

## FERTİLİTE PROBLEMLİ İNEKLERDE ENFEKSİYÖZ BOVİNE RHİNOTRACHEİTİS-ENFEKSİYÖZ PUSTULAR VULVOVAGİNİTİS (IBR-IPV) VİRUS İZOLASYONU VE SEROEPİDEMİYOLOJİSİ<sup>1</sup>

Mehmet Çabalar<sup>2</sup>

Yılmaz Akça<sup>3</sup>

The isolation and seroepidemiological studies of IBR/IPV virus on cows with fertility problems

**Summary:** In this research, 624 serum samples obtained from both cows with fertility problems which have been brought to Gynecology Clinic of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Ankara and the animals having same problems of which produced in 20 dairy herds located in various regions of Turkey were tested for IBR/IPV antibodies using microneutralization assay. On the other hand, 381 vaginal swab, 411 heparinized blood and 7 plasental samples were passaged in susceptible cell lines in order to virus isolation.

425 (% 68.10) of tested 624 serum samples by microneutralization assay were found to be positive for IBR/IPV virus neutralizing antibodies. However, the effective virus was not able to isolated from the specimens collected for virus isolation. The presence of IBR/IPV infection was detected in all of dairy herds and it was observed that incidence of the infection selected herds was varied from 6.66% to 100%. Neutralizing dose 50 (ND50) values of the antibody carriers were found between 1:1.41-1:316.

Although virus isolation could not be achieved, this research shows that IBR/IPV virus may be an etiological agent in fertility problems of cows, since high incidence against corresponding agent has been detected at herds.

**Özet:** Bu araştırmada Türkiye'nin farklı bölgelerindeki 20 süt sığırcılığı işletmesi ve A.Ü. Veteriner Fakültesi Doğum Kliniğine getirilen, fertilitate problemlili ineklerden alınan 624 adet kan serumu mikronötralizasyon testi ile IBR/IPV antikorları yönünden kontrol edildi. Ayrıca bu ineklere ait 381 adet vajinal swap, 411 adet lökosit ve 7 adet plasenta örneklerinin virus izolasyonu amacıyla hücre kültürlerinde pasajları yapıldı.

Mikronötralizasyon testi ile kontrol edilen 624 adet kan serumunun 425 adedi (% 68.10) IBR/IPV virusu nötralizan antikorları yönünden pozitif bulundu. Ancak virus izolasyonu amacıyla toplanan örneklerden virus izole edileme-

1. Aynı başlıklı doktora tezinden özetlenmiş olan bu çalışma A.Ü. Araştırma Fonu tarafından 90.30.00.12 nolu proje olarak desteklenmiştir.
2. Dr., YYÜ. Veteriner Fakültesi Viroloji Bilim Dalı Van.
3. Doç. Dr., AÜ. Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Ankara.

*di. Kontrol edilen işletmelerin her birinde IBR/IPV enfeksiyonu tespit edildi ve işletmelerdeki seropozitiflik oranlarının % 6.66 ile % 100 arasında olduğu belirlendi. Ayrıca pozitif serumların SN50 değerlerinin 1:1.41-1:316 arasında dağılım gösterdiği saptandı.*

*Bu araştırmada, virus izolasyonu yapılamamasına rağmen, işletmelerdeki antikor düzeylerinin yüksekliği nedeniyle, fertilitite problemlili ineklerde IBR/IPV virusunun etiyolojik bir etken olabileceği tespit edildi.*

## Giriş

Hayvancılık işletmelerinin verimliliği fertilitite olgusunun sürekliliği esasına dayanır. Bu olgunun bozulması ovaryumlarda graaf follükülünün oluşmasından, gebeliğin şekillenmesi, gelişmesi, doğum ve sonrasına kadar geçen sürenin herhangi bir aşamasında ortaya çıkar. Bu aşamalarda fertilitite bozukluklarına neden olan IBR/IPV virus enfeksiyonu enfeksiyöz nedenler arasında önemli bir yer teşkil etmektedir (10, 12, 21, 24). Bovine Herpes Virus tip-1 (BHV-1) olarak klasifiye edilen IBR/IPV virusunun genital organlar üzerine etkisi ya direkt olarak dış organlar aracılığı ile çiftleşme sırasında ya da sistemik bir enfeksiyona bağlı olarak virusun genital organlara ulaşmasıyla meydana gelmektedir (3, 12, 27, 31).

Enfeksiyöz bovine rhinotracheitis (IBR) (9, 27, 39), Enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IPV), (1, 23, 27), Enfeksiyöz pustular balanoposthitis (IPB) (27) ve Coital exanthema (6, 15) gibi sinonimlerle adlandırılan sığırların bu bulaşıcı, latent ve akut seyirli viral enfeksiyonu dünyanın birçok yerinde ve Türkiye'de yaygın olarak bulunmakta, hayvancılık işletmelerinde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Enfeksiyonun solunum ve genital sisteme ait olmak üzere iki klinik seyir şekli vardır (6, 19). Solunum ve genital sistem hastalıkları, birbirinden ayrı olarak meydana gelebildiği gibi birlikte de görülebilirler (19, 22). Bunlarla beraber, konjunktivitis (1, 27, 39), enteritis (27, 39), ensefalitis (27, 32, 39), mastitis (16, 21), endometritis (12, 24, 31), abortus (27, 31, 36), neonatal ölüm (35) ve embriyonik ölüm (27, 29) gibi bulgular da gözlenmektedir. Ekonomik kayıpların gerçek temelini ağırlık kaybı, süt veriminde azalma (22), abortus (22, 27, 36, 37), neonatal (35) ve embriyonal ölüm (27, 29, 39), ile endometritis (12, 24, 31) ve repeat breeding (döl tutmama) (27, 31) gibi fertilitite bozuklukları meydana getirmektedir.

