

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**AYDIN İLİ VE ÇEVRESİNDEKİ SÜT SIĞIRCILIĞI
İŞLETMELERİNDE BOVİNE RESPIRATORY SYNCYTİAL
VİRUS (BRSV) ENFEKSİYONUNUN SEROLOJİK OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

**Merve GÜDEK
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. M. Tolga TAN**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-14021 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji Anabilim Dalı Viroloji Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Merve GÜDEK tarafından hazırlanan “AYDIN İLİ VE ÇEVRESİNDEKİ SÜT SIĞIRCILIĞI İŞLETMELERİNDE BOVİNE RESPIRATORY SYNCYTIAL VİRUS (BRV) ENFEKSİYONUNUN SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora/Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27/06/2016

Üye (T.D.) : Prof.Dr. M. Tolga TAN Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Doç.Dr. Sibel GÜR Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye : Yrd.Doç.Dr. Nural EROL Adnan Menderes Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

(Ünvanı, Adı Soyadı)
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimin fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar geçen süreçte, her an bilimsel yönlendirmeleriyle büyük yardımlarını gördüğüm, karşılaştığım problemleri çözmemde tavsiyeler sunan, akademik düşünmeyi öğreten, sürekli ilgi, anlayış ve sabır gösteren, başta danışmanım Prof. Dr. M. Tolga TAN olmak üzere, çalışmalarımın yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen hocam Yrd. Doç. Dr. Nural EROL' a ve Doç. Dr. Sibel GÜR' e bu çalışmam sırasında öz veriyle her an yanımda olan Arş. Gör. Uğur UÇAN' a teşekkürü bir borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
RESİMLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Etiyoloji	3
2.1.1. Yapısal olmayan proteinleri NS1 ve NS2	5
2.1.2. Hidrofobik protein SH	5
2.1.3. G protein	5
2.1.4. Füzyon F proteini	5
2.1.5. Nükleokapsit proteinler	6
2.1.6. Matriks proteinleri	6
2.1.7. BRSV'nin antijenik ve genetik alt grupları	7
2.2. Epidemiyoloji	7
2.3. Klinik Görünüm.....	9
2.4. Patogenez.....	10
2.5. İmmunopatolojik Mekanizmalar	12
2.6. İmmunite	13
2.7. Teşhis ve Ayırıcı Teşhis	15
2.8. Korunma ve Mücadele	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1 Araştırmanın Etik Yönü	20
3.2. Hayvan Materyali	20
3.3. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	20
3.4. Kan Serumlarında Antikor Aranması	20

4. BULGULAR	23
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	31
KAYNAKLAR.....	32
ÖZGEÇMİŞ.....	42



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BRSV	: Bovine (Sığır) respiratory syncytial virüs
CRSV	: Caprine (Keçi) respiratory syncytial virus
F	: Füzyon proteini
FAT	: İndirekt floresan antikor testi
G	: Glikoprotein
HRSV	: Human (İnsan) respiratory syncytial virus
KFT	: Komplement fikzasyon testi
N	: Nükleoprotein
NS1 ve NS2	: İki yapısal olmayan protein
NT	: Nötralizasyon testi
OD	: Optik dansite
ORSV	: Ovine (Koyun) respiratory syncytial virus
PP	: Pozitiflik Değerleri Yüzdesi
RSV	: Respiratory Syncytial Virus
SH	: Hidrofobik protein

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. BRSV virionunun yapısı	4
Resim 2. Sinsityal hücre	10
Resim 3. Bronşial epitelyum hücrelerinde oluşmuş intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri	11
Resim 4. Çalışmada kullanılan ELISA pleyti	22



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. İşletmelere göre örneklenen hayvan sayısı	23
Tablo 2. Muhtemel risk faktörlerine ait veriler-1	24
Tablo 3. Muhtemel risk faktörlerine ait veriler-2	25
Tablo 4. İşletmelere Göre Seropozitiflik Oranları	26



ÖZET

AYDIN İLİ VE ÇEVRESİNDEKİ SÜT SIĞIRCILIĞI İŞLETMELERİNDE BOVİNE RESPIRATORY SYNCYTİAL VİRUS (BRSV) ENFEKSİYONUNUN SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

**Güdek M. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji Programı
Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2016.**

Aydın ili ve çevresindeki, BRSV aşısı uygulaması yapılmayan süt sığircılığı işletmelerinde tesadüfi örnekleme yöntemi ile toplanan kan serumlarının serolojik olarak araştırılması yapılmıştır. Yapılan serolojik muayene sonucu, Aydın genelinde BRSV enfeksiyonuna karşı %98,6 seropozitiflik tespit edilirken, işletmeler bazında %97,1 ile %100 arasında değişen seropozitiflik oranları saptanmıştır.

