

BHV-1 İLE ENFEKTE TAVŞANLARDA DEXAMETHASONE UYGULAMASINDAN SONRA VİRUS REAKTİVASYONU

Feray Alkan¹ İbrahim Burgaz²

Reactivation of virus after DM treatment in rabbits infected with BHV-1.

Summary: Seven rabbits were infected with BHV-1 Colorado strain by intranasally. The virus was reisolated from nasal secretions on 3-8 days postinoculation. Only one conjunctival secretion was positive for BHV-1, which is obtained postinoculation 5 th day. However vaginal swab samples were negative for BHV-1.

DM (4mg/kg) was given daily Im to 4 rabbits for three consecutive days beginning 10 weeks after virus inoculation. Nasal secretions on 5-6 th days from the beginning of DM treatment were positive for BHV-1, which are belong to one rabbit. BHV-1 was also isolated from nasal epithelium and trigeminal ganglion of the same rabbit.

Obtained data shown that, BHV-1 colorado strain causes latent infection in rabbits and latent herpes virus infection reactivates following DM treatment. Meanwhile, according to the result, it is indicated that there is a relation between the epithelium BHV-1 has infected and the ganglion in which it has remained latent and after infection with the nasal route, the virus which has remained latent in the trigeminal ganglion returns to the nasal epithelium centrifugally via the nerves.

Özet: BHV-1 Colorado suşu ile intranazal olarak enfekte edilen tavşanlardan, enfeksiyonun 3-8. günleri arasında alınan nazal swap örneklerinden BHV-1 izole edildi. Konjunktival swap örneklerinden sadece enfeksiyonun 5. gününü alınan 1'i BHV-1 yönünden pozitif sonuç verdi. Vajinal swap örnekleri ise BHV-1 yönünden negatif bulundu.

İlk enfeksiyondan 10 hafta sonra 4 deneme tavşanına 3 gün süreyle 4 mg/kg DM intramusküler olarak verildi. DM uygulamasını takiben 1 deneme

1 Yrd. Doç. Dr., AÜ. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Ankara

2 Prof. Dr., AÜ. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Ankara.

tavşanına ait ve DM uygulamasına başlanmasının 5-6. günlerinde alınan nazal swaþ örnekleri BHV-1 yönünden pozitif sonuç verdi. Ayrıca bu tavşanın nazal epitel ve trigeminal ganglionundan da virus izole edildi.

Araştırmadan elde edilen veriler, BHV-1 Colorado süşunun tavşanlarda latent enfeksiyona sebep olduğu ve latent herpes virus enfeksiyonlarının DM uygulaması sonucu reaktif olduğunu ortaya koydu. Elde edilen bulgular ışığında, virusun enfekte ettiği epitel ile latent kaldığı ganglion arasında bir ilişkinin bulunduğu, nazal yolla enfeksiyondan sonra trigeminal ganglionda latent kalan virusun, sinir yolları ile sentrifugal olarak tekrar nazal epitele geldiği sonucuna varıldı.

Giriş

Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) alphaherpesviruslar grubunda yer alan, konjunktivitis ve rhiotracheitis ile karakterize üst solunum yolu enfeksiyonu semptomları (9), vulvovaginitis (7), mastitis (15), meningoensefalitis (6) ve abort (10) gibi klinik semptomlarla seyreden enfeksiyonların sebebi olan, sığırların önemli bir viral patojenidir. Virus ilk kez 1956 yılında üst solunum yolu enfeksiyonu etkeni (IBR) olarak izole edilmiş (9), daha sonra benzer viruslar genital sistem enfeksiyonlarına (IPV) (7) ilgili olarak da tanımlanmıştır.

BHV-1 diğer herpes virüslerde olduğu gibi latent yada subklinik enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Ancak herpesvirüslerin latent kaldığı doku yada organların farklılıklar gösterdiği ortaya konulmuştur. Bazı herpesvirüsler epitel dokuda, bazıları lenfoid dokuda, bazıları da otonom ganglionlarda latent kalırlar. BHV-1'in insanların HSV'unda olduğu gibi otonom ganglionlarda latent kaldığı tesbit edilmiştir (11).

Latent enfeksiyonların varlığının BHV-1'in sığır populasyonunda persiste kalmasının sebebi olduğu düşünölmektedir. Latent enfeksiyonlarda virus konakçıda latent durumdadır. Bu dönemde konakçı virusun genomunu taşıır. Ancak enfeksiyöz virus ne saçılır ne de sap-tarabilir. Daha sonra çeşitli faktörlerin etkisiyle reaktif olan virus, sekretler ile saçılmaya başlayarak sağlıklı hayvanların enfeksiyonuna neden olur.

İlk kez 1965 yılında, Snowdon (22) deneysel olarak enfekte edilen bir danada, enfeksiyondan 578 gün sonra virusun reaktif olduğunu tesbit etmiştir. O tarihten buyana doğal yada deneysel enfeksiyonlar sonucu, latent enfeksiyonun oluşum mekanizması, virusun latent kal-

diği organlar, latent fazda virusun bulunduğu replikasyon aşaması, latent virusun reaktivasyonunun sebepleri ve mekanizması üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır.

Sığırların BHV-1 ile latent enfeksiyonuna ilgili bilgileri Rock ve ark. (17) 4 madde altında özetlemişlerdir.

1. Enfekte olan hayvanların çoğunluğu deneysel enfeksiyonlardan sonra latent enfekte olurlar.

2. Latent enfekte hayvanlarda spontan ya da sporadik olarak virus saçılımı görülür.

3. Latent enfekte hayvanlarda glukokortikosteroid uygulamalarından sonra virus reaktivasyonu görülür.

4. Virus latent olduğu dönemde sensory ve otonom sinir ganglionlarında persiste kalır.

BHV-1 ile latent enfeksiyonlarda, virusun vücuda giriş yolu ile latent kaldığı otonom sinir ganglionları arasında ilişkinin varlığı bildirilmiştir (3, 19). Davies ve Duncan (3), intravajinal (Iv) yolla enfekte edilen hayvanlarda sakral spinal cord'dan, intranasal (In) yolla enfekte edilen hayvanlarda nazal epitel ve trigeminal gangliondan virus izole ettiklerini bildirmişlerdir. Rossi ve ark (19), da intranasal yolla enfekte edilen tavşanların nazal swaplarından, Iv yolla enfekte edilenlerin vajinal swaplarından Dexamethasone (DM) uygulamasını takiben virusun izole edildiğini belirtmişlerdir.

BHV-1 ile enfekte olan hayvanlarda sentetik kortikosteroidlerin kullanımından sonra virusun reaktivasyonu ilk kez Sheffy (21) tarafından bildirilmiştir. Daha sonraları genital kanal yada nazal yolla enfekte edilen hayvanlarda, kortikosteroid kullanımının virus reaktivasyonuna etkileri birçok araştırma ile gösterilmiştir. Narita ve ark. (12) deneysel enfeksiyondan sonra 5. ayda DM ile enfekte edilen sığırlarda, Pastoret ve ark (14), ısı duyarlı ve ısı duyarlı olmayan BHV-1 aşılı ile aşılanan sığırlarda, Davies ve Duncan (3) enfeksiyondan 3 ay sonra DM yada adreno cortico tropic hormon (ACTH) uygulanan 6 buzağının tümünde, Rock ve Reed (16) intrakonjuktival (ik) yolla enfekte edilen 22 tavşanın tümünde ilk enfeksiyondan 2-7 ay sonra yapılan DM uygulamasını takiben virus reaktivasyonunu bildirmişlerdir.

