

EJONS

International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Sciences

(Uluslararası Fen, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Dergisi)

<https://ejons.org/index.php/ejons>

e-ISSN: 2602 - 4136

Research Article

Doi: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14583194>**Marmara Bölgesinde Koyunlardan Alınan Abort Ve Postnatal Örneklerde Viral Etkenlerin (Pestivirus, Mavidil ve Akabane Virus) Araştırılması**Züleyha PESTİL ¹, Hakan BULUT ²¹ Viroloji Laboratuvarı, Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, İstanbul, Türkiye² Viroloji Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ, Türkiye

zuleyhapestil41@gmail.com

Makale Tarihiçesi

Geliş: 25.10.2024

Kabul: 12.12.2024

Anahtar KelimelerPestivirus,
Mavidil virus,
Akabane virus,
Koyun,
Seroloji,
RT-PCR,
qRT-PCR,
Filogeni

Öz: Bu çalışmada Marmara Bölgesindeki koyunlarda görülen abort ve postnatal olgularda, ülkemizde en önemli viral atık etkenleri olarak kabul edilen pestiviruslar, mavidil virus (BTV) ve Akabane virus (AKAV) varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla Marmara Bölgesinde 2012-2014 yıllarına ait 12 farklı ilde serum, abort ve postnatal örnekler toplandı. Enzim ilintili immünosorbent deneyi (ELISA) neticesinde koyun kan serum örneklerinin % 67'sinde (800/1200) pestivirus, % 38.7'sinde (465/1200) BTV ve % 0.08'inde (1/1200) ise AKAV spesifik antikorlar tespit edilmiştir. Pestivirus tersine transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) neticesinde toplam 103 postnatal örneğin 23'ünde (% 23.33) ve 178 atık fötüs örneğinin ise 34'ünde (% 19.10) pestivirus pozitifliği belirlenmiştir. Bu neticelere göre, toplam 281 klinik örneğin 57'sinde (% 20.28) pestivirus pozitifliği saptanmıştır. İncelenen klinik örneklerin hiçbirinde BTV ve AKAV spesifik RNA varlığı tespit edilememiştir. Sonuç olarak, Marmara Bölgesinde abortlar ve postnatal ölümlerde pestivirusların yüksek prevalansı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar dikkate alınarak, Marmara Bölgesinde pestiviruslara karşı aşılama başta olmak üzere diğer kontrol-mücadele metotlarının ivedilikle uygulanması önerilmektedir.

Atıf Künyesi: Pestil, Z., ve Bulut, H. (2024). Marmara Bölgesinde Koyunlardan Alınan Abort ve Postnatal Örneklerde Viral Etkenlerin (Pestivirus, Mavidil ve Akabane Virus) Araştırılması, EJONS International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Sciences 8(4):538-552. How To Cite: Pestil, Z., ve Bulut, H. (2025). Synthesis, Investigation of The Viruses (Pestivirus, Bluetongue and Akabane Virus) in Abortion and Postnatal Samples from Sheep in Marmara Region, EJONS International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Sciences 8(4) page 538-552.

Investigation of The Viruses (Pestivirus, Bluetongue and Akabane Virus) in Abortion and Postnatal Samples from Sheep in Marmara Region**Article Info**

Received: 25.10.2024

Accepted: 12.12.2024

Abstract: In this study, the detection of presence of pestiviruses, bluetongue (BTV) and Akabane virus (AKAV), which are accepted to be the most important viral abort agents in Turkey, from the aborted and postnatal specimens is aimed. The samples were collected from 12 provinces at Marmara area. Of 1200 sheep serum samples, 800 (67 %), 465 (38.7 %) and 1 (0.08) were detected to be seropositive by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for pestivirus, BTV and AKAV, respectively. The

Keywords

Pestivirus,
Bluetongue virus,
Akabane virus,
Sheep,
Serology,
RT-PCR,
qRT-PCR,
Phylogeny

presence of pestivirus RNA was detected by reverse transcription- polymerase chain reaction of (RT-PCR) into 23 of 103 (23.3 %) postnatal specimens and 34 (19.1 %) of 178 aborted fetus samples. Therefore, pestivirus was detected in 57 (20.28 %) of total 281 clinical specimen. BTV and AKAV specific RNA's were not detected in any of clinical specimens. In conclusion, there's a high prevalence of pestivirus prevalence among abortions and postnatal deaths in Marmara region. According to the results, we suggest immediately application of vaccination and other prevention and control methods against pestiviruses in Marmara region.

1. Giriş

Koyun yetiştiriciliğinde, işletme devamlılığı ve ekonomik kapasitesinin sürekliliği için, her koyundan sağlıklı yavru alınması oldukça önemlidir. Ayrıca atık yapan koyunlarda süt veriminin olmaması da ekonomik açıdan önemlidir. Bu bakımdan gebeliğin şekillenmesi kadar, gebeliğin devamının sağlanması ve sağlıklı kuzuların elde edilmesi bir yetiştiricinin en önemli beklentisidir. Virus kaynaklı transplasental enfeksiyonların yol açtığı fetal ve embriyonik ölümler, ekonomik bir yetiştiriciliğin devamlılığının sağlanması önündeki problemlerin başında yer almaktadır (Menzies, 2011; Givens ve Marley, 2008; Garcia ve ark., 2009). Genel olarak ruminantlardaki fetal ve embriyonik ölüm vakaları incelendiğinde, bu vakalarda metabolik ve hormonal bozukluklar, beslenme yetersizlikleri, travma, zehirlenmeler, idiyopatik (sebebin belirlenemediği olgular) ve enfeksiyöz ajanlar gibi çok çeşitli sebepler karşımıza çıkmaktadır (Givens ve Marley, 2008). Bu nedenle, fetal ve embriyonik ölümlerin sebeplerini tek nedene bağlamak veya bu vakaların etiolojisini belirlemek oldukça zordur. Yapılan çalışmalarda fetal ve embriyonik ölüm vakalarının yaklaşık % 5'inde fungal, % 11'inde viral, % 15'inde bakteriyel ve % 17'sinde etiyojisi belirlenemeyen enfeksiyöz etkenler tespit edilmiştir. Kalan yaklaşık % 50'sinin ise idiyopatik olduğu bildirilmiştir (Menzies, 2011; Yaeger, 1993). Viruslar dışındaki enfeksiyöz etkenler (örn. *Brucella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Coxiella burnetii*, *Chlamydophila abortus*) her yıl önemli sayıda fetal ve embriyonik ölümlere neden olmalarına rağmen, sporadik seyrettikleri ve sürü içerisinde yayılım göstermedikleri için yetiştiricilik için sınırlı düzeyde problem oluştururlar (Yaeger, 1993). Fetal ve embriyonik ölümlere sebep olan viral etkenlerin önemli özelliği sürü içinde hızla yayılması ve gebeliğin farklı evrelerinde intrauterin veya transplasental enfeksiyon sonucu, gelişmekte olan yavruda etkenin alındığı evreye bağlı olarak değişen (embriyonik ölümler, mumifikasyon, maserasyon, anomalili yavru doğumu, zayıf yavru doğumu, persiste enfekte yavru doğumu) bir dizi bozukluklara neden olmalarıdır. Bu bakımdan virusların sebep olduğu transplasental enfeksiyonlar genel olarak sürü sağlığını etkilemektedir (Yaeger, 1993). Türkiye'de koyunlarda görülen abortlarda bakteriyel etiyojinin araştırılmasına yönelik birçok çalışmaya rastlanmıştır (Çetinkaya ve ark., 1999; Duman ve Durak, 1998; Erganiş ve ark., 2002; Güler ve ark., 2003; Güler ve ark., 2006 Öngör ve ark., 2004; Sareyyüpoğlu ve ark., 2010; Muz ve ark., 1999). Ancak koyunlarda direkt abort olgularında viral etiyojinin araştırılmasına yönelik bu çalışmada konu edilen viruslar için az sayıda çalışma tespit edilmiştir (Menzies, 2011; Givens ve Marley, 2008; Albayrak ve ark., 2012; Hofmann ve ark., 2008). Dünyada koyunlarda görülen virus kaynaklı enfeksiyonların başlıcaları Akabane, Mavidil, Pestivirusdur (Givens ve Marley, 2008; Garcia ve ark., 2009; Albayrak ve ark., 2012; Hofmann ve ark., 2008; Horner ve ark., 1995; Hurtado ve ark., 2009; Kobayashi ve ark., 2007; Maclachlan ve ark., 2009; Wilson ve ark., 2009). Bu çalışmada Marmara Bölgesindeki koyunlarda görülen abort ve postnatal ölümlerde ülkemizde en önemli viral atık etkenleri olarak kabul edilen pestiviruslar, mavidil virusu (BTV) ve Akabane virusu (AKAV) varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Örnekler

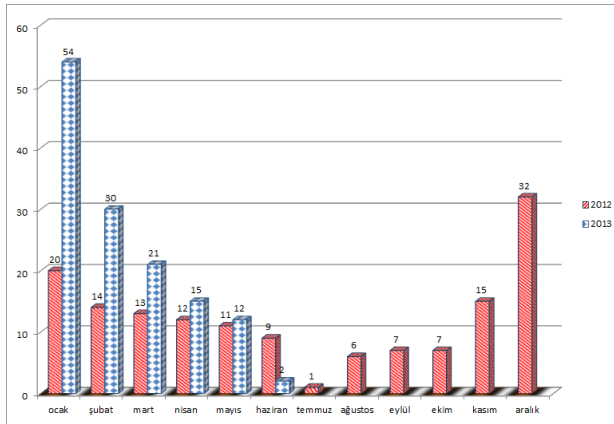
Marmara Bölgesinde bulunan bölgenin genel durumunu yansıtabilecek şekilde 12 ilden aşılammamış 6 ayılığın üzerindeki 1200 adet koyundan, tesadüfi örnekleme ile kan örnekleri toplandı. Kan serumu örneklerinin alındığı iller Tablo 1'de liste halinde verildi.

