

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK VİROLOJİ ANABİLİM DALI



**HATAY İLİNDE HALK ELİNDE YETİŞTİRİLEN MANDALARDA
PESTİVİRUS ENFEKSİYONUNUN VİROLOJİK VE SEROLOJİK
METOTLARLA ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zeki DALYAN

Danışman

Prof. Dr. Veysel Soydal ATASEVEN

HATAY-2022

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK VİROLOJİ ANABİLİM DALI

**HATAY İLİNDE HALK ELİNDE YETİŞTİRİLEN MANDALARDA
PESTİVİRUS ENFEKSİYONUNUN VİROLOJİK VE SEROLOJİK
METOTLARLA ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zeki DALYAN

Danışman

Prof. Dr. Veysel Soydal ATASEVEN

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 21.YL.007 proje numarasıyla desteklenmiştir.

HATAY-2022

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK VİROLOJİ ANABİLİM DALI

HATAY İLİNDE HALK ELİNDE YETİŞTİRİLEN MANDALARDA PESTİVİRUS ENFEKSİYONUNUN VİROLOJİK VE SEROLOJİK METOTLARLA ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Zeki DALYAN

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 24/11/2022 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof.Dr.Tuba Çiğdem OĞUZOĞLU
Üye: Prof. Dr.Veyssel Soydal ATASEVEN
Üye: Doç.Dr.Fırat DOĞAN

Bu tez, Enstitümüz Veterinerlik Viroloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

...../...../2022

Prof.Dr.İbrahim Halil ÇERÇİ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımnda bana yol gösteren, desteğini emeğini sabrını esirgemeyen, gülüyüzünü eksik etmeyen ve öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım tez danışmanım Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Veysel Soydal ATASEVEN'e, eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr.Fırat DOĞAN'a, tezimin istatistiksel verileri için değerli zamanını ayıran Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Dr. Öğretim Üyesi Pınar Ambarcıoğlu'na teşekkürü borç biliyor, saygı, sevgi ve şükranlarımı sunuyorum.

Tüm süreçte sabırlarını, sevgilerini ve içten desteklerini her zaman gösteren, hissettiren Sevgili eşim Ceren'e, çocuklarım Koray ve Miray'a sonsuz minnet ve sevgilerimi sunuyorum.

Bu tez projesi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 21.YL.007 proje numarasıyla desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1.Etiyoloji.....	2
2.2.Epidemiyoloji.....	2
2.3. Patogenez ve Klinik Görünüm.....	4
2.4.Prenatal Enfeksiyon ve Persistans Gelişimi.....	5
2.5.Tanı ve Ayırıcı Tanı.....	7
2.6.Kontrol ve Mücadele Stratejileri.....	9
3.GEREÇ VE YÖNTEM	11
3.1.Gereç	11
3.1.1.Hayvan Materyali	11
3.2.Yöntem	12
3.2.1.Materyallerin Hazırlanması.....	12
3.2.1.1. Antikoagulanlı Kan Örnekleri.....	12
3.2.1.2. Genital Sürüntü Örnekleri	13
3.2.1.3. Kan Serumı Örnekleri	13
3.2.2.Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	13
3.2.2.1. Viral Nükleik Asit Ekstraksiyonu.....	13
3.2.2.2. Rezerv Transkripsiyon: Komplementer Deoksiribonükleik asit (cDNA).....	14
3.2.2.3. Viral Nükleik Asit Amplifikasyonu.....	14
3.2.3.İndirekt ELISA.....	15
3.2.4.İstatistiksel Analizler	16
4.BULGULAR.....	17
4.1. PCR Bulguları.....	17
4.2. Serolojik Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme.....	17
5.TARTIŞMA	20

6.SONUÇ.....	25
7.KAYNAKLAR.....	26
EKLER.....	33
EK-1	33
EK-2	34
ÖZGEÇMİŞ	35



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Manda örneklerinin işletme tipi, yaş ve cinsiyete göre dağılımı	12
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan primerlerin dizinleri.....	15
Çizelge 3.3. RT-PCR protokolü	15
Çizelge 3.4. ELISA sonuçlarının değerlendirme formülü	16
Çizelge 4.1. İşletme tipi ve cinsiyete göre seropozitiflik düzeylerinin dağılımı.....	18
Çizelge 4.2. İşletme tipi, yaş ve cinsiyet gruplarının istatistiksel değerlendirmesi	19



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

bp	: Baz Çifti
BRD	: Bovine Respiratory Disease
BoHV-1	: Bovine Herpesvirus-1
BDV	: Border Disease Virus
BVDV	: Bovine Viral Diyaré Virus
CD4 ⁺	: Yardımcı T hücreleri
CD8 ⁺	: Sitotoksik T Hücreleri
cp	: Sitopatojen
cDNA	: Komplementer DNA
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
dNTP	: Deoksinükleotittrifosfat
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	: Enzim-Linked Immunosorbent Assay
ICTV	: Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
MD	: Mukozal Hastalık
MDBK	: Madin-Darby Bovine Kidney
NK	: Negatif Kontrol
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
ncp	: Nonsitopatojen
OD	: Optik Dansite
OIE	: Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	: Asidite
PI	: Persiste Enfekte
PK	: Pozitif Kontrol
PBS	: Tamponlanmış Fosfat Solüsyonu

RNA : Ribonükleik asit

RT-PCR: Reverz Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu

 SY: Üst Solunum Yolu

TBE: Tris Boric Acid-Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid

μL : Mikrolitre

μg : Mikrogram

γ/δ : Gamma/Delta T Hücreleri



ÖZET

Hatay İlinde Halk Elinde Yetiştirilen Mandalarda Pestivirus Enfeksiyonunun Virolojik ve Serolojik Metotlarla Araştırılması

Hatay ili Kırıkhan ilçesinde halk elinde yetiştirilen 18 adet aile tipi işletmelerdeki sağlıklı görünümlü 3 aylıktan büyük 150 adet mandadan tesadüfi örnekleme yoluyla serum ve 100 adet genital sürüntü örneği alındı. Yapılan çalışmada sağlıklı görünümlü mandalardan alınan kan ve sürüntü örneklerinin hiçbirinde pestivirus nükleik asiti tespit edilmedi. Araştırmada örneklenen 150 mandadan 84 adedinde (%56) pestivirus spesifik antikor varlığı saptandı. Genel olarak işletme düzeyindeki seropozitiflik oranları %0-100 arasında belirlendi. Yetiştirme tiplerine göre, hem karma hem de sadece manda yetiştiriciliği yapılan işletmelerde %56 seropozitiflik oranları tespit edildi. Seropozitif hayvanlardan, dişi hayvanların %58'i (47/81) ve erkek hayvanların %53,6'sında (37/69) virus spesifik antikor varlığı saptandı. Yaş gruplarına göre, 3-6 aylık yaşlılarda %45,7 (16/35) ve 6 aylıktan büyük mandaların %59,1 (68/115)'inde seropozitiflik tespit edildi. Yapılan çalışmanın sonucu olarak ülkemizde farklı bir ruminant türü olan mandalarda pestivirus enfeksiyonunun yüksek yaygınlığa sahip olduğu gösterilmiştir. Gelecekte enfeksiyonun manda popülasyonundaki epidemiyolojik dinamiklerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacak geniş ölçekli epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Pestivirus, PCR, ELISA, Seroprevalans, Manda.

ABSTRACT

Investigation of Pestivirus Infections in Privately Owned Water Buffaloes in Hatay Province by Virological and Serological Methods

A total of 150 sera and 100 genital swabs were sampled from healthy-appeared water buffaloes aged older than 3 months in 18 private farms in Kırıkhan, Hatay province. None of the blood and genital swab samples from water buffaloes was detected pestivirus nucleic acid. Pestivirus specific antibodies were detected in 84 (56%) of 150 water buffaloes here sampled. In general, the seropositivity rates at the enterprise level were determined between 0-100%. According to the breeding types, seropositivity rates in both mixed-breeding herds and in water buffalo herds were detected as 56%. The presence of virus-specific antibodies was detected in 47 of 81 female (58%) and 37 of 69 male animals (53.6%) from the seropositive animals. According to age groups, seropositivity was detected in 16 (45.7%) of 35 buffaloes aged 3-6 months and 68 (59.1%) of 115 buffaloes older than 6 months. The findings showed that the prevalence of pestivirus infection was high in water buffaloes as well different ruminant species in Turkey, and this research will guide future large-scale epidemiological studies, which will provide a better understanding of the epidemiological dynamics of pestivirus infection in water buffalo populations.

Keywords: ELISA, PCR, Pestivirus, Seroprevalence, Water buffalo.

1. GİRİŞ

Sığırların viral diyare virus (BVDV) enfeksiyonu, ilk kez 1946'da sığırlarda ateş, anoreksi, diyare, ülseratif gastroenterit ve abortlarla karakterize klinik tabloyla tanımlanmış ve “X hastalığı” olarak isimlendirilmiştir (Olafson ve ark. 1946). Ardından gelişen ikincil bir hastalık formu 1953 yılında ABD'nin Iowa eyaletinde sığırlarda gözlenen ve lezyonlara dayanarak “Mukozal hastalık” olarak adlandırılmıştır (Ramsey ve Chivers 1953).

BVDV ile gelişen enfeksiyon; mastitis, abort, anomalili yavru doğumu, repeat breeding gibi reproduktif sistem bulgularının yanı sıra, respiratorik sistem ve gastrointestinal sistem gibi multi sistemik etkilere de sahiptir (Evans ve Reichel 2021). BVDV'nun ana hedefi olan embriyo veya fötustaki patojenik etkileri sonucunda embriyonal ya da fötal ölümler, teratogenez, persiste enfeksiyon (PI) ve infertilite şekillenebilmektedir. Erken dönem fötal enfeksiyonlar PI buzağuların doğumu ile sonuçlanabilir. PI hayvanlarda mutant BVDV suşları ortaya çıkabileceği gibi, süperenfeksiyon neticesinde ölümcül mukozal hastalık (MD) tablosu gelişebilmektedir (Ramsey ve Chivers 1953, Bolin 1995b).

BVDV'nin genellikle konakçıya özgü olduğu düşünülürken, keçi ve koyunlarda Border disease virus (BDV) gibi diğer *Pestivirus* türlerinin, başlangıçta izole edildikleri türler dışındaki türleri de enfekte ettiği gösterilmiştir. Son zamanlarda BVDV, Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE)'nün ihbarı zorunlu hastalıklar listesine yer almıştır (Evans ve Reichel 2021).

Bu araştırmada, Hatay ilinde halk elinde aile tipi yetiştiricilik yapılan manda işletmelerinde pestivirus enfeksiyonunun virolojik ve serolojik yöntemler kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır. Dünyada ve ülkemizde sığır, koyun ve keçi gibi ruminant türlerinde pestivirus enfeksiyonunun prevalansının araştırıldığı çok sayıda araştırma olmasına karşılık mandalarda sınırlı sayıda çalışma bulunması nedeniyle bu araştırmanın ulusal ve uluslararası düzeyde bilimsel literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Etiyoloji

Sığırların viral diyare virusu (Bovine Viral Diyare Virus:BVDV), domuzlardaki klasik domuz vebası virusu ve koyun ve keçilerdeki Border disease virusu RNA genomuna sahip *Flaviviridae* ailesinin *Pestivirus* cinsi içinde sınıflandırılmıştır (Ataseven 2021). Harflere dayalı yeni sınıflandırmada pestivirus A'dan K'ya kadar 11 türü tanımlanmıştır (ICTV Reports 2021). Ruminantlarda enfeksiyona neden olan primer pestivirus türleri, pestivirus A (BVDV-1), pestivirus B (BVDV-2), pestivirus D (BDV), son yıllarda pestivirus I, pestivirus H (BVDV-3 veya HoBi-like) olarak sınıflandırılmıştır (ICTV Reports 2021). Pestivirus A türü, NADL ve Osloss gibi referenz suşları ve 22 alt tipi içermektedir (Yeşilbağ ve ark. 2017, Oğuzoğlu ve ark. 2019). Pestivirus B türü 4 alt tipi içerirken, ilk izolasyonu ticari fotal serumlardan yapılan ve HoBi-like olarak da adlandırılan pestivirus H türü buzağların ağır solunum sistemi enfeksiyonları ile abortlardan saptanmıştır (Yeşilbağ ve ark. 2017, Timurkan ve Aydın 2019). Tüm pestiviruslar antijenik olarak yakın ilişkili olmasına rağmen, poliklonal ve monoklonal antiserumlar kullanılarak gerçekleştirilen virus nötralizasyon çalışmaları, farklı türlerden pestivirus izolatlarının antijenik olarak spesifik epitoplara sahip olabileceğini ve viral nötralizasyonda yer alan bazı epitoplarda önemli varyasyonların bulunduğunu doğrulamıştır (Bolin ve ark. 1988, Paton ve ark. 1991, Van Rijn ve ark. 1997).

Pestivirus virionları, zarflı, yaklaşık 60 nm çapında küresel partiküllerdir. (Murphy ve ark. 1999). Bu virusların hücrelerde çoğalma sırasında patoloji sergileyen sitopatojen (cytopathogen: cp) ve sergilemeyen non-sitopatojen (non-cytopathogen: ncp) iki farklı biyotipi belirlenmiştir. Her iki biyotipik özelliğe sahip suşlar 3 genotipte de belirlenmiştir. Persiste enfeksiyonun gelişiminden ncp biyotipteki suşlar sorumludur (Fulton ve ark. 2006).

