

KAN VE SÜT SERUMLARINDA IBR-IPV ANTİKORLARININ NÖTRALİZASYON TESTİ İLE SAPTANMASI VE SÜT ÖRNEKLERİNDEN VİRUS İZOLASYONU¹

Seval BİLGE²

Detection of Antibodies of IBR-IPV Infection in Blood and Milk Sera By Serum Neutralisation Test and Virus Isolation From Milk Samples in Dairy Cows

Summary: In this study, the presence of antibody against BHV1 in the samples of blood and milk obtained from 486 cows that 390 of them were healthy appearance or showed the symptoms of IBR-IPV infection and 96 were suffered from mastitis in 10 install type dairy farms located in various parts of Turkey were investigated by microneutralisation test.

The usage of milk serum in the diagnosis of IBR-IPV infection as an alternative to blood serum was controlled by the microneutralisation test.

The role of BHV1 in the samples of milk obtained from 96 cows with mastitis in epidemiology of the disease was examined.

At the end of the experiment, 359 blood sera samples (74%) and 209 milk sera samples (43%) were found to be positive for BHV1 antibody. The number of cows whose both of the samples of milk and blood were positive for BHV1 antibody was 209.

BHV1 was isolated from one of the milk samples obtained from 96 cows with mastitis. This is the first report about BHV1 isolation in milk sample from cow with mastitis in Turkey.

Key Words: IBR-IPV, neutralisation test, blood and milk sera samples, virus isolation, milk, cow, mastitis.

Özet: Bu araştırmada, Türkiye'nin değişik bölgelerinde kamu ve özel sektöre ait 10 adet kapalı süt sığırcılığı işletmesinde bulunan sağlıklı görünümlü ve IBR-IPV semptomları gösteren 390 adet ve mastitisli 96 adet olmak üzere toplam 486 adet inekten ayrı ayrı kan ve süt örneği alınarak, mikronötralizasyon testiyle kan ve süt serumlarında BHV1 antikorlarının varlığı ve enfeksiyonun teşhisinde süt serumu örneklerinin kan serumu örneklerine alternatif materyal olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Araştırmanın sonunda test edilen 486 adet kan serumu örneğinden 359 (%74) adedi, süt serumu örneğinin 209 (% 43) adedi BHV1 antikorları yönünden pozitif bulunmuştur. BHV1 antikorları yönünden her iki örneğin de pozitif bulunduğu hayvan sayısı 209 (% 43) olarak tespit edilmiştir.

Bu araştırmada ayrıca süt örneklerinin IBR-IPV enfeksiyonunun epidemiyolojisindeki rolünün araştırılmasına yönelik olarak mastitisli ineklerden alınan 96 adet süt örneğinin bir adedinden virus izolasyonu gerçekleştirilmiş, SN ve EM sonuçlarına göre BHV1 olarak tanımlanmıştır.

¹ Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiş olan bu çalışma Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından desteklenmiş (Proje No: 92.30.00.18) ve Prof.Dr İbrahim BURGU yöneticiliğinde tamamlanmıştır.

² Dr., A. Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı

Bu araştırma, Türkiye'de mastitisli ineklere ait süttten BHV1 izolasyonunun gerçekleştirildiği ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: IBR-IPV, nötralizasyon testi, kan ve süt serum örnekleri, virus izolasyonu, süt, inek, mastitis.

Giriş

Infectious Bovine Rhinotracheitis-Infectious Pustular Vulvovaginitis (IBR-IPV) enfeksiyonunun etkeni Bovine Herpesvirus 1 (BHV1), tüm dünyada yaygın olarak gözlenen ve başta üst solunum yolu ile genital kanal olmak üzere birçok organ sisteminde enfeksiyona neden olan bir ajandır (1,3,10,22,27,34,38). Virus ayrıca, enfekte hayvanlarda primer enfeksiyonun ardından bölgesel ganglion hücrelerinde latent durumda kalabilmekte ve çeşitli stres faktörlerinin etkisi ile klinik belirti göstererek yada göstermeksizin saçılabilir (2,13,20,22,28,37).

Virusun oluşturduğu klinik tablolar sonucunda, genç hayvanlarda görülen yemden yararlanma gücünün azalması ve ölümler (5,13,24,30); ergin hayvanlarda oluşan ağırlık kaybı, süt veriminde azalma (3,22,24,30,35,36) embriyonel ve fetal ölümler (5,6) ile abortlar (24,27,36,37,38) işletmelerde büyük ekonomik kayıpların nedenlerini oluşturmaktadır. IBR-IPV enfeksiyonunun serolojik teşhisi amacıyla yaygın olarak mikronötralizasyon testi kullanılmaktadır (13,30,37). Ayrıca son yıllarda ELISA tekniğinden de enfeksiyonun teşhisinde yararlanılmaktadır (14,18,19,26,30,39).

