

SÜT SIĞIRCILIĞI İŞLETMELERİNDE RASTLANAN IBR/IPV VE BVD VİRUS ENFEKSİYONLARININ İNFERTİLİTE OLGULARINDAKİ ROLÜ

Aykut ÖZKUL*
Yılmaz AKÇA****

Mehmet ÇABALAR**

Seval BİLGE***
İbrahim BURGU*****

The role on infertility cases of IBR/IPV and BVD virus infections encountered in dairy cattle herds.

Summary: In this research, 538 serum and leucocyte samples and 94 vaginal swabbings collected from cows with fertility problems which were housed in 19 closed dairy herds located in various regions of Turkey were tested for presence of IBR/IPV and BVD viruses and of neutralizing antibodies against either viruses. Virus isolation attempts were done performing cell culture passages of leucocyte and vaginal swab samples. BVD virus antigens were detected in 13 leucocyte samples using peroxidase linked antibody assay (PLA) while no significant evidences were noted in relation to viral multiplication of IBR/IPV virus. In order to detect antibodies for IBR/IPV virus the Serum Neutralizing (SN) and for BVD virus the Neutralization Peroxidase Linked Antibody (NPLA) assays were used, respectively.

Out of 538 serum samples tested, 123 (22.8%) were detected as antibody carrier against BVDV while 113 (21.0%) were found to be seropositive for IBR/IPV virus. Besides, 247 sera (45.9%) were positive for both viruses.

The results of the research indicated that the corresponding viruses, alone or together, may cause infertility in cows produced in closed dairy herds.

Özet: Bu araştırmada, Türkiye'nin farklı bölgelerinde bulunan 19 kapalı süt siğirciliği işletmesindeki, fertilitate problemlili ineklerden alınan 538 adet kan serumu ve lökosit örneği ile 94 adet vajinal swap numunesi IBR/IPV ve BVD virüsleri ile nötralizan antikorları yönünden test edildi.

Virus izolasyon çalışmaları için lökosit ve vajinal swap numuneleri hücre kültürlerinde pasajlandı. İzolasyon çalışmalarında enfektif IBR/IPV virüsü izole edilemezken, aynı kültür sıvılarından yapılan Peroksidaz bağlı antikor testi (PLA) sonucunda 13 lökosit numunesinde BVD viral antijenleri tespit edildi.

Serum numunelerinin serolojik kontrolü amacıyla, IBR/IPV virüsü için serum nötralizasyon testi (SNT), BVD virüsü için ise Nötralizasyon Peroksidaz bağlı antikor (NPLA) testi kullanıldı. Nötralizan antikorlar yönünden kontrol edilen, 538 adet kan serumunun 123 adedi (%22.8) BVD virusuna, 113 adedi (%21.0) IBR/IPV virusuna karşı pozitif bulundu. Ayrıca 247 adet (%45.9) kan serumu örneğinin de her iki virüse karşı nötralizan antikor taşıdığı tespit edildi.

Araştırma neticesinde, her iki virüsün ineklerde, tek tek ya da birlikte, fertilitate kaybına neden olabileceği sonucuna varıldı.

* Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji ABD, Ankara.

** Dr. YYÜ Veteriner Fakültesi Viroloji ABD, Van.

*** Araş. Gör. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

**** Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji ABD, Ankara.

***** Prof. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji ABD, Ankara.

Giriş

Sığır yetiştiriciliğinde işletmelerin verimliliğine etkiyen önemli faktörlerden birisi dölvrimidir. Genital sistemi oluşturan organlardaki temel bozukluk veya eksikliklerden kaynaklanan infertilite olgularında çeşitli etkenler rol oynamaktadır. Özellikle patojen ajanların neden olduğu fertilitate kayıpları halen üzerinde güncel olarak çalışılan konuların başında yer almaktadır (3, 5). Patojen ajanların meydana getirdiği enfeksiyöz hastalıklar sonucunda ortaya çıkan ekonomik kayıpların, yetiştiriciye olan yansımalarının büyüklüğü ise tam olarak bilinmemektedir (9).

Sığırlarda genital sistemi tehdit eden ve bu sisteme ait klinik bozukluklar sonucunda fertilitate problemlerine neden olan viral etkenler arasında, Bovine Virus Diarrhoea (BVD) ve Infectious Bovine Rhinotracheitis/Infectious Pustular Vulvovaginitis (IBR/IPV) virusları önemli bir yer tutmaktadır (3, 10, 17, 29). Her iki virus, akut jeneralize enfeksiyonu takip eden dönemlerde direkt olarak genital sistem organlarını etkileyebildikleri gibi (8, 17, 22), semende bulunabilmeleri sebebiyle çiftleşme sırasında da genital sisteme ulaşabilmektedirler (10, 19).