BHV-1 gerek genital, gerekse solunum sistemi enfeksiyonlarını takiben sakral ve trigeminal ganglionlara yerleşebilmektedir (2, 34). Bu latent virus zaman zaman stres faktörleri ve kortikosteroid uygulamalarına bağlı olarak reaktif ve olabilmektedir (15). Ackermann ve Wyler (2) iki buzağıyı, bir ineğin vajinasından izole edilen BHV-1 suşu ile intravajinal olarak enfekte ettikten sonra, sakral ganglionlarda latent olarak bulunan bu IPV suşunun genomlarını tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Miller ve ark. (30), yaptıkları deneysel çalışmada, 6-7 aylık gebe ineklerden 3 ineğe solunum sisteminden izole edilen Colorado suşunu, diğer 3 ineğe abort olmuş fötustan izole edilen FI suşunu, 5 ineğe de vaginadan izole edilen

K22 suşunu i.v. olarak inokule ettikten sonra 2-5 gün içinde hayvanlarda eteş yükselmesi ve viremi tablosu meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bu hayvanlarda yapılan incelemeler sonunda, FI ve Colorado suşu verilen ineklerde inokulasyondan 17 ile 85 gün sonra abortus şekillenmiş, ancak K22 suşu ile enfekte ineklerde abortus şekillenmediği saptanmıştır. Ayrıca K22 suşu ile enfekte ineklerin 4'ünün plasentasından virus tekrar izole edilmiştir.

Enfekte sperma ile uterusu ulaşabilen virus şiddetli bir nekrotik endometritis oluşturarak 1-2 hafta süren geçici infertiliteye neden olabilmektedir (12, 24, 27, 31). Miller ve ark. (28) ineklerin IBR virusu ile intrauterin enfeksiyonundan sonra endometrium ve myometriyumda ödem, hemoraji ve nekroz gibi karakteristik bulgular ile ovaryumdaki korpus luteumun kistik bir görünüme sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Elazhary ve ark. (12), abortus ve fertilitate problemlerinin görüldüğü bir işletmede yaptıkları çalışmada, doğal tohumlamada kullanılan bir boğaya ait spermadan İmmunofluoresan testi ile BHV-1 antijeninin varlığını saptamışlar ve virus izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Aynı boğa ile tohumlanan ineklerin uterus sekresyonundan BHV-1 izolasyonu da yapılmıştır.

Burgu ve Akça (8), Türkiye'de suni tohumlamada kullanılan damızlık boğalarda IBR/IPV enfeksiyonunun tespiti amacıyla toplanan, 47 boğanın kan serumunun 30 (% 63.82)'unda nötralizan antikor varlığını saptamışlardır. Aynı çalışmada, latent enfekte boğaların devamlı virus taşıyıcı ve saçıcısı olabilecekleri bildirilmiştir. Bu nedenle suni tohumlama merkezlerinde bulunan aktif durumdaki boğaların, en küçük hastalık belirtilerinde özellikle sperma, prepusyal çalkantı sıvısı, lökosit ve burun akıntısı örneklerinden virus izolasyon çalışmalarının yapılması ve serolojik kontrollerde pozitif bulunan hayvanların damızlıktan çıkartılması gerektiği önerilmiştir.

Kahrs ve Smith (22), IBR, IPV ve abortusların birlikte görüldüğü bir sürüde, iki nazal akıntıda, bir vajinal mukozadan, birde plasentadan virus izole etmişler ve bütün serumların antikor titrelerinin akut dönem ile konvalesent dönem arasında 4 kat ve daha fazla düzeyde arttığını saptamışlardır.

Modifiye canlı virus aşılı ile aşılanan hayvanlarda abortus ve infertilite meydana geldiği araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir (31, 40). Miller ve ark. (31) 8 ineği doğumdan 14 gün sonra BHV-1 modifiye canlı aşısı ile aşılamışlar ve 60. güne kadar hayvanların kan progesteron düzeylerini izlemişlerdir. Sonuçta, 8 inekten 4'ünde infertilite meydana gelmiş ve bu 4 inekten 2 tanesi inokulasyonun 10. gününde progesteron azalmasına bağlı olarak östrus belirtisi gösterirken, diğer 2'sinde ise inokulasyon sonrası 40-42. günlerde embriyonik ölüm bulguları saptanmıştır.

Bugüne kadar Türkiye'de sığırların IBR/IPV enfeksiyonu birçok araştırmacı tarafından seroepidemiolojik çalışmalar ile tespit edilmiştir (7, 8, 17, 18, 33). Enfeksiyonun varlığı ilk kez 1971 yılında Erhan ve ark. (13) tarafından gerçekleştirilen serolojik bir çalışmada ortaya konmuştur. İlk virus izolasyonu ise, Burgu ve Akça (9) tarafından, klinik olarak hasta bir dananın burun akıntısından

gerçekleştirilmiştir. Ancak ineklerdeki abortus, klinik metritis ve repeat breeding gibi infertilite olgularında IBR/IPV virusunun rolünün araştırıldığı bir çalışma bildirilmemiştir.

Bu araştırmada, bu tür klinik belirti gösteren ineklerde IBR/IPV virusunun izolasyonu ve mikronötralizasyon testi ile seroepidemiyojik yönden pozitiflik durumunun saptanması amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

**Virus:** Araştırmada IBR/IPV virusu olan BHV-1'in Colorado referans suşu kullanıldı.

**Araştırmada Kullanılan Şüpheli Kan Serumları:** Araştırmada kullanılan kan örnekleri Türkiye'nin değişik bölgelerindeki hayvancılık işletmeleri ile Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum Kliniği'ne getirilen abortus, klinik metritis ve repeat breeding gibi fertilitate problemi olan ineklerden toplandı (Tablo 1). Söz konusu hayvanlarda ve buldukları sürülerde IBR/IPV aşısı uygulanmadığı tespit edildi. Steril şartlarda kaolinli polystren tüpler içine alınan kan örneklerinden serum ayrılarak 30 dakika süre ile 56°C'lik su banyosunda inaktive edildi ve testte kullanılabilecek kadar -20°C'de saklandı.