Latent virusun reaktivasyonunda DM, ACTH, Flumethason gibi kortikosteroidlerin benzer etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Glu-

kokortikosteroidlerin latent enfeksiyonunun recurrensindeki etkilerinin, immun yanıtı baskılama özelliklerinden ileri geldiği düşünülmektedir (1,2,5,14,17,20).

Sığırlarda BHV-1'in reaktivasyonunda glukokortikosteroidlerin yanısıra gebelik, transport, stres faktörleri (21) ve bazı viral hastalıkların (4) da rol oynadığı belirtilmiştir.

Bu çalışmada, BHV-1'in Colorado suşu ile enfekte edilen tavşanlarda latent enfeksiyonun oluşturulması ve virusun latent kaldığı organlar ile kortikosteroid uygulamasının latent enfekte virusun reaktivasyonundaki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Virus: IBR virusunun Colorado referens suşu kullanıldı. MDBK hücre kültüründe üretilen virusun enfeksiyözite gücü $10^{5.5}/0.1$ ml olarak belirlendi.

Hücre Kültürü: Araştırmada, deney hayvanlarının enfekte edilmesi amacıyla kullanılan BHV-1'in üretilmesi, kan serumlarının nötralizasyonu, swap ve otopsi materyallerinden virus izolasyonu amacıyla MDBK hücre kültürü kullanıldı.

Hücre kültürü % 10 dana serumlu Eagle MEM vasatı ile üretildi.

Deneme Hayvanları: Araştırmada 2.5-3 kg ağırlığında, 3'ü dişi ve 4'ü erkek toplam 7 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı.

İzolasyon Materyalleri: Deneysel çalışma düzeri gereğince deneme hayvanlarından alınan nazal, korjunktival, vajinal swap örnekleri ile DM uygulamasının tamamlanmasından 4 gün sonra kesilen tavşanların trigeminal ganglion, nazal epitelyum, bulbus olfactorius, beyin, beyincik, pons, karaciğer, akciğer, dalak, böbrek ve vaginalı ile kesim sırasında alınan karları BHV-1 virus izolasyonu amacıyla kullanıldı.

Swap materyalleri alınmalarını takiben içinde 2 ml PBS bulunan tüplere konuldu ve 30-60 dakika süre ile buzdolabında bekletildi. Daha sonra swap çubuğu çıkarılarak, tüpte bulunan materyal 3000 rpm'de 30' santrifüj edildi. Üst sıvı alınarak, virus izolasyonu amacıyla MDBK hücre kültürüne ekim yapıldı.

Organ materyalleri, 1/10 oranında PBS ile karıştırılarak, homojenize edildi. Daha sonra 3000 rpm'de 30' santrifüj edilerek, üst sıvı alındı ve MDBK hücre kültürüne ekim yapıldı.

Deney Düzeni: Araştırmada kullanılan 7 deneme tavşanı İn yolla $10^{5.5}$ /ml enfeksiyözite gücündeki BHV-1 Colorado suşu ile enfekte edildi. Enfeksiyonun ilk gününden itibaren deneme hayvanları hergün kontrol edildi ve ateşleri ölçülerek, klinik bulguları kaydedildi.

Enfeksiyonun 2. gününden itibaren 12 gün süre ile enfekte edilen tavşanlardan nazal, konjunktival ve vajinal swap örnekleri alındı. Bu sürenin sonundan itibaren spontan virus saçılmasının bulurup bulunmadığının kontrol edilmesi amacıyla 10'ar gün ara ile swap örneklerinin alınmasına devam edildi.

Enfekte edilen tavşanlardan serolojik kontrol amacıyla periyodik olarak kan alındı.

İlk enfeksiyondan 10 hafta sonra 4 tavşana 3 gün süreyle DM (4 mg/kg) (Im) uygulandı. Kontrol tavşana ise steril distile su verildi. DM uygulamasının 1. gününden itibaren 6 gün süre ile kontrol ve DM uygulanan tavşanlardan nazal, konjunktival ve vajinal swap örnekleri alındı. DM uygulamasının tamamlanmasından 4 gün sonra deneme tavşanları kesilerek, nazal epitel, trigeminal ganglion, beyin, beyircik, pons, bulbus olfactorius, karaciğer, akciğer, dalak, böbrek, vajina ve kanları virus izolasyonu amacıyla alındı.

Trigeminal ganglion ko-kültürü hazırlanması: Trigeminal ganglionlar bistürü yardımıyla küçük parçalara ayrıldı. Parçalar MDBK hücre süspansiyonu (150000 hücre/ml) ile karıştırılarak, 25 cm² disposable hücre üretme şişelerine konuldu. 37°C'de inkübasyona bırakılan şişeler 27 gün süre ile hergün doku kültürü mikroskopunda kontrol edildi. Sitopatolojik bulgu görülmeyen hücre kültürleri BHV-1 yönünden negatif kabul edildi.

Virus İzolasyonu: Yöntemine uygun olarak hazırlanan swap ve organ materyalleri MDBK hücre kültürüne ekildi. İzolasyon materyalleri MDBK hücrelerinde 3 kez pasajlandı. Sitopatolojik bulgu oluşturan materyallere, virusun identifikasyonu amacıyla BHV-1 antikorları ile nötralizasyon testi uygulandı.

Bulgular

Klinik Bulgular: Enfekte edilen tavşanların 1. günden itibaren beden ısıları ölçüldü ve klinik bulguları kaydedildi.

Enfeksiyonun 3-4. gününden itibaren enfekte edilen tavşanların beden ısılarının arttığı görüldü. Beden ısısının yükselmesi ile hayvan-

larda durgunluk görüldü. 5. gün 2 ve 8 nolu tavşanlarda seröz burun akıntısı, korjunktivalarda hiperemi oluştu. Enfeksiyonun 7. gününde 7 ve 8 nolu tavşanlarda şiddetli burun akıntısı ve hızlı soluma gözlemlendi. İlk enfeksiyondan yaklaşık 1 ay sonra 3 nolu tavşanda zaman zaman kendi eksenine etrafında dönme ile karakterize sinirsel semptomlar görüldü.

Erfekte edilen tavşanlardan biri (No: 5) enfeksiyonun 10. günü, diğeri (No: 8) 43. günü öldü.

DM uygulanan tavşanlarda beden ısısında artış saptanmadı ve 7 nolu tavşanda DM uygulamasının 4. gününde başlayan burun akıntısı dışında klinik bulgu izlenmedi.

