- 7- **Muriel, A. Rose** (1966): *Serologic studies with equine Influenza Viruses.* But. Vet. I., 122, 435.
- 8- **Petzold, K.** (1966): *Die Virusausscheidung bei Stutenabort (Rhinopneumonitis).* Arch. für exp. Vet. Med. 21, 116-119.
- 9- **Petzold, K.** (1966): *Der Virus abort bei Stuten und sein Erreger in Deutschland.* Habilitationarbeit an der tierärztl. Hochschule, Hannover.
- 10- **Rolle, M. und A. Mayr** (1966): *Mikrobiologie und Allgemeine Seuchelehre.* Verl. Stuttgart, 3 Aufl. 620-621.
- 11- **Röhrer, H.** (1967): *Handbuch der Virusinfektionen bei Tieren.* Verl. Jena, Bd. II, 1, 941-943.
- 12- **Röhrer, H.** (1969): *Handbuch der Virusinfektionen bei Tieren.* Verl. Jena. Bd. IV, 3, 475-477.
- 13- **Straub, O.C.** (1962): *Zur Seuchensituation bei der Infektionen Rhinotracheitis und dem Blaschenaussschlag der Rinder in Mitteleuropa.* Bul. Münch. Tierärztl. Wschr. 75, 272-273.
- 14- **Straub** (1969): *Zur Übertragung viraler Antikörper durch das Kolostrum.* Tierärztl. umsch. 12, 571-577.

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 16.9.1975 günü gelmiştir.