IBR-IPV enfeksiyonunun serolojik teşhisi kan serumunda antikor aranması şeklindedir. Son yıllarda test materyali olarak elde edilmesi daha kolay ve pratik olan süt serumu örnekleri de kullanılmaktadır. Özellikle tank sütleri kullanılarak sürünün immun durumu ya da sürüde enfeksiyonun varlığının kısa sürede tespit edilebildiği bildirilmektedir (9,14,15,18,19,26,30).

Witte ve ark.(39), 50 inekten sağladıkları, kan ve süt serumu örneklerini ELISA tekniği ile kontrol etmişler ve kan örneklerinin 35 adedinde, süt örneklerinin 33

adedinde BHV1 e karşı antikor tespit etmişlerdir. Lehmann (26) 3681 inekten alınan kan ve süt serumu örneklerinin ELISA ile BHV1 antikorları yönünden kontrol edilmesi sonucunda, her iki örnek arasında %98.8 oranında uyum bulunduğunu bildirmiştir. Krause ve ark.(25) da aynı ELISA sisteminde kontrol edilen kan ve süt serumu örnekleri arasında %98.6 uyum bulmuşlardır. Bu konu üzerinde çalışan araştırmacılar (14,15,18,19,25,26,39) özellikle süt örneklerinin elde edilmesindeki kolaylığı, kan örneklerine göre büyük bir avantaj olarak belirtmektedirler.

Son yıllarda yapılan araştırmalar (32, 33) ile süttün IBR-IPV enfeksiyonunun serolojik teşhisinin yanısıra epidemiyolojisinde de önem taşıdığı ortaya konmuştur.

BHV1 ile doğal ve deneysel enfeksiyondan sonra virusun, meme bezini enfekte ederek süte geçtiği (3,17,24,32,33,35,36) ve bu sütlerle beslenen hayvanlarda enfeksiyona neden olabildiği de (32,33) ortaya konmuştur.

Afshar ve Bannister (3) doku kültüründe ürettikleri BHV1 in sağlıklı ineklerin meme bezine inokulasyonları sonrasında, klinik olarak hastalığın tipik bulgularını gözlemişlerdir. Gourlay ve Stott (17) bir mastitis salgınında, 2 süt örneğinde BHV1 in varlığını saptamışlardır. Probst ve ark. (33) da yaptıkları deneysel çalışmada enfektif gücü yüksek virus içeren sütleri içen hayvanlarda klinik semptom ve spesifik antikor oluşumunun sözkonusu olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bu araştırmada sağlıklı görünümlü ve klinik olarak IBR-IPV enfeksiyonu semptomları gösteren sığırlar ile mastitisli hayvanlardan sağlanan kan ve süt örneklerinin nötralizasyon tekniği kullanılarak IBR-IPV antikorları yönünden kontrol edilmesi ve enfeksiyonun tanısında

süt serumu örneklerinin kan serumu örneklerine alternatif materyal olarak kullanılabilirliğinin araştırılmasının yanısıra mastitisli sığırlardan sağlanan süt örnekleri kullanılarak, süütün enfeksiyonun epidemiyolojisindeki rolünün araştırılması da amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot:

Örneklenen Hayvanlar: Türkiye'nin değişik bölgelerinde kamu ve özel sektöre ait,

10 adet kapalı süt sığırcılığı işletmesinde bulunan 390 adet sağlıklı görünümlü ve/veya IBR-IPV enfeksiyonu semptomları gösteren 96 adet mastitisli inek olmak üzere toplam 486 adet inekten kan ve süt örnekleri alındı (Tablo 1). Materyal sağlanan özel bir işletmede, örneklenen hayvanlara örnekleme tarihinden 12 ay önce inaktif IBR-IPV virus aşısı uygulandığı tespit edildi.

Tablo 1. BHV1 e Karşı Antikorların Araştırılması ve Virus İzolasyonu Amacıyla Toplanan Kan ve Süt Örnekleri

İşletme Kodu	Materyal Toplanan İller	Kan Serumu Örnekleri	Süt Serumu Örnekleri	Virolojik Kontrol İçin Süt Örnekleri
01	ADANA	54	54	5
02	ANTALYA	28	28	5
03*	ANKARA	42	42	29
04	BALA	44	44	10
05	POLATLI	36	36	11
06	ÇANAKKALE	47	47	1
07	ESKİŞEHİR	31	31	19
08	KIRKLARELİ	43	43	3
09	MUĞLA	30	30	3
10	TEKİRDAĞ	35	35	10
Toplam Örnek Sayısı		486	486	96

* İnaktif IBR-IPV virus aşısı yapılan işletme.

