

TÜRKİYE'DE KOYUNLARDA BOVINE VIRAL DIARRHEA (BVD)
ENFEKSİYONLARININ VARLIĞI VE ÖNEMİ¹

İbrahim Burgu²
Asuman Toker⁵

Feridun Öztürk³
H. Richart Frey⁶

Yılmaz Akça⁴
Bernd Liess⁷

Investigations on the occurrence and impact of bovine viral diarrhoea (BVD) virus infections
in sheep in Turkey

Summary: *From 478 EDTA-blood samples (buffy coats) collected during the period 1982-1984 in parts of Western and Middle Anatolia from ewes following abortion, 14 (3 %) bovine viral diarrhoea (BVD) viral isolates were obtained by using primary fetal calf kidney (FCK) cell cultures and immunofluorescence for isolation and identification.*

132 organs from 74 aborted fetal lambs were similarly investigated and furnished 8 BVD virus isolates (10 % of the fetuses). In addition all the leucocyte fractions derived from the EDTA blood samples as well as the organ suspensions of the fetuses were tested for cytopathogenic viruses by prolonged cultivation (7 passages) in FCK cell cultures. These attempts resulted in 55 viral isolates of which 5 were identical with 5 of the BVD viral isolates. The remaining 50 isolates await identification but were submitted to preliminary chloroform tests. Resistant to chloroform were 23 of these cytopathogenic isolates, 27 were not.

1 Bu proje A.Ü. Veteriner Fakültesi ile Hannover Veteriner Yüksek Okulu işbirliği (Proje no. GTZ-852170-01-100) ile yürütülmüştür.

This project was performed within the framework of a partnership programme between Ankara University Veterinary Faculty and Hannover Veterinary School supported by grants (Project nr. GTZ-852170-01-100).

2 Prof. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Ankara.

3 Prof. Dr., S.Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Konya.

4 Yrd. Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Ankara.

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

6 Dr. Hannover Veteriner Yüksek Okulu, Viroloji Enstitüsü, Hannover.

7 Prof. Dr. h.c., Hannover Veteriner Yüksek Okulu, Viroloji Enstitüsü, Hannover.

Of 541 serum samples derived from the same pool of ewes 232 showed neutralizing antibodies against BVD virus within the titre range 1/5 - 1/160 indicating that BVD virus is enzootic in Turkey and most probably is also present in other susceptible animals species.

Özet: 1982-1984 yıllarında Batı ve Orta Anadolu bölgelerinde abort yapan koyunlardan toplanan 478 adet EDTA'lı kan örnekleğinden primer fotal dana höbrek (FDB) hücre kültürlerinde, immunofluoresans tekniği ile 14 (% 3) adet bovine viral diarrhoea (BVD) virusu izole ve identifiye edilmiştir. Ayrıca 74 adet abort olmuş kuzu fötusundan alınan 132 organ materyalinden, aynı teknik yardımı ile 8 adet BVD virusu (fötusların % 10'u) identifiye edilmiştir. EDTA'lı kan örneklerinden elde edilen bütün lökosit fraksiyonları ve fötusların organ süspansiyonları FDB hücre kültürlerinde devamlı pasaj (7 pasaj) yoluyla sitopatolojik viruslar yönünden kontrol edilmişler ve sonuçta 55 virus izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bunlardan 5 adedinin immunofluoresans tekniği ile identifiye edilen 5 BVD izolatu ile aynı olduğu anlaşılmıştır. Diğer 50 izolata uygulanan kloroform duyarlılık testi sonucunda ise, 23 tanesinin kloroforma dayanıklı, 27 tanesinin kloroforma duyarlı olduğu saptanmıştır.

Abort yapan koyunlardan alınan 541 serumdan 232'sinin BVD virusuna karşı 1/5 - 1/160 arasında nötralizasyon titresi vermesi, Türkiye'de BVD virusu enfeksiyonlarının enzootik olduğunu ortaya koymaktadır. Aynı zamanda bu sonuç büyük bir olasılıkla diğer duyarlı hayvanlarda da BVD'in mevcut olabileceği fikrini vermektedir.

