



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI
VVR-YL-2013-0001

**DENİZLİ İLİNDEKİ SIĞIRLARDA BOVINE HERPESVİRUS TİP 1
(BHV-1) ENFEKSİYONUNUN PREVALANSI**

**Veteriner Hekim
Dilek TAÇKIN**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. M. Tolga TAN**

AYDIN-2013

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI
VVR-YL-2013-0001**

**DENİZLİ İLİNDEKİ SIĞIRLARDA BOVINE HERPESVİRUS TİP 1
(BHV-1) ENFEKSİYONUNUN PREVALANSI**

**Veteriner Hekim
Dilek TAÇKIN**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. M. Tolga TAN**

AYDIN-2013

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

Viroloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Dilek TAÇKIN tarafından hazırlanan “Denizli İlindeki Sığırlarda Bovine Herpesvirus Tip-1 (BHV-1) Enfeksiyonunun Prevalansı” başlıklı tez, 22/02/2013 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

1- Doç.Dr. Mehmet Tolga TAN

2- Doç.Dr. Veysel Soydal ATASEVEN

3- Yrd.Doç.Dr. Nural EROL

Üniversitesi :

Adnan Menderes Üniversitesi

Mustafa Kemal Üniversitesi

Adnan Menderes Üniversitesi

İmzası:



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

Prof.Dr.Sacide KARAKAŞ

Enstitü Müdürü

Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Santral : (256) 218 20 00 Direkt Telefon : 218 20 44

09100- AYDIN
*Fax : (256) 218 20 44

ÖNSÖZ

Dünyada nüfus artışı ve buna bağlı ortaya çıkan beslenme sorunları ülkelerin en önemli gündemini oluşturmaktadır. Sorunların çözümünde ise öncelikle mevcut kaynakların etkili ve verimli bir şekilde kullanılması, kayıpların azaltılarak verimliliğin artırılması yoluna gidilmektedir. Sığırların latent persiste bir hastalığı olan Bovine Herpesvirus Tip 1 (BHV-1) enfeksiyonu, özellikle neden olduğu üst solunum yolu hastalığı, döl tutmama problemleri, abortlar, meme ve ayak hastalıkları ile sığır yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyerek verimliliği düşürmektedir. Ülkemiz şartlarında, bir işletmede BHV-1 enfeksiyonu ile mücadele yönteminin belirlenebilmesi için, enfeksiyonun o işletmedeki durumunun bilinmesi gerekmektedir. Şüphesiz en iyi yöntem kesim ya da elden çıkarma ile yapılan hastalık eradikasyonu ve kalan hayvanların marker aşılarla aşılmasıdır. Ancak işletmedeki enfekte hayvan sayısının yüksek olması durumunda, eradikasyon ekonomik nedenlerden dolayı geçerli bir yol olmamakta, bunun yerine düzenli olarak yıllık aşılamalarla hastalık reaktivasyonu önlenmeye çalışılmaktadır.

Denizli yöresinde hastalığının durumunun detaylı bir şekilde araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu eksikliğin giderilmesi için bu araştırma planlanmıştır. Denizli ili ve çevresinde yapılan bu çalışmada BHV-1 enfeksiyonunun prevalansı araştırılmıştır. Çalışma sonunda hastalık prevalansının yöre genelinde tahmin edilenden daha düşük olduğu saptanmıştır. Denizli ili ve çevresinde suni tohumlamanın yaygın olarak uygulanmasının, sertifikalı sperma kullanılmasının ve işletmeler genelinde gerekli koruma kontrol önlemlerinin alınmasının hastalığın prevalansını düşürdüğü şeklinde yorumlanmıştır. Çalışma sonunda, işletmeye ait sonuçlar hakkında işletme sahiplerine enfeksiyonun durumu ve yapılması gerekenler hakkında bilgi verilmiş, hastalık kontrolü için önerilerde bulunulmuştur. Araştırmanın yörede ve Türkiye’de yapılacak daha kapsamlı çalışmalara kaynak teşkil etmesi amaçlanmıştır.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
1. GİRİŞ	1
1.1. Etiyoloji	3
1.2. Epidemiyoloji	5
1.3. Klinik	5
1.4. Patogenez	6
1.5. Bağışıklık	7
1.6. İmmunprofilaksi	7
1.7. Teşhis	8
1.8. Hastalığın Türkiye’deki Durumu	8
2. MATERYAL YÖNTEM	10
2.1. Materyal	10
2.1.a. Serolojik ve Virolojik Teşhiste Kullanılan Kan Örnekleri	10
2.1.b. Nasal ve Vaginal Svap Örnekleri	10
2.1.c. ELISA (Antikor) Kiti	12
2.1.d. ELISA (Antijen) Kiti	12
2.1.e. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Kullanılan Amplifikasyon Kiti	12
2.2. Yöntem	12
2.2.a. Serolojik Teşhis Amacıyla Alınan Kan Örnekleri	12
2.2.b. Virolojik Teşhis Amacıyla Alınan Kan Örnekleri	12
2.2.c. Svap Örneklerinin İncelenmesi	12
2.2.d. ELISA (Antikor)	12
2.2.e. ELISA (Antijen)	13
2.2.f. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	13
3. BULGULAR	14
3.1. Serolojik Araştırma Bulguları	14
3.2. Virolojik Araştırma Bulguları	14
3.3. Dışardan Hayvan Alımı Yapılan ve Dışarıya Kapalı İşletmelerdeki Seroprevalans	14
3.4. IBR Enfeksiyonuna Bağlı Oluşabilecek Bulgular Gösteren Hayvanlar (Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu, Genital Kanal Problemi, Döl Tutmama, Mastitis, Ayak Problemlili ve Abort) ile Herhangi Bir Klinik Bulgu Göstermeyen hayvanlar Arasındaki Seroprevalans (İşletmeler Geneli)	15
3.5. Yaş Gruplarına Göre Seropozitiflik Oranları	15
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	19
ÖZET	22
SUMMARY	23
KAYNAKLAR	24
TEŞEKKÜRLER	29

ÇİZELGELER

	Sayfa
Çizelge 1. İşletmelere Göre Örneklenen Hayvan Sayısı (Kan Örnekleri)	11
Çizelge 2. İşletmelere Göre Örneklenen Hayvan Sayısı (Svap Örnekleri)	11
Çizelge 3. Kan Örneklerinin İşletmelere Göre Seropozitiflik Dağılımları	16
Çizelge.4. Dışardan Hayvan Alımı Yapılan İşletmelerde Seroprevalans	16
Çizelge.5. Dışarıya Kapalı İşletmelerdeki Seroprevalans	17
Çizelge.6. İşletmeler Genelinde Seroprevalans Dağılımı	17
Çizelge.7. Yaş Gruplarına Göre Seropozitiflik Dağılımları	17
Çizelge 8. Denizli İlinde Yıllar Bazında Suni Tohumlama Oranları	21

1.GİRİŞ

Bovine Herpes Virus Tip 1 (BHV-1), sığırlarda üst solunum yolu (Infectious Bovine Rhinotracheitis-IBR) ve genital kanal enfeksiyonu (Infectitious Pustuler Vulvovaginitis, Infectitious Pustuler Balanoposthitis-IPV ,IBP) olmak üzere iki önemli klinik bulguyla seyreden oluşturan morbiditesi yüksek, akut seyirli hastalık tablosuna neden olmaktadır (Murphy ve ark. 1999). Danalarda jeneralize ve çoğunlukla ölümcül olarak seyreden meningopencephalitis ve enteritis yanında, konjunktivitis, dermatitis olgularına da rastlanmaktadır (Miller ve Van Der Maaten 1984, Straub 1991).

BHV-1, *Herpesviridae* ailesinin *Alfaherpesvirinae* alt ailesinde sınıflandırılmıştır (Davison ve ark. 2009). Herpesvirusların epidemiyolojik açıdan en önemli özelliği, primer enfeksiyonu takiben bölgesel ganglionlara yerleşerek latent durumda kalabilmeleridir. Latent enfekte hayvanlar yaşamları boyunca virus taşıyıcısı olarak kalırlar (Pastoret ve ark. 1984). BHV-1, üst solunum yolu, genital kanal mukozaları veya konjunktival epitelyum yolu ile vücuda girer ve ilk bu dokularda replike olarak primer enfeksiyonu oluşturur. Virus, primer enfeksiyonun ardından lokal sensör nöronlara geçerek ilişkili ganglionlarda latent olarak kalma eğilimindedir (Ackermann ve Whyler 1984, Pastoret ve ark. 1984, Guy ve ark. 1985, Fenner 1987, Straub 1991; Straub 2001). Latent enfeksiyonlarda virus, transport, hastalık, aşı uygulamaları, doğum, uygun olmayan çevre şartları gibi stres faktörleri ve kortikosteroid uygulamaları sonucunda reaktive olarak tekrar saçılmaya başlar (Ackermann ve Whyler 1984, Pastoret ve ark. 1984, Guy ve ark. 1985, Fenner 1987, Straub 1991; Straub 2001).