Virus: Araştırmada, BHV1 in Colorado referenz suşu (DKID₅₀=10⁶/0.1ml.) kullanıldı.

Hiperimmün Serum: Virus identifikasyon çalışmalarında, A.Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalında tavşanlardan elde edilmiş olan BHV1 Colorado hiperimmün serumu kullanıldı.

Hücre Kültürleri: Virus izolasyonu amacıyla Fötal Dana Böbrek (FDB) hücre kültürü, izole edilen virusun adaptasyonu, titrasyonu, mikronötralizasyonu ve BHV1 in üretilmesi, titrasyonu ile kan ve süt serumu örneklerinin mikronötralizasyon testi için Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) hücre kültürleri kullanıldı.

Kan Serumu Örneklerinin Hazırlanışı: Kan örnekleri kaolinli steril

polystren tüpler¹ içine alındı ve amacına uygun olarak hazırlandı.

Süt Örneklerinin Hazırlanışı: Kapaklı steril cam tüplere toplanan süt örnekleri, serolojik ve virolojik kontrol amacıyla iki farklı şekilde hazırlandı. Serolojik kontrol amacıyla Witte ve ark.(39) nın bildirdiği yöntemden yararlanıldı. Bu amaçla alınan süt örnekleri 3000 devirde 20 dakika santrifüj edildikten sonra üst kısımda toplanan yağ tabakası bir pastör pipeti yardımıyla alındı ve hemen altında bulunan kısım serolojik kontrol amacıyla kullanılmadan önce 56°C de 30 dakika tutularak inaktive edildi. Virolojik kontrol amacıyla süt örneklerinin hazırlanmasında Cliver ve ark.(10) ile Probst ve ark. (33) nın bildirdiği metodlardan yararlanıldı. Bu

¹ Greiner, Nuertingen, Germany.

² Sartorius AG, Goettingen, Germany.

amaçla süt örnekleri 3000 devirde 20 dakika santrifüj edildi. Yağ tabakası alındıktan sonra materyaller, enjektör filtreden⁽²⁾ süzülde ve 1/10 oranında antibiyotik eklenerek kullanılıncaya kadar -20°C da tutuldu.

Serolojik Çalışma:

Mikronötralizasyon Testi: Kan ve süt serumu örneklerinde BHV1 spesifik antikorlarının tespiti amacıyla Frey ve Liess'in (16) bildirdiği yöntemden yararlanıldı. Sulandırılmamış kan ve süt serumu örneklerine uygulanan mikronötralizasyon testi sonuçları, 3.günün sonunda doku kültürü mikroskopunda değerlendirildi.

Antikor saptanan kan ve süt serumu örneklerinin ikişer misli hazırlanan sulandırmalarına uygulanan mikronötralizasyon testi ile, serum nötralizasyon değerleri (SN₅₀) belirlendi.

Virolojik Çalışmalar:

Süt Örneklerinden Virus İzolasyon Çalışmaları: Virolojik kontrol amacıyla hazırlanan süt örnekleri, Probst ve ark.(33) nın bildirdiği yöntemde uygun olarak, duyarlı doku kültürü sistemlerine (FDB) inokule edildi. Doku kültürü mikroskopunda her gün kontrolü yapılan hücreler, 7. günde değerlendirildi. Sitopatolojik değişiklik gözlenen tüplerden sağlanan üst sıvı, virus identifikasyonu amacıyla kullanıldı.

İzole Edilen Virusun İdentifikasyon Çalışmaları:

Mikrotitrasyon: Mastitisli bir ineğe ait(3 no.lu işletme) süt örneğinden izole edilen virusun titrasyonu Frey ve Liess'in (16) bildirdiği yöntemde göre yapıldı.

BHV1 Hiperimmün Serumı İle Nötralizasyon: Bu amaçla SN₅₀= 1/64 titre değerindeki BHV1 hiperimmün serumu ile izolat mikronötralizasyon testine tabi tutuldu.

İzole Edilen Virusun Elektron Mikroskopisi (EM): İzole edilen virus, Burgu ve ark.(8) nın bildirdiği yöntemde uygun olarak EM kontrolü için hazırlandı ve preparatlar Carl Zeiss EM 9 S-2 model EM da incelendi.