Virus İzolasyonu: BHV-1 ile erfekte edilen deneme hayvanlarının tümünden virus izolasyonu yapıldı. 7 tavşanın tümüne ait (7/7) nazal swap örnekleri ile 4 nolu tavşanın enfeksiyonun 5. gününde alınan korjunktival swabı BHV-1 yönünden pozitif sonuç verdi. Genital swap örnekleri ise BHV-1 yönünden negatif bulundu (Tablo 1).

Nazal swap örneklerinden BHV-1 izolasyonu enfeksiyonun 3. günü başladı ve 8. güne kadar devam etti. İzole edilen virusların enfeksiyözite gücünün $10^{1.5}/0.1$ ml- $10^{3.75}/0.1$ ml arasında olduğu belirlendi.

İlk enfeksiyondan 10 hafta sonra DM uygulanan 4 tavşandan (No: 1,3,4,7) 1'ine (No: 7) ait ve DM uygulamasının başlamasından sonraki 5. ve 6. günlerde alınan nazal swap örneklerinden BHV-1 izole edildi (Tablo 2). İzole edilen virusların enfeksiyözite gücü $10^{3.0}/0.1$ ml olarak hesaplandı.

DM uygulanmasına başlanmadan önce alınan nazal, vajinal ve korjunktival swap örnekleri BHV-1 yönünden negatif bulundu. DM uygulanan diğer 3 tavşan (No: 1,3,4) ve kontrol tavşana (No: 2) ait nazal, korjunktival, vajinal swap örnekleri ile DM uygulamasının 6. günü kesilen 5 tavşandan alınan kan örneklerinde BHV-1 tesbit edilmedi.

DM uygulamasının 6. günü kesilen tavşanlara ait beyin, beyincik, bulbus olfactorius, pons, karaciğer, akciğer, böbrek ve vajina materyalleri BHV-1 yönünden negatif sonuç verdi.

7 nolu tavşanın nazal epiteli ile trigeminal ganglionundan BHV-1 izole edildi (sırasıyla $10^{2.5}/0.1$ ml- $10^{1.75}/0.1$ ml) 1,2,3,4 nolu tav-

şanların trigeminal ganglion ve nazal epitel örneklerinde ise BHV-1 tesbit edilmedi (Tablo 3).

Tablo 1. BHV-1 ile enfekte edilen tavşanlardan virus izolasyonu.

Gün No	2	3	4	5	6	7	8	9-12
1 N	-	1.75	-	-	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-	-
2 N	-	2.5	-	-	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-	-
3 N	-	1.75	3.75	3.5	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-	-
4 N	-	2.75	3.5	-	-	-	-	-
K	-	-	-	2.75	-	-	-	-
V	-	-	-	-	-	-	-	-
5 N	-	2.75	2.5	1.5	1.5	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-	-
7 N	-	2.75	2.0	2.5	2.5	2.5	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-	-
V	-	-	-	-	-	-	-	-
8 N	-	2.0	3.0	3.5	3.5	3.25	1.5	-
K	-	-	-	-	-	-	-	-
V	-	-	-	-	-	-	-	-

*: Log DKID₅₀/0.1 ml

N: Nazal swap

K: Konjunktival swap

V: Vajinal swap

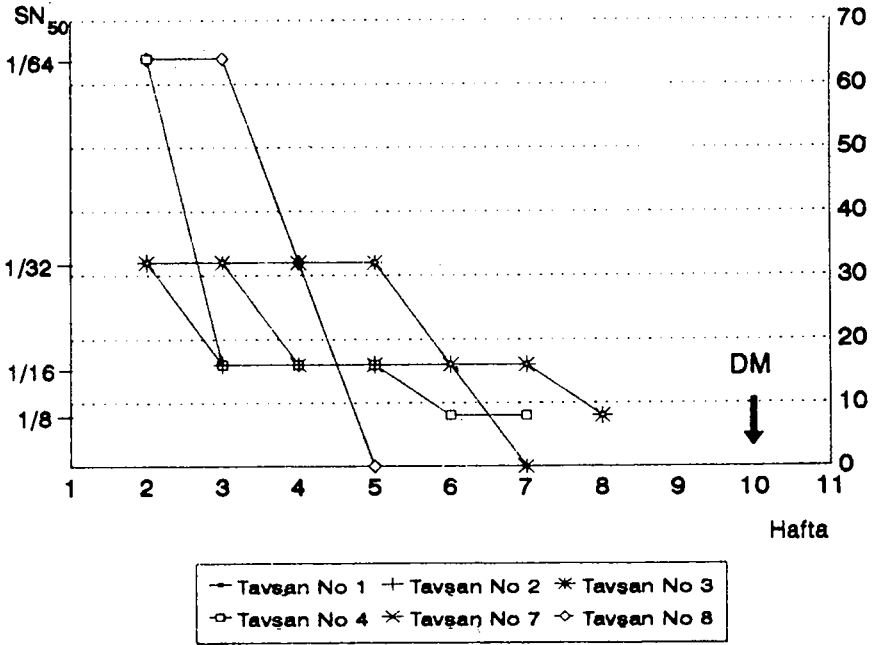
Tablo 2. DM uygulamasından sonra swap örneklerinden BHV-1 izolasyonu

	DM uygulanmış	DM uygulanmamış
İlk enfeksiyon		
Nazal swap	4/4	1/1
Konjunktival swap	1/4	0/1
Vajinal swap	0/2	-
DM uygulamasından önce		
Nazal swap	0/4	0/1
Konjunktival swap	0/4	0/1
Vajinal swap	0/2	
DM uygulamasından sonra		
Nazal swap	1/4	0/1
Konjunktival swap	0/1	0/1
Vajinal swap	0/2	-

Tablo 3. DM uygulamasından sonra alınan organ örneklerinden virus izolasyonu

	DM uygulanmış	DM uygulanmamış
Nazal epitel	1/4	0/1
Pons	0/4	0/1
Beyin	0/4	0/1
Beyincik	0/4	0/1
Trigeminal ganglion	1/4	0/1
Karaciğer	0/4	0/1
Akciğer	0/4	0/1
Dalak	0/4	0/1
Böbrek	0/4	0/1
Vajina	0/2	-

Serolojik Bulgular: BHV-1 ile enfekte edilen deneme tavşanlarının enfeksiyonun 2. haftasında alınan kan serumu örneklerinde BHV-1 antikorü saptandı. Antikor titreleri 2-5. haftalarda genellikle sabit kaldı ve daha sonra azalmaya başladı. DM uygulamasının 6. günü alınan kan serumu örneklerinde BHV-1 antikorları tesbit edilmedi (Şekil 1).



Şekil 1. Enfekte edilen tavşanlarda BHV-1 antikorü değeri

Tartışma

BHV-1 diğer herpesviruslar gibi enfekte ettiği konakçıda latent enfeksiyonun oluşumuna neden olur. Bazı herpesviruslar lenfoid dokularda, bazıları da otonom sinir ganglionlarında latent kalırlar (23). BHV-1 insanların HSV urda olduğu gibi otonom sinir yolları ve ganglionlarda latent kalmaktadır (11,12,17,18).