Tablo 1. Kan serumu örneklerinin illere göre dağılımı

| Marmara Bölgesi İlleri | Koyun Mevcudu | İlin bölge geneline oranı (%) | Test Edilen Örnek Sayısı |
|------------------------|----------------|-------------------------------|--------------------------|
| Balıkesir | 592440 | 29 | 300 |
| Ç. Kale | 393893 | 19 | 200 |
| Bursa | 252589 | 12 | 155 |
| Kırklareli | 214741 | 10 | 130 |
| Tekirdağ | 182684 | 9 | 90 |
| Edirne | 163049 | 8 | 90 |
| İstanbul | 70459 | 3 | 50 |
| Bilecik | 66877 | 3 | 32 |
| Kocaeli | 58355 | 3 | 30 |
| Sakarya | 46977 | 2 | 63 |
| Yalova | 15118 | 1 | 50 |
| Düzce | 10543 | 1 | 10 |
| TOPLAM | 2067725 | 100 | 1200 |

*Hayvan sayıları Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)'ndan temin edilmiştir.

Çalışılacak materyal sayısını tespit etmek için; % 99 güven aralığı ve % 5 hata payı dikkate alınmıştır. Ayrıca, çalışmanın yapıldığı Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsüne bağlı 12 il genelinde daha önce prevalans çalışması yapılmadığından tahmini prevalans % 50 olarak alınmış ve örnek büyüklüğü 663 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada bu örnek büyüklüğünün yaklaşık iki katı örnek test edilmesi tercih edilmiştir. Viral Teşhis Materyalleri olarak Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, viral teşhis laboratuvarına gelen koyun atık fötüs, karaciğer, akciğer, dalak, lenf yumruları, tiroid, böbrek, kas doku ve beyin doku örnekleri toplandı. Ayrıca çalışma kapsamında, doğumu takip eden ilk iki günde ölen yavruya ait yukarıda ifade edilen organ örnekleri alındı. Örneklerin yıllara ve aylara göre dağılımları ise Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Viral örneklerin yıllara ve aylara göre dağılımı

Çalışmada, Referans Viruslar olarak; pestivirus tespiti için BVDV referans NADL suşu Elazığ, Fırat Üniversitesi Viroloji Anabilim Dalı virus koleksiyonundan temin edildi. Mavidil pozitif kontrol olarak, Etlik Veteriner Kontrol Enstitüsü'nden temin edilen mavidil serotip-4 aşısı virusu tercih edildi. AKAV için RT-PCR çalışmalarında pozitif kontrol olarak Pendik Araştırma Enstitüsü Viral Teşhis Laboratuvarında mevcut olan virus kullanıldı.

Yöntem

Kan serumlarından pestivirus, Mavidil ve Akabane antikorlarının varlığı ticari ELISA test kitleri (BVD/MD/BDV p80 Protein Antikor ELISA IDEX İsviçre /Mavidil VP7 Antikor c-ELISA, IDEX, İsviçre/ Akabane Antikor ELISA ID Vet. Fransa) ile üretici firmanın prosedürüne göre, test edildi. Serum örneklerinin optik dansitesi (OD) ELISA okuyucu cihazda belirlenerek sonuçlar ELISA kiti prosedürüne göre değerlendirildi ve kaydedildi. Doku örneklerinin ve pozitif kontrol viruslarının RNA ekstraksiyonları

yapıldı. (High Pure Viral Nükleik Acid Kit Roche, Almanya) Pestivirus, BTV ve AKAV pozitif örnekler ile birlikte negatif örnek kontrolü olarak da steril distile su çalışmaya dahil edilerek optimizasyonları sağlandı. Pestivirus tespitinde Wilcek ve ark. ile McGoldrick ve ark. tarafından bildirilen yöntemler modifiye edilerek kullanıldı (Vilcek ve ark; 1997; McGoldrick ve ark., 1999). Kısaca, ön çalışmalarda konvansiyonel RT-PCR protokolü uygulanmıştır. Ancak, sonraki çalışmalarda gerek zaman gerekse maliyet hesaplamaları dikkate alınarak, ayrıca kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak için nested RT-PCR’da kullanılan primerlerin ortak karışımı ile hazırlanan dubleks RT-PCR tekniği tercih edilmiştir.

Akabane RT-PCR, ticari olarak Qiagen OneStep RT-PCR kiti (Qiagen, Almanya) tek primer çifti kullanılarak gerçekleştirildi (Akashi ve ark., 1997). Akabane virus kontrol kullanılarak RT-PCR ticari Qiagen kitinin deteksiyon limiti tespit edildi ve kit sonraki çalışmalar için optimize edildi.

BTV virus genomunun Segment 1 (VP1) bölgesini çoğaltmak ve göstermek için, Anthony Shaw ve ark. ’nın bildirdiği yöntem kullanıldı (Shaw ve ark; 2007). Real-time RT-PCR amplifikasyonu (Realttime ready RNA Virus Master Kit Roche, Almanya) ve tespiti Realttime PCR cihazı ile Roche yapıldı.

RT-PCR sonuçlarının ek doğrulanması ve daha detaylı epidemiyolojik veri elde etmek amacıyla pestivirus RT-PCR pozitif amplifikasyon ürünlerinin bir bölümü sekanslatıldı. Bu amaçla, pestivirus RT-PCR pozitif 57 örnekten tesadüf olarak seçilen 10 adet örnek için sekanslama gerçekleştirildi. Elde edilen dizilimler önce ClustalW programı ile bileştirildi ve bu dizilimler BLAST programında, virusların sekanslatıldığı gen bölgelerini içeren gen bankasındaki dizilimler ile kıyaslatıldı. Daha sonra, bu dizilimlerin filogenetik ağacı PHYLIP dizilim programında neighbour-joining metodu kullanılarak, 0.75 maksimum sekans uzaklığına (Max Seq Difference) göre belirlendi.

3. Bulgular ve Tartışma

Serolojik teşhis amacıyla test edilen toplam 1200 koyun kan serum örneğinden 800 adedinde (% 67) pestivirus spesifik antikorlar, 465 adedinde (% 38.7) BTV’a spesifik antikorlar ve bir adedinde (% 0.08) ise AKAV’a spesifik antikorlar tespit edilmiştir. AKAV, ELISA test sonuçlarının confirmasyonu amacıyla, pozitif olarak tespit edilen serum örneğine ilave olarak, test örnekleri içinde tesadüf olarak seçilen toplam 100 serum örneği ikinci kez ELISA ile test edildi. Bu tekrar testi sonucundada, pozitif tespit edilen tek örnek haricinde, diğer örneklerde seronegatiflik teyit edilmiştir. ELISA sonuçlarına göre, üç virusa karşı elde edilen antikor pozitifliği dağılımları Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3. Test edilen koyun kan serumu antikor sonuçları

| Viruslar | Negatif | | Pozitif | | Toplam Örnek Sayısı n |
|---------------------------|---------|------|---------|------|--------------------------|
| | n | % | n | % | |
| Pestivirus Antikor | 400 | 33 | 800 | 67 | 1200 |
| Mavidil Antikor | 735 | 61.3 | 465 | 38.7 | 1200 |
| Akabane Antikor | 1199 | 99.9 | 1 | 0.08 | 1200 |

Klinik örneklerle gerçekleştirilen RT-PCR’a ait agaroz jel elektroforez görüntüleri Şekil 1 (Birinci adım RT-PCR) ve Şekil 2 (Dubleks RT-PCR)’da verilmiştir. Araştırmada, 2012 ve 2013 yıllarında örneklenen toplam 281 postnatal örnek ve atık fötüs materyalleri değerlendirilmiştir. 2012 yılında toplam 147 örnekteki 45 postnatal örneğin 8 adedinde (% 17.8) pestivirus nükleik asidi tespit edilirken, 2013 yılında örneklenen 134 materyalden 58 postnatal örneğin 15 adedinde (% 25.86) pestivirus nükleik asidi saptanmıştır.