2.2.Epidemiyoloji

Pestivirus enfeksiyonları, sığırlar dışında manda, koyun, keçi, vahşi ruminantlar, domuzlar, tavşanlar, *Camelidae*, *Cervidae*, *Antilocapridae* ailesi üyelerinde de bildirilmiştir (Depner ve ark. 1991, Hyera ve ark. 1992, Løken 1995, Anderson ve Rowe 1998, Gruber ve ark. 1995, Frolich ve Streich 1998, Frolich ve Flach 1998, Ataseven ve ark. 2022). Namibya'daki kudu (*Tragelaphus strepsiceros*), eland ve zürafa arasında yüzde 40'ın üzerinde bir prevalans oranı bildirilmiştir (Depner ve ark. 1991). Bazı çalışmalar, serbest

dolaşan tek tırnaklıları enfekte eden BVDV izolatlarının olduğunu göstermektedir (Frolich ve Hofmann 1995, Becher ve ark. 1997, Fischer ve ark. 1998).

BVDV'nin doğadaki en önemli rezervuarı immüntolere persiste enfekte (PI) hayvanlardır (Houe ve ark. 1995, Innocent ve ark. 1997, Taylor ve ark. 1997). Bu hayvanlar nazal sekretleri, saliva, gözyaşı, sperma, süt, idrar ve dışkılarıyla yüksek titrede virus saçıcısıdırlar. Persiste enfekte olmuş bir hayvanla temas halinde olan hayvanlar hızla enfekte olur (Houe ve ark. 1995, Innocent ve ark. 1997, Taylor ve ark. 1997). Persiste enfekte hayvanların olduğu sürülerde seroprevalans yüksektir. Duyarlı (bağışık olmayan) hayvan sayısı yüksek olan sürülerde enfeksiyon riski, dolayısıyla PI buzağının doğma olasılığı da yüksektir (Houe ve ark. 1995, Innocent ve ark. 1997, Taylor ve ark. 1997).

Postnatal akut enfeksiyonda şekillenen geçici (transient) enfeksiyon tablosunda immun yanıtın gelişimiyle birlikte enfeksiyon sonlanır. Ancak, PI hayvanların bulunduğu duyarlı hayvan sayısının yüksek olduğu sürülerdekine benzer şekilde akut enfeksiyonlarda da sürü bağışıklığının düşük olduğu sürülerde PI buzağı doğma olasılığı yüksektir (Kommisrud ve ark. 1996, Innocent ve ark. 1997, Kirkland ve ark. 1997). Akut enfekte hayvanların sekret ve eksretleriyle virus saçılımı 4-14 gün sürmektedir (Kommisrud ve ark. 1996, Kirkland ve ark. 1997).

BVDV enfeksiyonu vertikal ve horizontal yollarla bulaşmaktadır. PI buzağılar, vertikal bulaşma ile fötusun enfeksiyonu neticesinde gelişir. Virusun doğada devamlılığı, horizontal ve vertikal bulaşma döngüleri ile sürdürülür (Baszler ve ark. 1995). PI düve/inekler de PI buzağılar doğururlar (Bolin ve ark. 1985b). Virus, PI hayvanların ovaryumlarına da yerleşmektedir (Grooms ve ark. 1996, Fray ve ark. 1998, Tsuboi ve Imada 1998). PI boğaların spermaları da yüksek konsantrasyonlarda BVDV içerir ve reproduksiyon aşamasında tohumlanan duyarlı düvelerde/ineklerde düşük gebe kalma oranları ve infertiliteye neden olabilirler. Bu spermalarla tohumlanan duyarlı düveler/inekler genellikle geçici olarak enfekte olur ve nadiren gebe kalsalar dahi doğan buzağılar persiste enfekte olabilir (Kommisrud ve ark. 1996, Kirkland ve ark. 1997).

Horizontal bulaşma, direkt ve indirekt olarak meydana gelebilir. Duyarlı hayvanlara, PI hayvanların yakın teması neticesinde aerosol bulaşma söz konusudur. Dolaylı bulaşma potansiyeli, virusun konakçı dışındaki ortam şartlarına bağlıdır. Laboratuvar çalışmaları, virusun 10°C'nin altında ve geniş bir pH aralığında (3 ila 9) oldukça stabil olduğunu göstermektedir (Houe ve ark. 1995). Virus doğal ortamlarda 35°C'de üç saat, 20°C'de üç ila yedi gün ve 5°C'de üç hafta dayanıklı kalabilmektedir (Houe ve ark. 1995). İatrojenik

bulaşma, kontamine iğneler, muşet, kulak pensi ve kastrasyon için kullanılan cerrahi aletlerle, oral infüzyon ve rektal muayenede hijyen protokollerinin uygulanmaması nedeniyle de oluşabilir (Potgieter 2004). Sperma yoluyla veya embriyo transfer işlemleri sırasında horizontal bulaşma meydana gelebilir (Kommisrud ve ark. 1996, Kirkland ve ark. 1997).

Postnatal BVDV bulaşmasının birincil mekanizması, PI ve duyarlı hayvanlar arasındaki doğrudan temastır (Barber ve ark. 1985, Taylor ve ark. 1997). Virus, sıklıkla PI bir hayvanın veya PI fötüs taşıyan gebe bir hayvanın sürüye katılmasıyla sürüye giriş yapmış olur. Bu gibi durumlarda duyarlı sürülerde enfeksiyonun yayılması genellikle hızlıdır ve sürüdeki duyarlı hayvanların birçoğunda birkaç ay içinde antikör pozitiflik saptanabilir (Hamers ve ark. 1998).

2.3. Patogenez ve Klinik Görünüm

Akut enfeksiyonlarda nazal mukozadan organizmaya giren virus üst solunum yolu (ÜSY) mukozası ve tonsillerde yüksek titrelerde ilk replikasyonunu gerçekleştirir (Markham ve Ramnaraine 1985, Wilhelmsen ve ark. 1990, Marshall ve ark. 1996, Spagnuolo ve ark. 1997, Ellis ve ark. 1998). Birçok çalışmada, BVDV'nin birincil pnömopatojenik ajan olabileceği ve neden olduğu immünsupresyona bağlı olarak fırsatçı patojenlerle enfeksiyonu indüklemeye yeteneği olduğu bildirilmiştir (Potgieter ve ark. 1985, Meehan ve ark. 1998). Akut enfeksiyonlarda virusun B ve T lenfosit ($CD4^+$, $CD8^+$ ve γ/δ lenfosit grupları) ile nötrofil sayısında azalmaya yol açtığı rapor edilmiştir (Bolin ve ark. 1985c).

BVDV, sığırların solunum sistemi hastalıkları (BRD) kompleksi içinde yer alan önemli bir viral patojendir. Virusun immünsupresif özelliği ikincil viral ve bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık oluşturmakta, kleransı bozarak klinik şiddetini arttırmakta ve akciğerlerde yayılımını desteklemektedir (Edwards ve ark. 1986, Elvander ve ark. 1998). Enfekte olmuş buzağuların pulmoner lenfosit ve nötrofil sayısını azalttığı tespit edilmiştir (Turk ve ark. 1985). Ayrıca bu virus, akciğerin mikroorganizmalara karşı savunmasında çok önemli bir role sahip olan sığır alveolar makrofajlarında çoğalır ve bunları yok eder veya işlevlerini bozar (Welsh ve ark. 1995). Enfekte sığırların yarısından fazlasında subklinik seyir şekli karşımıza çıkar. Yaklaşık 4-15 gün süren bir inkubasyon periyodundan sonra viremi şekillenir. ÜSY mukozası ve tonsillerdeki primer çoğalmayı takiben bölgesel lenf nodüllerinden lökosit aracılığıyla viremi ile generalize olur. Subklinik veya hafif klinik bulgularla seyreden olgularda lökopeni, hafif pireksi ve bazı ineklerde süt üretiminde bir düşüş olduğu

görülebilmektedir. Ağır olgularda ani başlayan ateş, lökopeni, trombositopeni, depresyon, anoreksi, hiperpne, okülo-nazal akıntılar dikkat çeker. Morbidite %40'a kadar, mortalite ise %10-25 olarak bildirilmiştir. Duyarlı sürülerde, genellikle 6 ila 12 aylık hayvanlarda değişken şiddette enterit olguları meydana gelebilir. Akut enfeksiyon spesifik antikor gelişimi ile sonlanır. Enfeksiyondan sonra yapısal ve yapısal olmayan BVDV proteinlerine karşı immünite gelişmektedir (Bolin 1993, Bolin ve ark. 1991, Donis ve Dubovi 1987). Pestivirus zarf glikoproteini (E2), nötralizan antikor gelişiminden sorumlu dominant proteindir (Bolin ve Ridpath 1989, Deregt ve ark. 1990, Bolin ve Ridpath 1990, Bolin 1993, Deregt ve ark. 1998). Akut enfeksiyonlarda en yüksek virus titrelerinin tonsiller, timus ve ileumda saptandığı rapor edilmiştir (Wilhelmsen ve ark. 1990).

Genellikle subklinik bir forma neden olan BVDV-1 suşlarının aksine, BVDV-2 suşlarının trombositleri hedef alma olasılıklarının daha yüksek olduğunu ve yüksek ateş, trombositopeni, hemorajik lezyonlar ve yüksek mortalite ile karakterize “Hemorajik Sendrom” olarak adlandırılan ciddi hastalığa neden olabileceği bildirmektedir. Ayrıca, bazı BVDV 1 suşlarının da trombosit fonksiyonunu bozma kapasitesine sahip olabileceği belirtilmiştir (Oğuzoğlu ve ark. 2010, Ataseven 2021). Megakaryositler ve lenfositler, virusun önemli hedeflerini oluştururlar (Walz ve ark. 1999).

Bazı virus suşları ovaryum disfonksiyonu ve reproduktif bozukluklara neden olmaktadır. Ooforit, salpenjit, ovidukt yangısı, testiküler dokudaki seminifer tubuller ve endokrin bozukluklar özellikle sitopatojen BVDV suşları ile gelişmektedir. Kronik enfeksiyonlarda, enfekte boğaların spermalarıyla sürekli virus saçılımı görülmektedir. Kronik enfekte hayvanlar, persiste enfekte sığırların aksine yüksek nötralizan antikor titrelerine sahiptir (Grooms 2004, Givens ve Marley 2013, Oguejiofor ve ark. 2019).

Virus, ayrıca deneysel olarak enfekte hayvanların pankreasındaki Langerhans adacıklarında ve nispeten hipofiz bezinde yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiştir (Spagnuolo ve ark. 1997).

2.4.Prenatal Enfeksiyon ve Persistens Gelişimi

Sitopatojen ve non-sitopatojen biyotipler transplasental enfeksiyonlara neden olabilir, ancak non-sitopatojen biyotipin prevalansı daha yüksektir. BVDV ile intrauterin enfeksiyonlarda öncelikle gebeliğin evresi (veya fötusun yaşı) ve virusun biyotipi önem taşır (Bielefeldt-Ohmann ve ark. 1982, Potgieter 2004).

Enfekte boğalarda spermanın kalitesi; spermatozoa yoğunluğu, motilitede azalma ve sperm anomalisinde artış nedeniyle önemli ölçüde düşebilir. Virus, uzun süreli bir ooforite neden olabilir, bu durum repeat breeder'ın önemli bir nedenidir (Grooms ve ark. 1996). Kontamine sperma ile tohumlanan veya tohumlamadan hemen önce enfekte olan seronegatif hayvanlar önemli ölçüde düşük gebe kalma oranlarına sahip olabilir (Taylor ve ark. 1997). Virusun fertilizasyona olumsuz etkisi bulunmakla birlikte pestiviruslar sağlam bir zona pellucida'ya nüfuz etme yeteneğine sahip değildir (Tsuboi ve Imada 1996, Vanroose ve ark. 1998, Givens ve ark. 1999).

Gebeliğin ilk üç ayında, embriyo ve fötüs virusa karşı oldukça duyarlı olup, bu duyarlılık, gebelik evresi ve bağışıklık tepkisinin gelişim zamanı ile bağlantılıdır (Bielefeldt-Ohmann ve ark. 1982). 40.günden önce fötüsün enfeksiyonu genellikle ölüm, rezorbsiyon, mumifikasyon veya abortla sonuçlanabilir (Grooms 2004).

İmmuntolare PI buzağı doğumları gebeliğin ilk trimesterinde (40.günden sonra) fötüsün transplasetal enfeksiyonu neticesinde ncp BVDV suşları ile gelişmektedir (McClurkin 1984, Ataseven 2021). PI sığırlar, genellikle enfekte oldukları ncp BVDV suşuna karşı immuntolare ve seronegatifdir. İmmun sistemi hasar görmesine karşın heterolog BVDV suşlarına karşı bir dereceye kadar immun yanıt oluşturmaktadır (Bolin ve ark. 1985a, Bolin 1988). PI sığırlarda mutlak lenfosit sayıları nispeten normal düzeylerde olmasına rağmen kandaki fonksiyonel B-lenfositlerin oranı çok düşüktür (Bolin 1988). Persiste enfekte bireylerin büyüme hızlarının yavaş ve yaşlılarına göre boyutlarının küçük olması tiroid hormonlarının eksikliğine bağlanmıştır (Larsson ve ark. 1995). İmmun sistem fonksiyonlarındaki hasar nedeniyle PI hayvanlar pnömoni ve enterit gibi klinik risk altındadır ve birçoğu yaşamlarının ilk yılında ölebilir (Taylor ve ark. 1997).