Araştırmada ayrıca, enfeksiyon hastalıkları için söz konusu olabilecek bazı risk faktörlerinin (sürü büyüklüğü, yaş, cinsiyet, ırk, gebelik, işletme tipi, merada bulunma süresi, ahıra giriş zamanı, yıllık işçi değişimi, sürüye yeni hayvan girme oranı) BRSV enfeksiyonu sıklığına etkisi araştırılmış, ancak BRSV enfeksiyonunun tüm bu faktörlerden bağımsız olarak çok yüksek oranlarda bulunduğu saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: BRSV, sığır, Aydın ili, risk faktörleri, seropozitiflik.

ABSTRACT

A SEROLOGICAL INVESTIGATION OF BOVINE RESPIRATORY SYNCTIAL VIRUS (BRSV) INFECTION IN DAIRY FARM ENTERPRISES IN AYDIN AND ITS SURROUNDINGS

Gudek M. Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, M.Sc. thesis, Aydin, 2016.

BRSV infection was investigated in randomly selected blood serum samples collected from unvaccinated dairy cattle herds in the Aydin province and its surroundings. On average, 98.6% seropositivity against the BRSV infections was detected in enterprises across Aydin and seropositivity rates ranging between 97.1% and 100% were detected in the enterprises.

In addition, effects of some of the risk factors that can be significant for infectious diseases (herd size, age, gender, breed, pregnancy, type of enterprise, time in pasture, entrance time to the barn, annual labor turnover, arrival of new animals) were also investigated and the BRSV infections was found at very high rates independent of all of these risk factors.

Key words: BRSV, cattle, Aydin, risk factors, seropositivity.

1.GİRİŞ

Respiratory Syncytial Virus (RSV) enfeksiyonları dünyanın birçok ülkesinde yaygın olarak görülmektedir. RSV Paramyxoviridae familyasının Pneumovirinae alt familyasının Pneumovirus genusunda yer alan zarlı bir RNA virusudur. Bu genusda insan respiratory syncytial virusu (HRSV), koyun respiratory syncytial virusu (ORSV), keçi respiratory syncytial virusu (CRSV), sığır respiratory syncytial virusu (BRSV) ve farelerin pneumovirusu yer alır (Evermann ve ark, 1985; Shadomy ve ark, 1997). Sığır solunum virusu (BRSV), insan solunum virusu (HRSV) ile yakın ilişkilidir (Easton ve ark, 2004; Valarcher ve Taylor, 2007). Bu özelliği buzağılarda BRSV enfeksiyonunun HRSV çalışmaları için iyi bir örnek teşkil etmesini sağlamaktadır. Buna karşılık, in vivo olarak insanlardaki, küçük hayvan modellerindeki ya da invitro HRSV çalışmalarından elde edilen bulgular da, sığırlardaki muadilinin bazı virolojik ve patojenik özelliklerinin daha iyi anlaşılmasına müsaade etmektedir (Rivera, 1987). BRSV enfeksiyonu, buzağı pnemoni komplekslerinin önemli bir etkeni olup, bazen yetişkin sığırlarda da klinik bulgularla seyredebilmektedir (Larsen, 2000; Viuff ve ark, 2002). Hastalıktan en çok etkilenen yaş grubu 6 aylıktan küçük olan buzağılardır (Van der Poel ve ark, 1994; Grell ve ark, 2005). Enfeksiyonun koyunlara da bulaştığı gözlenmiştir (Evermann ve ark, 1985). Virus duyarlı hücre kültürlerinde ve enfekte dokularda syncytia oluşturmaktadır. RSV pleomorfik bir virus olup, virionları 80-450 nm çapında sferik olabildiği gibi, 60-100nm çapında 10µm' den daha uzun filamentöz partiküller şeklinde de görülmektedir. Virion 12-17 nm çapında helikal bir nükleokapsite sahiptir (Madeley ve ark 1988). Paramyxoviridae familyasının diğer üyelerinden farklı olarak hemaglutinin ve nöyraminidaz aktivitelerine sahip değildir (Cash ve ark, 1977; McIntosh ve Chanock, 1990; Matthews ve ark, 2000). Virus nasal sekresyon ile saçılır, aerosol olarak solunum yolu ile organizmaya girer. Duyarlı populasyonlarda yayılma çok hızlıdır. RSV çoğunlukla ılıman iklimlerde görülmekle birlikte, enfeksiyonun en yoğun olarak görüldüğü dönem Ekim-Haziran ayları arasındadır (Edwards ve ark, 1984; Bryson ve ark, 1988). BRSV enfeksiyonunun inkübasyon periyodu kısa olup, doğal enfeksiyonlarda aniden ortaya çıkabilir. BRSV enfeksiyonunda klinik olarak; solunum artışı, gözde sulanma, sulu nasal akıntı, öksürük, depresyon ve süt veriminde azalma görülür. Bu bulgular 3-10 gün sürer. Bazı olgularda salivasyon artışı görülür, salya köpüklü veya hafif kanlı olabilir. Genellikle pnemoni tablosu şekillenir. BRSV'nin esas rolü sekonder bakteriyel enfeksiyonlar için predispozisyona yol açmasıdır (Bohlender ve ark, 1982). Doğal ve şiddetli BRSV

