



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI
VVR-YL-2014-004**

**AYDIN VE İZMİR İLLERİNDEKİ KOYUN VE KEÇİLERDE
PESTİVİRUS ENFEKSİYONUNUN SEROLOJİK VE
VİROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Zafer Emin URAL

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Nural EROL

AYDIN-2014

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI
VVR-YL-2014-004**

**AYDIN VE İZMİR İLLERİNDEKİ KOYUN VE KEÇİLERDE
PESTİVİRUS ENFEKSİYONUNUN SEROLOJİK VE
VİROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Zafer Emin URAL

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Nural EROL

AYDIN-2014

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Viroloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Vet. Hek. Zafer Emin URAL tarafından hazırlanan “Aydın ve İzmir İllerindeki Koyun ve Keçilerde Pestivirus Enfeksiyonunun Serolojik ve Virolojik Olarak Araştırılması” başlıklı tez, 03.12.2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

Yrd.Doç.Dr. Nural EROL

Prof.Dr. M.Tolga TAN

Yrd. Doç.Dr. Göksel ERBAŞ

Üniversitesi :

Adnan Menderes Üniversitesi

Adnan Menderes Üniversitesi

Adnan Menderes Üniversitesi

İmzası:



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans/Doktora Tezi Enstitü Yönetim Kurulunun..... Sayılı kararıylatarihinde onaylanmıştır.

Prof.Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Hayvanların sağlıklı olarak yetiştirilebilmesi ve en yüksek verimin elde edilebilmesi için, enfeksiyöz hastalıklardan koruma önemli bir rol oynamaktadır. Bu amaçla, bölgede bulunan yaygın hastalıkların bilinmesi, viral hastalıklar yönünden sürekli kontrollerinin yapılması gerekmektedir. Viral hastalıkların tanısının yapılması ve epidemiyolojik durumlarının araştırılması, mücadele yöntemlerinin belirlenmesi ve geliştirilmesi için önemli bir kriterdir. Viral hastalıkların epidemiyolojik kontrol ve analizlerinin düzenli olarak yapılması ve teşhis edilmesi ile bölgedeki varlıklarının ve yaygınlıklarının belirlenmesi mücadele, kontrol ve eradikasyon açısından çok önemli olup, bu hastalıklardan kaynaklanan ekonomik kayıpların azaltılmasına ve hatta ortadan kaldırılmasına yardımcı olabilmektedir.

Pestiviruslar ve özellikle Border Disease virusu (BDV) kuzularda kongenital enfeksiyona bağlı olarak gelişen düşük doğum ağırlığı, kıl örtüsü bozuklukları, gelişme bozuklukları (kongenital anomali) ve sinirsel bulgularla ortaya çıkan viral bir enfeksiyona yol açmaktadır. Türkiye'de yapılan çalışmalar pestivirus enfeksiyonunun koyunlarda oldukça yaygın olduğu ve abort olaylarında rol oynadığını ve pestivirus enfeksiyonunun ülkemizde enzootik olarak seyrettiğini göstermektedir. Bu durumda pestiviral enfeksiyonların küçükbaş hayvan yetiştiriciliğine büyük ölçüde ekonomik kayıplar verdiği açıktır. Enfeksiyonun bölgemizdeki varlığı ve yaygınlığı konusundaki güncel bilgiler sınırlı kalmaktadır. Ayrıca bölgemizde klinik olarak benzer hastalıkların bulunması tanıyı ve mücadeleyi güçleştirdiği için söz konusu enfeksiyonun ve diğer enfeksiyonların bölgedeki durumunun periyodik olarak yapılan taramalarla belirlenmesini zorunlu kılmaktadır.

Bu çalışma ile Aydın ve İzmir illerindeki koyun ve keçi yetiştiriciliği yapan işletmelerde pestivirus enfeksiyonunun serolojik olarak varlığının ve yaygınlık oranının saptanması amaçlanmıştır. Bu araştırma için İzmir'deki aile işletmeleri ve Aydın Koyun ve Keçi Yetiştiricileri birliği ile koordineli çalışılmıştır. Çalışma sonunda, sonuçlar hakkında yetiştiricilere enfeksiyonun durumu ve yapılması gerekenler hakkında bilgi verilmiş, hastalık kontrolü için önerilerde bulunulmuştur. Çalışmada virolojik olarak antijen taraması yapılarak enfeksiyonun epizootiyolojisinde oldukça önemi olan ve devamlı virus saçan

persiste enfekte hayvanların var olup olmadığı ve yaygınlık oranının saptanması, amaçlanmıştır. Araştırmada virus tespit edilmesi durumunda, yörede ve Türkiye’de yapılacak daha kapsamlı çalışmalara kaynak teşkil edebilmesi için virusun genetik karakterizasyonunun yapılması planlanlanmıştır ancak, viremik hayvan tespit edilememiştir.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
EKLER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Tarihçe.....	4
1.2. Etiyoloji.....	5
1.3. Epizootiyoloji.....	9
1.4. Türkiye’deki Koyun ve Keçilerde Pestivirus Enfeksiyonlarının Durumu.....	11
1.5. Patogenez.....	14
1.6. Klinik ve Patoloji.....	17
1.7. Teşhis.....	20
1.7.1. Direkt Tanı.....	20
1.7.2. İndirek Tanı.....	21
1.7.3. Ayırıcı Tanı.....	22
1.8. Mücadele.....	22
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
2.1. Gereç.....	24
2.1.1. Örneklenen Hayvanlar.....	24
2.1.2. Hücre Kültürü.....	28
2.1.3. Virus.....	28
2.2. Yöntem.....	29
2.2.1. Kan Örneklerinin İşlenmesi.....	29
2.2.2. Hücrelerin Üretilmesi.....	29
2.2.3. Virusun Üretilmesi.....	29
2.2.4. Virusun Titresinin Belirlenmesi (Titrasyon Testi).....	30
2.2.5. Virus Nötralizasyon ve Nötralizasyon ₅₀ (SN ₅₀) Testi.....	30
2.2.6. ELISA (Antijen) Kiti.....	31
2.2.7. İstatiksel Değerlendirme.....	33

3. BULGULAR	34
3.1. Serolojik Araştırma Bulguları	34
3.1.1. Hayvan Türlerine Göre Seropozitiflik Oranları.....	34
3.1.2. İllere Göre Seropozitiflik Oranları	34
3.1.3. Yaşlara Göre Seropozitiflik Oranları.....	35
3.1.4. Hayvanların Cinsiyetlerine Göre Seropozitiflik Oranları.....	37
3.1.5. Hayvanların Irklarına Göre Seropozitiflik Dağılımları	38
3.1.6. Seropozitif Örneklerin Serum Nötralizasyon 50 (SN ₅₀) Sonuçları	40
3.2. Virolojik Araştırma Bulguları	40
4. TARTIŞMA.....	41
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
ÖZET	49
SUMMARY	50
KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	66
TEŞEKKÜR	67
EKLER	68

KISALTMALAR VE SİMGELER

BD	: Border Disease
BDV	: Border Disease virus
MD	: Mucosal Disease
BVDV	: Bovine Viral Diare Virus
BVD	: Bovine Viral Diarrhe
DKID ₅₀	: Doku Kültürü Enfektif Doz % 50
DMEM	: Dulbecco's Minimal Essential Doz % 50
EDTA	: Ethylene-Diamine- Tetra- Acetic-Acid
FDS	: Fötal Dana Serum
KDVV	: Klasik Domuz Vebası Virusu
PE	: Persistent Enfekte
IFN	: Interferon
Ig	: Immunglobulin
IPV	: Infectious Pustuler Vulvovaginitis
MDBK	: Madine Darby Bovine Kidney
mAk	: Monoklonal Antikorlar
µl	: mikrolitre
MLV	: Modifiye Canlı Virus
NK	: Natural Killer
OD	: Optik Dansite
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PK-15	: Pig Kidney
PCR	: Polimeraze Chain Reaction
rpm	: Revolutions Per Minute
SN ₅₀	: Serum Nötralizasyon % 50
CP	: Sitopatojen
VNT	: Virus Nötralizasyon Testi
KKKS	: Koyun Keçi Kayıt Sistemi
EMEM	: Eagle's Minimal Essential Medium

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. İllere Göre Örneklenen Hayvan ve İşletme Sayıları	254
Çizelge 2.2. İzmir’deki İşletmelere Göre Örneklenen Hayvan Sayıları.....	25
Çizelge 2.3. Aydın’daki İşletmelere Göre Örneklenen Hayvan Sayıları	26
Çizelge 2.4. Yaşlarına Göre Örneklenen Koyun ve Keçi Sayıları	26
Çizelge 2.5. Cinsiyetlere Göre Örneklenen Hayvan Sayıları	27
Çizelge 2.6. Keçi Irklarına Göre Örneklenen Hayvan Sayıları.	27
Çizelge 2.7. Koyun Irklarına Göre Örneklenen Hayvan Sayıları.....	28
Çizelge 3.1. Hayvan Türlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları	34
Çizelge 3.2. İllere Göre Keçilerdeki Seropozitiflik Dağılımları	35
Çizelge 3.3. İllere Göre Koyunlardaki Seropozitiflik Dağılımları	35
Çizelge 3.4. Keçilerin Yaşlarına Göre Seropozitiflik Dağılımları	36
Çizelge 3.5. Koyunların Yaşlarına Göre Seropozitiflik Dağılımları	37
Çizelge 3.6. Keçilerin Cinsiyetlere Göre Seropozitiflik Dağılımları	37
Çizelge 3.7. Koyunların Cinsiyetlere Göre Seropozitiflik Dağılımları	38
Çizelge 3.8. Keçilerin Irklarına Göre Seropozitiflik Dağılımları	39
Çizelge 3.9. Koyunların Irklarına Göre Seropozitiflik Dağılımları.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Seropozitif Hayvanlarda Antikor Titre Dağılımları	40
--	----

EKLER DİZİNİ

Ek 1.İllere ve Hayvan Türlerine Göre Seropozitiflik Oranları	68
Ek 2. İzmir ilinde Toplanan Örneklerin İşletmelere Göre Seropozitiflik Dağılımları	69
Ek 3. Aydın ilinde Toplanan Örneklerin İşletmelere Göre Seropozitiflik Dağılımları	70
Ek 4. Keçilerin Irk ve Cinsiyetlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları	71
Ek 5. Koyunların Irk ve Cinsiyetlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları	72

1. GİRİŞ

Viruslar, direkt veya dolaylı olarak hayvanlarda, ölüm, gelişme geriliği, et ve süt veriminde azalma, reproduktif problemler, abort ve kongenital anomali gibi çeşitli sorunlar oluşturmakta ve buna bağlı olarak büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu ekonomik kayıplar hayvancılığın gelişmesine engel olmaktadır.

Koyun yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen ve önemli ekonomik kayıplara sebep olan faktörlerin başında abort ve yavru ölümleri gelmektedir. Abortların enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan birçok nedeni olmasına rağmen klinik tanı ve tedavilerinin güç olması nedeniyle viral abort olaylarının ayrı bir önemi vardır. Viral nedenler içerisinde pestivirus enfeksiyonları, mavidil, akabane hastalığı, sıçrama hastalığı yanında şap, koyun çiçeği ve rift vadisi humması önem arz etmektedir (Radostits 2008, Scott 2007). Sığır, koyun ve domuz popülasyonlarında enfeksiyon meydana getiren pestivirusların tüm dünyada ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir (Radostits 2008, O'Neill 2004).

Border Disease (BD; Sınır Hastalığı), koyun ve keçi popülasyonlarında özellikle reproduktif sisteme yönelik bulgularla karakterize, kuzularda kongenital enfeksiyona bağlı olarak gelişen düşük doğum ağırlığı, kıl örtüsü bozuklukları, gelişme bozuklukları (kongenital anomali) ve sinirsel bulgularla ortaya çıkan viral bir enfeksiyondur. Genellikle erişkin koyunlarda hastalık sublinik seyreder (Çabalar 2011). Hastalık, ingilizcede Hairy Shaker Disease veya Fuzzy Lambs Syndrome gibi sinonim isimlerle de anılmaktadır.

Border Disease Virusunu (BDV) içine alan pestivirus genusu içerisinde son yıllarda birbirleriyle antijenik ve genetik olarak yakın akraba dört virus sınıflandırılmaktadır; BDV, Klasik Domuz Vebası Virus (Classical Swine Fever Virus; CSFV), Bovine Viral Diarrhoe virusu (BVDV) genotip 1 ve BVDV genotip 2 (Heinz ve ark 2000, Plant ve ark 1973). Etken hem sığırların BVDV genotip 1 ve 2 hem de Avrupa Domuz Vebası Virus ile yakın antijenik ilişki içindedir. BVDV ve BDV izolatlarının antijenik yakınlığı, fiziksel ve biyolojik benzerlikleri nedeniyle her iki virus Pestivirus genusu içinde aynı tür olarak kabul edilebilirler. Genetik analiz ve virusa özgü monoklonal antikorlar yardımıyla bu virusların birbirinden ayrımı mümkün olabilmektedir (Burgu 2003).

Pestiviruslar, konakçı bariyerini aşabilmektedir. Virusların her biri enfeksiyona sebep oldukları hayvan türünün yanı sıra sığır, koyun, keçi ve domuzlarda doğal ve deneysel enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Burgu ve ark 1987, Carlsson 1991, Van Oirschot 1983). Saha çalışmaları ve deneysel çalışmalar, sığırlarda BDV ve koyunlarda sığırların BVD virusu ile benzer klinik ve patolojik tablolar ile karakterize enfeksiyonun geliştiğini ortaya koymuştur (Van Oirschot 1983, Carlsson ve Belak 1994). Pestiviruslar kongenital enfeksiyonun yanında, akut enfeksiyonlara da yol açabilir. Enfeksiyonun epidemiyolojisinde vertikal nakil oldukça önemli bir rol oynamaktadır (Kalaycı 2012). Özellikle koyunlarda fetal enfeksiyon sonucunda, yaşamları boyunca virusu devamlı taşıyan Persistent enfekte (PE) kuzu doğumları oluşabilmektedir. Hastalığın yayılmasında PE hayvanların önemi büyüktür. Keçilerde PE yavru doğumuna ilişkin bildirim bulunmamaktadır.

Koyun ve keçilerde oro-nazal enfeksiyonu takiben gelişen akut enfeksiyonda erişkin hayvanlarda hafif ateş dışında bir klinik semptom görülmez. Buna karşın plasenta bariyerini aşan etken fetal enfeksiyona neden olur ve gebeliğin dönemine göre fetusta farklı sonuçlara yol açar (Evermann ve ark 1981, Sawyer ve ark 1991). Kuzulama zamanı görülen abortlarda prematüre doğum, zayıf yavru veya doğumu takiben ölen yavru lar görülebilir. Nervöz semptomlar karakteristik olup, şiddetli tremor, arka ayaklar ve sırt kaslarında ritmik kontraksiyon, baş, kuyruk ve kulaklarda titreme görülür. Yapağı özellikle sırt ve boyun bölgesinde kıllar köpek kılı görünümünde, karışık ve dayanıklılığını kaybetmiştir (Hairy Shaker Disease).

Ülkemizde küçük ruminantlarda pestivirusların neden olduğu ekonomik kayıpların araştırılması üzerine yapılan çalışmalarda (Burgu ve ark 1984, 1987, Burgu ve ark 2001) örneklenen sürülerde %0.06-3 arasında değişen oranlarda etken varlığı tespit edilmiştir. Türkiye'de yapılan çalışmalarda (Burgu ve ark 1994 ve 2001; Şimşek ve ark 1998) pestivirus enfeksiyonunun koyunlarda oldukça yaygın olduğu ve abort olaylarında rol oynadığı ortaya konulmuştur. Burgu (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, koyunlarda pestivirus enfeksiyonunun ülkemizde enzootik olarak seyrettiği bildirilmiştir. Doğu ve Güneydoğu Anadolu'daki keçi sürülerinde yapılan epidemiyolojik bir çalışmada ise; pestiviruslara karşı oldukça yüksek oranda (BDV'una karşı % 63.6, BVDV'una karşı % 30.2) seropozitiflik tespit edilmiştir. Ataseven ve ark 2006, Oğuzoğlu ve ark 2006

tarafından Türkiye’de ilk kez koyunlardan tespit edilmiş olan pestivirus izolatlarının genetik karakterizasyonu yapılmış ve bu izolatlar, BDV olarak klasifiye edilmiştir. Filogenetik analiz verilerine göre etkenlerin, Klasik Domuz Vebası Virusu (KDVV) ile antijenik yakınlığı olduğu ve BDV alt gruplarından herhangi birine dahil olmadığı tespit edilmiştir (Oğuzoğlu ve ark 2009).

Hayvanların sağlıklı olarak yetiştirilebilmesi ve en yüksek verimin elde edilebilmesi için, enfeksiyöz hastalıklardan koruma önemli bir rol oynamaktadır. Bu amaçla, bölgede bulunan yaygın hastalıkların bilinmesi, viral hastalıklar yönünden sürekli kontrollerinin yapılması gerekmektedir. Viral hastalıkların tanısının yapılması ve epidemiyolojik durumlarının araştırılması, mücadele yöntemlerinin belirlenmesi ve geliştirilmesi için önemli bir kriterdir. Viral hastalıkların epidemiyolojik kontrol ve analizlerinin düzenli olarak yapılması ve teşhis edilmesi ile bölgedeki varlıklarının ve yaygınlıklarının belirlenmesi mücadele, kontrol ve eradikasyon açısından çok önemli olup, bu hastalıklardan kaynaklanan ekonomik kayıpların azaltılmasına ve hatta ortadan kaldırılmasına yardımcı olabilmektedir.

Türkiye’de pestivirusların varlığı ve ruminantlar için enfeksiyon riski oluşturdukları birçok çalışma ile ortaya konulmuştur (Burgu ve ark 1987, Alkan ve Burgu 1993, Burgu ve Özkul 1993, Burgu ve ark 1997, Yapıkçı 1999). Türkiye’de yapılan araştırmalarda abort olaylarının %0,7 ile %10 oranında pestivirus varlığı bildirilmiştir (Hasırcıoğlu ve Ark 2009, Albayrak ve Özkan 2012, Burgu 1987).

Türkiye’de yapılan çalışmalar pestivirus enfeksiyonunun koyunlarda oldukça yaygın olduğu ve abort olaylarında rol oynadığını ve pestivirus enfeksiyonunun ülkemizde enzootik olarak seyrettiğini göstermektedir (Burgu ve ark 1994 ve 2001, Şimşek ve ark1998). Bu durumda pestiviral enfeksiyonların küçükbaş hayvan yetiştiriciliğine büyük ölçüde ekonomik kayıplar verdiği açıktır.

Bu çalışmada Aydın ve İzmir illerindeki koyun ve keçi yetiştiriciliği yapan işletmelerde BDV enfeksiyonunun serolojik ve virolojik olarak varlığı ve yaygınlık oranı araştırılmıştır. Çalışmada virus antijeni taraması yapılarak enfeksiyonun epizootiyolojisinde oldukça önemi olan ve devamlı virus saçan persiste enfekte (PE) hayvanların tespit edilmesi ve görülme sıklığının saptanması amaçlanmıştır.

1.1.Tarihçe

Ruminant pestiviruslarının literatüre girmesi ilk defa 1946 yılında New York'ta sığırlarda görülen yeni bir hastalığın klinik olarak tanımlanması ile olmuştur. 1950'lerin ortalarına doğru "Mucosal Disease (MD)" olarak adlandırılan bir başka klinik olgu tanımlanmaya başlanmıştır (Dubovi 1999).

Koyun ve keçilerde görülen ve etkeni bir pestivirus olan Border Disease (BD)'in tanımlanması 1940'ların sonunda başlamıştır. Fakat hastalığın ciddi klinik bulgularının seyrek görülmesi sebebiyle bu adlandırma gecikmeye uğramıştır. Hastalık, ilk kez 1959 yılında İngiltere ile Galler arasındaki sınır bölgelerinde bulunan koyunlarda tespit edilmesi dolayısıyla "Border Disease" yani Sınır Hastalığı olarak isimlendirilmiştir (Hughes ve ark 1959).

1970'lerin başında ise hastalığın viral etiyojisi hastalanan hayvanların hücresiz ekstraktlarının aktarım çalışmalarında kullanılmasıyla ortaya çıkmıştır. Yine aynı zamanlarda Border Disease Virusunun (BDV) Bovine Viral Diare Virusu (BVDV) ile ilişkisi ortaya çıkmaya başlamıştır (Dubovi 1999).

Barlow ve ark (1980) BVDV koyunlardaki deneysel enfeksiyonunsonrasında BD benzeri semptomlar gösterdiğini bildirmişlerdir. Bir yıl sonra BD ile BVD viruslarının antijenik olarak çok yakın akrabalık gösterdiği tespit edilmiştir (Loken ve Barlow 1981).

Serum nötralizasyon testi ile yapılan çalışmalarda , Yunanistan'da Spais ve ark (1975) koyun kan serumlarında BVD virusuna (NADL suşu) karşı $SN_{50} = 1:8 - 1:972$ arasında, Almanya'da Liess ve ark (1982) bir sürüye ait 20 kuzuda BVD virusuna karşı $SN_{50} = 1:10-1:20$ arasında ve bu kuzuların annelerinde $SN_{50} = 1:30- 1:270$ arasında değişen titrelerde nötralizan antikorlar saptamışlardır.

