

Suni Tohumlama ve Embriyo Transferinde Viral Hastalıkların Önemi

Yakup YILDIRIM*

* Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

Yayın Kodu: 2004/47-D

Özet

Suni tohumlama ve embriyo transferi yoluyla hayvancılıkta kaliteli, verimli ve sağlıklı sürülerin elde edilmesi günümüzde büyük önem taşımaktadır. Sözü edilen yollarla nakledilen enfeksiyonlar ise, bu uygulamaları sınırlayan en önemli faktörlerdir.

Bu derlemede suni tohumlama ve embriyo transferi yoluyla bulaşan viral enfeksiyonlar hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Suni tohumlama, embriyo transferi, siğir, koyun, at, viral enfeksiyon.

Importance of the Viral Infections in Artificial Insemination and Embryo Transfer

Summary

Artificial insemination and embryo transfer has a great importance in achieving high quality, high yielded and healthy herds in animal breeding nowadays. Spreading the infections via these techniques is the most critical factor in limiting this practice.

In this review information had been given about smeared the viral infections by artificial insemination and embryo transfer.

Keywords: Artificial insemination, embryo transfer, cattle, sheep, horse, viral infection.

GİRİŞ

Hayvancılık sektöründe verimli ırklar, kaliteli damızlıklar, sağlıklı sürüler ve dolayısıyla da sağlıklı ürünler elde etmek daima özlenen bir amaç olmuştur. Suni tohumlama ve embriyo transferi de bu çerçevede içinde yer almış ve uygulamaya aktarılmıştır. Bu yolla hem kısa sürede sonuç almak hem de az verimli yerli ırkları kültür ırklarına çevirmek mümkün olmaktadır¹.

Ulusal ve uluslararası alanda 1930'dan beri suni tohumlama kullanılarak sığırların genetik özellikleri değiştirilmeye çalışılmıştır. Suni tohumlama yapılan ülkelerdeki düzenleyici otoriteler, semenin kontamine olabileceğini ve bu yolla patojenlerin yayılabileceğini bildirmişlerdir^{2,3}.

Sığır spermasındaki viruslarla ilgili olarak; alıcı dişilerdeki klinik hastalığın başlangıcı, sperma kalitesindeki etkileri, dişi ve erkek fertilitesine etkileri, gelişen fütüslara etkileri ve en önemlisi suni tohumlama yolu ile bu virusların nakli, araştırılması gereken konuların başında gelir³.

Semende viral, bakterial, fungal ve protozoal patojen ajanların bulunduğu bildirilmiştir. Bunlar suni tohumlama yoluyla diğer hayvanlara bulaşabilir. Semen dondurularak saklanması, bunun ulusal ve uluslararası kullanımı popülasyonlar arasında hastalıkların yayılmasına neden olur. Likit nitrojende saklama sırasında viral enfektivitenin devamı ile sperma hücrelerinin fertilizasyon kapasitesinin sürekliliği paralellik gösterir.

Embriyo transferi kaliteli hayvan yetiştiriciliğinde uygun bir metot olarak görülmesine rağmen, enfekte embriyolar nedeni ile çeşitli hastalıkların önemli bir geçiş yolu olarak da rol oynayabilmektedir.

SPERMANIN KONTAMİNE OLMA YOLLARI

Viruslar erkek genital sisteminin çeşitli bölgelerinden köken alan ve içinde sperma hücrelerinin süspansiyon olduğu sıvıları içeren semen de dahil olmak üzere vücudun herhangi bir sıvı veya sekresyonlarına bulaşabilirler. Bu şekilde kontamine olan semenlerin suni tohumlamada kullanılması ile sağlıklı hayvanlara viral enfeksiyon etkenleri bulaştırılır².

Gerek doğal, gerekse suni tohumlamada kullanılan damızlık boğaların sperma ile nakli mümkün viral hastalıklar yönünden (bu hastalıkların büyük bir kısmı subklinik olarak seyretmektedir) yeterince veya usu-

lünce kontrol edilmemiş olmaları bunlardan sağlanan spermalar yolu ile viral enfeksiyonların naklini mümkün kılmaktadır¹.