BHV-1 enfeksiyonunda klinik tablo virus suşuna, virus dozuna, enfeksiyon yoluna, hayvanların bağışıklık durumuna ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişir (Murphy ve ark.1999). BHV-1 enfeksiyonları, ağırlık kaybı, süt veriminde azalma, infertilite bozuklukları, embriyonal ve fötal ölümler, abort (Miller ve Maaten 1984), genç hayvanlarda solunum yolu ve sinir sistemi bozukluklarına neden olarak süt sığırcılığı işletmelerinde büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Straub 1991, Van Nieuwstadt ve Verhoeff 1983, Van Oirschot 1995). Enfeksiyonun yayılmasında akut ve latent enfekte hayvanlar ile sperma ve embriyo transferi önemli rol oynar. Bu bakımdan seropozitif olan boğalar epidemiyolojik açıdan virus taşıyıcı ve saçıcısı olarak kabul edilmelidir (Burgu ve Akça 1986). BHV-1 de diğer birçok etken gibi sperm hücrelerinden ziyade çoğunlukla

seminal plazmada bulunmaktadır (Van Engelenburg ve ark. 1993, Van Engelenburg ve ark. 1995, Van Oirschot 1995, Amin ve ark. 2001). BHV-1 ile enfekte boğaların serolojik olarak antikorlar tespit edilmeden önce semen ile virüsü saçtıkları tespit edilmiştir (Xia ve ark. 1995; De Gee ve ark. 1996). BHV-1'in biyolojik siklusu sırasında sık sık intramoleküler rekombinasyonlar şekillenmektedir. Sığırlarda iki BHV-1 mutantının aynı anda oluşturduğu nazal enfeksiyon sonrası oluşan rekombinant viruslar hayatta kalabilirler. Bu sürecin bir getirisi olarak glikoprotein E gen bölgeleri silinmiş olan mutant viruslar, marker aşı suşu olarak kullanılmaya başlanmıştır (Muykens ve ark. 2006). Enfeksiyonun yüksek oranda var olduğu ülkelerde IBR enfeksiyonunun kontrolü amacıyla hayvanların aşılması üzerinde durulmaktadır (Lemaire ve ark. 1995).

IBR ilk kez 1950 yılında ABD' de tanımlanmıştır. Hastalık, Dünyanın çeşitli ülkelerinde %65'e varan farklı prevalanslarla kendisini göstermektedir (Boelaert ve ark. 2000; Solis-Calderon ve ark. 2003; Nuotio ve ark. 2007). Avrupa'da 1960'lı yıllarda salgınlar gözlenmiştir. Belçika'da yapılan BHV-1 araştırmasında sığırlarda %62 oranında seropozitiflik saptanmıştır (Van Malderen ve ark. 1987). Kuzey İtalya'da yapılan bir serolojik araştırmada ise 6979 kan serumu serum nötralizasyon testi ile taranmış ve seçilen çiftliklerin %84.31'inde seropozitiflik bulunmuştur (Castrucci ve ark. 1997). Solis-Calderon ve ark.(2003), Meksika'da, daha önce aşılanmamış 564 sığır üzerinde yaptıkları araştırmada seroprevalans değerini %54.4 olarak saptamışlardır. İskoçya'da 1152 sığırdan yapılan serum nötralizasyon testi sonucunda %12 oranında BHV-1 antikor varlığı tespit edilmiştir (Msolla ve ark. 1981). Hollanda'da aşılanmamış sığırlar üzerine yapılan çalışmalarda, bir grupta seropozitiflik %93, başka bir grupta ise %36 düzeyinde bulunmuş, antikor prevalansının %0-100 arasında değişebileceği vurgulanmıştır (Van Wuyckhuise ve ark. 1993). Hastalık Almanya ve Fransa gibi Avrupa ülkelerinde yüksek prevalansla görülmektedir (Straub 1991). Norveç'te 1993 yılından beri klinik, serolojik ve virolojik olarak enfeksiyona rastlanmamıştır (Paisley ve ark. 2001). İsveç, Avusturya, İsviçre ve Danimarka'da BHV-1 eradikasyonunda, seropozitif hayvanların seçilmesi ile başarılı sonuçlar alınmıştır (Castrucci ve ark. 2002). IBR/IPV, Avrupa'da mücadelesi öngörülen hastalıklar listesindedir (Boelaert ve ark. 2000).

Türkiye'de ise ilk kez 1971 yılında IBR/IPV virusuna karşı nötralizan antikorların saptanması ile hastalığın varlığı ortaya konmuştur (Erhan ve ark. 1971). Bunu takip eden yıllarda birçok araştırmacı, virolojik ve serolojik olarak hastalığı saptayabilmişlerdir.

Türkiye'nin çeşitli yörelerindeki süt sığırcılığı işletmelerinde yapılan seroepidemiolojik çalışmalar, hastalığın dağılımının oldukça geniş ve çiftliklerdeki hayvan popülasyonunun %50'den fazlasının enfekte olabileceğini göstermiştir (Gürtürk ve ark. 1975; Akça 1981; Burgu ve Akça 1982; Burgu ve Akça 1986; Öztürk ve ark. 1988; Çabalar 1993; Alkan ve ark. 2005; Tan ve ark. 2006). Türkiye'de BHV-1 enfeksiyonu üzerine gerçekleştirilmiş en kapsamlı çalışma Alkan ve ark. (2005) tarafından yapılmıştır. 31 adet süt sığırcılığı işletmesindeki sığırlarda yapılan bu serolojik çalışmada, sürülerin %97'sinde enfeksiyonun varlığı saptanmıştır. Sürülerin seropozitiflik oranının ise %0.5 ile %79.5 arasında değiştiği vurgulanmıştır. BHV-1 primer olarak sığırlarda enfeksiyon oluşturmaya karşın, diğer gevişgetiren türlerini de etkileyebilmektedir. Yeşilbağ ve Bilge-Dağalp (2006), Türkiye'nin değişik bölgelerinde yetiştirilen koyunlardan toplanan kan serumu örneklerinde, BHV-1'e spesifik nötralizan antikorların varlığı ve enfeksiyonun yaygınlığı araştırmış, virus nötralizasyon testi ile yapılan çalışmada, örneklerin ait olduğu 14 ilden 6'sında ve test edilen toplam 1024 serum örneğinin 25'inde (%2.44) BHV-1'e spesifik nötralizasyon antikorların varlığını saptamıştır. Bu çalışmalarda, Türkiye'de sığırlara nazaran koyunlardaki BHV-1 enfeksiyonu seroprevalansının düşük düzeyde olduğu saptanmıştır.

Son yıllarda hastalıkla mücadele; özellikle hastalığın eradikasyonunun ilk aşaması olarak, ELISA, nötralizasyon testleri gibi duyarlı testler vasıtası ile antikor taramaları yapılarak, seropozitif hayvanların uzaklaştırılması ve marker aşuların uygulamaya sokulması önem kazanmıştır (Vonk Noordegraaf ve ark. 1998; Bolaert ve ark. 2000; Castrucci ve ark. 2002).

Bu çalışmada, Denizli ilindeki süt sığırcılığı işletmelerinde BHV-1 enfeksiyonunun prevalansının serolojik ve virolojik yöntemler kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

1.1. Etiyoloji

BHV-1, *Herpesviridae* ailesinin *Alfaherpesvirinae* alt ailesinde yer alan *Varicellovirus* genusuna ait olarak sınıflandırılmıştır. BHV-1 virionu, 150-200 nm çapında, zarlı ve 162 kapsomerden oluşan ikosahedral kapside sahiptir. Linear çift iplikli, 136 kbp büyüklüğünde, en az 65 gen içeren enfeksiyöz genoma sahiptir. DNA molekülü bir uzun ve bir kısa kovalent bağlanmış parçalardan oluşmuştur. Virus genomunun yaklaşık 70 proteini kodlama kapasitesi vardır. Şimdiye kadar 43-48 viral protein (33 yapısal ve 5-15 yapısal olmayan protein) tespit edilmiştir. 10 viral glikoprotein ya da bunların genleri

identifiye edilmiştir. Bunlardan en az 4 adeti zar glikoproteinleridir (Muylkens ve ark. 2007; Davison ve ark. 2009).

BHV-1'in üç alt tipi bulunmaktadır. Alt tipler 1 ve 2a respiratorik semptomlara ve abortlara sebep olur. Alt tip 2b, genital lezyonlarla karakterize IPV-IPB'ye yol açmaktadır. Alt tip 3 ise encephalitisi oluşturur (Wentink ve ark. 1993, Seal ve Whetstone 1994). IBR ve IPV farklı klinik tablo olarak görülmesine rağmen, bu enfeksiyonları oluşturan alt tipler serolojik olarak ayırt edilemezler (Wentink ve ark. 1993). Meningoencephalitise neden olan nöropatojen virus varyantları, serolojik olarak BHV-1'den zor ayrılabilir (Seal ve Whetstone 1994, Chowdhury ve ark. 2000, Moore ve ark. 2000).

Virus dış ortamlarda nispeten stabil bir yapıya sahiptir; Yazın 5-9 gün, kış aylarında ise, özellikle yüksek nem oranlarında 30 güne kadar enfeksiyöz kalabilmektedir. PH 6.0-9.0 arasında stabil, kloroforma karşı labildir. IBR ve IPV enfeksiyonlarını oluşturan viruslar serolojik olarak ayırt edilemezler (Straub, 1990; Muylkens ve ark., 2007).

BHV-1, nispeten geniş bir konakçı spektrumuna sahiptir. Virusun hücre içine girişi zar glikoproteinleri tarafından yönetilir (virus zarı ve hücre membranı arasındaki füzyon). Adsorbsiyon iki kademe gerçekleşir. Öncelikli zar glikoproteini C (*gC*) hücre yüzeyindeki heparan sülfat proteoglikana gevşek olarak bağlanır. Daha sonra bunu, glikoproteini D (*gD*)'nin yeni tanımlanmış olan Reseptör Herpesvirus Entry Mediatör C (HVEM; Nectin-1 olarak ta isimlendirilmektedir)'ye sabit şekilde bağlanması izler. Penetrasyon, zar proteinleri *gB* ve *gH/gL* üzerinden gerçekleşir. Mekanizma, henüz ayrıntılı olarak belirlenememiştir. *gC*, virus replikasyonu için esansiyel değildir, fakat serbest virusun adsorbsiyonda stabilitesini sağlamaktadır. *gC*'nin eksik olması durumunda bütün hücrelerde bulunan heparan reseptörüne labil bir adsorbsiyon şekillenir.