Her yaş grubunda görülmesine karşın, sıklıkla 6 ay ila 2 yaş arasındaki PI hayvanlar enfekte oldukları ncp BVD virusu ile antijenik homolojiye sahip olan bir sitopatojen BVD virusu ile süperenfekte olursa akut veya kronik bir seyir gösterebilen ölümcül mukozal hastalık (MD) tablosu ortaya çıkar. Sitopatojen virus, genellikle PI hayvandan saçılan ncp virusun genomunun yeniden düzenlenmesiyle oluşur. MD tablosu akut ya da kronik bir seyir izler. Akut MD, ateş, depresyon, lökopeni, anoreksi, taşikardi, hiperpne, hemorajik karakterde şiddetli diyare, dehidratasyon ve zayıflama ile karakterizedir. Dudaklar, ağız mukozası ve damakta erozyonlar, ülserasyonlar görülür. Dışkı sulu ve sıklıkla kötü kokulu ve nekrotik, fibrinli kan ve epitel döküntüleri içerebilir. Akut MD'nin seyri 2-21 gün arasında değişir. Trombositopeni sıklıkla mevcuttur. Kronik MD'nin klinik belirtileri akut hastalığa

benzer, ancak daha az şiddetlidir ve 18 ay kadar uzun seyirlidir (Nagele 1984, Bolin ve ark. 1985d, Howard ve ark. 1987, Bolin 1995b, Tautz ve ark. 1998, Kelling ve Topliff 2013).

BVDV, fötüs için önemli bir teratojendir. Gebeliğin ikinci trimesteri (yaklaşık 100 ila 150 gün) gelişmekte olan, organogenez ve fetal bağışıklık sisteminin gelişiminin son aşamalarına karşılık gelir. Bir yangısal yanıt sonucu oluşabileceği gibi teratogenezin birincil nedeni hücre büyümesinin ve/veya farklılaşmasının inhibisyonu ve hücre lizisidir. Konjenital bozukluklar sinir sistemi, göz, tiroid, immün sistem, deri, kas, iskelet ve solunum sistemlerinde sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Fetal tiroidin hasar görmesi de bir hedef olarak görünmektedir (Larsson ve ark. 1995, Spagnuolo ve ark. 1997). Arthrogripoz, serebellar hipoplazi, mikroensefali, hidranensefali, poreensefali, hidrocefali, dismiyelinizasyon, omurilik hipomiyelinogenezi, koryoretinopati, mikroftalmi, timik hipoplazi, hipotrikoz, brakignatizm, iskelet defektleri, büyüme geriliği ve pulmoner hipoplazi sıklıkla bildirilen konjenital defektlerdir. Anomalili buzağılarda körlük, ayakta durmakta ve hareket etmekte zorluk, titreme, katarakt, körlük, korneal opasite ve alopecia gibi klinik bulgular dikkati çeker.

Sığırlarda gebeliğin üçüncü trimesterinde BVDV'nin neden olduğu transplasental enfeksiyonlar genellikle teratojeniteye yol açmaz ve postnatal enfeksiyonlara benzer. Bu dönemde fötusta nispeten normal bağışıklık tepkileri oluşur ve genellikle bu yavrular virus spesifik antikorlara sahip olarak doğarlar.

Abortlara virusun her iki (cp ve ncp) biyotipi de neden olabilmektedir. Genellikle gebeliğin ilk trimesterinde karşımıza çıkan abort olguları, nadiren gebeliğin son trimesterinde de görülebilmektedir (Grooms 2004).

2.5.Tanı ve Ayırıcı Tanı

BVDV'nin neden olduğu hastalığın karmaşık patogenezi ve neden olduğu subklinik enfeksiyonlar laboratuvar tanıda önemli bir zorluk teşkil etmektedir (Bezek 1995, Brock 1995, Horner ve ark. 1995). Etkin tanı desteğine erişim BVDV'nin neden olduğu hastalık semptomlarının kontrolü için önemli bir bileşendir. Ayrıca, uygun tanı örneklerinin toplanması ve laboratuvar sonuçlarının doğru yorumlanması, BVDV enfeksiyonlarının karmaşık patogenezi hakkında bilgi ve deneyim gerektirir.

Özellikle moleküler tanı prosedürleri geliştirilmesine rağmen, enfeksiyöz virusların hücre kültürlerinde izolasyonu özellikle aşı suşlarının elde edilmesinde önemini korumaktadır. Bu amaçla, konka, deri ve testis hücreleri gibi primer sığır fötal hücre

kültürleri ve MDBK gibi devamlı hücre hatları tercih edilmektedir. Virusun non-sitopatojen biyotipinin de bulunması nedeniyle sitopatojenite gözlenmeyen hücre kültürlerinin inokulasyondan 3 ile 7 gün sonra immünofloresan veya immünoperoksidaz testleriyle virus üremesi yönünden test edilmesi gerekir (Brinkhof ve ark. 1996).

BVDV'nun varlığı, viral antijenlerin tespiti ile hızlı ve doğrudan belirlenebilir (Brock 1995, Baszler ve ark. 1995, Thur ve ark. 1996, Thur ve ark. 1997). Virusun dokularda tespiti ve yerleşimi, immünfloresan ve immünohistokimyasal yöntemlerle yapılabilmesine karşın (Thur ve ark. 1996, Thur ve ark. 1997), kan ve doku (kulak kıkırdağı) örneklerinde antijen ELISA tekniği yaygın ve hızlı sonuç veren bir metot olarak geliştirilmiştir (Sandvik ve Krogsrud 1995, Brinkhof ve ark. 1996, Graham ve ark. 1998).

Günümüzde birçok laboratuvar da tercih edilen moleküler tanı (polimeraz zincir reaksiyonu-PCR) yöntemleri, antijen ELISA tekniğine göre spesifite ve sensitivite yönünden avantaj sunsada, maliyeti ve teknik ekipman gereksinimleri nedeniyle rutin tanı uygulamalarında dezavantajlara sahiptir. Virus izolasyonunun aksine, canlı hayvanlardan alınan kan serumu numunelerinde nötralize edici antikorun varlığı PCR ile virus tespitini engellemez (Horner ve ark. 1995). Ancak, moleküler yöntemlerle sadece enfeksiyöz virionlardan gelen genomik RNA'nın yanında inaktif veya defektif virus RNA'sı da saptanabilir (El-Kholy ve ark. 1998).

Virus tespiti için, nazal sürüntü, sperma, antikoagüle kan ile ölü hayvanlardan veya aborte fötüslerden örneklenen dalak, Peyer plakları, mezenterik lenf düğümleri ve timus gibi lenfoid organlar da tanı amacıyla laboratuvara gönderilebilir. Enfekte hayvanlardan alınan buffy coat'daki mononükleer hücreler önemli bir virus kaynağıdır (Grooms ve ark. 1996).

Serolojik tanı, kan serumu ve süt serumunda BVDV spesifik antikorların tespiti ile gerçekleştirilir. Bu amaçla, nötralizasyon, indirekt (antikor) ELISA, indirekt immünfloresan testleri kullanılmaktadır (Potgieter 1992).

Ayırıcı tanıda, sığırlarda diyare, gastrointestinal dokularda erozyon ve ülserasyonlara, reproduktif problemlere (özellikle abort ve infertilite), teratojenite, laminitis, gelişme geriliği ve respiratorik bozukluklara neden olan diğer enfeksiyonlardan ayırt edilmesi önemlidir. Bu amaçla, BoHV-1, Mavi Dil, Akabane, Schmollenberg, geyiklerin epizootik hemorajik hastalığı, Salmonelloz, Şap, Sığır vebası, Q humması, neosporoz, toksoplazmoz, kriptosporidiyoz, koksidiyoz ve helmint enfestasyonları ayırıcı tanıda dikkate alınmalıdır (Potgieter 2004).

2.6. Kontrol ve Mücadele Stratejileri

Pestivirus enfeksiyonunun epidemiyolojisi, patogenezi ve bağışıklık mekanizması üzerine gelişmeler virusun neden olduğu hastalık semptomlarını kontrol altına almak için akılcı stratejilerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır (Bitsch ve Ronsholt 1995, Bolin 1995a). En uygun kontrol programı, hayvan popülasyonunun yapısı (yaş, gebelik durumu), üretim sistemi (süt, besi, karma), stres düzeyleri ve yönetim uygulamaları ile belirlenir. Bir sürüde BVDV enfeksiyonun kontrolünde, virus kaynağı olarak değerlendirilen persiste enfekte hayvanları sürüden çıkarılması ve enfeksiyon döngüsünün kırılması amacını hedefleyen aşılama ana stratejilerdir (Bolin 1995a, Ataseven 2021).

Enfeksiyonda kontrol stratejisinin ilk basamağı olan persiste enfekte hayvanların sürüden uzaklaştırılması için 3 aylıktan büyük buzağılarda dahil olmak üzere tüm sığırlar eliminasyon programının başlangıcından sonraki 9-12 ay boyunca virus açısından taramalıdır (Bisch ve Ronsholt 1995; Toplak ve ark. 2021). Sürüye dahil edilen hayvanlar, sürüye alınmadan önce test edilmelidir. Aşı programı olmayan bir sürüye hayvan alımında ana sürüye katılmadan önce 3 hafta karantinada tutulması (Walz ve ark. 2010; Yeşilbağ ve ark. 2012) ve uygulanan test tekniğine göre değişmek üzere 14-30 gün arayla PI yönünden test edilmesi önerilmektedir (Walz ve ark. 2010; Toplak ve ark. 2021). Buzağılar, doğumu takiben kolostrum almadan (pre-kolostral) test edilmelidir (Zimmer ve ark. 2004; Yeşilbağ ve ark. 2012).

PI hayvanlar ve diğer hayvanlar arasındaki pestivirus enfeksiyonu döngüsünü kırmak için en etkili mekanizma özellikle seronegatif annelerin bağışıklık kazanmasını sağlamaktır. Fötal enfeksiyonları ve dolayısıyla yeni persiste enfekte hayvanların ortaya çıkışını önlemek de önemlidir. Bu nedenle, enfeksiyon kaynaklarını azaltmanın yanı sıra aşılama enfeksiyonu minimum riskle kontrol etmek için en etkili strateji olarak bildirilmiştir (Houe 1995, Cherry ve ark. 1998).

BVDV modifiye canlı virus aşılarının uzun süreli bağışıklık oluşturduğu bilinmektedir (Potgieter 1995, Cortese ve ark. 1998). Ancak, MD indüksiyonu, immunsupresyona yol açması ve fötal hastalık oluşturma riski nedeniyle güvenliği ile ilgili tartışmalar da söz konusudur (Bielefeldt-Ohmann ve ark. 1982, Lobmann ve ark. 1986, Bolin 1995a).

İnaktif BVDV aşıları güvenlidir ve fötal koruma gösterilmiştir (Brownlie ve ark. 1995). Ancak, antikör tepkileri aşısındaki antijen türüne bağlı olan (Bolin ve Ridpath 1990, Ludemann ve Katz 1996) bu aşıların neden olduğu bağışıklık en fazla 6 ay sürmektedir. Ayrıca, yetersiz

heterotipik bağışıklık muhtemelen zayıf hücre aracılı yanıtın bir sonucudur (Bolin ve ark. 1991, Dubovi 1992, Martin ve ark. 1994).

Aşılamalarda dikkat edilmesi gereken birkaç genel kural vardır. Aşılı annelerden doğan üç aylıktan küçük buzağlar pasif maternal antikorların varlığı ile ilişkili potansiyel aşılama başarısızlığı nedeniyle aşılanmaz. Kolostrum almayan buzağlar doğumdan hemen sonra aşılanmalıdır. Düveler ve inekler, suni tohumlamadan 30 ila 60 gün önce aşılanabilir. Modifiye canlı virus aşıları gebe hayvanlarda veya stresli popülasyonlarda kullanılmamalıdır. İnaktif aşılar, BVDV enfeksiyonu öyküsü olmayan popülasyonlarda ve fırsatçı patojenlere maruz kalma potansiyelinin yüksek olduğu süt sığırlarında öncelikle tercih edilebilir (Bolin 1995a).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan Materyali

Araştırmada, Kasım 2020-Mart 2021 tarihleri arasında Hatay İl Tarım ve Orman Müdürlüğü'nün kayıtlarına göre manda popülasyonunun en yoğun olduğu Kırıkhan ilçesinde halk elinde yetiştirilen BVDV'na karşı aşısız 18 adet aile işletmesindeki sağlıklı görünüşlü 3 aylıktan büyük farklı yaş gruplarından mandalardan (sahiplerinin) gönüllülük esasına göre tesadüfi örnekleme yoluyla antikoagulanlı ve silikonlu tüplere olmak üzere toplam 150 adet kan örneği toplandı. Materyallerin 50 adedi sadece manda, 100 adedi ise karma (manda ve sığır) yetiştiriciliğin yapıldığı işletmelerden örnekledi. Örneklemede, 3-6 aylık grupta 35 adet ve 6 aylığın üzerindeki grupta 115 adet mandadan kan örneği toplandı. Klinik olarak sağlıklı görünüşlü 3 ay-3 yaş aralığındaki toplam 100 adet mandadan tesadüfi örnekleme yoluyla 81 adet vajinal ve 19 adet preputial sürüntü numuneleri toplandı. Örneklerin işletmelere göre dağılımları Çizelge 3.1'de gösterildi.

Bu tezdeki çalışma protokolü Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (Tarih: 24.06.2020; Karar No. 2020-04-26) tarafından onaylanmıştır.