Bulgular

Serolojik Çalışma Sonuçları:

Kan ve Süt Serumu Örneklerinin Mikronötralizasyon Testi Sonuçları: Test sonucunda 486 adet kan serumu örneğinin 359 adedi (%74), aynı sayıdaki süt serumu örneğinin 209 adedi (%43) adedi BHV1 antikorları yönünden pozitif bulundu. Pozitif olarak tespit edilen 359 adet kan serumu örneğinin SN₅₀ dağılımları 1:1-≥1:256 arasında; pozitif süt serumu örneklerinin SN₅₀ dağılımları ise 1:1-1:32 arasında bulundu (Tablo 2). Diğer taraftan 23 adet (%5) süt serumu örneği ise hücre kültürü için toksik etki göstermesi nedeniyle değerlendirilemedi

Tablo 2. Kan ve Süt Serumu Örneklerinin Mikronötralizasyon Testi Sonuçları:

İşletme Kodu	Toplanan Kan ve Süt Serumu Sayısı	Pozitif Kan Serumu (%)	Pozitif Süt Serumu (%)	Değerlendirilemeyen Süt Serumu
01	59	33 (%56)	23 (%39)	-
02	33	9 (%27)	8 (%24)	-
03*	71	68 (%96)	41 (%58)	11 (%15)
04	54	50 (%94)	25 (%46)	2 (%0.2)
05	47	43 (%91)	14 (%30)	5 (%11)
06	48	36 (%75)	33 (%69)	1 (%2)
07	50	45 (%90)	15 (%30)	3 (%6)
08	46	32 (%70)	22 (%48)	-
09	33	22 (%67)	17 (%52)	1 (%3)
10	45	21 (%47)	11 (%24)	-
TOPLAM	486	359 (%74)	209 (%43)	23 (%5)

* İnaktif IBR-IPV virus aşısı yapılan işletme.

Kan ve Süt Serumu Örneklerinin Ortak Dağılımları: Her iki örneğin birlikte

pozitif bulunduğu süt sığırları sayısı 209 adet (%43) olarak saptandı. Bu hayvanlara ait kan

serumlarının SN₅₀ dağılımları 1:1-≥1:256 arasında, süt serumu örneklerinin SN₅₀ dağılımları ise 1:1-1:32 arasında bulundu. IBR-IPV antikorları yönünden kan serumu pozitif, süt serumu negatif hayvanların sayısı 127

(%26) olarak saptandı. 486 adet hayvan içinde kan serumu örnekleri negatif, süt serumu örnekleri yönünden pozitif hayvana rastlanmadı.

Tablo 3. Kan ve Süt Serumu Örneklerinin İşletmelere Göre Karşılaştırmalı Değerlendirilmesi:

İşletme Kodu	Kan ve Süt Serumu Sayısı	IBR-IPV NÖTRALİZAN ANTİKORLARI					
		KAN SERUMU			SÜT SERUMU		
		Pozitif (%)	SN50 Dağılımı	SN50 Ortalaması	Pozitif (%)	SN50 Dağılımı	SN50 Ortalaması
01	59	33 (%56)	1:8-≥1:256	1:27.41	23 (%39)	1:1-1:32	1:2.12
02	33	9 (%27)	1:4-1:64	1:18.19	8 (%24)	1:1-1:4	1:2
03	71	68 (%96)	1:1-≥1:256	1:21.72	41 (%58)	1:1-1:32	1:2.6
04	54	50 (%94)	1:1-≥1:256	1:19.94	25 (%46)	1:1-1:8	1:2.49
05	47	43 (%91)	1:1-≥1:256	1:16.81	14 (%30)	1:1-1:8	1:3.44
06	48	36 (%75)	1:1-≥1:256	1:5.07	33 (%69)	1:1-1:16	1:3.86
07	50	45 (%90)	1:1-1:32	1:5.09	15 (%30)	1:1-1:8	1:1.9
08	46	32 (%70)	1:1-1:32	1:3.47	22 (%48)	1:1-1:8	1:2
09	33	22 (%67)	1:1-1:64	1:5.04	17 (%52)	1:1-1:2	1:1.2
10	45	21 (%47)	1:4-≥1:256	1:15.49	11 (%24)	1:1-1:16	1:2.6
TOPLAM	486	359 (%74)		1:11.01	209 (%43)		1:2.31

İşletmeler genelinde kan serumunun antikor titresi baz alınarak, süt serumunun BHV1 antikorları yönünden pozitifliği (%) ve antikor titresi dağılımı aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4:

Kan Serumu SN50	Süt Serumu Pozitifliği	Süt Serumu SN50
1:4-1:8	%87	1:1-1:4
1:16-1:32	%87	1:1-1:16
1:64 ve üzeri	%99.7	1:1-1:32

Virolojik Çalışma Sonuçları:

Süt Örneklerinden Virus İzolasyon Çalışması Sonuçları: Mastitisli 96 adet süt sığına ait süt örneklerinin bir adedinden (3 nolu işletme) FDB hücre kültüründe CPE gösteren bir virus izolasyonu gerçekleştirildi.