DNA replikasyonu ve transkripsiyonu hücre çekirdeğinde, protein sentezi ise sitoplazmada gerçekleşir. Yeni oluşan viruslar zarlarını hücre içi organel membranlardan (golgi) alırlar. Hücreden tomurcuklanma yolu ile hücre dışı ortama salınırlar (Muylkens ve ark., 2007; Jones ve ark., 2011).

1.2. Epidemiyoloji

BHV-1 saçılımında başlıca burun ve gözyaşı akıntısı rol oynar. Bu 10-16 gün sürmektedir. Abort materyali (amniyon sıvıları, plasenta, fötüs) ve semen ile virus saçılımı da çok önemlidir. Seropozitif bir boğa yaşamı boyunca sporadik olarak virus saçabilir (Van Oirschot, 1995). Virusun organizmada dağılımına (patogenezine) bağlı olarak, diğer sekret ve ekstrekter ile virus saçılması da mümkündür. Süt ile vertikal bulaşma deneysel olarak saptanmasına rağmen, doğal şartlarda önemsiz görülmektedir. Enfeksiyonun duyarlı hayvanlara/sürülere nakli genellikle aerogen (damlacık enfeksiyonu) ya da direkt kontakt, kontamine yem, araç- gereç, vb. indirekt yollarla olur (Wentink ve ark. 1993; Vonk Noordegraaf ve ark. 1998; Van Schaik ve ark. 1998; Mars ve ark. 2000). Mekanik vektör olarak insanlar, virusun çiftlik içine girmesinde ve yayılmasında önemli bir yol oynayabilir. IPV/IPB formunda, vajinal veya prepusyal sekretler ile de virus saçılabilir. Bu IPV'de 8-14 gün, IPB de 22 gün sürer. IPV/IPB doğal aşım veya suni tohumlama esnasında sağlıklı hayvanlara taşınabilir. İatrojen yol da nakilde önemli rol oynamaktadır (Vonk Noordegraaf ve ark. 1998).

Esas konakçı sığırdır. Diğer çift tırnaklılarda da enfeksiyona duyarlı olabilir, fakat genellikle hastalık oluşmaz. Enfeksiyon kaynağı olarak akut veya subklinik, özellikle latent enfekte hayvanlar rol oynamaktadır. Koyunlar, keçiler ve domuzlardan da virus izole edilebilmiştir (Straub 1990; Yeşilbağ ve ark. 2003; Yeşilbağ ve Bilge-Dağalp 2006; Ataseven ve ark. 2010). Hayvanların transportuna bağlı stres sonucu virus reaktif olabilir (Ackermann ve ark. 1982; Ackermann ve ark. 1984; Straub 1990).

Dezenfeksiyon için %5'lik NAOH, %1'lik fenol türevleri, %1'lik kuaterner amonyum bazları, %5 formalin uygundur (Straub 1990).

1.3. Klinik

Hastalıkta inkubasyon periyodu 2-4 günden 7 güne kadar uzayabilir. 42°C'ye varan ateş, solunum sayısını artması, öksürük, burun akıntısı (önce seröz daha sonra mukopulent), burun mukozasında hiperemi, bazen konjunktivitis, salya artışı, anoreksi, süt veriminde azalma, apati gözlemlenir. Bakteriyel sekonder enfeksiyonlar sonucu pnömoni şekillenir. Hastalığın ileri dönemlerinde kronik zayıflama görülür. Transplasental enfeksiyonda gebeliğin 5-8. aylarında, özel bir belirti olmadan abort meydana gelir. Danalarda enteritise bağlı ishalleri jeneralize hastalık, kısa bir süre içerisinde genellikle

ölümle son bulur. Hastalığın genital formu olan IPV/IPB'de inkubasyon süresi 1-3 gündür. İlk belirtiler, sık sık idrar yapma, kuruğun anormal duruşudur. Genital mukozada hiperemi ve küçük kabarcıklar gözlenir. Prognoz çoğunlukla iyidir. Yaklaşık 2-4 gün süren akut dönemin ardından 10-14 gün içerisinde iyileşme görülür (Straub 1990; Van Schaik ve ark. 1999; Muylkens ve ark. 2007).

1.4. Patogenez

Vücuda virusun alınması aerojen yol veya kontamine yem ile olur. Virus ilk olarak üst solunum yolu mukozasında çoğalır. Lokal virus çoğalması neticesinde respiratorik hastalık semptomları ortaya çıkar. Üst solunum yollarındaki primer çoğalmayı takiben submukozadan lenf yolu ile monosit ve lökositler ile fötüs, sindirim sistemi, merkezi sinir sistemi, meme gibi hedef organlara ve dokulara ulaşır. Föetal enfeksiyon, transplasental geçiş ile şekillenir. Üst solunum yolları mukozası ve submukozada lokal virus çoğalması sınırlıdır. IPV'de virusun vücuda alınması genital mukozadan oluşur. Virusun çoğalması vulva, vagina, penis ve preputium mukozasında lokalizedir. Virusun kan-beyin bariyerini geçmesi durumunda encephalitis tablosu da ortaya çıkabilir (Straub 1990; Muylkens ve ark. 2007). Enfeksiyonda viremi genellikle kısa süreli olup, lökositlerde BHV-1'in replikasyon yeteneğinin olup olmadığı henüz kesin değildir.

Nazofaringeal bölge ve tonsillerdeki lokal sinir uçları üzerinden sinir sistemine geçişin sonucu olarak latent enfeksiyon gerçekleşir. Mukoza hücrelerinde çoğalan viruslar lokal sinir uçlarına füzyon yoluyla girerler. Çıplak nükleokapsit, interaksiyonel bölgesel ganglion içindeki nöron nükleusuna taşınır. Sinir ucu dejenerasyonu, nöropati ve ganglionitis ve latentlik oluşur. Latentlik fazında hiçbir virion tespit edilemez, fakat virus genomunun tespiti mümkündür. En az bir gen (LAT-Gen; LAT: Latenz associated-Transkripts) latent dönemde transkribe edilir. LAT'nin biyolojik fonksiyonları kesin değildir. Bununla birlikte, muhtemel antisense fonksiyonlardan ve ganglion hücrelerinin apoptozundan korunmayı sağladığı düşünülmektedir. Stres faktörleri ve hayvanlara kortikosteroid verilmesi latent enfeksiyonun reaktivasyonuna sebep olur. Enfeksiyöz virus tekrar üretilmeye başlar, sinirler üzerinden perifere geri ve orada saçılır. Reaktivasyon hafif klinik semptomların ortaya çıkması ile kendini gösterebilir ama genellikle asemptomatik seyrederek (Seal ve Whetstone 1994, Chowdhury ve ark. 2000, Moore ve ark. 2000; Jones ve ark., 2011).

1.5. Başıklık

Humoral antikorlar enfeksiyondan 8-12 gün sonra ortaya çıkar. Bunlar primer enfeksiyon IgM ve IgG1'leridir. Maksimum titreye 14 gün sonra IgM ve 35 gün sonra IgG1 ulaşır. Reenfeksiyon durumunda IgG2 oluşur, IgM cevabı yoktur. Maternal antikorlar 1 aydan maksimum 6 aya kadar bulunur. Maternal antikorlar enfeksiyonu önleyemese de ölümle sonuçlanabilecek ağır bir hastalığa engel olur. Humoral antikorlar, virusların ekstrasellüler ortamlarda serbest olduğu durumlarda rol oynamaktadır. Fakat, virusun, intersellüler köprüler ve sinir yoluyla da yayılabilmesinden dolayı, organizmadaki dağılımı engelleyemezler. Burun ve genital mukozalarında sekretorik antikorlar, IgA'lar saptanabilmektedir. Bunlar reenfeksiyon ve reaktivasyonlarla bağlantılı olarak lokal bir önem taşırlar. T-lenfosit, monosit, makrofaj ve lenfokinlerin rol aldığı hücrel immun yanıt (enfekte hücrelerin antikordan bağımsız yıkımlanması) enfeksiyonun engellenmesinde en önemli etmendir. Duyarlı lenfositler, enfeksiyonun 5. gününde tespit edilebilir ve 8-10 günde çoğalma görülür. Primer bir enfeksiyona karşı oluşan immun yanıt, klinik semptomların iyileşmesine yardımcı olur. Fakat latentlik oluşumuna engel olamaz. Aynı şekilde reenfeksiyon ve bir latent enfeksiyonun reaktivasyonunu engelleyemez. Ancak klinik semptomları hafifletir ve virusun saçılma süresini ve miktarını azaltır (Straub 1990; Babiuk ve ark. 1996; Muylkens ve ark. 2007).

1.6. İmmunprofilaksi

Farklı aşılar bulunmaktadır. Ancak Almanya, İsviçre gibi bazı Avrupa Birliği ülkelerinde aşılama öngörülmemektedir. Bunun iki sebebi vardır. İlki; koruma tatmin edici değildir. Aşı, ağır bir hastalıktan koruyabilmesine rağmen, latent ve saha (yabani) suşlarına karşı etkili değildir (Bosch 1997; Muylkens ve ark. 2006; Nuotio ve ark. 2007). İkinci sebep ise; mücadele programları esnasında yapılan serolojik taramalarda, aşıllı hayvanlar enfekte hayvanlardan ayırt edilememektedir (Bosch 1997; Muylkens ve ark. 2007).