Giriş

Türkiye'de koyunlarda aborta neden olan viruslar yeterince araştırılmamıştır. Abort olmuş bir koyun fötusundan hücre kültüründe sitopatogen bir virus izole edilmiş ve Ankara virusu olarak isimlendirilmiştir (5). Daha sonra bu virus özellikleri nedeniyle Orbiviruslar grubu içinde idantifiye edilmiştir (4).

Bu araştırmada bovine viral diarrhoea (BVD) virusunun koyun popülasyonundaki varlığını ve abort olaylarındaki rolünü tespit etmek için; Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde sağlanan, abort yapmış koyunların EDTA'lı kan örnekleri ve abort olmuş fötusların organ süspansiyonlarından hücre kültürlerinde virus izolasyonu ve direkt immunofluoresans testi yardımıyla virus identifikasyonu, ayrıca abort yapmış koyunların kan serumlarının nötralizasyon testi ile BVD antikoru yönünden kontrolü amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Hücre Kültürü: Araştırmada virus izolasyonu, mikrotitrasyon, mikronötralizasyon, direkt immunofluoresans testlerinde primer ve sekonder fetal dana böbrek (FDB) hücre kültürü kullanıldı.

Virus: Nötralizan antikorların tespitinde BVD virusu NADL suşundan yararlanıldı.

İzolasyon Materyali: Araştırma için gerekli materyaller Orta Anadolu (Ankara, Eskişehir ve Konya) ve Marmara (Bursa) bölgelerinde abort yapan koyunlardan toplandı. Materyallerin toplandığı yıllar, çeşitleri ve miktarları tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. BVD virusu izolasyonu ve nötralizan antikorların tespiti amacıyla toplanan araştırma örneklerinin dağılımı.

Yıl	Coğrafik bölge	Toplanan örnekler	Test uygulanan materyal sayısı	
			Virus yönünden	Antikor yönünden
1982	Ankara Eskişehir Polatlı Tarım İşletmesi Ankara Eskişehir	200 EDTA'lı kan örneği	187	
		77 Organ örneği (44 adet abort olmuş fötustan) 202 Serum (Abort yapan koyunlardan)	77	202
1983	Konya Eskişehir	274 EDTA'lı kan örneği ve 275 Serum (Abort yapan koyunlardan)	239	275
		43 Organ örneği (22 adet abort olmuş fötustan)	43	
1984	Bursa	52 EDTA'lı kan örneği ve 64 Serum (Abort yapan koyunlardan)	52	64
		12 Organ örneği (Abort olmuş fötuslardan)	12	

Abort yapan koyunların kan örnekleri steril şartlarda EDTA polystren tüplerde* toplandı. Bu örnekler ve fötusların organ örnekleri (akciğer, karaciğer, dalak, böbrek, lenf yumruları ve kotiledonlar) soğuk şartlar altında laboratuvara getirildi. Laboratuvarında EDTA'lı kan örneklerinden Orban ve ark. (8)'nin bildirdiği yöntemle göre lökosit fraksiyonları elde edilerek kullanılıncaya kadar -80°C de sak-

* Greiner und Söhne, Nürtingen, W. Germany.

landı. Fötal organ örneklerinden hazırlanan süspansiyonlar da aynı şekilde kullanılmaya kadar -80°C de donduruldu.

Serum Örnekleri: Orta Anadolu (Ankara, Eskişehir ve Konya) ve Marmara (Bursa) bölgelerinde abort yapan koyunlardan serolojik kontrol için kan örneklerinin alındığı yıllar ve miktarları tablo 1'de gösterilmiştir.

Abort yapan koyunlardan serum için kan örnekleri steril şartlarda kaolinli polystyren tüpler içine alındı ve serumu ayrılarak kullanılmaya kadar -20°C de saklandı (8).

Virusun Enfeksiyözite Gücünün Tespiti: Araştırmada kullanılan BVD virusu NADL suşunun enfeksiyözite gücü mikrotitrasyon yöntemi ile tespit edildi (4).

Nötralizasyon Testi: BVD virusuna karşı kan serumlarındaki nötralizan antikorların serum nötralizasyon₅₀ (SN₅₀) değerlerinin tespiti Frey ve Liess (4)'in bildirdiği yöntemle göre gerçekleştirildi.

Virus İzolasyonu ve İdentifikasyonu: FDB hücre kültürlerinde BVD virusunun izolasyonu ve identifikasyonu direkt immunofluoresans testi ile Orban ve ark. (8) tarafından bildirilen metoda göre yapıldı.