Herpesviruslar neurotropik olmadıkları halde sinir yolu ile merkezi sinir sistemine (MSS) yayılmalarının mekanizması bilinmemektedir. Herpesviruslar ile enfekte olan konakçıda hematogen yayılma tesbit edilmiştir. Bu sebeple virusun merkezi sinir sistemine ulaşmasında vireminin rolü olabileceği düşünülmüş ise de, araştırmalardan elde edilen veriler bu olasılığın oldukça düşük olduğunu ortaya koymuştur. Davies ve Duncan (3), latent enfeksiyondan sonra virusun nadiren medulla ve beyinden de izole edilmesine karşın, genellikle konakçının enfekte olduğu yolla da ilgili olarak otonom sinir ganglionları ve sensorik sinirlerden tesbit edildiğini, bu sebeple vireminin latent-

liğin oluşmasında etkin bir yol olamayacağını savunmuşlardır. Narita ve ark. (12) da BHV - 1 ile latent enfeksiyonun recurrensinde sonra, kan hücrelerinin IF testi ile kontrolünde virus antijenini tesbit etmediklerini belirtmişlerdir.

Araştırmacılar BHV-1 ile latent enfeksiyonlarda virusun sinir ganglionlarında latent kaldığı konusunda birleşmektedirler. Bu noktada, araştırmacıların ilgisini çeken en önemli konu, latentliğin olduğu ganglionların belirlenmesi olmuştur. Davies ve Duncan (3), BHV-1 ile İn ve İv yolla enfekte edilen sığırlar ile yaptığı derinleşmiş çalışmasında, enfekte edilmiş yolu ile ilgili olarak, nazal epitel-trigeminal ganglion, vajinal epitel-sakral spinal cord ilişkisini tesbit etmiştir. Narita ve ark. (12) da DM uygulamasının 1-11. günleri arasında alınan trigeminal ganglionların histopatolojik kontrolünde, trigeminal sinir ve ganglion hücrelerinde virusu saptamışlardır. Araştırmacılar (12), BHV-1 antijenini ilk önce trigeminal ganglion hücrelerinde, daha sonra Schwann hücreleri, satellit hücreleri, neuroglialar ve nazal mukoza hücrelerinde enfeksiyonun 10. gününe kadar tesbit etmişler ve enfekte hücrelerin çok azında IF testi ile virus tesbit edilmesi sebebiyle, trigeminal ganglionların BHV-1'in latent sahası olabileceğini belirtmişlerdir. Lupton ve ark. (8) ise optik ve trigeminal sinirden BHV-1 izolasyonunun, primer sahadan virusun neural translokasyonunun kanıtı olduğunu bildirmişlerdir. HSV ile latent enfekte olan insanlarda virusun, reaktivasyon sahaslarında superfisial sensorik sinir sonları yada epitel hücrelerinin bazal germinal katlarında latent kalıyor olabileceği görüşü ileriye sürülmüştür(13). Davies ve Duncan (3) da latent enfekte virusun reaktivasyondan sonra, enfeksiyonun giriş sahasından izole ediliyor olması sebebiyle, virusun başlangıçta yoğun replikasyonunun bulunduğu dokuda persiste kalıyor olması ihtimali üzerinde durmuşlardır. Bu araştırmada, 7 nolu tavşanın nazal epitel ve trigeminal ganglionunda BHV-1 varlığı saptanmıştır. Aynı tavşanın MSS'ne ilgili bulbus olfaktorius, beyin, beyincik ve pons'u ise BHV-1 yönünden negatif sonuç vermiştir. DM uygulamasından sonra alınan nazal, vajinal ve konjunktival swaplardan sadece nazal swapların BHV-1 için pozitif olması, 7 nolu tavşanın sadece nazal epitel ve trigeminal ganglionunun BHV-1 için pozitif olması, nazal yolla enfeksiyondan sonra virusun trigeminal ganglionda latent kaldığını bildiren araştırmalar ile benzer sonucu ortaya koymuş ve reaktif olan virusun latent olduğu ganglionlar sentrifugal olarak sinir yolları ile epitel dokuya ulaştığı düşünülmüştür. Ancak virusun nazal epitelde de latent kalıp kalmadığı konusunda bir yorumda bulunmak güçtür.

Bazı araştırmalarda in enfeksiyondan sonra latent enfekte olan hayvanların trigeminal ganglionundan virus izole edilememiştir. Rossi ve ark. (19) da trigeminal gangliondan virus izolasyonuna oranla mukozal yüzeylerden virus izolasyonunun daha kolay olduğunu bildirmişlerdir. Pastoret ve ark. (14) DM uygulamasından sonra nazal swaptan, Rock ve Reed (16) İk yolla enfekte edilen hayvanların konjunktival ve nazal swaplarından virus izolasyonunu latent enfeksiyonun tesbiti için yeterli bulmuşlardır. Bu araştırmada, 7 nolu tavşanın dışında DM uygulanan hayvanların trigeminal ganglionlarının yanısıra nazal swap ve nazal epitellerinden de virus izolasyonunun yapıl-maması, muhtemelen sadece 7 nolu tavşanın latent enfekte olduğunu ortaya koymuştur.

Bu araştırmada in yolla enfekte edilen tavşanlarda, virusun trigeminal ganglionda latent kaldığı tesbit edilmiştir. Ancak diğer otonom ganglionların BHV-1 yönünden kontrol edilmemiş olması nedeniyle, nazal enfeksiyonları takiben diğer bazı ganglionlarda da virusun latent kalıp kalmadığı belirlenememiştir. Ayrıca farklı yollarla enfekte edilen tavşanlarda virusun latent kaldığı organların tesbiti de latentliğin mekanizmasının anlaşılması bakımından önem taşımaktadır. Bu sebeple latent enfeksiyonun patogenezine yönelik, yeni virolojik ve histopatolojik araştırmaların yapılmasının yararlı olacağı ve bu çalışmadan elde edilen verilerin yeni araştırmalara ışık tutacağı düşünölmektedir.

Kaynaklar

1. **Brown, G.A. and Field, H.J.** (1990). *Experimental reactivation of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) by means of corticosteroids in an intranasal rabbit model.* Arch. Virol. 112:81-101.
2. **Davies, D.H. and Carmichael, L.E.** (1973). *Role of cellmediated immunity in the recovery of cattle from primary and recurrent infections with infectious bovine rhinotracheitis virus.* Infection and immunity 8 (4): 510-518.
3. **Davies, D.H. and Duncan, J.R.** (1974). *The pathogenesis of recurrent infections with infectious bovine rhinotracheitis virus induced in calves by treatment with corticosteroids.* Cornell Vet. 64: 340-366.
4. **Edwards, S. and Roeder, P.L.** (1983). *Attempts reactivation of latent bovine herpes virus 1 infection in calves by infection with ruminant pestivirus.* Vet. Microbiol., 8:563-569.
5. **Guy, J.S. and Potgieter, L.N.D.** (1985). *Kinetics of antibody formation after the reactivation of bovine herpesvirus-1 infection in cattle.* Am. J. vet. Res. 46(4): 899-901.
6. **Johnston, L.A.Y., Simmons, G.C. and Mc Gavin, M.D.** (1962). *A viral meningoencephalitis in calves.* Aust. Vet. J. 38: 207-215.