Bögel (1964) on yedi sürüye ait toplam 314 koyun kan serumunda plak test yardımı ile yaptığı serum nötralizasyon testinde ortalama % 37.6 oranında BVD virusuna karşı antikorlara rastlamıştır.

St. George (1971), Avustralya'da 832 koyun kan serumunda, serum nötralizasyon testi ile yaptığı antikor taraması sonunda BVD virusuna karşı % 8.2 oranında nötralizan

antikorlara rastlamış, serum nötralizasyon testini French ve Snowdon'un (1964) bildirdikleri 1:5 serum sulandırma metoduna göre uygulamıştır. Antikor titreleri $SN_{50} = 1:10 - 1:270$ arasında dağılım göstermiştir.

Son yıllarda, Sınır Hastalığı enfeksiyonunun küçük ruminant sürülerinde varlığı, yaygınlığı ve izole edilen etkenlerin moleküler karakterizasyonlarına yönelik birçok çalışma bildirilmiştir. Bu çalışmalarda Amerika (Ridpath ve Bolin 1997), Yeni Zelanda (Vilcek ve ark 1998), Avustralya (Becher ve ark 1994) ile İspanya (Hurtado ve ark 2003), İtalya (De Mia GM ve ark 2005), İsviçre (Stalder ve ark 2005), İsveç (Schaller ve ark 2000) gibi bazı Avrupa ülkelerinde enfeksiyonun varlığı ve yaygınlığı ortaya konulmuştur. Ayrıca Tunus'ta pestivirusla kontamine koyun çiçeği aşısı ile aşılamaı takiben çıkan enfeksiyonun etkeninin de BDV olduğu (Thabti ve ark 2005) bildirilmiştir.

Keçilerde ise doğal BDV enfeksiyonunun varlığı ilk kez Senegal'de tespit edilmiştir (Bernard ve Bourdin 1971).

Pestivirusların yaban hayattaki yaygınlığı da dikkat çekici bir olgudur. Özellikle İspanya'daki bazı geyik türlerinde gözlenen salgınlarda etken identifikasyonu yapıldığında, Sınır Hastalığı viruslarının yeni alt gruplarının ortaya çıkması ile bu etkenlerin çiftlik hayvanlarında görülen pestivirus enfeksiyonlarına da bir kaynak oluşturduğu düşünülmektedir (Hurtado ve ark 2004 , Piov ve ark 2007).

Sığır ya da koyun pestivirusları ile deneysel veya doğal enfeksiyonlar göstermektedir ki pestivirus enfeksiyonlarının gebe koyunlardaki patogenezi ve sonuçları (abortlar, kongenital malformasyonlar, persiste enfeksiyonlar vb.) bu türlerdeki gebe hayvanlarda benzerdir (Burgu 2003).

1.2. Etiyoloji

Border Disease virusu Flaviviridae ailesine ait Pestivirus genusunda yer almaktadır (Kalaycı 2012).

Filaviviridae içerisinde dört genera bulunur. Bunlar, Flavivirus, Hepacivirus, Hepatitis C Virus ve Pestivirus genuslarıdır (Ağaçfıdan 2012).

Border disease virusu ve diğer flaviviruslar, 12-12.3 kilobazlık (kB) tek iplikçikli, pozitif polariteli, bir RNA genomuna sahiptir. Virionlar, zarlı, ikosahedral simetricali, 40-60 nm büyüklüğündedir. (Heinz ve ark 2000). Pestivirus virionları birbirine sıkıca bağlanmış peplomerlerden oluşan bir zar tarafından sarılmıştır. Virionun molekül ağırlığı $4-4.6 \times 10^6$ kD'dir. Zarlı olduğu için eter, kloroform gibi organik solventlerde çok çabuk inaktive olur (Hermodsson ve Dinter 1962, Dinter 1963).

Etken saha şartlarında stabil değildir, ısıdan ve dezenfektanlardan kolay etkilenirler, 0,5 mg/ml tripsinde 56°C'de 60 dakikada ve pH 5.7-9.3 dışında kısa sürede inaktive olurlar (Hafez ve Liess 1972).

Border Disease Virusu, BVDV ve KDVV arasında poliklonal serum kullanılarak yapılan testler ile antijenik yakınlık olduğu belirlenmiştir (Darbyshire 1960, Dinter 1963). Daha sonra çapraz nötralizasyon testleri ve monoklonal antikorlar kullanılarak bu üç pestivirus arasında antijenik benzerlikler tespit edilirken, aynı zamanda bu virusların suşları arasında genetik farklılıklar da gösterilmiştir (Peters ve ark 1986, Cay ve ark 1989, Moenning ve Plagemann 1992, Weiland ve ark 1992)

Pestivirus genusu içerisinde son yıllarda birbirleriyle antijenik ve genetik olarak yakın akraba dört virus sınıflandırılmaktadır; BDV, KDVV, BVDV genotip 1 ve BVDV genotip 2 (Heinz ve ark 2000).

Etken hem sığırların BVDV genotip 1 ve 2 hem de Avrupa Domuz Vebası Virusu ile yakın antijenik ilişki içindedir. BVDV ve BDV izolatlarının antijenik yakınlığı, fiziksel ve biyolojik benzerlikleri nedeniyle her iki virus Pestivirus genusu içinde aynı tür olarak kabul edilebilirler. Genetik analiz ve virusa özgü monoklonal antikorlar yardımıyla bu virusların birbirinden ayrımı mümkün olabilmektedir (Burgu 2003).

Pestiviruslar, konakçı bariyerini aşabilmektedir. Virusların her biri enfeksiyona sebep oldukları hayvan türünün yanı sıra sığır, koyun, keçi ve domuzlarda doğal ve deneysel enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Burgu ve ark 1987, Carlsson 1991, Van Oirschot 1983) Saha çalışmaları ve deneysel çalışmalar, sığırlarda BDV ve koyunlarda sığırların BVDV ile benzer klinik ve patolojik tablolar ile karakterize enfeksiyonun geliştiğini ortaya koymuştur (Van Oirschot 1983, Carlsson ve Belak 1994).

Pestiviruslar biyotipik olarak iki farklı karakter sergilerler. Bunlar; hücre kültüründe morfolojik değişimler oluşturarak üreyen sitopatojen (cytopathogen; cp) biyotip ve herhangi bir değişiklik oluşturmada üreyen sitopatojen olmayan (non-cytopathogen; ncp) biyotiplerdir.

Özellikle moleküler viroloji alanındaki yeni gelişmeler, bugüne dek izole edilen koyun ve keçi izolatlarının yeniden karakterizasyonuna imkan sağlamıştır. Böylece yeni kazanılan izolatlarla birlikte mevcut pestivirus suşlarının alt tiplendirme çalışmaları yapılabilmektedir. Pestivirusların genetik çeşitliliği, onların antijenik çeşitliliğini de yansıtmaktadır. İzole edilen BDV saha virusları, konakçı spesifitesi ve genetik/antijenik analizleri sonrasında kendi aralarında BDV-1, 2, 3, 4, 5 ve 6 olarak altı farklı alt grupta toplanmışlardır (Peterhans ve ark 2010).

BDV-1, koyun ve keçilerden izole edilmiş ve referans viruslar olarak adlandırılan Moredun, X818 gibi gerçek ya da klasik BD virusları bu grupta yer almaktadır (Becher ve ark 2003). Bu alt grup kendi içinde a ve b olmak üzere ikiye ayrılmıştır (Valdazo-Gonzales ve ark 2007). BDV-2, çoğunluğu koyunlardan elde edilen virus izolatlarıdır. Ren geyiklerinden izole edilen V60 suşu da bu alt grupta yer almaktadır (Becher ve ark 2003). Bu alt gruptaki etkenler de iki farklı grupta (a ve b) incelenmektedir (Valdazo-Gonzales ve ark 2007). BDV-3 alt grubunda ise, domuzlardan izole edilen Gifhorn izolatu bulunmaktadır (Becher ve ark 2003). BDV-4 alt grubunda ise, İspanya'da bulunan Chamois denen bir geyik türünden izole edilen viruslar bulunmaktadır (Arnal ve ark 2004). Son çalışmalardan izole edilen yeni etkenler ile bu alt grup da kendi içinde a ve b olarak ikiye ayrılmıştır (Valdazo-Gonzales ve ark 2007).

Virus genomu, 5' ve 3' ucundan kodlanmayan, diğer deyişle translate olmayan-bölgelerle (untranslated region; UTR) çevrelenmiş, bir açık okunabilir bölgeye (Open Reading Frame, ORF) sahiptir. UTR bölgeleri, virus proteinlerinin sentezi ve virus genomunun replikasyonu için önemli sinyalleri bulundurmaktadır. ORF, yaklaşık 4000 aminoasitten oluşan bir prekürsör poliproteini kodlar, daha sonra bu poliprotein enzimatik olarak yapısal olan ve olmayan 11-12 adet proteine ayrılır.

Polyproteinden ayrılan olgun viral proteinler sırasıyla N^{pro}, prM (≈26 kd), C (≈11 kd), E^{ms}, E1, E2 (PrE ≈53 kd), p7, NS1 (≈46 kd), NS2A (≈22 kd), NS2B (≈14 kd), NS3

(≈70 kd), NS4A (≈ 16 kd), NS4B (≈ 27 kd), NS5 (≈ 103 kd),’dir (Collett ve ark 1989, Meyers ve Thiel 1996, Lindenbach ve ark 2007).

Becher ve ark’larının (1998) yaptığı çalışmada, BDV’nin ilk komple nükleotid dizisi X818 suşu ile rapor edilmiştir. Genom 12,333 nükleotid uzunluğunda ve açık okunabilir 3,895 amino asit kodlayan yapı içerir. BDV X818 suşunun 5’ kodlanmayan bölgesi (UTR) 372 nükleotidden oluşmaktadır. Diğer pestiviruslar için de 5’ UTR benzer uzunlukta rapor edilmiştir. X818 suşunun 3’ UTR 273 nükleotid uzunluğundadır ve dolayısıyla şimdiye kadar analiz edilen pestivirusların 3’ UTR’sinden en az 32 nükleotid daha uzundur. BDV X818 suşunun 3’ UTR içerisindeki dört yerde “TATTTATTTA” şeklinde aynı sekans motifi görülmektedir. Farklı KDVV izolatlarının 3’ UTR’de iki veya 3 yerde aynı tekrar bulunmasına karşın, BVDV’nin 3’ UTR’sinde bulunmamaktaydı. İncelenen beş farklı BDV suşunun daha analizi gösterdi ki bu türlerde 3’ NCR dizilimleri yüksek ölçüde korunmaktadır. X818 suşunun poliprotein üzerindeki tahmini ayrılma bölgeleri kabul edilen yerdeki aminoasit dizilimi ile diğer pestiviruslarındaki karşılaştırıldığında yapısal proteinler açısından korunmuş olduğu görülmektedir.

Pestivirus genomunun yapısında bulunan viral proteinlerden 5’-UTR, N^{pro} ve E2 bölgelerinin oldukça sık kullanıldığı filogenetik çalışmalar sonrası birçok araştırmacı tarafından farklı sınıflandırma tipleri ortaya konulmuştur (Becher ve ark 2003, De Mia GM ve ark 2005, Hurtado ve ark 2004, Vilcek ve ark1997). Bununla birlikte günümüzde alt gruplar göz önünde bulundurularak yapılan sınıflandırma sıklıkla tercih edilmektedir.

Yeşilbağ ve ark. (2008) virusun N^{pro} proteinini kodlayan bölgelerinin nükleotid dizilerini inceleyerek, 1997 ve 2005 yılları arasında ülkedeki 15 ilde elde edilen toplam 30 adet pestivirus izolatının filogenetik analizini yapmışlardır. Araştırmacılar incelenen virus izolatlarının biri koyundan olmak üzere çoğunlukla sığır kökenli olduğunu öne sürmüşlerdir. Sığır kökenli izolatlarının hepsinin BVDV-1’e ait olduğu görülmüştür. 15 izolat BVDV-1 içinde yeni bir alt grup içinde toplanmış ve geçici olarak BVDV-1/ ile adlandırılmıştır. Geriye kalan sığır izolatları BVDV-1a (n=4), BVDV-1b (n=4), BVDV-1d (n=3), BVDV-1f (n=2) ve BVDV-1h (n=1) olarak tiplendirilmiştir. BVDV-1/ kökenli izolatlar, farklı yıllarda çeşitli coğrafik bölgelerden elde edilmiştir. Araştırmacılar, elde edilen izolatların genetik gruplanması ile coğrafik bölgeler arasında anlamlı bir ilişkinin

olmadığını bildirmişlerdir. Bir çiftlikteki virusların kökeninin çoğu durumda aynı alt gruba ait olduğu görülmüştür (n=5). Bu çalışma yeni tespit edilen alt grup BVDV-1'in baskın ve Türkiye'de yaygın olduğunu göstermektedir. Ayrıca Türkiye'de BVDV-2'nin birinci üyesi olan bir koyun virusu tespit edildiği rapor edilmiştir. Türkiye'nin batısından örnekler kullanılarak yapılan serolojik araştırma BVDV-2'nin sığırlarda var olduğunu göstermektedir.

1.3. Epizootiyoloji

BDV koyun ve keçiler arasında oro-nasal yol ile yayılır. Virus kongenital enfeksiyona neden olur. Ancak akut enfeksiyonlara da yol açabilir. Enfeksiyonun epidemiyolojisinde vertikal nakil oldukça önemli bir rol oynamaktadır (Kalaycı 2012). Özellikle koyunlarda fetal enfeksiyon sonucunda, yaşamları boyunca virusu devamlı saçan PE kuzu doğumları oluşabilmektedir. Hastalığın yayılmasında PE hayvanların önemi büyüktür. Keçilerde PE yavru doğumuna ilişkin bildirim bulunmamaktadır.

Horizontal bulaşmada, BDV ile geçici viremik olan ya da PE hayvanların sekret ve ekskretleri ile etkenin nakli söz konusudur. Koyunlarla yakın temasta bulunan sığırlar da bulaşmada rol oynayabilmektedir. Sığır ve koyunlarda türler arasında karşılıklı etken nakli gözlenmesine rağmen, genellikle akut enfekte keçilerden diğer hayvan türlerine enfeksiyonun aktarımı söz konusu olmamaktadır. Bununla birlikte keçiler, PE hayvanlarla aynı ortamı paylaşırlarsa, kolaylıkla enfekte olabilmektedirler (Löken ve ark 1991, Löken 2000, Meyling 1990).

Enfeksiyon öncelikli olarak direkt kontakt ile bulaşmakta ve yakın temasta olan hayvanlar önce enfekte olmaktadır. Virusun persiste hayvanlar vasıtasıyla hayat boyu saçılmasının epidemiyolojik önemi vardır. PE koyunlar, sürülerde hem horizontal hem de vertikal olarak, virus saçan kaynak konumunda olurlar. PE bir anne her zaman BDV ile enfekte bir kuzu oluşturacaktır. Border Disease salgınının kongenital kökenli olanı düşük hastalık insidensi ile diğerinden ayrılır. Buna karşın PE yeni bir hayvanın sürüye sokulmasından kaynaklanan olgularda ise yüksek düzeyde etkilenmiş kuzu doğumu dikkati çeker (Sawyer ve ark 1991).

Pestiviruslar, transplasental ftal enfeksiyon sonucu, gebelikteki enfeksiyon zamanına ve fetusun yaşına bağlı olarak abort, ftal rezorpsiyon, fetusun mumifikasyonu, kongenital bozukluğa sahip yavru doğumları ve PE yavru doğumlarına neden olabilirler (Alkan 1989, Binkhorst ve ark 1983, Bistner ve ark 1970, Brown ve ark 1979, Liess ve ark 1984, Mc Clurkin ve ark 1984, zkul 1992, Straver ve ark 1983).

Virus ile enfekte olarak doğan yavrular, yaşamları boyunca organlarında, endotel ve epitel hücreleri ile retikuloendotelial sistemlerinde virusu taşırlar (Carlsson 1991, Radostits ve Littlejohns 1988, Straver ve ark 1983). Bu nedenle ftal yada postnatal dönemdeki bu hayvanlardan sağlanan serumlar ile doku veya organlarından hazırlanan hücre kültürlerinin pestivirus ile kontamine olmaları kaçınılmaz bir sonuçtur.

Nuttall ve ark (1977) 63 dana böbrek hücre kültüründen 10'unda sitopatojen olmayan pestivirus varlığını saptamışlardır. Rossi ve ark (1980) ise 37 farklı seri ftal dana akciğer hresinden bir (% 3) tanesinin BVDV içerdiğini, iki hücre kültürünün ise 2. ve 3. pasajlarda BVDV bakımından immunfloresan testi ile pozitif bulmuş ve enfeksiyon kaynağının şüpheli kaldığını belirtmişlerdir. Hassan ve Scott (1986), mezbahada kesilen 26 sığırın fetuslarına ait böbreklerden hazırlanan hücre kültürlerinin 11'inin BVDV ile kontamine olduğunu belirtmişlerdir.

Pestiviruslar ile kontamine hücre kültürleri ya da hücrelerin üretilmesinde kullanılan serumlar, viral izolasyon prosedürünü interfere eder, izolasyon çalışmalarında yanlış değerlendirmelere neden olabilir. İnaktive edilmemiş aşıların hazırlanmasında kullanılırlarsa, aşı kontaminasyonuna ve aşılama yolu ile virusun nakledilmesine neden olurlar. Nitekim Tamoglia (1968) İngiltere'de tüm lisanslı üreticilerin canlı IBR virusu aşılarının % 8'inde BVDV varlığını saptamış. Menasse ve ark (1978) ile Wenswoort ve Terpstra (1988) ise anneleri gebeliği esnasında pestivirus ile kontamine aşılarla aşılanan kuzularda BD, domuz yavrularında da kongenital domuz vebası benzeri hastalık salgınlarını bildirmişlerdir. Lohen ve ark(1991) ise pestivirus ile kontamine orf aşısı ile aşılanan, gebeliğinin erken dönemindeki dişi keçilerden % 82'sinde gebe kalmama, abortlar, l doğumlar ve zayıf yavru doğumları gibi reproduktif problemlerin olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, söz konusu keçiler ile aynı çiftlikte bulunan sığırlarda abort, koyunlarda BD'e karakteristik beyin lezyonları ve merkezi sinir sistemi lezyonlarına sahip kuzu doğumlarının görüldüğünü de belirtmişlerdir.

Canlı aşı hazırlayan ünitelerde kullanılan serum ve hücre kültürleri pestiviruslar yönünden kontrol edilmediği takdirde, kontamine aşılar ile özellikle gebe hayvanların aşılanmalarını takiben gelişecek abortlar, fetusun mumifikasyonu ve anomalili doğan yavrular nedeniyle hem önemli ekonomik kayıpların meydana geleceği hem de PE doğacak yavrular nedeniyle pestivirus enfeksiyonlarının yaygınlığının daha da çok artacağı açık bir gerçektir (Kalaycı 2012).

Burgu ve ark (1992)'nın yaptıkları bir çalışmada, mezbahada kesilen sığırların fetuslarına ait böbreklerden hazırlanan hücre kültürlerinde pestivirus varlığı saptanmış ve rutin teşhis amacına yönelik ya da aşı hazırlama laboratuvarlarında kullanılacak serum ve hücre kültürlerinin pestiviruslar bakımından kontrol edilmesinin önemi ve gerekliliği vurgulanmıştır. Ayrıca serum kontaminasyonu riskinin aza indirilmesi amacıyla serumun kullanılmadan önce inaktive edilmesi ya da pestivirus enfeksiyonlarının görülmediği hayvan türlerinden örneğin tektırnaklılardan sağlanan serumların kullanılması da önerilmiştir.

1.4. Türkiye'deki Koyun ve Keçilerde Pestivirus Enfeksiyonlarının Durumu

Türkiye'de pestivirusların varlığı ve ruminantlar için sağlık sorunu birçok çalışma ile ortaya konulmuştur (Burgu ve ark 1987, Alkan ve Burgu 1993, Burgu ve Özkul 1993, Burgu ve ark 1997, Yapkiç 1999).

Ülkemizde küçük ruminantlarda pestivirusların neden olduğu ekonomik kayıpların araştırılması üzerine yapılan çalışmalarda örneklenen sürülerde %0.06-3 arasında değişen oranlarda etken varlığı tespit edilmiştir (Burgu ve ark 1984, 1987, Burgu ve ark 2001).

Burgu ve ark (1984) yaptıkları bir çalışmada ilk kez BDV enfeksiyonunun seroepizootiolojik olarak değerlendirmesini yapmışlardır. Araştırmacılar Tahirova Devlet Üretim Çiftliğinden alınan 51 adet koyun kan serumlarının 11'inde (%21.6) BVD virusuna karşı nötralizan antikor varlığı tespit edilmiştir.

Türkiyedeki koyunlarda pestivirus enfeksiyonları ile ilgili ilk araştırmada Burgu ve ark (1987) abort yapan koyunlardan sağlanan kan örneklerinin %3'ünde ve abort olan fetusların %10'unda pestivirus varlığı bildirilmiştir.

