

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Firat Üniversitesi Merkez Kütüphanesi  
\*0067863\*  
255.07.02.03.00.00/08/0067863  
VE D/42  
#0064659

**ELAZIĞ VE ÇEVRESİNDEKİ KOYUNLARDA  
PARAINFLUENZA-3 (PI-3) VE RESPIRATORY  
SYNCYTIAL (RS) VİRUSLARINA KARŞI SERUM  
NÖTRALİZASYON TESTİ İLE ANTİKORLARIN  
ARANMASI**

DOKTORA TEZİ

Firat Üniversitesi
Kütüphane
DAİT
Demirbaş
76-743

**Metin GÜRÇAY**  
F.Ü.VETERİNER FAKÜLTESİ  
VİROLOJİ ANABİLİM DALI

23  
D. T.  
SAĞ. BİL.

DANIŞMAN  
DOÇ. DR. Yusuf BOLAT

ELAZIĞ-1995.

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Parainfluenza-3 Virusu .....	2
2.1.1 Etiyoloji .....	2
2.1.2 Epidemiyoloji.....	3
2.1.3 Patoloji .....	4
2.1.4 Klinik Belirtiler.....	4
2.1.5 İmmünite .....	4
2.1.6 Tanı.....	6
2.1.6.1 Direkt Tanı.....	6
2.1.6.2 İndirekt Tanı.....	6
2.1.7 Kontrol.....	7
2.2. Respiratory Syncytial Virus.....	8
2.2.1 Etiyoloji .....	8
2.2.2 Epidemiyoloji.....	9
2.2.3 Patoloji .....	10
2.2.4 Klinik Belirtiler.....	11
2.2.5 İmmünite .....	12
2.2.6 Tanı .....	12
2.2.6.1 Direkt Tanı.....	13
2.2.6.2 İndirekt Tanı.....	13
2.2.7 Kontrol.....	14
3. MATERYAL VE METOT .....	15
3.1. Parainfluenza-3 Virusu.....	15
3.1.1 Virüs.....	15
3.1.2 Hücre Kültürü .....	15
3.1.3 Vasatlar.....	15
3.1.3.1 Hücre Üretme Vasatı.....	15
3.1.3.2 Virüs Üretme Vasatı.....	15
3.1.4. Dana Serumı .....	15
3.1.5 Araştırmada Kullanılan Serumlar.....	16
3.1.6 Virüsün Üretilmesi.....	16
3.1.7 Virüsün Mikrotitrasyon Yöntemi ile Enfeksiyözite Gücünün Saptanması.....	17
3.1.8 Mikronötralizasyon Testi.....	17
3.1.9 Pozitif Serumların Nötralizasyon Değerlerinin Saptanması .....	18
3.2 Respiratory Syncytial Virus.....	19
3.2.1 Virüs.....	19
3.2.2 Hücre Kültürü .....	19
3.2.3 Vasatlar.....	19
3.2.3.1 Hücre Üretme Vasatı.....	19
3.2.3.2 Virüs Üretme Vasatı.....	19
3.2.4 Dana Serumı .....	19
3.2.5 Araştırmada Kullanılan Serumlar.....	20
3.2.6 Virüsün Üretilmesi.....	20
3.2.7 Virüsün Mikrotitrasyon Yöntemi ile Enfeksiyözite Gücünün Saptanması .....	20
3.2.8 Mikronötralizasyon Testi .....	21
3.2.9 Pozitif Serumların Nötralizasyon Değerlerinin Saptanması .....	21
4. BULGULAR.....	23
4.1 Parainfluenza-3 Virusu .....	23
4.1.1 Virüsün Üretilmesi.....	23
4.1.2 Virüsün Titresi.....	23
4.1.3 Mikronötralizasyon Testi Sonuçları.....	23
4.1.4. Pozitif Serumların Serum Nötralizasyon Titreleri .....	23
4.2 Respiratory Syncytial Virus .....	24
4.2.1 Virüsün Üretilmesi .....	24

4.2.2	Virusun Titresi.....	24
4.2.3	Mikronötralizasyon Testi Sonuçları.....	24
4.2.4	Pozitif Serumların Serum Nötralizasyon Titreleeri .....	25
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	29
6.	ÖZET.....	33
7.	SUMMARY.....	34
8.	KAYNAKLAR .....	35
9.	TEŞEKKÜR.....	46
10.	ÖZGEÇMİŞ .....	47

### III

4.2.2	Virusun Titresi.....	24
4.2.3	Mikronötralizasyon Testi Sonuçları .....	24
4.2.4	Pozitif Serumların Serum Nötralizasyon Titreleeri .....	25
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	29
6.	ÖZET.....	33
7.	SUMMARY .....	34
8.	KAYNAKLAR .....	35
9.	TEŞEKKÜR.....	46
10.	ÖZGEÇMİŞ .....	47

**TABLO VE GRAFİKLER**

Tablo I	: Kontrol Edilmek Üzere Toplanan Serumların Dağılımları.....	16
Tablo II	: Kan Serumlarının Serolojik Kontrol Sonuçları.....	24
Tablo III	: P-I3 Virusu Yönünden Pozitif Serumların SN50 Değerleri.....	25
Tablo IV	: RSV Yönünden Pozitif Serumların SN50 Değerleri.....	26
GRAFİK I	: P-I3 Virusu Yönünden Pozitif Serumların SN50 Değerleri.....	27
GRAFİK II	: RSV Yönünden Pozitif Serumların SN50 Değerleri.....	27
GRAFİK III	: Pozitif Serumların % Dağılımları.....	28

## GİRİŞ

Solunum yolu hastalıkları, koyunlarda et ve yapağı üretiminde ekonomik kayıpların en önemli nedenlerindendir (2). Bu kayıpların nedeni, pneumoniye bağlı ölümler ve gelişme bozukluğu şeklindedir (25). Koyunlarda; pasteurella türleri, mantarlar, parazitler ve viruslar hafif üst solunum yolu enfeksiyonundan pneumoniye kadar değişebilen hastalığa neden olabilirler (57). Parainfluenza -3 virusu, ovine adenovirus, reovirus, respiratory syncytial virus, herpesviruslar, poxviruslar, border disease virusu koyunlarda akut solunum yolu hastalıklarına neden olabilirler. Ayrıca herpesviridae ailesinde yer alan pulmonar adenomatozis virusu ve retroviridae ailesinde yer alan visna-meadi virusu koyunlarda kronik solunum yolu hastalıklarına sebep olabilmektedirler(57). Parainfluenza-3 virus enfeksiyonunun varlığı gerek Türkiye'de ve gerekse dünyanın çeşitli ülkelerinde yapılan serolojik çalışmalar ve virus izolasyonları ile saptanmıştır(7,8,11,22,24,25,27,47,70,77). Birçok ülkede hem pneumonili, hemde klinik olarak sağlıklı koyunların serumlarında PI-3'e karşı antikorlar saptanmıştır (7,8,11,22,24,26,70,77). Koyunlarda respiratory syncytial virusuna karşı antikorların yaygın olduğu bildirilmiştir(1,2,4,21,34,44,45).

Bu çalışma, Elazığ ve ilçelerinde yetiştirilen koyunların serumlarında mikronötralizasyon testi ile PI-3 ve RS virusları enfeksiyonlarının bulunup bulunmadığını saptamayı amaçlamaktadır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Parainfluenza-3 Virusu

#### 2.1.1 Etiyoloji

Sendai virus olarak bilinen ilk parainfluenza virusu, 1953 yılında Japonya'da pneumoniden ölen bir çocuğun akciğer süspansiyonunun fareye inokule edilmesiyle izole edilmiştir (43,50,51).

PI-3 virusu insanlarda, sığırlarda, koyunlarda ve çeşitli deneme hayvanlarında akut solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan önemli bir virustur (50, 51).

PI-3 virusu Paramyxoviruslar grubunun Paramyxovirus alt grubuna dahildir. Virus tek iplikli RNA içerir, 150-200 nm. büyüklüktedir ve zarlı olup hücre membranından tomurcuklanarak olgunlaşır. Etken polimorf yapıda ve serolojik olarak tek tiptir (15, 30, 43, 50, 51, 57, 59, 67, 69). Haralambiev ve ark. (36), koyunlardan izole ettikleri PI-3 virus suşlarının elektron mikroskopta 1400-3700 Å büyüklükte, düzgün olmayan kenarları ile az veya çok yuvarlak şekilde olduklarını saptamışlardır.

Virus zarı, hemaglutinin ve nöraminidaz gibi yapı unsurları olan iki glikoprotein kapsar (39,55,57,69).

PI-3 virusu 37 °C nin üzerindeki ısılarda ve ayrıca eter ve asite maruz kaldığında çabucak inaktive olur (43,51).

Etken Fötal Dana Böbrek (FDB), Madin Darby Bovine Kidney (MDBK), İnsan embriyonik plasenta hücre kültürü(Hep-2 ), kanserli insan hücresi (He-La), insan amniyon hücre kültürleri, Maymun Böbrek Hücre Kültürü (VERO) ve civciv böbrek hücre kültürlerinde syncytium oluşumu ile tanınan sitopatik effect oluşturmakta ve buna bağlı olarak çok çekirdekli hücreler meydana getirmektedir(55). PI-3 virusu enfekte hücrelerde çekirdek içi ve stoplazma içi

inklüzyon cisimciklerinin meydana gelmesine sebep olmaktadır (39, 51, 67, 69). Ayrıca virus 9 -10 günlük embriyolu tavuk yumurtası amniyonik kesesinde de üretilmektedir (67,69). Luczak ve Korbecki (52), İnsan Amnion Hücre Kültürü (WISH), Sığır Embryosu Karaciğer Hücre Kültürü(HEB), İnsan Amnion Hücre Kültürü(Am) , Fare Fibroblast Hücre Kültürü(L929), 19 günlük Fare embriyosu Fibroblast Hücre Kültürü (C3HE), Fare Akciğer Hücre Kültürü(C3HL) gibi hücre kültürlerini PI-3 virus enfeksiyonuna karşı duyarlılıkları yönünden karşılaştırmışlardır. Virus fibroblastik kökenli hücrelerde zayıf bir üreme gösterdiği veya hiç üremediği halde epitel kökenli hücrelerde iyi bir üreme göstermiştir. Çalışmada en yüksek enfeksiyon titresini WISH hücre kültüründe saptanmıştır. Diğer bir çalışmada ise, tracheal epitel organ kültürlerine, PI-3 virusunun SF-4 suşu inokule edilmiş ve virusun epitel hücrelerde lokalize olduğu görülmüştür (71).

Etkenin, hemaglutinasyon aktivitesi nedeni ile kobay, tavuk, sığır, domuz ve insan 0 grubu eritrositlerini hemaglutine ettiği ve oda ısısında veya 37 °C'de kobay eritrositleri ile yapılan hemaglutinasyon testlerinde iyi sonuç verdiği bildirilmiştir (39,43,50,69).

### 2.1.2 Epidemiyoloji

PI-3 virus enfeksiyonu birçok ülkede yaygın bir enfeksiyondur (8,23,24,27,44,77,89). PI-3 virus enfeksiyonu genellikle subklinik enfeksiyon şeklinde olup, bulaşma indirekt olarak göz, burun akıntısı ve damlacık enfeksiyonu şeklinde olabileceği gibi indirekt olarak yem ve ahır malzemeleri insanlar ve taşıma araçları ile de olabilmektedir (69). Enfeksiyon insandan insana hava yoluyla bulaşır. Enfeksiyonun insandan hayvana geçtiğini gösteren kesin bir kanıt yoktur (50,51). Enfeksiyon genellikle Sonbahar sonu ve Kış aylarında görülürse de virus endemik olarak bütün yıl boyunca bulunur (50).

### 2.1.3 Patoloji

Virus üst solunum sistemini kaplayan mukoselüler hücrelerde çoğalır. Bu hücrelerde yıkım meydana getirir, pulmoner makrofaj fonksiyonunu zayıflatır (17). Pek çok vakada yangı alt solunum sistemine ilerler ve bronşlarda tıkanma meydana getirir. Eğer alt solunum sisteminde daha yaygın patolojik tablo oluşur ve bakteriler karışırsa hastalık akciğer ve küçük bronşlara yayılabilir ve buna bağlı olarak bronchopneumonia gelişir (51). Eozinofilik intrastoplazmik inklüzyonlar, bronşiol, bronşiolar ve alveolar hücrelerde enfeksiyondan sonra oluşur. Fakat bu inklüzyonların ayrımı güçtür (54).