Çizelge 3.1. Manda örneklerinin işletme tipi, yaş ve cinsiyete göre dağılımları

Sürü Sayısı	Manda Sayısı	İşletme Tipi	Cinsiyet Dağılımı	
			Dişi	Erkek
1	8	Karma	6	2
2	10	Karma	9	1
3	6	Manda	3	3
4	5	Manda	3	2
5	7	Karma	3	4
6	11	Karma	6	5
7	2	Manda	-	2
8	19	Manda	9	10
9	15	Karma	7	8
10	5	Karma	4	1
11	10	Karma	7	3
12	6	Karma	3	3
13	1	Manda	1	-
14	2	Manda	-	2
15	7	Manda	2	5
16	1	Karma	-	1
17	8	Manda	5	3
18	27	Karma	13	14
Toplam	150		81	69

3.2. Yöntem

3.2.1. Materyallerin Hazırlanması

3.2.1.1. Antikoagulanlı Kan Örnekleri

Antikoagulan madde olarak EDTA içeren tüplere alınan kanlar laboratuvarında 800xg devirde 5 dakika santrifüj edildi. Tabakalanan kan örneğinin orta tabakasinda yer alan bulutumsu (lökosit) tabaka 100-1000 µL hacimli mikropipet ucu yardımıyla içinde 2 mL PBS bulunan tüplere aktarıldı. Lökositlere 2 yıkama yapıldı. Örnekler, test edilinceye kadar -20°C derin dondurucularda saklandı.

3.2.1.2. Genital Sürüntü Örnekleri

Genital sürüntü örnekleri içlerinde 2'şer mL PBS bulunan tüplerde soğuk zincirde laboratuvara getirildikten sonra vortekslenerek steril eppendorf tüplerine aktarıldı. 800xg devirde 5 dakika santrifüj edilen eppendorf tüplerindeki süpernatant yeni steril eppendorf tüplerine aktarılarak test edilinceye kadar -20°C derin dondurucularda saklandı.

3.2.1.3. Kan Serum Örnekleri

Silikonlu tüplere alınan kanlar laboratuvarında 3000xg devirde 5 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan serum 100-1000 µL hacimli mikropipet ucu yardımıyla eppendorf tüplerine aktarılarak test edilinceye kadar -20°C derin dondurucularda saklandı.

3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

3.2.2.1. Viral Nükleik Asidin Ekstraksiyonu

Antikoagulanlı kan ve genital sürüntü örneklerinden viral nükleik asit varlığının tespiti için ön aşama olan viral nükleik asidin izolasyonu ticari nükleik asit ekstraksiyon kiti (Roche HighPure Viral Nucleic Acid Extraction kit, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. 200'er µL olacak şekilde eppendorf tüplerine alınan herbir şüpheli örneğin üzerine 200 µL proteinaz K enzimi ve bağlanma solüsyonu içerisinde hazırlanan taşıyıcı (poly A) içeren çalışma solüsyonundan 200 µL eklenerek vortekslendikten sonra 72°C'de 10 dakika su banyosunda inkube edildi. İnkubasyondan sonra 100'er µL bağlanma solüsyonu eklenen tüpler tekrar vortekslenerek önceden örnek numaraları yazılmış olan spin kolon tüplerine aktarıldı. Spin kolon filtre içeren tüpler 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi ve alttaki tüpler atılarak spin kolon filtreler yeni boş tüplere yerleştirildi. Spin kolon filtreli tüplere 450µL inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklendi ve 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra yeni boş tüplere alınan spin kolon filtrelerin üzerine 500µL yıkama solüsyonu eklendikten sonra 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Bu işleminden sonra, spin kolon filtreler yeni boş tüplere alındıktan sonra son bir kez 13000xg'de 10 saniye santrifüj edilerek rezidü kalıntıları uzaklaştırıldı. Son aşamada viral nükleik asidin aktarılacağı eppendorf tüplerine alınan spin kolon filtreler 50'şer µL elüsyon tampon eklenerek 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Eppendorf tüpün içindeki spin kolon filtreler atıldı ve eppendorf tüplerinin içinde kalan nükleik asit ekstraktı PCR amplifikasyonunda kullanılmak üzere test edilinceye kadar -20°C derin dondurucularda saklandı.

3.2.2.2. Reverz Transkripsiyon: Komplementer Deoksiribonükleik Asit (cDNA) Sentezi

Nükleik asit ekstraktları kullanımdan önce oda koşullarında çözündürüldükten sonra buz bloğu üzerine alındı. Ticari cDNA sentez kiti (OneScript Plus, Applied Biological Materials Inc., Kanada) kullanılarak viral RNA komplementer DNA (cDNA)'nın sentezi için buz bloğu üzerine alınan ependorf tüpleri içinde örnek başına 4µL 5xRT tamponu, 1µL dNTP, 1µL random hekzamer primerler, 1µL One Script Plus RTaz ve 11µL nükleaz içermeyen su olacak şekilde mastermiks hazırlandı. Örnek sayısı kadar buz bloğuna hazırlanan PCR mikrosantrifüj tüplerine 18µL mastermiks karışımı dağıtılarak üzerlerine 2µL örnek RNA'sı ilave edildi. Nazıkçe karıştırılan karışım cDNA sentezi için 55°C'de thermal cycler içinde 15 dakika inkübe edildi. İnkubasyon sonunda 85°C'de 5 dakika tutularak durdurulan reaksiyon sonunda elde edilen cDNA'lar spesifik amplifikasyon işleminde kullanıldı.

3.2.2.3. Viral Nükleik Asit Amplifikasyonu

Ticari cDNA sentez kiti (OneScript Plus, Applied Biological Materials Inc., Kanada) kullanılarak viral RNA komplementer DNA (cDNA)'ya dönüştürülmesini takibeden amplifikasyon aşamasında Vilcek ve ark.'nın (1994) bildirdiği virusun 5'UTR gen bölgesine yönelik primer çifti (sentetik oligonükleotit dizileri) kullanılarak spesifik PCR amplifikasyonu gerçekleştirildi (**Çizelge 3.2**). PCR amplifikasyonunda 12,5 mM MgCl₂ içeren ticari PCR mastermiksi (5xHot FIREPol, Solis BioDyne, Estonya) kullanıldığı için Vilcek ve ark. (1994) tarafından bildirilen amplifikasyon koşulları optimize edildi (**Çizelge 3.3**). Amplikonların görüntülenmesi amacıyla, 0,2µg/mL konsantrasyonunda (Safe View Fire Red, ABM, Kanada) nükleik asit boyası ilave edilerek 0,5XTBE (Tris Boric Acid-Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid) solüsyonu içinde %1,5'luk olarak hazırlanmış olan agarozda (Prona, Avrupa Birliği) elektroforez işlemi uygulandıktan sonra 288 bp büyüklüğündeki spesifik ürün bantları jel görüntüleme sistemi (UVP EC3W Darkroom, Cambridge, Birleşik Krallık) yardımıyla 100-3000 bp'lik DNA standardı (100bp DNA Ladder Plus, Hibrigen Biyoteknoloji, Türkiye) ile karşılaştırmak suretiyle incelendi. Negatif kontrol olarak DNase/RNase distile su, pozitif kontrol olarak laboratuvarımızda önceden pozitif olduğu belirlenerek dizin analizi ile konfirme edilen BVDV suşu kullanıldı.

Çizelge 3.2.. RT-PCR için kullanılan primerlerin dizin, nükleotit pozisyonu ve ampikon büyüklüğü (Vikek ve ark. 1994)

Primer	Dizin (5'-3')	Pozisyon	Ampikon Büyüklüğü
BVD-324	ATGCCCWTAGTAGGACTAGCA	108-128	288 bp
BVD-326	TCAACTCCATGTGCCATGTAC	395-375	

Çizelge 3.3. RT-PCR protokolü.

Başlangıç denatürasyonu	95°C'de 15 dak.	35 siklus
Denatürasyon	95°C'de 30 sn	
Bağlanma	56°C'de 30 sn	
<u>Uzama</u>	72°C'de 30 sn	

3.2.3. İndirekt Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Örneklenen manda serumlarında pestivirus (BVDV/BD) spesifik antikorlarının varlığı, anti-NS23 monoklonal antikorları kaplı ticari bir indirekt ELISA kiti (CIVTEST Bovis BVD/BD P80 blocking ELISA, Hipra Laboratories, İspanya) kullanılarak üretici firmanın kit kılavuzunda belirttiği şekilde test edildi. ELISA pleytinin kontroller dahil tüm gözlerinde 100µL son sulandırma hacmi olacak şekilde 1/10 oranında sulandırma solüsyonu ile sulandırılan serum örnekleri ve kontroller 37°C'de 1 saat inkubatörde inkubasyona bırakıldı. Süre sonunda 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı ve pleyt gözleri dikkatli bir şekilde kurutuldu. Tüm gözlere konjugat solüsyonundan 100µL eklenerek 37°C'de 1 saat inkubatörde inkubasyona bırakıldı. Yıkama ve pleyt gözlerinin kurutma aşamaları tekrar edildikten sonra tüm gözlere 100µL substrat solüsyonu eklendi ve karanlık ortamda oda ısısında (18-25°C) 15 dakika bekletildi. İnkubasyondan sonra tüm gözlere 100µL “Reaksiyon durdurma (Stop)” solüsyonu eklenerek 450nm dalga boyunda ELISA okuyucuda optik dansite değerleri okutuldu. Sonuçlar, kit kılavuzunda belirtilen matematiksel yöntem kullanılarak aşağıda gösterilen formülasyon göre hesaplandı (**Çizelge 3.4**).

Çizelge 3.4. ELISA sonuçlarının değerlendirme formülü

(+) kontrol: $\text{PK}_1 \text{ OD}_{450} + \text{PK}_2 \text{ OD}_{450} \div 2$	$\% \text{ IN} = \frac{\text{NK OD}_{450} - \text{Serum OD}_{450}}{\text{NK OD}_{450}} \times 100$
(-) kontrol: $\text{NK}_1 \text{ OD}_{450} + \text{NK}_2 \text{ OD}_{450} \div 2$	
$\leq 50\%$	Negatif
$\geq 50 - \leq 80\%$	Şüpheli
$\geq 80\%$	Pozitif

3.2.4. İstatistiksel Analizler

Pestivirus seroprevalansı üzerine işletme tipi (karma/manda), yaş ve cinsiyet etkisinin belirlenmesinde Pearson Ki-Kare analizi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler frekans yüzde olarak gösterildi. İstatistik olarak anlamlı fark sınırı $p < 0,05$ olarak belirlendi. İstatistiksel analizlerde SPSS 23.0 paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. PCR Bulguları

Sağlıklı görünümlü mandalardan alınan kan ve genital sürüntü örneklerinin hiçbirinde pestivirus nükleik asidi tespit edilmedi.

4.2. Serolojik Bulgular

Araştırmada örneklenen 150 mandadan 84'ünde (%56) virus spesifik antikor varlığı saptandı. İşletme düzeyindeki seropozitiflik oranı %94,4 (17/18) ve tüm işletmeler arasında %0-100 arasında değiştiği belirlendi (Çizelge 4.1).

Karma yetiştiricilik yapan işletmelerde seropozitiflik oranları %14,3-100 ve sadece manda yetiştiriciliği yapan işletmelerdeki seropozitiflik oranları ise %0-100 arasında değişmekteydi (Çizelge 4.1). Karma ve tek tip (sadece manda) yetiştiricilik yapan işletmelerin aynı seropozitiflik oranlarına (%56) sahip olduğu belirlendi (Çizelge 4.2).

Yaşlara göre seropozitiflik oranları 3-<6 aylık grupta %45,7; ≥ 6 aylık grupta %59,1'di (Çizelge 4.2).

Dişi hayvanların %58 (47/81)'i ve erkek hayvanların %53,6 (37/69)'sında virus spesifik antikor varlığı gösterildi (Çizelge 4.2).

Araştırmada; işletme tipi, yaş ve cinsiyetin pestivirus seropozitifliği üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. İşletme tipi ve cinsiyete göre seropozitiflik düzeylerinin dağılımı

Sürü Sayısı	Manda Sayısı	İşletme Tipi	Cinsiyet Dağılımı		Seropozitivite % (n)
			Dişi	Erkek	
1	8	Karma	6	2	25 (2)
2	10	Karma	9	1	50 (5)
3	6	Manda	3	3	50 (3)
4	5	Manda	3	2	80 (4)
5	7	Karma	3	4	14,3 (1)
6	11	Karma	6	5	54,5 (6)
7	2	Manda	-	2	0 (-)
8	19	Manda	9	10	15,8 (3)
9	15	Karma	7	8	33,3 (5)
10	5	Karma	4	1	100 (5)
11	10	Karma	7	3	80 (8)
12	6	Karma	3	3	100 (6)
13	1	Manda	1	-	100 (1)
14	2	Manda	-	2	100 (2)
15	7	Manda	2	5	100 (7)
16	1	Karma	-	1	100 (1)
17	8	Manda	5	3	100 (8)
18	27	Karma	13	14	63 (17)
Toplam	150		81	69	56 (84)

Çizelge 4.2. Pestivirus seropozitifliğinin işletme tipi, yaş ve cinsiyet gruplarına göre istatistiksel değerlendirilmesi.

	Seropozitif % (n)	p
İşletme Tipi		
Manda	56 (28/50)	0,999
Karma (Manda+Sığır)	56 (56/100)	
Yaş		
3-6 ay	45,7 (16/35)	0,161
6 aydan büyük	59,1 (68/115)	
Cinsiyet		
Dişi	58 (47/81)	0,588
Erkek	53,6 (37/69)	
Toplam	56 (84/150)	

5. TARTIŞMA

Pestivirus enfeksiyonları sığırlarda yüksek prevalansa ve sığır yetiştiriciliğinde ekonomik öneme sahip viral patojenlerden birisidir (Nettleton ve Entrican 1995). Bununla birlikte, koyun, keçi, domuz, manda, geyik, alpaka gibi 40'dan fazla türde de antikör (Mishra ve ark. 2007) ve virus varlığının belirlenmiş olması nedeniyle sığırlarda pestivirus enfeksiyonlarının kontrolüne yönelik tehditleri etkili bir şekilde yönetmek için diğer enfeksiyon kaynaklarının da aktif olarak araştırılması gerekir (Evans ve Reichel 2021).