Tablo 1: IBR/IPV virusu nötralizan antikorlarının tespiti amacıyla toplanan şüpheli kan serumu örnekleri.

İşletme Kodu	Materyal Toplanan İller ve Bölgeler	Serum Sayısı
01	Adana-Akdeniz Bölgesi	21
02	Amasya-Karadeniz Bölgesi	17
03	Antalya-Akdeniz Bölgesi	16
04	Ankara/1-İç Anadolu Bölgesi	21
05	Ankara/2-İç Anadolu Bölgesi	50
06	Ankara/3-İç Anadolu Bölgesi	23
07	Ankara/4-İç Anadolu Bölgesi	27
08	Ankara/5-İç Anadolu Bölgesi	30
09*	Ankara/6-İç Anadolu Bölgesi	55
10	Aydın-Ege Bölgesi	14
11	Balıkesir-Marmara Bölgesi	13
12	Bursa-Marmara Bölgesi	28
13	Çanakkale-Marmara Bölgesi	23
14	Eskişehir-İç Anadolu Bölgesi	36
15	Kırklareli-Marmara Bölgesi	37
16	Muğla-Ege Bölgesi	43
17	Sakarya-Karadeniz Bölgesi	12
18	Samsun/1-Karadeniz Bölgesi	42
19	Samsun/2-Karadeniz Bölgesi	39
20	Şanlıurfa-Güneydoğu Anadolu Bölgesi	59
21	Tekirdağ-Marmara Bölgesi	18
TR	TOPLAM	624

\* A.Ü. Vet. Fakültesi Doğum Kliniği'nden toplanan serumlar TR. Türkiye Geneli.

**Virus İzolasyon Materyalleri:** Bu amaçla abortus, klinik metritis ve repeat breeding gibi fertilité problemi olan ineklerden alınan vajinal swap ile abort yapmış ineklerin plasenta örnekleri toplanarak, PBS içinde, steril ve soğuk şartlar altında laboratuvara getirildi. Ayrıca bu tür klinik belirti gösteren ineklerin kan örnekleri EDTA'lı polystren tüplerde toplandı (Tablo 2).

Tablo 2: IBR/IPV virüsü izolasyonu amacıyla toplanan örnekler.

Materyal Türü	Vajinal Swap	Plasenta	Lökosit
Materyal Sayısı	381	7	411

**Hücre Kültürü:** Virus izolasyon çalışmalarında FDB ve MDBK hücre kültürlerinden, IBR/IPV virüsü Colorado referans suşunun üretilmesi ve mikronötralizasyon testinin uygulamasında ise, MDBK hücre kültüründen yararlanıldı. Hücre üretme vasatı olarak % 10 inaktif dana serumlu Eagle's MEM vasatı kullanıldı.

**Mikronötralizasyon Testi:** Test, Frey ve Liess (14)'in bildirdikleri yöntemle yapıldı. İnaktive edilmiş ve sulandırılmamış serum örneklerinden mikronötralizasyon tablasının 4 gözüne 0.05 ml kondu. Her bir serum örneği üzerine eşit miktarda bilinen virüstan (100DKID50:  $10^{-3}$  45/0.05 ml) eklendi. 37°C'de CO<sub>2</sub>'li etüvde 2 saat nötralizasyona bırakıldıktan sonra her göze 0.05 ml  $3.10^5$  hücre/ml MDBK hücre süspansiyonundan damlatıldı. Mikronötralizasyon tablasının üzerine steril toksik etkisi olmayan yapıştırıcı bant kapatılarak 37°C'de CO<sub>2</sub>'li etüvde 3 gün süre ile inkube edildi. Sonuçlar 3. gün sonunda doku kültürü mikroskopunda değerlendirildi. Ayrıca, sulandırılmamış kan serum örneklerinde pozitif sonuç veren serumların serum nötralizasyon değerleride (SN50) mikronötralizasyon yöntemi ile tespit edildi ve serum titreleri Kaerber (20) metodu ile hesaplandı.

**Vajinal swap ve plasenta örneklerinden virus izolasyonu çalışması:** Steril şartlarda alınan vajinal swap ve plasenta örnekleri antibiyotikli PBS içinde en kısa sürede laboratuvara getirildi. Vajinal swap örnekleri 3000 devirde 30 dakika +4°C'de santrifüj edilerek üst sıvı inokulum olarak kullanıldı. Plasenta örnekleri ise homojenizatörde işlenerek inokulum hazırlandı. Virus izolasyon deneylerinde kullanılacak bu örnekler, sterilite kontrolüne alınarak hücre kültürüne inokule edilebilecek duruma getirildi. Sonra her bir örnek için iki hücre kültürü tüpüne 2 ml hücre süspansiyonu (100.000 hücre/ml) konularak 37°C'de 2 gün inkube edildi. Hücre üretme vasatı olarak % 10 fetal dana serumu içeren Eagle's MEM kullanıldı. Bu süre sonunda hücre yüzeyleri PBS ile yıkandı ve hazırlanan inokulumdan 0.2 ml inokule edilerek, 37°C'de 1 saat adsorbsiyona bırakıldı. Adsorbsiyondan sonra hücre yüzeyleri PBS ile yıkanarak üzerine 2 ml virus üretme vasatı Eagle's MEM kondu. Hücre kültürleri 6 gün süre ile 37°C'de inkubasyona bırakıldı ve hergün doku kültürü mikroskopunda sitopatolojik değişiklikler yönünden kontrol edildi. Daha sonra -80°C'de dondurulan virüslü hücre

re kültürleri 37°C'de su banyosunda çözülerek, 3000 devirde 30 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı bir sonraki pasaj için inokulum olarak kullanıldı. Her bir numune için en az 3 kör pasaj yapıldı ve ayrıca 4 tüp hücre kontrol olarak bırakıldı.