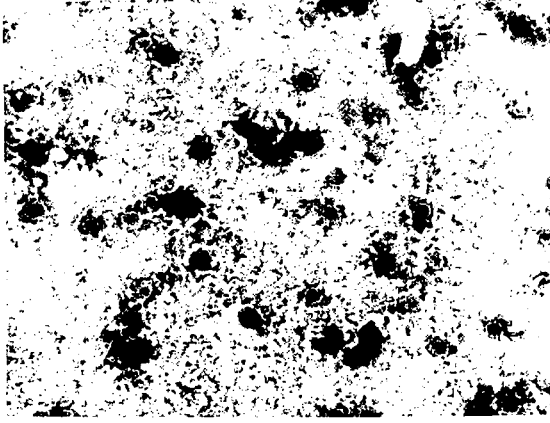
İzole Edilen Virusun İdentifikasyon Çalışmaları Sonuçları:

İzole Edilen Virusun Mikrotitrasyonu: İzole edilen virusun, MDBK hücre kültüründe

enfeksiyözite gücü Kaerber'e (23) göre DKID₅₀= 10^{-4.5}/0.1ml. olarak hesaplandı.

BHV1 Hiperimmün Serumu ile Nötralizasyon: İzole edilen virusun, tavşanlardan sağlanan BHV1 hiperimmün serumu ile uygulanan nötralizasyon testi sonucunda, izolat BHV1 olarak tanımlandı.

İzole Edilen Virusun Elektron Mikroskopisi: İzolatın EM kontrolünde



Resim 1

Tartışma ve Sonuç

BHV1 in organizmada doku ve sistem lokalizasyona göre oluşturduğu hastalıklar sonucunda, işletmelerde büyük ekonomik kayıplar meydana gelmektedir. Özellikle süt sığırcılığı işletmelerinde, ekonomik yönden önem taşıyan bir hastalık olan mastitise de neden olabilen BHV1, ekonomik olarak yetiştiricileri etkilemesinin yanında süt yoluyla da enfeksiyonun sağlıklı hayvanlara bulaşmasında rol oynayabilmektedir.

Türkiye'de IBR-IPV enfeksiyonunun prevalansının araştırıldığı çalışmalar (4,7,11,12,21,31) değerlendirildiğinde, enfeksiyonun yaygınlığının giderek arttığı görülmektedir. Bu durum, enfeksiyonun kontrol altına alınmasında ilk basamak olan düzenli serolojik taramaların gerekliliğine dikkati çekmektedir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda (7,11,12,21,31) BHV1 antikorlarının araştırılmasında kan serumu örnekleri kullanılmıştır. Bu çalışmada ise, kan örneklerinin yanısıra elde edilmesi kana oranla daha kolay olan süt örneklerinden de yararlanılarak, her iki serum örneği BHV1 antikorlarının varlığı yönünden test edilmiş ve süt örneklerinin enfeksiyonun tanısında kan örneklerine alternatif bir materyal olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

karakteristik herpesvirus virionları tespit edildi (Resim 1).

Bu çalışmada, IBR-IPV antikorları yönünden kontrol edilen 486 adet kan ve süt serumu örneğinden, kan serumu örneklerinin 359 adedi (%74), süt serumu örneklerinin 209 adedi (%43) pozitif sonuç vermiştir. Pozitif sonuç veren kan ve süt serumu örneklerinin SN₅₀ değerlerinin tespiti amacıyla yapılan mikronötralizasyon testinde, kan serumu örneklerinin SN₅₀ değerleri 1:1-≥1:256 arasında, süt serumu örneklerinin SN₅₀ değerleri 1:1- 1:32 arasında bulunmuştur. Tablo 4 de görüldüğü gibi, kan serumunda antikor titresi yüksek olan hayvanlara ait olan süt örneklerinde de antikor titrelere yüksek bulunmuştur. BHV1 antikorları yönünden her iki örneğin de pozitif bulunduğu hayvan sayısı 209 (% 43) olarak tespit edildi. Kontrol edilen 486 adet örnek içinde, süt serumu pozitif olduğu halde kan serumu negatif örneğe rastlanmamıştır. Bunun yanısıra, 486 adet süt serumu örneğinden 23 adedi (%5), kan serumu örnekleri pozitif sonuç vermesine rağmen hücre kültürlerinde toksik etki oluşturmaları nedeniyle değerlendirilememiştir.

