

**TÜRKİYE'DE SUNİ TOHUMLAMADA KULLANILAN BAZI DAMIZLIK BOĞA-  
LARDA IBR/IPV ENFEKSİYONU**

**İbrahim Burgu\***

**Yılmaz Akça\*\***

**Infectious Bovine Rhinotracheitis-Infectious Pustuler Vulvovaginitis (IBR-IPV)  
infection in some artificial insemination bulls in Turkey,**

**Summary:** *It is known that bulls may harbour IBR-IPV virus for considerable period in a subclinical condition. The serological response of bulls to subclinical infection with the virus is of great importance. Unfortunately, very limited publications are available in Turkey concerning with the IBR-IPV virus infection of bulls.*

*This paper deals with the serological examination of two State Farms bulls in Turkey. Their ages varied between 1-7 years old.*

*Totally 47 blood samples (30 from Çukurova and 17 from Karacabey State Farm) were collected from the bulls and sera were harvested. All serum samples were inactivated by heating in a water bath at 56 ° C for 30 minutes, and stored at - 20 ° C until used in the neutralization test. Then, all undiluted serum samples were tested against the IBR-IPV Colorado strain (100 TCID<sub>50</sub> = 10<sup>3.2</sup>/0.1 ml) by using the microneutralization test in MDBK cell cultures. The cultures were controlled microscopically and daily for any cytopathogenic effect (CPE). Final reading was made on fourth day. Thirteen out of 30 bulls (43,3 %) in Çukurova State Farm and whole 17 bulls (100 %) in Karacabey State farm, totally 30 out of 47 bulls (63.8 %) were found serologically positive against IBR-IPV virus. IBR-IPV antibodies were found less frequently (33,3 %) in young bulls (1 year old) comparing to the sexually mature and 5-6 years old bulls.*

*The results of this study indicate that, it is necessary to give more attention to this infection of bulls which are used for natural and artificial insemination in Turkey. Subclinical infections can be reactivated with some endogenic and exogenic factors and bulls may play important role as an infection source.*

\* Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Ankara.

\*\* Yrd. Doç. A.Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Ankara.

*For this reason, subclinically infected bulls should be kept out of direct or indirect contact with uninfected animals and removed as soon as practicable.*

**Özet:** *IBR-IPV virusu ile subklinik olarak enfekte boğaların, önemli bir enfeksiyon kaynağı olduğu bilinmekte ve bu gibi boğaların virusa karşı serolojik yanıtı büyük önem taşımaktadır. Türkiye’de IBR-IPV enfeksiyonu ile ilgili olarak boğalar üzerindeki çalışmalar oldukça sınırlı olup, bu çalışmada devlete ait iki tarım işletmesinde ki boğaların söz konusu virusa karşı serolojik yoklamaları yapılmıştır.*

*Bu amaçla toplam 47 kan serumu 1-7 yaşlar arasındaki boğalardan (Çukurova Tarım İşletmesinden 30, Karacabey Tarım İşletmesinde 17) alınmış; serumlar, 56° C de 30 dakika süre ile inaktive edildikten sonra kullanılcaya kadar - 20° C de saklanmıştır.*

*Mikronötralizasyon testi, MDBK hücre kültürlerinde serum numuneleri sulandırılmadan üzerlerine IBR/IPV virusunun Colorado suşu (100 TCID<sub>50</sub> 10<sup>3.2</sup>/0,1 ml) ilave edilerek yapılmış, sonuçlar 4 cü günde mikroskop altında okunarak değerlendirilmiştir.*

*Yapılan mikronötralizasyon testi sonunda, Çukurova Tarım İşletmesine ait 30 boğadan 13 ü (% 43.3) ve Karacabey Tarım İşletmesine ait 17 boğanın hepsi (% 100), toplam 47 boğadan 30 u (% 63.8) IBR/IPV virusuna karşı serolojik olarak pozitif bulunmuştur. IBR/IPV nötralizan antikorları, genç boğalarda (1 yaşındaki) yetişkin boğalara oranla daha az (% 33,3) olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar, Türkiye’de suni ve tabii tohumlamada kullanılan damızlık boğalara bu hastalık yönünden de dikkat edilmesini ve enfekte boğaların olanaklar ölçüsünde elimine edilmesi gerektiğini ortaya koymuştur.*

## Giriş

Türkiye’de sığırlarda bazı solunum yolu ve genital kanal enfeksiyonlarına neden olan enfeksiyöz bovin rhinotraheitis/enfeksiyöz püstüler vulvovaginitis (IBR/IPV) virusunun varlığı uzun zamandan beri bilinmektedir.