Semene virusun,

1. *Dışarıdan;* semenin toplanması sırasında gaitadan (Enteroviruslar),

2. *İçeriden;* genel enfeksiyonlarla ilgili olarak veya lokal virus enfeksiyonları, testis enfeksiyonları, accessory glandlar veya preputial akıntularla bulaştığı tespit edilmiştir.

Semenin mikrobiyal kontrolü ve kontaminasyonunun önlenmesi için; semene antimikrobiyal ajanların eklenmesi ve spesifik hastalıklardan arı boğaların kullanılması gerekir. Bu amaçla bakteriler tarafından oluşturulan venereal hastalıkların aktarımının azaltılması için semen antibiyotiklerle muamele edilebilir. Fakat viruslara karşı antiviral ajanlar sperma uygulamasına henüz adapte edilememiştir³.

EMBRYO TRANSFERİNDE EMBRYONUN KONTAMİNE OLMA YOLLARI

Hayvancılığı geliştirmek ve seçkin sürüler elde etmek amacıyla embriyo transferi uygulaması yüzyılın en önemli biyolojik gelişmelerinden birini teşkil etmektedir. Yapılan son araştırmalar ve elde edilen gelişmeler, 6-8 günlük embriyo transferinin yararlı olduğunu ortaya koymuştur. Çünkü bu dönemde zona pellucida sağlam olduğu için embriyo enfeksiyonlara karşı korunur. Zona pellucida ortadan kalktıktan sonra enfeksiyon riski artar ve eğer uterus çevresinde bir virus varsa embriyoda enfeksiyon oluşurabilir^{1,4,5}.

Viruslar embriyo transferi sırasında,

1. Embriyoda bulunmaları,
2. Embriyonun dışında bulunmaları,
3. Embriyo ile birlikte transfer edilen sıvıda bulunmaları halinde sağlıklı hayvanlara bulaştırılırlar^{1,4}.

Embriyo transferi amacıyla uluslararası platformda taze ve donmuş embriyolar kullanılmaktadır. Viruslar embriyoyu ekzojen (dışarıdan) olarak ya da genoma entegre olarak (endojen-bireyin tüm hücreleri veya germinativ hücrelerinde bulunan) enfekte ederler. Dışarıdan zona pellucida üzerine lokalize olan virusların transfer sırasında yıkamayla veya tripsin ya da spesifik antiserum ile muamele edilerek inaktive edilmek suretiyle uzaklaştırıldıkları bildirilmektedir^{1,4}.

KONTAMİNE SEMEN VE EMBRİYO TRNS-FERİ YOLUYLA BULAŞAN HASTALIKLAR

BOVINE HERPESVIRUS-1 (BHV-1) ENFEKSİYONU

Boğa spermasında en çok bulunduğu düşünülen virus Enfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis (IBR) enfeksiyonunun etkeni olan BHV-1 dir. Ayrıca son raporlarda Bovine Herpesvirus-4 ve Bovine Herpesvirus-5'in de semenle bulaştığı bildirilmiştir^{2,6,7}.

BHV-1 ile enfekte boğalardan toplanan sperma, likit nitrojende dondurularak saklandığında virus sperma içinde muhafaza olur ve suni tohumlamada bu spermaların kullanılması ile de enfeksiyon sağlıklı hayvanlara bulaştırılır^{2,8}.

Seropozitif boğalar epidemiyolojik açıdan virus taşıyıcısı ve saçıcısı olarak kabul edilmelidir⁸. Boğalarda BHV-1 latent enfeksiyonunun reaktivasyonu sırasında etken, preputial mukosa ve uretranın distal kısmına yerleşerek ejakulasyon esnasında spermayı kontamine eder⁹. Enfekte sperma ile BHV-1 antikorlarına sahip inekler tohumlandığında IPV enfeksiyonu ya da hafif bir endometritis, salpingitis veya geçici bir infertilite oluşabilir¹⁰.