### 2.1.4 Klinik Belirtiler

PI-3 virus hastalığının inkübasyon süresi 1 - 4 gündür. PI-3 virusu ile oluşan enfeksiyonların büyük bir kısmı subklinik veya hafif klinik semptomlarla seyredir. Akut seyirli PI-3 virus enfeksiyonlarında morbidite oldukça yüksektir. Enfekte hayvanlarda genellikle ateş görülmez, öksürük ve konjunktival akıntı ile birlikte bol seröz burun akıntısı vardır (57). Kuzularda direkt olarak intranasal inokulasyonlar veya solunum yoluyla virusun alınması sonucu üst solunum sisteminde klinik belirtiler görülmeksizin virus çoğalması meydana gelir. Oysa intranasal, intratracheal inokulasyonların birlikte uygulanması sonucunda ateş ve solunum güçlüğü ile karakterize şiddetli solunum sistemi bozuklukları gözlenir. Genç hayvanlarda mortalite % 6-8'dir (57,69). Hafif seyirli deneysel PI-3 enfeksiyonlarında *Pasteurella haemolytica* biyotip A komplikasyonları enfeksiyonun ağır solunum sistemi hastalığına dönüşmesine neden olur (33,54).

### 2.1.5 İmmunite

PI-3 virus enfeksiyonları sonrasında enfekte hayvanda hemaglutinasyonu önleyici, komplemanı tutucu ve nötralize edici antikorlar oluşur.

Seroepidemiyolojik çalışmalar PI-3 virusu ile oluşan ilk enfeksiyonların erken yaşlarda ortaya çıktığını göstermiştir. Kuzular analarından kolostrum yoluyla aldıkları maternal antikolar sayesinde yaşamlarının ilk birkaç ayında enfeksiyona karşı oldukça dirençli olurlar (50). Lehmkuhl ve ark. (49 ), tarafından nötralizasyon testi ile yapılan bir çalışmada ise 1 - 2 aylık 236 kuzudan toplanan kan örneklerinde; PI-3 virusuna karşı seropozitiflik oranının % 86.4 olduğu, aynı kuzulardan iki ay sonra toplanan kan örneklerinde PI-3 virusuna karşı seropozitiflik oranının % 48.3 'e düştüğü görülmüş ve bu düşüş, maternal antikordaki azalma ile açıklanmıştır.

St. George ve Liefman (78), tarafından PI-3 virusuna karşı nötralizan antikor taşıyan koyunlardan doğan 33 kuzu üzerinde yapılan çalışmada, doğumdan sonra kuzuların hepsinin PI-3 virusuna karşı maternal antikor taşıdıkları saptanmıştır. 4 ay sonra PI-3 virusuna karşı maternal antikor taşıyan kuzuların oranı düşmüştür.

Parainfluenza-3 virusu enfeksiyonu sonrası nötralizan antikolar ilk olarak nasal sekresyonlarda görülür. Bu antikolar enfeksiyondan sonra 5'ci günden 4-5'ci haftalara kadar burun salgısında tesbit edilebilir. Serumda önce IgM oluşur, bu serumdaki ilk antikor yanıttır, bunu IgG oluşumu takip eder. Hemaglutinasyon inhibisyon antikoları serumda 7.-9. günlerden önce tesbit edilemez (73).

Smith ve ark. (76), sekresyonlardaki düşük titreli maternal antikoların, yeni doğan yavrularda solunum yolu virus enfeksiyonuna karşı önemli bir koruyucu rol oynadığını bildirmişlerdir.

PI-3 virus reenfeksiyonlarında solunum sistemi sekresyonundaki nötralizan antikolar, serumdaki nötralizan antikordardan daha fazla önem taşırlar. Serumdaki nötralizan antikolar genellikle Ig G yapısında olduğu halde, nasal salgıdaki nötralizan antikolar IgA yapısındadır (51). Smith ve ark. (75), kuzuların tükürük, lakrimal sıvı ile akciğer, treachebronchial ve burun

sekresyonlarındaki immunoglobulinin ise Ig G yapısında olduğunu göstermişlerdir.

### **2.1.6 Tanı**

PI-3 virus enfeksiyonlarında klinik tanı kesin olmadığından kesin teşhis için laboratuvar yöntemlerine başvurulur. Hastalığın kesin tanılarında direkt ve indirekt laboratuvar tanı yöntemlerinden yararlanılır.

#### **2.1.6.1 Direkt Tanı**

PI-3 Virus enfeksiyonunun direk tanısı, virus izolasyonu, virus antijenlerinin ortaya konulması veya histopatolojik verilere göre yapılabilir (73).

PI-3 virus izolasyonu amacı ile burun akıntısı, burun çalkantı suyu veya nasal swap örneklerinden yararlanılabilir (39, 57, 67). Toplanan örneklerin klinik belirtilerin başlamasından hemen sonra alınması özellikle önemlidir (51). Ölen hayvanlardan virus izolasyonu için solunum sistemi numuneleri ve akciğerlerden yararlanılabilir(69). Fötal örneklerden izolasyon ise daha az olabilmektedir (51). Lehmkuhl ve Cutlip (49), transtracheal yolla PI-3 virus inokule ettikleri beş kuzunun nasal sekresyonlarından, tracheal sıvılardan ve akciğer dokularından virus izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Virus izolasyonuna veya virus antijenlerinin ortaya konulmasına paralel olarak histopatolojik verilerin değerlendirilmesi teşhisi kuvvetlendirebilir (73).

#### **2.1.6.2 İndirekt Tanı**

Brako ve ark. (8), PI-3 virus enfeksiyonunun indirekt teşhisinde mikronötralizasyon testinden yararlanarak, 158 koyun üzerinde yaptıkları seroepidemiyolojik çalışmada koyunların % 74.1'inin PI-3 virusuna karşı nötralizan antikor taşıdığını ortaya koymuşlardır. St George (77), ise 832 koyun üzerinde yaptığı araştırmada koyunların % 76.5' inin serumlarında PI-3 virusuna

karşı nötralizan antikor içerdiğini saptamış ve 1/5 serum sulandırılmasından sonra mevcut antikorları enfeksiyona bağlı antikor düzeyi olarak kabul etmiştir. Burgu ve ark.(11), Tahirova Devlet üretme çiftliği koyunlarından aldıkları 52 adet kan serumunun test edilmesinde mikronötralizasyon testinden yararlanmışlar ve 1/5 serum sulandırılmasında % 57.7'lik bir pozitifliğe rastlamışlardır.

Çokdoğan (20), 1447 koyun ve kuzu kan serumunun 113'ünde (% 7.81) nötralizan antikorları ortaya çıkarmıştır. Testte 1/5 serum sulandırılmasından itibaren mevcut antikorları enfeksiyona bağlı antikor düzeyi olarak kabul etmiştir. Aynı serum örneklerinde uygulanan HI testinde ise %1'lik kobay eritrosit süspansiyonu kullanılmış ve test sonucunda 1447 koyun serumunun 1184'ünde (% 79.3) hemaglutinasyonu inhibe eden antikorların varlığını saptamıştır. Testde pozitiflik sınırı olarak 1/20 ve daha yukarı serum titreleri kabul edilmiştir.

PI-3 virus enfeksiyonlarının indirekt teşhisinde Elazhary ve ark. (24), HI testinden yararlanmışlar ve 757 kan serumunu PI-3 virusuna karşı kontrol etmişlerdir. 1/8 ve daha yukarı antikor titrelerini pozitif kabul ederek seropozitifliği % 23.2 olarak saptamışlardır.

Adair ve ark. (2), solunum sisteminde hastalık oluşturan çeşitli virüslara karşı yapılan bir çalışmada, PI-3 virus enfeksiyonunun indirekt teşhisinde floresan antikor tekniğinden yararlanmışlar ve toplam 400 koyun serumunun % 53'ünün PI-3 virusuna karşı pozitif sonuç verdiğini saptamışlardır.

### 2.1.7 Kontrol

Lehmkuhl ve Cutlip (48), tarafından 15 koyun ve bunların kuzuları üzerinde yaptıkları çalışmada canlı PI-3 virus aşısı ile aşılama sonucu enfeksiyona karşı tam bir bağışıklılık oluşmadığı, ancak aşıtlı kuzurlarda klinik tablonun daha az şiddetli olduğu dolayısıyla aşılamanın PI-3 virus enfeksiyonunun şiddetini azaltmada yararlı olabileceğini bildirmişlerdir.

Wells ve ark. (87), adjuvant olarak çift iplikli RNA içeren, inaktive PI-3 virus aşısını spesifik patojen free (SPF) kuzularda denemişlerdir. Aşının serumda nötralizan ve hemaglutinasyonu inhibe eden antikoru stimüle ettiğini gözlemişler ve çalışma sonucu aşının reenfeksiyona karşı koruyucu olduğunu saptamışlardır.

Parainfluenza-3 virus antijenlerinin experimental olarak lokal veya paranteral uygulanması immunitiyi artırır ve hastalık belirtilerindeki pneumonik lezyonların oluşumunu önler. Bunun gibi aşılar P. haemolytica ve PI-3 virusunun kombinasyonu ile oluşmuş hastalık lezyonlarının azalmasında avantaj sağlar (74).

## **2.2. Respiratory Syncytial Virus**

### **2.2.1 Etiyoloji**

İnsan, sığır, koyun ve keçi RSV'u farelerin pneumovirusu ile birlikte paramyxovirus familyası içinde, pneumovirus genusunu oluşturmaktadır. Paramyxovirus familyası içinde, çomak şeklinde pleomorfik görünümlü virüsler yer almaktadır. Virus zarlı olup genomları linear ve tek iplikli RNA içerir (79,86). Pneumovirus genusu, paramyxovirus ve morbilli virus genuslarından virion nükleokapsitlerinin boyutları bakımından farklıdır (79,86). Morfolojik olarak virion küresel veya pleomorfik formda görülebilir. Küresel virionlar 150-300 nm. çapında filamentöz virionların uzunlukları ise birkaç mikrometreye kadar ulaşabilir. Zar üzerinde birbirinden 10 nm. uzaklıkta 12 nm. uzunlukta çiviye benzer çıkıntılar mevcuttur. Viral partiküllerin birçoğu iç yapı içermez ve tam değildirler. Bu partiküllerin enfektif olmadığı düşünülmektedir. Tam olan partiküller 13,5 nm. çapında helikal bir nükleokapsit içerirler (15, 79).

Virus eter, kloroform, % 0,25 tripsin ve % 0,1 sodium deoxycholate'a duyarlıdır. pH-3'de çabuk bir şekilde inaktive olur. Virus pH 4'ün üzerinde oldukça dirençlidir. Virus termolabildir. İnorganik tuzlar; özellikle magnezyum

ve kalsiyum gibi iki değerli katyonlar, glukoz ve sukroz inaktivasyona karşı virusu korur ( 79, 86 ).

Arıtılmış virionlar; tek iplikli bir RNA ve 8 - 9 polipeptit içerir. RNA 50 S'lik sedimentasyon değerine sahiptir. RNA'nın molekül ağırlığı  $5 \times 10^6$  daltondur. Virion RNA'sının yaklaşık % 93'ü negatif polaritelidir. Virus suşları arasındaki küçük farklılıklar dışında viriondaki polipeptit sayıları ve büyüklükleri benzerlik gösterir (79, 86).

RSV geniş bir hücre kültürü spektrumuna sahiptir, bütün hücre tiplerinde çoğalır. İnsan orjinli; embriyonik akciğer, böbrek, He-La, Hep-2, Maymun orjinli; vero, hamster orjinli; akciğer ve böbrek, sığır orjinli; böbrek, testis, tiroid, timus, duodenum, rectum ve MDBK, domuz orjinli; embriyonik böbrek, koyun orjinli; böbrek ve chorioid plexus hücre kültürlerinde üreyebilir(47, 79, 84, 86).