Ataseven ve ark (2006), Doğu ve Güneydoğu Anadolu'daki keçi sürülerinde yapılan epidemiyolojik bir çalışmada, pestiviruslara karşı oldukça yüksek oranda (BDV ye karşı %63.6, BVDV ye karşı % 30.2) seropozitiflik tespit etmişlerdir.

Oğuzoğlu ve ark (2006) tarafından Türkiye'de ilk kez koyunlardan kazanılmış olan pestivirus izolatlarının genetik karakterizasyonu yapılmış ve bu izolatlar, BDV olarak klasifiye edilmiştir. Filogenetik analiz verilerine göre etkenlerin, KKDV ile antijenik yakınlığı olduğu ve BDV alt gruplarından herhangi birine dahil olmadığı tespit edilmiştir (Oğuzoğlu ve ark 2009).

Gür (2009) Afyon yöresinde %30 ile %70 arasında değişen abort oranına sahip sürülerden örneklediği 568 koyundan %78,5 oranında BVDV'nin NADL suşuna karşı antikor pozitiflik saptamıştır. Örneklenen koyunların iki tanesinde pestivirus antijeni bulunmuştur.

Burgu ve ark (2003) Ankara bölgesindeki farklı mezbahalara getirilen 100 gebe koyuna ait 108 fetus kullanılmış. Bu gebe koyunlara ait 75 serum örneğinin 31'i (% 41,3) pestiviruslara karşı seropozitivite gösterirken, fetuslardan alınan 65 serumun tamamı seronegatif olarak tespit edilmiş. Virus izolasyonu amacıyla toplam 584 farklı fetal organ ve kan örneği kullanılmış. Fetal kuzu böbrek hücre kültüründeki 3 kör pasajı takiben her bir materyal direkt immunplak teste tabi tutulmuştur. Sonuç olarak 69 günlük gebelik yaşında olan bir fetusun çeşitli organları (karaciğer, beyin, böbrek, barsak ve akciğerler) ve lökosit örneğinde, annesinin kotiledon ve amniyon örneklerinde ncp pestivirus tespit edilmiştir.

Serolojik çalışmalar iç ve kırsal bölgelerde yetiştirilen koyunlarda daha yaygın olduğunu göstermektedir. Özellikle soğuk iklim enfeksiyonunun yayılmasında büyük rol oynamaktadır. Yaygınlık oranı arttığında ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Gümüşova ve ark 2006).

Yapılan bir çalışmada (Azkur ve ark 2011) Kırıkkale ili ve tüm ilçelerinde bulunan 25 koyun sürüsünden elde edilen 1075 örneği kullanılmış. Pestivirusakarşı oluşan antikorlar 1075 serumun %74.51'inde ELISA kullanılarak tespit edilmiştir. Seropozitiflik,

cinsiyet ve yaş arasında bir bağlantı tespit edilemezken, koyun ırkları ve pestivirusakarşı oluşan pozitif antikor cevabı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiş ($P<0.05$). Virus tespiti çalışmaları, pestivirusa karşı antikor oluşturmeyan hayvanların oranının %4.37 olduğunu göstermiştir. Koyun sürülerini enfekte eden virus Türkiye’de daha önceden bildirilen BDV suşlarından farklı fakat pestivirus tip 3 ile çok yakın antijenik benzerliği olduğu belirlenmiştir (Azkur ve ark 2011).

Van ve çevresinde yapılan bir çalışmada (Tütüncü ve ark 2011) rastgele 465 koyundan alınan kan örneklerinde Pestivirus antikorlarının varlığı ELISA testi ile analiz edilmiş ve seroprevalansı %75,9 bulunmuştur.

Orta ve Doğu Karadeniz bölgelerindeki koyunlarda pestivirus enfeksiyonu yaygındır. Seropozitiflik ELISA ile %7,22 ile %74,38 arasında ve SNT (serum mikronötralizasyon testi) ile %4,81 ile %67,76 bulunmuştur. Amasya ve Tokat’taki seropozitiflik oranı Samsun ve Giresun’dan daha yüksek bulunmuştur (Yazıcı ve ark 2012).

Pestiviruslar Samsun ilinde, Mavidil ve Küçük Ruminant Vebası enfeksiyon etkenlerinden daha yaygındır (%90.27) (Ozan ve ark 2012).

Yapılan bir çalışmada (Issi ve ark 2012) Elazığ yöresinde Akkaraman ırkı koyunlarda saptanan pestivirus enfeksiyonlarının bildirilmesi ve hastalığın ekonomik öneminin vurgulanması amacıyla yapılmıştır. Çalışma materyalini, Ocak ve Şubat 2012 tarihleri arasında Elazığ ilinde abort olaylarının görüldüğü toplam 4272 Akkaraman ırkı koyunun bulunduğu 8 ayrı sürü oluşturmuştur. Bovine viral diyare virusu antikor ve antijenlerinin aranması için atık yapan sürülerdeki koyunların yaklaşık olarak %5’inden olmak üzere toplamda 219 koyundan ve 20 fötüsten kan ve doku örnekleri alınarak Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü’ne gönderilmiştir. Atık yapan koyunlarda BVDV antikorlarının aranması BVDV total antikor ELISA ve atık fötüslerde BVDV antijenlerinin varlığı BVDV antijen ELISA kitleri ile araştırılmış. Kan örneklerinin %65.75’inde (144/219) BVDV antikor, fötüslerin ise %55’inde (11/20) BVDV antijeni tespit edilmiştir. Çalışmaya alınan sürülerdeki koyunlardan %4,9’unda (210/4272) yavru atma gözlenirken %4,5’inin (204/4272) kısır kaldığı, %5,0’ında (215/4272) gelişme geriliği,

%0,4'ünde anomali (19/4272) ve %3,2'sinde ölüm (137/4272) olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, yapılan bu çalışma ile Elazığ yöresinde abort yapan koyunlarda önemli ekonomik kayıplara neden olan pestivirus enfeksiyonunun varlığı belirlenerek, koyunlardaki abort olaylarında bu enfeksiyonun da düşünülmesi ve koruyucu önlemlerin alınmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan bir çalışmada (Berber ve Sözdutmaz 2013); Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde koyunlardan elde edilen abort örneklerinden pestivirus (BD ve BVDV) prevalansının antijen Enzyme- Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplam 160 örneğin ELISA ile çalışılması neticesinde örneklerin 36 (%22,5)'sı pestivirus antijen varlığı yönünden pozitif tespit edilmiştir. Sonuç olarak, pestivirusların Elazığ , Malatya ve Tunceli illerindeki koyunlarda abortların etiolojisinde önemli oldukları belirlenmiştir.

1.5. Patogenezi

Koyun ve keçilerde oro-nazal enfeksiyonu takiben gelişen akut enfeksiyonda erişkin hayvanlarda hafif ateş dışında bir klinik semptom görülmez. Buna karşın plasenta bariyerini aşan etken fötal enfeksiyona neden olur ve gebeliğin dönemine göre fetusta farklı sonuçlara yol açar. Koyun blastositleri, embriyonun uterusu transplantasyonu öncesinde (16 günlük süreç), pestivirus enfeksiyonuna karşı koyabilecek yapıdadırlar (Evermann ve ark 1981, Sawyer ve ark 1991). Benzer bir süreç keçi blastositleri için de bildirilmiştir (Löken ve Bjerkas 1991). Embriyo bu preimplantasyon periyodunda, uterus mukozasına tam anlamıyla tutunmamıştır. Bu dönemde henüz zona pellucida bozulmadığından fötal enfeksiyonun oluşmadığı düşünülmektedir (French ve 1974, Manktelow ve ark 1969).

Pestiviruslar, enfeksiyonun patogeneziinde oldukça önemli rolü olan iki biyotipe sahiptirler. Bunlar; hücre kültüründe morfolojik bozukluk oluşturan (sitopatojen) ve hücre kültürlerinde morfolojik bozukluk yapmadan (nonsitopatojen) çoğalabilen biyotiplerdir. Sitopatojen olmayan biyotipler, doğada %95 oranında yaygındır. Eğer gebelik sırasında oluşan bir pestivirus enfeksiyonu immun sistemi henüz gelişmemiş (immature) olan yavruya transplasental olarak aktarılırsa (koyunlarda gebeliğin 60-80. gününe kadar, keçilerde 80-100. gününe kadar), yavruya immuntolerans gelişir. PE olarak doğan bu

yavrular, ömürleri boyu virus rezervuarı olarak enfeksiyonun devamlılığından sorumludurlar (Hewicker-Trautwein 1994). PE koyunların yaşam süresi maksimum 5 yıl olarak bildirilmiştir. Yaşamlarının bir döneminde sitopatojen biyotiple karşılaşan PE hayvanlarda, ölümle sonuçlanan mukozal hastalık (Mucosal Disease MD) tablosu gelişir. Mukozal hastalık koyunlarda doğal enfeksiyonu takiben bildirilmiş (Monies ve ark 2004) olmasına karşın, keçilerde bildirilmemiştir.

Fötal yaşamın 60-80. günlerinde oluşan enfeksiyon, beyinde geriye dönüşümsüz bir takım değişikliklere neden olmaktadır. Bu değişiklikler, Barlow (1983) tarafından “effekt/alternatif patoloji” olarak tanımlanmıştır. Gebe koyunlarda yapılan deneysel enfeksiyonlarda; gebeliğin 14-31. günlerinde enfekte edilen koyunların fetuslarında beyin ve beyincikte nekrozlar, porencephalie, hydranencephalie ve beyincik hypoplazisi geliştiği tespit edilmiştir. Böyle olgularda virusun; hem kan-beyin hem de kan-beyin-omurilik sıvısı bariyerini aştığı belirlenmiştir. Virusun tropizmini mitotik aktivitesi devam eden fötal beyinin endotel hücrelerine gösterdiği, damar duvarlarında nekrozlar, trombozlar veya emboliler gibi bozukluklar meydana getirdiği ifade edilmiştir.

Genotipik olarak iki farklı grupta yer alan BVDV 1 ve 2 virusları da koyunlarda sınır hastalığına benzer şekilde enfeksiyon meydana getirebilmektedir (Becher ve ark 1994, Vilcek ve ark 1997). Bu nedenle koyun ve keçilerde tespit edilen bir pestivirus enfeksiyonunun etkeninin mutlak surette ayırıcı teşhisinin yapılması gerekmektedir.

Biyotiplerin ve aralarındaki ilişkinin enfeksiyonun seyri ve patogenezinde belirleyici rol oynadığı birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Anderson ve ark 1987, Nettleton 1990, Barlow ve ark 1983).

Transplasental pestivirus enfeksiyonlarının fetusa olan etkisini belirleyen en önemli diğer faktör enfeksiyon zamanında fetusun yaşıdır (Nettleton 1990, Nettleton ve ark 1992, Terpstra 1981). Koyun fetusu yaklaşık olarak gebeliğin 60-80. günleri arasında bir antijenik uyarıma cevap verebilme yeteneği kazanır. Fetusun bu dönemden (gebeliğin 60-80. gün.) önce, bu dönem boyunca ve sonrasında enfekte olması farklı klinik ve laboratuvar bulgularının oluşumuna neden olur.

Gebeliğin ilk 60 gününde oluşan enfeksiyonda virusun replikasyonu sonucu fetusun ölümü muhtemeldir. Bu dönemde enfekte olan bazı fetuslar ise yaşamlarını devam ettirebilirler. İmmun sistemi henüz gelişimini tamamlamadan pestivirus ile enfekte olan fetus, bu dönemde virusu “yabancı” olarak tanımaz ve dolayısıyla da virusa karşı immün toleranttır (persiste enfeksiyon). Bu nedenle de gebeliğin ilk yarısında, özellikle 16-80. günlerde oluşan enfeksiyon, “persiste viremik kuzu” doğumu ile sonuçlanabilir. Bu kuzular sürekli olarak virus saçıcısı olup, sürüde virusun sirkülasyonunda potansiyel kaynaklırlar (Anderson ve ark 1987, Nettleton 1990, Nettleton ve ark 1992, Terpstra 1981).

Gebeliğin 80. gününden sonra oluşan enfeksiyonda ise fetus immün yanıt oluşturma yeteneğine sahiptir. İmmun sistemi gelişmiş fetusun enfeksiyonunda immün yanıt konakçıdan virusun eliminasyonuna neden olur. Bu dönemde enfekte olmuş kuzular virus taşımazlar, ancak prekoloztral kan örneklerinde antikor tespit edilebilir (Van Oirschot 1983, Nettleton 1990).

Gebeliğin 60-80. günlerinde oluşan fetal enfeksiyonlarda ise sonucun ne olacağını önceden tahmin etmek zordur. Çünkü fetusun immün sisteminin bireysel farklılıklara bağlı olarak bahsedilen tarihlerden önce ya da sonra gelişimi söz konusu olabilir. Bu dönemde enfeksiyon, persiste viremik kuzu doğumları ya da serebral kaviteasyon ve serebellar displaziye neden olan merkezi sinir sisteminde yaygın yangısal lezyonların oluşumu yanı sıra prekoloztral kanlarında antikor taşıyan kuzu doğumları ile de sonuçlanabilir (Van Oirschot 1983, Nettleton 1990, Hewicker-Trautwein ve ark 1992).

İmmunkompetens öncesi oluşabilecek transplasental enfeksiyon, embriyonun resorbsiyonu sonucu erken ölümler, corpus luteumun gerilemesi nedeniyle gebelikte östrus başlangıcı, fetusun mumifikasyonu veya ikizlerden birinin rezorbsiyonu, kongenital anomalili yavru doğumları ve normal görünümlü yavru doğumları ile sonuçlanabilmektedir. Transplasental enfeksiyon, kuzu fetuslarında tiroid hipofonksiyonuna neden olabilmekte ve bu etki sebebiyle çeşitli organlarda fonksiyon bozuklukları ortaya çıkabilmektedir (Sawyer ve Osburn 1992). Keçilerde bu tür klinik bulgular bildirilmemiştir.

İmmun sistemin gelişimini tamamlaması sonrasında oluşan fetal enfeksiyonlar ise, immün yanıt oluşumu ile sonuçlanır. Bu durumda doğan kuzuların prekoloztral kan örneklerinde BDV spesifik antikor varlığı saptanır

PE kuzuların sitopatojen suşlar ile enfeksiyonunun, sığırların Mukozal Hastalık enfeksiyonuna benzer bulgulara neden olduğu bildirilmiştir (Monies ve ark 2004)

Gebe hayvanların enfeksiyonunu takiben önemli klinik bulgular görülür. Fötal ölüm gebeliğin her döneminde ortaya çıkabilirse de, genellikle gebeliğin erken dönemlerindeki enfeksiyonlarda görülür. Çok küçük fetus ölümlerinde rezorbsiyon şekillenebilir veya abort fark edilemeyebilir (Kalaycı 2012).

Burgu ve ark (2001) dokuz farklı kamu işletmesinde 3 yıl süre ile koyunlarda transplasental pestivirus enfeksiyonlarının sonuçlarını ve patogenezi araştırmışlardır. Bu amaçla koç katım tarihleri dikkate alınarak, 174 adedi gebeliğinin 2-3. aylarında ve doğum yaptıkları gün, 487 adedi yalnızca doğum yaptıkları gün olmak üzere toplam 661 koyundan ve 29 koçtan kan alınmıştır. Bu koyunların 109 adedi ikiz doğum yapmıştır. Toplam 661 koyunun doğurduğu 770 kuzudan da prekolozal kan örneği sağlanmıştır. Kan örneklerinin pestivirus antijeni yönünden kontrolü sonucunda, örneklenen koyunlarda persiste pestivirus enfeksiyonu saptanmamıştır. Buna karşın kuzuların prekolozal kan örneklerinde antikor tespitine dayanılarak, gebeliğin geç döneminde oluşan transplasental enfeksiyonlar belirlenmiştir.

1.6. Klinik ve Patoloji

Postnatal dönemde kuzu ya da koyunlarda her iki biyotipe ait pestiviruslar ile oluşan enfeksiyonlar genellikle subklinik ya da hafif klinik bulgular ile gelişen akut enfeksiyona neden olurlar. Bu durumda geçici viremi tablosu gözlenir ve etkene spesifik antikor yanıtının gelişmesini takiben virus vücuttan elimine edilir (Nettleton 1990). Gebe koyunların enfeksiyonu ise abort, fetus mumifikasyonu, kongenital anomalili kuzu doğumları ya da zayıf ve persiste viremik kuzu doğumlarının oluşumuna neden olabilmektedir (Anderson ve ark 1987, Gardiner 1980, Waldvogel ve ark 1995).

Kuzulama zamanı görülen abortlarda prematüre doğum, zayıf yavru veya doğumu takiben ölen yavrular görülebilir.

Sağlıklı yeni doğanlar veya erişkin koyunlarda, hafif veya subklinik seyirli gelişen enfeksiyonda, kısa süreli bir viremi (4-11 gün) döneminin ardından kan serumunda antikor

oluşur. Enfekte olan hayvana ait bazı özellikler (yaş, bakım, vb) ile virusun suşu, virulensi gibi faktörlere bağlı olarak daha ağır seyirli olabilen enfeksiyonlarda ise, yüksek ateş, uzun süreli lökopeni, anoreksi, konjunktivitis, nasal akıntı, dyspnoea, ishal ve genç kuzularda %50'ye varan ölümler gözlenebilmektedir (Hewicker-Trautwein 1994 , Kalaycı 2012).

Kuzulama döneminde çok sayıda döl tutmayan dişi görülebilir. Gebeliğin erken dönemlerinde, fetal immun sistem gelişiminden önce oluşan enfeksiyonlarda ağır lezyonlar şekillenir ve genellikle persiste enfeksiyonla sonuçlanır.

Nervöz semptomlar karakteristik olup, şiddetli tremor, arka ayaklar ve sırt kaslarında ritmik kontraksiyon, baş, kuyruk ve kulaklarda titreme görülür.

Postta özellikle sırt ve boyun bölgesinde kıllar köpek kılı görünümünde, karışık ve dayanıklılığını kaybetmiştir (hairy shaker). Anormal kahverengi veya siyah pigmentasyon görülebilir.

Gebe keçilerde, abort ve embriyonal ölüm oranı yüksektir. Virus, nekrotik plasentitise yol açmaktadır.

Gebe koyunlarda ise, nonsitopatojen virusla oluşan transplasental enfeksiyonda gebeliğin dönemine göre değişen etkiler dikkati çeker. Bu dönemde; döl tutmama veya erken embriyonik ölümler, rezorbsiyon, abortlar (erken veya geç dönem); zayıf/yaşama gücü düşük yavru doğumları (ilk yaşam haftasında ölümler); büyüme ve gelişmede geriliği gösteren yavru doğumları; yapağı kalitesinde bozukluk gösteren yavru doğumları (Tiroid hipofonksiyonu sonucu, kıl folliküllerinde anormallik sonucu köpek kılı görünümü ya da yağlı yapağı sendromu, yapağıda anormal pigmentasyon sonucu kahve veya siyah renkli tüyler) karakteristik bulgulardandır (Hewicker-Trautwein 1994, Nettleton1990).

Enfekte yavrularda sıklıkla karşılaşılan merkezi sinir sistemi bulguları olarak; ataksi/tremor (kuzularda), devamlı diş gıcırdatma, inkoordinasyon (sallantılı yürüyüş), körlük, arthrogryposis, hydranencephali, beyincik hipoplazisi, beyinde beyaz bölgede perivasküler hücre infiltrasyonu, hipergliosis, vaskulitis, hipomyelinasyon (Miyelinizasyondan sorumlu tiroid hormonlarının salınımına bağlı fosfo diesteraz-CNP enzimlerinin aktivitesinde düşme sonucu oluşur.), timusta lenfoid depleksiyonu, PE yavru

doğumları ve PE doğan yavruların homolog ya da heterolog suşlarla süper enfeksiyonu ya da virusun mutasyonu ile gelişen Mukozal Hastalık bulguları (bronchopneumonie ve sindirim kanalında ülserler) gözlenebilmektedir (Hewicker-Trautwein 1994, Monies ve ark 2004).

Gebeliğin orta döneminde oluşan fetal enfeksiyonlar çeşitli nervöz belirtiler, lokomotor düzen bozuklukları ve iskelet bozuklukları ile sonuçlanabilir. Serebeller hipoplazi, hidranensefali görülebilir ve genellikle yüksek düzeyde antikor bulunur.

Gebeliğin geç dönemlerinde fetal enfeksiyon olursa kuzular genellikle normal ve sağlıklı doğarlar, virus taşımazlar, antikor bulundurlar, zayıftırlar ve yaşamlarının ilk dönemlerinde ölürler.

Koyun fötüslerinde antijenik uyarıma ilk yanıt gebeliğin 60-85. günü ile 150. günü arasındadır. İmmun yanıt başlamadan önce enfeksiyon olursa viral replikasyon kontrol edilemez ve virus tüm organlara yayılarak virusa karşı tolerans ortaya çıkar ve genellikle yaşam boyu süren persiste enfeksiyon şekillenir.

PE koyunlardan doğan kuzular daima persiste enfektedir. PE koçlarda fertilité düşüklüğü görülür ve semen çok enfeksiyözdür. Bu nedenle damızlık olarak kullanılan koçların kan örneklerinin mutlaka persiste enfeksiyon yönünden test edilmesi gerekmektedir (Kalaycı 2012).