7. **Kendrick, J.W., Gillespie, J.H. and McEneaney, K.** (1958). *Infectious pustular vulvovaginitis of cattle*. Cornell Vet. 48: 458-495.
8. **Lupton, H.W., Barnes, H.J. and Reed, D.E.** (1980). *Evaluation of the rabbit as a laboratory model for infectious bovine rhinotracheitis virus*. Cornell Vet. 70: 77-95....
9. **Madin, S.H., York, C.J. and McKercher.** (1956). *Isolation of the infectious bovine rhinotracheitis virus*. Science 124: 721-722.
10. **Mc. Kercher, D.G. and Wada, E.M.** (1964). *The virus of infectious bovine rhinotracheitis as a cause of abortion in cattle*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 144: 136-142.
11. **Narita, M., Inui, S. and Manba, K.** (1976). *Trigeminal ganglionitis and encephalitis in calves intranasally inoculated with infectious bovine rhinotracheitis viruses*. J. Comp. Pathol. 86: 93-100
12. **Narita, M., Inui, S., Koichi, N. and Shimizu, Y.** (1978). *Neural changes in recurrent infection of infectious bovine rhinotracheitis in calves treated with dexamethasone*. Am. J. Vet. Res. 39: 1399-1403.
13. **Paine, T.F.** (1964). *Latent herpes simplex infection in man* Bact. Rev. 28: 472-479.
14. **Pastoret, P.P., Babiuk, L.A., Misra, V. and Griebel, P.** (1980). *Reactivation of temperature-sensitive and non-temperature-sensitive infectious bovine rhinotracheitis vaccine virus with dexamethasone*. Infection and immunity. 29 (2): 483-488.
15. **Roberts, A.W., Carter, G.R. and Carter, F.A.** (1974). *Infectious bovine rhinotracheitis virus recovered from the milk of a cow with mastitis*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 164: 413
16. **Rock, D.L. and Reed, D.E.** (1982). *Persistent infection with bovine herpesvirus type 1: Rabbit Model*. Infection and Immunity 35 (1): 371-373.
17. **Rock, D.L., Hagemoser, W.A., Osorio, F.A. and Reed, D.E.** (1986). *Detection of bovine herpesvirus type RNA in trigeminal ganglia of latently infected rabbits by in situ hybridization*. J. gen. Virol. 67: 2515-2520.
18. **Rock, D.L., Beam, S.L. and Mayfield, J.E.** (1987). *Mapping bovine herpesvirus type 1 latency-related RNA in trigeminal ganglia of latently infected rabbits*. Jour. of Virol. 61(12): 3827-3831.
19. **Rossi, C.R., Kiesel, G.K. and Rumph, P.F.** (1982). *Association between route of inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus and site of recrudescence after dexamethasone treatment*. Am. J. Vet. Res. 43 (8): 1440-1442.
20. **Roth, J.A., and Kaerberle, M.L.** (1981). *Effects of in vivo dexamethasone administration of in vitro bovine polymorphonuclear leucocyte function*. Infect. Immun. 33: 434-441.
21. **Sheffy, B.E. and Davies, D.H.** (1972). *Reactivation of a bovine herpesvirus after corticosteroid treatment*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 140: 974-976.
22. **Snowdon, W.A.** (1965). *The IBR-IPV virus: Reaction to infection and intermittent recovery of virus from experimentally infected cattle*. Aust. Vet. J. 41: 135-142.
23. **Stevens, J.G.** (1978). *Latent characteristics of selected herpesviruses*. Adv. Car. Res. 26: 127-256

SAANEN IRKI KEÇİLERDE ERKEN GEBELİĞİN B-MODE
REAL TIME ULTRASONOGRAFİ İLE TANISI

Şükrü Küplülü¹ Rıfat Vural² Selim Aslan³
Rıfat Salmanoğlu¹ Çetin Kılıçoğlu⁴ Hakkı İzgür¹

**Diagnosis of early pregnancy by using B-mode real time ultrasonography
in Saanen goats**

Summary: *The purpose of this study was to determine the efficacy of real time ultrasonography with 5 mHz transducer in early pregnancy diagnosis in Saanen goats when they were in dorsal recumbency or were standing position.*

Sixty three goats were examined by transabdominal B-mode real time ultrasonography with 5mHz transducer. The animals were scanned from the lower right and left flank area both when they were sitting down with their hind limbs extended horizontally and while they were standing position. Initial examination for pregnancy was performed between days 15 and 38 after mating and then animals were rescanned 50 days later from the first ultrasonographic examination (between days 65 and 88 after mating). The second ultrasonographic examination was made as control.

Pregnancy was detected as early as day 18 in one goat.. The greatest accuracy was obtained between days 25 and 38 after mating (The accuracy rate, % 100). Favorable results for pregnancy diagnosis in early pregnancy period were obtained in the standing position but were found no significant variation in the restraining position of animals in the second examination. The embryonic vesicle and the embryo within the vesicle were criteria for early pregnancy diagnosis by B-mode real time ultrasonography with 5 mHz transducer. In second ultrasonographic examination, placentomes, fetal head, fetal thorax, fetal movements, fetal limb and fetal heart beat were used as criteria for pregnancy.

1 Doç.Dr., AÜ Veteriner Fakültesi, Doğum ve Rep. Hast. Bilim Dalı, ANKARA
2 Y.Doç.Dr., AÜ Veteriner Fakültesi, Doğum ve Rep. Hast. Bilim Dalı, ANKARA
3 Dr.Arş.Grv., AÜ Veteriner Fakültesi, Doğum ve Rep Hast. Bilim Dalı ANKARA
4 Prof.Dr., AÜ Veteriner Fakültesi, Doğum ve Rep. Hast. Bilim Dalı, ANKARA

As a result, we concluded that B-mode real time ultrasonography with linear array 5 mHz transducer for early pregnancy diagnosis can be used with the greatest accuracy from day 25 after mating in Saanen goats in the standing position.

Özet: *Bu çalışmanın amacı, Saanen ırkı keçilerde erken gebeliklerin teşhisinde, yatan ve ayakta bulunan hayvanlara uygulanan B-mode real time ultrasonografinin etkinliğinin araştırılmasıdır.*

*B-mode real time linear array 5 mHz transducer donanımlı ultrasonografi ile 63 keçi muayene edildi. Transducer, hayvanlar ayakta ve yatarak sağ ve sol ingü-
abdominal bölgeden uygulandı. Keçilere gebelik tanısı amacı ile ilk muayene çiftleşmeyi izleyen 15-38. günler arası ikinci muayene ise 50 gün sonra 65 ve 88. günler arasında uygulandı. İkinci ultrasonografik muayene kontrol olarak değerlendirildi.*

Pozitif gebelik en erken bir keçide 18. günde belirlendi. Etkin doğruluk oranı (% 100) ise çiftleşmeyi izleyen 25-38. günler arasında gözlemlendi. Erken gebelik döneminde gebelik tanısı için ideal sonuçlar ayakta muayene edilen keçilerde gözlenirken 50 gün sonra yapılan ikinci muayenede hayvanın duruş pozisyonu gebelik sonuçlarını etkilemedi. İlk muayenede embriyonik kese gebelik kriteri olarak alınırken 50 gün sonraki ikinci muayenede plasentolar, fötüsün başı, ayakları, toraksı ve fötüsün hareketleri ve kalp atımları olumlu gebelik kriteri olarak değerlendirildi.