2012 yılında toplam 102 atık fötüsün 17 adedinde (% 17.64), 2013 yılında 76 atık fötüsün 17 adedinde (% 22.36) pestivirus nükleik asidi tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, yıllar dikkate alınmaksızın, toplam 103 postnatal örneğin 23 (% 23.33)’ünde ve 178 atık fötüs örneğinin ise 34 (% 19.10)’ünde pestivirus pozitifliği tespit edilmiştir. Sonuç olarak toplam 281 örneğin 57 (% 20.28)’inde pestivirus genom pozitifliği saptanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Pestivirus yönünden incelenen doku materyallerinin örneklediği yıl ve klinik neticesine göre dağılımları

| Örnek Alınan Yıllar | Postnatal Örnek | | Atık Fötüs | | Toplam |
|---------------------|-----------------|---------------------|------------|--------------------|------------|
| | Toplam | Pozitif | Toplam | Pozitif | |
| 2012 | 45 | 8 (% 17.8) | 102 | 17 (% 17.64) | 147 |
| 2013 | 58 | 15 (% 25.86) | 76 | 17(% 22.36) | 134 |
| Genel Toplam | 103 | 23 (% 22.33) | 178 | 34(% 19.10) | 281 |

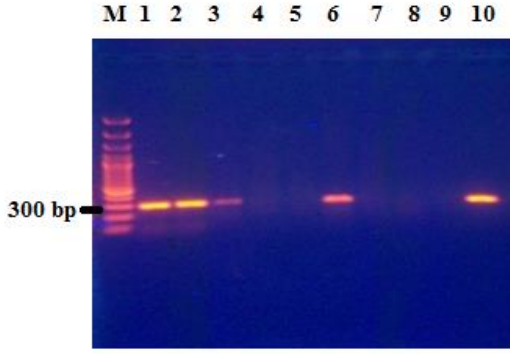
Klinik örneklerde AKAV RNA'sının tespitine yönelik RT-PCR işlemine geçilmeden önce kontrol virus RNA örnekleri ile gerçekleştirilen çalışma neticesinde RT-PCR'in deteksiyon limiti yaklaşık 100 viron olarak tespit edildi. Mavidil virusunun deteksiyon limiti ise firma tarafından bildirildiği kadarı ile yaklaşık 20 virion olarak kaydedilmiştir.

Mavidil virus ve AKAV için pozitif virus kontrolleri ile yapılan çalışmalarda beklenen amplifikasyon ürünleri tespit edilmesine rağmen, çalışmada test edilen klinik örneklerin hiçbirinde BTV ve AKAV nükleik asidi tespit edilememiştir. Elde edilen PCR sonuçları Tablo 5'da özetlenmiştir. AKAV'a ait agaroz jel elektroforez görüntüleri ile BTV real-time RT-PCR sonuçları Şekil 3 ve Şekil 4'da verilmiştir.

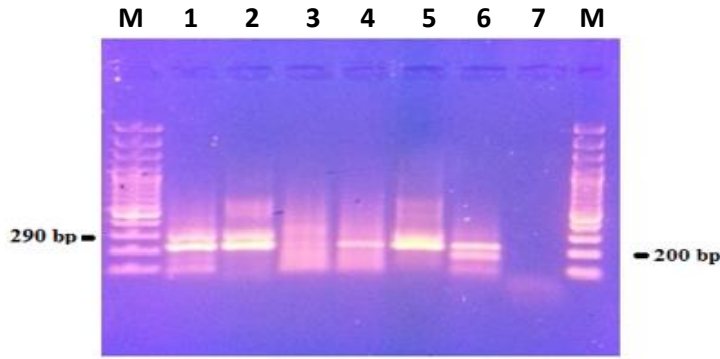
RT-PCR sonuçlarına göre pestivirus pozitif olarak tespit edilen 10 örneğin çift primerlerle sekans dizilimlerinin ClustalW programında bileştirilmesi neticesinde 6 örneğin yaklaşık % 100 doğrulukla bileştirilmesi sağlandı. Bu nedenle, filogenetik analizde bu 6 örnek değerlendirilmeye alındı. Değerlendirilmeye alınan 6 örnekten dördüne ait dizilimlerin BLAST programında gen dizilimleri ile kıyaslanması neticesinde bu dizilimin BVDV-1'in 5'-UTR bölgeleri ile % 94-98 oranında benzerliği tespit edildi. PHYLIP dizilim programında, neighbour-joining metodu kullanılarak, 0.75 maksimum sekans uzaklığına göre filogenetik analizi neticesinde bu örneklerin BVDV-1 olduğu teyit edildi. Bu dört örnekten birine ait (2013/TR/EDRN.1) filogenetik analiz Şekil 11'de sunulmuştur. Değerlendirilmeye alınan 6 örnekten ikisine ait dizilimlerin BLAST programında ve filogenetik analizinde ise bu örneklerin BDV olduğu tespit edildi. BDV olarak tespit edilen örneklerden birine ait filogenetik analizi Şekil 5'de verilmiştir. ClustalW programında bileştirilmesi % 60-80 oranında gerçekleştirilen ve bu nedenle de filogenetik analizi yapılamayan kalan dört örneğin birleştirilen dizilimlerinin BLAST sonuçları bunların pestivirus olduklarını ortaya koymuştur.

Tablo 5. Doku örneklerinin pestivirus yönünden illere göre dağılımı

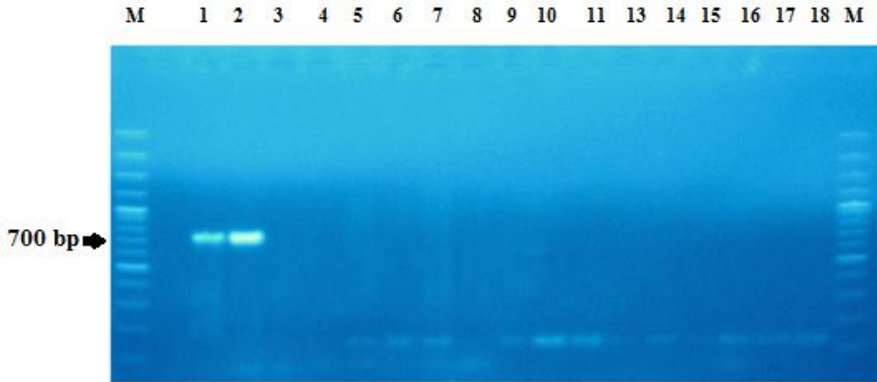
| İller | Örnek Alınan | 2012 | | 2013 | | Toplam |
|---------------------|--------------|-------------|----------------|--------------|----------------|---------------|
| | | Kuzu +/n | Atık fötüs +/n | Kuzu +/n | Atık fötüs +/n | |
| Balikesir | | 1/9 | 5 /16 | 2/7 | 1/14 | 9/46 |
| Çanakkale | | 2/4 | 3/13 | 0/5 | 3/5 | 8/27 |
| Bursa | | 0/2 | 3/8 | 2/2 | 1/7 | 6/19 |
| Kırklareli | | 2/5 | 2/13 | 2/10 | 2/9 | 8/37 |
| Tekirdağ | | 1/1 | 1/0 | 2/2 | 1/1 | 5/4 |
| Edirne | | 0/4 | 1/14 | 5/6 | 5/7 | 11/31 |
| İstanbul | | 1/4 | 0/6 | 1/5 | 1/2 | 3/17 |
| Bilecik | | 0/1 | 0/1 | 0/0 | - | 0/2 |
| Kocaeli | | 0/7 | 1/8 | 1/5 | 1/3 | 3/23 |
| Sakarya | | 1/0 | 1/4 | 0/0 | 0/0 | 2/4 |
| Yalova | | 0/0 | 0/1 | 0/0 | 0/1 | 0/2 |
| Düzce | | 0/0 | 0/1 | 0/1 | 2/10 | 2/12 |
| Genel Toplam | | 8/37 | 17/85 | 15/43 | 17/59 | 57/224 |