BHV-1 ile enfekte olan hayvanlar virusu embriyoya aktarırlar. Bu durumdaki enfekte ineklerden yapılan embriyo transferi virusun bulaşmasına neden olur. BHV-1 in zona pellucidaya penatre olmadığı ve zigotu blastosit fazında enfekte ettiği tespit edilmiştir^{5,11}. Zona pellucidası bulunan ve zona pellucidası bulunmayan embriyolarda yapılan bir çalışmada¹²; zona pellucidası bulunmayan embriyolarda morula ve blastosit safhasında virus tespit edildiği halde, zona pellucidası bulunan embriyolarda ise virus tespit edilememiştir. İn vitro üretilen embriyolarda zona pellucida ortadan kalktıktan sonra BHV-1'in ürettiği gözlenmiştir.

BOVINE LEUKEMIA VIRUS (BLV) ENFEKSİYONU

Bovine Leukemia Virus (BLV) *Retroviridae* familyasının *deltaretrovirus* generi içinde yer alır. Klinik belirti göstermeksizin primer olarak B-lenfositleri enfekte eder. Semen içinde BLV un bulunması yaşlı boğaların travmatize genital sisteminde enfekte lenfositlerin dökülmesine bağlı olabilir. Böylelikle yaşlı boğalarda BLV'un venereal transmisyonu enfeksiyonun yayılması için bir risk oluşturur¹³. Bununla birlikte se-

ropozitif boğalardan toplanan spermanın suni tohumlamada kullanılması durumunda enfeksiyonun bulaşmayacağı ileri sürülmüştür¹⁴.

Enfekte verici sığırdan embriyoya BLV bulaşmadığından dolayı, embriyo transferi yoluyla bu virusun bulaşması gerçekleşmez¹⁵.

MAVIDİL

Mavidil virusu (*Bluetongue virus*, BTV) *Reoviridae* familyasının *orbivirus* generi içinde sınıflandırılır. Etken klinik bulgu göstermeyen persiste enfekte bir boğanın spermasından enfeksiyondan 300 gün sonrasına kadar izole edilebilmiştir¹⁶. Deneysel olarak enfekte edilen 3 boğanın en az 106 gün (sperm anomalileri olmadan) mavidil ile kontamine sperm ürettikleri ve taşıyıcı boğaların doğal aşım ile duyarlı düveleri enfekte ettikleri saptanmıştır. BTV ile kontamine sperma kullanımı hem inekte hem de yavruda enfeksiyon oluşturabilir¹⁷.

İneklere ve küçük ruminantlarda yapılan çalışmalarda, BTV enfeksiyonunun zona pellucidası sağlam olan embriyoların transferi yoluyla bulaştığına dair bir bulgu tespit edilmemiştir¹⁸. Ancak yapılan başka bir çalışmada⁴ BTV unun zona pellucida yüzeyine çok büyük oranda tutunduğu belirlenmiştir. BTV zona pellucidaya bağlanma affinitesi en fazla olan virusdur.

BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV) ENFEKSİYONU

BVD virusu *Flaviviridae* familyasının *pestivirus* alt grubunda yer alır. Antijenik olarak tek tip olan etkenin sitopatojen (cp) ve nonsitopatojen (ncp) iki biyotipi vardır.

BVDV ile persiste enfekte boğaların spermalarında virus bulunabilir. Bu boğaların doğal çiftleşme ya da bunlardan sağlanan spermaların suni tohumlamada kullanılması ile virus sağlıklı hayvanlara bulaştırılır^{19,21}. Yapılan bir araştırmada²² persiste enfekte bir boğanın kabul edilebilir düzeyde fertilitesi olmasına rağmen, sperm kalitesinin kötü olduğu, semen içinde ölü ve anormal spermatozoaların bulunduğu tespit edilmiştir. Üreme sisteminde vesikulo seminalis ve prostat bezlerinin virusun üremesinde önemli rolleri vardır. ncpBVD virusunun testislerde, epididimiste ve prostat bezinde bulunduğu tespit edilmiştir²⁰.