Sonuç olarak, Linear array 5 mHz transducer li B-mode real time ultrasonografinin Saanen ırkı keçilerde, erken gebeliğin tanısında ayakta muayene ile çiftleşmeyi izleyen 25. günden sonra yüksek doğruluk oranı ile kullanılabilirliği kanısına vardık.

Giriş

Keçilerde gebeliğin erken dönemde doğrulukla saptanması, işletme organizasyonu açısından gerekli olduğu gibi, gebe olmayanların (yalancı gebe, hidrometra olgularının) aşım mevsiminde sağıtımalarının yapılabilmesi açısından da ekonomik önemi bulunmaktadır (1,7,9,11,13).

Keçilerde belirtilen birçok gebelik tanı yöntemi arasında ultrasonografi, gebeliklerin erken dönemde saptanabilmesinde, gebelik patolojilerinin tanısında, fötüs sayısının belirlenmesinde diğer yöntemlere göre üstünlük sağlar (2,3,4,5,7,9,12,13,14).

Ultrasonografi keçilerde abdominal ve rektal yolla uygulanabilmele birlikte, rektal yolla uygulamanın uterusun pelvis boşluğında olduğu erken gebeliklerin saptanmasında etkinliğinin yanısıra, rektum yaralanmaları ve uygulamanın pratik olmaması gibi önemli dezavantajları da bulunduğunu bildirilmektedir (7,8,10).

Bucrell (4), özellikle keçilerde uterusun abdominal bölgeye doğru sarkık ve bu bölgedeki yağın az olması nedeniyle abdominal ultrasonografinin ayakta ve inguinal bölgeden yapılması ile kolay ve güvenilir sonuçlar alınacağına bildirmektedir.

Tairturier ve ark. (12), keçilerde erken gebeliklerin ultrasonografi ile tanısında, erken dönemde anekojerik (ekojerik olmayan) bölgelerin içinde beyaz lekelerin varlığı, daha ileri dönemlerde ise fetal keseler, fötüs, fötüs organları ve fetal hareketliliğin doğru tanı kriteri olarak alınabileceğini vurgulamışlar ve abdominal yolla inguinal bölgeden uyguladıkları ultrasonografi ile keçilerde gebeliklerinin 31. gününde fötüsün 17 mm ve uterusun 35 mm çapında olduğunu saptamışlardır.

Araştırmacılar (3,4,5,7,9,10), keçilerde transabdominal veya transrektal ultrasonografide 3-5 mHz lik problemlerin kullanılabileceğini, ileri gebeliklerde 3 mHz lik problemlerin tercih edilebileceğini bildirmektedirler.

Bucrell (4), keçilerde 25-30. gebelik günlerinde abdominal yolla inguinal bölgeden yapılan ultrasonografide tanımlan kolay ve güvenilir olduğu ancak sürülerde rutin gebelik tanımlarının tohumlamayı izleyen 35-50. günlerde yapılmasının uygun olacağına bildirmiştir.

Baronet ve ark. (3), rektal yolla ultrasonografide ise gebeliğin 20-30. günleri arasında güvenilir olarak saptandığını belirtmişlerdir.

Sunulan çalışmada, Saanen ırkı keçilerde gebeliklerinin 15-38. günleri arasında 5 mHz linear B-Mode ultrasonografinin abdominal yolla sağ-sol inguinal bölgeden, yatan ve ayakta bulunan hayvanlara uygulanarak gebeliklerinin saptanabilirliği araştırıldı.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Deneme çiftliğine ait 1-7 yaşlı Saanen ırkı, 63 keçi kullanıldı. Deneme hayvanlarının barınma ve beslenmelerinde bir örneklik sağlandı.

Gebelik tanısı amacı ile B-Mode Real Time, 20 cm muayene derinliği olan, 5 mHz transducer ile görüntülerin kaydedilmesi için özel printer ve polaroid kamera donanımlı ultrasonografi cihazı (Shimadzu SDL 32) ve ultrasonografik jel kullanıldı.

Kulak numarası bulunan keçiler aşınlarını izleyen 15-38. günleri ile 65-88 gebelik günleri arasında iki defa muayene edildi. Birinci muayene bulguları deney, ikinci muayene bulguları kontrol olarak alındı.

Aşınları 15-38 gün arasında değişen 63 keçi, kapılıktan tek tek geçirilerek muayene edildi. Keçilerin önce kulak numaraları tesbit edildi, sağ ve sol- inguinal bölgeleri, traş edildi. Her keçi önce yatarak üzerine jel sürülmüş transducer'in sağ-sol inguinal bölgeye yerleştirilmesi ile muayene edildi. Her hayvana ait değişik pozisyon ve muayene yerlerine göre elde edilen gebelik bulguları kayıt edilip, printe edildi. Aynı hayvanların gebeliklerinin 65-88, günleri arasında yukarıda belirtilen yöntemle muayene edildi.

Muayenelerde, erken gebelik döneminde embriyonik kese ve fötüs, ileri gebeliklerde ise plasentomlar, fötüsün baş, toraks, ayaklar ve kalp atışları olumlu gebelik kriteri olarak alındı.

Bulgular

Yapılan araştırmada elde edilen bulgular, tablo ve ultrasonik görüntüler şeklide sunulmuştur.

Tablo 1. de görüldüğü gibi gebeliğin 15-38. günleri arasındaki 63 keçide yapılan ultrasonografi de 51'ne (%81) gebelik pozitif, 12'ne (%19) gebelik negatif tanısı kondu. Aynı keçilere 50 gün sonra gebeliklerinin 65-88. günleri arasında 2. kez ultrasonografi uygulandığında bunlardan 55'inin (%87) gebe, 8'inin (%13) gebe olmadığı belirlendi.

