

ROTAVİRUS ENFEKSİYONUNUN EPİDEMİYOLOJİSİNDE ERİŞKİN SIĞIRLARIN ROLÜ¹

Feray Alkan² Seval Bilge-Dağalp³ Çiğdem Oğuzoğlu⁴ Kadir Yeşilbağ⁴

The role of adult cattle in epidemiology of rotavirus infections

Summary : *As an important agent in neonatal gastroenteritis, the rotaviruses may cause subclinical infection in adult cattle. Such animals which are shedding the virulent virus via their feces play an important role in circulation the virus among the susceptible infants.*

In this research, samples obtained from adult cattle of 23 dairy herds were tested virologically and/or serologically for screening the rotaviruses. Although a total of fecal samples were detected as to be rotavirus-free at the end of ELISA, 554 (43.8%) of 1265 serum samples were found to be positive for BRV specific antibodies. In all farms controlled, rotavirus specific antibodies were demonstrated and seroprevalance values varied between 14% and 78.1% in herd basis.

According to results, it is postulated that adult cattle population is an epidemiologically serious source for neonatal diarrhoeas caused by rotaviruses that very important for dairy herds.

Key words: *Adult cattle, BRV, ELISA, antibody, microneutralisation*

Özet : *Yeni doğanlarda önemli bir gastroenteritis etkeni olan rotavirüsler (BRV), erişkin sığırlarda çoğunlukla sublinik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Dışkıları ile virus saçan erişkin hayvanlar sürülerde enfeksiyonun devamlılığını sağlamakta ve yeni doğanlar için bir risk oluşturmaktadırlar.*

Bu araştırmada, kamuya ait 22 süt sığırcılığı işletmesindeki erişkin sığırlardan örneklenen toplam 585 adet gaita örneği rotavirus antijeni yönünden ELISA ile, 8 işletmedeki erişkin sığırlardan sağlanan toplam 1265 adet kan serumu rotavirus spesifik antikorlar yönünden mikronötralizasyon testi ile kontrol edildi.

Gaita numunelerinin ELISA ile yapılan kontrollerinde rotavirus antijeni tespit edilemedi. Mikronötralizasyon tekniği ile yapılan serolojik kontrollerde ise 554 (%43,8) adet kan serumunda rotavirus spesifik antikorların varlığı saptandı. Pozitif serumların SN₅₀ değerlerinin 1/5 ila 1/160 sulandırılmalar arasında olduğu belirlendi. Kontrol edilen 8 işletmede de erişkin sığırlarda rotavirus spesifik antikorlar saptanırken, işletmelerdeki seroprevalansın %14 ile %78.1 arasında değişkenlik gösterdiği ortaya konuldu.

1. Bu araştırma AÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (ProjeNo:97-10-(X)-19)

2. Prof.Dr. AÜ. Veteriner Fakültesi ,Viroloji ABD, Ankara

3. Dr. AÜ. Veteriner Fakültesi ,Viroloji ABD, Ankara

4. Araş.Gör. AÜ. Veteriner Fakültesi ,Viroloji ABD, Ankara

Eldede edilen veriler, erişkin sığırlarda rotavirus enfeksiyon oranlarının oldukça yüksek olduğunu ve yeni doğanların rotavirus ishali olgularında erişkin sığırların da bir epidemiyolojik kaynak olarak değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler : Erişkin sığır, BRV, ELISA, antikor, Mikronötralizasyon

Giriş

Neonatal buzağı ishalleri, son yıllarda endüstri kavramıyla ifade edilmeye başlanan hayvancılık sektöründe, özellikle de entansif süt sığırcılığı işletmelerinde, neonatal ölümler, enfekte hayvanlarda gelişme geriliği, medikal girdiler vb. nedenler ile oldukça önemli bir konum kazanmıştır.

Rota-, corona-, astro-, caliciviruslar, breda virus yenidoğan buzağılarda ishal ile karakterize enfeksiyon nedenlerindedir (1,2,7,19). Bu enfeksiyonlar içinde coronaviruslar ve rotaviruslar gerek yaygınlıkları ve gerekse neden oldukları yüksek mortalite sebebi ile güncelliklerini korumaktadırlar. Tüm dünyada yaygın olan rotavirusların enfeksiyon spektrumunda insan ve birçok hayvan türünün yenidoğanları bulunmaktadır (3,4,9,13,14,16,18).