Aşının uygulandığı bazı Avrupa Birliği ülkelerinde, glikoprotein E (gE) geninin eksik olduğu marker aşılar kullanılmaktadır (Bosch 1997; Muylkens ve ark. 2006). Doğal enfeksiyon geçirmiş hayvanlarda gE'ye karşı oluşmuş olan antikorlar gelişirken, aşıllı hayvanlar bu antikora sahip değildir. Glikoprotein E'ye karşı oluşan antikorların ELISA vb. spesifik testler ile ayırımı yapılabilmektedir (Kaashoek ve ark. 1996; Bosch 1997; Lehmann ve ark. 2002). Marker aşılardan, BHV'nin endemik olduğu ülkelerde de güvenilir

olarak kullanabileceği saptanmıştır (Vonk Noordegraaf ve ark. 1998, Bolaert ve ark. 2000, Castrucci ve ark. 2002).

1.7. Tanı/ Ayırıcı Tanı

Özellikle stres durumları söz konusu olduğunda, rhinotracheitis, pnömonie semptomları ve abortların ortaya çıkması hastalıktan şüphe ettirmelidir. Tipik klinik belirtiler teşhise yardımcı olur. Ayırıcı teşhis: PI-3, BVD-MD, Coryza, Sığır Vebası, abort olayları ise, Brucellosiz, Listeriosiz, Vibriozis ile karışabilmektedir. Kesin tanı, sadece laboratuvarda mümkün olmaktadır (Straub 1990). Çiftlikte, enfekte olmayan hayvanları korumak için, mümkün olan idari ve hijyenik önlemler alınmalıdır (Nuotio ve ark. 2007).

Laboratuvar teşhisi; virusun hücre kültüründe izolasyonu, elektronmikroskopik karakterizasyonu ve nötralizasyon testi aracılığı ile identifikasyonu ile yapılabilir. Froti preparatlarında immunfluoresans testi, Tagman PCR ve konvansiyonel PCR teşhiste kullanılan diğer yöntemlerdir (Ros ve Belak 1999; Muylkens ve ark. 2007).

Virus tespiti için kullanılan materyal, sekretler, (Örn; burun, geniz, konjunktiva, vaginal svaplar) plasenta, abort olmuş fötüs ve akut dönemde kandır. Virus izolasyonu için alınan numuneler mümkün olduğu kadar taze olmalı ve soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılmalıdır (Çabalar 1993; Muylkens ve ark., 2007). Antikor tespiti için ise kan ve süt serumları kullanılabilir. Antikor tespiti, serum ve süt örnekleri kullanılarak ELISA ve serum nötralizasyon testi ile yapılmaktadır (Bilge 1996). Kortizon uygulamaları latent enfekte hayvanlardaki virusun reaktivasyonuna sebep olabilir. Kortizon uygulamalarını takiben 2-12 gün içerisinde virus saçılmaya başlar (Kaashoek ve ark. 1996).

1.8. Hastalığın Türkiye'deki Durumu

Türkiye'de sığırlarda IBR-IPV enfeksiyonu üzerine ilk araştırma Erhan ve ark. (1971) tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar İnanlı Tarım İşletmesinden alınan 25 adet, Karacabey Harasından alınan 75 adet sığır kan serumunda, IBR-IPV virusuna karşı sırasıyla %24 ile %29 oranında nötralizan antikorların varlığı saptanmıştır. Takibeden süreçte, Gürtürk ve ark. (1975) Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde bulunan sığırlardan alınan 1029 kan serumunun 561 adedinde (%54.51), Akça (1981) Türkiye'nin farklı bölgelerinden aldığı 487 adet sığır kan serumunun 233 adedinde (%54.46) nötralizan antikorların bulunduğunu ortaya koymuştur. Burgu ve Akça (1982), Gelemen Devlet Üretim Çiftliği sığırlarına ait 61 adet kan serumunun 31 adedini (%55.73) BHV-1

antikorları yönünden nötralizasyon testi ile pozitif bulmuşlardır. Burgu ve Akça (1986) tarafından yapılan başka bir çalışmada Türkiye’de suni tohumlamada kullanılan 47 damızlık boğadan 36’sında (%66.32) BHV-1 antikorları tespit etmişlerdir. Öztürk ve ark. (1988)’ı, BHV-1’e karşı antikor varlığını araştırmak amacı ile 238 adet kan serumunu mikronötralizasyon testi ile kontrol etmişler, serumların 134’ünde pozitiflik tespit etmişlerdir (%56.30). Çabalar (1993) ise Türkiye’nin farklı bölgelerinde bulunan 20 süt ineği işletmesi ile Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi Doğum ve Reprodüksiyon hastalıkları kliniğine getirilen fertilitate problemlili ineklerden alınan 624 adet kan serumunu mikronötralizasyon testi ile IBR-IPV virus antikorları yönünden kontrol etmiş, kan örneklerinin 425 adedinin (%68.10) seropozitif olduğunu bildirmiştir. Bilge (1996), Türkiye’nin çeşitli bölgelerindeki süt sığırcılığı işletmelerinden toplanan 486 adet kan ve süt serumu örneklerinden, 359 adet kan serumunu (%74) ve 209 (%43) adet süt serumunun BHV-1 antikorları yönünden pozitif bulunduğunu saptamıştır. Bugüne kadar, Türkiye’de BHV-1 enfeksiyonu üzerine gerçekleştirilmiş en kapsamlı çalışma Alkan ve ark. (2005)’ı tarafından yapılmıştır. 31 adet süt sığırcılığı işletmesindeki sığırlarda yapılan bu serolojik çalışmada sürülerin %97’sinde enfeksiyon varlığı saptanmıştır. Sürülerin seropozitiflik oranlarının ise %0.5 ile % 79.5 arasında değiştiği vurgulanmıştır. Tan ve ark. (2006)’ı, Aydın ili ve çevresinde özel sektöre ait 5 adet kapalı süt sığırcılığı işletmesinde bulunan sağlıklı görünümlü ve solunum sistemi bulguları gösteren 313 inekten aldıkları kan örneklerini mikronötralizasyon testi ile BHV-1 antikorları yönünden incelemiş ve enfeksiyonun seroprevalansını %19.5 olarak bildirmişlerdir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Denizli ilindeki, özel sektöre ait, sürü büyüklükleri 10 ila 300 hayvan arasında değişen 25 adet süt sığırcılığı işletmesinde bulunan sağlıklı görünümlü ve IBR/IPV hastalığı bulguları gösteren 370 adet inekte enfeksiyon araştırıldı. Örnekler basit tesadüfi örneklemeyle seçildi. Tüm işletmelerde, örneklenen hayvanlara daha önce IBR/IPV aşısı uygulanmadığı tespit edildi.

2.1.a. Kan Örnekleri

Araştırmada, I no'lu işletmede 29 adet inek, II no'lu işletmede toplam 20 adet inek, III no'lu işletmede toplam 10 adet inek , IV no'lu işletmede toplam 20 adet inek, V no'lu işletmede toplam 25 adet inek, VI no'lu işletmede toplam 32 adet inek, VII no'lu işletmede toplam 20 adet inek, VIII no'lu işletmede toplam 16 adet inek, IX no'lu işletmede toplam 45 adet inek, X no'lu işletmede 1 adet inek, XI no'lu işletmede toplam 8 adet inek, XII no'lu işletmede toplam 7 adet inek, XIII no'lu işletmede 1 adet inek, XIV no'lu işletmede 1 adet inek, XV no'lu işletmede toplam 34 adet inek, XVI no'lu işletmede toplam 12 adet inek, XVII no'lu işletmede toplam 24 adet inek, XVIII no'lu işletmede toplam 6 adet inek, XIX no'lu işletmede toplam 8 adet inek, XX no'lu işletmede toplam 17 adet inek, XXI no'lu işletmede toplam 10 adet inek, XXII no'lu işletmede toplam 5 adet inek, XXIII no'lu işletmede toplam 7 adet inek, XXIV no'lu işletmede toplam 6 adet inek, XXV no'lu işletmede toplam 6 adet inek olmak üzere toplam 370 adet EDTA'lı ve kaolinli tüplere kan örneği toplandı (Tablo 1).

2.1.b. Nazal ve Vajinal Svap Örnekleri

Araştırmada, I no'lu işletmede toplam 10 adet, II no'lu işletmeden 1 adet, III no'lu işletmeden toplam 15 adet, IV no'lu işletmeden toplam 6 adet, V no'lu işletmeden toplam 8 adet, VI no'lu işletmeden toplam 10 adet, VII no'lu işletmeden toplam 6 adet, VIII no'lu işletmeden toplam 4 adet, IX no'lu işletmeden toplam 8 adet, X no'lu işletmeden toplam 11 adet, XI no'lu işletmeden 1 adet örnekleme yapıldı. Örnek dağılımları Tablo 2'de gösterildi.

Tablo.1. İşletmelere Göre Örneklenen Hayvan Sayısı (Kan Örnekleri)

İşletme Sayısı	Toplam Hayvan Sayısı
I	29
II	20
III	10
IV	20
V	25
VI	32
VII	20
VIII	16
IX	45
X	1
XI	8
XII	7
XIII	1
XIV	1
XV	34
XVI	12
XVII	24
XVIII	6
XIX	8
XX	17
XXI	10
XXII	5
XXIII	7
XXIV	6
XXV	6
Toplam	370

Tablo.2. İşletmelere Göre Örneklenen Hayvan Sayısı (Svap Örnekleri)

İşletme Sayısı	Nazal Svap	Vajinal Svap
I	3	7
II	0	1
III	8	7
IV	6	0
V	5	3
VI	1	9
VII	4	2
VIII	3	1
IX	6	2
X	7	4
XI	0	1
Toplam	43	37

2.1.c. ELISA (Antikor) Kiti

Svanovir, Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR-Ab, Svanova Biotech, Uppsala, İsveç) ELISA kiti kan serumlarında antikor tespiti amacıyla kullanıldı.