RSV ile enfekte hücrelerin stoplazmalarında, enfeksiyondan 16-18 saat sonra immunofloresans tekniği kullanılarak viral antijenler tesbit edilebilmektedir (79,86). Akridin orange boyası ile sarı yeşil renkte boyanan eosinofilik inklüzyon cisimcikleri çekirdek çevresinde 12 nm. çapında nokta yada çubuk şeklinde görülebilir (79). Değişik türlerden izole edilen RSV suşları komplement fiksasyon ve immunofloresans testlerinde çapraz reaksiyon verirler (79, 86 ).

Trudel ve ark. (84), sığır ve keçi RSV suşlarının morfolojik, serolojik ve polipeptit karakterleri açısından birbiri ile yakın ilişkili olduğunu ancak insan RSV'unun sığır ve keçi RSV suşundan farklı olduğunu bildirmişlerdir.

### 2.2.2 Epidemiyoloji

RSV enfeksiyonları dünyanın birçok ülkesinde yaygındır(2,12,18, 21,24, 35,38, 45,53,85). Virus, genellikle enfeksiyonun bulunmadığı ülkelere enfekte hayvan girişiyle taşınmaktadır. Virus izolasyonunun güç olması; vektörlerle

virusun taşınıp taşınmadığı veya enfeksiyonu geçiren hayvanların virüsü taşıyıp taşımadığı henüz kanıtlanmamasına rağmen bu ihtimalin düşünülmesi gerektiği bildirilmiştir(79,86). İnsanlar özellikle hayvan bakıcıları ve Veteriner Hekimler virusun taşınmasında rol alabilir. Deneysel olarak insan RSV'u ile danaların enfekte olabilmeleri, koyunlardan izole edilebilen virus ile yapılan deneysel çalışmalar, virusun türler arasında geçişinin mümkün olduğunu göstermiştir (9,86). Bir bölgede bir sürünün etkilenmesi sonucu hastalık çiftlikten çiftliğe hızla yayılabilmektedir. Daha önceden enfeksiyonun görüldüğü bölgelerde hastalık endemik bir durum gösterebilir ve aynı sürüler hemen hemen her yıl hastalıktan etkilenebilir. Özellikle 3 - 9 aylık danalar hastalığa karşı duyarlıdır (86). Bazı sürüler de virus bulunmasına rağmen herhangi bir hastalık oluşturmayabilir. Böylece sürülerde virusun varlığı zaman zaman serolojik kontroller yapılarak anlaşılmaktadır. Bazı sürülerde ise yılda bir veya iki salgın oluşabilmektedir (86). Şiddetli salgınların çoğu Ekim ve Ocak aylarında görülmektedir (79,86). Seronegatif sığırlar, sığır RSV'u ile enfekte edildikten 3-8 gün sonra burun boşluğunda virus saçmaya başlarlar; bulaşma hava yoluyla damlacık enfeksiyon şeklinde olmakta ve bulaşık su ve yemde bulaşmada rol alabileceği bildirilmektedir (79 ).

Farklı hayvan türleri RSV ile enfekte edilmiştir. Ancak klinik solunum sistemi enfeksiyonu sadece koyun, sığır, keçi ve maymunlarda gözlenmiştir ( 5, 9, 10, 13, 18, 19, 34, 45, 72, 79, 82, 83). Histopatolojik değişiklikler sadece koyun, sığır, keçi ve Cebus maymunlarında tespit edilmiştir(9,10,13,14,19, 45, 79, 82,83,86).

### 2.2.3 Patoloji

RSV enfeksiyonundan ölen hayvanlarda patolojik değişiklikler sadece solunum sisteminde görülür. Postmortem lezyonlar spesifik değildir, koyunlarda PI-3 enfeksiyonundaki bulgulara benzerdir(58).

Bryson ve ark. (9), koyunlarda izole edilen RSV suşu ile yaptıkları deneysel enfeksiyon çalışmasında koyunlarda üst solunum yollarında multifokal rinitis ve tracheitis lezyonlarının geliştiğini üst solunum yolu mukozasında, subepitelial laminapropriada lenfosit infiltrasyonu şekillendiğini; akciğerlerde bronchitis ve bronchiolitis; bronchial ve bronchiolar epiteliumda hyperplasia, peribronchiolar, perivasküler lenfosit infiltrasyonu, interalveoler septumda kalınlaşma, geniş kollaps alanları ve alveoler ödemin geliştiğini bildirmişlerdir.

Mikroskobik olarak, kranial loblarda multifokal konsolidasyon alanları, akciğerlerin tüm loblarında 1-3 cm. çapında interstisyel pneumonia odakları görülür (9, 19,28,30, 46, 72, 79,82, 83). Özellikle pneumonia odaklarında, interalveoler septum ve alveollerde mononükleer hücre infiltrasyonu, epitel hücre dökülmesi şeklindedir (46, 82).

#### 2.2.4 Klinik Belirtiler

RSV enfeksiyonu sığırlarda iki fazlı gelişir. Hastalık belirtileri genellikle 3-9 ile 15 aylık danalarda görülür. Salgın görülen sürülerde belirli yaş gruplarındaki hayvanların % 80 - 90' ının etkilendiği gözlenir (86). Hastalanan hayvanlarda öksürük, burun, göz akıntısı ve konjunktivitis vardır. Vücut ısısı yaklaşık 40 °C kadardır (5, 10, 14, 86). Bu semptomlar 2-3 gün içinde hafifler ve hastalığın ikinci fazı başlar (86). Bazı hayvanlarda bu evrede solunum güçlüğü mevcuttur, kuru bir öksürük solunum güçlüğüne eşlik eder. Vücut ısısı normale yakındır. Dakikadaki solunum sayısı 100-120'nin üzerine çıkar ve yüzeyseldir. Öksürükle birlikte durum ağırlaşır (8,10). Burun akıntısı az veya hiç olmamasına rağmen dudak kenarları köpüklüdür. Abdominal solunum başlayabilir. Hastalıktan etkilenen hayvanlar rahat solunum yapabilmeleri için ayakta durarak boynunu ileri doğru uzatır. Konstipasyon vardır. Yem yeme hemen hemen durmuştur. Mukozalar tamamen siyanotiktir. Oskultasyonda bazı sert sesler tespit edilebilir (86). Sürüde mortalite oranı %20' ye kadar ulaşabilir ( 86 ).

Koyunlarda yapılan deneysel RSV enfeksiyonlarında solunum güçlüğü, solunum sayısı ve vücut ısısında artma, burun akıntısı ve öksürük tespit edilmiştir (9, 19, 21, 46, 72, 82, 83).

RSV ile deneysel olarak enfekte olmuş koyunlarda düzenli olarak 1, 3, 7, 11, 15'ci günlerde yapılan histopatolojik ve morfolojik muayenelerde, inokulasyondan sonraki 7'ci günde bronchiolitis ile birlikte kan muayenelerinde leukocytosis, normocytic ve normochromic anemi gözlenmiştir (64).

### 2. 2. 5 İmmunite

RSV enfeksiyonunda hem çocuklarda, hemde buzağılarda maternal antikorların yaygın olduğu gözlenmiştir. Bu durum, yaşlı bireylerin sıkça reenfeksiyonu sonucu oluşur. Çocuklarda maternal antikorların IgG1 izotipinde olduğu virusun F ve G proteinleri ile reaksiyona girdikleri bildirilmiştir. Buzağılarda maternal antikorlar IgG1 izotipindedir ve bunlar sadece serumda bulunurlar ve yarı ömürleri 23 gündür. Maternal antikorlar aktif olarak mukoza yüzeylerine taşınmazlar. Buzağılarda maternal antikorlar virusun F, N ve G proteinleri ile reaksiyona girerler ve sadece kolostrum yolu ile alınabilirler (41, 42).

Buzağılarda, primer RSV enfeksiyonundan 8-10 gün sonra IgM'lerin oluştuğu, bundan kısa süre sonra ise göz, burun, akciğer ve hatta bağırsaklardan alınan örneklerde Ig A ' ların tespit edildiği bildirilmiştir (41, 42).

### 2. 2. 6 Tanı

RSV virus enfeksiyonlarında klinik tanı kesin olmadığından kesin teşhis için laboratuvar yöntemlerine başvurulur. Hastalığın kesin tanılarında direkt ve indirekt laboratuvar tanı yöntemlerinden yararlanır.

### 2.2.6.1 Direkt Tanı

RSV enfeksiyonunun başlangıç evresinde virus izolasyonu için, özellikle seröz nasal akıntı, ateş ve konjunktivitisin olduğu evrede, steril pamuk bir eküvyon ile nasal mukus alınarak protein açısından zengin hücre kültürü vasatı içeren bir tüp içerisine konur. Alınan örnekler soğuk bir kutu içerisinde en kısa sürede labratuvara gönderilir (86). RSV diğer solunum sistemi viruslarının aksine nasal mukusta çok kısa bir süre bulunur ve çoğunlukla bu dönem dikkati çekmeden geçer (86). Sitopatik evrenin geç görülmesi nedeni ile hücre kültüründe virusun izolasyonu güçtür (86). Nasal mukus ve özellikle lezyonların bulunduğu mediastinal, kranial ve apikal akciğer loblarından alınan örneklerinde direkt floresan antikor tekniği ve ELİSA testiyle viral antijenler tespit edilebilir (3,22,32,60,62,68,85,86).

Meehan ve ark. (61), deneysel olarak ergin koyunları BRSV ile enfekte etmişler enfeksiyondan 144 saat sonra, Bronchiolar epithelium, type I pneumosit ve type II pneumosit hücreler, alveolar, makrofajlar ve mononükleer hücrelerde BRSV antijenlerini indirect immunoperoxidase tekniği ile tesbit etmişlerdir.

### 2. 2. 6. 2 İndirekt Tanı

RSV serum antikorlarını ortaya koymada, komplement fikzasyon, nötralizasyon, ELISA, indirekt immunofloresans gibi değişik teknikler kullanılmaktadır (79). Nötralizan ve komplement fikzasyon antikor titrelerinin birbirine yakın olduğu ve RSV tanısında komplement fikzasyon testinin güvenilir olduğu bildirilmiştir (86). Ancak Gillette (34), komplement fikzasyon testinin ELISA ve virus nötralizasyon testine göre daha az spesifik olduğunu ileri sürmüşlerdir. Martin (56), sığırlarda RSV antikorlarını indirekt hemaglunitasyon testi kullanarak tespit etmiş ve IHA testinin SN testinden çok daha duyarlı, çok daha çabuk sonuç veren bir test olduğunu ileri sürmüştür. Davies ve Jones (21), koyunlarda IHA testi kullanarak RSV spesifik antikorlarının varlığını ortaya koymuşlardır. Adair ve Mc Ferran (1), koyun

ve sığır serumları kullanarak indirekt immunofloresan testi ile infekte hücrelerde RSV antijeni tespit etmişlerdir. Westenbrink ve Kimman(88), deneysel ve doğal enfekte sığırlarda RSV antijenlerine karşı oluşmuş antikoru radioimmunoprespitasyon ile tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

## 2. 2. 7 Kontrol

Yeni doğmuş çocukların inaktive RSV aşuları ile aşılınmaları şiddetli aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olmuştur (79). Formalinle inaktive-Freund adjuvanlı aşı ile aşılanan sığırlarda, aşılama sonucu oluşan antikoru, deneysel enfeksiyon sonrası şiddetli hastalık belirtilerine yol açmadığı bildirilmiştir. Fakat uygulanan aşı mukozal antikor yanıtı oluşturmamıştır (63, 79, 86).

Sığırlar, glutaraldehid ile tespit edilmiş BRSV enfekte hücre içeren yada saponine-quill - A adjuvanlı inaktif aşı ile aşılınmıştır. Aşılı hayvanlar üzerinde yapılan deneysel enfeksiyon çalışmalarında, aşılınmamış kontrol grubundaki hayvanların tümünde virus izole edilmesine rağmen aşılınmış olan 12 danadan sadece birinde virus izole edilebilmiştir (79,86).

Thomson ve ark. (81), sığırlarda uyguladıkları IBR, PI-3 ve RSV kombine aşısının uygulamada ekonomik yarar sağlamadığını ileri sürmüşlerdir.

### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1.Paraifluenza-3 Virus**

##### **3.1.1 Virus**

Çalışmada kullanılan PI-3, virusu A.Ü. Vet. Fak. Viroloji Bilim Dalından temin edildi.