Rotavirusların neden olduğu klinik enfeksiyon, ishal ve buna bağlı olarak şekillenen fizyolojik değişikliklerle karakterizedir. Enfekte hayvanlarda dehidrasyon ve zayıflama gözlenir. Bakteriyel ve/veya protozoer ikincil enfeksiyonlarla birlikte seyreden olgularda önlem alınmadığı takdirde ölüm şekillenebilir.

Rotavirusların çoğalma bölgesi barsaklardır ve dolayısıyla etken enfekte bireylerin gaitaları ile saçılır. Rotavirusların çevre koşullarına oldukça dayanıklı olma özelliği, epidemiyolojik kaynak olarak çevresel kontaminasyonu ortaya koymaktadır.

Rotavirus enfeksiyonunun epizootolojisinde klinik enfekte yenidoğanların yanı sıra, subklinik enfekte erişkin sığırlar ve sağlıklı görünümlü buzağuların da neonatal dönemdeki buzağulara enfeksiyonun bulaşması ve sürüde enfeksiyonun devamlılığının sağlanmasında rol oynayabildiği bildirilmiştir (4,12,16, 24).

Erişkin sığırlarda rotavirus enfeksiyonları çoğunlukla subklinik bir seyir izler ve bu hayvanlar sürü içerisinde virus saçıcı pozisyonundadırlar. Rotavirus enfeksiyonlarının epidemiyolojisinde virus saçıcı erişkin hayvanların önemi domuzlarda Benfield ve ark.(4) tarafından ortaya konulmuştur. Goto ve ark. (12)' da BRV enfeksiyonunun devamlılığında sağlıklı görünümlü erişkin saçıcıların önemli rol oynadığını, enfekte annelerin genellikle buzağılama sırasında yeni doğan yavrularını enfekte ettikleri ve enfekte buzağuların da yüksek miktarda virus saçarak diğer yeni doğanlar için enfeksiyon kaynağı olduklarını bildirmişlerdir. Murakami ve ark. (17) 'da buzağılama sezonunda rotavirus salgını görülen bir işletmede, BRV antijeninin ilk önce erişkin bir sığırdaki doğum yaptığı gün saptandığını, ertesi gün bu sığırın yavrusunda ve daha sonra da işletmedeki yeni doğanlarda yoğun rotavirus enfeksiyonunun ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Erişkin sığırlarda subklinik BRV enfeksiyonlarının virolojik olarak tesbiti çoğunlukla tesadüf olarak bildirilmiştir. Ancak birçok araştırmada (5,6,8) serolojik veriler ile erişkinlerde BRV enfeksiyonunun varlığı ve erişkinlerin rotavirus enfeksiyonunun epidemiyolojisindeki rolü belirtilmiştir.

Türkiye'de erişkin sığırlarda BRV / antijeninin araştırıldığı bir çalışma daha önce bildirilmemiştir. Ancak erişkinlerde subklinik enfeksiyon oranlarının belirlenmesine yönelik araştırmalarda (5,6) % 28.3 - % 31 oranında seropozitiflik belirtilmiştir.

Bu araştırmada özellikle yeni doğan ishali buzağılarda rotavirus enfeksiyonlarının sık olarak saptandığı kapalı yetiştirmelerde bulunan erişkin sığırlarda BRV/antijeni varlığının araştırılması ile yine bu işletmelerde erişkin sığırlarda BRV enfeksiyonuna ilgili serolojik verilere göre -muhtemelen subklinik- rotavirus

enfeksiyonlarının belirlenmesine dayanılarak, BRV enfeksiyonunun epidemiyolojisinde erişkin sığırların rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Hücre kültürü : Virusun üretilmesi, titresinin tesbiti ve mikronötralizasyon testi aşamalarında Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) devamlı hücre kültüründen yararlanıldı. Hücre kültürünün üretilmesinde %10 dana serumu içeren Eagle MEM vasatı kullanıldı.

Virus : Mikronötralizasyon testinde rotavirusun Northern Irland 447/75 suşu ($\log_{10} DKID_{50} = 10^{5.75} / 0,1 \text{ ml}$) kullanıldı.