Özellikle Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığına bağlı çeşitli Tarım İşletmelerinde zaman zaman yapılan serolojik kontroller, IBR/IPV virusunun bu işletmelerde geniş bir yayılım gösterdiğini ortaya koymuştur (1,2,4,10).

IBR/IPV enfeksiyonunun genital şekli olan IPV de virus tabii veya suni tohumlamada kontamine spermayla kolayca dişi hayvanlara geçebilmektedir. Özellikle, suni tohumlama ile virus geniş alanlara yayılabilmektedir. Enfekte boğalarda nötralizan antikorlar bulunmasına

karşın virus uzun süre etkili olmakta ve hayvanda herhangi bir klinik değişiklik gözlenmemektedir. Bu latent enfeksiyon ise çeşitli iç ve dış faktörler nedeniyle zaman zaman reaktive olabilmekte ve yeniden virus saçılmaya başlamaktadır (12). Kortikosteroid kullanımları (13) veya diğer bazı virus hastalıkları (3) bu reaktivasyonu kolaylaştırmaktadır.

Serolojik yönden pozitif olan boğalar, epizootiolojik olarak büyük önem taşımakta, özellikle, suni tohumlama ile virusun yayılmasında rol oynamaktadırlar (14). Bu nedenle, serolojik olarak pozitif boğaların kesinlikle suni tohumlama istasyonlarında kullanılmaması ve kullanılan boğaların da düzenli serolojik yoklamalardan geçirilmesi gereği vurgulanmaktadır (6). Federal Almanyanın Hessen bölgesinde, suni tohumlama boğaları üzerinde yapılan bir çalışmada, kontrol edilen 181 boğadan % 51 inde nötralizan antikolar saptanmış ve klinik olarak sağlıklı olan bu boğalardan iki tanesinin spermalarından da 9 ay sonra virus izolasyonu gerçekleştirilmiştir (8).

Çekoslovakya'da 14 suni tohumlama istasyonunda bulunan 173 boğada yapılan serolojik kontrollarda, 10 tohumlama istasyonundaki (% 71) 15 boğa (% 8,6) nötralizan antikolar yönünden pozitif bulunmuş, fakat elde edilen sonuçlarda hayvanların yaşlarına göre bir bağımlılık saptanamamıştır (9). Fransa'da iki suni tohumlama istasyonu dışındaki diğer bütün tohumlama istasyonlarında bulunan 3620 boğanın kan serumlarından 494 ünde (% 13,7) nötralizan antikolar tesbit edilmiş ve bu istasyonların hepsinde karantina tedbirlerinin uygulandığı belirtilmiştir (7). Frey ve ark. (6), Federal Almanya'nın Aşağı Saksonya ve Schleswig Holstein bölgesinde, 37 işletmeye ait 163 boğa serumundan 3 ünde (% 1,8) IBR/IPV yönünden nötralizan antikolara rastladıklarını bildirmişlerdir. Ziegenhagen'de (14), Federal Almanya'nın kuzey bölgesinde 14 suni tohumlama istasyonunda, toplam 344 boğa üzerinde yaptığı çalışmada, 84 boğa serumunda (% 25,2) nötralizan antikoları saptamış ve kontrol ettiği 14 istasyondan yalnızca 2 sindeki boğaları antikor yönünden negatif bulmuştur.

Türkiye'de sığırlarda tabii yolla döllemenin yanında gittikçe artan oranda devlet eli ile yürütölen suni tohumlama uygulanmaktadır. Fakat, bugüne kadar suni tohumlama istasyonlarındaki damızlık boğalarda IBR/IPV enfeksiyonu yönünden düzenli bir kontrol yapıldığına ilişkin bir kanıt bulunmamaktadır.