##### **3. 1. 2 Hücre Kültürü**

Araştırmada kullanılan PI-3 virusunun üretilmesi, serum nötralizasyon testi ve SN değerlerinin tespitinde MDBK devamlı hücre kültüründen yararlanıldı. MDBK hücre kültürü A.Ü. Vet. Fak. Viroloji Bilim Dalından temin edildi.

##### **3. 1. 3 Vasatlar**

###### **3.1.3.1 Hücre Üretme Vasatı.**

% 10 dana serumu içeren hazır Eagle MEM vasatı kullanıldı.(Seromed Cat.No.T031-10/Biochrom KG Berlin)

###### **3.1.3.2 Virus Üretme Vasatı.**

Serumsuz hazır Eagle MEM vasatı kullanıldı.

##### **3.1.4 Dana Serum**

Hücre kültürü çalışmalarında gerekli olan dana serumu Et Balık Kurumu (E.B.K) Elazığ Et Kombinasında kesilen danalardan sağlandı. Serumlar 56 °C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra Seitz filtrasyon yöntemi ile sterilize edildi.

Şişelere bölünen serum, sterilite kontrolünden sonra  $-20^{\circ}\text{C}$ ' lik derin dondurucuda saklandı.

### 3.1.5 Araştırmada Kullanılan Serumlar

Serum nötralizasyon testi ile serolojik kontrolleri yapılan 436 koyun kan serumu Elazığ Merkez, Kovancılar, Baskil, Maden, Sivrice, Karakoçan ilçeleri ve Elazığ Et Balık Kurumu Mezbahasından sağlandı (Tablo I). Alınan serumlar kullanılmadan önce  $56^{\circ}\text{C}$ 'de su banyosunda 30 dakika inaktive edildi. Sterilite kontrolünden sonra kullanılıncaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

Tablo 1. Kontrol edilmek üzere toplanan serumların dağılımları

Sıra no	Alındığı Yer	Serum sayısı
01	Merkez	92
02	Kovancılar	44
03	Baskil	35
04	Maden	31
05	Sivrice	27
06	Karakoçan	23
07	E.B.K.	184
Toplam		436

### 3.1.6 Virusun Üretilmesi

PI-3 virusunu üretmek amacı ile 125 ml.lik doku kültürü şişelerinde üretilen MDBK hücre kültürlerinden herbirine 1ml. olmak üzere inokulasyonlar yapıldı.  $37^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış  $\text{CO}_2$ 'li etüvde 1 saat adsorbsiyona bırakılan hücre kültürlerine bu süre sonunda virus üretme vasatı olarak serumsuz EAGLE MEM eklendi ve tekrar  $37^{\circ}\text{C}$ 'lik  $\text{CO}_2$ 'li etüvde üremeye bırakıldı. Viruslu hücre

kültüründe, kontrol hücre kültürüne oranla % 60-80 arası sitopatolojik değişiklikler meydana geldiği zaman viruslu hücre kültürü şişeleri derin dondurucuda dondurulup tekrar çözündürüldükten sonra 3000 devirde +4°C'de 30 dakika santrfüj edildi.

Santrfüj sonrası dibe çöken hücreler üzerindeki viruslu EAGLE MEM alınarak sterilite kontrolü yapıldı ve 1.0 ml.'lik miktarlar halinde likit nitrojende saklandı.

### **3.1.7 Virusun Mikrotitrasyon Yöntemi ile Enfeksiyözite**

#### **Gücünün Saptanması**

Bu amaçla Frey ve Liess (31)'in bildirdikleri yöntem kullanıldı. Likit nitrojende dondurulmuş PI-3 virusundan bir ampül virus çıkarıldı. EAGLE MEM içinde log10 tabanına göre sulandırıldı. Her sulandırma basamağından mikrotitrasyon tablasında 4 göze 0.1 er ml. kondu. Virus kontrol için 4 göze 0.05 ml. serumsuz EAGLE MEM vasatı ve 0.05 ml. sulandırılmamış virusdan, hücre kontrolü için 4 göze 0.1 ml. serumlu EAGLE MEM kondu. Virus sulandırmaları ve kontrolleri üzerine özel pipet yardımı ile 0.05 ml. MDBK hücresi ( $2.5 \times 10^5$  hücre/ml) damlatıldı. Mikrotitrasyon tablasının üzeri toksik olmayan yapıştırıcı bant ile kapatılarak 37°C'lik CO<sub>2</sub>'li etüvde inkübasyona bırakıldı. Hergün doku kültürü mikroskopunda hücrelerde meydana gelen değişiklikler kontrol edilerek sonuçlar Kaerber (40)'e göre hesaplandı.

### **3.1.8 Mikronötralizasyon Testi**

Çalışmada PI-3 virusuna karşı koyun serumlarındaki nötralizan antikor varlıkları mikronötralizasyon testiyle araştırıldı.

Test Frey ve Liess(31)'in bildirdikleri yöntemine göre yapıldı. Kontrol edilecek serumlar; 1/5 oranında sulandırıldı. Her bir serum ve/veya sulandırmalar mikronötralizasyon tablasındaki 4 göze 0.05 ml. kondu. Bu

serum ve/veya sulandırmalar üzerine 0.05 ml. titresi bilinen virustan ( $100 \text{ DKID}_{50} = 10^{-2.7} / 0.05 \text{ ml}$ ) ilave edildi. Mikronötralizasyon tablasının üzeri hücreler için toksik olmayan özel yapıştırıcı bant ile kapatılarak  $37^{\circ}\text{C}$ 'lik  $\text{CO}_2$ 'li etüvde 2 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tablanın üzerindeki bant kaldırılarak özel pipet yardımı ile gözlere 0.05 ml. MDBK hücresi (% 10 F.C.S'lu,  $2.5 \times 10^5$  hücre / ml.) damlatıldı. Tablanın üzeri tekrar özel şeffaf bant ile örtülerek  $37^{\circ}\text{C}$ 'lik  $\text{CO}_2$ 'li etüve bırakıldı. Doku kültürü mikroskopunda her gün yapılan kontrollerle PI-3'de 3. gün sonunda, meydana gelen sitopatolojik değişikliklere göre değerlendirildi.

### 3.1.9 Pozitif Serumların Nötralizasyon Değerlerinin Saptanması

Mikronötralizasyon testi sonunda; PI-3 virusuna karşı 1/5 sulandırmada pozitif çıkan serum örneklerindeki antikor titreleri yine mikronötralizasyon yöntemi ile saptandı. Pozitif serumlar, EAGLE MEM içerisinde deney tüplerinde 1/5 oranında sulandırıldı. Bu sulandırmalardan mikronötralizasyon tablasının ilk sırasındaki dört göze 0.1 ml.kondu . İlk sıranın altındaki gözlere özel pipet yardımı ile 0.05 ml. EAGLE MEM vasatı damlatıldı. Daha sonra özel mikrosulandırıcı pipet yardımı ile en üst sırada bulunan serum sulandırmalarından başlamak ve daha alt sıradaki gözlere 0.05'er ml. taşımak suretiyle serumlar 1/640'a kadar sulandırıldı. Sulandırma işleminden sonra bütün gözlere titresi bilinen virustan ( $100 \text{ DKID}_{50} = 10^{-2.7}/0.05 \text{ ml}$ ) özel pipet yardımı ile 0.05 ml. damlatıldı. Mikronötralizasyon tablasının üzeri hücreler için toksik etkisi olmayan yapıştırıcı ile örtülerek  $37^{\circ}\text{C}$ 'lik  $\text{CO}_2$ 'li etüvde 1 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda tablanın üzerindeki bant kaldırılarak her göze özel pipet yardımı ile MDBK hücre süspansiyonundan (% 10 F.C.S'lu,  $2 \times 10^5$  hücre / ml). 0.05 ml.damlatıldı. Tablanın üzeri yeniden özel bant ile örtülerek  $37^{\circ}\text{C}$ 'lik  $\text{CO}_2$ 'li etüve bırakıldı.Daha sonra doku kültürü mikroskobu altında yapılan kontrollerle

3.gün sonunda pozitif serumlardaki antikor titreleri Kaerber (40)'a göre hesaplandı.

### **3.2. Respiratory Syncytial Virus**

#### **3.2.1 Virus**

Çalışmada kullanılan RS Virusu A.Ü.Vet.Fak.Viroloji Bilim Dalı'ndan temin edildi.

#### **3.2.2 Hücre Kültürü**

Araştırmada kullanılan RS virusunun üretilmesi, serum nötralizasyon testi ve SN değerlerinin tespitinde MDBK devamlı hücre kültüründen yararlanıldı. MDBK hücre kültürü A.Ü. Vet. Fak. Viroloji Bilim Dalından temin edildi.

#### **3.2.3 Vasatlar**

##### **3.2.3.1 Hücre Üretme Vasatı.**

% 10 dana serumu içeren hazır Eagle MEM vasatı kullanıldı.(Seromed Cat.No.T031-10/Biochrom KG Berlin)

##### **3.2.3.2 Virus Üretme Vasatı.**

Serumsuz hazır Eagle MEM vasatı kullanıldı.

#### **3.2.4 Dana Serumu**

Hücre kültürü çalışmalarında gerekli olan dana serumu Et Balık Kurumu (E.B.K) Elazığ Et Kombinasında kesilen danalardan sağlandı. Serumlar 56°C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra Seitz filtrasyon yöntemi ile sterilize edildi. Şişelere bölünen serum, sterilite kontrolünden sonra -20°C' lik derin dondurucuda saklandı.

### 3.2.5 Araştırmada Kullanılan Serumlar

PI-3 için test edilen serumların aynısı RSV içinde test edildi.

### 3.2.6 Virusun Üretilmesi

RS virusunu üretmek amacı ile 125 ml.lik doku kültürü şişelerinde üretilen MDBK hücre kültürlerinden herbirine 1ml. olmak üzere inokulasyonlar yapıldı. 37°C'lik CO<sub>2</sub>'li etüvde 1 saat adsorbsyona bırakılan hücre kültürlerine bu süre sonunda virus üretme vasatı olarak serumsuz EAGLE MEM eklendi ve tekrar 37°C'lik CO<sub>2</sub>'li etüvde üremeye bırakıldı. Viruslu hücre kültüründe, kontrol hücre kültürüne oranla % 60-80 arası sitopatolojik değişiklikler meydana geldiği zaman viruslu hücre kültürü şişeleri derin dondurucuda dondurulup tekrar çözündürüldükten sonra 3000 devirde +4°C'de 30 dakika santrfüj edildi.

Santrfüj sonrası dibe çöken hücreler üzerindeki viruslu EAGLE MEM alınarak sterilite kontrolü yapıldı ve 1.0 ml.'lik miktarlar halinde likit nitrojende saklandı.

### 3. 2. 7 Virusun Mikrotitrasyon Yöntemi ile Enfeksiyozite

#### Gücünün Saptanması

Bu amaçla Frey ve Liess (31)'in bildirdikleri yöntem kullanıldı. Likit nitrojende dondurulmuş RS virusundan bir ampül virus çıkarıldı. EAGLE MEM içinde log<sub>10</sub> tabanına göre sulandırıldı. Her sulandırma basamağından mikrotitrasyon tablasında 4 göze 0.1 er ml. kondu. Virus kontrol için 4 göze 0.05 ml. serumsuz EAGLE MEM vasatı ve 0.05 ml. sulandırılmamış virusdan, hücre kontrolü için 4 göze 0.1 ml. serumlu EAGLE MEM kondu. Virus sulandırmaları ve kontrolleri üzerine özel pipet yardımı ile 0.05 ml. MDBK hücresi (2 x10<sup>5</sup> hücre/ml) damlatıldı. Mikrotitrasyon tablasının üzeri toksik olmayan yapıştırıcı bant ile kapatılarak 37°C'lik CO<sub>2</sub>'li etüvde inkübasyona

birakıldı. Hergün doku kültürü mikroskobunda hücrelerde meydana gelen değişiklikler kontrol edilerek sonuçlar Kaerber (40)'a göre hesaplandı.

### 3.2.8 Mikronötralizasyon Testi

Çalışmada RS virusuna karşı koyun serumlarındaki nötralizan antikor varlıkları mikronötralizasyon testiyle araştırıldı.