*Lökositlerden virus izolasyonu çalışması:* EDTA'lı polystren tüplere alınan kan örnekleri, lökosit elde etmek amacıyla 1500-2000 devirde 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üstte görülen lökosit tabakası pastör pipeti ile alınarak PBS ile karıştırıldı ve yeniden 1500-2000 devirde 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Tekrarlanan bu santrifüjden sonra elde edilen lökositler % 5 fetal dana serumu ve % 10 Dimethylsulfoxid (DMSO) içeren PBS içinde karıştırıldı. Sterilite kontrolü yapılarak kullanma zamanına kadar -20°C'de saklandı.

Lökositler inokulasyondan önce -20°C'den alınarak 37°C'de ani olarak çözdürüldü ve böylece lökosit içindeki muhtemel virusun açığa çıkması sağlandı. İnokulasyon, vajinal swap ve plasenta örneklerinden virus izolasyonu çalışmasında uygulanan yöntemle yapıldı. Her lökosit örneği için 3 kör pasaj uygulandı.

### Bulgular

*Virusun titresi:* Araştırmada kullanılan IBR-IPV virusu Colorado suşunun MDBK hücre kültüründe, mikrotitrasyon yöntemi ile yapılan titrasyonunda, enfeksiyözite gücü 3. gün sonunda  $DKID_{50} = 10^{5.79}/0.1$  ml olarak belirlendi.

*Mikronötralizasyon testi sonuçları:* Mikronötralizasyon testi ile kontrolü yapılan 624 adet şüpheli kan serumunun sulandırılmamış örneklerinde 425 adedi (% 68.10) IBR-IPV virusu nötralizan antikorları yönünden pozitif bulundu (Tablo 3 ve Grafik 1).

IBR/IPV virusu nötralizan antikorları yönünden kontrol edilen işletmelerdeki seropozitiflik oranının % 6.66 ile % 100 arasında olduğu saptandı (Tablo 3 ve Grafik 1)

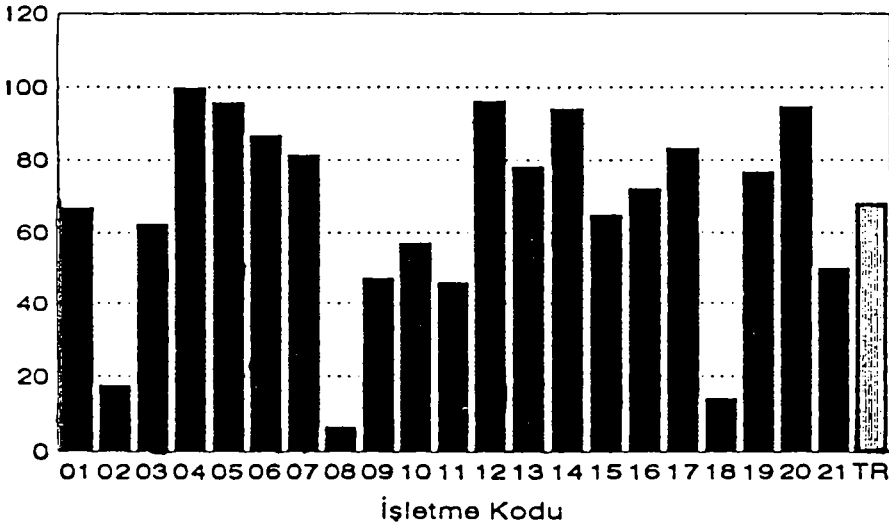
Sulandırılmamış serum örneklerinde pozitif sonuç veren 425 adet serumun mikronötralizasyon testi ile saptanan serum titreleri, işletmeler genelinde, en düşük SN50 değeri 1:1.41, en yüksek SN50 değeri ise 1:316 olarak tespit edildi (Tablo 4 ve Grafik 2).

*Virus izolasyon çalışması sonuçları:* Virus izolasyonu amacıyla fertilitte problemlili ineklerden toplanan 381 adet vajinal swap ve 7 adet plasenta ile 411 adet lökosit örneklerinin hücre kültürlerinde yapılan pasajlarında virus izole edilemedi.

Tablo 3: Mikronötralizasyon testi sonuçları.

İşletme Kodu	Serum Sayısı	IBR/IPV virüsü nötralizan antikorları		
		Pozitif serum Sayısı	Pozitiflik Oranı (%)	SN <sub>50</sub> Dağılımı
01	21	14	66.66	1:22.4-1:178
02	17	3	17.64	1:12.3-1:31.6
03	16	10	62.50	1:12.3-1:251
04	21	21	100.00	1:12.3-1:316
05	50	48	96.00	1:1.41-1:251
06	23	20	86.95	1:12.3-1:100
07	27	22	81.48	1:3.98-1:100
08	30	2	6.66	1:7.95-1:12.3
09	55	26	47.27	1:1.41-1:63.1
10	14	8	57.14	1:31.6-1:251
11	13	6	46.15	1:12.3-1:63.1
12	28	27	96.42	1:22.4-1:251
13	23	18	78.26	1:12.3-1:315
14	36	34	94.44	1:2.82-1:100
15	37	24	64.86	1:1.41-1:251
16	43	31	72.09	1:1.41-1:178
17	12	10	83.33	1:22.4-1:31.6
18	42	6	14.28	1:12.3-1:63.1
19	39	30	76.82	1:12.3-1:89.2
20	59	56	94.91	1:12.3-1:316
21	18	9	50.00	1:3.98-1:316
<b>TOPLAM</b>	<b>624</b>	<b>425</b>	<b>68.10</b>	<b>1:141-1:316</b>