Bu çalışma, viroloji bilim dalı tarafından, IBR/IPV yönünden serolojik kontrol uygulanan Karacabey Tarım İşletmesine ait 17 ve Çukurova Tarım İşletmesinin 30, toplam 47 adet damızlık boğa serumunda nötralizan antikörlerin araştırılması amacı ile yapılmıştır.

### Materyal ve Metot

*Serumlar* : Araştırmada kullanılan toplam 47 adet damızlık boğa serumundan 17 si Karacabey Tarım İşletmesinden\* 30 u da Çukurova Tarım İşletmesinden\*\* sağlanmıştır. Toplam serumların hayvanların yaşlarına göre dağılımları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Serolojik kontrolü yapılan boğaların yaş dağılımı.

Boğa yaşı	Karacabey Tarım İşletmesi serum sayısı	Çukurova Tarım İşletmesi serum sayısı	Toplam
1	1	2	3
2	11	11	22
3	1	6	7
4	2	7	9
5	1	2	3
6	1	-	1
7	-	2	2
Toplam	17	30	47

Serum numuneleri 56° C lik su banyosunda 30 dakika süre ile inaktive edildikten sonra sterilite kontrolüne alınmış ve testte kullanılabileceği kadar -20° C de saklanmıştır.

*Virus* : Serum nötralizasyon testinde, test virusu olarak IBR/IPV Colorado referans suşu kullanılmıştır. Gerekli virus suspansiyonu için, virus MDBK (Madin Darby Bovine Kidney) hücre kültüründe üretilmiş ve santrifüj yöntemi ile hücreden arındırılan virus suspansiyonu 1,0 ml. lik porsiyonlar halinde ampullenerek - 70° C de dondurulmuştur. Test virusun mikrotitrasyonda enfeksiyözite gücü  $DKID_{50} = 10^{5,2}/0,1$  ml olarak saptanmıştır.

\* Karacabey Tarım İşletmesinin 21.2.1986 gün ve 1010 sayılı yazısı ile gönderilmiştir.

\*\* Bilim dalınca alınmıştır.

*Hücre kültürü*: Gerçek virus üretilmesi ve gerekse mikronötralizasyon testinin uygulanması amacıyla devamlı siğir böbrek hücre kültürü olan MDBK kültüründen yararlanılmıştır. Hücre üretme vasatı olarak % 10 dana serumlu (IBR/IPV seronegatif) Eagle Minimum Essential Medium (EMEM), virus üretme vasatı olarak da serumsuz EMEM kullanılmıştır.

*Mikronötralizasyon testi*: Serum numunelerindeki kalitatif antikor araştırmalarında Frey ve Liess (5) ve Hafız ve Liess (11) in bildirdikleri mikronötralizasyon testinden yararlanılmıştır. Frey ve ark. nın (6), bildirdiği gibi bir kısım inaktive edilmiş ve sulandırılmamış serum numunesi eşit hacimde  $100 \text{ DKID}_{50} = 10^{3,2}/0,1 \text{ ml}$  sulandırılmadaki test virus ile karıştırılarak mikrotitrasyon tabletinin gözlerine  $0,1 \text{ ml}$  olarak konulmuştur.  $37^\circ \text{ C}$  de  $\text{CO}_2$  li etüvde 1 saatlik inkubasyon süresinden sonra mikrotitrasyon tabletinin gözlerine  $3 \times 10^5/\text{ml}$  hücre hesabı ile MDBK hücre süspansiyonundan  $0,05 \text{ ml}$  damlatılmış ve  $37^\circ \text{ C}$  lik  $\text{CO}_2$  li etüvde dört gün süre ile inkube edilmiştir. Sonuçlar dördüncü gün sonunda değerlendirilmiştir.

### Bulgular

Mikronötralizasyon yöntemi ile yapılan serolojik kontrol sonunda Çukurova Tarım İşletmesine ait 30 boğadan 13 ünde (% 43,3) ve Karacabey Tarım İşletmesine ait 17 boğanın hepsinde (% 100) IBR-IPV virus enfeksiyonuna karşı nötralizan antikorlar tesbit edilmiştir.