Hastalığa duyarlı ineklerde sözkonusu virusların sebep olduğu ve her biri farklı formlarda ortaya çıkan ve tek başlarına önemli birer infertilite nedeni olan klinik tablolar arasında, erken embriyo ölümü ve rezorbsiyonu (4, 5, 21, 29), abortlar (15, 24, 27), metritis (18, 20) ve ooforitis (26) bildirilmektedir. Özellikle metritis, ooforitis ve erken embriyo ölümleri gibi klinik olgular neticesinde sürüler içinde "repeat breeder" olarak tanımlanan "döl tutmayan" hayvanlar ortaya çıkmaktadır. Tekrarlanan tohumlamalara rağmen gebelik oranlarındaki düşüklük olarak ifade edilen bu durum, bir çok araştırmacı tarafından gerek BVD ve gerekse IBR/IPV viruslarının değişik yollardan yapılan inokulasyonları ile deneysel olarak ortaya konulmuştur (21, 28).

Araştırmacılar (9), sorumlu viral ajanlar içinde yeralan BVDV'ye bağlı enfeksiyon neticesinde oluşan genital sistem bozukluklarının, aynı virusun meydana getirdiği postnatal enfeksiyonların iki katı bir ekonomik kayba neden olduğunu bildirmektedirler. BVDV çiftleşme veya suni tohumlama yolu ile seronegatif ineklerin uterusuna aktarıldığında, döllenme oranında önemli boyutlarda düşme tespit edilmiştir (4). Withmore ve ark. (28) tarafından yapılan bir araştırmada ise gerek seropozitif inekler ve gerekse tohumlama anında oral veya intravenöz olarak BVDV ile deneysel enfekte edilen inek-

lerde bu etkiye rastlanmamıştır. Houe ve Meyling (15), 1986-1989 yılları arasında BVDV ile persiste enfekte hayvanların bulunduğu 8 adet sürüde düşük gebelik oranı, ölü doğum ve neonatal ölüm olaylarında sözkonusu ajanın etkisini araştırmışlardır. Bu sürülerde persiste enfekte olarak saptanan hayvanların tohumlanmasını takiben gebelik oranlarında önceki dönemlere göre yarı yarıya bir düşme saptanmış ve doğan buzağılardaki ölüm oranı 3 kat artmıştır. Bu durum, izlenen 8 sürünün 4 tanesinde benzer sonuçlarla ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, belirtilen parametreler yönünden sürülerin incelenmesinde sürü içindeki persiste enfekte hayvanların bir kriter olarak kullanılabilirliği bildirilmektedir (15).

Miller ve Maaten (20) inekleri IBR/IPV virüsü ile intrauterin yolla enfekte ettikten sonra, endometrium ve myometriumda ödem, hemoraji ve nekroz gibi karakteristik bulgular ile ovaryumdaki korpus luteumda kistik bir gelişim belirlemişlerdir. Buna bağlı olarak ineklerin östrus siklusundaki bozuklukların infertilite sebebi olarak karşılına çıktığı bildirilmiştir.

Elazhary ve ark. (10) 125 adet sığırnın barındığı ve iki sene süreyle değişik fertilitate problemlerinin izlendiği bir sürüde, muhtemel sebebin ortaya konması amacıyla virolojik ve bakteriyolojik kontroller yapmışlardır. Araştırmacılar (10) sürüde hem doğal hem de suni tohumlama yapılması sebebiyle kullanılan bütün sperma serileri ile boğalardan alınan taze spermaların IBR/IPVV yönünden immun floresan testine (IFT) tabi tutmuşlardır. Sonuçta spermalarda IFT ile viral antijen tespiti yanında, sözkonusu virüsü, hem sperma örnekleri hem de bazı ineklerin uterus akıntısı ile iki atıktan izole etmeyi başarmışlardır.

Çabalar (7), fertilitate problemlili ineklerde IBR/IPV virus enfeksiyonunun rolünü serolojik ve virolojik olarak araştırdığı çalışmada, virus izole edememesine rağmen, yüksek bir seropozitiflik (%68.1) tespit edildiğini bildirmiştir.

Reed ve ark. (25) tarafından yapılan bir araştırmada gebeliğin 6. ayında atık yapan bir ineğe ait fötustan hem herpervirus hem de sitopatojen BVD virüsü izole edilmiştir. Araştırmacılar (25) tek fötustan iki farklı etken izole ettikleri için gerçek etkenin tespitinde, daha önce BVDV ile deneysel olarak yapılan bir fötal enfeksiyon bulgularına dayanarak, abortun muhtemel sebebi olarak izole ettikleri BVDV'yi öne sürmüşlerdir. Reed ve ark. (25) ayrıca her iki etkenle aynı anda deneysel olarak enfekte edile-

cek fertil ineklerde, iki virus arasında muhtemel olabilecek etkileşimlerin ortaya konabileceğini belirtmişlerdir.

Türkiye'de bugüne kadar gerek kamu gerekse halk elinde bulunan hayvanlarda yapılan araştırmalar, BVD (2, 12) ve IBR/IPV (1, 6) virüslerinin sağlıklı sığırlar arasında yüksek bir prevalansa sahip olması yanında, infertil sığır olgularında IBR/IPV virusunun bir etken olabileceği sonucunu da ortaya koymuştur (7).