enfeksiyonundan özellikle 3-9 aylık hayvanlar en fazla etkilenmektedir. Yaşlı hayvanlar daima enfeksiyona daha dayanıklı olup, enfeksiyon genellikle subklinik seyretmektedir (Fulton ve ark, 1974). BRSV enfeksiyonunun tedavisi yoktur. Fakat sekonder bakteriyel enfeksiyonlara karşı antibiyotik uygulaması önerilir. Hızlı yayıldığı için enfekte sürülerin ve bu sürüler ile temas eden insanların hassas populasyonlar ile temas etmemesi gerekir. Profilaktik olarak aşılama önerilmektedir (www.bornovavet.gov.tr/PDF/PPgulnurkalayci02).



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Etiyoloji

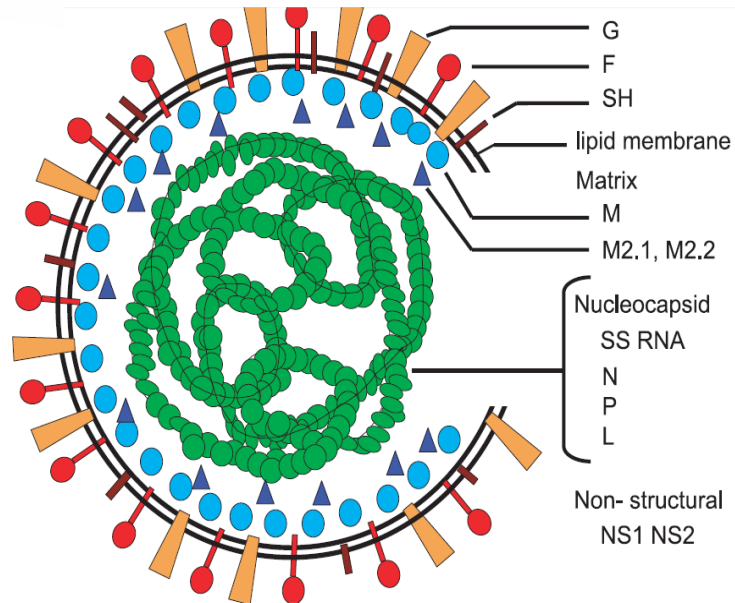
Respiratory Syncytial Virus (RSV) Paramyxoviridae familyasının Pneumovirinae alt familyasının Pneumovirus genusunda yer alan zarlı bir RNA virusudur. Bu genusda insan respiratory syncytial virusu (HRSV), koyun respiratory syncytial virusu (ORSV), keçi respiratory syncytial virusu (CRSV), sığır respiratory syncytial virusu (BRSV) ve farelerin pneumovirusu yeralır (Evermann ve ark, 1985; Shadomy ve ark, 1997). Bu genusta bulunan türler yapısal ve antijenik ilişkili olmasına rağmen, BRSV ve CRSV en yakın ilişkilidir (Smith, 2009; Rosenquist, 1974).