Her iki Tarım İşletmesindeki kontrol edilen toplam 47 damızlık boğaya ait serumların 30 unda (% 63,82) nötralizan antikorların varlığı saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2: Damızlık boğaların serolojik kontrol sonuçları.

Tarım işletmesinin adı	Damızlık boğa serumu sayısı	IBR/IPV Nötralizan antikor		Pozitif %
		Pozitif	Negatif	
Çukurova T.İ.	30	13	17	43.3
Karacabey T.İ.	17	17	0	100
Toplam	47	30	17	63.82

Kontrol edilen kan serumlarının, damızlık boğaların yaşlarına göre nötralizan antikor yönünden pozitiflik dağılımları da Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3: IBR/IPV ye karşı nötralizan antikor yönünden pozitif serumlarla hayvanların yaşları ve % payları arasında ilişki.

Doğum Yılı	Kontrol edilen serum sayısı	Pozitif serum sayısı	Oran (%)
1979	2	2	100
1980	1	1	100
1981	3	2	66.6
1982	9	9	100
1983	7	4	57.14
1984	22	11	50
1985	3	1	33.3
Toplam	47 (% 100)	30 (% 63.82)	

Tablo 3 de görüldüğü gibi genç hayvanlarda (1 yaş) pozitiflik oranı % 33,3 iken, bu oran bazı sapmalar göstermekle birlikte artan yaşa göre paralellik göstermekte, seksüel erginliği tam olan (5-6 yaşlı) yetişkin hayvanlarda % 100 e varmaktadır.

### Tartışma ve Sonuç

Türkiye'de çeşitli Tarım İşletmelerinde bulunan sığırların kan serumlarında IBR/IPV virusuna karşı nötralizan antikorların araştırılması amacı ile çeşitli araştırmacılar tarafından (1,2,4,10) çalışmalar yapılmasına karşın, boğalar üzerinde bugüne kadar herhangi bir sonuç bildirilmemiştir. Damızlık boğalarda virusun uzun süre kalışı ve çeşitli faktörler vasıtasıyla latent durumdan aktif duruma geçişi hastalığın epizootolojisine yeni bir bakış açısı getirmiş (12) ve araştırmacıları tabii veya suni tohumlamada kullanılan damızlık boğalarda IBR/IPV virusunun insidensini araştırmaya sevk etmiştir. (6,7,8,9, 14) Aynı amaca yönelik olarak, Çukurova ve Karacabey Tarım İşletmelerinde suni tohumlama merkezlerinde bulunan damızlık boğalardan 47 adedi IBR/IPV nötralizan antikorları yönünden mikro-nötralizasyon testi ile kontrol edilmiştir. Bu çalışmada sulandırıl-

mamış serum numunelerinden yapılan test sonunda iki Tarım İşletmesinde kontrol edilen toplam 47 boğadan 30 unda (% 63,82) IBR/IPV ye karşı nötralizan antikörlara rastlanmış olması, daha önce aynı yönde çalışmış olan çeşitli araştırmacıların (7,8,9,11,14) bulmuş oldukları % 1,8 - % 25,2 arasındaki değerlerden daha yüksektir.

Diğer taraftan Ziegenhagen (14), kontrol ettiği 14 istasyondan 9 unda uzun süreden beri eliminasyon çalışmaları yapıldığını, bir istasyonda da aşılama ile yine uzun süreli mücadele yoluna gidildiğine dikkati çekip, bulduğu % 25,2 lik oranı yüksek olarak nitelendirirken, yapılan bu çalışmada Karacabey Tarım İşletmesince ait damızlık boğalardan kontrol edilen 17 sinin hepsinde (% 100) nötralizan antikörların saptanmış olması, olayın boyutlarını ortaya koymakta ve suni tohumlamada kullanılacak olan boğalarda viral enfeksiyonlar yönünden yapılması gereken serolojik ve virolojik kontrollerin ne derecede gerekli olduğunu bir kere daha bütün açıklığı ile gözler önüne sermektedir. Frey ve ark. (6), yaptıkları araştırmada 3 yaşın üzerindeki hayvanlarda pozitiflik oranının genç hayvanlara oranla oldukça daha fazla görüldüğünü belirtmekte ve 1 yaşındaki hayvanlarda pozitiflik oranının % 4,3 ten, 3 ve daha yukarı yaşlarda % 43-100 e yaklaştığını vurgulamaktadırlar.