Thur ve ark (1997) immünoopatolojik çalışmalarında fetuslarda pestivirus enfeksiyonlarının tespitinde dondurma mikromu ile hazırlanan kesitler ve formolde tespit edilmiş parafin bloklardan hazırladıkları kesitleri kullanmışlardır. Beyin, deri, tiroit, abomasum ve plasentadan alınan dondurma mikrotomu kesitlerinde immünoopatolojik çalışmaların hızlı ve hassas sonuç verdiğini ancak ileri derecede otoliz geliştiği durumlarda formolde tespit edilmiş parafin bloklardan hazırlanan beyin kesitleri kullanılarak fetuslarda pestivirus enfeksiyonlarının tespit edilebileceğini ifade etmişlerdir.

Pescador ve ark (2004) inkoordinasyon ve tremorlar ile karakterize sinirsel semptomlar gösteren 2 aylık kuzuların otopsilerinde cerebellumun önemli derecede küçüldüğünü, lateral ventriküllerde bilateral dilatasyon olduğunu ifade etmişlerdir.

Mikroskopik olarak cerebellar kortekste sellüler disorganizasyon, cerebellumda granular tabakada hücre yoğunluğunda azalma ile moleküler tabakadaki hücrelerde büyük sitoplazmikvakuollerin varlığını tanımlamışlardır. Bovine viral Diare virusuna karşı hazırlanmış olan monoklonal antikorlar (mAk) kullanılarak beyinde gri maddeki nöronlarda, mezenterik lenf nodüllerindeki makrofajlarda pozitif boyanmalar olduğunu ifade etmişlerdir.

Toplu ve ark'ları (2010) viral RNA'lar ve antijenlerin etiketlenmesi, özellikle omurilik, beyin sapı ve beyin hemisferlerin nöron sitoplazmasında ve hücredeki biyolojik proseslerde tespit etmişlerdir.

Viral RNA ve antijenin lineer etiketlemesi, meningeal ve/veya parankimal damarlarından özellikle beyin sapı, serebellum ve beyin hemisferlerindeki neuropile (Beynin gri maddesinde olduğu, sinir dokusunun fibröz ağı) kadar uzamaktadır.

1.7. Teşhis

Teşhiste klinik bulgular önemlidir. Özellikle sürünün reproduktif performansında gözlenen değişiklikler (abort, kongenital anomalili yavru doğumu, ölümler, döl tutmama vb.), canlı doğan yavrularda gelişme geriliği ve merkezi sinir sistemi bulguları, yaşama gücü zayıf yavrular ve mukozal hastalık benzeri semptomların görülmesi pestivirus enfeksiyonundan (BDV ya da BVDV nedeni) şüphe edilmesine yol açabilir. Bununla birlikte enfeksiyonun kesin tanısı laboratuvar yöntemleri ile yapılabilmektedir.

1.7.1. Direkt tanı

Virolojik teşhis için; canlı hayvanlardan defibrine kan örneği (özellikle lökosit), ölen hayvanlardan dalak, tiroid, böbrek, beyin, lenf yumrusu uygun materyallerdir. Teşhis amacıyla virus izolasyonu ve viral nükleik asit tespitini hedefleyen yöntemler kullanılır. Hücre kültüründen virus izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla kullanılan immunperoksidaz ve immunfloresan testleri “altın standart” yöntem olarak bildirilmektedir. Virus primer ya da sekonder koyun hücre kültürlerinde (örn. böbrek, testis, akciğer) izole edilebilir. Virusun çoğaltılabilmesi için permanent koyun hücre hattı çok azdır. Fötal kuzu kas (FLM) dokusundan hazırlanan yarı permanent hücre hatları,

bütün embriyo ya da koyun koroid pleksus kullanılabilir. Ancak farklı hücre kültürlerinin virusa karşı duyarlılıkları önemli ölçüde değişkenlik gösterir. Sığır orijinli hücre kültürleri bazı BDV suşlarına karşı primer izolasyon ve çoğaltma duyarsızdır. Bu nedenle virusun izolasyonu ve çoğaltılması için tek başına sığır hücreleri tavsiye edilmez (OIE 2008).

Pestivirus enfeksiyonları dünya’da ve Türkiye’de yaygın olarak bulunduğu ve pestiviruslar fetusa nakledilebiliyor oldukları için, hazırlanan hücre kültürlerinin pestiviruslar ile kontaminasyon olasılığı oldukça yüksektir. Burgu ve ark’nın yaptığı çalışmada 1990-1992 yılları arasında hazırlanan 23 farklı seri FDB hücre kültüründen 7 (%30) adedinde pestivirus varlığı saptamışlardır. Bu oran oldukça yüksek olup, çeşitli laboratuvarlarda enfekte hücrelerin pestiviruslar yönünden kontrol edilmeden kullanılmasının doğuracağı sonuçlar bakımından düşündürücüdür. Araştırmada, kontroledilen ticari serumlar ile normal dana serumlarında pestivirus tesbit edilmemiş, ancak bu konuda yapılan çalışmalar ısı ile inaktive edilmiş ya da gamma irradiyasyona tabi tutulmuş bile olsalar, serumların pestivirus ile kontamine olabileceğini ortaya koymuştur (King ve Harkness 1975, Rossi ve ark 1980).

Son yıllarda özellikle Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), enfeksiyonun tanısında duyarlı bir yöntem olarak tanımlanmaktadır (Schelp ve Greiser-Wilke 2003). Sığırlardaki pestivirus enfeksiyonlarının (BVDV) virolojik olarak tanısına yönelik ticari Antijen saptayan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kitleri başarıyla kullanılmasına karşın, koyun ve keçilerde BDV’nin direkt teşhisi için geliştirilmiş bir ELISA sistemi yoktur. Ayrıca sürülerin değişen büyüklükte oluşu, hayvanların kulak numarasının olmayışı, sürü genelindeki antikor varlığı gibi faktörler, PE hayvanların tespitini zorlaştırabilmektedir. Özellikle iki aydan küçük kuzularda, mevcut kolostral antikorlar etken tespitini engelleyebilmektedir (OIE 2004).

PE koyunların tespitinde nested ve real time RT-PCR tekniklerinin kullanımı hızlı genotiplendirme ve ayırıcı teşhis için avantaj sağlamaktadır (Willoughby ve ark 2006).

1.7.2. İndirekt tanı

Kan serumunda BDV spesifik antikorların tespiti için virus nötralizasyon testi ve ticari ELISA kitleri kullanılmaktadır (OIE 2004).

Serolojik teşhis için; çift serum örneği uygun materyallerdir. Tek serum örneği hastalığın sürüdeki varlığını ortaya çıkarma amacı ile kullanılır (Kalaycı 2012).

1.7.3. Ayırıcı tanı

Ayırıcı tanıda; bakteriyel meningoensefalit, fokal meningoensefalomalasi, müsküler distrofi, chlamidia, toksoplazma göz önünde bulundurulmalıdır (Kalaycı 2012).

1.8. Mücadele

Border Disease hastalığına karşı bilinen bir spesifik bir tedavi bulunmamaktadır. Pestivirus enfeksiyonları ile mücadele sürüdeki PE hayvanların tespiti ve sürüden uzaklaştırılması esasına dayanmaktadır. Sığırların BVDV enfeksiyonunun kontrolü ve eradikasyonu amacıyla birçok ülkede uygulanmakta olan programlar da bu temele dayalıdır. Bazı ülkelerde ise PE hayvanların ayırt edilmesini takiben, gebelik öncesi damızlık hayvanların aşılması benimsenmiştir. Koyunların BDV enfeksiyonunun kontrolünde de BVDV enfeksiyonuna benzer olarak PE hayvanların tespiti ve sürüden çıkartılması önerilmektedir (OIE 2008).

Koçlarda persistens az olmakla beraber, bu hayvanlar enfeksiyonun naklinde önemlidirler ve semenleri ile yüksek miktarda virus saçarak düşük fertilitite oranına neden olurlar. Bu nedenle doğal aşım için kullanılacak olan ya da sperma donörü olan koçlar, BDV yönünden kontrol edilmelidirler. Bu amaçla, kan ve/veya sperma örnekleri kullanılarak virus izolasyonu ya da RT-PCR tekniği uygulanabilir. Bununla birlikte sperma örneklerinin duyarlı hücre kültürlerinde sıklıkla toksik etkiye neden olabildiği hatırdan bulundurulması gereken bir noktadır.

BDV enfeksiyonunun mücadelesinde aşı kullanımı ise, bilindiği kadarıyla Avrupa'da üretilen bir ticari aşı (Brun ve ark 1993) dışında BDV aşılarının bulunmaması ve BVDV aşıları ile aşılanan koyunlarda kısmi bir korunma sağlanabilmesi (Valdazo-Gonzales ve ark 2007) nedeniyle henüz üzerinde çalışılması gereken bir konudur. Aşılanmanın amacı, gebelik öncesi dişilerin immun kılınması sayesinde transplasental enfeksiyonun önüne geçilebilmesini sağlamaktır. Mücadelede BVDV aşılarının da kullanılabileceği bazı

araştırmacılar tarafından önerilmekle beraber, yörede seyreden immun dominant virusun niteliği ile Sınır Hastalığı viruslarının antijenik çeşitliliğinin de hesaba katılması gerekmektedir (OIE 2004). Ayrıca, koyun hücreleri veya koyun serumları kullanılarak üretilen ve veteriner sahada kullanılan canlı virus aşıların, pestivirus kontaminasyonu nedeniyle enfeksiyonun oluşumunda potansiyel tehlike oluşturabileceği de (Tunus’da (Thabti ve ark 2005) bildirildiği gibi) unutulmamalıdır.

Gebe hayvanların mutlaka antikor negatif olduğunun belirlenmesi, etkilenmiş kuzuların sürüden elimine edilmesi, BDV’nin endemik olduğu bölgelerde sürülerin separe otlaklarda tutulması, damızlık amaçlı hayvanların sığırlardan ayrı tutulması, PE hayvanların identifikasyonu ve eliminasyonu hastalığın kontrol ve mücadelesinde büyük önem taşımaktadır (Kalaycı 2012).

Alkan ve ark (2001) yaptıkları araştırmada sürülerdeki bireylerin BVD virusla persiste enfeksiyon yönünden kontrollerinin yapılması ve PE hayvanların sürüden çıkartılması önerilmektedir.

Oğuzoğlu (2008) koyun ve keçilerin BDV ile aşılanmalarında gebelik öncesi dişilerin immun kılınması sayesinde transplasental enfeksiyonun önüne geçilebileceğini, bu amaçla BVDV aşılarının kullanıldığını, ancak bu aşı ile kısmi bir koruma sağlanabileceğini, bundan dolayı aşılama ile mücadelede dominant saha suşları ile aşı hazırlanmasının önemli olduğunu bildirmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Örneklenen Hayvanlar

Bu araştırmada, Aydın ve İzmir illerinde bulunan özel sektöre ait sürü kapasiteleri 20 ile 600 arasında değişen 47 adet işletmede bulunan koyun ve keçide pestivirus enfeksiyonu varlığı araştırıldı. İzmir ilinden 250, Aydın ilinden ise 210 adet olmak üzere toplam 460 adet hayvan örnekledi. Örnekleme esnasında hayvanların hangi işletmede oldukları, hayvanlara ait tür, kulak numarası, cinsiyet, ırk, doğum tarihleri, sağlık durumu, hayvan sahibinin adı, soyadı, adresi vb. bilgiler kaydedildi. Bu kayıtların hepsi Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Koyun ve Keçi Kayıt Sistemi'nden kontrol edildi.

Her bir hayvandan 10'ar ml kaolinli ve EDTA'lı vakumlu tüplere vena jugularisten kan alındı ve kısa sürede soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılarak işlendi.

Toplam 128 adet keçiden ve 332 adet koyundan kan örneği alındı. Araştırmada İzmir ve Aydın yöresindeki işletmelerden alınan kan örnekleri sayıları Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. İllere Göre Örneklenen Hayvan ve İşletme Sayıları

	İşletme	Keçi	Koyun	Toplam Hayvan
İzmir	27	39	211	250
Aydın	20	89	121	210
Toplam	47	128	332	460

Araştırmada İzmir ve Aydın yöresi ayrı ayrı incelendiği zaman İzmir yöresinde; I no'lu işletmede 21 adet, II no'lu işletmede 4 adet, III no'lu işletmede 24 adet, IV no'lu işletmede 1 adet, V no'lu işletmede 25 adet, VI no'lu işletmede 25 adet, VII no'lu işletmede 1 adet, VIII no'lu işletmede 6 adet, IX no'lu işletmede 1 adet, X no'lu işletmede 6 adet, XI no'lu işletmede 35 adet, XII no'lu işletmede 1 adet, XIII no'lu işletmede 34 adet, XIV no'lu işletmede 1 adet, XV no'lu işletmede 14 adet, XVI no'lu işletmede 6 adet,

XVII no'lu işletmede 1 adet, XVIII no'lu işletmede 1 adet, XIX no'lu işletmede 1 adet, XX no'lu işletmede 2 adet, XXI no'lu işletmede 1 adet, XXII no'lu işletmede 3 adet, XXIII no'lu işletmede 22 adet, XXIV no'lu işletmede 5 adet, XXV no'lu işletmede 7 adet, XXVI no'lu işletmede 1 adet ve XXVII no'lu işletmede 1 adet olmak üzere toplam 250 adet koyun ve keçiden kan örneği toplandı (Çizelge 2.2.).

Aydın yöresinde ise I no'lu işletmede 29 adet, II no'lu işletmede 6 adet, III no'lu işletmede 15 adet, IV no'lu işletmede 1 adet, V no'lu işletmede 23 adet, VI no'lu işletmede 1 adet, VII no'lu işletmede 2 adet, VIII no'lu işletmede 1 adet, IX no'lu işletmede 22 adet, X no'lu işletmede 1 adet, XI no'lu işletmede 1 adet, XII no'lu işletmede 18 adet, XIII no'lu işletmede 2 adet, XIV no'lu işletmede 12 adet, XV no'lu işletmede 1 adet, XVI no'lu işletmede 2 adet, XVII no'lu işletmede 25 adet, XVIII no'lu işletmede 4 adet, XIX no'lu işletmede 42 adet ve XX no'lu işletmede 2 adet olmak üzere toplam 210 adet koyun ve keçiden kan örneği toplandı (Çizelge 2.3.).

Çizelge 2.2. İzmir'deki İşletmelere Göre Örneklenen Hayvan Sayıları

İşletme No	Toplam Hayvan Sayısı	İşletme No	Toplam Hayvan Sayısı
I	21	XV	14
II	4	XVI	6
III	24	XVII	1
IV	1	XVIII	1
V	25	XIX	1
VI	25	XX	2
VII	1	XXI	1
VIII	6	XXII	3
IX	1	XXIII	22
X	6	XXIV	5
XI	35	XXV	7
XII	1	XXVI	1
XIII	34	XXVII	1
XIV	1		
TOPLAM		250	

Çizelge 2.3. Aydın'daki İşletmelere Göre Örneklenen Hayvan Sayıları

İşletme No	Toplam Hayvan Sayısı	İşletme No	Toplam Hayvan Sayısı
I	29	XI	1
II	6	XII	18
III	15	XIII	2
IV	1	XIV	12
V	23	XV	1
VI	1	XVI	2
VII	2	XVII	25
VIII	1	XVIII	4
IX	22	XIX	42
X	1	XX	2
TOPLAM		210	

Hayvanların yaşları baz alınarak pestivirus enfeksiyonu dağılımlarının incelenmesi için Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın Koyun Keçi Kayıt Sistemi (KKKS) verilerine göre koyun ve keçiler 6 aydan ile 8 yaşına kadar gruplandırıldı. Keçilerin 5 adedi 8 yaşında, 28 adedi 7 yaşında, 13 adedi 6 yaşında, 12 adedi 5 yaşında, 13 adedi 4 yaşında, 15 adedi 3 yaşında, 23 adedi 2 yaşında ve 19 adet keçi ise 6 ay ile 1 yaş arasındaydı. (Çizelge 2.4.).

Koyunların ise 19 adedi 8 yaşlı, 9 adedi 7 yaşlı, 26 adedi 6 yaşlı, 43 adedi 5 yaşlı, 63 adedi 4 yaşlı, 35 adedi 3 yaşlı, 98 adedi 2 yaşlı ve 39 adedi 6 Ay-1 yaş aralığındaydı (Çizelge 2.4.).

Çizelge 2.4.Yaşlarına Göre Örneklenen Toplam Koyun ve Keçi Sayıları

Doğum Tarihleri	Keçi Sayısı	Koyun Sayısı	Toplam
8 Yaş	5	19	24
7 Yaş	28	9	37
6 Yaş	13	26	39
5 Yaş	12	43	55
4 Yaş	13	63	76
3 Yaş	15	35	50
2 Yaş	23	98	121
6 ay-1 Yaş	19	39	58
TOPLAM	128	332	460

Cinsiyetlerine göre bakıldığında koyunların 27 adedinin erkek 305 adedi dişi, keçilerin ise 26 adedinin erkek 102 adedi dişi olduğu belirlendi (Çizelge 2.5.).

Çizelge 2.5. Cinsiyetlere Göre Örneklenen Hayvan Sayıları

	Keçi	Koyun	Toplam Hayvan
Erkek	26	27	53
Dişi	102	305	407
Toplam	128	332	460

Koyun ve keçiler ayrı ayrı ırklarına ayrılarak incelendiğinde Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın KKKS verilerine göre bu keçilerden 55 adedinin Kıl Keçisi, 4 adedinin Kıl Keçisi Melezi, 37 adedinin Saanen Keçisi, 17 adedinin Saanen Keçisi Melezi, 13 adedinin Malta Keçisi Melezi ve 2 adedinin Honamlı Keçisi olduğu belirlendi (Çizelge 2.5.).

Koyunların ise yine Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın KKKS verileri esas alındığında 124 adedinin Sakız Melezi, 19 adedinin Sakız, 22 adedinin Kıvrıcık, 66 adedinin Tahirova Melezi, 10 adedinin Kıvrıcık Melezi, 71 adedinin Tahirova, 19 adedinin İle De Frans ve 1 adedinin Karya ırkı olduğu saptandı (Çizelge 2.6.).

Çizelge 2.6. Keçi Irklarına Göre Örneklenen Hayvan Sayıları

Keçi Irkları	Toplam Hayvan Sayısı
Kıl Keçisi	55
Kıl Keçisi Melezi	4
Saanen Keçisi	37
Saanen Keçisi Melezi	17
Malta Keçisi Melezi	13
Honamlı Keçisi	2
TOPLAM	128

Çizelge 2.7.Koyun Irklarına Göre Örneklenen Hayvan Sayıları

Koyun Irkları	Toplam Hayvan Sayısı
Sakız Melezi	124
Sakız	19
Kıvırcık	22
Tahirova Melezi	66
Kıvırcık Melezi	9
Tahirova	72
İle De Frans	19
Karya	1
TOPLAM	332

2.1.2. Hücre Kültürü

Virus Nötralizasyon testi, Serum Nötralizasyon₅₀ (SN₅₀) değerinin hesaplanması, BVDV virusunun üretilmesi ve enfeksiyözite gücünün hesaplanması için Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) (ATCC, CCL-22) hücre kültürü kullanıldı.

Hücrelerin üretilmesi içinve vasat olarak %2-10 oranları arasında değişen miktarlarda Fötal Dana Serum (FDS) ilave edilmiş Eagle's Minimal Essential Medium (EMEM) (EMEM, Biochrom T-031-10, Almanya) kullanıldı. Virusun üretilmesi, virusun enfeksiyözite gücünün hesaplanması (virusun titresinin belirlenmesi), VNT ve SN₅₀ değerinin hesaplanması için ise Dulbecco's Modified Minimal Essential Medium (DMEM) tercih edildi.

2.1.3. Virus

Bu çalışmada virusspesifik antikorların tespiti için BVDV virusunun referans suşu olan "NADL" kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Kan Örneklerinin İşlenmesi

Kaolin içeren, vakumlu ve silikonlu steril kan tüplerine alınmış olan kan örnekleri 3000 g'de 10 dk. santrifüj edildi. Üst kısımda biriken serum 4 ml'lik steril stok tüplerine aktarıldıktan sonra inaktivasyon için benmaride 56°C'de 30 dk. süreyle tutularak non-spesifik immun sistem faktörleri inaktive edildi. Serum örnekleri serolojik testlerde daha sonra kullanılmak üzere -20°C'de donduruldu. EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri soğuk zincirde laboratuvara getirildikten sonra 24-48 içerisinde antijen yönünden test edildi. Testler yapılınca kadar +4°C'de bekletildi.

Araştırmada 460 hayvanın serum örneği antikor yönünden, 348 hayvanın tam kan örneği antijen yönünden incelendi.