Bu araştırmada kamuya ait kapalı işletmelerde bulunan hayvanlarda özellikle klinik olarak metritis, yavru atma ve döl tutmama gibi infertilite olgularında, bir yetiştirme hastalığı olarak da kabul edilen IBR/IPV ve BVD viruslarının rolünün saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmada Kullanılan Hayvanlar: Araştırmada kullanılan kan serumu örnekleri, Türkiye'nin farklı bölgelerinde bulunan 19 kapalı süt sığırcılığı işletmesindeki ineklerden toplandı. Tamamında suni tohumlama uygulanan bu işletmelerde kan numunesi alınan hayvanlar, işletmenin suni tohumlama takip kayıtları incelenerek, klinik olarak metritis geçiren, yakın zamanda abort yapmış veya 3 ile daha fazla tekrarlanan tohumlamalara rağmen gebe kalmamış inekler arasında seçildi. Ayrıca sözkonusu hayvanlarda başka herhangi bir klinik semptomun varlığı da araştırıldı ve saptanabilenler kayıt edildi. Araştırmada kullanılan 19 süt sığırcılığı işletmesinde bulunan toplam hayvan sayısı ile örneklenen hayvan sayısı Tablo-1'de gösterilmiştir.

Serum Numuneleri: Seçilen hayvanlara ait kan örnekleri kaolinli polystyren tüplere alınarak serumları ayrıldı. 56°C de 30 dakika süreyle inaktive edilen serumlar kullanılabildiği kadar -20°C de saklandı.

Virus İzolasyon Materyalleri: Aranılan klinik bulgulara sahip 538 adet inekten alınan lökosit örneklerine ilave olarak, 94 adet olgudan vajinal swap numunesi alındı. Swap örnekleri PBS-M içinde laboratuvara ulaştırıldı.

Kan örnekleri EDTA lı polystyrene tüplere alındı ve soğuk zincir ile laboratuvara getirildi. 2000 devirde 10 dakika santrifüj edilen numunelerden pastör pipeti ile alınan lökosit tabakası PBS-M ile 3 kez yıkandı. Hücre kültürüne hemen inokule edilmeyen numuneler %10 DMSO ilavesinden sonra -80°C'de saklandı.

Anti-BVDV-Peroksidaz Konjugatı: NPLA testinde kullanılan heterotipik α -BVDV-PO konjugatı Hannover Veteriner Yüksek Okulu, Viroloji Enstitüsü'nden sağlandı.

Tablo 1. Sürülerde tespit edilen klinik bulgular ve örneklenen hayvan sayıları
Table 1. Clinical observations and the number of animals sampled in herds.

İŞLETME Kodu :11	TESPİT EDİLEN KLİNİK BULGULAR	İŞLETMEDEKİ HAYVAN SAYISI	
		Toplam	Örneklenen*
01 Adana	RE ¹ , Anöstrus	200	18
02 Amasya	RE, Abort	220	17
03 Antalya	RE, Abort, AD ²	200	16
04 Ankara	RE, Abort, Metritis	265	19
05 Ankara	RE	400	50
06 Ankara	RE, Metritis	150	23
07 Ankara	RE, Metritis, Abort, RS ³	200	27
08 Ankara	RE, Metritis	70	30
09 Balıkesir	RE, Metritis, Olu doğum	150	13
10 Bursa	RE, Metritis, Abort	300	28
11 Çanakkale	RE	128	23
12 Eskişehir	RE	354	31
13 Kırklareli	RE, Metritis, Abort, RS	220	37
14 Muğla	RE, Abort, Olu doğum	260	43
15 Sakarya	RE, Metritis, Abort	150	8
16 Samsun	RE, Anöstrus, Abort	300	38
17 Samsun	RE, Metritis, Abort	278	29
18 Şanlıurfa	RE, Metritis, Abort	600	59
19 Tekirdağ	RE, Metritis	200	18
TOPLAM		4725	538

* Tespit edilen fertilité problemlili ineklerin tamamı.

1. Repeat breeding (Döl tutmama)
2. Anormal doğum.
3. Retentio secundinarum.

Tablo 2. Test edilen sürülerin IBR/IPVV, BVDV ve her ikisi yönünden seroprevalans değerleri.

Table 2. Seroprevalence in the herds tested against IBR/IPVV, BVDV and the both viruses.

İŞLETME KODU	SERUM SAYISI	IBR/IPVV		BVDV		IBR/IPV + BVDV		
		+	SN ₅₀	+	SN ₅₀	+	SN ₅₀	
01	18	4	>40	6	>40	8	38	>40
02	17	2	19	12	18	1	22	>40
03	16	-	-	6	>40	10	22	>40
04	19	4	>40	-	-	15	>40	>40
05	50	30	22	5	30	14	32	>40
06	23	1	12	5	>40	16	35	>40
07	27	11	16	2	30	11	22	>40
08	30	-	-	30	>40	-	-	-
09	13	6	19	-	-	-	-	-
10	28	-	-	1	>40	27	27	>40
11	23	5	>40	5	30	13	26	>40
12	31	2	16	3	>40	26	19	>40
13	37	10	8	5	14	14	13	31
14	43	11	16	6	23	20	17	20
15	8	-	-	5	>40	3	28	>40
16	39	1	31	17	23	3	27	35
17	39	23	24	4	24	6	35	25
18	59	2	12	3	>40	54	17	36
19	18	1	>40	8	>40	8	30	>40
TOPLAM	538	113	23.4	123	38.4	247	26.0	>40

Serum Nötralizasyon Testi (SNT): IBR/IPV virus antikorlarının tespiti Frey ve Liess (11) tarafından bildirilen yöntemle göre yapıldı.