Mikronötralizasyon testi sonuçlarına göre, kan serumu örneklerinin pozitiflik değerinin, süt serumu örneklerine oranla daha yüksek olduğu görülmektedir. Her iki örnek arasında oransal olarak bulunan bu farkın, laktasyonda bulunan hayvanların sütlerine genel dolaşım ile geçen antikorların normalde kana oranla düşük seviyede olmasından (18,19,29,39) veya latent dönemin reaktivasyonu ile kanda düşük titrede olan ve genel dolaşım ile süte geçen antikorların mikronötralizasyon testi ile henüz tespit edilebilecek düzeyde olmamasından (39) kaynaklandığı düşünülmektedir.

Örnekler arasında kan serumu negatif, süt serumu pozitif hayvana rastlanmamış olmasına rağmen, kan serumunda düşük antikor (1:1-1: 2) tespit edilen 23 adet örneğin süt serumlarının 1:1-1: 8 değerleri arasında bulunması, hayvanlarda lokal enfeksiyon nedeniyle sütteki salgısal IgA ların varlığına bağlanmaktadır. Bu nedenle BHV1 enfeksiyonunun tanısında lokal

antikorların da önem taşıdığı, yalnız kanda bulunan antikorların BHVI in tanısında yetersiz kalabileceği durumların söz konusu olduğu düşünülmektedir.

Bu gerçekler doğrultusunda, BHVI enfeksiyonunun laboratuvar teşhisinde, özellikle süt sığırcılığı işletmelerinde zaman zaman her iki örneğin birlikte kontrol edilmesinin, sonuçların değerlendirilebilmesi yönünden yararlı olabileceği kanısına varılmıştır.

Bu araştırmada ayrıca, mastitisli ineklerden 96 adet süt örneği alınarak sütün IBR-IPV enfeksiyonunun epidemiyolojisindeki rolünün ortaya konmasına da çalışılmıştır. Araştırmada mastitisli ineklere ait süt örneklerinden yalnızca birinde virus tespit edilmesine rağmen, mastitisli hayvanların kan ve süt serumlarında yüksek titrede (1:1-≥1:256 ve 1:1-1:32) IBR-IPV antikorlarının bulunması, daha önceki araştırmacıların (17,32,33,35) da bildirdiği gibi süt örneklerinden virus izolasyonunun zorluğunu ortaya koymaktadır. Probst ve ark. (32,33) yaptıkları deneysel çalışmalarda, akut dönemde sütte virus tespit edememelerine rağmen, latent dönemin reaktivasyonundan sonra sütte antikor konsantrasyonunun yoğunluğunu kaybettiği durumlarda süt örneklerinden virus izolasyonunun mümkün olabileceğini göstermişlerdir. İzolasyonun gerçekleştirildiği hayvanın kan serumu örneğinde antikor titresi 1:128, süt serumu örneğinde ise 1:2 olarak tespit edilmiştir. Kan ve sütte tespit edilen yüksek değerdeki nötralizan antikorların sütle virus saçılımına engel olamadığı ortaya konmuştur. Bu durum bazı araştırmacıların (2,37) da belirttiği gibi latent dönemin reaktivasyonundan sonra kan serumunda BHVI antikorlarının varlığına rağmen, enfekte hayvanlara ait değişik sekret ve ekskretlerden BHVI in izole edilebileceği sonucuyla paralellik göstermektedir.

Virus izolasyonu gerçekleştirilen işletmedeki hayvanlara, örneklemeden 12 ay önce inaktif IBR-IPV virus aşısı yapılmış olması ve hayvanda izolasyonun gerçekleştirildiği sırada kan ile süt serumunda BHVI spesifik antikorlarının tespit edilmesi, izolatin muhtemelen ganglion hücrelerinde latent halde bulunan ve aşılama dışında başka

bir stres faktörü etkisiyle reaktif olan saha virusu olduğunu göstermektedir. Mastitisli bir hayvana ait süttten BHVI in izole ve identifiye edilmesi, mastitisli hayvanlara ait sütlerin hastalığın epidemiyolojisinde rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, bu araştırma ile Türkiye'de ilk kez IBR-IPV enfeksiyonunun tanısında ve özellikle süt sığırcılığı işletmelerinde hastalığın varlığının araştırılmasında, kan serumu örneklerinin yanında süt serumu örneklerinin de serolojik teşhis amacı ile kullanılabilmesi, her iki örneğin paralel kullanıldığı takdirde elde edilecek sonuçların değerlendirmede daha yararlı olacağı ve özellikle süt sığırcılığı işletmelerinde mastitis olgularında IBR-IPV enfeksiyonunun gözönünde bulundurulması gerektiği ve bu tür annelere ait sütlerin yavrulara verilmesinde enfeksiyon riskinin düşünülmesinin gerekli olduğu ortaya konulmuştur.