2.2.2. Hücrelerin Üretilmesi

Steril polisistren flasklar (250 ml'lik) içerisine %5'lik FDS içeren Eagle's Minimal Essential Medium (EMEM) vasatı flask hacminin %10'u kadar (25ml) konuldu. Flask içerisindeki vasata 150000 hücre/ ml olacak şekilde MDBK hücresi eklendi ve 37°C'de % 5'lik CO₂'li etüvde inkube edildi. Hücreler hergün inverted mikroskopta incelenerek, monolayer şekilde flask yüzeyini kaplayıncaya kadar (2-3 gün) beklenildi. Daha sonra hücreler PBS ile bir kez yıkanarak, %0,25 lik Versen-Tripsin ile hücrelerin flask yüzeyinden ayrılması sağlandı. Süspanse halde bulunan hücreler 800 devirde 10 dk santrifüjlendikten sonra üstte ulunan süpernatant döküldü. Hücre peleti yeniden vasat ile süspanse edildikten sonra thoma lamında hücre sayımı yapıldı. Hazırlanan hücreler amaca uygun şekilde (VNT, SN₅₀ değerinin hesaplanması, virusun üretilmesi veya virus titrasyonu için) kullanıldı.

2.2.3. Virusun Üretilmesi

Hücre kültürü flasklarında monolayer olarak üretilen MDBK hücreleri flask yüzeyinin %80'ini kaplayıncaya kadar beklendikten sonra BVDV virusunun referens suşu

NADLadsorbsiyonsuz yöntemle inokule edildi. Virusla enfekte hücreler 37°C'ye ayarlanmış %5'lik CO₂'li etüv'de inkube edildi. Hücre kültürleri yaklaşık 24-48 saat sonra yoğun olarak virus üremesine bağlı dejenerasyonun görülmesinin ardından (virus için karakteristik olan sitopatolojik değişiklikler ve yaygın hücre yıkımlanması net olarak gözlemlendikten sonra) flasklar - 80 °C' de donduruldu. Donma vasıtasıyla, hücrelerin parçalanması sağlanmış ve içerisindeki viruslar açığa çıkarılmış oldu. Daha sonra oda ısısında eritilerek çözdürülen virus süspansiyonları 4000 rpm' de 20 dk. süreyle santrifüj edildi, santrifüj tüpündeki süpernatantın üst kısmından alınan virus süspansiyonu ayrı bir erlenmende pipete edilip steril cryo tüplerde 1'er cc'lik porsiyonlara ayrıldı ve - 80 °C' ye kaldırıldı.

2.2.4. Virusun Titresinin Belirlenmesi (Titrasyon Testi)

Virusun enfeksiyözite gücünün (titresinin) tespiti amacıyla Frey ve Liess'in (1971) bildirdikleri yöntem kullanıldı. Daha önce porsiyonlanmış olan virus tüplerinden bir tanesi çözdürülerek DMEM ile Logaritma 10 tabanına göre 10⁻⁸ e kadar bir dizi tüp içerisinde sulandırıldı. Her sulandırma basamağından mikropleytin aynı sırada bulunan dört gözüne 100'er µl konuldu. Hazırlanan sulandırmalara ek olarak kontrollerde 4'er göz olarak hazırlandı. Virus kontrol amacıyla dört göze 50µl serumsuz DMEM ve 50µl saf virus; hücre kontrol için ayrılan dört göze ise %10 oranında FDS içeren DMEM vasatından 100µl konuldu. Hemen ardından beklenilmeden tüm gözlere MDBK hücre süspansiyonundan (300.000 hücre/ml) 50 µl konuldu ve pleyt 37°C' lik CO₂' li etüvde inkubasyona bırakıldı. Sonraki birve ikinci günlerde pleytler doku kültürü mikroskopunda kontrol edildi ve sitopatolojik efekt gelişimine göre Kaerber'in (1964) bildirdiği şekilde titre hesaplamaları sonra yapıldı.

2.2.5. Virus Nötralizasyon ve Nötralizasyon₅₀ (SN₅₀) Testi

Elde edilen kan serum örneklerinde pestivirus antikor varlığının tespiti için Frey ve Liess'in (1971) bildirdikleri yöntemden yararlanılarak, Virus Nötralizasyon Testi (VNT) uygulandı. BVDV için serum numunelerinin 96 gözlü pleyt üzerine iki sıra halinde vasat ile 1/5, 1/10, 1/20,...1/160 oranlarında serum sulandırmaları hazırlandı ve 50 µl hacimde konuldu. Enfeksiyözite gücü daha önce belirlenmiş olan viruslar 100 DKID₅₀ /0,05 ml

oranında sulandırılarak eşit hacimde her bir serum örneğinin üzerine konuldu. Virus kontrole 50' şer µl virus ve serumsuz vasat, hücre kontrole ise 100 µl serumlu vasat konuldu. Daha sonra pleytler % 5 karbondioksitli (CO₂) 37°C'ye ayarlı etüvdeki saat süreyle nötralizasyona bırakıldı. Sürenin bitiminde tüm gözlere 300.000 hücre/ml olacak şekilde hazırlanmış olan MDBK hücre süspansiyonu ilave edildi ve etüvde inkubasyona bırakıldı. CO₂' li etüvde 1-3 günlük inkubasyon süresi sonunda pleytler doku kültürü mikroskopunda sitopatojenitenin görülüp görülmemesine göre değerlendirildi (titre değerleri belirlendi).

Bu çalışmada yapılan mikrotitrasyon test sonucuna göre BDV virusunun 100 DKID₅₀/0,05 ml. değeri 10^{-3,7} olarak bulundu.

2.2.6. ELISA (Antijen) Kiti

Araştırmada, toplam 348 adet tam kan örneğinde pestivirus antijeninin tespiti amacıyla Synbiotics Serelisa BVD p80 Ag Mono Indirect ELISA Kiti (Synbiotics, Europe, Lyon, France) kullanıldı. Bu test BVD ve BD viruslarının tüm sitopatojen ve nonsitopatojen suşlarında ortak olan epitoplara sahip antijeni (yapısal olmayan protein p80/125) tespit eden indirekt immunoenzimatik bir tekniktir. Test, akut ve persistent enfekte hayvanların serum plazma, tam kan, lökosit ve doku örneklerinde direkt olarak uygulanabilmektedir. Testin uygulanması dört aşamada gerçekleşmektedir.

1. Test pleytinin anti-BVD/MD ve BDV (p80/125) monoklonal antikorlarla (mAk) kaplıher bir kuyucuğuna kontrol ve örnekler konulur. Örneklerde antijen varlığı durumunda mAk'lara bağlanır.

2. Yıkama işleminden sonra kuyucuklara tavşan anti- p80/125 antiserumu eklenir.

3. Bağlanmayan antikorların uzaklaştırılması için yapılan ikinci yıkama işlemi takiben peroksidaz ile işaretli keçi anti-tavşan immunglobulin (tavşan antikorlarına karşı keçilerde elde edilmiş antikorlar)konjugatı eklenir. Antijen valığı durumunda anti-P80/125 mAk+ p80/125 antijeni+tavşan-anti-p80/125 Ak+perksidaz ile işaretli keçi anti tavşan-Ak kompleksi oluşur.

4. Üçüncü yıkama sonrasında bağlanmayan konjugat uzaklaştırılmış olur ve substrat eklenerek antijen-antikor kompleksi renk oluşumu vasıtasıyla gözle görülür hale getirilir.

Testin Uygulanışı:

Test üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.

Test uygulanmasına geçilmeden önce üretici firma tarafından sağlanmayan malzemeler hazırlandı ve kit içerisinde konsantre olarak bulunan bazı solüsyonlar yönergede belirtildiği şekilde kullanıma hazır hale getirildi.

- Konjugat (10x); Kit içerisinde sağlanan ve ayrıca antiserum sulandırmasında da kullanılan “Konjugat and antiserum diluent” ile 10 kat sulandırıldı.
- Antiserum (10x); Kit içerisinde sağlanan ve ayrıca antiserum sulandırmasında da kullanılan “Konjugat and antiserum diluent” ile 10 kat sulandırıldı. Wash Concentrate (10x); Yıkama solüsyonu ise otoklavlanmış distile su ile 10 kat sulandırıldı.

Testte kullanılacak tüm solüsyonlar hazırlanıp oda sıcaklığına ulaşması beklendikten sonra vortex ile homojenize edildi. Mikropleyttteki A1-A2, B1-B2 gözleri hariç, her göze “örnek sulandırma solüsyonundan multikanal pipet yardımıyla 50 µl konuldu. Kuyucukların içindeki örnek sulandırma solüsyonu üzerine:

- 100µl Pozitif Kontrol (PK)(A1-A2gözlerine);
- 100 µl Negatif Kontrol (NK) (B1-B2 gözlerine);
- 50 µl elde edilen serum örnekleri konuldu.

Mikropleytlar 37°C (± 3°C) derecede 120 dakika (± 5 dk.) boyunca inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon aşamasından sonra yıkama işlemine geçildi. Her göz 4 defa 1/10 sulandırılan yıkama solüsyonu ile yıkandı. Yıkamalar arasında gözlerin kurutulmamasına özen gösterildi. Yıkama sonrası 1/10 oranında dilue edilen antiserumdan her göze 100 µl ilave edildi. Mikropleytlar 37°C (± 3°C) derecede 60 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon aşamasından sonra yıkama işlemine geçildi. Her göz 4 defa sulandırılmış yıkama solüsyonu ile yıkandı. Yıkama sonrası 1/10 oranında dilue edilen konjugattan her göze 100 µl ilave edildi. Mikropleytlar 37°C (± 3°C) derecede 60 dakika inkubasyona bırakıldı.İnkubasyon aşamasından sonra yıkama işlemine geçildi. Her göz 4 defayıkama solüsyonu ile yıkandı. Bağlanmayan konjugattan gözler arındırıldı. Yıkamalar arasında

gözlerin kurutulmamasına özen gösterildi. İkinci yıkama sonrası gözlere 100 µl Substrat Solusyonu (TMB) konuldu. Mikropleytlar 20°C (± 5°C) derecede 30 dakika boyunca karanlıkta bırakıldı. Süre sonunda her göze 50 µl Stop Solusyonu konuldu ve reaksiyon durduruldu. Optik dansitesini (OD) belirlemek amacıyla 450 nm dalga boyunda okutuldu.

Testin değerlendirilmesi:

Üretici firmanın yönergesinde belirttiği prosedüre göre, testin geçerli olması için;

- Pozitif kontrolün OD değeri 0.300'den daha büyük olmalıdır ($OD_{PK} > 0.3$).
- Negatif kontrolün OD değeri, Pozitif Kontrolün OD değerinin yarısından daha düşük olmalıdır ($OD_{NK} < OD_{PK} \times 0.5$).

Değerlendirme, her serum örneğine ait OD değeri ile aşağıdaki formül hesaplanarak yapıldı. Örneklerin ELISA sonuçlarının değerlendirilmesi için Cut-Off sınırları(CO) aşağıdaki gibi hesaplandı:

CO Alt sınırı için; $OD_{CO50} = 0,50 \times OD_{PK}$

CO üst sınırı için; $OD_{CO80} = 0,80 \times OD_{PK}$

Örneğin OD değeri OD_{CO50} 'nin altında ise negatif, OD_{CO50} ile OD_{CO80} arasında ise şüpheli ve OD_{CO80} 'in üzerinde ise pozitif olarak kabul edildi.

2.2.7. İstatistiksel Değerlendirme

Aydın ve İzmir illerindeki keçi ve koyunlarda tür, coğrafik konum, yaş, cinsiyet ve ırklara göre seropozitiflik oranlarının istatistiksel karşılaştırılmaları için χ^2 testi kullanıldı (Steel ve Torrie 1980). İstatistiksel analizler SPSS (Statistical package for social sciences) paket programı kullanılarak yapıldı (Özdamar 2004).

3. BULGULAR

3.1. Serolojik Araştırma Bulguları

3.1.1. Hayvan Türlerine Göre Seropozitiflik Oranları

Çalışmada toplam 460 adet hayvandan 212 adedinin (%46,09) seropozitif olduğu, 248 adedinin ise seronegatif olduğu görüldü. Seropozitif olan 212 adet hayvandan 55 adedi keçi, 157 adedi ise koyundu. Genel olarak Aydın ve İzmir yöresinde yaşayan keçilerde pestivirus'a karşı antikor pozitiflik oranı % 42,97 (55/128), koyunlarda ise % 47,29 (157/332) olarak saptandı (Çizelge 3.1.). Her iki türün seropozitiflik oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarındaki farklılık anlamlı bulunmadı ($P>0.05$).

Çizelge 3.1. Hayvan Türlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları

Tür	n	Seropozitif	%
Keçi	128	55	42,97
Koyun	332	157	47,29
Toplam	460	212	46,09

n: Test edilen hayvan sayısı

3.1.2. İllere Göre Seropozitiflik Oranları

İllere göre yaygınlık oranlarına bakıldığında Aydın'da bulunan 121 koyundan 61 tanesi (%50,41) seropozitif bulunurken, İzmir'den örneklenen 211 koyundan 96 tanesi (%45,50) seropozitif bulundu. Aydın'dan örneklenen 89 adet keçiden 41 adedinin (%46,07) seropozitif olduğu görüldü. İzmir'de bulunan 39 adet keçiden 14 adedinde (%35,90) seropozitiflik saptandı. İller bazında keçilerdeki ve koyunlardaki seropozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Çizelge 3.2-3.3) ($P>0,05$).

Çizelge 3.2. İllere Göre Keçilerdeki Seropozitiflik Dağılımları

İl	n	Seropozitif	%
Aydın	89	41	46,07
İzmir	39	14	35,90
Genel Toplam	128	55	42,97

n: Test edilen hayvan sayısı

Çizelge 3.3. İllere Göre Koyunlardaki Seropozitiflik Dağılımları

İl	n	Seropozitif	%
Aydın	121	61	50,41
İzmir	211	96	45,50
Genel Toplam	332	157	47,29

n: Test edilen hayvan sayısı

İller bazında bütün hayvanlarda pestivirus antikor pozitif hayvan sayıları ve yaygınlık oranları Ek Çizelgeler bölümünde (Ek Çizelge 1) belirtilmiştir.

Çalışmada Aydın ve İzmir illerinde örneklenen her bir işletmedeki seropozitiflik oranları Ek 2 ve 3’de (bkz. Ek Çizelgeler) gösterilmiştir.

3.1.3. Yaşlara Göre Seropozitiflik Oranları

Örneklenen işletmelerdeki hayvanlar yaşlarına göre Pestivirus'a karşı antikor pozitiflik oranları Çizelge 3.3.a ve 3.3.b’de gösterilmiştir.

Keçilerde 8 yaşında toplam 5 hayvandan 3’ünün (%60), 7 yaşında toplam 28 hayvandan 11’nin (%39,28), 6 yaşında toplam 13 hayvandan 7’sinin (%53,85), 5 yaşında toplam 12 hayvandan 4’ünün (%33,33), 4 yaşında toplam 13 hayvandan 6’sının (%46,15), 3 yaşında toplam 15 hayvandan 5’inin (%33,33), 2 yaşında toplam 23 hayvandan 9’unun (%39,13), 6 Ay ve 1 yaş aralığında olan toplam 19 hayvandan ise 10’unun (%52,63) seropozitif olduğu saptandı (Çizelge 3.4.). Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu

keçilerin yaşlarına göre seropozitiflik oranları arasındaki farklılık anlamlı bulunmadı ($P>0,05$).

Çizelge 3.4. Keçilerin Yaşlarına Göre Seropozitiflik Dağılımları

Yaşları	n	Seropozitif	%
8 yaş	5	3	60
7 yaş	28	11	39,28
6 yaş	13	7	53,85
5 yaş	12	4	33,33
4 yaş	13	6	46,15
3 yaş	15	5	33,33
2 yaş	23	9	39,13
6 ay-1 yaş	19	10	52,63
Toplam	128	55	42,97

n: Test edilen hayvan sayısı

Koyunlarda 8 yaşında toplam 19 hayvandan 11'nin (%57,89), 7 yaşında toplam 9 hayvandan 5'nin (%55,55), 6 yaşında toplam 26 hayvandan 13'nün (%50), 5 yaşında toplam 43 hayvandan 18'inin (%41,86), 4 yaşında toplam 63 hayvandan 31'nin (%49,21), 3 yaşında toplam 35 hayvandan 13'ünün (%37,14), 2 yaşında toplam 98 hayvandan 51'inin (%52,04), 6 Ay ve 1 yaş aralığında olan toplam 39 hayvandan ise 15'inin (%38,46) seropozitif olduğu saptandı (Çizelge 3.5). Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu koyunların yaşlarına göre seropozitiflik oranları arasındaki farklılık anlamlı bulunmadı ($P>0,05$).

Çizelge 3.5. Koyunların Yaşlarına Göre Seropozitiflik Dağılımları

Yaşları	n	Seropozitif	%
8 yaş	19	11	57,89
7 yaş	9	5	55,55
6 yaş	26	13	50
5 yaş	43	18	41,86
4 yaş	63	31	49,21
3 yaş	35	13	37,14
2 yaş	98	51	52,04
6 ay-1 yaş	39	15	38,46
Toplam	332	157	47,29

n: Test edilen hayvan sayısı

3.1.4. Hayvanların Cinsiyetlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları

Keçilerin cinsiyetlerine göre antikor pozitiflik oranları değerlendirildiğinde, erkek keçilerin %30,77'si (8/26), dişi keçilerin ise %46,08'i (47/102) antikor pozitif bulundu (Çizelge 3.6). Keçilerin cinsiyetlerine göre yapılan istatistik çalışmasında (χ^2 testi) erkek ve dişi hayvanlardaki seropozitiflik oranları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($P>0,05$).

Çizelge 3.6. Keçilerin Cinsiyetlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları

	n	Seropozitif	%
Dişi	102	47	46,08
Erkek	26	8	30,77
TOPLAM	128	55	42,97

n: Test edilen toplam hayvan sayısı

Keçilerin ırklarına ve cinsiyetlerine göre hayvan sayıları ve seropozitiflik oranları Ek Çizelge 4'de (bkz. Ek Çizelgeler) sunulmuştur.

Koyunların cinsiyetlerine göre seropozitiflik oranları Çizelge 3.7' de sunulmuştur. Erkek koyunların %18,52'si (5/27), dişi koyunların ise %49,84'ü (152/305) antikor pozitif bulundu. Koyunların cinsiyetlerine göre yapılan istatistik çalışmasında (χ^2 testi) erkek ve dişi hayvanlardaki seropozitiflik oranları arasındaki farklılığın anlamlı olduğu gözlemlendi ($P<0,05$).

Çizelge 3.7. Koyunların cinsiyetlerine göre seropozitiflik dağılımları

	n	Seropozitif	%
Dişi	305	152	49,84
Erkek	27	5	18,52
TOPLAM	332	157	47,29

n: Test edilen toplam hayvan sayısı

Koyunların ırklarına ve cinsiyetlerine göre hayvan sayıları ve seropozitiflik oranları Ek Çizelge 5'de (bkz. Ek Çizelgeler) sunulmuştur.

3.1.5. Hayvanların Irklarına Göre Seropozitiflik Dağılımları

Keçilerin ırklarına göre hayvan sayıları ve seropozitiflik oranları Çizelge 3.8.'da sunulmuştur. Kıl keçilerinde %36,36 (20/55), Kıl keçisi melezi olanlarda %25 (1/4), saanen keçilerinde %54,05 (20/37), Saanen keçisi melezlerinde % 47,05 (8/17), MaltaKeçisi Melezlerinde %38,46 (5/13), Honamlı Keçilerinde % 50 (1/2) oranında antikor pozitiflik bulundu. Keçilerin ırklarına göre erkek ve dişi hayvanlardaki seropozitiflik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($P>0,05$).

Çizelge 3.8. Keçilerin Irklarına Göre Seropozitiflik Dağılımları

Irklar	n	Seropozitif	%
Kıl Keçisi	55	20	36,36
Kıl Keçisi Melezi	4	1	25
Saenen Keçisi	37	20	54,05
Saenen Keçisi Melezi	17	8	47,06
Malta Keçisi Melezi	13	5	38,46
Honamlı Keçisi	2	1	50
Toplam	128	55	42,97

n: Test edilen hayvan sayısı

Koyunların ırklarına göre hayvan sayıları ve seropozitiflik oranları Çizelge 3.9’da sunulmuştur. Sakız melezlerinde %46,77 (58/124), Sakız ırkında % 47,36 (9/19), Kıvırcık ırkında % 31,81 (7/22), Tahirova Melezinde % 42,42 (28/66), Kıvırcık Melezinde %22,22 (2/9), Tahirova ırkında % 58,33 (42/72), İle de Frans ırkında %52,63 (10/19), Karya ırkında % 100 (1/1) oranında antikör pozitiflik bulundu. Koyunların ırklarına göre seropozitiflik oranları arasında istatistiksel farklılığın anlamlı olmadığı tespit edildi. Ancak, ırklara göre erkek ve dişi hayvanlardaki seropozitiflik oranları arasındaki farklılığın anlamlı olduğu ve İle de Frans ırkı dişi koyunlarda erkeklere göre daha fazla seropozitiflik olduğu gözlemlendi ($P<0,05$) (bkz. Ek Çizelge 5).