2.1.d. ELISA (Antijen) Kiti

Bio-X Diagnostics Pulmotest BOHV-1 (BİO K 335) Sandwich ELISA kiti (Bio-X Diagnostics, Belçika) BHV-1 antijeninin tespiti amacıyla kullanıldı.

2.1.e. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Kullanılan Amplifikasyon Kiti

Ticari Qiagen Fast Cycling PZR mastermiks kiti (Qiagen, Almanya) viral DNA'nın amplifikasyonu amacıyla kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.a. Serolojik Teşhis Amacıyla Alınan Kan Örnekleri

Kaolinli tüplere toplanan kan örneklerinin +4 °C'de 3000 rpm'de santrifüj işlemini takiben serumları ayrıldı ve – 20°C derin dondurucuda test edilinceye kadar stoklandı.

2.2.b. Virolojik Teşhis Amacıyla Alınan Kan Örnekleri

EDTA'lı tüplere toplanan kan örneklerinin +4 °C'de 2000 rpm'de santrifüj işlemini takiben lökosit fraksiyonları alındı ve – 20°C derin dondurucuda test edilinceye kadar stoklandı.

2.2.c. Svap Örneklerinin İncelenmesi

Araştırmada akut üst solunum yolu ve genital kanal enfeksiyonu bulguları gözlenen 80 hayvandan toplam 43 adet nazal ve 37 adet vaginal svap örneği alındı. 2 ml PBS içine alınan svap örnekleri +4 °C'de 3000 rpm'de santrifüj işlemini takiben stok tüplerine alınarak – 20°C derin dondurucuda test edilinceye kadar stoklandı.

2.2.d. ELISA (Antikor)

Örneklerde IBR/IPV antikorları ELISA ile araştırıldı. Test, üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.

2.2.e. ELISA (Antijen)

Örneklerde IBR/IPV antijenleri ELISA ile araştırıldı. Test, üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.

2.2.f. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Nazal sıvı örneklerinin 200 µl'sinde High Pure Viral Nükleik Asit kiti (Roche, Almanya) kullanılarak viral DNA izole edildi. Araştırmada, virusun glikoprotein B genine ait 294 baz çifti (bp) büyüklüğündeki bölge spesifik birinci ve ikinci tur primer setleri kullanılarak nested polimeraz zincir reaksiyonu (n-PZR) tekniği ile amplifiye edildi (Ros ve Belak, 1999). PZR'da amplifikasyon işleminde, ticari Qiagen Fast Cycling PZR mastermiks kiti (Qiagen, Almanya) üretici firmanın prosedürüne göre kullanıldı. PZR reaksiyon karışımı, 18 µl mastermiks 2 µl templeyt DNA eklenerek hazırlanarak, aşağıdaki amplifikasyon koşullarında gerçekleştirildi.

95°C'de 5 dak. → Başlangıç denatürasyonu

96°C'da 5 sn → Denatürasyon

60°C'de 5 sn → Bağlanma

68°C'de 9 sn → Uzama

72°C'de 1 dak. → Son uzama

İkinci amplifikasyon aşaması, aynı reaksiyon koşullarında ikinci tur primer setleri içeren 18µL mastermiks ile 2µL ilk reaksiyon ürünü templeyt DNA karıştırılarak gerçekleştirildi. Negatif kontrol olarak, moleküler araştırmalara uygun steril su kullanıldı. PZR sonuçları, %1.5'lik agaroz jelde gerçekleştirilen elektroforez işlemi neticesinde UV transilluminasyon cihazı kullanılarak değerlendirildi.

3.BULGULAR

3.1. Serolojik Araştırma Bulguları

Denizli ilindeki, özel sektöre ait 25 adet süt sığırcılığı işletmesinde bulunan sağlıklı görünümlü ve IBR/IPV hastalığı bulguları gösteren 370 adet inekte enfeksiyon araştırıldı. Tüm işletmelerde, örneklenen hayvanlara daha önce IBR/IPV aşısı uygulanmadığı tespit edildi.

Çalışmada toplam 25 işletmede bulunan 370 adet hayvan örneklendi. I nolu işletmede 29 sığırdan 5 adedi (%17.24), III nolu işletmede 10 sığırdan 1 adedi (%10), XII nolu işletmede 7 sığırdan 2 adedi (%28.57), XV nolu işletmede 34 sığırdan 3 adedi (%8.82), XXIV nolu işletmede 6 sığırdan 1 adedi (%16.66), XXV nolu işletmede 6 sığırdan 3 adedi (%50), IBR antikoru yönünden seropozitif bulunmuştur. Geriye kalan 19 işletmeden alınan örnekler IBR antikoru yönünden seronegatif bulunmuştur. Örnekleme alanı genelinde ise örneklenen 370 hayvanın 15 adedi (%4.05) seropozitif bulunmuştur (Tablo 3).

3.2. Virolojik Araştırma Bulguları

Çalışmada toplanan 80 adet nasal ve vaginal svap numunesi ile yapılan ELISA ve PCR testlerinde örneklerin hiçbirisinde pozitiflik tespit edilememiştir.

3.3.Dışarıdan Hayvan Alımı Yapılan ve Dışarıya Kapalı İşletmelerdeki Seroprevalans

Araştırmada elde edilen seropozitiflik oranları, dışarıdan hayvan alımı yapılan ve dışarıya kapalı işletmeler olarak 2 grupta incelendiğinde örneklenen toplam 25 işletmenin 9 adedi dışarıdan hayvan alımı yapan işletmeler olup (I, XI, XII, XIII, XIV, XVI, XXII, XXIV, XXV), 16 adedi ise dışarıya kapalı işletmelerdir (II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XV, XVII, XVIII, XIX, XX, XXI, XXIII).

Dışarıdan hayvan alımı yapılan I nolu grupta; I nolu işletmeden 29 hayvandan 5 adedi, XI nolu işletmeden 8 hayvandan 0 adedi, XII nolu işletmeden 7 hayvandan 2 adedi, XIII nolu işletmeden 1 hayvandan 0 adedi, XIV nolu işletmeden 1 hayvandan 0 adedi, XVI nolu işletmeden 12 hayvandan 0 adedi, XXII nolu işletmeden 5 hayvandan 0 adedi, XXIV

nolu işletmeden 6 hayvandan 1 adedi, XXV nolu işletmeden 6 hayvandan 3 adedi seropozitif bulunmuştur. I nolu grup genelinde 75 hayvandan 11 adedi (%14.66) seropozitif bulunmuştur (Tablo 4).

Dışarıdan hayvan alımı olmayan dışarıya kapalı II nolu grupta; II nolu işletmeden 20 hayvandan 0 adedi, III nolu işletmeden 10 hayvandan 1 adedi, IV nolu işletmeden 20 hayvandan 0 adedi, V nolu işletmeden 25 hayvandan 0 adedi, VI nolu işletmeden 32 hayvandan 0 adedi, VII nolu işletmeden 20 hayvandan 0 adedi, VIII nolu işletmeden 16 hayvandan 0 adedi, IX nolu işletmeden 45 hayvandan 0 adedi, X nolu işletmeden 1 hayvandan 0 adedi, XV nolu işletmeden 34 hayvandan 3 adedi, XVII nolu işletmeden 24 hayvandan 0 adedi, XVIII nolu işletmeden 6 hayvandan 0 adedi, XIX nolu işletmeden 8 hayvandan 0 adedi, XX nolu işletmeden 17 hayvandan 0 adedi, XXI nolu işletmeden 10 hayvandan 0 adedi, XXIII nolu işletmeden 7 hayvandan 0 adedi seropozitif bulunmuştur. II nolu grup genelinde 294 hayvandan 4 adedi (%1.35) seropozitif bulunmuştur (Tablo 5).

3.4. BHV-1 Enfeksiyonuna Bağlı Oluşabilecek Bulgular Gösteren Hayvanlar (Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu, Genital Kanal Problemi, Döl Tutmama, Mastitis, Ayak Problemleri ve Abort) ile Herhangi Bir Klinik Bulgu Göstermeyen Hayvanlar Arasındaki Seroprevalans (İşletmeler Geneli)

Örneklenen 25 işletmeden IBR enfeksiyonuna bağlı oluşabilecek hastalık bulguları gösteren (üst solunum yolu enfeksiyonu, genital kanal problemi, döl tutmama, mastitis, ayak problemleri ve abort) hayvan sayısı 302 olup 14 adedi seropozitif bulunmuştur. Seropozitiflik oranı %4.63 olarak saptanmıştır. Aynı işletmelerden örneklenen hastalık bulguları göstermeyen hayvan sayısı 68 adettir. Hastalık bulguları göstermeyen 68 hayvanın sadece 1 adedi seropozitif bulunmuştur. Seropozitiflik oranı %1.42 olarak saptanmıştır (Tablo 6).

3.5. Yaş Gruplarına Göre Seropozitiflik Oranları

Yapılan araştırmada örneklenen işletmelerdeki hayvanlar yaş gruplarına ayrılarak incelenmiştir. Yapılan yaş dağılımına göre; 2-3 yaşlı hayvanlardan oluşan I. gruptaki 203 hayvandan 2 adedi (%0.98), 4-5 yaşlı hayvanlardan oluşan II. gruptaki 102 hayvandan 5 adedi (%4.9), 6 yaş ve üstü yaşlı hayvanlardan oluşan III. gruptaki 65 hayvandan 8 adedi (%12.3) seropozitif bulunmuştur (Tablo 7).