Benzer şekilde Gössler ve ark. (8), kontrol ettikleri boğalardan % 80 nin 3 yaşından yukarı olduğunu ve bunlardan % 45 nin pozitif bulunduğunu belirtmektedir. Ayrıca 3 yaşın üzerindeki pozitiflik oranının daha yüksek oluşunun yalnızca boğalara özel olmadığı, ineklerde de bu durumun söz konusu olduğu, dolayısıyla da enfeksiyonun ilerleyen yaşla arttığı belirtilmektedir (6,9). Bu araştırmada nötralizan antikörlar yönünden kontrol edilen serumlarda, boğaların yaşları ile pozitif serum sayısı arasında yaşa bağlı bir artış olduğu, 3 yaşın üzerindeki boğalarda pozitiflik oranının % 100'e ulaştığı, 1 yaşındaki hayvanlarda ise % 33,3 civarında olduğu saptanmıştır ki bu da diğer araştırmacıların (6,8,9) bulguları ile uyum içindedir.

Grunnert ve ark. (9), üç ve daha yukarı yaşlardaki hayvanlarda antikörl saptama olasılığının yüksekliğini IBR/IPV enfeksiyonlarının genital formlarında viremi devrinin oluşmadığına, nötralizan antikörların çok geç meydana geldiğine bağlamaktadırlar. Latent enfekte hayvanlarda, çeşitli faktörler vasıtasıyla oluşan reaktivasyonlarda antijenin yeniden saçılmasının hayvanlarda humörl antikörların yükselmesine neden olacağı bildirilmektedir (12). Ayrıca, latent enfekte olup, humörl nötralizan antikörlar saptanan sığırların devamlı virus

taşıyıcı ve saçıcısı olabileceklerine, yani muhtemel enfeksiyon kaynakları olarak düşünülebileceklerine dikkat çekilmiş ve serolojik olarak pozitif sığır ve boğaların epizootolojik yönden tehlikesiz olmayacakları belirtilmiştir (12).

Sonuç olarak Türkiye'de iki tarım işletmesindeki kontrol edilen 47 boğadan 30 unda (% 63,82), IBR/IPV nötralizan antikollarının saptanması, hayvanlarda kan alma sırasında herhangi bir klinik belirti gözlenmemiş olması dikkati çekicidir. Bu hayvanların bir kısmının suni tohumlama işlemlerinde kullanılması, latent enfekte hayvanlarda virusun çeşitli faktörlerin etkisi ile zaman zaman reaktive olarak yeniden primer enfeksiyona dönüşebilme ve etrafa saçılması yönünden önemli olmaktadır. Ayrıca elde edilen bulgular damızlık kullanımı yönünden en aktif durumda olan 2 ve daha yukarı yaş grubu boğalarda enfeksiyon oranının % 100 olduğunu göstermekte ve bu konuda acil önlemler alınması gerektiği ortaya çıkarmaktadır.

Bu nedenle;

1) Öncelikle Türkiye'deki suni tohumlama merkezlerinde bulunan aktif durumdaki bütün boğaların serolojik kontrolden geçirilmesi, en küçük hastalık belirtilerinde özellikle sperma, prepusyal çalkantı sıvısı, lökosit ve burun akıntısı örneklerinden virus izolasyon çalışmalarının yapılması ve serolojik kontrollarda pozitif bulunan hayvanların damızlık işlemlerinden elimine edilmesi.

2) Damızlığa ayrılacak olan hayvanlara bu yönden, önceden özen gösterilmesi.