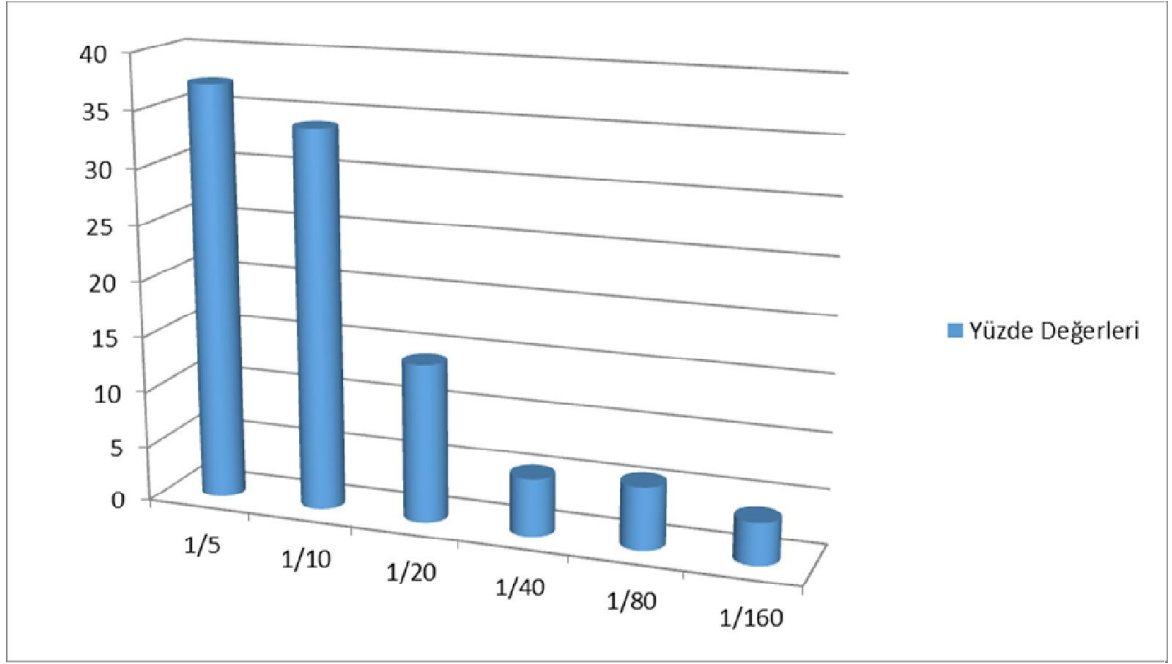
Çizelge 3.9. Koyunların Irklarına Göre Seropozitiflik Dağılımları

Irklar	n	Seropozitif	%
Sakız Melezi	124	58	46,77
Sakız	19	9	47,37
Kıvırcık	22	7	31,82
Tahirova Melezi	66	28	42,42
Kıvırcık Melezi	9	2	22,22
Tahirova	72	42	58,33
İle de Frans	19	10	52,63
Karya	1	1	100
Toplam	332	157	47,29

n: Test edilen hayvan sayısı

3.1.6. Seropozitif Örneklerin Serum Nötralizasyon 50 (SN₅₀) Sonuçları

Pestivirus yönünden seropozitif olduğu saptanan toplam 212 hayvanın 79 adedinde (%37,26) 1/5 oranında, 72 adedinde (%33,96) 1/10 oranında, 30 adedinde (%14,15) 1/20 oranında, 11 adedinde (%5,18) 1/40 oranında, 12 adedinde (%5,66) 1/80 oranında ve 8 adedinde (%3,77) ise 1/160 oranında SN₅₀ değeri (antikor titresi) saptandı (Şekil 1).



Şekil 3.1. Seropozitif Hayvanlarda Antikor Titre Dağılımları

3.2. Virolojik Araştırma Bulguları

ELISA için kullanılan pozitif ve negatif kontrollerin ekstiksiyon değerleri üretici firmanın ön gördüğü sınırlar içerisinde elde edildi. Bu sonuçlara göre ELISA ile elde edilen test sonuçları geçerli olarak değerlendirildi. Test sonucunda numunelerin konduğu tüm mikrolept gözlerindeki OD değeri 0.3'den daha düşük bir değer verdiği görüldü.

Viremik hayvanların tespiti amacıyla test edilen 116 adet keçi ve 232 adet koyun olmak üzere toplam 348 adet hayvanın tamamı indirekt Ag-C-ELISA ile antijen yönünden negatif olduğu belirlendi.

4. TARTIŞMA

Koyunlarda f tal ve embriyonik ölümler oldukça yaygın görülmekte ve önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Abortların hormonal, beslenme, metabolik, travmatik ve enfeksiyon kaynaklı birçok nedeni bulunmaktadır. Koyunlarda f tal ve embriyonik ölüm vakaları incelendiğinde bunların yaklaşık %11'inde viral enfeksiyöz etkenler tespit edilmiştir (Garc a-P rez ve ark 2009, Givens ve Marley 2008, Menzies 2011). Bu viral etkenlerin önemli özelliği sürü içinde hızla yayılması ve gebeliğin farklı evrelerinde intrauterin veya transplasental enfeksiyon sonucu, gelişmekte olan yavru da etkenin alındığı evreye bağlı olarak değişen (embriyonik ölümler, mumifikasyon, maserasyon, anomalili yavru doğumu, zayıf yavru doğumu, PE yavru doğumu) bir dizi bozukluklara neden olmalarıdır. Koyunlarda görülen virus kaynaklı enfeksiyonların başlıcaları; akabane, mavidil, pestivirus enfeksiyonları ve Rift Vadisi hummasıdır (Albayrak ve ark 2012, Horner ve ark 1995, Hurtado ve ark 2009, Kobayashi ve ark 2007, Maclachlan ve ark 2009).

Ülkemizde koyunlarda abort vakaları sıklıkla bildirilmektedir (Albayrak ve ark 2012, Burgu ve ark 1987,  etinkaya ve ark 1999, Duman ve Durak 1998, Erganiş 2002). Koyun yetiştiriciliğinde, yetiştiricili in k rlılı ı ve devamlılığı için her koyundan sağlıklı yavru alınması oldukça önemlidir. Viral transplasental enfeksiyonların neden olduğu f tal ve embriyonik ölümler ekonomik bir yetiştiricili in devamlılığının sağlanması önündeki problemlerin de başında yer almaktadır (Garc a-P rez ve ark 2009, Givens ve Marley 2008, Menzies 2011).

Border disease virusu ile transplasental enfeksiyonlar gebe koyunlarda embriyonik ölümlere, abortlara, erken do umlara, nörolojik bozukluk, immunolojik olarak baskılanmış ya da klinik olarak sağlıklı kuzuların doğmasına neden olabilir (Radostits 2008). Bu nedenle koyunlarda transplasental enfeksiyona neden olabilen viral etkenler arasında yer alan pestivirusların varlığının belirlenmesi önemlidir (Radostits 2008, Scott 2007). Sa altımın ve etkili bir aşılmasının mümkün olmadığı bildirilen pestivirus enfeksiyonlarından korunmak için hasta ve  l  kuzuların imha edilmesi, yavru atan ve anomalili kuzu doğuran koyunların kesime sevk edilmesi tavsiye edilmektedir (Radostits 2008).

Türkiye’de pestivirusların varlığı ve ruminantlar için enfeksiyon riski oluşturdukları birçok çalışma ile ortaya konulmuştur (Burgu ve ark 1987, Alkan ve Burgu 1993 , Burgu ve Özkul 1993, Burgu ve ark 1997, Yapkiç 1999). Türkiye’de yapılan araştırmalarda abort olaylarının %0,7 ile %10 oranında pestivirus varlığı bildirilmiştir (Hasırcioğlu ve ark 2009, Albayrak ve Özkan 2012, Burgu 1987).

Türkiye’de yapılan çalışmalar pestivirus enfeksiyonunun koyunlarda oldukça yaygın olduğu ve abort olaylarında rol oynadığını ve pestivirus enfeksiyonunun ülkemizde enzootik olarak seyrettiğini göstermektedir. (Burgu ve ark 1994 ve 2001, Şimşek ve ark 1998). Bu durumda pestiviral enfeksiyonların küçükbaş hayvan yetiştiriciliğine büyük ölçüde ekonomik kayıplar verdiği açıktır (Berber ve Sözdutmaz 2013, Gür 2009).

Hastalık etkenlerinin bilinmesi ve yöredeki durumunun belirlenmesi, hastalıklarla mücadelede başarıya ulaştıran önemli faktörlerdendir. Bu çalışma ile Aydın ve İzmir illerindeki koyun ve keçi yetiştiriciliği yapan işletmelerde BDV enfeksiyonunun serolojik olarak varlığının ve yaygınlık oranının saptanması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, Aydın ve İzmir illerinde bulunan toplam 460 hayvandan toplam 460 adet kan serum örneği BDV antikor varlığının belirlenmesi için Virus Nötralizasyon testi kullanılarak kontrol edilmiştir. Test sonucuna göre serum örneklerinin 212 adedinde (%46,09) seropozitiflik saptanmıştır. Bölgedeki keçilerde yaygınlık oranı genel olarak %42,97 (55/128), koyunlarda ise %47,29 (157/332) olduğu görülmüştür. 348 adet kan serum örneği BDV antijen varlığının belirlenmesi için ELISA testi kullanılmış örneklerin hiçbirisinde pozitiflik tespit edilemedi.

Border disease ve BVD viruslarının antijenik olarak çok yakın akrabalığı nedeniyle serolojik ve virolojik testlerde çapraz reaksiyon vererek pestivirus olarak teşhis etmeyi sağlamaktadır. Uzun yıllar koyunlarda abort vakalarında belirlenen pestiviruslar BDV ve sığırlarda aborta sebep olan pestiviruslar ise BVDV olarak değerlendirilmiştir (García-Pérez ve ark 2011, Hurtado ve ark 2009). Ancak, son yıllarda yapılan çalışmaların ışığında, bu virusların sadece tür spesifik hastalık oluşturmadaıkları ve heterolog türlerde de yüksek oranda enfeksiyonlara yol açabildikleri belirlenmiştir (Juliá ve ark 2009, Mishra ve ark

2012). Bu çalışmada NADL suşu kullanılarak BVDV antikorlarının tespit edilmesi tüm pestiviruslara karşı oluşan antikor varlığını da göstermek mümkün olmuştur. Ancak bölgede olarak yaygınlığını BDV suşu kullanarak belirlemek BDV enfeksiyonunun spesifik olarak varlığını ve yaygınlığını ortaya koymakta fayda olduğu düşünülmektedir.

Koyunlarda önemli ekonomik kayıplara neden olan pestivirus enfeksiyonları Dünya’da olduğu gibi (Radostits 2008, O’Neill 2004, Krametter-Froetscher ve ark 2010, Schaller 2000, Lamontagne ve Roy 1984, Loken 1991) ülkemizde de serolojik veya virolojik olarak yapılan birçok çalışma ile ortaya konulmuştur (Ataseven ve ark 2006, Gazyagcı ve ark 2011, Gür 2009, İssi ve ark 2006, Burgu ve ark 2001)

Koyunlarda pestivirusa karşı oluşan seropozitifliğin İrlanda Cumhuriyeti’nde %5,6 (O’Neill 2004), Avusturalya’da %29,4 (Krametter-Froetscher 2010), İsviçre’de %67 (Schaller 2000), Kanada’da %10,9 (Lamontagne ve Roy 1984) ve Norveç’te %4,5 (Loken ve ark 1991) olduğu bildirilmiştir. Türkiye’de Konya ve çevresinde %79 (Avcı 2010), Kırıkkale ve yöresinde %74,51 (Azkur ve ark 2011), Samsun ilinde %90,27 (Ozan ve ark 2012), Burdur bölgesinde %64,6 (Hasırcıoğlu ve ark 2009), Sinop’ta %1,04, Amasya’da %2,30, Samsun’da %3, Trabzonda %4,76, Giresun’da %15,43, Sivas’ta %18,08, Kayseri’de %32,26, Tokat’ta %50,74, Erzurum’da %52,3 oranında seropozitiflik belirlenirken, Ordu ve Rize’de incelenen örneklerde pestivirusa karşı herhangi bir antikor tespit edilmediği bildirilmiştir (Okur-Gümüşova ve ark 2006). Ataseven ve ark (2006), Doğu ve Güneydoğu Anadolu’daki keçi sürülerinde BDV ye karşı %63,6, BVDV ye karşı ise % 30,2 seropozitiflik tespit etmişlerdir. Yazıcı ve ark (2012) Orta ve Doğu Karadeniz bölgelerindeki koyunlarda SNT ile %4,81 ile %67,76 oranında seropozitiflik bulmuşlardır. Bu çalışmada, Aydın ve İzmir illerinde bulunan toplam 460 hayvandan alınan serum örneklerinin 212 adedinde (%46,09) seropozitiflik saptandı. Bölgedeki keçilerde yaygınlık oranı genel olarak %42,97 (55/128), koyunlarda ise %47,29 (157/332) olduğu görüldü. İllere göre yaygınlık oranlarına bakıldığında Aydın’da bulunan koyunların %50,41’i (61/121) seropozitif olarak saptanırken, İzmir ilinden örneklenen koyunların %45,49’u (96/211) seropozitif bulundu. İzmir’de bulunan keçilerin %35,89’unda (14/39) seropozitiflik saptandı. Aydın’dan örneklenen keçilerin %46,06’sının (41/89 adet) seropozitif olduğu görüldü. İller bazında keçilerdeki ve koyunlardaki seropozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. Her iki ildeki koyun ve keçilerde seropozitiflik oranlarının istatistiksel olarak yakın olduğu gözlemlendi.

Çalışmada elde edilen seropozitiflik oranları, Türkiye'nin birçok yöresinde yapılan epizootiyolojik çalışmaların (Ataseven ve ark 2006, Gür 2009, Azkur ve ark 2011) verilerinden daha düşük olsa da, bölgede pestivirus enfeksiyonlarının yaygın olduğunu göstermektedir. Ayrıca enfeksiyonun görülme sıklığı bakımından istatistiki olarak konakçı türü farklılığının bulunmadığı ve her iki türde de yaygın olarak bulunduğu gözlenmiştir. Bu bağlamda bölgede pestivirus nedenli ekonomik kayıpların olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Bu çalışmada viremik hayvan saptanmamıştır. Dolayısıyla virusa yönelik çalışmalar yapılamamıştır. Daha önce yapılan saha çalışmalarında etken varlığı %0,06 ile 3 arasında tespit edilmiştir (Burgu ve ark 1984, 1987, 2001, Gür 2006, Oğuzoğlu ve ark 2009). Son yıllarda ülkemizde klinik ve patolojik olarak pestivirus şüpheli vakaların arttığı kaydedilmiştir. Yapılan virolojik çalışma sonuçları bu şüpheleri doğrulamıştır (Hasırcıoğlu ve ark 2009, Albayrak ve Ozan 2012, Ozan ve ark 2012, İssi ve ark 2012). Gelecek çalışmalarda, tespit edilen pozitif klinik olgularda izole edilecek virusların genomik kimliklendirilmesinde yarar görülmektedir. Elde edilecek sonuçlara göre de pestivirusler için koruma, kontrol ve mücadele stratejilerinin tespitinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Klinik bulgular ve ayrıntılı laboratuvar analizlerinde BD salgını Türkiye'de bildirilmemesine rağmen yapılan epidemiyolojik çalışmalar, Türkiye'nin bazı bölgelerindeki koyun sürülerinde nispeten yaygın olduğu ve görünüşte sağlıklı olan hayvanlarda persiste enfeksiyon olabileceğini göstermektedir (Ulutaş ve ark 2011). Ancak çalışmamızda yüksek antikör pozitiflik oranı saptanmış olup, viremik hayvana rastlanılamamıştır. Bu durum olması örneklenen sürülerde persiste viremik hayvanların az olduğunu düşündürmektedir. Bu tür viremik hayvanların düşük oranda bulunması dahi, ciddi bir enfeksiyon kaynağı olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda viremik hayvanların tarama sırasında tespit edilmesinin zor olduğu ve bu durumun enfeksiyonla mücadeleyi güçleştiren faktörlerden olduğu söylenilebilir. Bu nedenle sürüdeki tüm hayvanların virolojik yönden incelenmesi ve virus pozitif hayvanların sürüden uzaklaştırılması gerekliliği vurgulanmalıdır.

Pestivirus yönünden seropozitif olduğu tespit edilen toplam 212 hayvanın 79 adedinde (%37,26) 1/5 oranında, 72 adedinde (%33,96) 1/10 oranında, 30 adedinde (%14,15) 1/20 oranında, 11 adedinde (%5,18) 1/40 oranında, 12 adedinde (%5,66) 1/80 oranında ve 8

adedinde (%3,77) ise 1/160 oranında SN_{50} değeri (antikor titresi) saptandı. Sürülerde yüksek titrede antikora sahip hayvanların bulunması yakın zamanda akut enfeksiyonun meydana geldiğini işaret etmektedir.

Koyunlar ve keçiler ayrı olarak incelendiğinde her yaşta ortalama aynı oranda seropozitiflik belirlenmiştir.

Koyunlarda % 47,29 oranında, keçilerde % 42,97 gibi yüksek bir oranda seropozitifliğe rastlanmış olması enfeksiyonun epizootiyolojisinde önemli bir rol oynayabileceğinin işareti olarak gösterilebilir.

Azkur ve ark (2011) tarafından Seropozitiflik, cinsiyet ve yaş arasında bir bağlantı saptanmazken, koyun ırkları ve pestivirusa karşı oluşan pozitif antikör cevabı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise koyun ve keçilerde türler, coğrafik konuma, yaşlara göre seropozitiflik oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Fakat Azkur ve ark (2011)'nın bulgularının aksine bu çalışmada dişi koyunlarda koçlara nazaran daha yüksek antikör pozitiflik oranı tespit edildi ($P<0,05$). Keçilerde ise cinsiyet farklılığı istatistiksel olarak önemli bulunmadı.

Çalışmada, dişi koyunlarda enfeksiyon oranının erkeklere göre daha yüksek bulunması, dişilerin enfeksiyona daha duyarlı olduğunu düşündürebileceği gibi, bu duruma erkek hayvanların sürüye sadece koç katımı zamanında katılması ve dişilerin sürekli birbirleriyle temas halinde bulunmaları neden olmuş olabilir. Ayrıca dişi koyunların daha sık popülasyonlar halinde tutulmaları, doğum, süt verme gibi hayvanların kondüsyonunu düşüren faktörler dolayısıyla dişi hayvanlar arasında virusun daha fazla sirküle olması cinsiyet farklılığına sebep olarak gösterilebilir. Keçilerde ise enfeksiyon yaygınlığı konusunda istatistiksel olarak cinsiyet farklılığına rastlanmamıştır. Bu bulgular, genel olarak bölgede erkek ve dişi keçilerin bir arada yetiştiriliyor olması koyunlardaki gibi ayrı tutulmaması enfeksiyonun cinsiyet farkından değil, sürü büyüklüğü ve hayvanların sık olarak tutulması ile alakalı olduğunu desteklemektedir.

Azkur ve ark (2011)'lerinin yaptıkları araştırmada pestivirus seropozitifliğini koyun ırkları düzeyinde incelediklerinde akkaraman (%42,6), kangal (%26,6) ve merinos (%5,3) olarak tespit ettikleri çalışmada koyun ırklarının pestivirüslerle farklı duyarlılıkta

olduklarını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada koyunlar için ırklara göre seropozitiflik oranları incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup, en yüksek seropozitiflik İle de Frans (%52,63) ve Tahirova (%58,33) ırklarında saptanmıştır. İle de Frans ırkı koyunların dişilerinde yüksek oranda seropozitiflik rastlanırken erkeklerinde seropozitiflik rastlanmamıştır. Örneklem esnasında yapılan gözlemlere ve alınan anamneze göre, örneklemeden 6 ay önce ithal edilen bu hayvanların hepsinin getirildiklerinde pestivirus antijen ve antikorları yönünden negatif olduğu belirlenmiştir. Dişiler varolan sürüye hemen katılmış ama erkekleri izole bir ortamda intansif bakılmıştır. Çalışmada yerli sürüye hemen katılan dişiler yüksek oranda seropozitiflik gösterirken sürüye katılmayan erkekler seronegatif bulunmuştur. Bu bulgular ve alınan anamnez doğrultusunda sürünün son 6 ayda pestivirus enfeksiyonuna maruz kaldığı söylenilebilir. Bu bilgiler sürüye yeni gelen hayvanların enfekte sürüye katılmayarak ayrı tutulmasının önemli olduğunu vurgulamaktadır.

Bu çalışmada küçükbaş hayvan yetiştiriciliği yapan aile işletmeleri ve Aydın Koyun ve Keçi Yetiştiricileri Birliği ile koordineli olarak çalışılmış yetiştiricilere söz konusu enfeksiyonlar ve çalışma sonuçları, hakkında bilgiler verilmiş, bu ve diğer enfeksiyonlara karşı alınması gereken önlemler konusunda önerilerde bulunulmuştur. Bu çalışma, bölgedeki koyun ve keçi yetiştiren işletmelerde hastalıktan kaynaklanan kayıpların azaltılması ve enfeksiyonlarla mücadele edilmesi amacıyla daha sonra yapılacak olan geniş kapsamlı araştırmalara ışık tutabileceği düşünülmektedir. Bunların sonucunda, söz konusu olan viral enfeksiyondan kaynaklanan ekonomik kayıpları en az düzeye indirmek mümkün olabilecektir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Koyun ve keçi yetiştiriciliği ülkemizin kırsal kesimlerinde önemli bir geçim kaynağıdır. Abortlar yetiştiricilikte ekonomik kayıpların en başta gelen sebebidir. Bu nedenle, aborta neden olan virusların yaygınlığının tespit edilmesi bölgedeki enfeksiyonlarla mücadelede uygulanacak stratejilerin geliştirilmesinde büyük önem taşıyacaktır (Berber ve Sözdutmaz 2013).