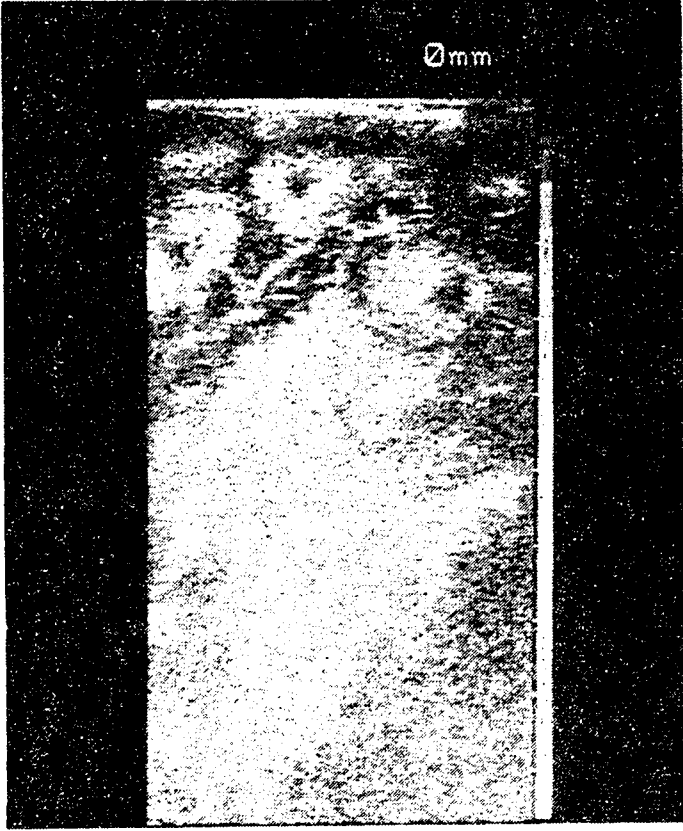
I. ultrasonografik muayenenin yapıldığı ve gebelik negatif tanısı konduğu gebeliğin 15. gününde 1 olgu ve gebeliğin 19 ve 20. günlerinde ise 2 şer olgunun II. ultrasonografik muayenede gebe oldukları saptandı. İlk muayenede gebeliğin 18. günü gebe pozitif tanısı konan bir olgunun ise II. muayenede gebe olmadığı belirlendi. Çalışmada gebeliğin 25-38. günleri arasında pozitif ve negatif gebelikleri saptama oranı, 50 gün sonra yapılan II. ultrasonografik muayenelerle karşılaştırıldığında % 100 olarak tesbit edildi.

Tablo 1. Keçilerde 50 gün ara ile yapılan iki ultrasonografik muayene ile elde edilen gebelik bulgularının karşılaştırılması

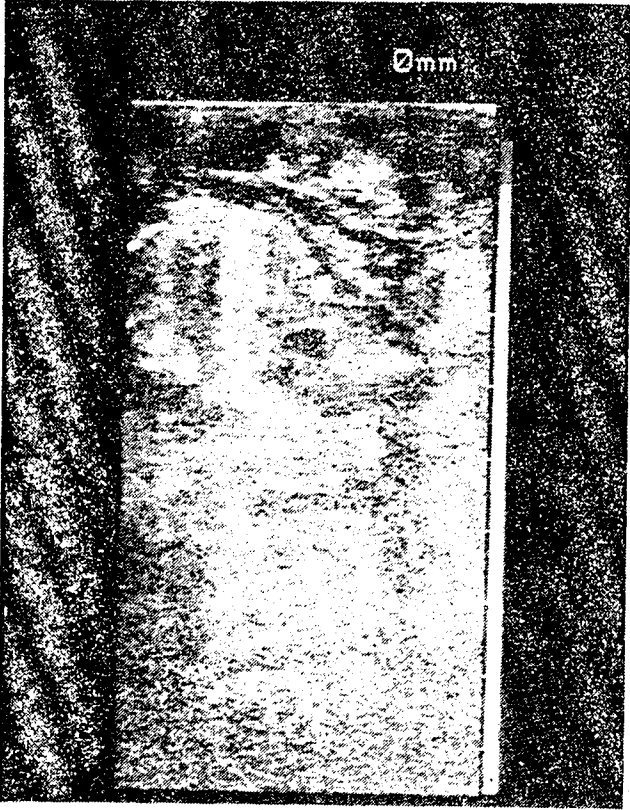
I. ultrasonografik muayene				II. Ultrasonografik muayene			
Gebelik dönemi (gün)	Muayene Edilen Hayvan Sayısı	Ultrasonografik Muayene Sonucu		Gebelik Dönemi (gün)	Muayene Edilen Hayvan Sayısı	Ultrasonografik Muayene Sonucu	
		Gebelik Pozitif	Gebelik Negatif			Gebelik Pozitif	Gebelik Negatif
15	1	-	1	65	1	1	-
18	1	1	-	68	1	-	1
19	2	-	2	69	2	2	-
20	2	-	2	70	2	2	-
25	1	1	-	75	1	1	-
30	5	5	-	80	5	5	-
31	12	10	2	81	12	10	2
32	8	5	3	82	8	5	3
33	4	4	-	83	4	4	-
34	3	3	-	84	3	3	-
35	7	7	-	85	7	7	-
36	3	2	1	86	3	2	1
37	5	5	-	87	5	5	-
38	9	8	1	88	9	8	1
Top. (%)	63	51 (~81)	12 (~19)	Top. (%)	63	55 (~87)	8 (~13)

Gebeliğin 15-38. günleri arasında yapılan I. ultrasonografik muayenede ayakta keçilerde ultrasonografik tarı yatırılarak muayene edilenlere göre daha kolay ve doğrulukla yapıldığı belirlendi. Yatırılan ve ayakta tutulan keçilerde transducerin sağ ve sol inguinal bölgeye yerleştirilmesi ile yapılan muayenelerde gebelik pozitif ve gebelik negatif olguları eşit bulundu. Gebeliğin 65-88. günleri arasında yapılan II. ultrasonografik muayenede, yatan ve ayakta muayene edilen keçilerde elde edilen bulgularda farklılık gözlenmedi.

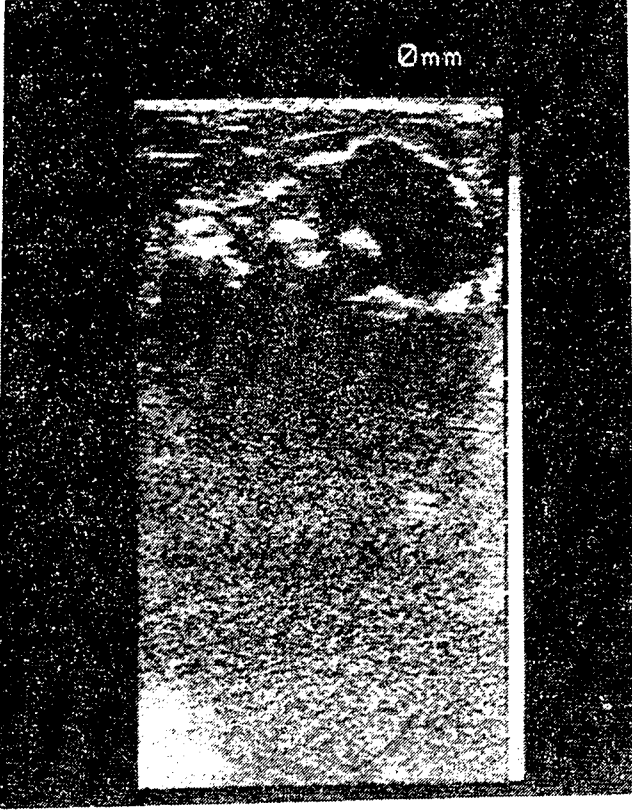
I. muayenede gebeliğin erken döneminde 1-1.5 cm çapında embriyonik keseler, gebeliğin ilerleyen dönemlerinde fetal keseler (anekojenik-siyah alan) içinde fötüs (ekojenik-beyaz alan) görüldü. Kontrol amacı ile gebeliğin 65 ve 88. günleri arasında yapılan II. muayenede tüm olgularda fetal keseler, plasentomlar, fötüs kesimleri (baş, toraks, ayaklar) ve fötüsün kalp atımları tesbit edildi (resim 1,2,3,4).