BVD virusunun embriyo transferi ile nakli büyük önem taşımaktadır. Persiste enfekte annelerin kullanı-

mı nedeni ile enfeksiyon yeni jenerasyona kolaylıkla geçebilmektedir. Ayrıca doğacak yavrular sürekli viremik olabileceğinden dolayı hastalık etkeninin saçıcısı durumundadırlar^{23,24}.

Embriyo transferi sırasında eğer BVD ile kontamine fetal bovine serumları kullanılırsa, bunlar sürüye ncp biyotipin girmesinde vektör görevi görmüş olurlar. Virusun direkt olarak embriyoyu enfekte etmediği, ancak duyarlı alıcıların enfekte olması durumunda implantasyonu takiben embriyoya virusu tekrar bulaştırdığı belirlenmiştir^{25,26}.

In vitro üretilen embriyolar ncpBVDV una çok kısa bir süre maruz kalsalar bile etken bulaşır ve zona pellucida yüzeyinden yıkama prosedürleriyle uzaklaştırılmaz^{23,24}.

ŞAP ENFEKSİYONU

Şap virusu, hastalıkta klinik bulgular görülmeden 4 gün önce, klinik bulgular görüldüğü zaman ve klinik bulgular görüldükten yaklaşık 37 gün sonra boğa spermasında bulunmuştur. Viremi sonucunda şap virusu sperma ile birlikte saçılmaktadır²⁷.

Virus deride ve preputial orifice çoğalır ve bunun sonucunda; çiftleşme esnasında veya semen toplanması sırasında sperma kontaminasyonuna sebep olur²⁸.

LUMPY SKIN DISEASE (LSD)

Etken Capripoxvirus genusunda bulunur. Weiss²⁹, yaptığı deneysel bir çalışmada, enfeksiyondan 22 gün sonra bile bu virusun sperma ile saçıldığını tespit etmiştir. Boğa spermasından izole edilen LSDV unun spermaya nasıl bulaştığı açık değildir.

EPHEMERAL FEVER (EF)

Etken Rhabdoviridae familyasının bir üyesidir. Anormal sperma oluşumuna neden olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. EF enfeksiyonun viremi safhasında virus kan ve sperma yolu ile saçılır³⁰. Boğa spermasının arasına EF virusu ile kontamine olduğu belirlenmesine rağmen, bu yolla enfeksiyonun bulaşma riskinin çok düşük olduğu tespit edilmiştir³¹.

PARAİNFLUENZA 3

Yapılan bir çalışmada³² infertil bir boğanın testislerinden PI-3 virusu izole edilmiştir. Bu boğanın se-

meninde; düşük sperma kalitesi, çok sayıda ölü ve dejeneren spermatozoalarla birlikte PI-3 virusu bulunmuştur.

Embriyo transferi ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda ise PI-3 virusunun zona pellucida yüzeyine tutunduğu ancak bunların yıkamayla çok kolay bir şekilde uzaklaştırılabileceği tespit edilmiştir⁴.

SİĞİR ENTEROVİRUSLARI

Weldon ve ark.³³, orşitisli infertil bir boğanın spermasından siğir nasal hücre kültürü kullanarak BEV-1 izole etmişlerdir. Aynı çalışmada, bu boğanın sperm kalitesinin düşük olduğu ve sperm içerisinde çok miktarda anormal spermatozoanın bulunduğu da rapor edilmiştir.

BEV embriyo transferinde zona pellucida yüzeyine tutunarak bulaşır. Ancak yıkamayla BEV zona pellucida yüzeyinden kolaylıkla uzaklaştırılabilir⁴.

PARAPOXVİRUS

Johnson ve Deas³⁴, iki infertil boğanın spermasından parapoxvirus izole etmişlerdir. Bu spermalar -20°C de 30 gün saklandıktan sonra da bu virus tekrar izole edilebilmiştir. Araştırmacılar³⁴ her iki boğanın da sperma örneğinin normal hacim ve yoğunlukta olduğunu fakat sperm motilitesinin yavaş ve sperma içerisinde çok sayıda ölü ve anormal spermatozoanın bulunduğunu bildirmişlerdir.