Sulandırılmamış serumdan başlamak üzere Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) içinde iki katlı sulandırmaları yapılan numunelerin üzerine eşit hacimde IBR/IPV virusu Colorado suşu (100 DKID₅₀=10^{-3.45}/0.05 ml) ilave edilerek 37°C de 2 saat süreyle nötralizasyona bırakıldı. Süre sonunda 300.000 hücre/ml olacak şekilde sulandırılmış MDBK hücre kültürü-

Tablo 3. Seropozitif hayvanların ortalama antikor titre değerleri.
Table 3. Average antibody titers of the seropositive animals.

İŞLETME KODU	SERUM SAYISI	IBR/IPV		BVDV		IBR/IPV-BVDV		NEGATİF	
		+	%	+	%	+	%	n	%
01	18	4	22.2	6	33.3	6	33.3	2	11.1
02	17	2	11.7	12	70.5	1	5.8	2	11.7
03	16	-	-	6	62.5	10	62.5	-	-
04	19	4	21.0	-	-	15	78.9	-	-
05	50	30	60.0	5	10.0	14	28.0	1	2.0
06	23	1	4.3	5	21.7	16	69.5	1	4.3
07	27	11	40.7	2	7.4	11	40.7	3	11.1
08	30	-	-	30	100.0	-	-	-	-
09	13	6	46.1	-	-	-	-	7	53.8
10	28	-	-	1	3.5	27	96.4	-	-
11	23	5	21.7	5	21.7	13	56.5	-	-
12	31	2	6.5	3	9.6	26	83.8	-	-
13	37	10	27.0	5	13.5	14	37.8	8	21.6
14	43	11	25.5	6	13.9	20	46.5	6	13.9
15	8	-	-	5	62.5	3	37.5	-	-
16	39	1	2.5	17	43.5	3	7.6	18	46.1
17	39	23	58.9	4	10.2	6	15.3	6	15.3
18	59	2	3.3	3	5.0	54	91.5	-	-
19	18	1	5.5	8	44.4	8	44.4	1	5.5
TOPLAM	538	113	21.0	123	22.8	247	45.9	55	10.2

Tablo 4. BVD virusu izole edilen işletmelerde, enfeksiyonun seroprevalansı ve ortalama antikor titre değerleri.

Table 4. Prevalence and average antibody titers against BVDV in the herds where BVD virus isolation had been succeeded.

İşletme Kodu	Numune Sayısı	BVDV		
		İzolasyon (n)	Nötralizan %	Antikor S _N s*
05	50	2	10.0	1:20
06	23	1	21.7	1:40
12	27	1	13.5	1:14
14	43	2	13.9	1:23
16	39	7	43.5	1:23
TOPLAM	192	12		

* Geometrik ortalama

ründen her test gözüne 0.05 ml konuldu. Test, virus kontrolü için ayrılan gözlerde %100 cpe saptandığı anda değerlendirildi.

Nötralizasyon İmmunperoksidaz Testi (NPLA): BVD virus antikorlarının saptanması amacıyla Hyera ve ark. (16)'nın bildirdiği yöntem kullanıldı.

Serum numuneleri Laktalbuminli Earle's (ELA) dengeli tuz solusyonu ve EMEM karışımı içinde (ELA+EMEM) 1/5'den başlamak üzere 4 basamak sulandırıldı. Her göze BVDV'nın referenz NADL suşu (100DKID₅₀=10^{-2.3}/0.05 ml) eşit hacimde konuldu ve 37°C de 1 saat süreyle nötralizasyona bırakıldı. Nötralizasyon işlemi takiben tüm gözlere 300.000 hücre/ml olacak şekilde FDB hücresi konan pleytler, 48 saat süreyle 37°C de inkube edildi. İnkubasyon işlemi sonunda pleytlerin içerdikleri vasat dökülerek, hücreler 80°C de 1 saat süreyle fikzasyona tabi tutuldu. Fikze olan hücreler titresi oranında (1: 200) Tween-20 içeren fosfat tamponu içinde (PBS-T) sulandırılmış

heterotipik α-BVDV-PO konjugatı ile 1 saat oda derecesinde muamele edildi. Testin değerlendirilmesi, her gözde 3-amino 9-etil karbazol (AEC) kolorijenik substratın neden olduğu, hücre içi renkli ürün lokalizasyonun görülmesi suretiyle yapıldı.

Invitro İzolasyon Çalışması: Gerek vajinal swap gerekse lökosit numuneleri IBR/IPV virüsü izolasyonu amacıyla MDBK, BVD virüsü izolasyonu amacıyla ise sözkonusu virus yönünden negatif Fötal Dana Böbrek (FDB) hücre kültürlerine adsorbsiyona bağlı yöntemle inokule edildi. Günlük mikroskop kontrolleri yapılarak IBR/IPV ve BVD virüsleri için karakteristik sitopatolojik değişiklikler (cpe) arandı. IBR/IPV virüsü için 3 kez tekrarlanan hücre kültürü inokulasyonları BVD virüsü için bir kez yapıldı. Birinci kültür pasajı sıvısından alınan numune direkt BVDV-antijeni tespiti için PLA testi-ne tabi tutuldu.