RSV yaygın pleomorfizm göstermektedir (Madeley ve Field 1988). BRSV' nin dünya çapında dağılımı söz konusudur. Virus Avrupa, Asya, Amerika'da izole edilmiştir (Mallipedi ve ark, 1996; Paccaud ve Jacquier, 1970). Paramyxoviridae familyasının diğer üyelerinden farklı olarak hemagglütinin ve nöyraminidaz aktivitelerine sahip değildir (Cash ve ark, 1977; McIntosh ve Chanock, 1990; Matthews ve ark, 2000). HRSV ve BRSV ile antijenik olarak çapraz reaksiyon verdiği indirekt floresan ve virus nötralizasyon testleriyle belirlenmiştir (Evermann ve ark, 1985; Shadomy ve ark, 1997; Grubbs ve ark, 2001). RSV virionları 80-450 nm çapında sferik veya 60-100nm çapında 10µm' den daha uzun filamentöz partiküller şeklindedir. Virion 12-17 nm çapında helikal bir nükleokapsit ve tomurcuklanma esnasında konak hücre plazma membranından kazandığı lipoprotein bir zarfa sahiptir (Madeley ve Field,1988). Virion yüzeyinde 6-10 nm aralıklarla yerleşmiş, 11-20 nm uzunluğunda ışınal glikoprotein çıkıntılara sahiptir (Collins, 1999). BRSV virionu, yüzeyinde sivri uçlar halinde üç viral kodla kodlanmış, yüzey zar glikoproteinlerine sahip konakçı plazma zarından türetilmiş bir lipid zarf bulundurmaktadır (resim 1). Bu glikoproteinler büyük glikoprotein (G), füzyon proteini (F) ve küçük hidrofobik protein (SH)'dir (Collins ve ark, 2001). Viral nükleokapsid, nükleoprotein (N), fosfoprotein (P), viral RNA bağımlı polimeraz proteini (L) ve yaklaşık 15.000 nükleotidden oluşan bir genomik RNA sarmalını kapsar. L proteini ana polimeraz alt ünitesidir. P'nin RNA sentezinde ko-faktör olabileceği ve serbest N ve L'nin soluble (çözünabilir) formda devamlılığının sağlanması ile viral RNA'nın replikasyonu ve transkripsiyonunda rol oynadığı düşünülmektedir (Hardy ve Wertz 1998). Buna ek olarak, zarfın iç kısmında bir transkripsiyon sonlandırma anti-faktörü olan M2-1 proteini ile destekleyici bir tabaka oluşturduğu düşünülen bir matris M proteini

bulunmaktadır. RNA genomunda, fonksiyonel bir düzenleyici proteini M2-2 ve iki yapısal olmayan protein (NS1 ve NS2) kodları bulunmaktadır (Deplanche ve ark, 2007). Buna ek olarak, HRSV viral partikül yüzeyinde aktin, hücresel proteinler (Ulloa ve ark, 1998), kaveolin-1 ve MHC sınıf I molekülleri (Brown ve ark 2002)'nin bulunduğu ortaya konmuştur.

BRSV, Paramyxoviridae familyasının diğer üyelerinden farklı olarak hemagglütinin ve nöyraminidaz aktivitelere sahip değildir (Cash ve ark, 1977; McIntosh ve Chanock, 1990; Matthews ve ark, 2000). BRSV, düşük pH, eter ve kloroforma oldukça duyarlı olup 56°C'de 30 dk. ısı ile inaktive olur. Sıvı nitrojen tanklarında enfeksiyözitesini en az 10 yıl korur (Stott ve Taylor, 1985).