Kaynaklar

- 1- **Abinanti, F. R. and Plumer, G. J. (1961):** The Isolation of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus from Cattle Affected with Conjunctivitis-Observations on the Experimental Infection. *Am. J. Vet. Res.*, 22 (86) : 13-17.
- 2- **Ackermann, M. and 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. And Bannister, G. L. (1970):** Viral infections of the bovine mammary gland. *Vet. Bull.*, 40 (9) : 681-686.
- 4- **Akça, Y. (1981):** Türkiye'de Sığır ve Koyunlarda Infectious Bovine Rhinotracheitis - Infectious Pustular Vulvovaginitis (IBR-IPV) Üzerinde Serolojik Araştırmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak. , Viroloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara.
- 5- **Baker, J. A., McEntee, K., and Gillespie, J. H. (1960):** Effects of Infectious Bovine Rhinotracheitis- Infectious Pustular Vulvovaginitis Virus on Newborn Calves. *Cornell Vet.*, 50 : 156-170.

- 6- **Bowen, R. A., Elsdon, R. P. And Seidel, G. E. (1985):** Infection of early bovine embryos with bovine herpesvirus 1. *Am. J. Vet. Res.*, 46 (5) : 1095-1097.
- 7- **Burgu, İ. ve Akça, Y. (1986):** Türkiye'de Suni Tohumlamada Kullanılan Bazı Damızlık Boğalarda IBR-IPV Enfeksiyonu. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 33 (1) : 113-121.
- 8- **Burgu, İ., Akça, Y., Alkan, F., Özkul, A. ve Karaoğlu, T. (1995):** Yenidoğan İshalli Buzağlarda Rotavirusların EM, ELISA ve PAGE Teknikleri ile Çabuk Teşhisi ve Antijenik Karakterizasyonu *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*,
- 9- **Bühler, A. (1994):** Prüfung etwaiger Zusammenhänge zwischen der Konzentration von BHV1- Antikörpern in Blut- und Milchproben sowie dem Laktationstand von Milchrindern unter besonderer Berücksichtigung der peripartalen Phase, Inaugural- Dissertation, Hannover.
- 10- **Cliver, D. O., Ellender, R.D. and Sobsey, M. D. (1983):** Methods for Detecting Viruses in Foods: Background and General Principles. *J. Food Pr.*, 46 (3) : 248-259.
- 11- **Çabalar, M. (1993):** Fertilite Problemleri İneklerde Enfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis-Enfeksiyöz Pustular Vulvovaginitis (IBR-IPV) Virus İzolasyonu ve Seroepidemiolojisi. *A.Ü. Sağlık Bil. Ens., Doktora Tezi.*
- 12- **Erhan, M., Onar, B., Csontos, L. and Hopkins, I. G. (1971):** Serological survey on some virus and bedsonia diseases of cattle, sheep and horse. *Pendik Vet. Kont. Ve Araş. Enst. Derg.*, 4 (2) : 55-58.
- 13- **Fenner, F. (1987) :** Herpesviruses: Veterinary Virology, Academic Press, London, pp. 339-373.
- 14- **Forschner, V.E. und Bünger, I. (1986):** Nachweis von IBR-IPV- Leucose- und Brucellose- Antikörpern in Bestandsmilchproben mit ELISA nach einer einfachen Konzentrierungsmethode. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.*, 93 : 112-115.
- 15- **Forschner, V. E., Bünger, İ., Küttler, D. Und Mehrkens, L. (1986):** IBR-IPV Serodiagnostik mit ELISA-Methoden an Blut-, Einzelmilch- und Tankmilchproben; Kontrollmassnahmen zur Erhaltung unverdächtigter Rinderherden ; Sanierungswege unter Berücksichtigung der Impfung. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.*, 93 : 328-335.
- 16- **Frey, H. R. und Liess, B. (1971):** Vermehrungskinetik und verwendbarkeit eines stark zytopatogenen VD-MD virusstammes für diagnostische untersuchungen mit der mikrotiter-methode. *Zbl. Vet. Med. B.*, 18 : 61-71.
- 17- **Gourley, R. N. And Stott, E. J. (1974):** Isolation of Mycoplasma agalactia var bovis and Infectious Bovine Rhinotracheitis virus from an outbreak of mastitis in France. *Vet. Rec.*, 7 : 534-535.
- 18- **Göller, C. (1990):** Untersuchungen an mit BHV 1 Antikörpern versetzten und im integrierten Lab- Ammoniumsulfat-verfahren konzentrierten Bestandsmilchproben zum Nachweis des konkreten Konzentrierungseffektes mit Hilfe eines ELISA. Inaugural-Dissertation, hannover.
- 19- **Gövert, R. (1991):** Die serologische Untersuchung von herdenmilchpools als alternative Basis von Kontroll-verfahren im Rahmen der IBR-IPV - Bekämpfung. Inaugural- Dissertation, hannover.
- 20- **Guy, J. S. and Potgieter, L. N. D. (1985):** Kinetics of antibody formation after the reactivation of bovine herpesvirus-1 infection in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 46 (4) : 899-901.
- 21- **Gürtürk, S., Finci, E. ve Burgu, İ. (1975):** Yurdumuz Sığırlarında Enfeksiyöz Rhinotracheitis (IBR) Üzerinde Araştırmalar. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 22 (3-4) : 104-111.
- 22- **Hafez, S. M. and Chaudhry, R. (1985) :** Isolation and Identification of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus in Saudia Arabia. *Arab. Gulf. J. Scient. Res.*, 3 (2) : 735-744.
- 23- **Kaerber, G. (1964):** In diagnostic procedures for virus and rickettsial disease. *Public. Health. Ass. (New York)*. 3 : 48-50.
- 24- **Kahrs, R. F. (1977):** Infectious Bovine Rhinotracheitis; A Review and Update. *J.A.V.M.A.*, 171 (10) : 1055-1064.
- 25- **Krause, H. P., Achilles, H., Lehmann, M. und Stammler, M. (1989):** Vergleichende serologische Untersuchungen gleichzeitig entnommener Blut- und Milch- proben auf