SCRAPİE

Scrapie'nin semenle bulaştığına dair hiçbir önemli bulgu yoktur. Ancak scrapienin embriyo transferi ile geçtiği ortaya konulmuştur. Embriyo transferinde 6 günlükten büyük embriyolardan yıkama ile etken uzaklaştırılmaz³⁵.

Foster ve ark.³⁶, deneysel olarak scrapie ile enfekte edilmiş koyunlardan 5-6 günlük embriyoları toplatarak, yıkamadan duyarlı koyunlara aktarmışlar ve doğan 26 kuzudan 6 tanesinde scrapienin geliştiğini tespit etmişlerdir.

ATLARIN ENFEKİYÖZ ARTERİTİSİ

Etken Arteriviridae familyasının arterivirus alt grubunda yer alır. Kısa veya uzun süre equine arteritis virus (EAV) taşıyıcısı olan aygırlar, semenleri ile virus saçarlar. Fakat bu aygırların sperm öncesi fraksiyonun-

da virus bulunmaz. EAV pozitif olan aygırlar hastalığın yayılmasında potansiyel tehlike oluştururlar^{37,38}.

BORDER DISEASE

Etken Flaviviridae familyasının pestivirus alt grubunda yer alır. Hasta koçlar spermaları ile virüsü saçabilirler. Ayrıca yapılan bir çalışmada BD virüsü hasta koyunların oositlerinden izole edilmiştir³⁹.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde herhangi bir tehlike olmaksızın embriyo transferinin yapılabilmesi için Uluslararası Embriyo Transferi Komitesince bildirilen viral hastalık etkenlerine karşı ovum, sperma ve embriyonun test edilmesi gerekir.

1987 yılında kurulan Uluslararası Embriyo Transfer Birliği (IETS), sığır embriyosu naklinde uluslararası üniformiteyi sağlamak için bazı temel ilkeler ve yıkama yöntemleri önermiştir. Yapılan çeşitli araştırma sonuçları özellikle viral hastalıklarla ilgili olarak yıkama konusunun büyük önem taşıdığını ve bu konuda bazı değişikliklerin yapılması gerektiğini ortaya koymuştur. Ticari amaçla yapılan embriyo transferinde yıkamanın iki veya üç defa ile sınırlı tutulduğu göz önünde bulundurulursa, konunun önemi daha açık bir şekilde görülebilir¹¹.

Embriyo ve sperma ithalatı yoluyla girmesi muhtemel hastalıklara engel olmanın en başta gelen yollarından biri devlet veya devlet kontrolünde özel sektör yoluyla yapılacak ithalat için güçlü ve etkili bir ithalat protokolünün uygulanmasıdır. Bu protokolda gerek Avrupa Ekonomik Topluluğu (AET) standartları, gerek ithalatın gerçekleştiği ülkelerdeki hayvan hastalıkları ve gerekse hayvanların girdiği ülkelerdeki tabloyu iyi bilmek ve uygun protokolü uluslararası standartlardan sapmadan uygulamak gereklidir¹.

Suni tohumlamada kullanılacak boğaların mutlaka sperma ile bulaşabilen viral hastalıklar yönünden kontrol edilmesi gereklidir. Ayrıca subklinik veya persiste enfekte olduğu belirlenen hayvanların eliminasyonu da suni tohumlama ve embriyo transferi yolu ile nakledilen enfeksiyonlarla mücadelede alınacak önlemler arasındadır⁴⁰.

Suni tohumlama merkezlerinde bulunan aktif durumdaki bütün boğaların serolojik kontrolden geçirilmesi, en küçük hastalık belirtilerinde özellikle sperma,

prepusyal çalkantı sıvısı, lökosit ve burun akıntısı örneklerinden virus izolasyon çalışmalarının yapılması ve serolojik kontrollerde pozitif bulunan hayvanların damızlık işlemlerden elimine edilmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