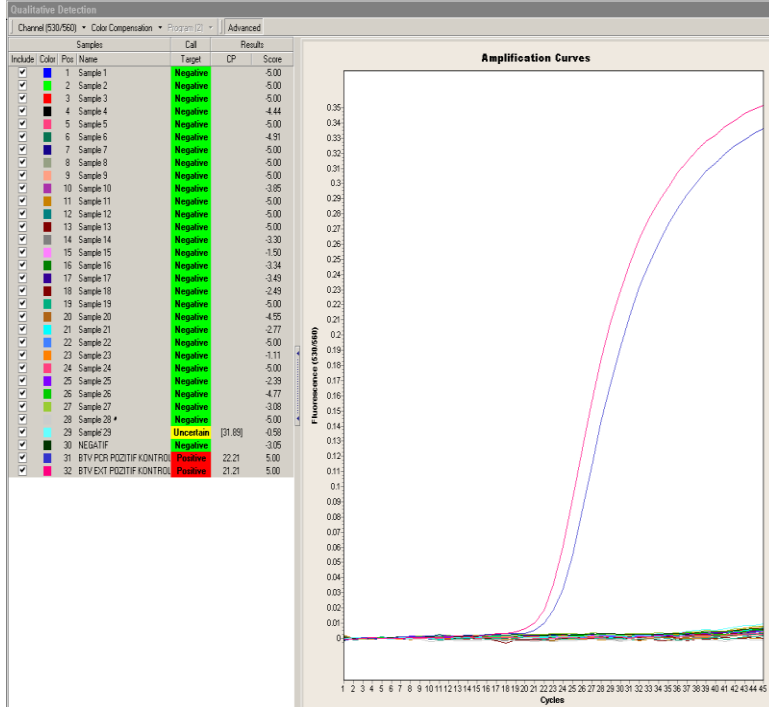
Şekil 1. Pestivirus RT-PCR jel elektroforez görüntüsü 1. tur (290 bp).
M: 100 bp DNA merdiveni, 1-8: Klinik örnekler, 9: Negatif Kontrol, 10: Virus pozitif kontrol



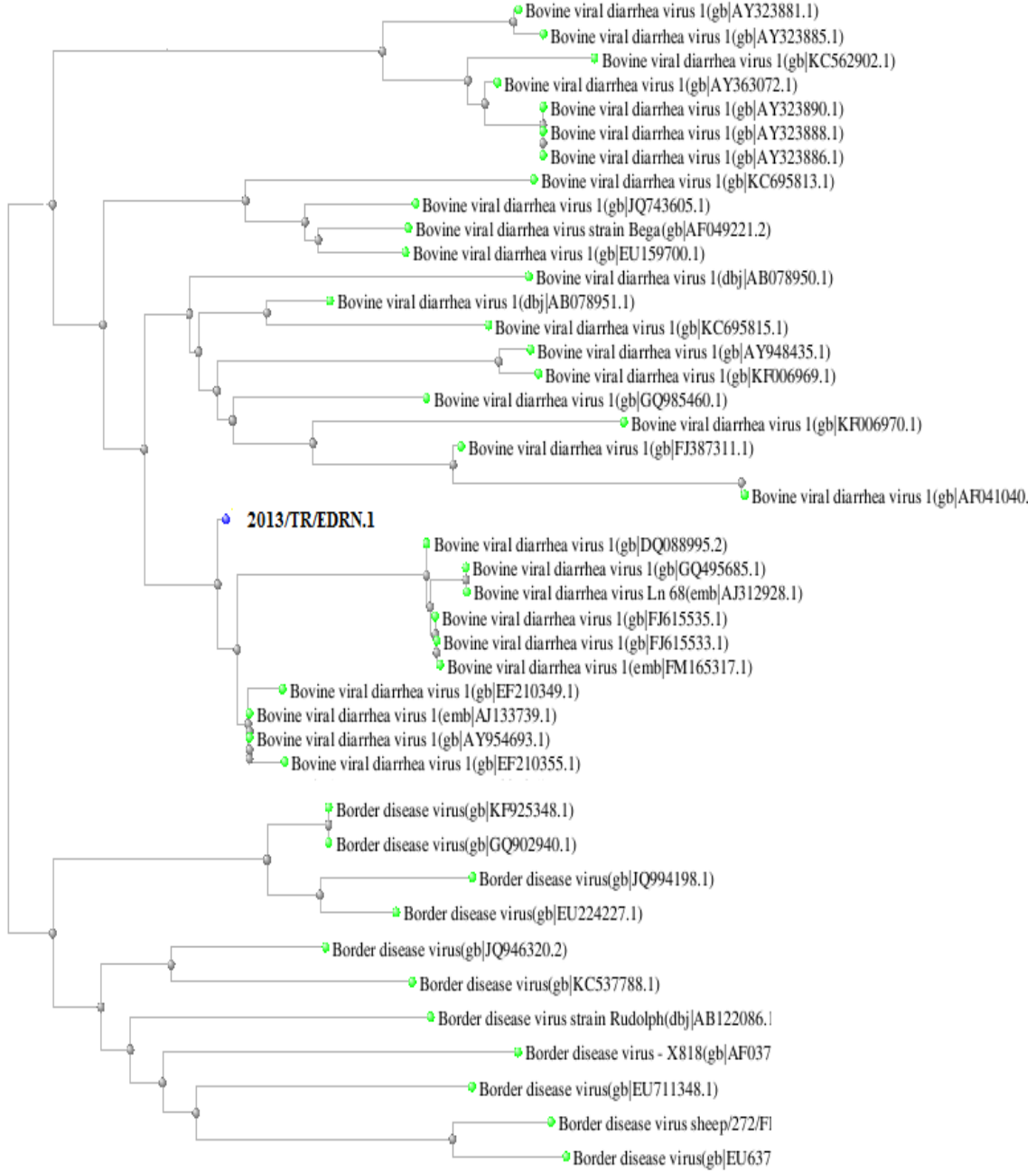
Şekil 2. Pestivirus dubleks RT-PCR jel elektroforez görüntüsü.
M: DNA merdiveni 100 bp, 1: Virus pozitif kontrol, 2-7: Klinik örnekler



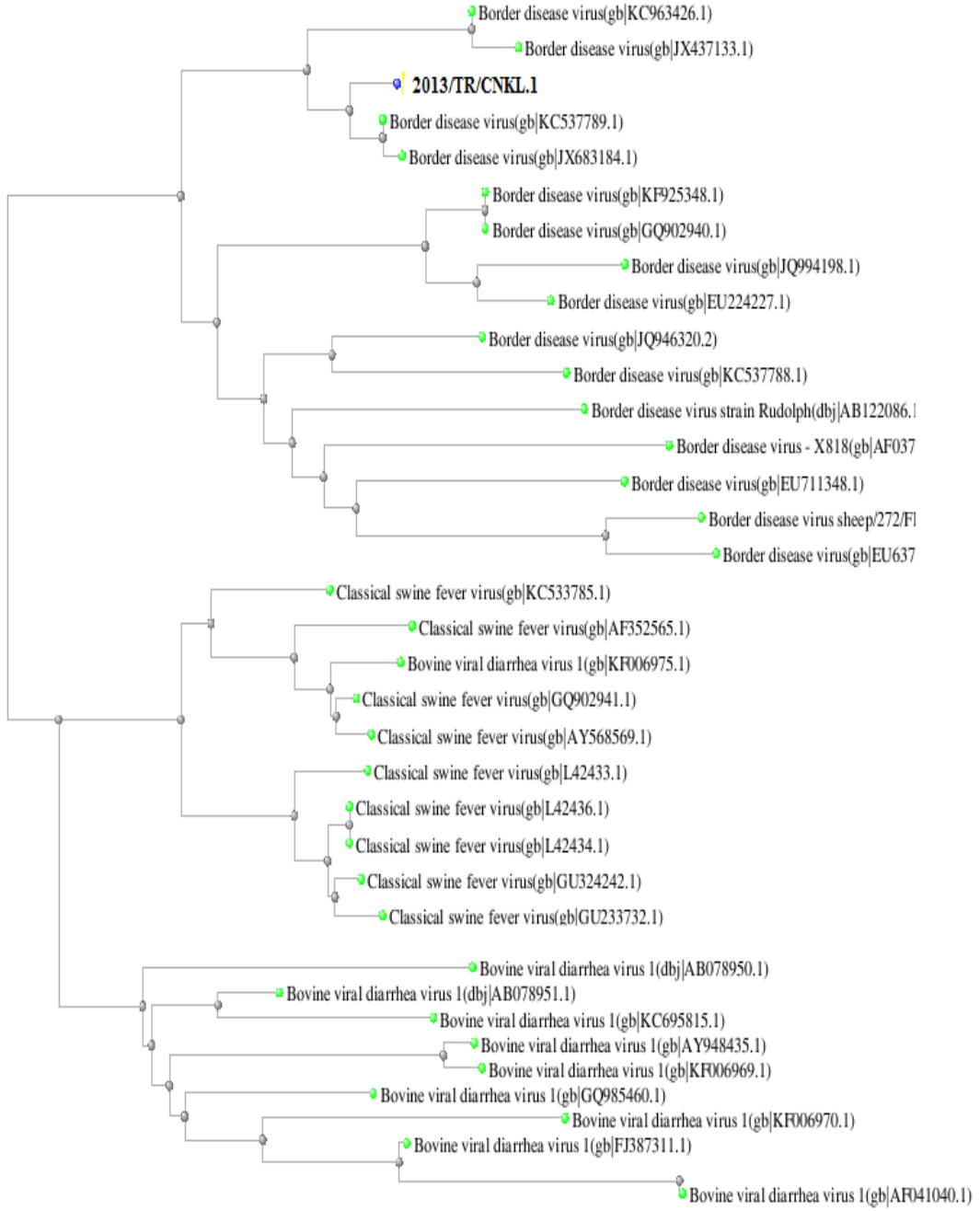
Şekil 3. Akabane virus RT-PCR jel elektroforez görüntüsü.
M: 100 bp DNA merdiveni, 1 ve 2: AKAV pozitif kontrol virus, 3-18: Klinik örnekler, M: 100 bp DNA merdiveni