- BHV1 - Antikörper in drei unterschiedlichen ELISA- Systemen. Tierarztl. Umschau, 44 : 482-488.
- 26- **Lehmann, M. (1990):** Vergleichende serologische Untersuchungen von Blut- und Einzelmilchproben auf BHV1 (IBR-IPV) - Antikörper mit einem ELISA- System (Enzygnost IBR-IPV) in Rinderbeständen des Landkreises Soltau-Fallingb. Inaugural-Dissertation, Hannover.
- 27- **Miller, J. M. (1991):** The effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle. Vet. Med., 1: 95-98.
- 28- **Narita, M., Inui, S., Namba, K. and Shimizu, Y. (1976):** Trigeminal Ganglionitis and Encephalitis in Calves Intranasally Inoculated with Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus. J. Comp. Path., 86 : 93-100.
- 29- **Newby, T. J. and Bourne, F. J. (1977):** The Nature of the Local Immune System of the Bovine Mammary Gland. J. Immunol., 118 (2): 461-465.
- 30- **OIE Manuel (1990):** IBR, Volume II, France, pp. 1-6.
- 31- **Öztürk, F., Toker, A. ve Yavru, S. (1988):** Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Sığırlarında Enfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis-Enfeksiyöz Pustular Vulvovaginitis (IBR-IPV) Üzerinde Araştırmalar. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg., 4 (1) : 53-64.
- 32- **Probst, U., Ehrensperger, F., Ackermann, M., Müller, H. und Kihm, U. (1983):** Bovine herpesvirus 1 (BHV1) Shedding in the Milk During the Acute and Latent State of Infection. Exper., 39 : 1425.
- 33- **Probst, U., Wyler, R., Kihm, U., Ackermann, M., Bruckner, L., Müller, H. K. und Ehrensperger, F. (1985):** Zur IBR-Virus-Ausscheidung experimentell infizierter Kühe insbesondere in der Milch. Schweiz Arch. Tierheilk., 127 : 723-733.
- 34- **Reed, D. E., Langpap, T. J. and Anson, M. A. (1977):** Characterization of Herpesviruses Isolated from Lactating Dairy Cows with Mammary Pustular Dermatitis. Am.J. Vet. Res., 38(10):1631-1634.
- 35- **Roberts, A. W. and Carter, G. R. (1974):** Infectious Bovine Rhinotracheitis Recovered from the Milk of a Cow with Mastitis. J. A. V. M. A., 164 : 413.
- 36- **Straub, O. C. (1990):** Infectious Bovine Rhinotracheitis. In : Dinter, B. and Morein, B. (Editor) : Virus Infectious of Ruminants., Elsevier of Publishers, Amsterdam., pp. 71-108.
- 37- **Straub, O. C. (1991):** BHV1 Infections : relevance and Spread in Europe. Comp. Immunol. Microbiol. Infec. Dis., 14 (2) : 175-186.
- 38- **Van Donkersgoed, J. and Babiuk, L. A. (1991):** Diagnosing and managing the respiratory form of infectious bovine rhinotracheitis. Vet. Med., 1 : 86-94.
- 39- **Witte, K. H., Hanemann, P., Dopatka, H. D. And Giesendorf, B. (1989):** Technical improvements of a commercial ELISA to detect antibodies against BHV1. Med. Microbiol. Immunol., 178 : 9-20.