- 1 **Burgu İ, Özkul A:** Hayvan ve biyolojik madde ithalatının viral hastalıklar yönünden önemi. İkinci Hayvancılık Kongresi, Ankara, 1991.
- 2 **Afshar A, Eaglesome MD:** Viruses associated with bovine semen. *Vet Bull*, 60(2): 93-109, 1990.
- 3 **Kahrs RF, Gibbs EPJ, Larsen RE:** The search for viruses in bovine semen, a review. *Theriogenology*, 14: 151-165, 1980.
- 4 **Gillespie JH, Schlafer DH, Foote RH, Quick S, Dougherty E, Schiff E, Allen S:** Comparison of seven bovine virus bi-vine embryos following in vitro exposure. *Dtsch Tierarztl Wschr*, 97(2): 65-68, 1990.
- 5 **Potter ML, Corstvet RE, Looney CR, Fulton RW, Archbald LF, Godke RA:** Evaluation of BVDV uptake by preimplantation embryos. *Am J Vet Res*, 45(9): 1778-1780, 1984.
- 6 **Straub OC:** BHV-1 infections: Relevance and spread in Europa. *Com Immun Microbiol Infect Dis*, 14(2): 175-186, 1991.
- 7 **Games LI, Rocha MA, Souza JG, Costa HA, Barbosa-Stancioli EF:** BHV-5 in bull semen: amplification and sequence analysis of the US4 gene. *Vet Res Commun*, 27(6): 495-504, 2003.
- 8 **Van Oirschot JT, Straver PJ, Van Lieshout JAH, Quak J, Westenbrink F, Van Exsel ACA:** Asubclinical infection of bulls with BHV-1 at an artificial insemination centre. *Vet Rec*, 132(9): 32-35, 1993.
- 9 **Kohler H, Kubin G:** The virology, serology and paramorphology of the male genitalia after natural and experimental infection with the IBR/IPV virus. *Dtsch Tierarztl Wschr*, 79: 121-124, 1972.
- 10 **Kendrick JW, McEntee K:** The effect of artificial insemination with semen contaminated with IBR-IPV virus. *Cornell Vet*, 57: 3-11, 1967.
- 11 **Straub OC:** Bedeuten viren eine gefahr für den embryo transfer beim rind. *Tierarztl Umsch*, 41(12): 937-946, 1986.
- 12 **Vanroose G, Nauwynck H, Van Soom A, Vanopdenbosch E, deKruif A:** Susceptibility of zona-intact and zona-free in vitro produced bovine embryos at different stages of development to infection with BHV-1. *Theriogenology*, 47: 1389-1402, 1997.
- 13 **Beleve N, Mateva V, Milanov ML, Arnaudov Kh, Ignatov G, Angelov A:** Possibility of bovine leukosis being transmitted by semen from bulls of certain breeds. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, 23(10): 3-10 (Bg), 1986.
- 14 **Schultz RD, Adams LS, Letchworth G, Sheffy BE, Manning T, Bean B:** A method to test large numbers of bovine semen samples for viral contamination and results of a study using this method. *Theriogenology*, 17: 115-123, 1982.
- 15 **DiGiacomo RF, Studer E, Evermann JF, Evered J:** Embryo transfer and transmission of bovine leukosis virus in a dairy herd. *JAVMA*, 188:827-828, 1986.
- 16 **Luedke AJ, Walton TE, Jones RH:** Detection of bluetongue virus in bovine semen. *Proc Wld Vet Cong*, 20: 2039-2042, 1975.
- 17 **Breckon RD, Luedke AJ, Walton TE:** Bluetongue virus in bovine semen: Viral isolation. *Am J Vet Res*, 41: 439-442, 1980.