Serum örnekleri : Bu araştırmada, Türkiye'nin değişik bölgelerinde yerleşik 8 kamu işletmesinde bulunan 2-10 yaşlı, sağlıklı gö-

rünlü 1265 erişkin sığira ait kan serumu kullanıldı. (Tablo 1).

Kaolinli tüplere alınan kan örneklerinden ayrılan serumlara 56°C de 30 dakika süreyle inaktivasyon uygulandı. Sterilite kontrolü yapılan serum örnekleri test aşamasına kadar -20°C derin dondurucuda saklandı.

Gaita örnekleri: 22 kamu işletmesinde bulunan çoğunluğu 7-9 aylık gebe 585 erişkin sığira ait gaita örneği kullanıldı (Tablo 1).

Steril materyal toplama kaplarına alınan gaita örnekleri, ELISA kitinde bulunan materyal sulandırma sıvısı ile 1/10 oranında sulandırıldıktan sonra +4°C'de 1 gece bekletildi. 3000 devirde 10 dakika santrüfuj işlemini takiben elde edilen üst sıvılar ELISA 'da kullanıldı.

Tablo 1 : Numune sayıları ve işletmelere göre dağılımı

Table 1 : Number and distribution of the samples according to the farms

İşletme Kodu	İşletmenin Bulunduğu İl	MATERYAL SAYISI	
		Kan Serumu	Gaita
I	Muğla	300	36
II	Ankara	162	28
III	Samsun	173	36
IV	Ankara	165	25
V	Bursa	100	26
VI	Konya	165	25
VII	Aksaray		30
VIII	Sivas		30
IX	Amasya		17
X	Çanakkale		29
XI	Sivas		29
XII	Konya		18
XIII	Yalova	100	30
XIV	Tokat		30
XV	Kırşehir		24
XVI	Balıkesir		30
XVII	Muş		30
XVIII	Iğdır		30
XIX	Eskişehir		25
XX	Samsun		20
XI	Tekirdag		7
XXII	Sakarya		30
XXIII	Kırklareli	100	
TOPLAM		1265	558

Mikronötralizasyon testi: Örneklenen kan serumlarında rotavirus spesifik nötralizan antikorların araştırılması amacıyla Frey ve Liess'in (10) bildirdiği yöntemle göre mikronötralizasyon testi uygulandı.

Bu amaçla, serum numunelerin 1/5' lik sulandırmadan başlanılarak hazırlanan 2 katlı sulandırmalarından (1/5,1/10,...,1/160) mikronötralizasyon tabletinde yan yana bulunan iki göze 0.05 ml konuldu. Daha sonra serum sulandırmaları üzerine eşit hacimde 100DKID₅₀ / 0,05 ml oranında sulandırılan test virusundan (BRV Northern İrland 447/75) ilave edildi ve tabletler 37°C deki CO₂ li etüvde 1 saat süreyle inkubasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm göz- lere MDBK hücre süspansiyonu (300.000 hücre/ml) konuldu ve test 37°C de 7 gün inkübasyondan sonra doku kültürü mikroskobunda değerlendirildi.

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) : Bu amaçla ticari ELISA kiti (Mercia Diagnostics, Shalford, Surrey, U.K.) kullanıldı. Testin uygulanması üretici firmanın önerdiği şekilde yapıldı : tavşan- -BRV serumu ile kaplanmış ELISA tabletinin gözlerinc, 1/10 oranında sulandırılan gaita örnekleri (w/v) 0,1 ml hacimde konuldu. Pozitif ve negatif kontroller ilave edildikten sonra tabletler 60 dakika 37°C

de inkübe edildi. Süre sonunda 3 kez yıkanan tabletin tüm gözlerine biotin ile işaretli tavşan - BRV IgG `si ve streptoavidine konjuge edilmiş

HRPO konjugat karışımından 0,1 ml hacminde konularak, aynı şartlarda inkübe edildi. Yenelenen yıkama işleminden sonra tetrametil benzidin (TMB) kromojeni, substrat tamponu içinde hazırlanarak pleyt gözlerine dağıtıldı, 30 dakika sonra reaksiyon 2 M H₂SO₄ ilavesi ile durduruldu. Test spektrofotometrik olarak 450 nm filtre absorbanları okunmak suretiyle değerlendirildi

Bulgular

Mikronötralizasyon Testi: Serolojik çalışma için materyal sağlanan toplam 1265 erişkin sığıra ait kan serumunun 554 adeti (% 43.8) BRV spesifik nötralizan antikorlar yönünden pozitif bulundu.