Test Frey ve Liess (31)'in bildirdikleri yöntemine göre yapıldı. Kontrol edilecek serumlar; 1/2 oranında sulandırıldı. Her bir serum ve/veya sulandırmalar mikronötralizasyon tablasındaki 4 göze 0.05 ml. kondu. Bu serum ve/veya sulandırmalar üzerine 0.05 ml. titresi bilinen virustan ( $100 \text{ DKID}_{50} = 10^{-2.95} / 0.05 \text{ ml}$ ) ilave edildi. Mikronötralizasyon tablasının üzeri hücreler için toksik olmayan özel yapıştırıcı bant ile kapatılarak  $37^{\circ}\text{C}$ 'lik  $\text{CO}_2$ 'li etüvde 2 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tablanın üzerindeki bant kaldırılarak özel pipet yardımı ile gözlere 0.05 ml. MDBK hücresi (% 10 F.C.S'lu,  $2.5 \times 10^5$ , hücre / ml.) damlatıldı. Tablanın üzeri tekrar özel şeffaf bant ile örtülerek  $37^{\circ}\text{C}$ 'lik  $\text{CO}_2$ 'li etüve bırakıldı. Doku kültürü mikroskobunda her gün yapılan kontrollerle 7-10. günlerde meydana gelen sitopatolojik değişikliklere göre değerlendirildi.

### 3.2.9 Pozitif Serumların Nötralizasyon Değerlerinin Saptanması

RS virusuna karşı mikronötralizasyon testi sonunda 1/2 serum sulandırmasında pozitif bulunan serum örneklerindeki antikor titreleri yine mikronötralizasyon yöntemi ile saptandı. Pozitif serumların her biri mikronötralizasyon tablasının ilk 4 gözüne 0.05 ml. kondu. Daha sonra özel pipet yardımı ile tablanın bütün gözlerine 0.05 ml. EAGLE MEM damlatıldı. Çok kanallı mikrosulandırıcı pipet yardımı ile ilk gözlerden başlayarak alt sıraya 0.05 ml. taşındı. Sonuç olarak serumlar 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256 oranlarında sulandırıldı. Sulandırma işleminden sonra titresi bilinen

virustan ( $100DKID_{50}=10^{-2.95} / 0.05 \text{ ml}$ ) özel pipet yardımı ile tablanın bütün gözlerine 0.05 ml. damlatıldı. Mikronötralizasyon tablasının üzeri özel yapıştırıcı bant ile kapatıldı.  $37^{\circ}\text{C}$ 'lik  $\text{CO}_2$ 'li etüvde 1 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda tablanın üzerindeki bant kaldırılarak her göze özel pipet yardımı ile MDBK hücre kültürü süspansiyonu (% 10 F.C.S' lu,  $2 \times 10^5$  hücre / ml). 0.05 ml. konuldu. Tablanın üzeri yeniden özel yapıştırıcı bant ile kapatıldı.  $37^{\circ}\text{C}$ 'lik  $\text{CO}_2$ 'li etüvde inkübasyona bırakıldı. 7-10 gün sonra hücre kültürü mikroskobu ile yapılan kontrollerden sonra sitopatolojik değişikliklere göre değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Parainfluenza-3 Virus

#### 4.1.1 Virusun Üretilmesi

PI-3 virusu MDBK hücre kültüründe yapılan inokulasyonda 3. gün sonunda; kendine özel sitopatolojik değişiklikler oluşturdu.

#### 4.1.2 Virusun Titresi

Araştırmada kullanılan virusların mikrotitrasyon yöntemi ile yapılan titrasyonlarında PI-3 virusunun enfeksiyözite gücü 3. gün sonunda  $DKID_{50}=10^{-5}/0.1$  ml. olarak saptandı.

### 4. 1. 3 Mikronötralizasyon Testi Sonuçları

Mikronötralizasyon testi ile PI-3 virus antikorları yönünden kontrolleri yapılan 436 koyun kan serumunun 191 adedi (% 43.80) 1/5 sulandırmada PI-3 virusuna karşı pozitif bulundu. Pozitif serumların alındığı yerlere göre dağılımları Tablo II de gösterilmektedir.

#### 4.1.4 Pozitif Serumların Serum Nötralizasyon Titreleleri

PI-3 virusuna karşı 1/5 serum sulandırılmasında pozitif sonuç veren 191 serumun mikronötralizasyon yöntemiyle saptanan serum nötralizasyon değerleri ( $SN_{50}$ ) ve bunların dağılımları Tablo III de gösterilmiştir.

Tablo III de görüldüğü gibi, PI-3 virusuna karşı pozitif serumların en düşük  $SN_{50}$  değerleri 1:8.22, en yüksek  $SN_{50}$  değerleri ise 1:316.22 olarak saptanmıştır.

Tablo II. Kan Serumlarının Serolojik Kontrol Sonuçları

Sıra No:	Yeri	Serum Sayısı	PI-3(+)	RSV(+)
01	Merkez	92	56 (% 60.86)	36 (% 39.13)
02	Kovancılar	44	15 (% 34.09)	13 (% 29.54)
03	Baskil	35	28 (% 80.00)	26 (% 74.28)
04	Maden	31	14 (% 45.16)	11 (% 35.48)
05	Sivrice	27	10 (% 37.03)	5 (% 18.51)
06	Karakoçan	21	13 (% 56.52)	7 (% 30.43)
07	E.B.K.	184	55 (% 29.89)	58 (% 31.52)
Genel Toplam		436	191 (% 43.80)	156(% 35.77)

## 4.2. Respiratory Syncytial Virus

### 4.2.1 Virusun Üretilmesi

RS Virusu MDBK Hücre kültüründe yapılan inokulasyonda 7-10. günlerde karakteristik sitopatolojik değişiklikler oluşturdu.

### 4.2.2 Virusun Titresi

RSV' unun enfeksiyözite gücü 10. günde  $DKID_{50} = 10^{-5.25}$ / 0.1 ml. olarak saptandı.

### 4.2.3 Mikronötralizasyon Testi Sonuçları

Mikronötralizasyon testi ile RSV virusu antikorları yerine kontrolleri yapılan 436 koyun kan serumunun, 156 adedi (% 35.77) 1/2 serum sulandırmasında RSV'una karşı pozitif bulundu. Sonuçlar Tablo II de verilmiştir.

#### 4.2.4 Pozitif Serumların Serum Nötralizasyon Titreleri

RSV'ye karşı 1/2 serum sulandırmasında pozitif sonuç veren 156 serumların mikronötralizasyon yöntemiyle saptanan serum nötralizasyon değerleri (SN<sub>50</sub>) Tablo IV de verilmiştir.

Tablo III. PI-3 Virusu Yönünden Pozitif Serumların SN<sub>50</sub> Değerleri

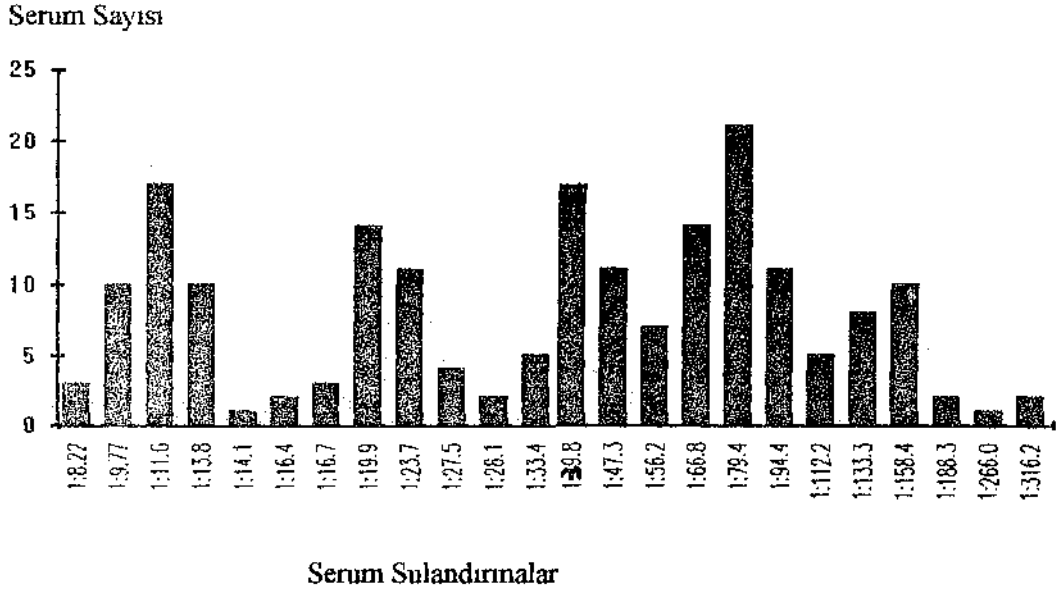
Serum Sulandırmaları	Serum Sayısı	(%)
1 : 8.22	3	1.5
1 : 9.77	10	5.23
1 : 11.6	17	8.96
1 : 13.8	10	5.23
1 : 14.1	1	0.52
1 : 16.4	2	1.04
1 : 16.7	3	1.57
1 : 19.9	14	7.32
1 : 23.7	11	5.75
1 : 27.5	4	2.09
1 : 28.1	2	1.04
1 : 33.4	5	2.61
1 : 39.8	17	8.89
1 : 47.3	11	5.75
1 : 56.2	7	3.66
1 : 66.8	14	7.32
1 : 79.4	21	10.9
1 : 94.4	11	5.75
1 : 112.2	5	2.65
1 : 133.3	8	4.18
1 : 158.4	10	5.23
1 : 188.3	2	1.04
1 : 266.0	1	0.52
1 : 316.2	2	1.04
<b>Toplam</b>	<b>191</b>	<b>100.00</b>

Tablo IV. RSV Yönünden Pozitif Serumların SN<sub>50</sub> Değerleri

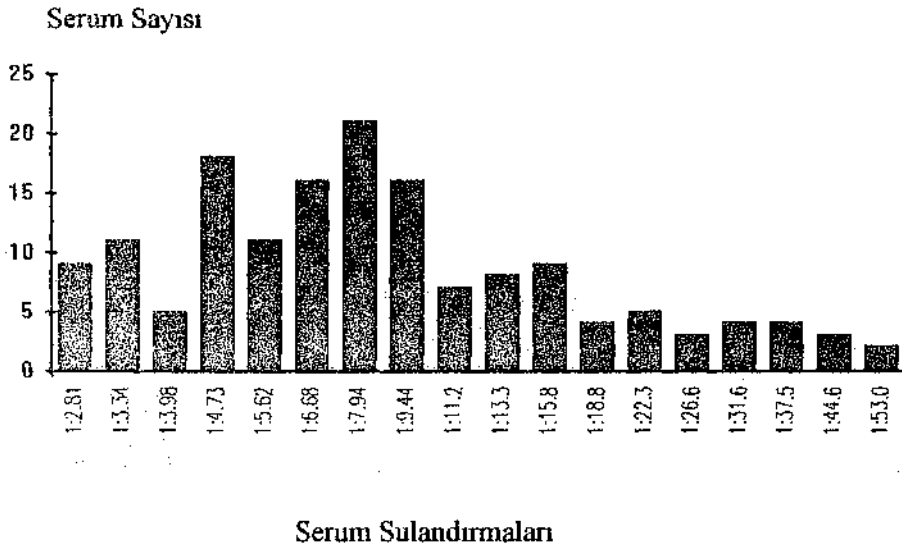
Serum Sulandırılmaları	Serum Sayısı	%
1 : 2.81	9	5.76
1 : 3.34	11	7.05
1 : 3.98	5	3.20
1 : 4.73	18	11.53
1 : 6.68	16	10.25
1 : 7.94	21	13.46
1 : 9.44	16	10.25
1 : 11.2	7	4.48
1 : 13.3	8	5.12
1 : 15.8	9	5.76
1 : 18.8	4	2.56
1 : 22.3	5	3.20
1 : 26.6	3	1.92
1 : 31.6	4	2.56
1 : 37.5	4	2.56
1 : 44.6	3	1.92
1 : 53.0	2	1.18
Toplam	156	100.00

Tablo da görüldüğü gibi RSV'ye karşı pozitif serumların en düşük SN<sub>50</sub> değerleri 1:2.81, en yüksek SN<sub>50</sub> değerleri ise 1:53.0 olarak saptanmıştır.