Peroksidaz Bağlı Antikor Testi (PLA): Test Hyera ve ark. (16) tarafından bildirilen yöntemle yapıldı.

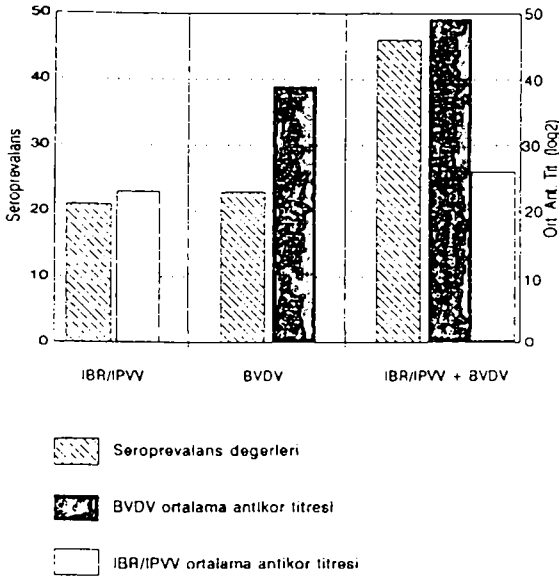
FDB hücre kültürlerine yapılan inokulasyonlar neticesinde elde edilen kültür sıvıları, daha önce FDB hücresi üretilmiş olan 24-göz makropleytlere 0.1 ml inokule edildi. Pleytler 48 saat süreyle %5 CO₂ li etüvde inkubasyona bırakıldı. Süre sonunda içerdikleri vasat dökülerek yıkanan pleytler 80°C de fikze edildi. Test NPLA tekniğinde bildirildiği şekilde tamamlandı.

Bulgular

Sürülerde Tespit Edilen Klinik Belirtiler: Araştırmada kullanılan hayvanların buldukları sürülerde en sıklıkla kaydedilen reproduktif sistem bozuklukları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Serolojik Test Sonuçları: 19 adet süt sığırcılığı işletmesinden toplanan 538 adet sığır kan serumuna uygulanan SN ve NPLA testleri sonunda 113 (%21.0) tanesinin IBR/IPV virüsü ve 123 (%22.8) adedinin de BVD virüsüne karşı nötralizan antikor içerdiği saptandı. Ayrıca testler sonucunda yapılan değerlendirmede ise 247 (%45.9) adet kan serumu örneğinin her iki virüse karşı nötralizan antikor taşıdığı tespit edilirken, 55 adet (%10.2) serum örneği seronegatif olarak belirlendi. İşletmelere göre saptanan seropozitiflik dağılımları ve seroprevalans değerleri Tablo-2'de gösterilmiştir (Grafik 1). Her sürü içinde seropozitif olarak tespit edilen hayvanların nötralizan antikor titre ortalamaları (geometrik ortalama) IBR/IPV virüsü için 1:8-

Grafik 1. İşletmelerde saptanan seropozitiflik ve ortalama antikor titre değerleri.
Figure 1. The seropositivity and average antibody titers detected in the herds.



>1:40 arasında, BVD virusu için ise 1:14->1:40 arasında tespit edildi (Tablo-3, Grafik 1).

İn vitro İzolasyon Sonuçları: Doku kültürü izolasyon çalışmaları neticesinde IBR/IPV virüsü izole edilemedi. BVD virusu izolasyonu çalışmalarında 13 adet lökosit numunesinde BVDV-antijeni tespit edildi. BVDV antijeni tespit edilen bu 13 hayvanın yapılan serolojik kontrollerinde, sözkonusu virüsa karşı antikor taşımadıkları saptandı. BVD virusu izole edilen 5 işletmeye ait, kontrol edilen toplam hayvan sayısına göre, seroprevalans ve ortalama antikor titre değerleri tablo 4'de gösterildi.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, 19 adet süt siğirciliği işletmesinde bulunan ve genital kanal problemleri olan 538 adet hayvanda BVD ve IBR/IPV virüslerinin rolü araştırılmıştır. Sözkonusu numunelerin 113 adedi (%21.0) yalnız IBR/IPV, 123 adedi (%22.8) yalnız BVD virüsüne karşı seropozitiflik gösterirken, test edilen serumların 247 adedinin (%45.9) her iki hastalık etkenine karşı antikor içerdiği saptanmıştır. Yapılan virüs izolasyon çalışmalarında 13 adet lökosit örneğinde PLA testi sonucunda BVDV-antijeni tespit edilmiştir.

Araştırmada kullanılan 538 adet olguya ait bireysel serum nötralizasyon titreleri ile sağlıklı değerlendirme yapılamadığından antikor titrelerinin geometrik ortalamaları hesaplanmıştır. Buna göre incelenen 19 adet sürüde sadece

IBR/IPV virusuna ait ortalama antikor değerleri 1:8->1:40 ve BVDV enfeksiyonuna ait ortalama antikor titreleri ise 1:14->1:40 arasında tespit edilmiştir.