Kontrol edilen 8 işletmenin tümünde erişkin sığırlarda BRV enfeksiyonunun varlığı serolojik olarak saptandı. İşletmelere göre seroprevalans değerleri %14-78.1 arasında tespit edildi (Tablo 2).

Örneklenen kan serumlarında rotavirusa spesifik antikor titre değerlerinin (SN₅₀) 1/5 - 1/160 arasında değiştiği saptandı (Tablo 3).

Tablo 2 : Serolojik test sonuçları ve seroprevalans değerleri
Table 2 : Serologic results and seroprevalance values

İşletme Kodu	İşletmenin Bulunduğu İl	Kan Serumu Sayısı	BRV Antikoru	
			+	%
I	Muğla	300	123	41.0
II	Ankara	162	83	51.2
III	Samsun	173	65	37.5
IV	Ankara	165	129	78.1
V	Bursa	100	14	14.0
VI	Konya	165	52	31.5
XIII	Yalova	100	47	47.0
XXIII	Kırklareli	100	41	41.0
	TOPLAM	1265	554	43.8

Tablo 3 : İşletmelere göre antikor titre dağılımları
Table 3 : Antibody titer distribution according to the herds.

İŞLETME Kodu	BRV ANTİKORU (SN ₅₀)						Toplam
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	
I	35	34	37	14	2	1	123
II	12	30	24	8	8	1	83
III	13	15	18	9	9	1	65
IV	16	38	37	23	11	4	129
V	3	-	3	4	3	1	14
VI	6	18	14	12	2	-	52
XIII	11	15	8	8	5	-	47
XXIII	29	8	3	1	-	-	41
Toplam	125	158	144	79	40	8	554

Kontrol edilen sığırlarda belirlenen BRV spesifik antikor titrelerinin (SN₅₀) bireysel olarak değerlendirilmesi yanısıra işletmelere ait ve araştırmada kullanılan tüm materyallere ilgili olarak hesaplanan ortalama veriler dikkate alınarak yapılacak değerlendirmenin daha sağlıklı olacağı düşünülerek, geometrik ortalama dağılımları hesaplandı. Tüm seropozitif olgular dikkate alındığında, geometrik ortalama değeri 1:9.56 olarak belirlenirken, örneklenen işletmeler bazında geometrik ortalama değerleri 1:6.66 - 1:28.28 olarak saptandı (Tablo 4).

Tablo 4. İşletmelere göre BRV antikorlarının geometrik ortalama dağılımları
Table 4: The geometric mean antibody titer distribution according to the herds.

İşletmesi Kodu	BRV Ab geometrik ortalaması
I	12.52
II	15.96
III	17.78
IV	18.65
V	28.28
VI	16.59
XIII	15.11
XXIII	6.66
Toplam	9.56

ELISA testi sonuçları : Erişkin sığırlara ait 585 adet gaita örneğinin tümü BRV antijeni yönünden negatif bulundu.

Tartışma ve Sonuç

Yenidoğan buzağularda ishal ile karakterize enfeksiyonlar içinde en sıklıkla rastlanılan rotavirus enfeksiyonudur. Yenidoğan buzağularda rotavirusların neden olduğu salgınlar gaitada rotavirusun uzun süre varlığını sürdürmesi, sürüye yeni hayvan girmesi, vb, nedenlere bağlı olarak bildirilmiştir (11,15,17,24). Rotavirusun subklinik enfekte erişkin hayvanlarda varlığı da, bu hayvanların hastalığın epizootolojinde önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir (12,15) Birçok çalışmada (15,16,17) sağlıklı erişkin sığırlar ve buzağularda rotavirus salınımı bildirilmiştir. Kodituwaku ve Harbour (15), erişkin taşıyıcı sığırlarda rotavirus varlığını, gebeliği boyunca aralıklı olarak virus saçan sığırlarda göstermişlerdir. Araştırmacılar (15) bu hayvanların yenidoğanların klinik enfeksiyonu sonrasında uygulanan dezenfeksiyona rağmen barınakların kontaminasyonunda rol oynayabileceğini ve bir buzağılama sezonundan sonraki sezona kadar virusun devamlılığı için virusun canlılığına alternatif mekanizma sağladığını da belirtmişlerdir.