Grafik I . PI - 3 Virusu Yönünden Pozitif Serumların  
SN50 Değerleri

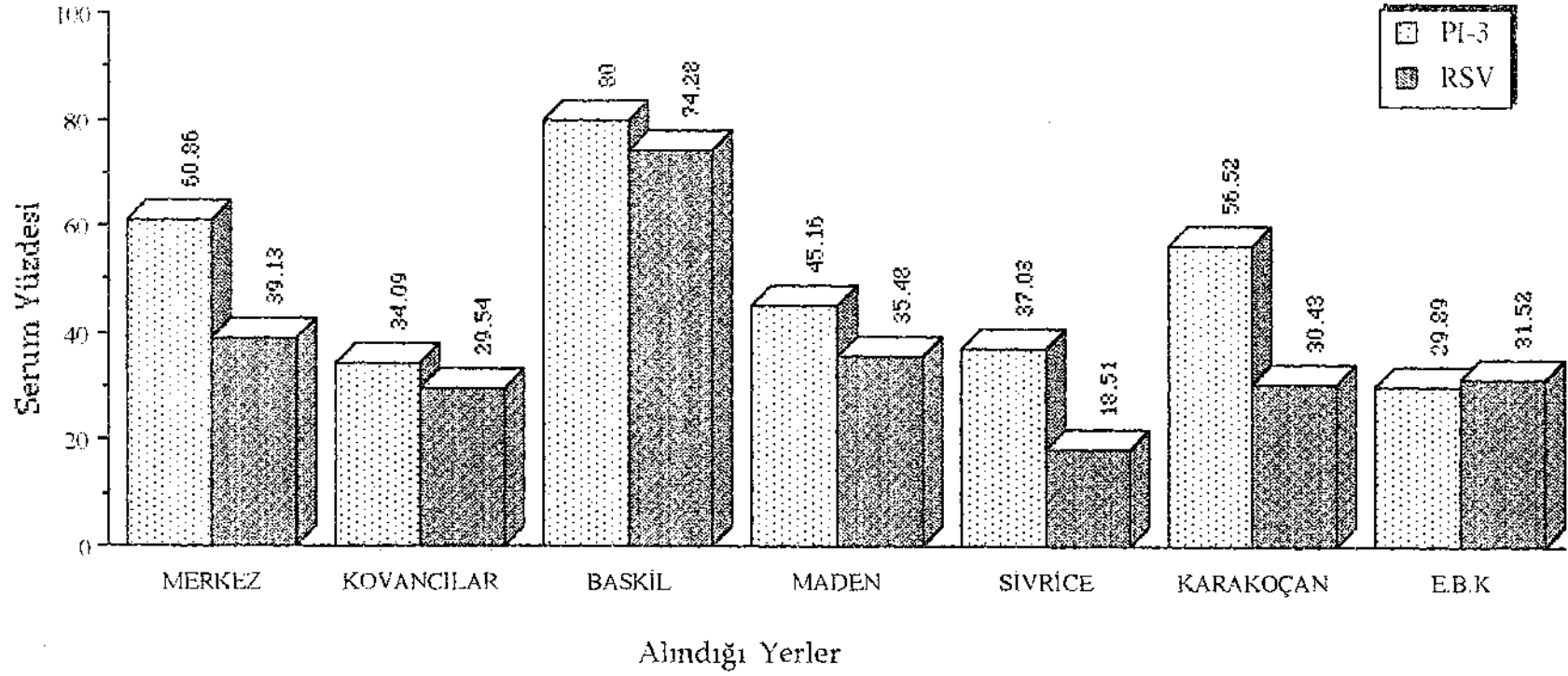


Grafik II . RSV Yönünden Pozitif Serumların  
SN50 Değerleri



Grafik. III

Pozitif Serumların % Dağılımları



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

St. George(77), Avusturalya'da 832 koyun üzerinde yaptığı çalışmada 1/5 serum sulandırmasında koyun serumlarının % 76.5'inde, Rosadio ve ark. (70), Peru'nun üç ayrı bölgesinde topladıkları 34 koyun kan serumunun % 82.3'ünde, Brako ve ark.(8), tarafından Güneydoğu ve Güneybatı Luisiana'da 8 sürüden aldıkları 158 koyun kan serumunda 1/2 serum sulandırmasında % 74.1'inde, Jetteur ve ark. (38), Zairede 122 koyun kan serumunda yaptığı çalışmada koyunların % 1.6'sında, Maiga ve Sarr(54), Malide 1591 koyun ve keçi kan serumunun % 26,4 ünde, PI-3 virusuna karşı nötralizan antikorların varlığını saptamışlardır.

Taylor ve ark. (80), Nijerya' nın Kuzeyinden topladıkları 264 koyun kan serumunun % 60' ında, Eisa ve ark. (23), Sudan'da 197 koyun kan serumunun % 36.4'ünde, Elazhary ve ark. (24), 757 koyun kan serumundan % 23.2'sinde, Züpancic ve ark. (90), Yugoslavya'nın Croatia bölgesinde 1065 koyun kan serumunun % 17,74'ünde, PI-3 virusuna karşı 1/8 ve daha yukarı titrelerde HI antikoru saptamışlardır.

PI-3 virusuna karşı, Lamontagne ve ark. (44), Kanada'nın Quebec bölgesinde 182 koyun sürüsü üzerinde HI testiyle yaptıkları çalışmalar sonucunda 1/10 ve yukarı sulandırmalarda pozitif reaksiyon verenlerin oranını %28, Prosperi ve ark. (65), İtalya'nın İmola bölgesinde 766 koyun üzerinde HI testiyle yaptıkları çalışmada seropozitifliği % 68, Chiocco ve ark. (16), İtalya'nın Matera bölgesinde 17 koyun sürüsünden topladıkları 1103 koyun kan serumunda HI testiyle seropozitiflik oranını % 26, Honger ve ark. (37), 883 koyun kan serumunda yaptıkları HI testiyle Avusturya' da seropozitifliği % 27.9 olarak tespit etmişlerdir.

Adair ve ark. (2), Kuzey İrlanda'da 400 adet koyun serumunda PI-3 virusuna karşı floresan antikor testiyle seropozitiflik oranını % 53 olarak bulmuşlardır.

Türkiyede ise; PI-3 virusuna karşı Erhan ve ark. (26), HI testiyle 254 koyun kan serumundan % 59'unda, Erhan ve Martin (25), tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise Batı Anadoludan toplanan 333 koyun serumunda HI testi ile % 80 'inde antikor tespit etmişlerdir.

Burgu ve ark. (11), Tahirova Devlet Üretme çiftliği koyunlarından aldıkları 52 adet koyun kan serumundan 30'unda (% 57.7) PI-3 virusuna karşı nötralizan antikorları saptamışlardır. Çokdoğan (20), Türkiye'nin değişik bölgelerinden topladığı 1447 koyun kan serumunda nötralizasyon testiyle % 7.81 oranında, aynı serumlarda HI testiyle % 79.33 oranında bir pozitifliğe rastlamıştır.

Bölgemizde Bolat ve ark. (7), Elazığ mezbahasına getirilip kesilen 311 sığıra ait serumların mikronötralizasyon testi sonucunda 27 tanesinde (% 11 .8) PI-3 virusuna karşı nötralizan antikorlara rastladıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda Elazığ ve çevresinden toplanan 436 adet koyun kan serumundan 191'inde (% 43.80) PI-3'e karşı nötralizan antikorlar tespit edilmiştir.

Davies ve jones (21), IHA testiyle koyunlarda yaptıkları seroepidemiolojik çalışmada 1/16 serum sulandırmasında hemaglutinasyon veren serumları pozitif olarak değerlendirerek Yeni Zelanda'da RSV' una karşı seropozitifliği % 29.93 olarak bildirmişlerdir.

Goyal ve ark. (35), Minnesota Üniversitesi çiftliğine ait 378 kuzuda yaptıkları seroepidemiolojik çalışmada, kuzuların 200'ünde (% 52.9) BRSV'ye karşı nötralizan antikorları bulmuşlardır. Araştırmacılar 1/2 serum sulandırmasında antikor tespit edilen serumları pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Nötralizan antikor titresinin 1/2-1/16 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Elazhary ve ark. (24), Quebec'te indirekt floresan antikor tekniği ile yaptıkları bir çalışmada keçi ve koyunların %31'inde, Berthiaume ve ark. (4), Quebec'te topladıkları 31 koyun serumunda komplement fikzasyon testiyle % 81'inde, Honger ve ark. (37), Avusturya'da 883 koyun serumunda mikronötralizasyon testi ile 1/16-1/64 arasında değişen titrelerde, serumların 46'sında (% 5.2)RSV antikorlarına rastlamışlardır.

Farah ve ark. (29), İtalya'nın Apulia bölgesindeki sürülerden toplanan 436 koyun kan serumundan 236 tanesinde (%54) indirect immuno-fluorescence testi kullanarak BRSV antikorlarını ortaya çıkarmışlardır.

Burgu ve ark. (20), Türkiye'nin değişik bölgelerinden sağlanan sığır kan serumlarında yaptıkları serolojik çalışmada kontrol edilen sığır popülasyonu içinde % 42.12'lik oranında serumların pozitif olduklarını ve RSV'nin Türkiye'de sığırlarda enfeksiyona sebep olduğu ilk defa tespit etmişlerdir.

Pulat (66), Türkiye'nin değişik bölgelerinden sağladığı 1092 koyun serum örneğinden 384'ünde (% 35.86) RSV'una karşı serum nötralizasyon testiyle 1/2'den 1/16'ya kadar değişen titrelerde nötralizan antikorların varlığını ortaya koymuştur; aynı serum örneklerinde yapılan IHA testi sonucunda 1092 serum örneğinin 379'u (% 34.70) 1/16 - 1/2048 arasındaki serum sulandırılmalarında hameglutinasyon aktivitesi gösterdiğini saptamışlardır.

Bolat (6), sığırlarda Respiratory Syncytial virus enfeksiyonlarının dağılımını saptamak amacı ile Elazığ mezhasına getirilerek kesilen 336 sığıra ait kan serumunu BRSV antikorları yönünden mikronötralizasyon testine tabi tutmuş ve 147'sini (% 43.75) 1/2 serum sulandırmasında pozitif bulmuştur. Bu 147 serumun 53' ündeki nötralizan antikor titreleri 1/2.82 - 1/74.9 arasında tespit edilmiştir.

Çalışmamızda Elazığ ve çevresinden sağlanan 436 adet koyun kan serumunun mikronötralizasyon testiyle kontrol edilmesi sonucu BRS virusuna karşı 156' sında (%35.77) 1/2.81-1/53.0 oranında değişen titrelerde antikorlar tespit edilmiştir.

Daha önce yapılan birçok araştırmalarda nötralizasyon testi ile PI-3 virus enfeksiyonlarının % 7.81- % 82.3, koyunlarda RSV enfeksiyonlarının % 5.2- %52.9 arasında değişen bir insidense sahip olduğu görölmüştür. Bu araştırmada PI-3 için % 43.80 ve RSV için elde edilen % 35.77'lik seropozitiflik değeri diğer araştırmalarda saptanan değerler arasında yer aldığı görölmektedir.

Sonuç olarak gerek dünyanın çeşitli ölkelerinde ve gerekse Türkiye'nin değişik bölgelerinde koyunlarda yaygın olarak bulunduğu bildirilen PI-3 Virusu ve RSV enfeksiyonlarının Elazığ ve çevresinde yetiştirilen koyunlarda bulunduğu ortaya konmuştur.

## 6. ÖZET

Elazığ ve çevresinden sağlanan 436 koyun kan serumunda, Parainfluenza-3 ve Respiratory Syncytial Viruslarına , karşı antikorlar serum nötralizasyon testi kullanılarak araştırıldı.

Toplam 436 koyun kan serum örneğinden 191'inde ( %43.80) serum nötralizasyon testi ile 1:8.22'den 1:316.2'ye kadar değişen titrelerde PI-3 virusuna karşı nötralizan antikorlar tespit edildi. Aynı kan serumlarından 156'sında (%35.77) 1:2.81'den 1:53.00'a kadar değişen titrelerde RSV'ye karşı nötralizan antikorlar tespit edildi.