Tablo.3. Kan Örneklerinin İşletmelere Göre Seropozitiflik Dağılımları

İşletme Sayısı	Toplam Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı
I	29	5
II	20	0
III	10	1
IV	20	0
V	25	0
VI	32	0
VII	20	0
VIII	16	0
IX	45	0
X	1	0
XI	8	0
XII	7	2
XIII	1	0
XIV	1	0
XV	34	3
XVI	12	0
XVII	24	0
XVIII	6	0
XIX	8	0
XX	17	0
XXI	10	0
XXII	5	0
XXIII	7	0
XXIV	6	1
XXV	6	3
Toplam	370	15 (%4.05)

Tablo.4. Dışardan Hayvan Alımı Yapılan İşletmelerde Seroprevalans

İşletme Numarası	Toplanan Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı
I	29	5
XI	8	0
XII	7	2
XIII	1	0
XIV	1	0
XVI	12	0
XXII	5	0
XXIV	6	1
XXV	6	3
Toplam	75	11 (%14.66)

Tablo.5. Dışarıya Kapalı İşletmelerdeki Seroprevalans

İşletme Numarası	Toplam Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı
II	20	0
III	10	1
IV	20	0
V	25	0
VI	32	0
VII	20	0
VIII	16	0
IX	45	0
X	1	0
XV	34	3
XVII	24	0
XVIII	6	0
XIX	8	0
XX	17	0
XXI	10	0
XXIII	7	0
Toplam	295	4 (%1.35)

Tablo.6. İşletmeler Genelinde Seroprevalans Dağılımı

	Hastalık Bulguları Gösteren	Hastalık Bulguları Göstermeyen	Toplam
Örneklenen Hayvan Sayısı	302	68	370
Seropozitif Hayvan Sayısı	14	1	15
Seropozitiflik Yüzdesi	% 4.63	% 1.42	% 4.05

Tablo.7. Yaş Gruplarına Göre Seropozitiflik Dağılımları

Yaş Grupları	Örneklenen Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı	Seropozitiflik Yüzdesi
I (2-3 yaş)	203	2	% 0.98
II (4-5 yaş)	102	5	% 4.90
III(6 ve üstü yaş)	65	8	% 12.30
Toplam	370	15	% 4.05

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

IBR-IPV virusu yerleştiği dokuya göre; konjunktivitis, enteritis, encephalomyelitis, metritis, dermatitis ve mastitis gibi semptomlarla seyretmekte ve bu semptomlara bağlı olarak da hayvanlarda yemden yararlanma gücünün azalmasına, ağırlık kaybı, süt veriminde düşme, fetal letalite ve abortlar nedeniyle önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Muylkens ve ark. 2007).

Türkiye’de IBR-IPV enfeksiyonunun prevalansının araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Akça (1981) Türkiye’nin farklı bölgelerinden aldığı 487 adet sığır serumlarında %55.46; Burgu ve Akça (1982) Gelemen Devlet Üretim Çiftliği sığırlarında %55.73; Burgu ve Akça (1986), bir başka çalışmalarında Türkiye’de suni tohumlamada kullanılan damızlık boğalarda %66.32; Öztürk ve ark. (1988)’ı 238 adet sığır kan serumunun %56.30’unda; Çabalar (1993), Türkiye’nin farklı bölgelerindeki fertilitate problemleri 20 süt ineği işletmesi ile AÜ Veteriner Fakültesi Doğum ve Reprodüksiyon hastalıkları kliniğine fertilitate problemi şikayetiyle getirilen sığırlardan alınan 624 adet kan serumlarının %68.1’inde antikor varlığı bildirilmiştir. Bu işletmelerin tümünde IBR-IPV enfeksiyon varlığı tespit edilmiş ve işletmelerdeki seropozitiflik oranının %6.66 ile %100 arasında olduğunu saptamıştır. Bilge (1996), Türkiye’nin çeşitli bölgelerinde kamu ve özel sektöre ait 10 kapalı süt sığırcılığı işletmesinden toplanan 486 adet kan ve süt serumu örneklerinden %74’ünün BHV1 antikorları yönünden pozitif bulunduğu bildirmiştir. Tan ve ark. (2006)’ı, Aydın ili ve çevresinde özel sektöre ait 5 adet kapalı süt sığırcılığı işletmesinde bulunan sağlıklı görünümlü ve solunum sistemi bulguları gösteren 313 inekten serum örneklerini BHV-1 antikorları yönünden incelemiş ve enfeksiyonun seroprevalansını %19.5 olarak bildirmişlerdir. BHV-1 seroprevalansına yönelik Türkiye’deki en kapsamlı çalışmada 31 adet süt sığırcılığı işletmesindeki sığırlarda sürülerin %97’sinde enfeksiyon varlığı saptanmıştır. Sürülerin seropozitiflik oranlarının ise %0.5 ile % 79.5 arasında değiştiği vurgulanmıştır (Alkan ve ark. 2005). Bu çalışmada, Denizli ilinde örneklenen işletmelerin seropozitiflik oranlarının 0% ile %50 arasında değiştiği, örneklenen işletmeler toplamında ise % 4.05 prevalans oranı tespit edilmiştir. Daha önce yapılan araştırmalar dikkate alındığında, enfeksiyonun prevalansının Denizli ilinde düşük olduğu belirlenmiştir.

Bu araştırmada, örneklenen işletmeler kapalı ve dışardan hayvan alan işletmeler olarak iki grupta incelenmiştir. Dışardan devamlı hayvan girişinin olduğu işletmelerde hastalık seroprevalansının (%14.66), kapalı (kendi damızlıklarını yetiştiren, dışarıdan hayvan alımı yapmayan) işletmelere (%1.35) nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Dışardan devamlı hayvan girişinin olduğu işletmelerdeki yüksek seroprevalans oranlarının devamlı hayvan hareketlerine bağlı olarak sürüye BHV-1 yönünden subklinik veya latent enfekte hayvanların girişi ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

Bu araştırmadaki başka bir parametre ise klinik bulgulara yönünden değerlendirilmiştir. BHV-1 enfeksiyonuna bağlı hastalık bulguları bulunan hayvanlar (st solunum yolu enfeksiyonu, genital kanal problemi, dl tutmama, mastitis, ayak problemi ve abort) ve bulunmayan hayvanlar olarak yapılan gruplandırma sonucunda, hastalık bulguları gösteren hayvanlarda seroprevalansın (%4.61), hastalık bulguları göstermeyen (%1.42) hayvanlardan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu araştırmada, bu hayvanlara ait örneklerden viral antijen ve/veya viral nükleik asit tespit edilememiştir. Sıvaplarda, viral antijen ve/veya viral nükleik asit tespit edilememesinin, araştırma materyallerinin laboratuvara nakil koşullarındaki olumsuzluklar, virusun frajilitesi ve sıvap örneklerindeki düşük viral yük gibi nedenlerle (Scott ve ark. 1983; Ataseven ve ark., 2009) ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Fertilite zerine subklinik BHV-1 enfeksiyonunun etkileri ile ilgili bir çalışmada da seropozitif hayvanların gebe kalma oranları seronegatiflere daha düşük bulunmuştur (Ata ve ark. 2006). Ülkemizdeki diğer çalışmada, fertilite problemlili sığırlardan alınan kan serumlarının %68.1'inde seropozitiflik bildirilmiştir (abalar 1993). Bu çalışmaların verilerine dayanarak, klinik bulgu gösteren gruptaki seroprevalans oranının yüksekliliği ile st solunum yolu enfeksiyonu, dl tutmama, mastitis, ayak problemleri ve abort gibi verim düşüklüğüne neden olabilecek problemler arasında BHV-1 enfeksiyonunun etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

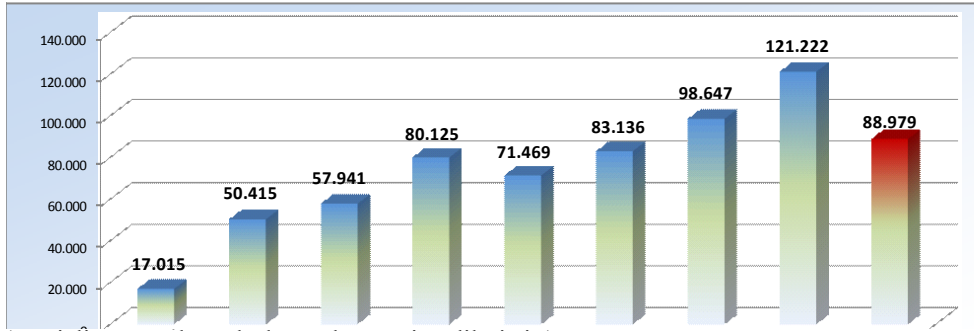
Çalışmada hastalılığın prevalansı yaş gruplarına göre de incelenmiştir. Hastalılığın prevalansı 2-3 yaşlı grupta %0.98; 4-5 yaşlı grupta %4.90; 6 yaş ve üstü hayvanlarda %12.30 olduğu belirlenmiştir. Bu durumun yaşlı hayvanlarda enfeksiyonla karşılaşma riskininde arttığı yönünde değerlendirilmiştir.