Sığır rotaviruslarının saçılımı gebeliğin geç dönemlerinde -özellikle doğum yaptıkları gün- muhtemelen hormonal değişiklikler ve hormonların immun sistemdeki etkilerine bağlı olarak artmaktadır (17). Bu nedenle sürü içindeki subklinik enfekte erişkin hayvanlar yenidoğan buzağularının etkeni edinmelerinde önemli rol oynamaktadırlar. Bu buzağular da bir virus çoğaltıcı gibi rol oynamakta ve işletmedeki tüm yeni doğan buzağular için enfeksiyon riskini artırmaktadırlar (17).

Bu araştırmada çoğunluğu ileri gebe (7-9 ay) erişkin 585 sığırlardan alınan gaita örneklerinin hiçbirisinde BRV antijeni tespit edilememiştir. Bilindiği üzere erişkin sığırlarda BRV antijeninin tesbiti çoğunlukla tesadüfî olarak yada aynı sığırın belirli periyotlarla virolojik kontrolü sonucu bildirilmiştir. Garcia-Sanchez ve ark (11) ise doğum döneminde örnekledikleri 15 erişkin sığır gaitasında, kullandıkları 3 test yönteminin hiç birisiyle rotavirus tespitini gerçekleştirememişler, ancak bu hayvanların buzağularının tamamında BRV antijeni tespit etmişlerdir.

Bir populasyonda enfeksiyonun varlığı etken tespiti yada etkene spesifik antikorların varlığı ile belirlenebilir. Erişkin sığırların rotavirus enfeksiyonlarının genellikle subklinik bir seyir izlemesi, erişkin sığırlarda enfeksiyonun teşhisinde ve epidemiyolojisinin incelenmesinde serolojik teşhisi öne çıkmaktadır. Serolojik verilere dayanılarak rotavirus enfeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak bildirilmiştir. Türkiye'de ise erişkin sığırlarda BRV antijeninin araştırıldığı bir çalışma daha önce bildirilmemiş olmasına karşın, serolojik verilere dayanılarak subklinik rotavirus enfeksiyonu oranları % 28.3-%31 olarak saptanmıştır (5,6).

Bu araştırmada elde edilen BRV seropozitiflik oranı (% 43.8), erişkin sığırlarda subklinik BRV enfeksiyonunun ülkemizde yüksek oranlarda varlığını birkez daha ortaya koymaktadır. Bu oran daha önce Burgu ve Akça (5) ve Burgu ve ark. (6) tarafından bildirilen oranlara göre daha yüksek olarak bulunmuştur. İşletmeler için belirlenen seropozitiflik oranları ise %14-78.1 arasında değişim göstermektedir.

İşletmeler arasındaki seropozitiflik oranlarındaki belirgin farklılıkların oluşumunda balarının yapısı, hijyene gösterilen özen, yenidoğanlarda rotavirus enfeksiyonu oranı, vb. gibi bir populasyonda enfeksiyonun görülme sıklığını etkileyen birçok faktörün etkisi söz konusudur.

Bu çalışmada materyal sağlanan "IV nolu" işletmede saptanan seroprevalans değerinin (%78.1), diğer işletmelerle kıyaslandığında (%14-51.2) belirgin oranda yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Bu işletmede son iki yıllık dönemde önemli ölçüde rotavirüs kaynaklanan neonatal ishal olguları ve ölümlerin (%6.4) görüldüğü işletme yöneticilerinden öğrenilmiştir. Bu durum, erişkin sığırlardaki rotavirus enfeksiyonlarının yenidoğan buzağulardaki enfeksiyonlardan ayrı olarak değerlendirilmemesi gerektiğini açıklar niteliktedir.