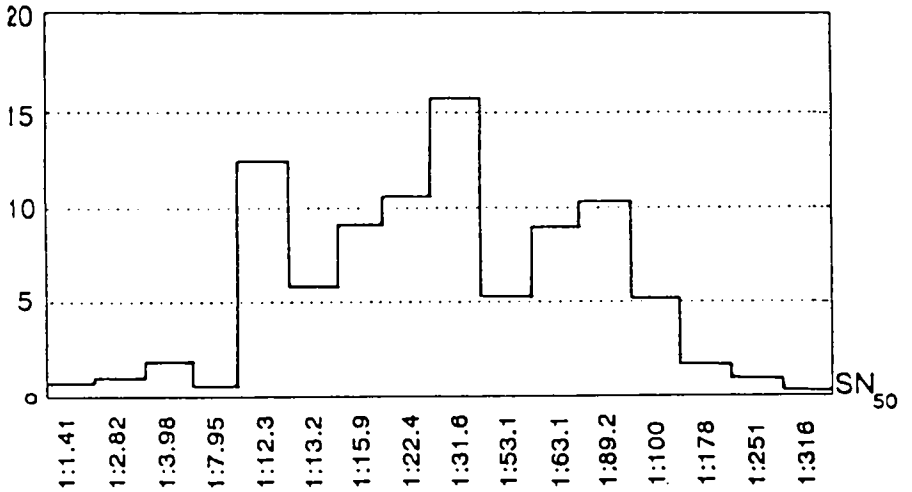
Pozitiflik oranı (%)

Grafik 1: Seropozitif olarak tespit edilen ineklerin işletmelere göre pozitiflik dağılımları.  
TR: Türkiye geneli pozitiflik oranı (%)

Tablo 4: IBR/IPV virusuna karşı pozitif serumların SN<sub>50</sub> değerleri dağılımı.

Serum Sulandırılmaları	Pozitif Serum Sayısı	Pozitif Serum Oranı (%)
1:1.41	6	1.41
1:2.82	7	1.64
1:3.98	15	3.52
1:7.95	5	1.17
1:12.3	54	12.70
1:13.2	29	6.82
1:15.9	37	8.70
1:22.4	49	11.52
1:31.6	71	16.70
1:53.1	24	5.64
1:63.1	36	8.47
1:89.2	46	10.82
1:100	22	5.17
1:178	13	3.05
1:251	8	1.88
1:316	3	0.70

Pozitif serum oranı (%)

Grafik 2: Seropozitif olarak tespit edilen ineklerin SN<sub>50</sub> değerleri dağılımı



## Tartışma ve Sonuç

Sığırların enfeksiyöz nedenlere bağlı fertilitate problemleri içinde IBR/IPV enfeksiyonu önemli bir yer teşkil etmektedir. Bu viral enfeksiyon klinik metritis, repeat breeding ve abortus gibi infertilite olgularına neden olup, yaygın olarak ortaya çıkmakta ve süt sığırı yetiştiriciliğinde verimlilik yönünden önemli sorunlardan biri olmaktadır.

Bu araştırmada, Türkiye'nin çeşitli bölgelerindeki işletmelerden toplanan fertilitate problemlili inek serumlarında IBR/IPV virusuna karşı oluşan nötralizan antikörlerin varlığını saptamak amacıyla mikronötralizasyon testi kullanılmıştır. Ayrıca bu tür ineklere ait vajinal swap, lökosit ve plasenta örneklerinden virus izolasyonu çalışmaları yapılmıştır.

Araştırmada, fertilitate problemlili ineklerden alınan kan serumları mikronötralizasyon testi ile kontrol edilmiş ve 624 adet kan serumunun 425 adedi (% 68.10) IBR/IPV nötralizan antikörleri yönünden pozitif bulunmuştur. Kontrol edilen işletmelerin her birinde IBR/IPV enfeksiyonu varlığı tespit edilmiş ve işletmelerdeki seropozitiflik oranının % 6.66 ile % 100 arasında olduğu belirlenmiştir. Pozitif serumların SN50 değerlerinin ise 1:1.41 - 1:316 arasında dağılım gösterdiği saptanmıştır.

Türkiye'de IBR/IPV enfeksiyonu üzerindeki çalışmalar genellikle sağlıklı görünüşlü sığırlardan alınan kan serumlarının serolojik kontrolleri ile yapılmıştır. Erhan ve ark. (13) farklı iki işletmede bulunan sığırlarda % 20 ve % 29 oranında, Gürtürk ve ark. (17) değişik bölgelerden topladıkları 1029 adet sığır serumunun 561 adedinde (% 54.41), Akça (4) 437 adet sığır serumunun 238 adedinde (% 54.56), Burgu ve Akça (7) 61 adet sığır serumundan 31 adedinde (% 55.70) IBR/IPV nötralizan antikörlerinin varlığını tespit etmişlerdir. Öztürk ve ark. (33) ise zaman zaman solunum sistemi enfeksiyonlarının görüldüğü bir işletmede bulunan 2 yaşın üzerindeki sığırlarda % 89.70 oranında seropozitiflik saptadıklarını bildirmişlerdir. Bu araştırmada ise, fertilitate problemlili ineklerden alınan 624 kan serumundan 425 adedinde (% 68.10) IBR/IPV antikörleri tespit edilmiştir. Bu oran, Öztürk ve ark. (33)'nin bildirdikleri oran dışında, Türkiye'de daha önce IBR/IPV enfeksiyonu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda bildirilen oranlardan daha yüksektir.