Dünyada ve ülkemizde sığırlarda (Burgu ve ark. 2003, Oğuzoğlu ve ark. 2010, Alpay ve ark. 2014, Oğuzoğlu ve ark. 2019), koyunlarda (Çokçalışkan 2000, Schiefer ve ark. 2006, Oğuzoğlu ve ark. 2009, Alpay ve ark. 2014, Eiras ve ark. 2017, Evans ve ark. 2018), keçilerde (Schiefer ve ark. 2006, Oğuzoğlu ve ark. 2009, Alpay ve ark. 2014, Cirone ve ark. 2018, Doğan ve ark. 2021), develerde (Wentz ve ark. 2003, Erol ve ark. 2020, Ataseven ve ark. 2022) ve mandalarda (Mishra ve ark. 2007, Gür ve Akça 2008, Albayrak ve ark. 2012, Soltan ve ark. 2015, Evans ve ark. 2016, Ülgenalp 2022) pestivirus enfeksiyonlarının varlığına yönelik çok sayıda serolojik, virolojik ve moleküler metotlarla gerçekleştirilmiş araştırma bulunmaktadır. BVDV seroprevalansını; Gonzales-Bautista ve ark. (2021) Kolombiya'da %42,5; Tesfaye ve ark. (2021) Etiyopya'da %80,82; Deng ve ark. (2015) Çin'de süt sığırlarında %89,49, etçi sığırlarda %63,27 ve mandalarda %14,18 olarak bildirmiştir. Ürdün'de hayvan bazında %31,6 ve sürü düzeyinde %80,7 (Talafta ve ark. 2009), Şili'de hayvan bazında %3,5 ve sürü düzeyinde %77 (Alocilla ve Monti 2022); Kuzey Etiyopya'da hayvan bazında %26,84, sürü düzeyinde ise %68,3 olarak rapor edilmiştir (Demil ve ark. 2021). Ülkemizde sığır popülasyonlarında enfeksiyonun prevalansının %100'e ulaştığı bildirilmesine karşın, küçük ruminantlarda %3,1-90,2 arasında değişen geniş bir prevalans aralığında olduğu rapor edilmiştir (Alkan ve ark. 1997, Burgu ve ark. 2003, Gür ve ark. 2009, Özcan ve ark. 2012, Alpay ve ark. 2014, Özgünlük ve Yıldırım 2017, Alpay ve ark. 2018, Doğan ve ark. 2021). Alkan ve ark. (1997), kamu işletmelerindeki süt sığırlarında yaptıkları çalışmada hayvan bazında %62 ve sürü düzeyinde %21,4-100 arasında değişen seropozitiflik oranları bildirmişlerdir. Çabalar ve Karaoğlu (1999), Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesindeki kamu işletmeleri halk elinde yetiştirilen süt sığırlarında NPLA tekniğini kullanarak gerçekleştirdikleri serolojik çalışmada hayvan bazında %96,8, sürü düzeyinde %80-100 arasında değişen seroprevalans oranları saptamışlardır. Burgu ve ark. (2003), Türkiye'nin farklı

bölgelerindeki süt sığırcılığı işletmelerinden yaptıkları araştırmada işletmelere göre seropozitiflik oranlarını %0.6-70.0 ve sürü düzeyinde %100 olarak belirlemişlerdir. Tan ve ark. (2006), Aydın ili ve çevresinde süt sığırcılığı işletmelerinin tamamında enfeksiyonun varlığı tespit etmiş, işletmeler bazında % 44-100, bölge genelinde ise %86 seropozitiflik saptamışlardır.

Ülkemizde mandalarda pestivirus prevalansına yönelik sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır (Gür ve Akça 2008, Albayrak ve ark. 2012, Ülgenalp 2022). Gür ve Akça (2008) tarafından manda yetiştiriciliğinin yapıldığı 8 ilden (Afyon, Samsun, Amasya, Elazığ, Tokat, Ankara, Konya ve Sivas) 452 adet manda kan örneğinde PLA testi ile BVDV antijen, mikronötralisasyon testi ile de antikor varlığı araştırılmıştır. Araştırma sonucunda farklı titrelerde %56,8 seropozitiflik belirlenmesine karşın BVDV antijen varlığı saptanmamıştır (Gür ve Akça 2008). Diğer çalışmada, Samsun ilinde mandalarda infertilite ve abort bulguları bildirilen 82 mandadan örneklenen kan serumlarında BVDV-spesifik antikor varlığı araştırılmış ve %68,3 seropozitiflik oranı rapor edilmiştir (Albayrak ve ark. 2012). Ülkemizde bugüne değin virolojik olarak mandalarda pestivirus varlığının ve genotiplendirmesinin gerçekleştirildiği tek araştırmada atık manda fötusundan izole edilen virus suşu *Pestivirus D* tipi içinde klasifiye edilmiştir (Ülgenalp 2022). Dünya genelinde de mandalarda yapılan çok sayıda serolojik ve virolojik çalışma bulunmaktadır. Hindistan'da yapılan çalışmada 11 Hint mandası ve 3 sığırdan BVDV-1b ve BVDV-1c alt tiplerinin varlığı ve filogenetik analizlerle manda ve sığır suşları arasında yakın ilişki olduğu gösterilmiştir (Mishra ve ark. 2007). Mingala ve ark. (2009), Filipinler'de mandalarda ilk defa BVDV virusunun varlığını rapor etmişlerdir. Soltan ve ark. (2015)'ı Mısır'ın İsmailiye eyaletinde 190 süt sığırı ve 108 manda kan örneğinden 21 adet sığır (işletme bazında %5,8-17,2) ve 10 adet manda (işletme bazında %8,7-9,7) olmak üzere toplam 31 adedinde (%10,4) BVDV-1b suşunu saptamışlardır. 2017 yılında Arjantin'de Brezilya sınırına yakın 12 çiftlikte pestiviruslara karşı aşılanmamış mandaların yarısının yüksek titrede Hobi-like ve düşük titrede BVDV-1a, BVDV-1b ve BVDV-2 spesifik nötralizan antikor varlığına sahip olduğu rapor edilmiştir (Pecora ve ark. 2017). Hindistan'da yapılan bir serolojik araştırmada sığırların %15,3'ü ve mandaların %23,2'sinde BVDV spesifik antikor varlığı saptanmıştır (Sudharshana ve ark. 1999). Arjantin'de ortak yaşam alanını paylaşan sığır ve mandalarda yapılan bir çalışmada hem BVDV-1 hem de BVDV-2 için mandalarda %84,2, sığırlarda %100 seropozitiflik olduğu, seronegatif olan mandalarda ise persiste enfeksiyonun varlığı ortaya koyulmuştur (Craig ve ark. 2015). Avusturalya'nın Kuzey bölgesinde ortak yaşam

alanını paylaşan 245 adet manda ve 184 adet sığırdan toplanan serumlarda mandalarda %4,5, sığırlarda %74,5 oranında seropozitiflik bildirilmiştir (Evans ve ark. 2016). Brezilya’da 14 farklı sürüden 24 aylıktan büyük 136 dişi mandadan toplanan serum örneklerinde BVDV yönünden seropozitiflik %8 bulunmuştur (Fernandes ve ark. 2016). 2016 yılında İran’ın farklı 9 bölgesinden 513 adet manda örneklemeğinde %32,6 oranında seropozitiflik bildirilmiştir (Lotfi ve ark. 2016). Brezilya’da 8 ayrı bölgeden toplanan 244 adet manda kan serumunda virus nötralizasyon tekniği ile gerçekleştirilen serolojik çalışmada %97,9 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (Soares ve ark. 2017). Nepal’de sığırlar ve mandalarda antijen ELISA tekniği kullanılarak gerçekleştirilen virolojik araştırmada sığırlarda işletme düzeyinde %6,7, bireysel olarak %1,7 prevalans saptanmasına karşın, mandalarda BVDV antijeni belirlenememiştir (Gaire ve ark. 2016). Bu tez çalışmasında, örneklenen manda popülasyonunda pestivirus seroprevalansı hayvan bazında %56, sürü bazında %94,4 olarak belirlenmesine karşın, kan ve sürüntü örneklerinin hiçbirinde pestivirus nükleik asiti saptanmadı. Genel olarak işletme düzeyindeki seropozitiflik oranları %0-100 arasındaydı. Yüksek seroprevalans oranına rağmen virus tespit edilememesi örneklenen popülasyonda hem persiste hem de örnekleme zamanında akut subklinik bir enfeksiyonun olmadığını göstermektedir. Sürü içinde persiste enfekte hayvanların varlığı, sürü yönetimi uygulamaları, ortak mera kullanımı, sürü büyüklüğü, hayvan panayırıları, işletmeye yeni hayvan girişi, yaş grubu ve yönetim uygulamaları (zayıf çiftlik hijyeni) bölgeler ve ülkeler arasında BVDV enfeksiyonunun prevalansı etkileyen faktörler olarak tanımlanmaktadır (Houe ve ark. 1995, Talafha ve ark. 2009, Demil ve ark. 2021, Gonzales-Bautista ve ark. 2021). Bu tez çalışmasındaki sürü ve bireysel düzeydeki seroprevalans değerleri, ülkemizde veya dünyada mandalarda gerçekleştirilen bazı araştırmalarla uyum göstermesine karşın, ülkesel veya bölgesel bazda her örnekleme alanının farklı çevresel, ekonomik ve sosyal dinamiklere sahip olduğu da göz önünde bulundurulmalıdır.

Sığırlarla aynı ortamda yetiştirilen ve tüm sığırların hem BVDV-1 hem de BVDV-2’ye karşı seropozitif (%100) olduğu bir sürüde mandalarda persiste enfeksiyon ve %84,2 seropozitiflik bildirilmiştir (Craig ve ark. 2015). Sığır sürüleriyle temastaki deve popülasyonlarında da BVDV antikollarının varlığı rapor edilmiştir (Teskaye ve ark. 2021). Almeida ve ark. (2013)’ı Brezilya’da 300 sütçü sürüde yaptıkları araştırmada BVDV serolojik statüsü ile sürü büyüklüğü arasında önemli bağlantı olduğunu, ayrıca kontamine kıyafetler, ayakkabılar ve ekipman kaynaklı bulaşa neden olacağı için suni tohumlama ve işletmeye giren çok sayıdaki ziyaretçinin önemli risk faktörleri olduğunu rapor etmişlerdir.

Ayrıca, birçok infeksiyöz hastalıkta olduğu gibi sürüye karantina uygulanmaksızın ve test edilmeksizin kontrolsüz hayvan girişleri de başlıca risk faktörleri olarak değerlendirilmektedir (Fernandes ve ark. 2016, Alocilla ve Mondi 2022). Manda sürülerinde gerçekleştirilen araştırmalarda da aynı risk faktörleri tanımlanmıştır (Fernandes ve ark. 2016, Soares ve ark. 2017). Bu tez çalışmasında örneklenen mandaların yetiştirilme tipi; tek manda ve karma (sığır+manda) işletme şeklindedir. Literatür bilgiye bakıldığında, seroprevalans çalışmalarının tür bazında incelendiği ve dolayısıyla özellikle karma işletmelerde sığırlardaki ve mandalardaki seropozitifliklerin türe özgü ayrı ayrı değerlendirildiği görülmektedir. Bu çalışmada her ne kadar karma işletmelerdeki mandalar örneklenmiş ve sığırlar değerlendirilmeye alınmamış olsa da toplam örnek sayısı üzerinden bir değerlendirme yapıldığında karma işletmelerde bulunan mandalarda seropozitiflik oranının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Bu veriler ışığında, halk elindeki açık sistem entansif manda işletmelerinden örneklem yapılması ve her iki grupta da seropozitiflik saptanması nedeniyle manda işletmelerindeki enfeksiyonun varlığının örneklem alanlarındaki tüm hayvanların ortak mera alanını paylaşmaları, işletmelere kontrolsüz hayvan alımı ve/veya biyogüvenlik önlemleri alınmaksızın ziyaretçi girişinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında, örneklenen hayvanlardan 47 dişi (%58) ve 37 erkek hayvanda (%53,6) virus spesifik antikor varlığı saptandı. Önceki araştırmalarda, inek ve boğa gruplarında seropozitifliğin istatistiksel olarak farklılık göstermediği ve cinsiyetin BVDV prevalansı üzerine etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Polak ve Zmudzinsk 1999, Mockeliuniene ve ark. 2004, Tesfaye ve ark. 2021). Bununla birlikte, doğum sayısına paralel olarak seropozitivite oranlarının da arttığı belirtilerek, doğum sayısının BVDV prevalansını etkileyen önemli bir parametre olduğu rapor edilmiştir (Tefaye ve ark. 2021). Bu tez çalışmasında, örneklenen popülasyondaki hayvanlar BVDV virusuna karşı aşılınmamış olup, reproduksiyonda doğal aşım yöntemi kullanılmaktadır. Dişi ve erkek mandalardaki seroprevalans oranlarında büyük farklılık saptanmamasına karşın dişi mandalarda göreceli olarak daha yüksek prevalans tespit edilmiş, ancak bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Bu tez çalışmasında örneklenen hayvanların çoğunluğu 6 aylıktan büyük hayvanlar olup, seropozitiflik oranı %59,1 olarak belirlenmiştir. Bu yaş grubundaki pozitifliğin, geçirilmiş bir doğal enfeksiyona ait olabileceği kanaatine varılmıştır. 6 aylıktan küçük hayvanlardaki antikorların ise maternal kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Önceki