3) Yurt dışından getirilecek damızlık boğa ve donmuş spermalarda IBR/IPV yönünden kontrol yapılması, bunun bir raporla belirtilmesi ve bu konuda gerekli yönetmeliklerin hazırlanması ülke hayvancılığını olumlu yönde etkileyecek ve hayvancılığın sağlıklı gelişmesinde önemli bir faktör olacaktır. Ayrıca da latent enfekte hayvanlardan alınan spermalarla yapılan suni tohumlamalar sonrası meydana gelecek yavrunun intrauterin veya postnatal yaşamındaki komplikasyonlar ortadan kaldırılabilecektir.

#### Kaynaklar

1. **Burgu, İ. ve Akça, Y.** (1982). *Gelemen Devlet Üretme Çiftliği sığırlarında bazı viral enfeksiyonlara karşı serolojik araştırmalar*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 29 (3-4): 506-512.
2. **Burgu, İ., Öztürk, F., Akça, Y. ve Tokar, A.** (1984). *Karacabey harası sığırlarında parainfluenza-3 virusunun neden olduğu viral pnemoni olayı*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 31 (2): 180-185.



3. **Edwards, S. and Roeder, P.L.** (1983). *Attempted reactivation of latent bovine herpesvirus 1 infection in calves by infection with ruminant pestivirus.* Vet. Microbiol., 8: 563-569.
4. **Erhan, M. ve Onar, B.** (1977). *Balıkesir iline ait bir danadan izole edilen herpesvirusunun fiziksel, kimyasal ve biyolojik karakterleri ve bu virusa karşı serum nötralizasyon testi ile antikor aranması.* Pendik. Vet. Bak. Ser. Enst. Derg., IX (2): 31-44.
5. **Frey, H.R. und Liess, B.** (1971). *Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit einer stark zytopathogenen VD-MD-Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotitermethode.* Zbl. Vet. Med., 18: 61-71.
6. **Frey, H.R., Hirschert, R., Teichmann, U. und Schröder, E.** (1974). *Serologische Erhebungen über den Verbreitungsgrad der IBR-IPV Infektion bei Rindern in Zuchtgebieten Niedersachsens und Schleswig-Holsteins.* Dtsch. Tierarztl. Wschr., 81 (24): 607-610.
7. **Goffeaux, M., Harley, T. und Parez, M.** (1983). *Untersuchungen über das Vorhandensein von neutralisierenden Antikörpern gegen Bläschenausschlag- und Rhinotracheitis-Virus im Serum von Besamungsbullen.* Zuchthygiene, 8: 145-153.
8. **Gössler, R. und Paulsen, J.** (1975). *Virologische Untersuchungen bei Besamungsbullen in Hessen. I. Mitteilung: Untersuchungen zur Vorkommen von IBR-IPV-Virusinfektionen.* Berl. Mühch. Tierarztl. Wschr., 88 (12): 221-224.
9. **Grunert, Z., Jamrichova, O. und Skoda, R.** (1967). *Serologischer Nachweis der Infektiösen Rhinotracheitis des Rindes in der Slowakei.* Arch. exper. Veterinarmedizin, 21: 1183-1190.
10. **Gürtürk, S., Finci, E. ve Burgu, İ.** (1974). *Turdumuz sığırlarında enfeksiyöz rhinotracheitis (IBR) üzerinde araştırmalar. I- Türkiye'de sığırlarda IBR virusuna karşı antikor dağılımı üzerinde serolojik araştırmalar.* A.Ü. Vet. Fak. Derg., XXI (1-2): 34-46.
11. **Hafez, S.M. and Frey, H.R.** (1973). *Serological evidence of the occurrence of Bovine Viral Diarrhoea-Mucosal Disease (BVD-MD) and infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) in Egypt.* Bull. Ep. Dis. of Africa., 21 (1): 5-10.
12. **Kahrs, R.F.** (1977). *Infectious bovine rhinotracheitis: A review and update.* J. Am. Vet. Med. Ass., (17): 1055-1064.
13. **Sheffy, B.E. and D.H. Davies.** (1972). *Reactivation of a bovine herpes virus after corticosteroid treatment.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 140: 974-976.
14. **Ziegenhagen, T.** (1977). *Erhebung über Massnahmen zur Bekämpfung der IPV-Virusinfektion in norddeutschen Besamungsstation.* Inaugr. Diss. Hannover.