Araştırmada kullanılan hayvanların özellikleri gözönünde bulundurulduğunda, örneklenen hayvanlarda yüksek antikör titresinin tespiti fertilitate problemlili oluşumunda IBR/IPV virusunun rolü olabileceğini açıkça ortaya koymaktadır. Bu açıdan bakıldığında, Öztürk ve ark. (33)'nin araştırmalarında zaman zaman solunum sistemi enfeksiyonlarının görüldüğü işletmede yüksek pozitiflik tespit etmeleri ile bu araştırma arasında paralellik gözlenmektedir. Nitekim, Woernle ve Brunner (38) de nötralizasyon testi ile sağlıklı sığırlarda % 2.5, solunum yolu enfeksiyonlarının görüldüğü sığırlarda % 24, fertilitate problemlili sığırlar ile abortus ve neonatal ölüm olgularının görüldüğü sığırlarda % 23 oranında IBR virusuna karşı oluşan nötralizan antikörlerin varlığını tespit ettik-

lerini bildirmişlerdir. Manickam ve Mohan (26) ise, 187 abort yapan inekten aldıkları serum örneklerinde, IBR yönünden yaptıkları serolojik çalışmada, 43 adet ineğin (% 23) 1:8 ve daha yüksek titrede pozitif sonuç verdiğini saptamışlardır. Allegri ve ark. (5) 49 işletmeden topladıkları 437 adet fertilité problemlü inek serumundan 176 adedini (% 40.3) IBR virusu yönünden seropozitif olarak tespit etmişler ve serumların toplandığı işletmelerden 26 (% 53)'sında seropozitiflik saptadıklarını bildirmektedirler.

Araştırmada ayrıca, fertilité problemlü ineklerden toplanan 381 adet vajinal swap, 411 adet lökosit ve 7 adet plasenta örneği virus izolasyonu amacıyla hücre kültürlerinde pasajlanmış, fakat materyallerden virus izolasyonu yapılamamıştır. Ancak bu durum, örneklenen hayvanlarda fertilité problemlerinin IBR/IPV virusuna ilgili olmadığının bir kanıtı değildir. Araştırmada kullanılan vajinal swap ve lökosit örneklerinin alındığı dönemde, akut klinik belirtilerin gözlenmemiş olması nedeniyle virus izolasyonu olasılığının düşük olacağı açıktır. IBR/IPV enfeksiyonuna bağı abortus olgularında ise, virusun genellikle inaktif ve olması nedeniyle, toplanan 7 adet plasenta örneğinde virus izolasyonu gerçekleştirilememiştir. Bu sebeple teşhiste antijen tespitine yönelik yöntemlerin kullanılması gerekmektedir. Lucas ve ark. (25), tarafından 582 abort materyalinden birinde Immunofluoresan (IF) testi ile IBR antijeni tespit edilirken, 330 materyalin hücre kültürlerinde yapılan virus izolasyonu çalışmalarından ise, sonuç elde edilememiştir. Bununla birlikte bazı araştırmacılar (37, 39) izolasyonun gerçekleştirilemediği durumlarda salgından 2-3 hafta sonra toplanan serum örneklerinde antikor tespiti ile IBR/IPV enfeksiyonunun tanısının yapılabileceğini bildirmektedirler. Bu çalışmada da fertilité problemlü ineklere ait vajinal swap, lökosit ve plasenta örneklerinden virus izolasyonu yapılamamış olmasına rağmen, bu hayvanlarda yüksek seropozitifliğin tespit edilmiş olması nedeniyle, ineklerin fertilité problemlerinde IBR/IPV virusunun etiyolojik bir etken olabileceği sonucuna varılmıştır.

Nitekim, Collings ve ark. (11), solunum ve genital sistem enfeksiyonlarının birlikte görüldüğü bir sürüde yaptıkları virolojik ve serolojik çalışmada, konvesant dönemdeki hayvanlarda belirgin bir IBR/IPV virusu antikor titresinin olduğunu, ancak bu dönemde vulvo-vaginitisli ineklerden virus izolasyonu yapılamadığını bildirmektedirler.

Abraham ve ark. (1) IBR/IPV enfeksiyonunun patlak verdiği bir işletmede yaptıkları çalışmada, 92 nazal ve konjunktival sekresyonun 38'inde (% 41.3), 413 semen örneğinin 13'inde (% 3.1), 43 prepusyal çalkantı sıvısının 9'unda (% 26.9), IBR/IPV virus izolasyonunu gerçekleştirmişler, ancak 11 vajinal sekresyonun hiçbirinden virus izole edememişlerdir. Klinik belirtilerinin görülmesiyle birlikte kan serumu elde edilen hayvanların % 45-60'ında düşük düzeylerde (1:2-1:8) antikor saptanırken, enfeksiyon sonrası dönemde antikor düzeyinin arttığı belirtilmiştir.

Collery (10), infertilité olgusunun görüldüğü, 14 inek ve 1 boğanın bulunduğu bir işletmede 2 vajinal swap ile 1 prepusyal çalkantı sıvısından IBR/IPV

virusu izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bu akut dönem sonrasında tekrar aynı hayvanlardan alınan örneklerden izolasyonun gerçekleştirilemediği, ancak serum antikor titrelerinde 20-70 kat artma görüldüğü tespit edilmiştir.