araştırmalarda, BVDV enfeksiyonunda yaşın önemli bir risk faktörü olduğu bildirilmektedir (Almeida ve ark. 2013, Santman-Berends ve ark. 2017, Demil ve ark. 2021). Slovakya'da 6-12 aylık sığırlarda BVDV prevalansının %69 olduğu rapor edilmiştir (Vilcek ve ark. 2003). Kuzey Etiyopya'da süt sığırlarında BVDV seroprevalansını 6-12 aylıklarda %9,7; 1-2 yaşlılarda %26,8 ve 2 yaşının üzerindeki sığırlarda %42,3 olarak bildirilmiştir (Demil ve ark. 2021). Zhang ve ark. (2022), Çin'de süt sığırcılığı işletmelerinde yaptıkları araştırmada 4-6 aylık buzağılarda %41,75; 6-18 aylık gençlerde %58,75 ve 28 aylıktan büyük laktasyondaki ineklerde %77,25 oranlarında seroprevalans tespit etmişlerdir. Ülkemizde, İnce ve Sait (2022) tarafından süt sığırlarında gerçekleştirilen çalışmada 6 ay-2 yaşlı grupta %45,13; 2-5 yaşlı grupta %60,53 ve 5 yaşın üzerindeki ineklerde %73,07 olarak rapor edilmiştir. Yaşa bağlı olarak antikor prevalansındaki artış, hayvanların yaşamları boyunca enfekte olma (maruziyet) olasılıklarının yüksek olması ve enfeksiyonu geçirenlerde BVDV antikorlarının yarı ömrünün uzunluğu ile açıklanmaktadır (Mockeliuniene ve ark. 2004, Demil ve ark. 2021, Zhang ve ark. 2022).

6. SONUÇ

- ✓ Bu araştırmada, Hatay ilinde halk elinde yetiştirilen manda popölasyonunda yüksek pestivirus seropozitivitesinin belirlenmesi enfeksiyonun örneklenen manda popölasyonunda yüksek düzeyde sirküle olduğu göstermektedir. Pestivirus enfeksiyonlarının kontrol ve mücadelesinde türler arası bulaşın da önemli olması nedeniyle elde edilen veriler ileride gerçekleştirilecek araştırmalara ışık tutabilecektir. Bu araştırmadaki sonuçlar doğrultusunda, manda popölasyonunda pestivirus enfeksiyonlarının kontrol ve mücadelesinde;
- ✓ Tanı uygulamaları ile sürü içindeki persiste enfekte hayvanların tespit edilerek reforme edilmesi ve sonrasında sürünün belli aralıklarla taranması,
- ✓ Mandalarda persiste enfeksiyona karşı genetik yatkınlık veya direnç konularında çalışmaların yapılması,
- ✓ Mandalarda pestivirus enfeksiyonlarına ait antiijenik pozitiflik dünya literatüründe de sınırlı sayıda olup, bu çalışmada da virolojik yönden örnekleme yapılan mandalarda herhangi antiijen pozitifliği bulunmamıştır. Bu bağlamda, mandalarda pestivirus enfeksiyonlarına karşı ırk direnci konusunun aydınlatılabilmesi için ileri araştırmaların yapılması önerilmektedir.
- ✓ Yeni alınan hayvanların test edilerek kontrolleri yapıldıktan ve uygun süre karantinada tutulduktan sonra ana sürüye katılması,
- ✓ İşletmelerde optimum düzeyde biyogüvenlik tedbirlerinin uygulanması,
- ✓ Manda ve sığırların ayrı ortamlarda yetiştiriciliğinin yapılması,
- ✓ Sığırlarda kullanılan aşıların mandalarda da korunma protokollerine eklenmesi önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Albayrak H, Özcan E, Beyhan YE, Kurt M, Kılıçoğlu Y. A Serological Investigation of Some Aetiological Agents Associated with Abortion in Domestic Water Buffalo (*Bubalus bubalis* Linnaeus, 1758) in Samsun Province of Northern Turkey. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, **2012**, s. 7(3): 155-160.
2. Alkan F, Özkul A, Karaoğlu MT, Bilge S, Akça Y ve ark. Sığırlarda viral nedenli solunum sistemi enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **1997**, s. 44:1-8.
3. Almeida LL, Miranda IC, Hein HE, Neto WS, Costa EF ve ark. Herd-level risk factors for bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds from Southern Brazil. *Research in Veterinary Science*, **2013**, s. 95:901-907.
4. Alocilla OA ve Monti G. Bovine Viral Diarrhoea Virus within and herd prevalence on pasture-based dairy systems, in southern Chile dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine*, **2022**, s. 198:105533.
5. Alpay G, Tuncer P, Yeşilbaş K. Bir ada ekosistemindeki sığır, koyun ve keçilerde bazı viral enfeksiyonların serolojik olarak araştırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2014**, s. 61, 43-48.
6. Alpay G, Öner EB, Yeşilbaş K. Seroepidemiology and molecular investigation of pestiviruses among sheep and goats in Northwest Anatolia. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **2018**, s. 42: 205-210.
7. Anderson EC ve Rowe LW. The prevalence of antibody to the viruses of bovine virus diarrhoea, bovine herpes virus 1, Rift Valley fever, ephemeral fever and bluetongue and to *Leptospira* sp in free-ranging wildlife in Zimbabwe. *Epidemiology and Infection*, **1998**, s. 121: 441-449.
8. Ataseven VS. Sığırların viral diyare virus enfeksiyonu: Sürü sağlığı perspektifinden kontrol ve eradikasyon stratejileri. İç: Sütçü Sürülerde Sürdürülebilir Sürü Sağlığında Primer Öne Sahip Hastalıklar, Epidemiyoloji, İzleme ve Eradikasyon Stratejileri. 1nd Ed., Türkiye Klinikleri, Ankara, **2021**, s. 46-53.
9. Ataseven VS, Gürel K, Pestil Z, Ambarcıoğlu P, Doğan F ve ark. BVDV, BHV-1 and BLV antibodies in dromedary camels of Turkey kept without and with ruminants. *Tropical Animal Health and Production*, **2022**, s. 27;54(1):27.
10. Barber DML, Nettleton PF ve Herring JH. Disease in a dairy herd associated with introduction and spread of bovine virus diarrhoea virus. *The Veterinary Record*, **1985**, s. 117: 459-464.
11. Baszler TV, Zvermann JF, Kaylor PS, Byington TC ve Dilbeck PM. Diagnosis of naturally occurring bovine viral diarrhoea virus infections in ruminants using monoclonal antibody-based immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*, **1995**, s. 32: 609-618.
12. Becher P, Orlich M, Shannon AD, Horner G, König M ve ark. Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants. *Journal of General Virology*, **1997**, s. 78: 1357-1366.
13. Bezek DM. Bovine virus diarrhoea virus infection: Individual and herd diagnosis. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, **1995**, s. 17: S57-S63.
14. Bielefeldt-Ohmann H, Jensen MH, Sorensen KJ ve Dalsgaard K. Experimental foetal infection with bovine viral diarrhoea virus. 1. *Virological and serological studies. Canadian Journal of Comparative Medicine*, **1982**, s. 46: 357-362.
15. Bitsch V ve Ronsholt L. Control of bovine viral diarrhoea virus infection without vaccines. *Veterinary Clinics of North America*, **1995**, s. 11; 627-640.
16. Bolin SR, McClurkin AW, Cutlip RC ve Coria MF. Response of cattle persistently infected with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus to vaccination for viral diarrhoea and subsequent challenge exposure with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research*, **1985a**, s. 46: 2467-2470.
17. Bolin SR, McClurkin AW ve Coria MF. Frequency of persistent bovine viral diarrhoea virus infection in selected cattle herds. *American Journal of Veterinary Research*, **1985b**, s. 46: 2385-2389.
18. Bolin SR, McClurkin AW ve Coria MF. Effects of bovine viral diarrhoea virus on the percentages and absolute numbers of circulating B and T lymphocytes in cattle. *American Journal of Veterinary Research*, **1985c**, s. 46(4): 884-886.
19. Bolin SR, McClurkin AW, Cutlip RC ve Coria MF. Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus by superinfection with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research*, **1985d**, s. 46: 573-578.
20. Bolin SR. Viral and viral protein specificity of antibodies induced in cows persistently infected with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus after vaccination with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research*, **1988**, s. 49: 1040-1044.

21. **Bolin SR, Moennig V, Gourley NE, Ridpath J.** Monoclonal antibodies with neutralizing activity segregate isolates of bovine viral diarrhoea virus into groups. *Archives of Virology*, **1988**, s. 99: 117-123.
22. **Bolin SR ve Ridpath JF.** Specificity of neutralizing and precipitating antibodies induced in healthy calves by monovalent modified-live bovine viral diarrhoea virus vaccines. *American Journal of Veterinary Research*, **1989**, s. 50: 817-821.
23. **Bolin SR ve Ridpath JF.** Range of viral neutralizing activity and molecular specificity of antibodies induced in cattle by inactivated bovine viral diarrhoea virus vaccines. *American Journal of Veterinary Research*, **1990**, s. 51: 703-707.
24. **Bolin SA, Littledike BT ve Ridpath JP.** Serologic detection and practical consequences of antigen diversity among bovine viral diarrhoea viruses in a vaccinated herd. *American Journal of Veterinary Research*, **1991**, s. 52: 1033-1037.
25. **Bolin SR.** Immunogens of bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Microbiology*, **1993**, s. 37: 263-271.
26. **Bolin SR.** Control of bovine viral diarrhoea infection by use of vaccination. *Veterinary Clinics of North America*, **1995a**, s. 11: 615-625.
27. **Bolin SR.** The pathogenesis of mucosal disease. *Veterinary Clinics of North America*, **1995b**, s. 11: 489-500.
28. **Brinkhof J, Zimmer G ve Westenbrink F.** Comparative study on four enzyme-linked immunosorbent assays and a cocultivation assay for the detection of antigens associated with the bovine viral diarrhoea virus in persistently infected cattle. *Veterinary Microbiology*, **1996**, s. 50: 1-6.
29. **Brock KV.** Diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Veterinary Clinics of North America*, **1995**, s. 11: 549-562.
30. **Brownlie J, Clarke MC, Hooper Lb. ve Bell GD.** Protection of the bovine foetus from bovine viral diarrhoea virus by means of a new inactivated vaccine. *The Veterinary Record*, **1995**, s. 137: 58-62.
31. **Burgu İ, Alkan F, Özkul A, Yeşilbağ K, Karaoğlu T ve ark.** Türkiye’de süt sığırcılığı işletmelerinde BVDV enfeksiyonunun epidemiyolojisi ve kontrolü. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2003**, s. 50: 127-133.
32. **Cherry BR, Reeves MJ ve Smith G.** Evaluation of bovine viral diarrhoea virus control using a mathematical model of infection dynamics. *Preventive Veterinary Medicine*, **1998**, s. 33: 91-108.
33. **Cirone F, Cirone S, Trerotoli P, Buono R, Ciappetta G ve ark.** Cross sectional study for pestivirus infection in goats in southern Italy. *Small Ruminant Research*, **2018**, s. 12-16.
34. **Cortese VS, Whittaker R, Ellis J, Ridpath JF ve Bolin SA.** Specificity and duration of neutralizing antibodies induced in healthy cattle after administration of a modified-live virus vaccine against bovine viral diarrhoea. *American Journal of Veterinary Research*, **1998**, s. 59: 848-850.
35. **Cortese VS, Grooms DL, Ellis J, Bolin SR, Ridpath JF ve ark.** Protection of pregnant cattle and their fetuses against infection with bovine viral diarrhoea virus type 1 by use of a modified-live virus vaccine. *American Journal of Veterinary Research*, **1998**, s. 59: 1409-1413.
36. **Craig MI, König GA, Benitez DF, Draghi MG.** Molecular analyses detect natural coinfection of water buffaloes (*Bubalus bubalis*) with bovine viral diarrhoea viruses (BVDV) in serologically negative animals. *Revista Argentina de Microbiologia*, **2015**, s. 47(2): 148-151.
37. **Çabalar M ve Karaoğlu T.** Sığırlarda bovine viral diarrhoea (BVD) virus enfeksiyonuna karşı antikor varlığının araştırılmasında nötralizasyon immunoperoxidaz (NPLA) ve serum nötralizasyon (SN) testlerinin karşılaştırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **1999**, s. 46: 249-255.
38. **Çokçalışkan C.** Gebe koyunlar ve fetüslerinde pestivirus enfeksiyonu. *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, **2000**.
39. **Demil E, Fentie T, Vidal G, Jackson W, Lane J ve ark.** Prevalence of bovine viral diarrhoea virus antibodies and risk factors in dairy cattle in Gondar city, Northwest Ethiopia. *Preventive Veterinary Medicine*, **2021**, s. 191: 105363.
40. **Deng M, Ji S, Fei W, Raza S, He C ve ark.** Prevalence study and genetic typing of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in four bovine species in China. *PLoS One*, **2015**, s. 10: e0121718.
41. **Depner K, Hubschle OJ ve Liess B.** Prevalence of ruminant pestivirus infections in Namibia. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **1991**, s. 58: 107-109.
42. **Deregt D, Masri SA, Cho HJ, Bielefeldt-Ohmann H.** Monoclonal antibodies to the p80/125 and gp53 proteins of bovine viral diarrhoea virus: Their potential use as diagnostic reagents. *Canadian Journal of Veterinary Research*, **1990**, s. 54: 343-348.
43. **Deregt D, Van-Rijn PA, Wiens T.Y. ve Van Den Hürk J.** Monoclonal antibodies to the E2 protein of a new genotype (type 2) of bovine viral diarrhoea virus define three antigenic domains involved in neutralization. *Virus Research*, **1998**, s. 57: 171-181.