Erişkin sığırlar yenidoğan buzağular için hem enfeksiyon kaynağı hem de kolostrom ve süt ile salgıladıkları antikorlar nedeniyle yenidoğanı bir süre enfeksiyondan koruyucu rolündedirler (8,20,21,22,23). Tablo 3 incelendiğinde, bu araştırmada 1:5, 1:10 ve 1:20 antikor titre değerlerine (SN_{50}) sahip sığırların tüm seropozitiflere oranının sırasıyla %22.5 (125/554), %28.5 (158/554), %25.9 (144/554) olduğu ve 1/5-1/20 antikor titresine sahip sığırların, tüm seropozitif sığırların % 77'sini (427/554) oluşturduğu görülmektedir. BRV antikor saptanan tüm sığırlar dikkate alındığında antikorların geometrik ortalaması ise 1: 9.56 olarak saptanırken, işletmelere göre geometrik ortalama dağılımlarının 1:6.66 - 1:18.28 arasında olduğu belirlenmiştir. Örneklenen işletmelerde bireysel ve işletme bazında elde edilen bu değerler, düşük antikor titresine sahip annelerin, yavrularına aktaracakları pasif bağışıklığın yavruları enfeksiyona karşı korumada fazla bir etkinliğe sahip olmayacağını ortaya koymaktadır. Nitekim birçok yenidoğanda kolostromdan absorbe edilmiş maternal antikorların varlığına rağmen, klinik enfeksiyonun oluşumu bildirilmiştir (6). Her ne kadar bu durum, kolostrom ile sağlanan pasif bağışıklığın koruyuculuğunu tartışmaya açar gibi görünse de, yüksek titrede rotavirus an-

tikoru içeren kolostrum alımının koruyucu olduğu da bilinmektedir. Ayrıca erişkin enfekte sığırların doğum yaptıkları gün virüsü gaitaları ile saçmaları neticesinde immün sistemin uyarıldığı ve meme bezlerinden bir süre antikor salgılanmasına yol açtığı düşünüldüğünde, kolostrumla aktarılan antikor titresinin çok daha yüksek titrede olacağı da açıktır.

Sonuç olarak elde edilen serolojik veriler, erişkin sığırlarda -muhtemelen subklinik- rotavirus enfeksiyonunun oldukça yüksek oranlarda varlığını ve hernekadar erişkin sığırlarda BRV/antijeni saptanamamış ise de yeni doğan buzağuların BRV kökenli ishal olgularında, erişkin sığırların da bir epidemiyolojik kaynak olarak gözardı edilmemesi gerektiğini ortaya koymuştur. Bu verilere dayanılarak, gebeliğin erişkin enfekte sığırların rotavirus saçmasındaki etkisinin ve kolostrum ile salgılanan antikorların yeni doğanların enfeksiyona karşı korunmasındaki rolünün araştırıldığı yeni çalışmalar yapılması önerilmektedir. Ayrıca hernekadar bu çalışmada sığırlarda saptanan antikor titreleri yüksek olarak bulunmamış ise de, kolostrumla aktarılan antikor miktarının çok daha yüksek titrede olacağını hatırdalundurulması gerektiği ve doğumu izleyen en kısa sürede buzağuların kolostrum almasının önemli olduğunun bir kez daha belirtilmesinde yarar görülmüştür.