Lomba ve ark. (24), bir işletmedeki metritis olgularından IBR virüsü izole ettiklerini ve enfeksiyondan 6-10 gün sonra hayvanlara ait serum antikor titrelerinin 1:64 ve daha yüksek düzeylerde olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, IBR/IPV nötralizan antikorları yönünden kontrol edilen bütün işletmelerde seropozitifliğin tespit edilmiş olması dikkat çekicidir. Örneklerin toplandığı işletmelerde IBR/IPV virüsü aşı uygulamasının yapılmamış olması aşıya bağlı oluşacak antikorların bulunma olasılığını ortadan kaldırmaktadır. İşletmelerdeki hayvanların bir kısmının da latent enfekte olabilmeleri, latent virüsün çeşitli faktörlerin etkisi ile zaman zaman reaktif olarak yeniden enfeksiyona dönüşebilme ve etrafa saçılması yönünden önem taşımaktadır. Araştırmaların yapıldığı işletmelerde genellikle suni tohumlama uygulamalarının yapıldığı bilinmektedir. IBR/IPV virüsü ile enfekte boğalardan alınan spermaların ineklerde infertiliteye neden olabileceği de bir diğer gerçektir. Bu nedenle özellikle suni tohumlamada kullanılan latent enfekte boğaların serolojik kontrollerden geçirilmesi, sperma, lökosit, prepusyal çalkantı sıvısı ve burun akıntısı örneklerinden virüs izolasyonu çalışmalarının yapılması, serolojik kontrollerde pozitif bulunan hayvanların damızlıktan çıkartılması gerekmektedir. Böylece işletmelerdeki akut ve latent enfeksiyonların kontrolleri ile birlikte, sperma kaynaklı IBR/IPV virüsüne bağlı oluşabilecek fertilité problemleri en az düzeye indirilecek ve bu çalışmalar ülke hayvancılığını olumlu yönde etkileyerek, hayvancılıkta verimliliğin artırılmasında önemli bir etken olacaktır.

#### Kaynaklar

1. Abraham, A., Ayolan, N., Marcus, S. (1982). *An outbreak of IBR/IPV infection in bulls and dairy cattle in Israel I. Clinical and diagnostic aspects*. Refuah Veterinarith, 39(3): 93-98.
2. Ackermann, M., Wyler, R. (1984). *The DNA of an IPV strain of bovid herpesvirus-1 in sacral ganglia during latency after intravaginal infection*. Vet. Microbiol. 9: 53-63.
3. Afshar, A., Eaglesome, M.D. (1990). *Viruses associated with bovine semen*. Vet. Bull. 60 (2): 93-109.
4. Akça, Y. (1981). *Türkiye'de sığır ve koyunlarda enfeksiyöz bovine rhinotracheitis/enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) üzerinde serolojik araştırmalar*. Ank. Üni. Vet. Fak. Doktora tezi, Ankara.
5. Allegri, G., Cavirani, S., Bottarelli, E. (1985). *Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) and Bovine virus diarrhea (BVD) virus antibodies in cattle sera from dairy herds with reproductive disorders*. Archivio Veterinario Italiano, 36(5/6): 174-178.
6. Burgu, İ. (1980). *İnfeksiyöz bovine rhinotracheitis/İnfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR-IPV), Koital exanthem/İnfeksiyöz bovine necrotik rhinotracheitis*. Vet. Hek. Der. Derg., 50(1-2): 33-40.

7. **Burgu, İ., Akça, Y.** (1982). *Gelemen devlet üretme çiftliği sığırlarında bazı viral enfeksiyonlara karşı serolojik araştırmalar*. A.Ü. Vet. Fak. Dergisi, 29(3-4): 506-512.
8. **Burgu, İ., Akça, Y.** (1986). *Türkiye'de suni tohumlamada kullanılan bazı damızlık boğalarda IBR/IPV enfeksiyonu*. A.Ü. Vet. Fak. Dergisi, 33(1): 113-121.
9. **Burgu, İ., Akça, Y.** (1987). *First isolation of IBR virus in Turkey*. Trop. Anim. Hlth. Prod., 19: 56, 1987.
10. **Collery, P.** (1974). *Isolation of the virus Infectious bovine rhinotracheitis/Infectious pustular vulvovaginitis during an outbreak of genital disease*. Irish. Vet. J., 28: 89-92.
11. **Collings, D.F., Gibbs, E.P.J., Stafford, L.P.** (1972). *Concurrent respiratory and genital disease associated with Infectious bovine rhinotracheitis/Infectious pustular vulvovaginitis (IBR-IPV) virus in a dairy herd in the United Kingdom*. Vet. Rec., 91: 214-219.
12. **Elazhary, M.A.S.Y., Lamothe, P., Silim, A., Roy, R.S.** (1980). *Bovine herpesvirus type 1 in the sperm of a bull from a herd with fertility problems*. Can. Vet. J., 21: 336-339.
13. **Erhan, M., Onar, B., Csontos, L., Hopkins I.G.** (1971). *Serological survey on some virus and bedsonia diseases of cattle, sheep and horse*. Pendik Vet. Kont. ve Araşt. Enst. Derg., 4 (2): 55-58.
14. **Frey, H.R., Liess, B.** (1971). *Vermehrungskinetik und verwendbarkeit eines stark zytotoxischen VD-MD virusstammes für diagnostische untersuchungen mit der mikrotiter-methode*. Zbl. Vet. Med. B., 18: 61-71.
15. **Gibbs, E.P.J., Rweyemamu, M.M.** (1977). *Bovine herpesviruses. Part I. Bovine herpesvirus 1*. Vet. Bull., 47(5): 317-345.
16. **Gourlay, R.N., Stott, E.J.** (1974). *Isolation of Mycoplasma agalactiae var bovis and infectious bovine rhinotracheitis virus from an outbreak of mastitis in France*. Vet. Rec., 7: 534-535.
17. **Gürtürk, S., Finci, E., Burgu, İ.** (1974). *Yurdumuz sığırlarında enfeksiyöz rhinotracheitis (IBR) üzerinde araştırmalar*. A.Ü. Vet. Fak. Dergisi, 22(1-2): 34-44.
18. **Gürtürk, S., Finci, E., Burgu, İ.** (1975). *Yurdumuz sığırlarında enfeksiyöz rhinotracheitis (IBR) üzerinde araştırmalar*. A.Ü. Vet. Fak. Dergisi, 22(3-4): 104-111.
19. **Hafez, S.M., Chaudhry, R.** (1985). *Isolation and identification of infectious bovine rhinotracheitis virus in Saudi Arabia*. Arab. Gulf. J. Scient. Res., 3(2): 735-744.
20. **Kaerber, G.** (1964). *In diagnostic procedures for virus and rickettsial disease*. Public. Health. Ass. (New York) 3: 48-50.
21. **Kahrs, R.F.** (1977). *Infectious bovine rhinotracheitis: A review and update*. J.A.V.M.A., 171(10): 1055-1064.
22. **Kahrs, R.F., Smith, R.S.** (1965). *Infectious bovine rhinotracheitis, Infectious pustular vulvovaginitis, and abortion in a New York dairy herd*. J.A.V.M.A., 146(3): 217-220.
23. **Kaminjolo, J.S., Nyaga, P.N., Omuse, J.K., Mutiga, E.R.** (1975). *Infectious bovine rhinotracheitis-Infectious pustular vulvovaginitis viral isolates from cattle with epididymitis and vaginitis*. Am. J. Vet. Res., 36(1): 123-125.
24. **Lomba, F., Bienfet, V., Wellemans, G.** (1976). *IBR virus and occurrence of metritis at parturition in the bovine belgian blue white breed*. Br. Vet. J., 132: 178-81.