Özellikle son yıllarda Türkiye'de damızlık boğa istasyonlarında yapılan etkin hastalık kontrolünün, ithal edilen yüksek kaliteli sertifikalı spermaları ve bu bölgede yetiştiricilik tekniklerinin daha iyi uygulanmasının, bu düşük enfeksiyon prevalansında

etkin olduğu düşünülmektedir. Suni tohumlama yaptıran yetiştiricilere verilen devlet destekleri de suni tohumlama oranını arttırmıştır. Denizli ilinde 2004 ve 2011 yılları arasında yapılan suni tohumlama oranlarında oldukça artış gözlenmiştir. 2004 yılında il genelinde toplam hayvan sayısına göre yapılan suni tohumlama sayısı 17.015 iken, 2011 yılında bu sayı 121.222 olarak saptanmıştır. Artan suni tohumlama oranıyla birlikte hem ıslah çalışmalarında başarıya ulaşılmış hem de doğal aşımından oluşabilecek hastalıkların önüne geçilmiştir.

Tablo.8. Denizli İli Yıllar Bazında Suni Tohumlama Oranları

YILI	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012 Eylül Ayı Sonu
Yapılan Tohumlama(Baş)	17.015	50.415	57.941	80.125	71.469	83.136	98.647	121.222	88.979



(Denizli Tarım İl Müdürlüğünden temin edilmiştir.)

Bunun yanında işletme sahiplerinin bilinçli olması ve kontrollü entansif yetiştiriciliğin de hastalığın prevalansının düşük olmasında etkili olduğu düşünülmektedir. İşletmeye hayvan giriş çıkışlarının kontrollü olması, işletmeye insan-araç-veteriner giriş-çıkışlarında gerekli hijyen tedbirlerin alınması tüm enfeksiyonlar için önem arz etmektedir. Yapılan entansif yetiştiricilik, hayvan refahı açısından da önemlidir. Stres faktörlerinin azalması reenfeksiyonları da azaltmakta, dolayısıyla etken saçılmasındaki azalmaya bağlı düşük hastalık prevalansı gerçekleşebilmektedir.

Sonuç olarak, Türkiye'nin farklı illerinde ve bölgelerindeki araştırmalardan (Gürtürk ve ark. 1975; Akça 1981; Burgu ve Akça 1982; Burgu ve Akça 1986; Öztürk ve ark. 1988; Çabalar 1993; Alkan ve ark. 2005; Tan ve ark. 2006) elde edilen veriler ışığında, Denizli ilindeki örneklenen süt sığırcılığı işletmelerinde BHV-1 enfeksiyonu prevalansının düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırmada, BHV-1 enfeksiyonunun Denizli ilindeki sınırlı sayıdaki işletmelerdeki durumu ortaya koyulmuştur. Ancak, gelecekte Denizli ili genelinde yapılacak daha geniş çaplı epidemiyolojik araştırmaların ülke hayvancılığına önemli katkıları olacaktır.

ÖZET

Denizli İlindeki Sığırlarda Bovine Herpesvirus Tip 1 (BHV-1) Enfeksiyonunun Prevalansı

Bu araştırma da, serolojik kontrol amacıyla Denizli ilindeki 25 adet süt sığırcılığı işletmesinde bulunan aşılanmamış ve sağlıklı görümlü 370 adet süt sığırından serum örneği alındı. Serum örnekleri antikor varlığının araştırılması için ELISA ile test edildi. Araştırmada virolojik kontrol amacıyla, BHV-1 enfeksiyonu bulguları gösteren 80 adet süt sığırından genital ve nazal sıvap örnekleri toplandı. Genital ve nazal sıvap örnekleri hem ELISA hem de polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile test edildi. Serolojik çalışma neticesinde, Denizli ilindeki BHV-1 enfeksiyonun seroprevalansının %4.05 (15/370) olduğu saptandı. Virolojik çalışma neticesinde ise pozitiflik tespit edilemedi. Sonuç olarak, BHV-1 prevalansının Denizli ilinde örneklenen süt sığırcılığı işletmelerinde düşük düzeyde olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Antikor, Bovine Herpesvirus Tip 1, ELISA, Sığır, PZR.

SUMMARY

The Prevalence of Bovine Herpesvirus Type 1 (BHV-1) Infection in Dairy Cows in Denizli Province

In serological examination of this study, 370 sera collected from non-vaccinated and healthy dairy cows bred in 25 dairy farms located in Denizli province were tested using by ELISA. For virological examination, a total of 80 nasal and genital swabs were tested using by antigen ELISA and PCR techniques. By serological study, 4.05 per cent (15/370) were found to be positive for BHV-1 specific antibodies. However, none of swab samples were detected to be positive for BHV-1 antigen or viral DNA. Summary, the prevalence of BHV-1 in dairy farms in Denizli province was determined to be lower.

Key Words: Antibody, Bovine Herpesvirus Type 1, Cattle, ELISA, PCR.

KAYNAKLAR

Ackermann M., Peterhans E., Wyler R. DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia of latently infected calves. *Am. J. Vet. Res.* 1982, 43: 36-40.

Ackermann M., Wyler R. The DNA of IPV strain of bovid herpesvirus 1 in sacral ganglia during latency after intravaginal infection. *Vet. Microbiol.* 1984; 9: 53-63.

Akça Y. Türkiye’de sığır ve koyunlarda infectious Bovine rhinotracheitis- infectious pustular vulvovaginitis üzerine serolojik araştırmalar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji ABD. Doktora tezi. 1981

Amin A.S., Hamdy, M.E.R., İbrahim, A.K. Detection of brucella melitensis in semen using the polymerase chain reaction assay. *Vet. Microbiol.* 2001; 83: 37-44.

Alkan F, Burgu İ, Bilge Dağalp S ve ark. Seroprevalence de Infection par le BHV-1 dans elevage bovin laitier en Turquie. *Rev. Med. Vet.* 2005; 156: 166-169.

Ata A., Kale M., Yavru S., Bulut O., Büyükyörük U. The effect of subclinical bovine herpesvirus 1 infection on fertility of cows and heifers. *Acta Vet.(Beograd)*, 2006; 56: 267-273.

Ataseven V.S., Bilge-Dağalp S., Güzel M., Başaran Z., Tan M.T., Geraghty B. Prevalence of equine herpesvirus-1 and equine herpesvirus-4 infections in equidae species in Turkey as determined by ELISA and multiplex nested PCR. *Res.Vet.Sci.* 2009; 86: 339–344.

Ataseven V.S., Başaran Z., Yılmaz V., Bilge-Dağalp S. Van Bölgesi Keçilerinde Parainfluenza Virus - 3 (PIV-3) ve Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) Enfeksiyonlarının Seroprevalansı. *YYÜ Vet.Fak.Derg.* 2010; 21: 7-9.

Babiuk L.A., Van Drunen Littel, Van den Hurk S., Tikoo S.K. Immunology of bovine herpesvirus 1 infection, *Vet. Microbiol.* 1996; 53:31–42.

Bilge S. Kan ve süt serumlarında enfeksiyöz bovine rhinotracheitis-enfeksiyöz pustuler vulvovaginitis (IBR-IPV) antikorlarının nötralizasyon testi ile saptanması ve süt örneklerinden virus izolasyonu. Ankara Üniv. Sağ. Bil. Enst. Doktora tezi, 1996.

Boelaert F., Biront P., Soumare B., Dispas M., Vanopdenbosch E., Vermeersch J.P., Raskin A., Dufey J., Berkvens D., Kerkhofs P. Prevalence of bovine herpesvirus-1 in the Belgian cattle population. *Prev. Vet. Med.* 2000; 45: 285-295.

Bosch J.C. Bovine herpesviru 1 marker vaccines: Tools for eradication? Ph.D. Thesis, University of Utrecht, Netherlands, 1997, s:135.

Burgu İ., Akça Y. Gelemen Devlet Üretme Çiftliği Sığırlarında Bazı Viral Enfeksiyonlara Karşı Serolojik Araştırmalar. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 1982; 29: 506-512.

Burgu İ., Akça Y. Türkiye’de suni tohumlamada kullanılan bazı damızlık boğalarda IBR/IPV enfeksiyonu. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 1986; 33: 113-121.

Castrucci G., Martin W.B., Frigeri F., Ferrari M., Salvatori D., Tagliati S., Cuteri V. A serological survey of Bovine herpesvirus-1 infection in selected dairy herds in Northern and Central Italy. Comparative Immunology, Microbiol. and Infect. Dis. 1997; 20: 315-317.

Castrucci G., Martin W.B., Frigeri F., Ferrari M., Sardonini Q., Cassai E., Lo Dico, Rotola A., Angelini R. Vaccination of calves against bovine herpesvirus-1 assessment of the protective value of eight vaccines. Comp. Immun. Microbiol and Infect. Dis. 2002; 25: 29-41.

Chowdhury S.L., Lee B.J., Onderci M., Weiss M.L., Mosier D. Neurovirulence of glycoprotein C(gC)- deleted bovine herpesvirus type-5 (BHV-5) and BHV-5 expressing BHV-1 gC in a rabbit seizure model. J. Neurovirol. 2000; 6: 284-95.

Çabalar M. Fertilité problemlü ineklerde infectious bovine rhinotracheitis infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) virus izolasyonu ve seroepidemiyojisi. Ankara Üniv. Sağ.Bil.Enst. Doktora tezi. 1993

Davison A.J., R. Eberle, B. Ehlers, G.S. Hayward, D.J. McGeoch, A.C. Minson, P.E. Pellett, B. Roizman, M.J. Studdert and E. Thiry. The order Herpesvirales. Arch. Virol. 2009; 154:171-177.

De Gee A.L., Wagter L.H., Hage J.J. The use of polymerase chain reaction assay for the detection of bovine herpesvirus 1 in semen during a natural outbreak of infectious bovine rhinotracheitis. Vet. Microbiol. 1996; 53: 1-2, 163-168.