RSV üç transmembran virion proteinine sahiptir. Bunlar; füzyon (F), bağlanma (G) ve SH glikoproteinleridir. F glikoproteini membran füzyonuna aracılık eder, viral penetrasyon ve sinsityum oluşumundan sorumludur. F, F₀ prekürsörü olarak 574 inaktif prekürsör aminoasitten sentezlenir ve furin tip hücresel proteazlar tarafından hücre içinde F₁ ve F₂ olarak 2 alt üniteye ayrılır (Gonzales-Reyes ve ark, 2001). G glikoproteini viral tutunmaya aracılık eder. SH proteininin ise fonksiyonu bilinmemekte, ancak HRSV G ve SH proteinlerinin füzyon aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (McIntosh ve Chanock, 1990; Gonzales-Reyes ve ark, 2001). İnsan ve hayvan serumları enfeksiyondan sonra F, G ve N viral proteinlerine karşı oluşmuş antikorlar taşırlar.



Resim 1: BRSV virionunun yapısı

2.1.1. Yapısal olmayan proteinleri NS1 ve NS2

Pneumovirusler ve Paramyxoviridae familyasındaki diğer viruslar arasındaki en önemli farklardan biri. Sırasıyla 136 ve 124 aminoasitlik polipeptid zincirlerinden oluşan, iki yapısal olmayan protein NS1 ve NS2'nin varlığıdır. Bu iki proteinlerini kodlayan genler virus ile enfekte hücre içerisinde bol miktarda transkribe edilmektedir, ancak proteinler, saflaştırılmış virionlarda sadece eser miktarlarda tespit edilebilmektedir. HRSV NS1 proteininin M proteini ile birlikte bulunduğu ve viral RNA transkripsiyonu replikasyonunun kuvvetli bir inhibitörü olduğu bilinmektedir. NS2 proteini de bir transkripsiyon önleyicisidir ancak NS1 proteinine göre daha düşük seviyede etkilidir (Atreya ve ark, 1998).

2.1.2. Hidrofobik protein SH

SH proteini bir kısa integral membran proteini olup, in vitro ya da in vivo koşullarda virus çoğaltma için esas teşkil etmemektedir. Fonksiyonu tam olarak tanımlanmamıştır (Karger ve ark, 2001). SH proteinin F proteini ile etkileşerek, virus aracılığı ile gerçekleşen hücre füzyonunda rol oynadığına dair bulgular vardır (Karger ve ark, 2001).

2.1.3. G protein

G proteinine spesifik antikorlar, virusun hücrelere bağlanmasını engellediği için G proteini major bağlanma proteini olarak tanımlanmakta ve koruyucu aşı hazırlanmasında önemli görülmektedir (Taylor ve ark, 1997; Taylor ve ark, 1998). BRSV G proteini virionun yüzeyinde bir trimer olarak görünür ve birkaç bağımsız katlanmış bölge içermektedir. Dış zincir iki müsin benzeri polimerik bölge arasında korunan merkezi bir hidrofobik bölge içermektedir (Collins ve ark, 1992).

2.1.4. Füzyon F proteini

F proteini virusun hücreye bağlanmasına aracılık eder. Ayrıca viral ve konak hücre membranlarının füzyonu ile virusun penetrasyonundan sorumludur (Taylor ve ark, 1997). Bu şekilde nükleokapsid sitoplazmaya transfer edilir. Bunun dışında enfekte ya da non enfekte hücreler arasında ki hücrel membranların füzyonu ile sinsitya ya da çok çekirdekli dev hücrelerinin formasyonundan sorumludur (Taylor ve ark, 2005). F proteinine karşı nötralizan antikorlar yapılmakta ve BRSV enfeksiyonuna karşı direnç sağlanmaktadır (Thomas ve ark,

1998). Farklı BRSV izolatları arasında F proteini genellikle korunmaktadır (Valarcher ve ark, 2000).