Elazığ ve çevresinden sağlanan 436 koyun kan serumu örneğinde, mikronötralizasyon testi ile PI-3 virusuna karşı 1/5 serum sulandırmasında 191'inde(% 43.80), RSV'ye karşı 1/2 serum sulandırmasında 156'sında (% 35.77) nötralizan antikorlar tespit edilmiştir.

## 7. SUMMARY

In 436 sheep sera collected from various regions of Elazığ were investigated for antibodies against (PI-3) Parainfluenza-3 virus and respiratory syncytial virus (RSV) using serum neutralisation test (SN).

Against to PI-3 virus in 191 (%43.80) of 436 sheep sera samples, neutralising antibodies titres ranged from 1:8.22 to 1:316.2 ; against to RSV in 156 (%35.77) of 436 sheep sera samples neutralising antibodies titres ranged from 1:2.81 to 1:53.0 were detected by SN assay.

In 436 sheep sera collected from various regions of Elazığ were detected anti PI-3 virus antibodies 191 (%43.80) dilution at 1/5 higher rates, anti RSV virus antibodies 156 (% 35.77) dilution at 1/2 higher rates, using serum neutralization (SN) test.

**8. KAYNAKLAR**

1. Adair, B.M. and Mc Ferran, J.B. (1987). Differences in Fluorescent Antibody Staining of Bovine Respiratory Syncytial Virus Infected Cells by Ovine and Bovine Sera. *Vet. Mikrobiol.*,13:87 -91.
2. Adair,B.M., Mc Ferran,W.B., Mc Killop,E.R. and Mc Cullough (1984). Survey for Antibodies to Respiratory Viruses in two Grups of Sheep in Northern Ireland. *Vet. Rec.* 115:403 - 406.
3. Ahluwalia,G.,Embree, J., Mc Nicol, P., Law, B. and Hammond G.W.(1987). Comparison of Nasopharengeal Aspirate and Nasopharengeal Swap Specimens for Respiratory Syncytial Virus Diagnosis by Cell Culture, Indirect Immunofluorescence Assay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J. Clin. Microbiol.*,25:763 - 767.
4. Berthiaume, L., Jocas, J., Boulay, G. and Pavilans, V. (1973). Serological Evidence of Respiratory Syncytial Virus Infection in Sheep. *Vet. Rec.*, 93:337 - 338.
5. Bohlender,R.E., McCume,M.W.and Frey,M.L.(1982). Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection. *Modern Veterinary Practice.* 63:613 - 618.
6. Bolat, Y. (1991). Elazığ'da Sığır Respiratory Syncytial Virus (BRSV) Enfeksiyonlarının Serolojik Araştırılması. *F.Ü. Dergisi (Sağlık Bilimleri)* 5(1) 19 - 24.
7. Bolat, Y.,Özcan, C. ve Yılmaz, F., (1991).Elazığ Bölgesi Sığırlarında Parainfluenza Virus-3 (PIV-3) Enfeksiyonlarının Serolojik araştırılması. *F.Ü. Dergisi (Sağlık Bilimleri )* 5(1) 25 - 31.
8. Brako, E.E., Fulton, R.W., Nicholson, S.S. and Amborski, G.F. (1984). Prevalance of Bovine-Herpesvirus-1, Bovine Viral Diarrhea, Parainfluenza-3, Goat Respiratory Syncytial, Bovine Leucemia and Bluetongue Viral Antibodies in Sheep. *Am. J. Vet. Res.* 45:813 - 816.

9. Bryson, D.G., Evermann, J.F., Liggitt, H.D., Foreyt, W.J., and Breeze, R.G.(1988). Studies on The Pathogenesis and Interspecies Transmission of Respiratory Syncytial Virus Isolated from Sheep. *Am. J. Vet. Res.* 49:1424 - 1430.
10. Bryson, D.G., Mc Nulty, M.S., Logan, E.F. and Cush, P.F.(1983). Respiratory Syncytial Virus Pneumonia in young Calves: Clinical and Pathologic Findings. *Am. J. Vet. Res.*, 44:1684 - 1654.
11. Burgu, İ., Öztürk, F. ve Akça, Y. (1984). Tahirova Devlet Üretim Çiftliği Koyunlarında Viral Enfeksiyonlar Üzerinde Serolojik Araştırmalar. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 31.2:167-179.
12. Burgu, İ., Toker, A., Akça, Y. ve Alkan, F. (1990). A Seroepidemiologic Study of Bovine Respiratory Syncytial Virus ( BRSV ) in Turkey. *DTW*, 2:88 - 89.
13. Castleman, W.L., Chandler, S.K. and Slauson, D.O. (1985). Experimental Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection in Conventional Calves: Ultrastructural Respiratory Lesions. *Am. J. Vet. Res.* 46:554 - 560.
14. Castleman, W.L., Lay, J.C., Dubovi, E.J. and Slauson, D.O. (1985). Experimental Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection in Conventional Calves: Light Microscopic Lesions, Microbiology and Studies on Lavaged Lung Cells. *Am. J. Vet. Res.* 46:547 - 553.
15. Chanock, M.R. and Mc Intosh, K. (1985). Parainfluenza Viruses in Fields *Virology* p.1241-1254, Eds. Knip, D.M., Chanock, M.R., Milnick, J.L., Rozman, B., Shope, R.E., Raven Press. New York.
16. Chiocco, D., Barca, A.M.F., Santagada, G.F. and Latorr, L. (1991). Serological Survey for Parainfluenza-3 (PI-3) and Adenovirus in Sheep Flocks in Matera Province. *Praxis Veterinaria - Milano* 12:1, 14 - 15.

17. Clark, R.K., Jessup, D.A., Kock, M.D. and Weaver, R.A. (1985). Survey for Desert Bighorn Sheep in California for Exposure to Selected Infectious Diseases. *J.A.V.M.A.*187: 1175-1179.
18. Collins, J.K., Teegarden, R.M., Mac Vean, D.W., Smith, G.H., Frank, G.R. and Salman, M.D. (1988). Prevalance and Specificity of Antibodies to Bovine Respiratory Syncytial Virus in Sera from Feedlot and Range Cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 49:1316 - 1319.
19. Cutlip, R.C. and Lehmkuhl, H.D.(1979). Lesions in Lambs Experimentally Infected With Bovine Respiratory Syncytial Virus. *Am. J. Vet. Res.* 40:1479 - 1482.
20. Çokdoğan, R. (1989). Türkiye'de Koyunlarda Parainfluenza-3 (PI-3) Enfeksiyonu Üzerinde Seroepidemiyolojik Çalışmalar Doktora Tezi. A.Ü. Veteriner Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
21. Davies, D.H. and Jones, S. (1985). Serological Evidence of Respiratory Syncytial Virus Infection in Lambs. *N.Z. Vet. J.*, 33:155 - 156.
22. Edwards, S., Newman, R.H. and Tanley, M. (1984). Respiratory Syncytial Virus Diagnosis. *Vet. Rec.* 114:101.
23. Eisa, M., Karrer, A.E. and Abdelrahim, A.H. (1979). The Occurrence of Antibodies to Parainfluenza Virus in Sera of Some Domestic Animals of the Sudan. *British Veterinary Journal.* 135:192 - 197.
24. Elazhary, M.A.S.Y., Silim, A. and Dea, S. (1984). Prevalance of Antibodies to Bovine Respiratory Syncytial Virus, Bovine Viral Diarrhea Virus, Bovine Herpesvirus-1 and Parainfluenza-3 Virus in Sheep and Goats in Quebec.*Am.J. Vet. Res.* 45:1660 - 1662.
25. Erhan, M. ve Martin, W.B. (1969). Türkiye'de Koyunlarda Parainfluenza-3 Virus Enfeksiyonu Hakkında İlk Rapor. *Pendik Vet. Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi.*11: 90 - 101.

26. Erhan, M., Onar, B., Csontos, L., ve Hopkins, I.G. (1971). Koyun, Sığır ve Atların Bazı Virusi ve Bedsonya Hastalıkları Üzerinde Serolojik Çalışmalar. Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi 4:51 - 58.
27. Erhan, M., Onar, B. ve Tanzer, F. (1973). Parainfluenza-3 Virusunun Koyun ve Sığırlardan İzolasyonu ve bu Virusa Karşı Aynı Hayvanların Kan Serumlarında Hemaglutinasyon-İnhibisyon Testiyle Antikor Aranması. Pendik Vet. Kont. ve Araşt. Enst. Dergisi. 6:67 - 76.
28. Evermann, J.F., Liggitt, H.D., Parish, S.M., Ward, A.C.S and Lea Master, B.R. (1985). Properties of a Respiratory Syncytial Virus Isolated from a Sheep with Rhinitis. Am.J. Vet. Res. 46:947 - 951.
29. Farah, A. 1992. Antibodies to Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) In Sheep in Apulia. Acta Medice-Veterinaria 38: 3/4 251-254
30. Fenner, F., Gibbs, E.P.J., Murphy, F.A. Rott, R., Studdert, M.J., and White, D.O. (1993). Veterinary Virology 2. th. ed., Academic Press. New York.
31. Frey, H.R.und Liess, B. (1971). Vermehrungskinetik und Vermendbarkeit einer Stark Zytopathogenen VD - MD Virusstammes für Diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotiter Methode.Zbl. Vet. Med., B., 18:61 - 71.
32. Freymuth, F., Quibriac, M., Petitjean, J., Amiel, M.L., Pothier, P., Denis, A. and Duhamel, J.F. (1986). Comparison of two New Tests for Rapid Diagnosis of Respiratory Syncytial Virus Infections by Enzyme Linked Immunosorbent Assay and Immuno fluorescence Techniques. J. Clin. Microbiol., 24: 1013 - 1016.
33. Gibbs, E.P.J. (1981). Virus Diseases of Food Animals Vol.1. Ed 1., p.158 - 159. Academic Press. Inc. London,

34. Gillette, K.G. (1983). Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Serum Antibody to Bovine Respiratory Syncytial Virus: Comparison With Complement - Fixation and Neutralization Tests. *Am. J. Vet. Res.* 44:2251 - 2255.
35. Goyal, S.M., Khan, M.A., Mc Pherson, S.W., Robinson, R.A., and Boylan, W.J. (1988). Prevalance of Antibodies to Seven Viruses in Flock of Ewes in Minnesota. *Am. J. Vet. Res.* 49:464 - 467.
36. Haralambiev, H., Mc Laughlin, P. and Emanuilov, I. (1970). Elektronmicroscope Observations of Strains of Parainfluenza-3 Virus Isolated From Cattle and Sheep. *Zentralbl. Veterinaermed., (B)*. 17:918 - 923.
37. Honger, D., Cerny-Reiterer, S., Kolbl, S. and Schuller, W. (1989). Serological Survey of Antibodies Against Viral Infections of Austrian Sheep Flocks (Parainfluenza-3, Respiratory Syncytial and Border Disease Virus Infection). *Wiener-Tierarztliche-Monatschrift.* 76:7, 210 - 214.
38. Jetteur, P., Thiry, E. and Pastoret, P.P. (1990). Serological Survey of IBR, CHV-2, PI-3, Bovine Respiratory Syncytial Virus and Rinderpest Virus in Sheep and Goats in Zaire., *Revue d'Elevage et de Medecine Veterinaire des Pays Tropicaux.* 43:4, 435 - 437.
39. Joklik, K.W. (1985). *Virology.* Ed. 2. Appleton-Century Crofts/ Norwalk, Connecticut 251 - 253.
40. Kaerber, G. (1964). In *Diagnostic Procedures for Virus and Rickettsial Disease.* Public. Health. Ass. 3:48 - 50.
41. Kimman, T.G., Westenbrink, F., Schreuder, B.E.C. and Straver, P.J. (1988). Local and Systemic Antibody Response to Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection and reinfection in Calves with and without Maternal Antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 25: 1097 - 1106.