Gürtürk ve ark. (13, 14) tarafından yapılan ve IBR/IPV virusunun serolojik olarak tanımlandığı iki çalışmada, test edilen hayvanlarda ayrı ayrı %54.5 ve %62.5 oranlarında seropozitiflik saptanmıştır. Akça (1) tarafından hem özel hem de kamuya ait işletmelerde yetiştirilen hayvanlarda yapılan serolojik taramada ise hastalığın sığırlar arasındaki prevalansı %54.4 olarak bulunmuştur. Gelfert (12) tarafından 1991 yılında yapılan geniş çaplı Türkiye taramasında ise, sığırlar arasında BVDV'nin prevalansı %60 olarak tespit edilmiştir. Önceki yıllarda herhangi bir klinik semptom göstermeyen sığırlarda yüksek oranda tespit edilen bu iki enfeksiyonun, patogenetik özellikleri ve hayvanların yetiştirilme şartları gözönüne alındığında, değişik sistemleri etkileyerek farklı patolojilere neden olabileceği sonucu açıklıkla ortaya çıkmaktadır.

Araştırmada incelenen işletmelerin tamamında döl tutmama olgusu klinik bulgu olarak saptanırken, bunu 11 (%57.8) işletmede metritis, 11 işletmede abortus ve diğer bulgular takip etmiştir. Sürü bazında toplam sağmal hayvan sayısı dikkate alındığında ise, Tablo-1'de verilen klinik tespitlerin, her işletmede hayvanların yaklaşık %5-12'lik dilimini etkilediği anlaşılmıştır.

Yapılan araştırmalar (3, 29), infertilite olgularında gerek IBR/IPV gerekse BVD virus enfeksiyonlarının farklı işletmelerde farklı düzeylerde etkinlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Nitekim Allegri ve ark. (3) 49 sürüden topladıkları fertilitate problemlili inek serumlarında, her iki virüsün sürüler arasında farklı düzeylerde etkin olduğunu tespit ederken, genel olarak BVDV'nin %92.9, IBR/IPV'nin ise %40.3 oranında prevalansa sahip olduklarını bildirmekte-dirler.

Woernle ve Brunner (29) herhangi bir hastalık belirtisi göstermeyen ancak geçmişteki kayıtlarında fertilitate problemleri, abort ve neonatal mortalite verileri olan kapalı yetiştirme sığırlarında yaptıkları serolojik çalışmada, BVD ve IBR/IPV virüsünün varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar (29) fertilitate problemline sahip inekler arasında BVDV oranını %7, IBR oranını %23 bulurlarken, abort ve neonatal ölüm olgularında sözkonusu virüslerin prevalansını %23 olarak tespit etmişlerdir. Yapılan bu araştırma sonuçlarına göre ise, işletmeler genelinde BVD'nin oranı IBR/IPV virus enfeksiyonu oranından daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Ne var ki, işletmeler bazında her iki virüsün etkin-

liğinin farklı düzeylerde olduğu anlaşılmıştır. Bu farklılık oranı işletmeler arasında, IBR/IPV enfeksiyonu için sıfır ile %60, BVD enfeksiyonu için ise sıfır ile %100 arasında tespit edilmiştir.

Sürü içindeki viremik hayvanların, sürüdeki diğer duyarlı hayvanlarda BVDV'ye karşı yüksek oranda serolojik yanıt oluşturduğu bildirilmektedir (19). Bu konuda yapılan kapsamlı bir araştırmada (23), büyük bir süt işletmesinde yaklaşık 4 yıl süreyle BVDV yönünden seronegatif olarak tanımlanan hayvanların %85'i, BVDV ile persiste enfekte bir dana ile temasa geldikten 2 sene gibi kısa bir sürede enfekte olmuşlardır. Enfeksiyonun seyrettiği dönemde süt verimi düşüklüğü olarak başlayan sürü problemleri, infertilite olaylarına ve çok yüksek oranda (%75) persiste enfekte buzağı doğumlarına kadar varmıştır. Benzer şekilde, Özkul (24) tarafından küçük yetiştirmeler düzeyinde yapılan bir çalışmada akut veya persiste viremik gebe ineklerden virusun fütusa geçişi %4 oranında saptanmıştır.

Bu araştırmada ise, incelenen 5 ayrı sürüde 13 adet (%2.3) BVDV antijeninin tespiti, infertil olarak kayıt edilen hayvanlarda, sözkonusu durumun Meyling ve ark (19)'nın daha önce bildirdiği gibi BVDV ile akut veya persiste bir enfeksiyon neticesi ortaya çıkmış olabileceği sonucunu doğurmaktadır.