Şekil 4. Mavidil real-time RT-PCR analiz görüntüsü.1-29: Klinik örnekler (tüm örnekler negatif), 30: Negatif kontrol, 31: BTV PCR pozitif kontrol (Mavi eğri) 32: BTV ekstraksiyon (EXT) pozitif kontrol (Pembe eğri)



Şekil 5. BVD-1 olarak belirlenen örneğin (2013/TR/EDRN.1) PHYLIP dizilim programında, neighbour-joining metodunda 0.75 maksimum sekans uzaklığına göre filogenetik analizi



Şekil 6. BDV olarak belirlenen örneğin (2013/TR/ÇNKL.1) PHYLIP dizilim programında, neighbour-joining metodunda 0.75 maksimum sekans uzaklığına göre filogenetik analizi

Tartışma

Abortlar koyun yetiştiriciliğindeki ekonomik kayıpların en önde gelen sebeplerindedir. Bu nedenle gerek ülkesel gerekse bölgesel seviyede abort etiyolojilerinin aydınlatılması ve bu verilerle mücadele stratejilerinin belirlenmesi ekonomik yetiştiricilik için oldukça önemlidir. Mevcut çalışmada, Marmara Bölgesinde bulunan illerde koyunlarda abort etiyolojisinin aydınlatılmasına yönelik olarak, ülkemizde ve dünyada abortların en önde gelen viral etkenler olarak kabul edilen üç virusun prevalansları araştırılmıştır.

Pestivirus enfeksiyonları, dünyada sığır, koyun, keçi ve domuz yetiştiriciliğinin yapıldığı birçok ülkede bildirilmiştir (Garcia ve ark., 2009; The Merck., 1998; OIE Manual., 2008; Plant ve ark., 1983). Farklı ülkelerde koyunlarda yapılan çalışmalarda pestivirus seroprevalans oranları % 5-50 arasında rapor edilmiştir (Garcia ve ark., 2009; The Merck., 1998; OIE Manual., 2008; Plant ve ark., 1983). Türkiye’de bu oranın (% 2-90) arasında değiştiği bildirilmiştir (Turan ve ark., 2009; Ozan ve ark., 2012). Bu çalışmada, pestivirus seroepidemiolojisinin tespiti amacıyla, Marmara Bölgesinde bulunan bölgenin genel durumunu yansıtacak şekilde 12 ilde, pestivirus yönünden aşılammış 6 aylığın üzerindeki 1200 adet koyundan, tesadüfi örnekleme yoluyla, serum örnekleri toplandı. Örneklenen hayvanların % 67’sinde pestivirus antikoru tespit edildi.

Ülkemizde Pestivirus için çok sayıda serolojik ve virolojik araştırma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda pestivirus prevalansı % 2.3-90.3 oranında bildirilmiştir ((Turan ve ark., 2009; Ozan ve ark., 2012; Burgu ve ark., 2001; Burgu, 2003; Okur ve ark., 2006; Hasircioğlu ve ark., 2009; Gür, 2009; Özdemir ve ark., 2008; Azkur ve ark., 2011; Yazıcı ve ark., 2012; İssi ve ark., 2012). Bu çalışmadaki pestivirus seroprevalans oranının bazı araştırmacıların (Turan ve ark., 2009; Burgu ve ark., 2001; Burgu, 2003; Okur ve ark., 2006; Hasircioğlu ve ark., 2009; İssi ve ark., 2012). bulgularından yüksek diğerlerinden (Ozan ve ark., 2012; Gür, 2009). ise düşük olduğu saptanmıştır. Bu durumun, büyük oranda, çalışılan coğrafik bölge farklılıklarına, çalışma yılına ve test edilen hayvanların yaşına bağlı olarak seroprevalanstaki farklılıktan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Ayrıca, daha zayıf bir ihtimal olmakla birlikte, kullanılan test metodlarının farklılıkları da bu çalışmalardaki seroprevalans farklılıklarının muhtemel bir sebebi olabilir.

Türkiye’de yukarıda yapılan çalışmalar dikkate alındığı zaman, pestivirus seropozitiflik oranlarındaki farklılıklara benzer şekilde, pestivirus pozitifliği ile ilgili olarak oldukça farklı oranlarda prevalans kaydedilmiştir. Ülkemizde pestivirus antijen/nükleik asit pozitifliği oranları % 0.4-69.2 arasında saptanmıştır (Albayrak ve ark., 2012; Turan ve ark., 2009; Burgu, 2003; Gür, 2009; Özdemir ve ark., 2008; Yazıcı ve ark., 2012; İssi ve ark., 2012; Berber ve Sözdutmaz, 2013). Mevcut çalışmada ise % 20.28 oranında bir pestivirus nükleik asit pozitifliği tespit edilmiştir. Bu farklılıkların sebebinin büyük oranda bölgesel virus prevalans farklılığından ve yıllara göre artan pestivirus pozitifliğinden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte kullanılan metot ve çalışılan dokuların farklılıklarından da prevalans oranının değişebileceği kaydedilmiştir. Örneğin, Özdemir ve ark. yaptıkları çalışmada, ELISA ile % 19 oranında pestivirus antijeni ve RT-PCR tekniği ile % 33 oranında virus nükleik asidi tespit etmişlerdir (Özdemir ve ark., 2008). Horner ve ark. ruminant pestiviruslarının teşhisinde real-time RT-PCR (real-time RT-PCR), ELISA ve immun peroksidaz (IP) tekniklerinin performanslarını karşılaştırdıkları bir çalışmada BVDV referens suşu ve persiste enfekte hayvanlardan alınan örneklerde real-time RT-PCR tekniğinin diğer test tekniklerine göre daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (Horner ve ark., 1995). Kenedy ve ark. yaptıkları çalışmada ise BVDV ile persiste enfekte sığırları tespit etmek amacıyla 3.599 sığırdan alınan kulak derisi örneğinden 100 hayvanlık süpernatant havuzları hazırlanmış ve immunohistokimya (IHC), antigen capture-ELISA (Ag capture-ELISA) ve RT-PCR metodları ile test etmişlerdir. Her üç testin de persiste enfekte hayvanları tespit etmede %100’lük bir uyuma sahip oldukları görülmüştür (Kenedy ve ark., 2006).

Genel olarak koyun ve keçilerin pestivirus enfeksiyonlarının etkeni BDV kabul edilmektedir (Oğuzoğlu, 2008; Valdozo-Gonzales ve ark., 2006). Mevcut çalışmada değerlendirilmeye alınan pestivirus RT-PCR pozitif 6 koyun örneğinin sekanslama sonuçlarına göre dört örneğin BVDV-1 olduğu belirlendi. Değerlendirilmeye alınan diğer iki örneğe ait gen dizilimlerinin filogenetik analizinde ise bu örneklerin BDV olduğu tespit edildi. Yakın akraba olan pestiviruslarında (BVDV 1, BVDV 2, BDV ve CSF) hayvan türleri arası geçiş bilinmektedir (Garcia-Perez ve ark., 2009; Bolat ve Doymaz, 1998).