Daha önce yapılan saha çalışmalarında etken varlığı %0,06 ile 3 arasında tespit edilmiştir (Burgu ve ark 1984, 1987, 2001, Gür 2006, Oğuzoğlu ve ark 2009). Bu çalışmada viremik hayvan saptanamamıştır. Dolayısıyla virusa yönelik çalışmalar yapılamamıştır. Viral enfeksiyonlara karşı başarılı mücadele programlarının oluşturulabilmesi için virusların moleküler, epizootiyolojik, klinik ve patogenetik karakterizasyonlarının ayrıntılı şekilde yapılması gerekmektedir.

Çalışmada elde edilen seropozitiflik oranları, Türkiye'nin birçok yöresinde yapılan epizootiyolojik çalışmaların (Ataseven ve ark 2006, Azkur ve ark Gür 2009) verilerinden daha düşük olsa da, bölgede pestivirus enfeksiyonlarının yaygın olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda bölgede pestivirus nedenli ekonomik kayıpların olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Azkur ve ark (2011) tarafından Seropozitiflik, cinsiyet ve yaş arasında bir bağlantı saptanmazken, koyun ırkları ve pestivirusa karşı oluşan pozitif antikor cevabı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise koyun ve keçilerde türler, coğrafik konuma, yaşlara ve ırklara göre seropozitiflik oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanamamıştır. Fakat koyunlarda istatistiksel olarak ırk ve cinsiyetin enfeksiyon üzerine etkili olduğu kanısına varılmıştır. Dişi koyunlarda koçlara nazaran daha yüksek antikor pozitiflik oranı tespit edilmiş ($P<0,05$). Keçilerde ise ırk ve cinsiyet farklılığı istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Bu çalışmada, Aydın ve İzmir illerinde örneklenen koyun ve keçilerde viremik hayvan tespit edilmemiş olmasına rağmen, %46,09 (212/460) oranında seropozitiflik

saptanması pestivirusların, bölgede sirküle olduğunu ve önemli ekonomik kayıplara neden olabileceğini göstermektedir. Pestivirusların çok düşük oranda bulunan viremik hayvanlar vasıtasıyla kolayca yayılması sebebiyle sürüde bulunan tüm hayvanların periyodik aralıklarla virolojik yönden kontrol edilmesi, yeni doğanların persiste enfekte olup olmadığının belirlenmesi önerilebilir. Ayrıca, yeni getirilen virus negatif hayvanların problemlili sürülerden ayrı tutulması, aynı şekilde virustan ari hale getirilmiş sürülere yeni hayvanların virolojik olarak kontrol edildikten sonra katılması gerekmektedir.

ÖZET

Aydın ve İzmir İllerindeki Koyun ve Keçilerde Pestivirus Enfeksiyonunun Serolojik ve Virolojik Olarak Araştırılması

Bu çalışma ile Aydın ve İzmir illerindeki koyun ve keçilerde Pestivirus enfeksiyonunun serolojik ve virolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada 128 adet keçi, 332 adet koyun olmak üzere toplam 460 adet hayvandan serum örnekleri elde edildi. Alınan kan serumu örneklerinde, Bovine Viral Diarrhoe Virusunun (BVDV) referans suşu NADL kullanılarak "Virus Nötralizasyon Testi" ile antikor varlığı araştırıldı. Toplam 348 adet (116 adet keçi, 232 adet koyun) hayvandan alınan tam kan örnekleri pestivirus spesifik antijen varlığı yönünden ticari Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Serelisa® BVD p80Ag Mono Indirect, Synbiotics, Europe, Lyon, France) ile test edildi.

Çalışmada, keçi örneklerinin %42,97'sinin (55/128), koyun örneklerinin ise %47,29'unun (157/332) seropozitif olduğu saptandı. Koyun ve keçilerde türlere, coğrafik konuma ve yaşlara göre seropozitiflik oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Fakat koyunlarda istatistiksel olarak ırk ve cinsiyetin enfeksiyon üzerine etkili olduğu kanısına varıldı. Dişi koyunlarda koçlara nazaran daha yüksek antikor pozitiflik oranı tespit edildi ($P<0,05$). Keçilerde ise ırk ve cinsiyet farklılığı istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Seropozitif bulunan toplam 212 serum örneğinin SN_{50} değerleri %37,26'sında 1/5, %33,96'sında 1/10, %14,15'inde 1/20, %5,18'inde 1/40, %5,66'sında 1/80 ve %3,77'sinde ise 1/160 olarak belirlendi. Test edilen tam kan örneklerinin antijen yönünden negatif olduğu saptandı.

Bu çalışmada, Aydın ve İzmir illerinde örneklenen koyun ve keçilerde viremik hayvan tespit edilmemiş olmasına rağmen, %45,87 (211/460) oranında seropozitiflik saptanması pestivirusların bölgede sirküle olduğunu ve önemli ekonomik kayıplara neden olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle abort olaylarında bu enfeksiyonların da düşünülmesi, periyodik olarak serolojik ve virolojik kontrollerin yapılarak, koruyucu önlemlerin alınmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Pestivirus, Antijen, Antikor, Keçi, Koyun

SUMMARY

A Serological and Virological Investigation of the Pestivirus Infections in Sheep and Goats in the Aydın and İzmir Provinces

The objective of this study was serological and virological investigation of Pestivirus infections in sheep and goats in the Aydın and İzmir provinces.

In the study, 460 serum samples were collected from 128 goats and 332 sheep. The presence of antibodies in the blood serum samples was investigated using NADL, the reference strain for Bovine viral diarrhea virus (BVDV) in Virus Neutralization Tests. In total, 348 whole blood samples collected from 116 goats and 232 sheep were tested for the presence of the Pestivirus specific antigens using commercially available Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISA) (Serelisa[®] BVD p80ag Mono Indirect, Synbiotics, Europe, Lyon, France).

In the study, 42.97% (55/128) of the goat and 47.29% (157/332) of the sheep samples were found to be seropositive. Species in sheep and goats in this study, no statistically significant difference in seropositivity rates based on geographic location and age. But the sheep was concluded that the statistical effect on breed and sex of the infection. Compared to the ram in the ewe antibody positive rate was higher ($P < 0.05$). In the goat breed and sex differences were not statistically significant.

SN₅₀ values were 1/5 in 37.26%, 1/10 in 33.96%, 1/20 in 14.15%, 1/40 in 5.18%, 1/80 in 5.66% and 1/160 in 3.77% of the 212 seropositive serum samples. The whole blood samples tested were negative for the antigen.

Although no viremia was detected in any of the sheep and goat tested in this study, the 45.87% (211/460) rate of seropositivity shows that Pestiviruses may be circulating in the region and may cause significant economic losses. Therefore, the thought of this infection in the abortion case, serological and virological controls periodically made, it was concluded that the results of the preventive measures taken as necessary. In conclusion, this study, Aydın and İzmir in the sheep and goat significant economic losses, causing the

pestivirus infection, the presence of a determined and abortion in cases of this infection also be considered, periodically serological and virological controls and the preventive measures to be necessary, it was concluded.

Keywords: Pestivirus, Antigen, Antibody, Goat, Sheep

KAYNAKLAR

Ağaçfıdan A. Arboviruslar, Flaviviridae 2012

Erişim: http://www.istanbul.edu.tr/itf/itfogrenci/attachments/079_Arboviruslar.pdf Erişim

Tarihi: 30.04.2012.

Albayrak H Ve Ozan E. The Investigation of Pestivirus and Rift Valley Fever Virus Infections in Aborted Ruminant Foetuses in the Blacksea Region in Turkey. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi 2012; 18 (3): 457-461.

Albayrak H, Gümüşova SO, Ozan E ve Yazıcı Z. Molecular detection of pestiviruses in aborted foetuses from provinces in northern Turkey. Tropical Animal Health Production 2012; 44: 677-680.

Alkan F.(Arthrogrippythypso ve hidranencephaly'li buzağı doğumlarında bovine viral diarrhoea-mucosal disease (BVD-MD)'in insidensi üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 1989.

Alkan F, Burgu İ. Investigation on the incidence of Bovine Viral diarrhoea Virus in calves born with encephalopathy in Turkey. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 1993; 100:107-109.

Alkan F, Yeşilbağ K, Burgu İ. Persiste Enfekte Sığırlarda BVDV'nin Organ Dağılımı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi 2001; 48, 111-115.

Anderson CA, Sawyer M, Higgins RD, East N, Osburn BL. Experimentally induced ovine border disease: Extensive hypomyelination with minimal viral antigen in neonatal spinal cord. American Journal of Veterinary Research 1987; 48 (3): 499-503.

Arnal M, Fernandez de Luco D, Riba L, Maley M, Gilray J, Willoughby K, Vilcek S, Nettleton P. A novel pestivirus associated with deaths in Pyrenean chamois. Journal of General Virology 2004; 85, 3653-3657.

Ataseven VS, Ataseven L, Tan T, Babür C ve Oğuzoğlu TÇ. Seropositivity of agents causing abortion in local goat breeds in Eastern and South-eastern Anatolia Turkey. Revue de Medecine Veterinaire 2006; 157, 955-961.

Avcı O. Konya ve Çevresinde Abort Problemlı Koyun Sürülerinde Border Disease Virus Enfeksiyonun Araştırılması Doktora tezi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Konya 2010.

Azkur AK, Gazyağcı S, Aslan ME ve Ünal N. Molecular and Serological Characterization of Pestivirus Infection Among Sheep in Kirikkale Turkey. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2011;17 (Suppl A): S83-S92.

Barlow RM, Gardiner JC ve Vantsis JT. Infection of pregnant sheep with the NADL strain of bovine virus diarrhoea and their subsequent challenge with Border disease 11B pool. Journal of Comparative Pathology 1980; 90: 67-72.

Barlow RM, Gardiner AC, Nettleton PF. The pathology of a spontaneous and experimental mucosal disease-like syndrome in sheep recovered from clinical border disease, Journal of Comparative Pathology 1983; 93: 451-461.

Barlow RM. Some interactions of virus and maternal/foetal immune mechanisms in Border disease of sheep. Immunology of Nervous System Infections 1983;255-268.

Becher P, Shannon AD, Tautz N, Thiel HJ. Molecular characterization of Border disease virus, a pestivirus from sheep, Virology 1994;198, 542-551.

Becher B, Avalos Ramires R, Orlich M, Cedillo Rosales S, König M, Schweizer M, Stalder H, Schirmer H, Tiel H-J. Genetic and antigenic characterization of novel pestivirus genotypes implications for classification, Virology 2003;311, 96-104.

Berber E ve Sözdutmaz İ. Elazığ, Malatya ve Tunceli İllerinde Koyunlarda Görülen Abort Vakalarında Pestivirusların Rolünün Araştırılması. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi 2013; 27, 1,039-041.

Bernard G, Bourdin P. Etat immunitaire actuel, naturel ou acquis du cheptel sénégalais vis-à-vis de la peste bovine, de la maladie des muqueuses, de la rhinotrachéite infectieuse et de la maladie respiratoire à virus parainfluenza 3. Revue de Elevage Medecine Veterinaire des Pays Tropicaux 1971;24,183-189.

Binkhorst GJ, Journee DHL, Wouda W, Straver PJ ve Vos JH. Neurological disorders, virus persistence ve hypomyelination in calves due to intrauterine infections with bovine virus diarrhea virus. Veterinary Quarterly 1983; 5 (4); 145-155.

Bistner SI, Rubin LF ve Saunders LZ. The ocular lesions of bovine viral diarrhea-mucosal disease. *Veterinary pathology* 1970; 7: 275-286.

Bögel K. Über die Verbreitung eines Virus der Mucosal-Disease-Gruppe in Schafherden Süddeutschlands *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Journal of Veterinary Medicine* 1964; 11(B): 687-692.

Brown TT, Schultz RD, Duncan JR ve Bistner SI. Serological response of the bovine fetus to bovine viral diarrhea virus. *Infection and Immunity* 1979; 25 (1):93-97.

Brun A, Lacoste F, Reynaud G, Kato F and Saint-Marc B. Evaluation of the potency of an inactivated vaccine against border disease pestivirus infection in sheep. *Proceedings of the Second Symposium on Pestiviruses* Edwards S, ed. Fondation Marcel Merieux, Annecy, France 1993; 257-259.

Burgu İ, Öztürk F ve Akça Y. Tahirova devlet üretim çiftliği koyunlarında viral enfeksiyonlar üzerinde serolojik araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1984; 31, 2, 167-179.

Burgu İ, Öztürk F, Akça Y, Toker A, Frey HR, Liess B. Investigations on the occurrence and impact of bovine viral diarrhea (BVD) virus infections in sheep in Turkey. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 1987; 94: 292-294.

Burgu İ, Öztürk F, Toker A, Frey HR ve Liess B. Investigation on the occurrence and impact of bovine viral diarrhea (BVD) virus infections in sheep in Turkey. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 1987; 94: 292-294.

Burgu İ, Alkan F, Özkul A. Hücre Kültürleri ve Sığır Serumlarında Pestivirus Kontaminasyonu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1992; 39 (3): 372-380.

Burgu İ ve Özkul A. Detection by cultural isolation of bovine virus diarrhea (BVD) virus following field infections in cattle and their fetuses. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 1993; 100: 361-363.

Burgu İ, Akça Y, Alkan F, Özkul A, Frey HR, Liess B, Karaoğlu T. Prevalence of pestivirus infections of ruminants in Turkey. *Türk ve Alman Üniversiteleri İşbirliğinin Tarım Alanındaki Bilimsel Araştırma Sonuçları Sempozyumu* 1997, 29 Eylül-4 Ekim 1997, Antalya.

Burgu İ, Akça Y, Alkan F, Özkul A, Karaoğlu TM, BilgeDağalp S, Oğuzoğlu TÇ, Yeşilbağ K. Koyunlarda doğum öncesi ve sonrası dönemlerde bovine viral diarrhoea (BVD) virus enfeksiyonunun serolojik virolojik ve patogeneze yönünden araştırılması. Turkish Journal of Veterinary Animal Science 2001; 25, 551-557.

Burgu İ. Gebe Koyunlar ve Fetüslerinde Pestivirus Enfeksiyonu Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri 2003.

Carlsson U. Border Disease in sheep caused by transmission of virus from cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. Veterinary Record 1991; 128: 141-147.

Carlsson U, Belak K. Border Disease Virus Transmitted to Sheep and Cattle by a persistently Infected Ewe: Epidemiology and Control. Acta Veterinaria Scandinavica 1994; 35 (1): 79-88.

Çabalar. M Viroloji Ünite 8 Border Disease. 2011 Erişim: <http://tv.aof.edu.tr/eKitap/LBV211U.pdf> Erişim Tarihi: 20.05.2012.

Çetinkaya B, Öngör H, Muz A ve ark. Detection of brucella species DNA in the stomach content of aborted sheep fetuses by PCR. Veterinary Record 1999; 144: 239-240.

De Mia GM, Greiser-Wilke I, Feliziani F, Giammarioli M, De Giuseppe A. Genetic characterization of a caprine pestivirus as the first member of a putative novel pestivirus subgroup. Journal of Veterinary Medicine Series B 2005; 52, 206-210.

Depner K, Hubschle OJ and Liess B. BVD-virus infection in goats: experimental studies on transplacental transmissibility of the virus and its effect on reproduction. Archives of Virology, Supplement 1991; 3, 253-256.

Dubovi EJ. Bovine Diarrhoea Virus and Border Disease Virus (Flaviviridae). Encyclopedia of Virology, Second Edition, Edited by Granoff, A., Webster, R.G., Academic Press, A Harcourt Science and Technology Company. 1999; ISBN: 0 12 227030-4.

Duman R ve Durak Y. Investigations on chlamydia psittaci infections causing abortion in sheep in Konya district using complement fixation test. Turkish Journal Veterinary and Animal Science 1998; 22: 511-516.

Erganiş O, Kaya O, Hadimli LL ve Güler L. Rapid diagnosis of ovine brucella, campylobacter and salmonella infections from fetal stomach contents by coagglutination test. *Small Ruminant Research* 2002; 45: 123-127.

Evermann JF, Faris MA, Niemi SM ve ark Pestivirus persistence and pathogenesis: comparative diagnostic aspects of Border disease virus of sheep and bovine viral diarrhea virus. 1981;407-426

French E ve Snowdon W. Mucosal Disease in Australian cattle. *Australian Veterinary Journal*, 40: 99-105.

French EL, Hore DE, Snowdon WA, Parsonson IM, Uren J. Infection of pregnant ewes with mucosal disease virus of ovine origin. *Australian Veterinary Journal* 1974;50, 45-54.

Frey HR, Liess B. Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit eines stark zytopatogenen VD-MD Virus stammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotitermethode. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Journal of Veterinary Medicine* 1971; 18, 61–71.

Gardiner AC. The distribution and significance of border disease viral antigen in infected lambs and fetuses. *Journal of Comparative Pathology* 1980; 90: 513-518.

García-Pérez AL, Minguijón E, Barandika JF ve ark. Detection of Border disease virus in fetuses, stillbirths, and newborn lambs from natural and experimental infections. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2009; 21: 331-337.

Gazyağcı S, Azkur AK ve Çağlayan O. Comparison of hematological and biochemical parameters in sheep naturally and persistently infected with a border disease virus. *Tropical Animal Health Production* 2011; 43: 553-556.

Givens MD ve Marley MS. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogen* 2008; 70: 270-285.

Gümüşova SO, Yazıcı Z Ve Albayrak H. Pestivirus seroprevalence in sheep populations from inland and coastal zones of Turkey. *Revue de Médecine Vétérinaire* 2006;157, 12, 595-598.

Gür S. A investigation of border disease virus in sheep in Western Turkey. *Tropical Animal Health Production* 2009; 41: 1409-1412.

Hasircioğlu S, Kale M ve Acar A. Investigation of Pestivirus In Aborted Sheep and Goats in Burdur Region. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2009; 15 (2):163-167.

Hassan AKM ve Scott GRA. technique to olviate the risk of inadvertent infection of cell cultures with bovine viral diarrhoea virus. Journal of Comparative Pathology 1986; 96: 241-246.

Heinz FX, Collet MS, Purcell RH, Gould EA, Howard CR, Houghton M, Moormann RJM, Rice CM, Thiel HJ. Family Flaviviridae. 2000; 859-878.

Hewicker-Trautwein M, Liess B, Moening V. Trautwein Gaspects of the pathogenesis of experimental bovine viral diarrhoea virus-induced brain malformations in the ovine fetus. Proceedings of the second symposium on pestivirus. 1-3 October 1992, France 1992, 123-126.

Hewicker-Trautwein M. Pestivirus-induzierte Alterationen im Zentralnervensystem von Wiederkäuern. Tierärztl Prax 1994;22, 516-23.

Horner GW, Tham KM, Orr D, ve ark. Comparison of an antigen capture enzyme-linked assay with reverse transcription-polymerase chain reaction and cell culture immunoperoxidase tests for the diagnosis of ruminant pestivirus infections. Veterinary Microbiology 1995; 43: 75-84.

Hughes LE, Kershaw GF ve Shaw IGB. Border Disease an undescribed disease of sheep. Veterinary Record 1959;71, 313-317.

Hurtado A, Garcia-Perez AL, Aduriz G and Juste RA. Genetic diversity of ruminant pestiviruses from Spain. Virus Research 2003;92, 67-73.

Hurtado A, Aduriz G, Nieves G, Oporto B, Juste RA, Lavin S, Lopez-Olvera J and Ignasi M. Molecular identification of a new pestivirus associated with increased mortality in the pyrenean chamois in Spain. Journal of Wildlife Diseases 2004;40, 796-800.

Hurtado A, Sanchez I, Bastida F, ve ark. Detection and quantification of pestivirus in experimentally infected pregnant ewes and their progeny. Virology Journal 2009; 6: 189.

İssi M, Gülaçtı İ, Kızıl Ö ve ark. Kliniğimizde gözlemlenen reverze transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile doğrulanan mukoza hastalığı olguları. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilim Dergisi 2006; 20: 253-258.

İssi M, Gül Y, Gürçay M ve Gök T. Elazığ Yöresindeki Koyunlarda Saptanan Pestivirus Enfeksiyonu. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilim Dergisi 2012; 26 (3): 165 – 169.

Juliá S, Craig MI, Jiménez LS, Pinto, GB ve Weber EL. First report of BVDV circulation in sheep in Argentina. Preventive Veterinary Medicine 2009; 90: 274-277.

Kaerber G. In diagnostic procedures for viral and rickettsial disease. Public Health. Association (New York) 1964; 3,48–50.

Kalaycı G. Koyun ve Keçilerin Abortla Seyreden Viral Enfeksiyonları, Border Disease. Erişim: <http://www.bornovavet.gov.tr/PDF/PPgulnurkalayci.pdf> Erişim Tarihi:30.04.2012.

King AA ve Harkness JW. Viral contamination of bovine serum. Veterinary Record 1975; 97 (1) : 16.