44. Doğan F, Ataseven VS, Ergün Y. Türkiye’de Doğu Akdeniz İllerindeki Sütçü Keçi İşletmelerinde Pestivirus Enfeksiyonlarının Seroprevalansı. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 2021, s. 32: 45-49.
45. Donis RO ve Dubovi EJ. Molecular specificity of the antibody responses of cattle naturally and experimentally infected with cytopathic and noncytopathic of bovine blotypes of bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus. *Virology*, 1987, s. 158: 168-173.
46. Dubovi EJ. *Genetic diversity and BVD virus. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 1992, s. 15: 155-162.
47. Edwards S, Wood L, Hewitt-Taylor C ve Drew TW. Evidence for an immunocompromising effect pestivirus on bovid herpesvirus 1 vaccination. *Veterinary Research Communications*, 1986, s. 10: 297-302.
48. Ellis JA, West Kh, Cortest VS, Myers SL, Carman S ve ark. Lesions and distribution of viral antigen following an experimental infection of young seronegative calves with virulent bovine virus diarrhoea virus-type II. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 1998, s. 62: 161-169.
49. Elvander M, Baule C, Persson M, Egyed L, Ballagi-Pordany A ve ark. An experimental study of a concurrent primary infection with bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in calves. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1998, s.39: 251-264.
50. El-Kholy AA, Bolin SR, Ridpath JF, Arab RM, Abou-Zeid AA ve ark. Use of polymerase chain reaction to simultaneously detect and type bovine viral diarrhoea viruses isolated from clinical specimens. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 1998, s. 17(3): 733-742.
51. Eiras CM, Vina M, Fernandez D, Martinez S, Dieguez FJ. Border disease-like clinical signs in sheep caused by a BVDV-2 type d. *British Veterinary Association*, 2017, s. 5: 478.
52. Erol N, Gür S, Koç BT, Yavru S. A serological investigation of Bovine enterovirus-1, Bovine herpesvirus-1, Bovine viral diarrhoea virus, and Parainfluenza-3 infections in camels in Western Turkey. *Veterinaria Italiana*, 2020, s. 56: 257-262.
53. Evans CA, Cockcroft PD, Reichel MP. Antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in water buffalo (*Bubalus bubalis*) and cattle from the Northern Territory of Australia. *Australian Veterinary Journal*, 2016, s. 94: 423-426.
54. Evans CA, Pinior B, Larska M, Graham D, Schweizer M ve ark. Global knowledge gaps in the prevention and control of bovine viral diarrhoea (BVD) virus. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2018, s. 66: 640-652.
55. Evans CA ve Reichel MP. Non-bovine species and the risk to effective control of bovine viral diarrhoea (BVD) in cattle. *Pathogens*, 2021, s. 10: 1263
56. Fernandes LG, Pimenta CLRM, Pituco EM, de Lima Brasil AW, de Azevedo SS. Risk factors associated with BoHV-1 and BVDV seropositivity in buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the State of Paraíba, Northeastern Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 2016, s. 37: 1929-1936.
57. Fischer S, Weiland E ve Frolich K. Characterization of a bovine viral diarrhoea virus isolated from roe deer in Germany. *Journal of Wildlife Disease*, 1998, s. 34: 47-55.
58. Fray MD, Prentice H, Clarke MC ve Charleston B. Immunohistochemical evidence for the localization of bovine viral diarrhoea virus, a single-stranded RNA virus, in ovarian oocytes in the cow. *Veterinary Pathology*, 1998, s. 35: 253-259.
59. Frolich K ve Hofmann M. Isolation of bovine viral diarrhoea virus-like pestiviruses from roe deer (*Capreolus capreolus*). *Journal Wildlife Diseases*, 1995; s. 31: 243-246.
60. Frolich K ve Flach EJ. Long-term viral serology of semi-free-living and captive ungulates. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 1998, s. 29: 165-170.
61. Frolich K ve Streich WJ. Serologic evidence of bovine viral diarrhoea virus in free-ranging rabbits from Germany. *Journal of Wildlife Disease*, 1998, s. 34: 173-178.
62. Fulton RW, Johnson BJ, Briggs RE, Ridpath JF, Saliki JT ve ark. Challenge with Bovine viral diarrhoea virus by exposure to persistently infected calves: protection by vaccination and negative results of antigen testing in nonvaccinated acutely infected calves. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 2006, s. 70: 121-27.
63. Gaire TN, Karki S, Karna AK, Khanal DR, Steneroden K ve ark. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds of Nepal. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2016, s. 11: 434-440.
64. Givens MD, Galik PK, Riddell KP, Brock KV ve Stringfellow DA. Quantity and infectivity of embryo-associated bovine viral diarrhoea virus and antiviral influence of a blastocyst impede in vitro infection of uterine tubal cells. *Theriogenology*, 1999, s. 52: 887-900.
65. Givens MD, Galik PK, Riddell KP ve Stringfellow DA. Uterine tubal cells remain uninfected after culture with in vitro-produced embryos exposed to bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Microbiology*, 1999, s. 70: 7-20.
66. Givens MD ve Marley MS. Immunology of chronic BVDV infections. *Biologicals*, 2013, s. 41: 26-30.

67. **González-Bautista EDD, Bulla-Castañeda DM, Lopez-Buitrago HA, Díaz-Anaya AM, Lancheros-Buitrago DJ ve ark.** Seroprevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in cattle from Sotaquirá, Colombia. *Veterinary Animal Science*, **2021**, s. 14: 100202.
68. **Graham DA, McLaren IE ve German A.** Evaluation of the suitability of a commercial bovine viral diarrhoea virus antigen capture ELISA for diagnostic testing. *Veterinary Journal*, **1998**, s. 156: 149-154.
69. **Grooms DL, Ward LA ve Brock KV.** Morphologic changes and immunohistochemical detection of viral antigen in ovaries from cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research*, **1996**, s. 57: 830-833.
70. **Grooms DL.** Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **2004**, s. 20: 5-19.
71. **Gruber AD, Hewicker-Trautwein M, Liess B ve Trautwein, G.** Brain malformations in ovine fetuses associated with the cytopathogenic biotype of bovine viral diarrhoea virus. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, **1995**, s. B42: 443-447.
72. **Gür S, Erol N, Yapıcı O.** Afyon, Konya ve Eskişehir İllerinde Keçilerde Pestivirus ve Parainfluenzavirus Tip 3 Enfeksiyonlarının Serolojik Olarak Araştırılması. *Kocatepe Veterinary Journal*, **2009**, s. 2: 23-27.
73. **Gür S ve Akça Y.** IBR/IPV and Rinderpest's seroepidemiology at BVD seropositive buffaloes. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2008**, s. 55: 45-50.
74. **Hamers C, Lhcomte C, Kulcsar G, Lambot M ve Pastoret PP.** Persistently infected cattle stabilize bovine viral diarrhoea virus leading to herd specific strains. *Veterinary Microbiology*, **1998**, s. 61: 177-182.
75. **Horner GW, Tham KM, Orr D, Ralston J, Rowe S 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**, s. 43: 75-84.
76. **Houe H.** Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **1995**, s. 11: 521-548.
77. **Houe H, Baker JC, Maes AK, Lloyd JW ve Enevoldsen C.** Comparison of the prevalence and incidence of infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in Denmark and Michigan and association with possible risk factors. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **1995**, s. 36: 521-531.
78. **Howard CJ, Brownlie J ve Clarke MC.** Comparison by the neutralisation assay of pairs of non-cytopathogenic and cytopathogenic strains of bovine virus diarrhoea virus isolated from cases of mucosal disease. *Veterinary Microbiology*, **1987**, s. 13: 361-869.
79. **Hyera JMK, Liess B, Andersen E ve Hirji KN.** Prevalence of antibodies to bovine viral diarrhoea virus in some wild ruminants in northern Tanzania. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*, **1992**, s. 40: 143-151.
80. **İnce ÖB ve Sait A.** Molecular and serological investigation of bovine viral diarrhoea virus in dairy cattle in Konya province. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, **2022**, s. 7: 80-88.
81. **Innocent G, Morrison L, Brownlie J ve Gettinby G.** A computer simulation of the transmission dynamics and the effects of duration of immunity and survival of persistently infected animals on the spread of bovine viral diarrhoea virus in dairy cattle. *Epidemiology and Infection*, **1997**, s. 119: 91-100.
82. **International Committee of Virus Taxonomy (ICTV) Reports.** Flaviviridae-Genus: Pestivirus. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/flaviviridae/361/genus-pestivirus (Erişim: 06.10.2022).
83. **Kelling CL ve Topliff CL.** Bovine maternal, fetal and neonatal responses to bovine viral diarrhoea virus infections. *Biologicals*, **2013**, s. 41: 20-25.
84. **Kirkland PD, McGowan MR, Mackintosh SG ve Moyle A.** Insemination of cattle with semen from a bull transiently infected with pestivirus. *The Veterinary Record*, **1997**, s. 140: 124-127.
85. **Kommisrud E, Vatn T, Lang-Ree JR ve Løken T.** Bovine virus diarrhoea virus in semen from acutely infected bulls. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **1996**, s. 37: 41-47.
86. **Larsson B, Traven M, Hulten C, Hard-Af-Segerstad C, Belak K ve ark.** Serum concentrations of thyroid hormones in calves with a transient or persistent infection with bovine viral diarrhoea virus. *Research in Veterinary Science*, **1995**, s. 52: 186-189.
87. **Lobmann M, Charlier P, Klassen CL ve Zygraich N.** Safety of a temperature-sensitive vaccine strain of bovine viral diarrhoea virus in pregnant cows. *American Journal of Veterinary Research*, **1986**, s. 47: 557-561.
88. **Løken T.** Ruminant pestivirus infections in animals other than cattle and sheep. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **1995**, s. 11: 597-614.
89. **Lotfi MA, Morteza KB, Navidpour SC, Javadi SD.** Seroepidemiological Assay of Water Buffalo (Bubalus Bubalis) Enzootic Pneumonia Agents (BVDV, BHV-1, bPI3V) in Khuzestan Province of Iran. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*, **2016**, s. 3: 213-216.

90. **Ludemann Lr ve Katz JB.** Enzyme-linked immunosorbent assay assessment of bovine viral diarrhoea virus antigen in inactivated vaccines using polyclonal or monoclonal antibodies. *Developments in Biological Standardization*, **1996**, s. 86: 337.
91. **Markham RJF ve Ramnaraine ML.** Release of immuno suppressive substances from tissue culture cells infected with bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research*, **1985**, s. 46: 879-881.
92. **Martin S, Berlinski P ve Guimond P.** Evaluation of various BVDV isolates to induce protection against challenge with virulent BVDV 890. In *Proceedings of the Conference Research Workers in Animal Diseases*, **1994**, s. 75: 183.
93. **Marshall DJ, Moxley RA ve Kelling CL.** Distribution of virus and viral antigen in specific pathogen-free calves following inoculation with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Pathology*, **1996**, s. 33: 311-318.
94. **McClurkin AW, Littledike ET, Cutlip RC, Frank GH, Coria MF ve ark.** Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, **1984**, s. 48: 156-161.
95. **Meehan JT, Lehigh HD, Cutlip RC ve Bolin SA.** Acute pulmonary lesions in sheep experimentally infected with bovine viral diarrhoea virus. *Journal of Comparative Pathology*, **1998**, s. 119: 277-292.
96. **Mingala CN, Konnai S, Tajima M, Onuma M, Ohashi K.** Classification of new BVDV isolates from Philippine water buffalo using the viral E2 region. *Journal of Basic Microbiology*, **2009**, s. 49: 495-500.
97. **Mishra N, Dubey R, Galav V, Tosh C, Rajukumar K ve ark.** Identification of Bovine Viral Diarrhoea Virus type 1 in Indian buffaloes and their genetic relationship with cattle strains in 5'UTR. *Current Science*, **2007**, s. 9: 97-100.
98. **Mockeliuniene V, Salomskas A, Mockeliunas R, Petkevicius S.** Prevalence and epidemiological features of bovine viral diarrhoea virus infection in Lithuania. *Veterinary Microbiology*, **2004**, s. 99, 51-57.
99. **Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ.** Flaviridae. İç: *Veterinary Virology*, **1999**; 3rd ed. New York: Academic Press.
100. **Nagele MJ.** Outbreak of mucosal disease among apparently immunotolerant heifers. *The Veterinary Record*, **1984**, s. 115: 496-499.
101. **Nettleton PF ve Entrican G.** Ruminant pestiviruses. *British Veterinary Journal*, **1995**, s. 151: 615-42.
102. **Oguejiofor CF, Thomas C, Cheng Z, Wathes DC.** Mechanisms linking bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection with infertility in cattle. *Animal Health Research Reviews*, **2019**, s. 20: 72-85.
103. **Oğuzoğlu TÇ, Tan MT, Toplu N, Demir AB, Dagalp SB ve ark.** Border disease virus (BDV) infections of small ruminants in Turkey: A new BDV subgroup. *Veterinary Microbiology*, **2009**, s. 374-379.
104. **Oğuzoğlu TÇ, Muz D, Yılmaz V, Alkan F, Akça Y ve ark.** Molecular characterization of bovine virus diarrhoea viruses species 2 (BVDV-2) from cattle in Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, **2010**, s. 42: 1175-1180.
105. **Oğuzoğlu TÇ, Koç BT, Coşkun N, Doğan F, Duran-Yelken S.** Endless variety for bovine virus diarrhoea viruses: new members of a novel subgroup into Pestivirus A from Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, **2019**, s. 51: 1083-1087.
106. **Olafson P, MacCallum AD, Fox A.** "An apparently new transmissible disease of cattle." *Cornell Vet.* **1946**, s. 36:205-213. Alıntı: Goens, D. "The evolution of bovine viral diarrhoea: a review." *Canadian Veterinary Journal*. **2002**, s. 43: 946-954.
107. **Özan E, Turan H, Albayrak H, Cavunt A.** Serological determination of pestivirus, bluetongue virus and peste des petits ruminants virus in small ruminants in Samsun province of Turkey. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, **2012**, s. 7: 27-33.
108. **Özgünlük İ ve Yıldırım Y.** Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki Sığırlarda Bovine Herpes Virus 1 (BHV 1) ve Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Enfeksiyonlarının Serolojik Olarak Araştırılması. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2017**, s. 6: 152-157.
109. **Paton DJ, Sands JJ, Roche PM.** BVD monoclonal antibodies: Relationship between viral protein specificity and viral strain specificity. *Archives of Virology* **1991**, s. S3: 47-54.
110. **Pecora A, Pérez Aguirreburualde MS, Malacari DA, Zabal O, Sala JM ve ark.** Serologic evidence of HoBi-like virus circulation in Argentinean water buffalo. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **2017**, s. 29: 926-929.
111. **Polak MP ve Zmudzinski JF.** Prevalence of bovine viral diarrhoea virus infection in bulls in artificial insemination centers in Poland. *Veterinary Microbiology*, **1999**, s. 64:253-257.
112. **Potgieter LND, McCracken MD, Hopkins, FM ve Guy JS.** Comparison of the pneumo-pathogenicity of two strains of bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research*, **1985**, s. 46: 151-153.
113. **Potgieter LND.** *Bovine viral diarrhoea*. İç: *Veterinary Diagnostic Virology*. Mosby Year Book, Missouri, **1992**, s. 88-92.