Resim 1. Keçide plasentomların ultrasonik görünümü.
Ultrasound appearance of placentomes in mid gestation in goat



Resim 2. Keçi de ftal iskelet ve kalbin ultrasonik görünümü
Ultrasonic appearance of fetal skeletal and heart in midgestation in goat.



Resim 3. Keçide ftal başın ultrasonik görünümü
Ultrasonic appearance of fetal head in mid gestation in goat.



Resim 4. Keçide fetal başın ultrasonik görünümü
Ultrasonic appearance of fetal head in mid-gestation in goat

Tartışma

Araştırmacılar (2,3,5,9,12,13)., keçilerde ultrasonografinin gebelik tanısı amacı ile etkin bir şekilde kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Baronet ve ark. (3), Kandelgy ve ark. (6), keçilerde erken dönemde gebelikler, transducerin rektal yolla uygulanarak belirlenebileceğini, Lavoir ve ark.(7) ise keçilerin genital organlarının erken dönemden itibaren ingü-abdominal yolla tesbit edilebileceğini, ve erken dönemde embriyonik ölümlerin şekillenmesine bağlı olarak elde edilen sonuçların güvenilir olamayacağını belirtmişlerdir. Bu çalışmada elde ettiğimiz erken dönem gebelik bulguları, Lavoir ve ark. (7), belirttiği durumları

doğrular nitelikte olup, ilk muayenede gebeliğin 15, 19 ve 20. gününde bulunan negatif gebeliklerin ikinci muayenede pozitif çıkmasını uterusun pelvik çatı sınırında bulunmasına, 18. günde bulunan pozitif gebeliğin ikinci muayenede negatif çıkmasını ise embriyonik ölüme bağladık.

Araştırmacılar (2,3,4,6,7), keçilerde gebeliğin 25. gününden itibaren gebeliklerin kolaylıkla tesbit edilebileceğini ve doğruluk oranının % 100 olduğunu açıklamışlardır. Yapılan bu çalışmada da gebeliğin 25-38. günleri arasında elde ettiğimiz gebelik sonuçlarının doğruluk oranı % 100 olup araştırmacıların sonuçları ile benzerlik göstermiştir.

Bucrell (4), koyun ve keçilerde gebeliğin erken döneminde, yatan hayvanlarda uterusun anatomik konumunun değişmesinden dolayı gebeliklerin belirlenmesinde yanlışların olabileceğini vurgulamıştır. Yapılan bu çalışmada gebeliğin 15-38. günleri arasında Bucrell (4) in belirttiği gibi keçilerde erken gebelik döneminde ayakta ultrasonografik muayene ile daha yüksek doğru tanı elde ettik.

Bucrell (4), Pieterse ve ark. (9) ve Taverna (13), erken gebelik döneminde fetal ampulunun gebelik tanısı kriteri olması ve hidrometra olguları ile karışmasından dolayı yanlışların olabileceğini, gebeliğin orta döneminde fötüs ve fötüs hareketlerinin belirlenmesi ile bu yanlışların ortadan kalkacağını açıklamışlardır. Erken ve ilerleyen gebeliklerde printe edilen gebelik kriterleri araştırmacıların kriterleri ile benzerlik göstermiştir.

Sonuç olarak, 5 mHz Real Time ultrasonografinin keçilerde gebeliğin 25. gününden itibaren sağ ve sol ingü- abdominal bölgeye uygulanarak gebelik tanısının doğrulukla yapılabileceğini, ayakta yapılan ultrasonografik muayenelerde uterusun anatomik yapısını bozulmamasına bağlı olarak yatan keçilere göre daha etkin sonuçlar verceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. **Aiumlamai, S., Fredriksson, G., Nilfors, L.** (1992). *Real time ultrasonography for determining the gestational age of ewes.* Vet. Rec., 131, 560-562.
2. **Arthur, G.H., Noakes, D.E., Pearson, H.** (1989). *Veterinary reproduction and obstetrics.* Sixth edition, pp 91-92. Baillere Tindall Philadelphia.
3. **Baronet, D., Vaillancourt, D.** (1989). *Pregnancy diagnosis in goats by echotomography.* Med. Vet. Du. Queb., 19 (2) 67-73.

4. **Bucrell, B.C.** (1988). *Application of ultrasonography in reproduction in sheep and goats.* Therio., 29, 71-84.
5. **Haibel, G.K.** (1988). *Real time ultrasonic fetal head measurement and gestational age in dairy goats.* Therio., 30 (6), 1053-1057.
6. **Kandelgy, M. and Jordan, R.M.** (1989). *Pregnancy diagnosis in Angora goats.* J. Anim. Sci., 67 (Suppl. 2), pp. 90.
7. **Lavoit, M.C. and Taverna, M.A.M.** (1989). *The diagnosis of pregnancy and pseudo-pregnancy and the determination of foetal numbers of goats by means of real time ultrasound scanning.* in: diagnostic ultrasound and animal reproduction (ed. M.A.M. Taverna and A.H. Willemse). Kluwer Academic Publishers. pp 89.
8. **Ott, R.S., Braun, W.F., Lock, T.F.I.** (1985). *A comparison of intrarectal doppler and rectal-abdominal palpation for pregnancy testing in goats.* J. Anim. vet. Med. Assoc., 178: 730-732.
9. **Pieterse, M.C. and Taverne, M.A.M.** (1986). *Hydrometra in goats: Diagnosis with real time ultrasound and treatment with prostaglandins or oxytocin.* Therio., 26, 813-821.
10. **Reichle, J.K. and Haibel, G.K.** (1991). *Ultrasonic biparietal diameter of second trimester pygmy goat fetuses.* Therio. 35 (4) 689-694.
11. **Russel, A.J.F.** (1989). *The application of real time ultrasonic scanning in commercial sheep, goats and cattle production enterprises.* in: diagnostic ultrasound and animal reproduction (ed. M.A.M. Taverna and A.H. Willemse) Kluwer academic Publishers, pp. 73.
12. **Tainturier, D., Lijour, L., Chear, M., Sardjana, K.W., Lenet, J.L.** (1983). *Diagnostic de la gestation chez la chevre par echotomographie.* Rev. Med. Vet., 134 (11), 597-599.
13. **Taverna, M.A.M.** (1991). *Applications of two dimensional ultrasound in animal reproduction.* Wien Tierarz MSchr., 78, 341-345.
14. **Wani, G.M.** (1988). *Detection of fetal age in sheep and goats by ultrasonic technique.* Ind. j. Anim. Sci. 59 (12), 1525-1526.