Pestiviruslarla birlikte abortların diğere önemli viral etkeni olan BTV ülkemizde uzun yıllardır varlığı bilinen ve dönemsel olarak önemli ekonomik kayıplara yol açan virüstdür (Karaoğlu ve ark., 2012; Ertürk, 1994; Ertürk ve ark., 2004; Karaoğlu ve ark., 2007; Azkur ve ark., 2011; Bolat, 1986; Girgin ve Yonguç, 1988; Öztürk ve ark., 1990; Bulut ve ark., 2006; Gür, 2008; Albayrak ve Ozan, 2010; Ataseven ve ark., 2006; Özgünlük ve Çabalar, 2013; Özgünlük, 2003; Duman ve ark., 2009) Diğere ülkelerde yapılan önceki araştırmalarda, BTV enfeksiyonunun seroprevalansının (% 1.6-50) arasında olduğu tespit edilmiştir (Gibbs ve Greiner, 1985; Tamayo ve ark., 1985). Lopez ve ark. tarafından Amerika Birleşik Devletlerinin New York eyaletinde yapılan surveyde 52 ilden 6'sında BTV pozitif hayvan tespit edilmiştir (Lopez ve ark; 1992). Amerika Birleşik Devletlerinin Colorado eyaletinde yapılan bir çalışmada 108 koyun çiftliğinden, 2544 hayvanda % 7.6-83 arasında seropozitiflik tespit edilirken, RT-PCR ile viral RNA prevalansı % 4.8-48 arasında saptanmıştır (Mayo, 2010). Shi ve ark. tarafından Çin'de ithal edilen ve karantinaya alınan 964 sığır ve 650 koyunda yapılan serolojik ve virolojik çalışmada üç sığır ve 41 koyunda seropozitiflik tespit edilirken, iki koyundan virus izole edilebilmiştir (Shi ve ark., 1992). Hindistan'da koyunlarda yapılan retrospektif bir çalışmada 50 örnekten 8'inde virus izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Mehrotra, 1992). Aynı şekilde, Kulkarni ve ark. Hindistan'nın Mharashtra eyaletindeki koyun sürülerinde BT enfeksiyonu morbiditesinin % 20, mortalitesinin ise % 80'lere ulaştığını rapor etmişlerdir. Bu ülkede 1981 salgınında BTV-9 ve BTV-18 salgınlara yol açarken, 1983 salgınından sadece BTV-9 izole edilebilmiştir (Kulkarni ve ark., 1992).

Türkiye'de ise farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda, BTV'nin seroprevalans oranlarının % 0-87.5 arasında değiştiği bildirilmektedir (Ozan ve ark., 2012; Ertürk, 1994; Azkur ve ark., 2011; Bolat, 1986; Girgin ve Yonguç, 1988; Öztürk ve ark., 1990; Bulut ve ark., 2006; Gür, 2008; Albayrak ve Ozan, 2010; Ataseven ve ark., 2006; Özgünlük ve Çabalar, 2013; Özgünlük; 2003; Duman ve ark., 2009). Yaptığımız kaynak taramaları sonucunda, Marmara Bölgesinde koyunlarda BTV'ye yönelik bir çalışma tespit edilememiştir. Yapılan çalışmada ELISA çalışması sonucunda BTV seropozitiflik oranı % 38.7 olarak saptanmıştır.

Türkiye'de koyunlarda BTV virus prevalansına dair az sayıda çalışma rapor edilmiştir (Azkur ve ark., 2011; Duman ve ark., 2009). Türkiye'de yapılan çalışmalarda Duman ve ark. Konya bölgesinde koyunlarda antijen pozitifliği oranını % 1.56 olarak tespit etmişlerdir (Duman ve ark., 2009). Azkur ve ark. Kırıkkale ilinde koyun kan örneklerinden nested PCR ile % 2.87 oranında BTV nükleik asit pozitifliği belirlemişlerdir (Azkur ve ark., 2011). Mevcut çalışmada çalışılan klinik örneklerin hiçbirinde BTV RNA'sı tespit edilememiştir.

Mevcut çalışmada BTV seropozitiflik oranı % 38.7 olarak saptanmıştır. Örnek alınan hayvanların aşısız olması dikkate alındığı zaman daha önceki yıllarda bölgemizde BTV'ye hayvanların maruz kaldığı sonucu çıkarılmaktadır. Ancak mevcut çalışmada % 38.7'lik bir seropozitifliğe karşın, RT-PCR tekniği ile virus varlığı tespit edilememiştir. Arbovirus enfeksiyonları arasında yer alan BTV epidemiyolojisi konak-vektör-iklim-serotip döngüsüne dayanmaktadır (Ozan ve ark., 2012). Subtropik iklim kuşağında yer alan ülkemizde yıllık ısı-nem ve yağmur ortalamaları özellikle batı, kuzey ve doğu kesimlerinde yüksektir (Ozan ve ark., 2012). Bu iklim yapısına bağlı olarak Türkiye'de vektör aktivitesi Mart-Ekim arasındaki geniş zaman diliminde görülebilmektedir. Bu çalışmada koyunlarda yüksek seropozitiflik tespit edilmesine rağmen viral nükleik asidi tespit edilememesinin muhtemel bir nedeninin, araştırmada kullanılan abort ve neonatal materyallerinin önemli bir kısmının (2012 yılında % 60, 2013 yılında % 63), Marmara Bölgesinin iklim koşullarına bağlı olarak, vektör aktivitesinin görülmediği kış döneminde alınmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca BTV enfeksiyonunun akut bir enfeksiyon olmasını ve örneklerin klinik hasta koyun veya bu koyunların yavrularından alınmamasının da diğere bir sebep olabileceğini değerlendirmekteyiz. Seroprevalanstaki yüksek düzeyin ise BTV hastalığını atlaman hayvanlarda antikörlerin 2 yıla kadar saptanabilmesinden kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz (Ertürk, 1994; Bolat, 1986). Sonuç olarak, bu araştırmada tespit edilen % 38.7 oranındaki seropozitiflik nedeniyle Marmara Bölgesinde BTV'un zaman zaman sirkülasyonda bulunan bir virus olduğu kanaatine varılmıştır. Ancak, bu konuda daha güvenilir sonuçlar için takip eden yıllarda da benzer çalışmaların tekrarı önerilmektedir.

Mavidil virusu gibi insekt vektör kaynaklı olan ve abortların diğere bir önemli viral etkeni olarak kabul edilen AKAV enfeksiyonunun Dünya'da geniş bir coğrafyada varlığı bildirilmiştir. Dünya genelinde AKAV

prevalansı 1972-77 yılları arasında Japonyada meydana gelen salgınlarda 42.000 sığırın etkilendiği, bunlardan % 37'sinin abort ve prematüre doğum, % 22 sinin ölü doğum, % 41'inin ise kongenital AH sendromlu buzağı doğumu ile sonuçlandığı, bu salgınlarda oluşan ekonomik kaybın ise yaklaşık 20.000.000 Amerikan dolarına eşdeğer olduğu bildirilmiştir (Inaba ve ark., 1990). Mohamed ve ark. Sudan'da AKAV seroprevalansının koyunlarda % 27, keçilerde % 36 ve sığırlarda % 47 olduğunu rapor etmişlerdir (Mohamed, 1996). Qiao ve ark. Çin'de koyunlarda % 18,15 ve sığırlarda % 19.6 seroprevalans tespit etmişlerdir (Qiao ve ark., 2012). Benzer bir çalışmada ise, Afaleq ve ark. Arabistan'da koyun ve keçilerde % 17, sığırlarda % 49 oranında seroprevalans varlığını kaydetmişlerdir (Al-Afaleq ve ark., 1998)

Akabane enfeksiyonunun Türkiye'deki varlığı ilk defa Urman ve ark. tarafından Aydın ili ve çevresinde AH sendromlu buzağılarda hastalığın klinik ve patolojik olarak bildirmeleri ile ortaya konulmuştur (Urman ve ark., 1979). Sonraki yıllarda, Yonguç ve ark. AH sendromlu buzağılarda AKAV spesifik antikor tespitini, Hazıroğlu ise Akdeniz Bölgesinde anomalili buzağılarda patolojik olarak Akabane enfeksiyonu teşhisini gerçekleştirmiştir (Yonguç ve ark., 1982; Hazıroğlu, 1987). Akabane enfeksiyonuna yönelik ilk geniş kapsamlı serolojik araştırma, Mellor ve ark. tarafından Güney, Güneydoğu ve Batı Anadolu Bölgelerindeki sığırlarda gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada enfeksiyonun sığırlardaki seroprevalansını % 12,3 olarak bildirmişlerdir (Mellor ve ark., 1995). Karaoğlu ve ark. Trakya bölgesinden beş ile bağlı 21 ilçe/köyden örnekledikleri toplam 557 sığır kan serumlarında Akabane enfeksiyonu seropozitifliğini % 0,14 olarak bildirmişlerdir (Karaoğlu ve ark., 2007). Özgünlük ve ark. 4 farklı süt sığırcılığı işletmesindeki değişik yaşlardan 288 sığırdan alınan kan serum örneklerinde Akabane virus seropozitifliğini % 9.72 olarak belirtmişlerdir (Özgünlük ve ark., 2013). Güneydoğu Anadolu Bölgesinde 9 il ve 1 kamuya ait işletmede yetiştirilen sığırlarda yapılan diğer bir çalışmada ise halk elindeki hayvanlarda % 12.90-34.78; kamuya ait işletmede ise % 27.98 seropozitiflik tespit edilmiştir (Özgünlük, 2003). Yapılan araştırmalar incelendiğinde Akabane enfeksiyonu ile ilgili Türkiye'deki çalışmaların çoğunun sığırlarda olduğu anlaşılmaktadır. Ülkemizde koyunlarda AKAV'a yönelik az sayıda çalışmaya rastlanmıştır (Albayrak ve Ozan, 2010; Burgu ve ark., 1992). Albayrak ve Ozan yaptıkları çalışmada, Karadeniz Bölgesinde yer alan 5 ilde (Samsun, Sinop, Ordu, Amasya ve Tokat) bulunan 200 koyun örneğinde ELISA testi ile Akabane enfeksiyonunun seroprevalansını koyunlarda % 0.5, sığırlarda ise % 22 olarak rapor etmişlerdir (Albayrak ve Ozan, 2010).