25. Lucas, M.H., Westcott, O.G.F., Edwards, S., Mewman, R.H., Swallow, C. (1986). *Immunofluorescence and cell culture techniques in the diagnosis of viral infection of aborted bovine fetuses*. Vet. Rec., 118: 242-243.
26. Manickam, R., Mohan, M. (1987). *Seroepidemiological studies on infectious bovine rhinotracheitis (IBR) viral abortion in cows* Indian J. animal Sci., 57(9): 959-962.
27. Miller, J.M. (1991). *The effect of IBR virus infection on reproductive function of cattle. Symposium on IBR virus*. Veterinary Medicine, 95-98.
28. Miller, J.M., Van Der Maaten, M.J. (1984). *Reproductive tract lesions in heifers after intrauterine inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus*. Am. J. Vet. Res., 45(4): 790-794.
29. Miller, J.M., Van Der Maaten, M.J. (1987). *Early embryonic death in heifers after inoculation with bovine herpesvirus-1 and reactivation of latent virus in reproductive tissues*. Am. J. Vet. Res., 48(11): 1555-1558.
30. Miller, J.M., Whetstone, C.A., Van Der Maaten, M.J. (1991). *Abortifacient property of bovine herpesvirus type 1 isolates that represent three subtypes determined by restriction endonuclease analysis of viral DNA*. Am. J. Vet. Res., 50(3): 458-461.
31. Miller, J.M., Van Der Maaten, M.J., Whetstone, C.A. (1989). *Infertility in heifers inoculated with modified-live bovine herpesvirus-1 vaccinal strains against infectious bovine rhinotracheitis on postbreeding day 14*. Am J. Vet. Res., 50(4): 551-554.
32. Misra, P.K., Mishra, A. (1987). *Infectious bovine rhinotracheitis virus infection and infertility in cows, heifers and bulls*. Indian J. Animal Sci., 57(4): 267-271.
33. Natira, M. Inui, S., Namba, K., Shimizu, Y. (1976). *Trigeminal ganglionitis and encephalitis in calves intranasally inoculated with infectious bovine rhinotracheitis virus*. J. Comp. Path., 86: 93-100.
34. Öztürk, F., Toker, A., Yavru, S. (1988). *Konya hayvancılık merkez araştırma enstitüsü sığırlarında enfeksiyöz bovine rhino-tracheitis/enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) üzerinde araştırmalar*. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Dergisi, 4(1): 53-64.
35. Rodriguez, L.L., Homan, E.J., Easterday, B.C. (1984). *Characterization of bovine herpesvirus-1 isolated from trigeminal ganglia of clinically healthy cattle*. Am. J. Vet. Res. 45(6): 1069-1072.
36. Schuz, J., Walker, S. (1990). *Outbreak of neonatal infectious bovine rhinotracheitis*. Can. Vet. J. 31: 592.
37. Tanyi, J., Bajmocy, E., Fazekas, B., Kaszanyitzky, E.J. (1983). *Mass abortion caused by infectious rhinotracheitis (IBR/IPV) virus in a beef cattle herd*. Acta Veterinaria Hungarica, 31(4): 135-143.
38. Van Donkersgoed, J., Babiuk, L.A. (1991). *Diagnosing and managing the respiratory form of infectious bovine rhino-tracheitis*. Symposium on IBR virus. Veterinary Medicine, 86-94.
39. Woelffer, E.A. (1972). *Diagnosis of bovine abortion*. J.A.V.M.A., 161(11): 1284-1287.
40. Woernle, H., Brunner, A. (1982). *Serological studies in cattle herds suffering respiratory diseases, diarrhoea, infertility, abortion and neonatal mortality to investigate the role of virus infections*. Tierarztl. Umschau, 37: 100-109.