Bulgular

Abort yapan koyunlara ait lökosit örnekleri ile fütuslara ait organ örneklerinden BVD virusu izolasyonları ve izole edilen bu BVD virüsleri arasında sitopatojen olanlar tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Abort yapan koyunların lökositleri ile abort olmuş fütusların organ örneklerinden BVD virus izolasyonu sonuçları.

Yıl	BVD virusunun hücre kültüründe izolasyonu			
	Lökositlerden		Fötal organlardan	
	Koyun sayısı	Pozitif ¹	Fötüs sayısı	Pozitif ¹
1982	187	6	44	7 (3) ²
1983	239	4	22	1
1984	52	4	8	0
Toplam	478	14 (2) ² (% 3)	74	8 (% 10)

1 FDB hücre kültürlerinde immunofluoresans.

2 FDB hücre kültürlerinde 7 pasajdan sonra sitopatojen oldukları tespit edilen virüslerin toplamı (parantez içindekiler).

* Greiner und Söhne, Nürtingen, W. Germany.

Virus izolasyon denemeleri sonucunda toplam 55 sitopatojen ajan saptanmış olup, bunlardan 5 adedi BVD virusu olarak idantifiye edilmiştir. Geri kalan 50 izolatın idantifikasyonu devam etmektedir. İzole edilen 55 izolatın 50 adedi abort yapan koyunların lökosit fraksiyonlarından, 5 adedi ise ayrı ayrı fötüslerin organ örneklerinden köken almaktadır. BVD virusu olduğu tespit edilen sitopatojen viruslar dışında kalan, 50 adet sitopatojen virus kloroformla muamele edilmiş, 27 tanesi tamamen inaktive olmuş, geri kalanlar ise FDB hücre kültüründe enfeksiyözite kaybına uğramamışlardır.

BVD virusu NADL suşu kullanılarak abort yapan koyun serumlarında mikronötralizasyon testi ile elde edilen sonuçlar tablo 3'de özetlenmiştir. SN_{50} değerleri $< 1/5$ olan pozitif serumların yüksek bir oranda (% 43) olduğu görülmektedir (Grafik 1). Teste tabi tutulan serumların % 4'ü hücre kültürü için toksik olması nedeniyle değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Tablo 3. Abort yapan koyunlara ait kan serumlarında BVD virusu NADL suşuna karşı uygulanan mikronötralizasyon sonuçları.

Yıl	Serum sayısı	Nötralizasyon titreleri: (ND_{50})		
		$\leq 1/5$	$< 1/5$	Toksik ¹
1982	202	128	58	16
1983	275	92	177	6
1984	64	12	52	0
Toplam	541	232 (% 43)	287 (% 53)	22 (% 4)

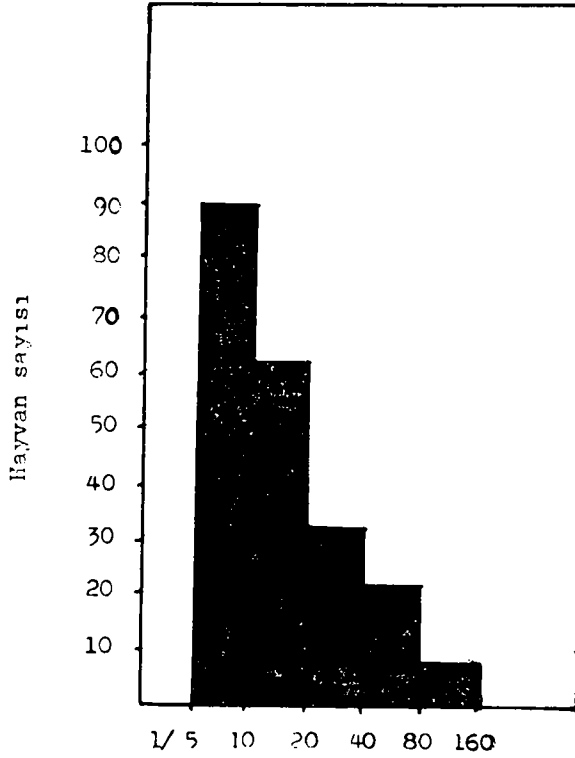
1 FDB hücre kültürleri için toksik.