Mevcut çalışmada, Marmara Bölgesini yansıtabilecek sayıda (1200) koyun örneğinden AKAV'a karşı oldukça düşük oranda (% 0.08) seroprevalans tespit edilmiştir. Ayrıca abort ve postnatal örneklerle gerçekleştirilen RT-PCR çalışması neticesinde, test edilen hiçbir örnekte viral etken varlığına rastlanmamıştır. Bu bulgular ışığında, AKAV'un Marmara Bölgesinde görülen abort ve postnatal olgularına sebep olabilecek muhtemel viruslardan biri olmadığı kanaatine varılmıştır.

Sonuç olarak, mevcut çalışmada çalışılan üç virus için, Marmara Bölgesinde abortlar ve postnatal ölümlerde pestivirusların yüksek prevalansı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar dikkate alınarak, Marmara Bölgesinde pestiviruslara karşı aşılama başta olmak üzere diğer kontrol-mücadele metotlarının ivedilikle uygulanmasını önermekteyiz. Ayrıca, bu yüksek prevalansın sebepleri üzerinde durulması ve aydınlatılmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz. Pestiviruslara ilave olarak, seroprevalansı dikkate alındığında, BTV'unun ise ileriki yıllarda takibinin faydalı olacağı kanaatini taşımaktayız.

Teşekkür

Bu çalışma; Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü ve TAGEM HSGYAD/13/A07/P02/28 nolu proje ile desteklenen "Marmara Bölgesinde Koyunlardan Alınan Abort ve Postnatal Örneklerde Viral Etkenlerin (Pestivirüs, Mavidil ve Akabane virüs) Araştırılması" başlıklı doktora tezinden özetlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Akashi H, Nakamura K, Murakami T. Restriction fragment length polymorphism analysis of Akabane virus nucleoprotein gene. J Vet Med Sci 1997; 59: 837-840.
- Al-Afaleq AI, Abu Elzein EME, Mellor PS. Prevalence of neutralizing antibodies to Akabane virus in ruminants in Saudi Arabia. J Vet Med 1998; 45: 257-262.

- Albayrak H, Gumusova SO, Ozan E, et al. Molecular detection of pestiviruses in aborted fetuses from provinces in northern Turkey. *Trop Anim Health Prod* 2012; 44: 677-680.
- Albayrak H, Ozan E. Orta karadeniz bölgesinde ruminant ve tek tırnaklılarda kan emici sineklerle nakledilen bazı arboviral enfeksiyonların seroprevalansı. *Kafkas Univ Vet Fak Der* 2010; 16: 33-36.
- Ataseven VS, Ataseven L, Tan T, ve ark. Seropositivity of agents causing abortion in local goat breeds in Eastern and South-eastern Anatolia, Turkey. *Revue Med Vet* 2006; 157: 545-550.
- Azkur AK, Gazzyagcı S, Aslan ME. Serological and epidemiological investigation of bluetongue, maedi-visna and caprine arthritis-encephalitis viruses in small ruminant in Kirikkale District in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Der* 2011; 17: 803-808.
- Azkur AK, Gazzyagcı S, Aslan ME. Serological and epidemiological investigation of bluetongue, maedi-visna and caprine arthritis-encephalitis viruses in small ruminant in Kirikkale District in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Der* 2011; 17: 803-808.
- Berber E, Sözdutalmaz İ. Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde koyunlarda görülen abort vakalarında pestivirusların rolünün araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2013; 27: 39-41.
- Bolat Y, Doymaz MZ. Veteriner Viroloji (Ders Notları). Elazığ: 1998.
- Bolat Y. Elazığ, Diyarbakır ve Şanlıurfa illerinde koyunların mavidil hastalığı'nın yayılması üzerinde serolojik araştırmaları. *Selçuk Univ Vet Fak Derg* 1986; 2: 103-112.
- Bulut O, Yavru S, Yapkiç O, ve ark. Serological investigation of bluetongue virus infection by serum neutralization test and ELISA in sheep and goats. *Bull Vet Inst Pulawy* 2006; 50: 305-307.
- Burgu İ, Akça Y, Alkan F, ve ark. Koyunlarda doğum öncesi ve sonrası dönemlerde bovine viral diarrhoea (BVD) virus enfeksiyonunun serolojik, virolojik ve patogenezi yönünden araştırılması. *Turk J Vet Anim Sci* 2001; 25: 551-555.
- Burgu İ, Urman HK, Akça Y, et al. Serologic survey and vector surveillance for bluetongue in southern Turkey. In, Walton TE, Osburn BI (Eds): *Bluetongue, African horse sickness and related orbiviruses*. CRC Press Boca Raton 1992; 168-174.
- Burgu İ. Gebe koyunlar ve fütuslarında pestivirus enfeksiyonu. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kesin Raporu, Ankara: 2003.
- Çetinkaya B, Öngör H, Muz A, et al. Detection of brucella species DNA in the stomach content of aborted sheep fetuses by PCR. *Vet Record* 1999; 144: 239-240.
- Duman R, Durak Y. Investigations on chlamydia psittaci infections causing abortion in sheep in Konya district using complement fixation test. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science* 1998; 22: 511-516.
- Duman R, Yavru S, Kale M. Virological and serological investigations of bluetongue virus (BTV) infection in sheep in Konya region. *J Anim Vet* 2009; 11: 2399-2403.
- Erganiş O, Kaya O, Hadimli LL, et al. Rapid diagnosis of ovine brucella, campylobacter and salmonella infections from fetal stomach contents by coagglutination test. *Small Rumin Res* 2002; 45: 123-127.
- Ertürk A, Tatar N, Kabaklı O, ve ark. The current situation of bluetongue in Turkey. *Vet Ital* 2004; 40: 137-140.
- Ertürk A. Çeşitli serumlarda (koyun, keçi, sığır) mavidil antikorlarının agar-jel presipitasyon testi ile araştırılması. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg* 1994; 5: 1-19.
- García-Pérez AL, Minguijón E, Barandika JF, et al. Detection of border disease virus in fetuses, stillbirths and newborn lambs from natural and experimental infections. *J Vet Diagn Invest* 2009; 21: 331-337.
- Gibbs EP, Greiner EC. Serological observations on epidemiology of bluetongue virus infections in the Caribbean and Florida. *Prog Clin Biol Res* 1985; 178: 563-570.
- Girgin H, Yonguç AD. Türkiye'deki koyunların mavidil hastalığının serolojik etiyolojik ve patolojik durumu üzerinde araştırmalar. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg* 1988; 6: 15-24.
- Givens MD, Marley MSD. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology* 2008; 70: 270-285.