- 18 **Bowen RA, Howard TH, Elsdén RP, Seidel GE:** Embryo transfer from cattle infected with bluetongue virus. *Am J Vet Res*, 44: 1625-1628, 1983.
- 19 **Kirkland PD, Mackintosh SG, Moyle A:** The outcome of widespread use of semen from a bull persistently infected with pestivirus. *Vet Rec*, 135:527-529,1994.
- 20 **Kirkland PD, Richards SG, Rotwell JT, Stanley DF:** Replication of BVDV in the bovine reproductive tract and excretion of virus in semen during acute and chronic infections. *Vet Rec*, 22: 587-590, 1991.
- 21 **Givens MD, Heath AM, Carson RL, Brock KV, Edens MS, Wenzel JG, Stringfellow DA:** Analytical sensitivity of assays used for detection of bovine viral diarrhea virus in semen samples from the Southeastern United States. *Vet Microbiol*, 96(2): 145-155, 2003.
- 22 **McClurkin AW, Coria MF, Cutlip RC:** Reproductive performance of apparently healthy cattle persistently infected with BVDV. *JAVMA*, 174: 116-119, 1979.
- 23 **Booth PJ, Collins ME, Jenner L, Prentice H, Ross J, Badsberg JH, Brownlie J:** Association of ncpBVDV with bovine blastocysts; effects of washing, duration of viral exposure and degree of blastocyst expansion. *Vet Rec*, 6: 150-151, 1999.
- 24 **McGowan MR, Kirkland PD, Rodwell BJ, Kerr DR, Carroll CL:** Afield investigation of the effects of BVDV infection around the time of insemination on the reproductive performance of cattle. *Theriogenology*, 39: 443-449, 1993.
- 25 **Littlejohns I:** In: Viral diseases in South East Asia and the Western Pacific, 665, Academic Press, Australia, 1982.
- 26 **Singh EL, Eaglesome MD, Thomas FC, Papp-Vid G, Hare WCD:** Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infection. I. The in vitro exposure of preimplantation bovine embryos to akabane, bluetongue and BVD viruses. *Theriogenology*, 17: 437-444, 1982.
- 27 **Sellers RF, Burrows R, Mann JA, Dawe P:** Recovery of virus from bulls affected with foot and mouth disease. *Vet Rec*, 83: 303, 1968.
- 28 **Sellers RF:** Quantitative aspects of the spread of foot and mouth disease. *Vet Bull*, 41: 431-439, 1971.
- 29 **Weiss KE:** Lumpy skin disease virus. In, Gard S, Hallauer C, Mayer KF (Eds): Virology Monographs, Vol 3, 11-131. Springer-Verlag, New York, 1968.
- 30 **Parsonson IM, Snowdon WA:** Ephemeral fever virus: excretion in the semen of infected bulls and attempts to infect female cattle by the intrauterine inoculation of virus. *Aust Vet J*, 50: 329-334, 1974.
- 31 **St.George TD:** Ephemeral fever. In: Gibbs EPJ (Ed): Virus Disease of Foot Animals, Vol 2, 541-564. Academic Press, London, 1981.
- 32 **Deas DW, Johnson WS, Vantsis JT:** Isolation of PI-3 virus from the testicles of an infertile bull. *Vet Rec*, 78: 739-740, 1966.
- 33 **Weldom SL, Blue JL, Wogley RE, Lukert PD:** Isolation of picornavirus from feces and semen from an infertile bull. *JAVMA*.174(2):168-169, 1979.
- 34 **Johnson WS, Deas DW:** Isolation of a paravaccinia virus from bovine semen. *Vet Rec*, 89: 450, 1971.
- 35 **Wrathall EA:** Risks of transmitting scrapie and bovine spongiform encephalopathy by semen and embryos. *Rev Sci Tech*, 16(1): 240-264, 1997.
- 36 **Foster JD, McKelvey WAC, Mylne MJ, Williams A, Hunter N, Hope J, Fraser H:** Studies on maternal transmission of scrapie in sheep by embryo transfer. *Vet Rec*, 18: 341-343, 1992.
- 37 **Jonathan FP:** Equine viral arteritis risk from imported semen. *Vet Rec*, 19(26): 699,1998.
- 38 **OIE Manual:** Equine viral arteritis. Chapter 3.4.10: 440-448, 1996.
- 39 **Gardner AC:** The distribution and significance of border disease viral antigen in infected lambs and foetuses. *J Comp Path*, 90: 513-518, 1980.
- 40 **Yıldırım Y:** Kuzeydoğu Anadolu Bölgesindeki sığırlarda BT, IBR, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı. AÜ Sağ Bil Enst, Doktora Tezi, 2003.