Kobayashi T, Yanase T, Yamakawa M ve ark. Genetic diversity and reassortments among Akabane virus field isolates. Virus Research 2007; 130: 162-171.

Krametter-Froetscher R, Duenser M, Preyler B ve ark. Pestivirus infection in sheep and goats in West Austria. Veterinary Journal 2010; 186: 342-346.

Lamontagne L ve Roy R. Presence of antibodies to bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus (Border disease) in sheep and goat flocks in Quebec. The Canadian Journal of Comparative Medicine 1984; 48: 225-227.

Liess B, Bilindow H, Orban S, Sasse-Patzer B, Frey H ve Timm D. Aborte, totgeburten, kümmern, Lämmersterben in zwei Schafherden Nordwestdeutschlands-"Border 'Disease" in der Bundesrepublik. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 1982; 89: 6-11.

Liess B, Orhan S, Frey H-R, Trautwein G, Wiefel W ve Blindow H. Studies on transplacental transmissibility of a bovine virus diarrhoea (BVD) vaccinevirus in cattle.II. Inoculation of pregnant cows without detectable neutralising antibodies to BVDvirus 90-229 days before parturition (51 st to 190th day of gestation). Zentralblatt für Veterinärmedizin Journal of Veterinary Medicine 1984;(B) 31: 669-681.

Löken T ve Barlow RM. Border disease in Norway. Acta Veterinaria Scandinavica 1981, 22: 137-139.

Löken T, Krogsrud J ve Bjerkås I. Outbreaks of border disease in goats induced by a pestivirus- contaminated orf vaccine, with virus transmission to sheep and cattle. *Journal of Comparative Pathology* 1991;104, 195-209.

Löken T, Bjerkås I. Experimental pestivirus infections in pregnant goats. *Journal of Comparative Pathology* 1991;105, 123-140.

Löken T, Krogsrud J ve Larsen IL. Pestivirus infections in Norway. Serological investigation in cattle, sheep and pig. *Acta Veterinaria Scandinavica* 1991; 32: 27-34.

Löken T. Border Disease in goats 2000. Erişim: www.ivis.org Erişim tarihi: 22.02.2007.

Maclachlan NJ, Drew CP, Darpe KE ve Worwa G. The pathology and pathogenesis of bluetongue. *Journal of Comparative Pathology* 2009; 141: 1-16.

Manktelow BW, Porter WL, Lewis KHC. Hairy shaker disease of lambs. *New Zealand Veterinary Journal* 1969;17, 245-248.

Mc Clurkin AW, Littledike ET, Cutlip RC, Frank GH, Coria MF ve Bolin SR. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus. *The Canadian Journal of Comparative Medicine* 1984; 48: 156-161.

Ménasse A, Seiménis A, Skyrianos G, Stoforos E ve Saratsiotis A. Sheep pox in Greece. Serious incidents after large scale vaccination. In: *Proceedings of the 5 th International Symposium of World Association of Veterinary Microbiological and Immunological Specialists in Infectious Diseases*. Tunis 1978;42.

Menzies PI. Control of important causes of infectious abortion in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* 2011; 27: 81-93.

Meyers G, Thiel HJ. Molecular characterization of pestiviruses. *Advances in Virus Research* 1996;47, 53-118.

Meyling A. Border Disease/BVD hos geder (BD/BVD in goats). 3-4. In *State Veterinary Serum Laboratory and State Veterinary Institute for Virus Research*. København 1990.

Mishra N, Pitale SS, Rajukumar K. Genetic variety of bovine viral diarrhea virus 1 strains isolated from sheep and goats in India. *Acta Virologica* 2012; 56: 209-215.

Monies RJ, Paton DJ, Vilcek S. Mucosal disease-like lesions in sheep infected with Border disease virus. *Veterinary Record* 2004; 155, 765-769.

Nettleton PF. Pestivirus infections in ruminants other than cattle. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties* 1990; 9: 131-150.

Nettleton PF, Gilmour JS, Harring JA, Sinclair JA. The production and survival of lambs persistently infected with border disease virus. *Comparative Immunology Microbiology Infectious Diseases* 1992; 15 (3): 179-188.

Nuttall PA, Luther PD ve Stott EJ. Viral contamination of bovine foetal serum and cell cultures. *Nature* 1977; 266: 835-837.

O'Neill RG, O'Connor M ve O'Reilly PJ. A survey of antibodies to pestivirus in sheep in the Republic of Ireland. *Irish Veterinary Journal* 2004; 57: 525-530.

Office International Epizooties (OIE). Manual of diagnostic tests and vaccines terrestrial animals 2004. Erişim: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00131.htm Erişim tarihi: 22.05.2012

Office International Epizooties (OIE). Erişim: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.07.01_BORDER_DIS.pdf 2008. Erişim tarihi: 19.05.2012

Oğuzoğlu TÇ, Tan MT, Demir AB, Bilge-Dağalp S, Karaoğlu MT, Alkan F, Burgu İ. Koyun ve Keçilerde Yakın Akaraba Pestivirus Enfeksiyonlarının (BDV, BVDV 1 ve BVDV 2) Serolojik ve Virolojik Olarak Araştırılması 2006. TÜBİTAK-VHAG 2009.

Oğuzoğlu TÇ. Sınır Hastalığı (Border Disease).” Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2008; 55, 69-74

Oğuzoğlu TÇ, Tan MT, Toplu N ve ark. Border disease virus (BDV) infections of small ruminants in Turkey: A new BDV subgroup. *Veterinary Microbiology* 2009; 135: 374-379.

Okur-Gümüşova S, Yazıcı Z ve Albayrak H. Pestivirus seroprevalence in sheep populations from inland and coastal zones of Turkey. *Reveu de Medecine Veterinaire* 2006; 157: 595-598.

Ozan E, Turan HM, Albayrak H ve Cavunt A. Serological Determination of Pestivirus, Bluetongue Virus and Petse Des Perits Ruminants Virus in Small Ruminants in Samsun Province of Turkey. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilim Dergisi* 2012; 7 (1): 27-33.

Öngör H, Çetinkaya B, Açık MN, Karahan M ve Bulut H. Detection of chlamydothila abortus in ovine milk by immunomagnetic separation-polymerase chain reaction. *Journal Veterinary Medicine* 2004;(B) 50: 43-45.

Özdamar K. Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi. 5. Baskı. 2004; Eskişehir: Kaan Kitabevi.

Özkul A. Gebe ineklerde ve fötuslarında bovine virus diarrhea -mucosal disease. Doktora Tezi 1992; Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

ÖztürkA Pratik Koyunculuk

2000.Erişim:http://www.tagem.gov.tr/yayinlar/pratik koyunculuk/pratik_koyunculuk.htm

Erişim Tarihi: 06.05.2002.

Pekel E. Türkiye hayvancılığında ıslah hedefleri ve stratejileri. 2002 Erişim: <http://www.cu.edu.tr/fakulteler/zf/zb/bilgi/trislahhedef.asp>

Erişim Tarihi:06.05.2012.

Peterhans E,Bachofen C,Stalder H, Schweizer M. Cytopathic bovine viral diarrhea viruses (BVDV): emerging pestiviruses doomed to extinction.*Veterinary Research*2010;;41(6):44.

Pioz M, Loison A, Gibert P, Dubrey D, Menaut P, Le Tallec B, Artois M, Gilot-Fromont E. Transmission of a pestivirus infection in a population of Pyrenean chamois. *Veterinary Microbiology* 2007;119, 19-30.

Plant JW, Littlejohns IR, Gardiner AC, Vansis JT, Muck RA. Immunological relationship between border disease, mucosal disease and swine fever. *Veterinary Record* 1973; 92: 455.

Radostits OM ve Littlejohns IR. New concepts in the pathogenesis, diagnosis and control of disease caused by BVDV. The Canadian Veterinary Journal 1988; 29: 513-528.

Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW ve Constable PD. Veterinary Medicine. Tenth edition, Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto: Saunders Elsevier 2008.

Ridpath JF, Bolin SR. Comparison of the complete genomic sequence of the border disease virus, BD31 to other pestiviruses. Virus Research 1997;50, 237–243.

Rossi CR, Bridgman CR ve Kiesel GK. Viral contamination of bovine fetal lung cultures and bovine fetal serum. American Journal of Veterinary Research 1980;41 : 1680-1681.

Sawyer MM, Schore CE, Osburn BI. Border Disease of sheep- Aspects for diagnostic and epidemiologic consideration. Archives of Virology, Supplementum 1991; 3, 97-100.

Sawyer MM, Osburn BI. Long terms effects of persistent pestivirus infection on thyroid secretions in border disease sheep. Proceedings of the 2nd Symposium on Pestiviruses. France 1992; 127-130.

Schaller P, Vogt HR, Strasser M, Nettleton PF, Peterhans E, Zanoni R. Seroprevalence of maedi-visna and border disease in Switzerland. Schweiz Arch Tierheilkd 2000;142, 145-153.

Schelp C, Greiser-Wilke I. BVD diagnosis: an overview. Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift 2003;116, 227-233.

Scott PR. Sheep Medicine. London 2007.

Soydal-Ataseven V, Ataseven L, Tan T, Babur C ve Oğuzoğlu TÇ. Seropositivity of agents causing abortion in local goat breeds in Eastern and Southeastern Anatolia, Turkey. Revue de Medecine Veterinaire 2006; 157: 955-961.

Spais AG, Papadopoulos O ve Vantsis JT. An extensive outbreak of Border disease in Greece. Proceedings of XX World Vet. Congress, Thessaloniki, July 1975.

St George T. A survey of sheep throughout Australia for antibody to parainfluenza type 3 virus and to mucosal disease virus. Australian Veterinary Journal 1971; 47: 370-374.

Stalder HP, Meier Ph, Pfaffen G, Wageck-Canal C, Rüfenacht J, Schaller P, Bachofen C, Marti S, Vogt HR, Peterhans E. Genetic heterogeneity of pestiviruses of ruminants in Switzerland. Preventive Veterinary Medicine 2005; 72, 37-41.

Steel RGD, Torrie JH. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach, 2nd Ed. New York 1980.

Straver PJ, Journee DHL ve Binkhorst GJ. Neurological disorders, virus persistence and hypomyelination in calves due to intrauterine infections with bovine virus diarrhoea virus. II. Virology and epizootology. Veterinary Quarterly 1983; 5 (4): 156-164.

Şimşek A, Yavru S, Öztürk F. Konya bölgesi sığır ve koyunlarında Bovine Viral Diarrhea Virus enfeksiyonları üzerine genel bir bakış. Ulusal Sığır ve Koyun Yavru Atma Sempozyumu, 6-8 Ekim 1998.

Tamoglia TW. Laboratory evaluation of bovine respiratory disease vaccines for safety. Journal of The American Veterinary Medical Association 1968;152: 847-850.

Tautz N, Elbers K, Stoll D, Meyers G, ve H-J Thiel. Serine protease of pestiviruses: determination of cleavage sites. Journal Virology 1997;71:5415– 5422.

Terpstra C. Border disease: Virus persistence, antibody response and transmission studies. Research Veterinary Science 1981; 30:185-191.

Thabti F, Letellier C, Hammami S, Pepin M, Ribiere M, Mesplede A, Kerkhofs P, Russo P. Detection of a novel border disease virus subgroup in Tunisian sheep. Archive Virology 2005;150, 215-229.

Toplu N, Oğuzoğlu TÇ. Neuropathologic Study of Border Disease Virus in Naturally Infected Fetal and Neonatal Small Ruminants and Its Association With Apoptosis Veterinary Pathology 2010; 48(3) 576-583.

Tütüncü M, Düz E, Karaca M, Akkan HA, Keleş İ, Bakır B ve Tasal İA. serological investigation of pestiviruses in sheep in eastern border of Turkey. Tropical Animal Health and Production 2011; 43;1467-1469.

Ural K, Ulutaş B, Ulutaş PA, Gültekin M ve Atasoy A. A Flock Level Analysis of an Outbreak of Natural Border Disease in Sakiz Ewes and their Progeny” *Acta Scientiae Veterinariae* 2011; 39(3): 977.

Valdazo-Gonzales B, Alvarez-Martinez M, Sandvik T. Genetic and antigenic typing of border disease virus isolates in sheep from the Iberian Peninsula. *Veterinary Journal* 2007; 174 316-324.

Valdazo-Gonzales B, Alvarez-Martinez M, Greiser-Wilke I. Genetic typing and prevalence of Border Disease Virus in small ruminants flocks in Spain. *Veterinary Microbiology* 2006;117, 141-153.

Van Oirschot JT. Congenital infections with non-arboviruses. *Veterinary Microbiology* 1983; 8: 321- 361.

Vilcek S, Nettleton PF, Paton DJ and Belak S. Molecular characterization of ovine pestiviruses. *Journal of General Virology* 1997; 78, 725-735.

Vilcek S, Bjorklund HV, Horner GW, Meers J, Belak S. Genetic typing of pestiviruses from New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 1998; 46, 35–37.

Waldvogel AS, Ehrensperger F, Straub OC, Pospisil A. An immunohistochemical study of the distribution of border disease virus in persistently infected sheep. *Journal of Comparative Pathology* 1995; 113 (2): 191-200.

Wensvoort G ve Terpstra C. Bovine viral diarrhoea virus infections in piglets born to sows vaccinated against swine fever with contaminated vaccine. *Research in Veterinary Science* 1988; 45: 143-145.

Weyhe D ve Ulbrich F. Serologische Untersuchungen über das vorkommen der Parainfluenza-3-Virusinfektion beim Schaf. *Monatshefte fuer Veterinaermedizin* 1979;34: 846-847.

Willoughby K, Valdazo-Gonzales B, Maley M, Gilray J, Nettleton P. Development of a real time RT-PCR to detect and type ovine pestiviruses. *Journal Virology* 2006; 132, 187-194

Xu J, Mendez E, Caron PR, Lin C, Murcko MA, Collett MS ve Rice CM. Bovine viral diarrhea NS3 serine proteinase: polyprotein cleavage sites, cofactor requirements, and molecular model of an enzyme essential for pestivirus replication. *Journal Virology* 1997;71:5312–5322.

Yapkıç O. Gebe sığırlarda ve bunların buzağlarında bovine viral diarrhea virus enfeksiyonlarının immunfloresans ve immunperoksidaz testleri ile araştırılması. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Konya 1999.

Yazıcı Z, Serdar MS, Gümüşova SO ve Albayrak H. Molecular diagnosis and seroepidemiology of pestiviruses in sheep. *Veterinaski Arhiv* 2012; 82, 35-45.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı : Zafer Emin
Soyadı : URAL
Uyruğu : TC
Doğum Tarihi ve Yeri : 11.09.1983
Medeni Hali : Evli
Telefon : 05053739668
Fax : -
e-mail : zafereminural@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lise	HU Ödemiş Anadolu Lisesi	2002
Yüksek Lisans	Ankara Üni. Vet. Fakültesi	2007

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2010	Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı / Tire / İZMİR	Veteriner Hekim

Yabancı Dil

İngilizce

Sunulan tezden elde edilen yayınlar:

URAL ZE, EROL N (2014). Aydın ve İzmir İllerindeki Koyun ve Keçilerde Pestivirus Enfeksiyonunun Serolojik ve Virolojik Olarak Araştırılması. 11. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı). 21-24 Ekim 2014 Antalya.

TEŞEKKÜR

Bana olan sevgisi, dostluğu ve sonsuz sabrı ile her konuda destekçim olan biricik eşim Şaziye URAL başta olmak üzere tez konusunun seçimi ve çalışmalarımın yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen, çalışma süresince bana olan güveni ve yardımları için tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Nural EROL'a, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mehmet Tolga TAN'a, istatistiki çalışmalardaki yardımı için asker arkadaşım ODTÜ İstatistik mezunu H. Barış ŞİRİ'ye, laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Sibel GÜR'e ve hayatımda her zaman yanımda hissettiğim kıymetli annem, babam ve oğluma teşekkür ediyorum.

Ayrıca ihtiyaç duyduğumda her zaman yanımda olan, çalışmalarımdeki katkıları için İş arkadaşlarıma, özellikle Veteriner Hekim Sefer GÜLLÜ ve Veteriner Hekim Uğur YAZICI'ya, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'nda doktorasını yapmakta olan Araş. Gör. B. Taylan KOÇ' a ve aynı Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrencilerinden Veteriner Hekim Veli Özgür ÇAĞLAV ve Veteriner Hekim Yunus ÇUKUROVA'ya, koordinasyonu sağlamadaki destekleri ve çalışmaları için Aydın ili Damızlık Koyun ve Keçi Yetiştiricileri Birliği Yönetim Kurulu başkanı Halit KAHRAMAN başta olmak üzere Ziraat Yük. Müh. Orçun ORUÇOĞLU ve Ziraat Müh. Özlem ADIGÜZEL'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

EK TABLOLAR

Ek 1 İllere ve Hayvan Türlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları

İşletmenin Olduğu İl	KEÇİ			KOYUN			TOPLAM		
	n	Seropozitif	%	n	Seropozitif	%	n	Seropozitif	%
Aydın	89	41	46,07	121	61	50,41	210	102	48,57
İzmir	39	14	35,90	211	96	45,50	250	110	44
Genel Toplam	128	55	42,97	332	157	47,29	460	212	46,08

Ek 2 İzmir İlinde Toplanan Kan Örneklerinin İşletmelere Göre Seropozitiflik Dağılımları

İşletme No	Seropozitiflik Yüzdesi	Seropozitif Hayvan Sayısı	Seronegatif Hayvan Sayısı	Toplam Hayvan Sayısı
I	%52,38	11	10	21
II	%50	2	4	4
III	%62,5	15	9	24
IV	%100	1	1	1
V	%56	14	11	25
VI	%32	8	17	25
VII	%0	0	1	1
VIII	%50	3	3	6
IX	%0	0	1	1
X	%66,67	4	6	6
XI	%17,14	6	29	35
XII	%0	0	1	1
XIII	%44,12	15	29	34
XIV	%0	0	1	1
XV	%64,28	9	5	14
XVI	%50	3	3	6
XVII	100	1	0	1
XVIII	%0	0	1	1
XIX	%100	1	0	1
XX	%0	0	2	2
XXI	%0	0	1	1
XXII	%0	0	3	3
XXIII	%50	11	11	22
XIV	%20	1	4	5
XV	%57,14	4	3	7
XVI	%100	1	0	1
XVII	%0	0	1	1
Toplam	%44	110	140	250

Ek 3 Aydın İlinde Toplanan Kan Örneklerinin İşletmelere Göre Seropozitiflik Dağılımları

İşletme No	Seropozitiflik %	Seropozitif Hayvan Sayısı	Seronegatif Hayvan Sayısı	Toplam Hayvan Sayısı
I	%72,41	21	8	29
II	%100	6	0	6
III	%53,33	8	7	15
IV	%100	1	0	1
V	%39,13	9	14	23
VI	%100	1	0	1
VII	%50	1	1	2
VIII	%100	1	0	1
IX	%31,82	7	15	22
X	%0	0	1	1
XI	100	1	0	1
XII	%38,89	7	11	18
XIII	%50	1	1	2
XIV	%8,33	1	11	12
XV	%0	0	1	1
XVI	%50	1	1	2
XVII	48	12	13	25
XVIII	%25	1	3	4
XIX	%52,38	22	20	42
XX	%50	1	1	2
Toplam	% 48,57	102	108	210

Ek 4 Keçilerin İrk ve Cinsiyetlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları

İrklar	DİŞİ KEÇİ			ERKEK KEÇİ			TOPLAM		
	n	Seropozitif	%	n	Seropozitif	%	n	Seropozitif	%
Kıl Keçisi	39	15	% 38,46	16	5	% 31,25	55	20	% 36,36
Kıl Keçisi Melezi	3	1	% 33,33	1	0	% 0	4	1	% 25
Saenen Keçisi	32	18	% 56,25	5	2	% 40	37	20	% 54,05
Saenen Keçisi Melezi	16	8	% 50	1	0	% 0	17	8	% 47,05
Malta Keçisi Melezi	10	4	% 40	3	1	% 33,33	13	5	% 38,46
Honanlı Keçisi	2	1	% 50	0	0	% 0	2	1	% 50
Toplam	102	47	% 46,07	26	8	% 30,76	128	55	% 42,96

n: Test edilen hayvan sayısı

Ek 5 Koyunların İrk ve Cinsiyetlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları

İrklar	DİŞİ KOYUN			ERKEK KOYUN			TOPLAM		
	n	Seropozitif	%	n	Seropozitif	%	n	Seropozitif	%
Sakız Melezi	113	55	% 48,67	11	3	% 27,27	124	58	% 46,77
Sakız	17	9	% 52,94	2	0	%0	19	9	%47,37
Kıvırcık Melezi	8	2	% 25	1	0	%0	9	2	% 22,22
Kıvırcık	20	7	% 35	2	0	%0	22	7	%31,81
Tahirova Melezi	62	27	% 43,55	4	1	% 25	66	28	% 42,42
Tahirova	69	41	% 59,42	3	1	% 33,33	72	42	% 58,33
İle De Frans	15	10	% 66,67	4	0	% 0	19	10	% 52,63
Karya	1	1	%100	0	0	%0	1	1	% 100
Toplam	305	152	% 49,84	27	5	% 18,52	332	157	% 47,29

n: Test edilen hayvan sayısı