- Güler L, Gündüz K, Ok Ü. Comparison of polymerase chain reaction and bacteriological culture for the diagnosis of sheep brucellosis using aborted fetus samples. *Vet Microbiol* 2003; 93: 53-61.
- Güler L, Hadımlı HH, Erganiş O, et al. Field evaluation of a PCR for the diagnosis of chlamydial abortion in sheep. *Vet Rec* 2006; 159: 742-745.
- Gür S. A investigation of border disease virus in sheep in western Turkey. *Trop Anim Health Prod* 2009; 41: 1409-1412.
- Gür S. A serologic investigation of bluetongue virus (BTV) in cattle, sheep and gazella subgutturosa subgutturosa in southeastern Turkey. *Trp Anim Health Prod* 2008; 40: 217-221.
- Hasircioğlu S, Kale M, Acar A. Investigation of pestivirus infections in aborted sheep and goats in Burdur region. *Kafkas Univ Vet Fak Der* 2009; 15: 163-167.
- Haziroğlu R. Buzağılarda hydranencephalie olgularında patolojik-anatomik bulgular. Doktora tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1987.
- Hofmann MA, Renzullo S, Mader M, et al. Genetic characterization of oggenburg orbivirus, a new bluetongue virus, from goats, Switzerland. *Emerging Infectious Diseases* 2008; 14: 1855–1861.
- Horner GW, Tham KM, Orr D, et al. 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. *Vet Microbiol* 1995; 43: 75-84.
- Hurtado A, Sanchez I, Bastida F, et al. Detection and quantification of pestivirus in experimentally infected pregnant ewes and their progeny. *Virol J* 2009; 6: 189.
- Inaba Y, Matumoto M. Akabane Virus. In: Dinter Z, Morein B. (Editors). *Virus Infection of Ruminants*. Amsterdam, The Netherland: 1990: 467-477.
- İssi M, Gül Y, Gürçay M, ve ark. Elazığ yöresindeki koyunlarda saptanan pestivirus enfeksiyonu. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2012; 26: 165-169.
- Karaoğlu T, Özgünlük İ, Demir B, et al. Seroprevalence of culicoides-borne disease in cattle in European Turkey. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2007; 54: 121-125.
- Karaoğlu T, Özgünlük İ, Yıldırım Y, et al. Seroepidemiology of bluetongue virus infection in Northeast and Southeast Anatolia, Turkey. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2012; 59: 289-294.
- Kennedy JA, Mortimer RG, Powers B. Reverse transcription-polymerase chain reaction on pooled samples to detect bovine viral diarrhoea virus by using fresh ear-notch-sample supernatants. *J Vet Diagn Invest* 2006; 18: 89-93.
- Kobayashi T, Yanase T, Yamakawa M, et al. Genetic diversity and reassortments among Akabane virus field isolates. *Virus Res* 2007; 130: 162-171.
- Kulkarni DD, Bannalikal AS, Karpe AG. Epidemiologic observations on bluetongue in sheep in the Marathwada region of Maharashtra state in India. In: *Bluetongue, African horse sickness and related orbiviruses*. Proceedings of the second International symposium, Walton T.E. and Osburn B.I. (Eds.). CRC Press, USA, 1992; 193-196.
- Lopez JW, Dubovi EJ, Cupp EW, Lein DH. An examination of the bluetongue virus status of New York state. In: *Bluetongue, African Horse Sickness and related Orbiviruses*. Proceedings of the Second International Symposium, Walton T.E. and Osburn B.I. (Eds.). CRC Press, USA, 1992; 140-146.
- Maclachlan NJ, Drew CP, Darpel KE, et al. The Pathology and pathogenesis of bluetongue. *J Comp Path* 2009; 141: 1-16.
- Mayo C. Prevalence and risk factors associated with bluetongue virus among Colorado sheep flocks. Master Thesis of Science, Colorado State University, Fort Collins, Colorado, 2010.
- McGoldrick A, Bensaude E, Ibata G, Sharp G, Paton DJ. Closed one-tube reverse transcription nested polymerase chain reaction for the detection of pestiviral RNA with fluorescent probes. *J Virol Methods* 1999; 79: 85-95.
- Mehrotra ML. Studies on bluetongue in India: Distribution and isolation of viruses. In: *Bluetongue, African horse sickness and related orbiviruses*. Proceedings of the second international symposium, Walton T.E. and Osburn B.I. (Eds.). CRC Press, USA, 1992; 181-187.
- Mellor PS, Jennings DM, Hambling C et al. Control of Akabane disease and surveillance of bluetongue and ephemeral fever. United Nations Development Programme, FAO Rome. 1995.

- Menzies PI. Control of important causes of infectious abortion in sheep and goats. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2011; 27: 81-93.
- Mohamed ME, Mellor PS, Taylor P. Akabane virus serological survey of antibodies in livestock in the Sudan. *Rev Elev Med Vet Pays Trop* 1996; 49: 285-288.
- Muz A, Özer H, Eröksüz H, et al. Bacteriologic, serologic and pathologic studies on abortus cases of goats and sheep in Elazığ and its vicinity. *Turk J Vet Anim Sci* 1999; 23: 177-188.
- Oğuzoğlu TÇ. Sınır hastalığı (border disease). *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2008; 55: 69-74.
- OIE Terrestrial Manual. Chapter 2.7.1. Border Disease 2008.
- Okur-Gümüşova S, Yazıcı Z, Albayrak H. Pestivirus seroprevalence in sheep populations from inland and coastal zones of Turkey. *Revue Med Vet* 2006; 157: 595-605.
- Ozan E, Turan HM, Albayrak H, ve ark. Samsun ilindeki küçük ruminantlarda pestivirus, mavidil virusu ve küçük ruminants vebası virusunun serolojik olarak belirlenmesi. *Atatürk Üniv Vet Fak Derg* 2012; 7: 27-33.
- Öngör H, Çetinkaya B, Açık MN, et al. Detection of chlamydia abortus in ovine milk by immunomagnetic separation-polymerase chain reaction. *J Vet Med B* 2004; 50: 43-45.
- Özdemir S, Gülyaz V, Gülaçtı İ, ve ark. Marmara Bölgesinde koyunlarda abort vakalarında pestivirus enfeksiyonunun saptanması. TAGEM/HS/08/02/08/133 İstanbul: 2008.
- Özgünlük İ, Çabalar M. Şanlıurfa yöresindeki koyun ve keçilerde mavidil virus antikorlarının araştırılması. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2013; 2: 12-17.
- Özgünlük İ, Yıldırım Y, Gür S, Tan MT. Aydın yöresindeki sığırlarda Akabane ve İbaraki enfeksiyonlarının seroprevalansı. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2013; 1: 36-41.
- Özgünlük İ. Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) kapsamındaki bölgede sığırlarda mavidil, Akabane ve İbaraki enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi. Doktora tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2003.
- Öztürk F, Yavru S, Eröz S. Koyunlarda mavi dil enfeksiyonu üzerinde seroepizootolojik araştırmalar. *Selçuk Univ Vet Fak Derg* 1990; 1: 37-40.
- Plant JW, Walker KH, Acland HM, et al. Pathology in the ovine foetus caused by ovine pestivirus. *Aust Vet J* 1983; 60: 137-140.
- Qiao J, Qingling M, Zaichao Z. et al. A serological survey of Akabane virus infection in cattle and sheep in northwest China. *Trop Anim Health Prod* 2012; 44: 1817-1820.
- Sareyyüpoğlu B, Diker S, Güngördü S. Koyunlarda abortif bakteriyel enfeksiyonların tanısında multiplex-PCR tekniklerinin geliştirilmesi. TUBİTAK-Proje, 2010.
- Shaw AE, Monaghan P, Alpar HO, et al. Development and initial evaluation of a real-time RT-PCR assay to detect bluetongue virus genome segment 1. *J Virol Methods* 2007; 145: 115-126.
- Shi SK, Zhang XD, Xu ZZ, et al. Serologic and virologic diagnosis and investigation of bluetongue of imported animals. In: *Bluetongue, African horse sickness and related orbiviruses. Proceedings of the second international symposium*, Walton T.E. and Osburn B.I. (Eds.). CRC Press, USA, 1992; 162-167.
- Tamayo R, Schoebitz R, Alonso O, Wenzel J. First report of bluetongue antibody in Chile. *Prog Clin Biol Res* 1985; 178: 555-558.
- The Merck Veterinary Manual, Bovine Viral Diarrhea, 9th Ed. Merck&Co. Inc., New York 1998; 162-164.
- Turan N, Gülyaz V, İyisan S, ve ark. Marmara Bölgesindeki koyunlarda pestivirus prevalansının saptanması. TAGEM/HS/09/06/02/146 İstanbul: 2009.
- Urman HK, Milli Ü, Mert N, ve ark. Türkiye’de buzağılarda konjenital epizootik arthrogriposis ve hydranencephalie olayları. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 1979; 26: 287-292.
- Valdoso-Gonzales B, Alvarez-Marinez M, Greiser-Wilke I. Genetic typing and prevalence of border disease virus in small ruminants flocks in Spain. *Vet Microbiol* 2006; 117: 141-143.
- Vilcek S, Nettleton PF, Paton DJ, et al. Molecular characterization of ovine pestiviruses. *J Gen Virol* 1997; 78: 725-35.

- Wilson WC, Hindson BJ, O'Hearn ES, et al. A multiplex real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of bluetongue virus and epizootic hemorrhagic disease virus serogroups. *J Vet Diagn Invest* 2009; 21: 760-770.
- Yaeger M. "Cattle abortions-causes and prevention, range beef cow symposium". (<http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=118&context=rangebeefcowsymp>) University of Nebraska – Lincoln, 1993.
- Yazıcı Z, Serdar MS, Gumusova SO, ve ark. Molecular diagnosis and seroepidemiology of pestiviruses in sheep. *Veterinarski Arhiv* 2012; 82: 35-45.
- Yonguç AD, Taylor WP, Csontón L, et al. Bluetongue in western Turkey. *Vet Rec* 1982; 111: 144-146.