Collings ve ark. (8) aynı anda hem solunum hem de genital sistem semptomları gösteren özel bir sürüde yaptıkları araştırmada, genital mukozadan IBR/IPV virusu izole edememelerine rağmen, etkilenen hayvanlarda aynı virusa karşı yüksek bir seropozitiflik saptanmıştır. Benzer şekilde, bu araştırmada kullanılan vaginal swap ve lökosit numunelerinden IBR/IPV virusu izole edilememiş ise de, tek tek işletme bazında elde edilen serolojik prevalans ve ortalama antikor titre değerleri dikkate alındığında, çalışmanın yürütüldüğü sürülerde saptanan infertilite olaylarında IBR/IPV virusunun önemle üzerinde durulması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Çeşitli ülkelerde IBR/IPV virusunun neden olduğu enfeksiyonlara karşı aşılama çalışmaları yapılmasına (30) rağmen bu çalışmada örneklenen sürülerdeki hayvanlara sözkonusu aşının uygulanmadığı, işletme kayıtları dikkate alınarak tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu durum araştırmada taranan işletmelerde bulunan fertilitate problemleri ineklerde IBR/IPV'ye karşı elde edilen serolojik yanıtların, doğal enfeksiyonlar dışında herhangi bir nedenle meydana gelme olasılığını ortadan kaldırmaktadır.

Ayrıca incelenen işletmelerin tamamında suni tohumlama uygulamasının yapılması, IBR/IPV'nin ağırlıklı olarak akut ya da latent enfekte boğalardan alınan sperma vasıtasıyla bulaşmış olabileceği ihtimalini de ortaya koymaktadır. Çünkü Misra ve Mishra (22) döl tutmayan ineklerde uterus mukozası ve tohumlamada kullanılan sperma örneklerinden virus izole etmeyi başarmışlar ve kaynak olarak latent enfekte sperma donörü boğalan göstermişlerdir. Burgu ve Akça (6) tarafından üç ayrı suni tohumlama ünitesindeki sperma vericisi boğalarda yapılan bir araştırmada ise, işletmelerde sırasıyla %43.3, %100 ve %63.8'lik IBR/IPV prevalansının saptanmış olması bu konudaki bulguları doğrulamaktadır.

Araştırmada örneklenen infertil hayvanların sadece %10.2'sinde bu viruslara karşı antikor tespit edilememiş olması, söz konusu hayvanlarda bir başka infertilite sebebinin etken olabileceği kanısını doğurmaktadır.

İnfertil ineklerin %21.0'ında sadece IBR/IPV virusu ve %22.8'inde sadece BVD virusuna karşı antikor varlığı tespit edilmesine karşın, %45.9'unda her iki virusa karşı antikor saptanmıştır. Ortalama antikor titreleri incelenerek yapılan değerlendirmeler neticesinde, IBR/IPV ve BVD virus enfeksiyonlarının birlikte seyrettiği olgularda, her birisi tek başına iken meydana getirdiklerinden daha yüksek bir enfeksiyöziteye neden olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç infertilite olgularında öncelikli olarak her iki enfeksiyonun bir arada, daha sonra ağırlıklı olarak BVDV ve daha az olarak IBR/IPV virusunun etken olabileceği gerçeğini ortaya çıkarmıştır.

Sonuç olarak, özellikle infertilite problemleri hayvancılık işletmelerinde;

1- Sürüde bulunan hayvanların düzenli olarak BVD ve IBR/IPV virusları yönünden kontrollerinin yapılması,

2- IBR/IPV virusuna karşı seropozitif hayvanların sürüden uzaklaştırılması,

3- BVDV ile persiste enfekte hayvanların saptanması,

4- Sürüye yeni katılacak hayvanların bu viruslar ve özellikle persiste BVDV enfeksiyonu yönünden kontrol edilmesi,

5- Doğal ve suni tohumlamalarda kullanılan boğaların bu enfeksiyonlar yönünden periyodik kontrollerinin yapılması, hem IBR/IPV ve BVD viruslarına bağlı infertilite problemlerini kontrol altına alacak, hem de ekonomik kayıpların önlenmesine katkıda bulunacaktır.