Tartışma ve Sonuç

Bu araştırma sonuçları Türkiye'de koyunlarda BVD virusunun ilk izolasyonunu ortaya koyarken, aynı zamanda bu bölgelerdeki sığır ve keçi gibi diğer hayvanlarda da BVD virusunun varlığının bir belirtisi olarak kabul edilmektedir.

Türkiye'de koyunlarda sebebi bilinmeyen abort olayları arasında BVD virusunda rol oynayabileceğini düşündüren veriler saptanmıştır. Doğaldır ki, diğer patojen etkenlerin de koyunlardaki abort olaylarında önemli bir rol oynayabileceği unutulmamalıdır.

Koyunlar BVD enfeksiyonları yönünden genellikle intrauterin hayatta yerleşen persiste enfeksiyonlarla karşılaşmaktadırlar (7, 9). Bazı koyun ırklarında intrauterin enfeksiyonlara bağlı olarak Border



Grafik 1. BVD virusu NADL suşuna karşı pozitif serumların nötralizan antikor titrelerinin dağılımı.

Disease (BD) veya hairy shaker disease adı verilen tablo ortaya çıkmaktadır (1, 6).

Bu çalışmada BVD virusu NADL suşu kullanılarak elde edilen serolojik veriler hiç bir klinik belirti göstermeyen koyunlardaki pozitiflik oranının, Almanya'daki enfeksiyon durumu ile kıyaslanabilir (2) derecede yaygın olduğunu göstermektedir.

Bilindiği üzere koyun yetiştiriciliği Türkiye'de çok büyük önem taşımaktadır. Koyunların et, süt, deri ve yapağı gibi ürünleri bu önemi daha da artırmaktadır. Koyun yetiştiriciliğinde, çeşitli nedenlerle meydana gelen abort olayları bu büyük ekonomik gücü negatif yönde etkilemektedir. Bu araştırmada elde edilen veriler Türkiye'de BVD (veya BD) virusuna bağlı abort olaylarının da varlığını ortaya koymuş ve bu virusların enzootik olduğunu göstermiştir.

Kaynaklar

1. Acland, H.M., Gard, G.P. and Plant, J.W. (1972). *Infection of sheep with a mucosal disease virus*. Aust. Vet. J., 48: 70.
2. Bögel, K. (1964). *Über die Verbreitung eines Virus der Mucosal Disease-Gruppe in Schafherden Süddeutschlands*. Zentralbl. Vet. Med., B 11: 687-692.
3. Burgu, İ. (1978). *Koyunlarda abort yapan orbivirüsler dahil bir serotipin özellikleri ile Türkiye'deki durumu üzerinde araştırmalar*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 26 (3-4): 135-150.
4. Frey, H.R. und Liess, B. (1971). *Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit eines stark zytopathogenen VD-MD-Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotiter-Methode*. Zentralbl. Vet. Med., B 18: 61-71.
5. Gürtürk, S. ve Finci, E. (1973). *Abort olmuş bir kuzudan izole edilmiş bir virus (Ankara Virüsü) üzerinde araştırmalar*. IV. Bilim Kongresi, 5-8 Kasım, Ankara.
6. Hughes, L.E., Kershaw, G.F. and Shaw, I.G. (1959). "B" or Border Disease. Vet. Rec., 71: 313-317.
7. Liess, B., Blindow, H., Orban, S., Sasse-Patzer, B., Frey, H.R. und Timm, D. (1982). *Aborte, Totgeburten, Kümmern, Lammersterben in zwei Schafherden Nordwestdeutschlands- "Border Disease" in der Bundesrepublik?* Dtsch. tierärztl. Wsch., 89: 1-56.
8. Orban, S., Liess, B., Hafez, S.M., Frey, H.R., Blindow, H. and Sasse-Patzer, B. (1983). *Studies on transplacental transmissibility of a bovine virus diarrhoea (BVD) vaccine virus. I. Inoculation of pregnant cows 15 to 90 days before parturition (190 th to 265th day of gestation)*. Zentralbl. Vet. Med., B 30: 619-634.
9. Terpstra, C. (1981). *Border Disease: Virus persistence, antibody response and transmission studies*. Res. Vet. Sci., 30: 185-191.