42. Kimman, T.G. and Westenbrink, F. (1990). Immunity to Human and Bovine Respiratory Syncytial Virus. *Arch. Virol.*, 112, 1 - 25.
43. Knight, V. (1973). *Viral and Mycoplasma Infections of the Respiratory Tract*. Ed. 1., Philadelphia, Lea and Febiger, 125 - 130.
44. Lamontagne, L., Descoteaux, J.P. and Roy, R. (1985). Epizootiological Survey of Parainfluenza - 3, Reovirus - 3, Respiratory Syncytial and Infectious Bovine Rhinotracheitis Viral Antibodies in Sheep and Goat Flocks in Quebec. *Can. J. Comp. Med.* 49:424 - 428.
45. Lea Master, B.R., Evermann, J.F., Mueller, G.M., Prieur, M.K. and Vander Schalie, J.(1983). Serologic and Virologic Studies on Naturally Occurring, Respiratory Syncytial Virus and *Haemophilus somnus* Infections in Sheep. *Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagn.*, 26:265 - 276.
46. Lehmkuhl, H.D. and Cutlip, R.C. (1979). Experimentally Induced Respiratory Syncytial Viral Infection in Lambs. *Am. J. Vet. Res.* 40:512 - 514.
47. Lehmkuhl, H.D. and Cutlip, P.C. (1982). Characterization of Parainfluenza-3 Virus Isolated from the Lung of a Lamb with Pneumonia, *Am. J. Vet. Res.* 43:626 - 628.
48. Lehmkuhl, H.D. and Cutlip, R.C. (1985). Protection from PI-3 Virus and Persistence of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus in Sheep Vaccinated With a Modified Live IBR, PI-3 Vaccine. *Can. J. Comp. Med.* 49: 58 - 62.
49. Lehmkuhl, H.D., Cutlip, R.C., Bolin, S.R. and Brogden, K.A. (1985). Seroepidemiological Survey for Antibodies to Selected Viruses in the Respiratory Tract of Lambs. *Am. J. Veterinary Res.* 46:2601 - 2604.
50. Lennette, E.H. (1985). *Laboratory Diagnosis of Viral Infections*. Ed.1., Marcel Dekker, Inc. New York and Basel, 385 - 399.

51. Lennette, E.H. and Schmidt, N.J. (1969). Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections. Ed.4., p.434 - 454, American Public Health Association, Inc.,
52. Luczak, M. and Korbecki, M. (1970). Comparative Studies on Susceptibility of Established Cell Lines to Parainfluenza- 3 Virus. *Acta. Viral.* 14:279 - 284.
53. Madic, J., Cvetnic, S., Rudan, N.B. and Lugovic, B.(1989). Antibodies to BRSV, BVD and IBR Viruses in Bovine Sera in S.R. Croatia, S.F.R. Yugoslavia, *Veterinarski Archiv.* 59:5, 233 - 238.
54. Maiga, S.And Sarr, J. (1992) : Epidemiological Survey of the Main Respiratory viruses of Small Ruminants in Mali. *Revue-d' Elevage-et-de Medecine-Veterinaire-des-pays tropicaux* 45:1,15-17.
55. Maramorosch, K. and Edouard, K. (1971). *Comparative Virology* Ed.1, p.416-429. Academic Press., New York and London.
56. Martin, H.T. (1983). Indirect Haemagglutination Test for the Detection and Assay of Antibody to Bovine Respiratory Syncytial Virus. *Vet. Rec.* 113:290 - 293.
57. Martin, W.B. (1983). *Diseases of Sheep.* Ed.1., p.8 - 10, Blackwell Scientific Publications.
58. Martin, W.B. (1983). Respiratory Diseases Induced in Small Ruminants by Viruses and Mycoplasma. *Rev. Sci. Tech. off. int. Epiz.* 2:311 - 334.
59. Mayr, A., Bachmann, P.A., Bibrack, B.and Wittmann, G.(1977). *Virologische Arbeitsmethoden Band II.*Ed.1., p.207 - 291, Gustov Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
60. Mc Nulty, M.S., Bryson, D.E. and Allan, G.M. (1983). Experimental Respiratory Syncytial Virus Pneumonia in Young Calves: Microbiologic and Immunofluorescent Findings. *Am.J. Vet. Res.*, 44:1656 - 1659.

61. Meehan, J. T., Cutlip, R.C., Lehmkuhl, H.D., Kluge, J. P. and Ackerman, M.R. (1994) Infected Cell types in ovine Lung Following exposure to Bovine Respiratory Syncytial virus. *Veterinary Patology* 31:2,229-236
62. Mlinaric - Galinovic, G., Ugric, I., Cevet - Kovic, M., Pende, B. and Ivankovic, D. (1987). Rapid Detection of Respiratory Syncytial Virus in Clinical Specimens *Acta Virol.*, 31:410 - 416.
63. Mohanty, S.B., Rockemann, D.D., Davidson, J.P., Sharabrim, O.I. and Forst, S.M. (1981). Effect of Vaccinal Serum Antibodies on Bovine Respiratory Syncytial Infection in Calves. *Am. J. Vet. Res.*, 420. 881 - 883.
64. Mosat, A.J., Gomez, L., Martinez, M.S., Gazquez, A. and Redondo, E.(1993) Experimental Infection of lambs by bovine Respiratory Syncytial virus:Histopathology and Haematology *Revue-de-Medecine Veterinaire* 144: 10, 773-780
65. Prosperi, S., Martini, M., Calboli, L.P. and Chiesa, S. (1987). Serological Survey of Important and Domestic Sheeps at an Abattoir for PI-3 Virus *Clinical Veterinaria* 110: 161-165.
66. Pulat, H. (1992). Koyunlarda Respiratory Syncytial Virus İzolasyonu ve Seroepidemiolojisi. Doktora Tezi., A.Ü. Vet. Fak. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
67. Roberts, A.W. and Carter, G.R. (1981). *Essentials of Veterinary Virology.*, Ed. 1, p.55 - 56. Michigan State Üniversty Press.
68. Rodgers, J.J. and Baldwin, C.A. (1990). The Rapid Detection of Bovine Respiratory Syncytial Virus Antigens by Use of a Commercial Enzyme Immunoassay.*The Bovine Practitioner*, 25:76 - 81.
69. Rolle, M. and Mayr, A. (1978). *Microbiologie, Infections und Seuchenlehre.* Ed.4, p.454 - 458. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.

70. Rosadio, R.H., Evermann, J.F. and Demartini, J.C. (1984). A Preliminary Serological Survey of Viral Antibodies in Peruvian Sheep. *Veterinary Microbiology* 10:91 - 96.
71. Rosner, S.F. (1971). Bovine Parainfluenza-3 Virus Infections and Pasteurellosis. *J.A.V.M.A.* 159:1375 - 1382.
72. Sharma, R. and Woldehiwet, Z. (1990). Pathogenesis of Bovine Respiratory Syncytial Virus in Experimentally Infected Lambs. *Vet. Microbiol.*, 23:267 - 287.
73. Sharp, J.M.(1990): Parainfluenza-3 Virus In Sheep. *Virus Infections in Ruminants*, Aedited by Dinter, Z., Morein, B.Ü. p. 335-339. Elsevier, Amsterdam.
74. Sharp, J.M.(1991): Acute Respiratory Virus Infections.Diseases of Sheep Aedited by Martin,W.B. Aitken. I.D.Ü, p.139-143 . Oxford, U.K.
75. Smith, W.D., Dawson, A.M., Wells, P.W. and Burrells, C. (1975). Immunglobulin Concentrations in Ovine Body Fluids. *Research in Veterinary Sciences.* 19:189 - 194.
76. Smith, W.D., Wells, P.W., Burrells, C. and Dawson, A.M. (1976). Maternal Immunglobulins and Parainfluenza-3 Virus, Inhibitors in the Nasal and Lachrymal Secretions and Serum of Newborn Lambs. *Clin. Exp. Immunol*, 23:544 - 553.
77. St. George, T.D., (1971). A Survey of Sheep Throughout Australia for Antibody to Parainfluenza-3 Virus and to Mucozal Disease Virus. *Aust. Vet. J.* 47:370 - 374.
78. St. George, T.D. and Liefman, C.E. (1972). A field Experiment to Assess the Role of Parainfluenza-3 Virus in Pneumonia in a Flock of Sheep in Victoria.*Aust.J.Biol.Sci.* 25:319-325.
79. Stott, E.J. and Taylor, G. (1985). Respiratory Syncytial Virus *Arch. Virol.*, 84:1 - 52.

80. Taylor, W.P., Momoh, M., Okeke, A.N.C. and Cunde, A.A. (1975). Parainfluenza-3 Virus in Cattle, Sheep and Goats from Northern Nigeria. *Vet. Rec.* 97:183 - 184.
81. Thomson, J.R., Nettleton, P.F., Greig, A. and Barr, J. (1986). A Bovine Respiratory Virus Vaccination Trial. *Vet. Rec.* 119:450 - 453.
82. Trigo, F.J., Breeze, R.G., Evermann, J.F. and Gallina, A.M. (1984). Pathogenesis of Experimental Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection in Sheep. *Am. J. Vet. Res.* 45:1663 - 1670.
83. Trigo, F.J., Breeze, R.G., Liggitt, H.D., Evermann, J.F., and Trigo, E. (1984). Interaction of Bovine Respiratory Syncytial Virus and *Pasteurella haemolytica* in Ovine Lung. *Am. J. Vet. Res.* 45:1671 - 1678.
84. Trudel, M., Nadon, F., Simard, C., Belanger, F., Alain, R., Seguin, C. and Lussier, G. (1989). Comparison of Caprine, Human and Bovine Strains of Respiratory Syncytial Virus. *Arch. Virol.* 107:141 - 149.
85. Waris, M., Halomen, P., Zigeler, T., Nikkari, S. and Obert, G. (1988). Time Resolved Fluoroimmunoassay Compared with Virus Isolation for Rapid Detection of Respiratory Syncytial Virus in Nasopharyngeal Aspirates. *J. Clin. Mikrobiol.* 26:2581 - 2585.
86. Wellemans, G. (1990). Bovine Respiratory Syncytial Virus. in *Virus Infections of Vertebrates*. Ed. By Horzienk, M.C. 1st . Ed. p.363 - 372. Amsterdam - Oxford - New York - Tokyo.
87. Wells, P.W., Sharp, J.M., Burrels, C., Rushton, B. and Smith W.D. (1976). The Assessment In Sheep of an Inactivated Vaccine of Parainfluenza-3 Virus Incorporating Double Stranded RNA (BRL 5907) as Adjuvant. *J. Hyg. Camb.* 77:255-261.
88. Westenbrink, F. and Kimman, T.G. (1990). Analysis by Radio Immunoprecipitation Assays of the Antibody Response to Bovine

Respiratory Syncytial Virus Proteins in Experimentally and Naturally Infected Cattle. *The Bovine Practitioner* 25:82 - 83.

89. Weyhe, D. und Ulbrich, F. (1979). Serologische Untersuchungen über das Vorkommen der Parainfluenza-3 Virusinfektion beim Schaff. *Mh. Vet. Med.*, 34:846 - 847.
90. Zupancic, Z. Biuk-Ruden, N. and Susic, V. (1989): Serological Findings of Hemagglutination Inhibition Antibodies for Myxovirus Parainfluenza-3 (PI-3) In Sheep and Goats in S.R. Croatia *Veterinarski arhiv* 59:5,217-224

## 9.TEŞEKKÜR

Bu konuyu bana doktora tezi olarak veren ve yardımlarını gördüğüm danışman hocam Sayın Doç. Dr. Yusuf BOLAT'a, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Mehmet KANDİL'e çalışmanın yürütülebilmesi için her türlü imkanı sağlayan Enstitümüz Müdürü Sayın Dr. Celal ÖZCAN'a, çalışmalarım sırasında sürekli yardımlarını gördüğüm, Enstitümüz Viroloji laboratuvarı Şefi Uzman Veteriner Hekim Fethi YILMAZ'a, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. İbrahim BURGU'ya ve Doç. Dr. Yılmaz AKÇA'ya ve emeği geçen tüm laboratuvar çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

## 10. ÖZGEÇMİŞ

1964 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, Orta, Lise tahsilimi Elazığ'da tamamladım. 1982 yılında F.Ü. Veteriner Fakültesine girdim. 1987 yılında mezun oldum. Bir müddet serbest çalıştıktan sonra 1990 yılında Elazığ Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsünde uzman adayı olarak göreve başladım. Halen aynı Enstitüde görev yapmaktayım.