114. **Potgieter LND.** Immunology of bovine viral diarrhoea virus. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **1995**, s. 11: 501-520.
115. **Potgieter LND.** Bovine viral diarrhoea and mucosal disease. İç: *Infectious Diseases of Livestock*. 2nd Ed., Oxford University Press, Southern Africa, **2004**, s. 86: 946-969.
116. **Ramsey FK ve Chivers WH.** "Mucosal disease of cattle." *North Am Vet.* **1953**, s. 34: 629-633. Alıntı: Goens, D. "The evolution of bovine viral diarrhoea: a review." *Canadian Veterinary Journal*, **2002**, s. 43: 946-954.
117. **Sandvik T ve Krogsrud J.** Evaluation of an antigen-capture ELISA for detection of bovine viral diarrhoea virus in cattle blood samples. *Journal of Diagnostic Investigation*, **1995**, s. 7: 65-71.
118. **Santman-Berends IMGA, Mars MH, Van Duijn L, Van den Broek KWH, Van Schaik G.** A quantitative risk-analysis for introduction of Bovine Viral Diarrhoea Virus in the Netherlands through cattle imports. *Preventive Veterinary Medicine*, **2017**, s. 1: 103-113.
119. **Schiefer P, Krametter-Frötscher R, Schleiner A, Loitsch A, Goja F ve ark.** Seroprevalence of antibodies to ruminant pestiviruses in sheep and goats in Tyrol (Austria). *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **2006**, s. 113: 55-58.
120. **Soares LB, Silva BP, Borges JD, Oliveira JM, Macêdo AA ve ark.** Occurrence of Bovine Viral Diarrhoea (BVDV) and Bovine Infectious Rhinotracheitis (IBR) virus infections in buffaloes in Pernambuco state-Brazil. *Acta Scientiae Veterinariae*, **2017**, s. 45: 1-8.
121. **Soltan MA, Wilkes RP, Elsheery MN, Elhaig MM, Riley MC ve ark.** Circulation of bovine viral diarrhoea virus--1 (BVDV-1) in dairy cattle and buffalo farms in Ismailia Province, Egypt. *Journal of Infection in Developing Countries*, **2015**, s. 9: 1331-1337.
122. **Spagnuolo M, Weaver M, Allan GM, Kennedy S, Foster JC ve ark.** Distribution of cytopathic and noncytopathic bovine viral diarrhoea virus antigens in tissues of calves following acute experimental infection. *Journal of Diagnostic Investigation*, **1997**, s. 9: 287-297.
123. **Sudharshana KJ, Suresh KB, Rajasekhar M.** Prevalence of bovine viral diarrhoea virus antibodies in India. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, **1999**, s. 18: 667-671.
124. **Talafha AQ, Hirche SM, Ababneh MM, Al-Majali AM, Ababneh MM.** Prevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds in Jordan. *Tropical Animal Health and Production*, **2009**, s. 41: 499-506.
125. **Tan M, Karaoglu M, Erol N, Yıldırım Y.** Serological and virological investigations of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle herds in Aydın province. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **2006**, s. 30(3): 299-304.
126. **Tautz N, Meyers G ve Thiel HJ.** Pathogenesis of mucosal disease, a deadly disease of cattle caused by a pestivirus. *Clinical Diagnostic Virology*, **1998**, s. 10: 121-127.
127. **Taylor LF, Janzen ED ve Van Donkersgoed J.** Losses over a 2-year period associated with fetal infection with the bovine viral diarrhoea virus in a beef cow-calf herd in Saskatchewan. *Canadian Veterinary Journal*, **1997**, s. 38: 23-28.
128. **Taylor LF, Janzen ED, Ellis JA, Van Den Hurk JV ve Ward P.** Performance, survival, necropsy, and virological findings from calves persistently infected with the bovine viral diarrhoea virus originating from a single Saskatchewan beef herd. *Canadian Veterinary Journal*, **1997**, s. 38: 29-37.
129. **Tesfaye A, Omer A, Hussein A, Garoma A, Guyassa C ve ark.** Seroprevalence of Bovine Viral Diarrhoea Virus in Local Borana Cattle Breed and Camels (*Camelus dromedarius*) in Ethiopia. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, **2021**, s. 12: 141-148.
130. **Thur B, Hilbe M, Strasser M ve Ehrensperger F.** Immunohistochemical diagnosis of pestivirus infection associated with bovine and ovine abortion and perinatal death. *American Journal of Veterinary Research*, **1997**, s. 58: 1371-1375.
131. **Thur B, Zlinszky K ve Ehrensperger F.** Immunohistochemical detection of bovine viral diarrhoea virus in skin biopsies: A reliable and fast diagnostic tool. *Zentralblatt für Veterinärmedizin B*, **1996**, s. 43: 163-166.
132. **Timurkan MÖ ve Aydın H.** Increased genetic diversity of BVDV strains circulating in Eastern Anatolia, Turkey: first detection of BVDV-3 in Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, **2019**, s. 51(7): 1953-1961.
133. **Toplak Ivan, Hostnik Peter, Černe Danijela, Mrkun Janko, Starič Jože.** The Principles of the Voluntary Programme for the Control and Elimination of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) From Infected Herds in Slovenia. *Frontiers in Veterinary Science*, **2021**, s. 8: 676473.
134. **Tsuboi T ve Imada T.** Bovine viral diarrhoea virus replication in bovine follicular epithelial cells derived from persistently infected heifers. *Journal of Veterinary Medical Science*, **1998**, s. 60: 569-572.
135. **Tsuboi T ve Imada T.** Detection of BVDV in bovine embryos derived from persistently infected heifers by PCR. *The Veterinary Record*, **1998**, s. 142: 114-115.

136. Tsuboi T ve Imada T. Noncytopathogenic and cytopathogenic bovine viral diarrhea-mucosal disease viruses do not affect in vitro embryonic development into the blastocyst stage. *Veterinary Microbiology*, 1996, s. 49: 127-134.
137. Turk JA, Corstvet RE ve McClure JR. Synergism of bovine virus diarrhea virus and Pasteurella haemolytica serotype I in bovine respiratory disease complex: 1. Leukocyte alterations and pulmonary lesion volumes. In *Proceedings American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians Annual Meeting*, 1985, s. 28: 67-80.
138. Ülgenalp O. Ruminantları enfekte eden pestivirusların ayırıcı tanısı ve moleküler karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Ankara, 2022.
139. Van Rijn PA, Van Gennip HG, Leendertse CH, Bruschke CJ, Paton DJ ve ark. Subdivision of the pestivirus genus based on envelope glycoprotein E2. *Virology*, 1997, s. 237: 337-348.
140. Vanroose G, Nauwynck H, Van Soom A, Vanopdenbosch E ve De Kruif A. Replication of cytopathic and noncytopathic bovine viral diarrhea virus in zona-free and zona-intact in vitro-produced bovine embryos and the effect on embryo quality. *Biology of Reproduction*, 1998, s. 58: 857-866.
141. Vilcek S, Herring AJ, Herring JA, Nettleton PF, Lowings JP ve ark. Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Archives of virology*, 1994, s. 136.3: 309-323.
142. Vilcek S, Mojzisova JVB, Paulik S, Strojny L, Durkovic B ve ark. A survey for BVDV antibodies in cattle farms in Slovakia and genetic typing of BVDV isolates from imported animals. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2003, s. 51: 229-236.
143. Walz PH, Bell TG, Steficek BA, Kaiser L, Maes RK ve ark. Experimental models of type II bovine viral diarrhea virus-induced thrombocytopenia in neonatal calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1999, s. 11: 505-514.
144. Walz PH, Grooms D, Passler T, Ridpath J, Tremblay R ve ark. Control of Bovine Viral Diarrhea Virus in Ruminants. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2010, s. 24: 476-486.
145. Welsh MD, Adair BM ve Foster JC. Effect of BVD virus infection on alveolar macrophage functions. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1995, s. 46: 195-210.
146. Wentz PA, Belknap EB, Brock KV, Collins JK ve Pugh DG. Evaluation of bovine viral diarrhea virus in New World camelids. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2003, s. 223 2, 223-228.
147. Wilhelmssen CL, Bolin SR, Ridpath JF, Cheville NF ve Kluge JP. Experimental primary postnatal bovine viral diarrhea viral infections in six-month-old calves. *Veterinary Pathology*, 1990, s. 27: 235-243.
148. Yeşilbağ K, Alpay G, Tuncer P. Bir süt sığırcılığı işletmesinde Bovine Viral Diarrhoea (BVD) Virus Enfeksiyonunun Kontrol ve Eliminasyonu. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2012, s. 31 (1), 1: 11-17.
149. Yeşilbağ K, Alpay G, Becher P. Variability and global distribution of subgenotypes of bovine viral diarrhea virus. *Viruses* 2017, s. 9: 128.
150. Zhang K, Zhang J, Qiu Z, Zhang K, Liang F ve ark. Prevalence characteristic of BVDV in some large scale dairy farms in Western China. *Frontiers in Veterinary Science*, 2022, s. 9: 961337.
151. Zimmer GM, Van Maanen C, De Goey I, Wentink GH, Brinkhof J. The effect of maternal antibodies on the detection of bovine virus diarrhoea virus in peripheral blood samples. *Veterinary Microbiology*, 2004, s. 100: 145-149.

EKLER

EK - 1

ETİK BEYAN

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Hatay İlinde Halk Elinde Yetiştirilen Mandalarda Pestivirus Enfeksiyonunun Virolojik ve Serolojik Metotlarla Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler ve yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim. / / 2022

Veteriner Hekim Zeki DALYAN
Yüksek Lisans Öğrencisi

EK - 2

Evrak Tarih ve Sayısı: 18/08/2020-E.36849

GİZLİ



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı :40595970-020-
Konu :Prof. Dr. Veysel Soydal
ATASEVEN

**SAYIN PROF.DR. VEYSEL SOYDAL ATASEVEN
ÖĞRETİM ÜYESİ**

İlgi : 12/08/2020 tarihli 14783637-020-35735 sayılı yazı.

Kurulumuzun 24/06/2020 tarihli toplantısında almış olduğu 2020/04-26 numaralı karar aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. İlker YAVAŞ
Kurul Başkanı

KARAR 2020/04-26 Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Veysel Soydal ATASEVEN'in (Viroloji AD) yürütücüsü olduğu ve Veteriner Hekim Zeki DALYAN'ın (Sağlık Bilimleri Enst.) ortak çalışmaları "*Hatay İlinde Halk Elinde Yetiştirilen Mandalarda Sığırların Viral Diyare virus (BVDV) Enfeksiyonunun Prevalansının Araştırılması*" adlı proje Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına oybirliğiyle karar verilmiştir.

Mevcut Elektronik İmzalar

İLKER YAVAŞ (Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu - Kurul Başkanı) 18/08/2020 14:19

GİZLİ

T: F:
E-Posta : Web:
İletişim: Hükümet Ardılı (Dahili: 3262455845)



ÖZGEÇMİŞ

İlk ve Orta öğrenimini Antakya’da tamamladı. 2009 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldu. Evli ve iki çocuk babasıdır. 2011 yılından beri Tarım ve Orman Bakanlığında çalışmaktadır. 2019 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı.