Kaynaklar

1. Akça, Y. (1981). *Türkiye'de sığır ve koyunlarda enfeksiyöz bovine rhinotracheitis/enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) üzerinde serolojik araştırmalar*. AÜ Veteriner Fakültesi, Doktora Tezi, Ankara.
2. Atkan, F. (1989). *Arthrogriposis ve hydranencephaly'li buzağı doğumlarında BVD-MD prevalansı üzerinde araştırmalar*. AÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
3. Allegri, G., Carivai, S. e Bottarelli, S. (1985). *Anticorpi neutralizzanti i virus rinotracheite infettiva (IBR) e Diarrhea Virale (BVD) nel siero di a carattere enzootico*. Arch Vet Ital., 36: 174-178.
4. Archbald, L.F. and Zemjanis, S.R. (1977). *Intrauterine infusion of the virus of BVD and artificial insemination in the cow at estrus*. Vet Med Small Anim Clin, 72: 221-225.
5. Bielanski, A., Singh E.L. and Hare, W.C.D. (1987). *Effect of Bovine Rhinotracheitis virus (IBRV) and Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) on survival of pre-hatched bovine embryos*. Theriogenology, 27: 214.
6. Burgu, İ. ve Akça, Y. (1986). *Türkiye'de suni tohumlamada kullanılan bazı damızlık boğalarda Enfeksiyöz bovine rhinotracheitis/enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) enfeksiyonu*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Der., 33: 113-121.
7. Collings, D.F., Gibbs, E.J.P. and 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.
8. Çabalar, M. (1993). *Fertilite problemi ineklerde IBR/IPV virus izolasyonu ve seroepidemiolojisi*. AÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
9. Duffel, S.J., Sharp, M.W. and Bates, S.D. (1986). *Financial loss resulting from BVD-MD virus infection in a dairy herd*. Vet. Rec, 118: 38-39.
10. Elazhary, M.A.S.Y., Lamothe, P., Silim, A. and Roy, R.S. (1980). *Bovine herpesvirus type 1 in sperm of a bull from herd with fertility problems*. Can Vet J, 21: 336-339.
11. Frey, H.R. und 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.
12. Gelfert, C.C. (1991). *Epidemiologische Untersuchungen über die Verbreitung des BVD-Virus bei Rindern in der Türkei*. Inaugural Dissertation, Hannover.
13. Gürtürk, S., Finci, E. ve Burgu, İ. (1974). *Yurdumuz sığırlarında Enfeksiyöz Rhinotracheitis (IBR) üzerinde araştırmalar. I- Türkiye'de sığırlarda IBR virusuna karşı antikor dağılımı üzerinde serolojik çalışmalar*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 21:34-46
14. Gürtürk, S., Finci, E. ve Burgu, İ. (1975). *Yurdumuz sığırlarında enfeksiyöz rhinotracheitis (IBR) üzerinde araştırmalar. II. Spontan bir hastalık belirtisi göstermeyen sığırlarda IBR virusuna karşı antikor türresi*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 22: 104-111.
15. Houe, H. and Meyling, A. (1981). *Surveillance of cattle herds for BVDV-infection using data on reproduction and calf mortality*. Arch Virol, [Suppl.3]: 157-164.
16. Hyera, J.K.M., Dahle, J., Liess, B., Moening, V. and Frey, H.R. (1987). *Production of potent antisera raised in pigs by anamnestic response and use for direct immunofluorescence and immunoperoxidase techniques*. Disch Tierärztl Wochenschr, 94: 576-580.
17. Liess, B., Orban, S., Frey, H.R., Trautwein, G., Wiefel, W., and Blindow, H. (1984). *Studies on transplacental transmissibility of Bovine Virus Diarrhoea (BVD) vaccine virus in cattle. II. Inoculation of pregnant cows without detectable neutralizing antibodies to BVD-Virus 90-229 days for parturition (51st to 190th day of gestation)*. Berl Tierärztl Wochenschr, 31: 669-681.
18. Lomba, F., Blenfet, V. and Wellemans, G. (1976). *IBR virus and occurrence of metritis at parturition in the bovine Belgian Blue-White breed*. Br Vet J, 132: 178-181.
19. Meyling, A., Houe, H. and Jensen, A.M. (1990). *Epidemiology of BVDV*. Rev sci tech Off int Epiz, 9: 75-93.
20. Miller, J.M. and Van Der Maaten, M.J. (1984). *Reproductive tract lesion in heifers after intrauterine inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus*. Am J Vet Res, 45: 790-794.
21. Miller, J.M. and 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: 1555-1558.
22. Misra, P.K. and Mishra, A. (1987). *Infectious bovine rhinotracheitis virus infection and infertility in cows, heifers and bulls*. Indian J Anim Sci, 57: 267-271.
23. Moerman, A., Straver, P.J., deJong, M.C.M., Quak, J., Baanvinger, T. and Van Oirschot, J.T. (1992). *A long-term epidemiological study of Bovine virus diarrhoea virus infections in a large herd of dairy cattle*. Proc. Second Symposium on Pestiviruses. 1-3 Oct. 1992, Annecy, France.
24. Özkul, A. (1992). *Gebe inekler ve fütüslerinde BVD-MD enfeksiyonu*. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
25. Reed, D.E., Langpap, T.J. and Bergeland, M.E. (1979). *Bovine abortion associated with mixed Movar 33/63 type Herpesvirus and bovine viral diarrhoea virus infection*. Cornell Vet, 69: 54-66.
26. Smith, P.C., Nusbaum, K.E., Kwapien, R.P., Stringfellow, D.A. and Driggers, K. (1990). *Necrotic oophoritis in heifers vaccinated intravenously with infectious bovine rhinotracheitis virus vaccine during estrus*. Am J Vet Res, 51: 969-872.
27. Tanyi, J., Bajmocy, E., Fazeuas, B. and Kaszanyitzky, E.J. (1983). *Mass abortion caused by Infectious rhinotracheitis (IBR/IPV) virus in a beef cattle herd*. Acta Vet H, 31: 135-143.
28. Van Donkersgoed, J. and Babiuk, L.A. (1991). *Diagnosing and managing the respiratory form of infectious bovine rhino-tracheitis*. Symposium on IBR virus. Vet. Med, 86: 94.
29. Withmore, H.L., Zemjanis, R. and Olson, J. (1981). *Effect of Bovine virus diarrhoea virus on conception in cattle*. JAVMA, 178: 1065-1067.
30. Woernle, H. und Brunner, A. (1982). *Erkrankungen der Atemwege des Rindes, Diarrhoe, Fruchtbarkeitsstörungen, Verkaltungen und Frühsterblichkeit, virologisch-serologische Untersuchungs-ergebnisse*. Tierärztl Umsch, 37: 100-109.