Erhan M., Onar B., Csontos L., Hopkins I.G. Serological survey on some virus and bedsonia disease of cattle, sheep and horse. Pendik Vet. Kont. Araç. Enst. Der. 1971; 4: 55-58.

Fenner F. Herpesviruses: Veterinary Virology. Academic Press, London 1987, s: 339-373

Guy J.S., Potgieter L.N.D. Kinetics of antibody formation after reactivation of bovine herpesvirus-1 infection in cattle. 1985; 46: 899-901.

Gürtürk S., Finci E., Burgu İ. Yurdumuz sığırlarında enfeksiyöz rhinotracheitis (IBR) üzerinde araştırmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 1975; 22: 104-111.

Jones C., Silva L.F., Sinani D. Regulation of the latency–reactivation cycle by products encoded by the bovine herpesvirus 1 (BHV-1) latency-related gene. J. NeuroVirol. 2011; 17: 535-545.

Kaashoek M.J., Rijsewijk F.A., Van Oirschot J.T. Persistence of antibodies against bovine herpesvirus 1 and virus reactivation two to three years after infection. Vet. Microbiol 1996; 86: 56-68.

Lehmann D., Sodoyer R., Leterme S., Crevat D. Improvement of serological discrimination between herpesvirus-infected animals vaccinated with marker vaccines. 2002; 86: 59-68.

Lemare M., Meyer G., Ernst E. Latent bovine herpesvirus 1 infection in calves protected by colostral immunity. *Vet. Rec.* 1995; 137(3): 70-71.

Mars M.H., de Jong M.C.M, van Maanen C., Hage J.J., van Oirschot J.T. Airborne transmission of bovine herpesvirus 1 infections in calves under field conditions. *Vet. Microbiology.* vol 2000; 76 issue 1 September 1, 2000.p. 1-13.

Miller J.M., Van Der Maaten M.J. Reproductive tract lesion in heifers after intrauterine inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Am J. Vet. Res.* 1984; 45: 790-794.

Moore S., Gunn M., Walls D. A rapid and sensitive PCR-based diagnostic assay to detect bovine herpesvirus 1 in routine diagnostic submissions. *Vet. Microbiol.* 2000; 75:145-153.

Msolla P.M., Wiseman A., Selman I.E. The prevalence of serum neutralizing antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus in Scotland. *J Hygiene* 1981; 86: 209-215.

Murphy FA., Gibbs EPJ., Horzinek MG., Studdert MJ. Herpesviridae. In: FA Murphy, EPJ Gibbs, MC Horzinek, MJ Studdert (eds.) *Veterinary Virology*, 3 ed., Academic Press, Academic Press, 1999, s:301-325.

Muylkens B., Meurens F., Schynts F. Biological characterization of bovine herpesvirus 1 recombinants possessing the vaccine glycoprotein E negative phenotype. *Vet. Microbiol* 2006; 137(3-4): 283-291.

Nuotio L., Neuvonen E., Hyytiäinen M. Epidemiology and eradication of infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) virus in Finland. *Acta Vet. Scan.* 2007; 49: 1-6.

Öztürk F., Toker A., Yavru S. Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü sığırlarında Enfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis/ Enfeksiyöz Pustuler Vulvovaginitis (IBR-IPV) üzerinde araştırmalar. *Selcuk Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 1988; 4: 53-64.

Paisley L.G, Tharaldsen J., Jarpe J. A retrospective analysis of the infectious bovine rhinotracheitis (bovine herpes virus-1) surveillance program in Norway using Monte Carlo simulation models. *Prev. Med.* 2001; 50: 109-125.

Pastoret P.P., Thiry E., Brochier B., Derboven G., Vindevogel H. The role of latency in the epizootology of infectious Bovine rhinotracheitis. İç: Witteman G., Gaskell R.M., Rziha H.J. (Eds.), *Latent Herpes Virus Infections in Veterinary Medicine.* Nijhoff Martinus, Dordrecht, 1984; 211-227.

Ros C., Belak S. Studies of genetic relationships between bovine, caprine, cervine, and rangiferine alphaherpesviruses and improved molecular methods for virus detection and identification. *J. Clin. Microbiol.* 1999, 37: 1247–1253.

Scott J.C., Dutta S.K., Myrup A.C. In vivo harboring of EHV-1 in leukocyte populations and subpopulations and their quantitation from experimentally infected ponies. *Am.J.Vet.Res.* 1983; 44: 1344–1348.

Seal B.S., Whetstone C.A. Immediate-early gene expression and gene mapping comparisons among isolates of bovine herpesvirus 1 and 5 *Vet. Microbiol.* 1994; 38: 369-84.

Solis-Calderon J.J., Segura- Correa V.M., Segura- Correa J.C., Alvarado-Islas A. Seroprevalance and risk factors for infectious bovine rhinotracheitis in beef cattle herds of Yucatan, Mexico. *Prev. Vet. Med.* 2003; 1758: 1-10.

Straub O.C. Infectious bovine rhinotracheitis virus. İç: Dinter Z., Morein B. (Eds.), *Virus Infections of Ruminants*, Elsevier Sci.Publishers, Amsterdam, 1990, s: 71-108.

Straub O.C. BHV-1 infections: Relevance and spread in Europe. *Comp. Immun. Microbiol. Infect.Dis.* 1991; 14: 175-186.

Straub O.C. Advances in BHV-1 (IBR) research. *Dtsch. Tierarztl Wochenschr.* 2001; 108: 419-22.

Tan M.T., Yıldırım Y., Erol N., Güngör B. The Seroprevalence of Bovine Herpes Virus type 1 (BHV-1) and Bovine Leukemia Virus (BLV) in Selected Dairy Cattle Herds in Aydın Province, Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2006; 30: 353-357

Xia J.Q., Yason C.V., Kibenge F.S. Detection of bovine herpesvirus-1 in the semen of experimentally infected bulls by dot-blot hybridisation, polymerase chain reaction and virus isolation., *Res. Vet. Sci.* 1995; 59: 2: 183-185.

Van Engelenburg F.A., Maes R.K., Van Oirschot J.T., Rijsewijk F.A. Development of a rapid and sensitive polymerase chain reaction assay for detection of bovine herpesvirus type 1 in bovine semen. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31: 3129-3135.

Van Engelenburg F.A., Van Schie F.W., Rijsewijk F.A., Van Oirschot J.T. Excretion of bovine herpesvirus 1 in semen is detected much longer by PCR than virus isolation *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33:308-312.

Van Malderen G., Vanopdenbosch E., Wellemans G. Bovine herpes virus 1 en 4: een sero-epidemiologisch onderzoek van de Belgische rundveestapel. VI. *Diergeneesk. Tijdschr* 1987; 56(4): 364-371.

Van Nieuwstadt A.P.K.M.I., Verhoeff J. Epizootology of BHV1 infections in dairy herds. *J. Hygiene* 1983; 91: 309-318.

Van Oirschot J.T. Bovine herpesvirus 1 in semen of bulls and the risk of transmission e brief review. *Vet Q.* 1995; 17: 29-33.

Van Schaik G., Dijkhuizen AA.,Huirne RB., Benedictus G. Adaptive conjoint analysis to determine perceived risk factors of farmers, veterinarians and AI technicians for introduction of BHV1 to dairy farms. *Prev Vet. Med.* 1998; 37: 101-12.

Van Schaik G., Shoukri M., Martin S.W., Schukken Y.H., Nielen M., Hage J.J., Dijkhuizen A.A. Modeling the effect of an outbreak of bovine herpesvirus type 1 on herd-level milk production of Dutch dairy farms, *J. Dairy Sci.* 1999; 82:944–952

Van Wuyckhuise L., Bosch J., Franken P. The prevalence of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) in the Netherlands. In: *Proceedings of the Society for Veterinary Epidemiology and Economics (VEEC)*, 1993; 7-15.

Vonk Noordegraaf A.,Buijtels J.A.A.M., Dijkhuizen A.A., Franken P. Stegeman J.A.,Verhoeff J. An epidemiological and economic simulation model to evaluate the spread and control of infectious bovine rhinotracheitis in the Netherlands *Prev. Vet. Med.* 1998; 36: 219-238.

Wentink G.H., Van Oirschot J.T., Verhoeff J. Risk of infection with bovine herpes virus 1 (BHV1) a review. *Vet. Quart* 1993; 15: 30-33.

Yeşilbağ K., Bilge-Dağalp S., Okur-Gümüşova S., Güngör B. Studies on herpesvirus infections of goats in Turkey: prevalence of antibodies to bovine herpesvirus-1. *Rev. Med. Vet.* 154, 2003; 772-774.

Yeşilbağ K., Bilge-Dağalp S. Koyunlarda bovine herpesvirus-1 enfeksiyonunun seroprevalansı. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 53, 2006; 141-143.

TEŞEKKÜRLER

Tez konusunun seçimi ve çalışmalarımın yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. M. Tolga TAN'a (Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji AD Başkanı), çalışmalarım sırasında kritikleri ve önerileri ile her türlü desteği veren Yrd. Doç. Dr. Nural EROL'a (Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji AD) ve çalışmam boyunca destek olan Araştırma Görevlisi B. Taylan KOÇ'a (Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji AD) teşekkür ederim. Ayrıca, eğitim hayatımda her zaman destek olan babam Hikmet TAÇKIN, annem Zülfe TAÇKIN, kardeşlerim Hatice PALA, Cemal TAÇKIN ve değerli meslektaşım Veteriner Hekim İrfan VOYVODA'ya teşekkürü borç bilirim.