Kaynaklar

1. Abraham,G., Roeder,P.L., Zewdu,R. (1992) Agents associated with neonatal diarrhoea in Ethiopian dairy calves. Trop Anim Health Prod, 24, 74-80.
2. Alkan,F. (1998). Buzağı Ishallerinde Rotavirus ve Coronavirusların rolü. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 45, (1), 29-37.
3. Alkan,F., Pulat,H., Yazıcı,Z., Burgu,İ. (1992) Ters (reverse) pasif hemaglutinasyon testi ile ishalleri buzağı gaitalarında rotavirusların tespiti. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 39, 238-246.
4. Benfield,D.A., Stotz,I., Moore,R., Mc Adaragh,J.P. (1982) Shedding of rotavirus in feces of sows before and after farrowing. J Clin Microbiol, 16, 186-190
5. Burgu,İ., Akça,Y. (1983) Sığırlarda rotavirus antikorlarının dağılımı üzerine çalışmalar. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 30, 35-44.
6. Burgu,İ., Akça,Y., Alkan,F., Özkul,A., Karaoğlu,T. (1995) Yenidoğan ishalleri buzağılarda Rotavirusların Elektron Mikroskopi (EM), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve Polyacrylamide gel Electrophoresis (PAGE) Teknikleri ile Çabuk Teşhisi ve antijenik karakterizasyonu. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 42, 491-498.
7. Chengping,L., Huochun,Y., Eichhorn,W. (1991) Coronavirus as an agent of neonatal calf diarrhea in a Chinese dairy cattle farm. J Vet Med Scr B 38, 473-476.
8. Ellens,D.J., De Lecuw,P.N., Straver,P.J. (1978) The detection of Rotavirus specific antibody in colostrum and milk by ELISA. Ann Rech Vet. 9, 337-342.
9. Ellis,G.R., Daniels,E. (1988) Comparison of direct electron microscopy and enzyme immunoassay for the detection of rotaviruses in calves, lambs, piglets and foals. Austr Vet J, 65: (5), 133-135
10. Frey,H.R., Liess,B. (1971) Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit eines stark zytopathogenen VD-MD Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotiter-methode. Zbl Vet B, 18, 61-71.
11. Garcia-Sanchez,J., Corral,C., Halaihel,N.G., Simn, M.C., Alonso,J.L., Muzquiz,J.L., Ortega,C., Girones, O. (1993) Survey of rotavirus infection in a dairy herd: comparison between polyacrylamide gel electrophoresis and two commercial test. Vet Microbiol, 34, 321-332.
12. Goto,Y., Kurogi,H.L., Inaba,Y., Matsuno,M. (1986) Sequential isolation of rotavirus from individual calves. Vet Microbiol, 11, 177-184
13. Hull,B.P., Spence,L., Bassett,D., Swanston,W.H., Tikasingh,E.S. (1982) The relative importance of rotavirus and other pathogens in the aetiology of gastroenteritis in Trinidadian children. Am J Trop Med Hyg, 31,142-148.
14. Kaminjolo,J.S., Adesiyun,A.A. (1994) Rotavirus infection in calves, piglets,lambs and goat kids in Trinidad. Br Vet J, 150, 293-299
15. Kodituwakku,S.N., Harbour,D.A. (1990) Persistent excretion of rotavirus by pregnant cows. Vet Rec. 126, 547-549.
16. Myers,L.L., Firehammer,B.D., Border,M.M., Shoop,D.S. (1984) Prevalence of enteric pathogens in the feces of healthy beef calves. Am J Vet Res, 45 (8), 1544-1548.
17. Murakami,T., Hirano,N., Chitose,K., Tsuchiya,K., Ono,K., Sato,F., Suzuki,Y., Murakami,Y. (1987) A survey on bovine Rotavirus type 1-Associated Neonatal calf diarrhea in a Beef Herd. Jpn J Vet Sci. 49(1), 23-30
18. Reynold,S.M., Chasey,D., Scott,A.C., Bridger,J.C. (1984) Evaluation of ELISA and EM for detection of coronavirus and rotavirus in bovine faeces. Vet Rec. 114, 397-401.

19. Reynolds,D.J.,Morgan,J.H., Chanter,N, Lones,P.W, Bridger,J.C, Debney,T.G., Bunch,K.J. (1986) *Microbiology of calf diarrhea in Southern Britain*. Vet Rec. **119**, 34-39.
20. Snodgrass,D.R., Wells,P.W. (1978) *Passive Immunity in Rotaviral Infections*. JAVMA. **173**, 565-568.
21. Snodgrass,D.R., Fahey,K.J., Wells,P.W., Campbell, I., Whitelaw,A (1980) *Passive immunity in calf rotavirus infections: maternal vaccination increases and prolongs immunoglobulin G1 antibody secretion in milk*. Infect Immun. **28**.344-349.
22. Snodgrass,D.R., Stewart,J., Taylor,J., Kruth,F.I., Smith,M.I (1982) *Diarrhoea in dairy calves reduced*

by feeding colostrum from cows vaccinated with rotavirus. Res Vet Sci, **32**, 70-73.

23. Wellemans,G., Opdenbosch,E. (1981) *Postpartum antibody levels for rota, corona and BVD virus in cows milk*. Vlaams Diergeneeskd Tijdschr. **50**, 46-52.
24. Woode ,G.N., Bridger,J.C.(1975) *Viral enteritis of calves*. Vet Rec. **96**, 85

Yazışma Adresi

Prof. Dr. Feray Alkan
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Viroloji Anabilim Dalı
06110 Dışkapı / ANKARA