2.1.5. Nükleokapsit proteinler

Nükleokapsit, nükleoprotein (N), fosfoprotein (P), polimeraz (L)'den oluşmuştur (Samal ve ark, 1991). Nükleoprotein 391 aminoasit uzunluğunda olup, aminoasit ve nükleotid düzeylerinde farklı BRSV izolatları arasında varyasyon göstermektedir. Rekombinant ve Vaccinia virus ile aşılama N proteini ekspresyonunu sağlar. Bu da RSV enfeksiyonuna karşı korunma sağlar (Taylor ve ark, 1997). Bu proteine karşı oluşan korunma sitotoksik T hücreleri aracılığı ile olur. N proteini virionda ve enfekte hücrelerin içerisinde bol miktarda bulunmakta olup, çeşitli fonksiyonları vardır. P, L ve muhtemelen M2-2 kombinasyonu ile birlikte N proteini nükleokapsidin başlıca elementi olup, viral genomik RNA'yı RNAaz'lardan korumakla yükümlüdür (Samal ve ark, 1991; Mallipreddi ve ark, 1996). M proteinin viral RNA'nın transkripsiyondan replikasyon fazına geçişte bir rolü olduğu da görülmektedir (Mallipreddi ve ark, 1996). P protein 241 aminoasitten oluşmakta ve soluble N için bir chaperone olarak etki etmekte ve viral transkripsiyon ile replikasyonda düzenleyici faktör olarak görev yapmaktadır (Alansari ve Potgieter, 1994). BRSV' de Polimeraz L 2162 aminoasit büyüklüğünde olup, RNA'ya bağlı bir RNA polimerazdır. Bu protein viral transkripsiyon ve replikasyondan sorumludur (Yunus ve ark 1998).

2.1.6. Matriks proteinleri

Paramyxovirusların aksine RSV'de 3 matriks proteini bulunmaktadır. M proteini 256 aminoasit uzunluğunda olup, diğer paramyxovirus M proteinleri ile çok az düzeyde sekans akrabalığı vardır. Bu protein viral zarın iç yüzeyinde bulunmakta olup, virus benzeri partiküllerin oluşmasında önemli rol oynar (Teng ve Collins, 1998). M2-M1 proteinlerinin her ikisi de M2-M2 mRNA tarafından kodlanmakta, bunlar 2 tane katlanmış translasyonel ORF içermektedir (Collins ve ark, 1990). Üst zincir ORF1 M2-1 proteini kodlamakta, alt zincir ORF2 ise M2-2 proteini kodlamaktadır (Ahmadian ve ark, 1999; Bermingham ve Collins, 1999). M2-1 proteininin zincir sonlanmasını önleyici bir özelliği bulunup, gen bağlanma bölgelerinde okunma sıklığını artırır (Hardy ve Wertz, 1998). M2-2 proteini transkripsiyonda RNA replikasyonunu düzenlemeye aracılık eder (Bermingham ve Collins, 1999).

2.1.7. BRSV'nin antijenik ve genetik alt grupları

Çeşitli çalışmalarda BRSV'nin çeşitli alt grupları tanımlanmıştır (Furze ve ark, 1994; Larsen ve ark, 1998). G proteinine karşı monoklonal antikorlar kullanılarak 4 antijenik subgrupun klasifikasyonu yapılmıştır. Bunlar; A, B, AB ve tiplendirilmemiş BRSV gruplarıdır (Furze ve ark, 1994; Schriver ve ark, 1996). G proteinine göre 6, F ya da N proteinine göre ise 5 genetik subgrup tanımlanmıştır (Valarcher ve ark, 2000). Bu subgrupların biyolojik önemi bilinmemektedir (Furze ve ark, 1997).

2.2. Epidemiyoloji

Dünyanın birçok ülkesinde RSV enfeksiyonu, sığır, koyun, keçi gibi türlerde yaygın olarak tespit edilmiştir. Sığırlar enfeksiyonun başlıca rezervuarı olarak görülmektedir (Masot ve ark, 2000). Koyunlarda yapılan seroprevalans çalışmalarında, enfeksiyon oranları yüksek bulunmaktadır. Fakat RSV ile ilişkili solunum yolu hastalığına ciddi bir eğilim göstermedikleri bildirilmektedir. Ancak diğer bakteriyel ve viral enfeksiyonlar ile stres faktörleri RSV enfeksiyonuna karşı duyarlılıklarında artışa neden olabilmektedir (Bryson ve ark, 1988; Kimman ve ark, 1988; Bryson, 1993; Giangaspero ve ark, 1997).

RSV mevsimle ilişkilidir. En yoğun tespit edildiği dönem Ekim-Haziran ayları arasındadır (Bryson ve ark, 1982; Edwards ve ark, 1984). Enfeksiyon yıl boyunca görülebilir, sıcaklığın ani düşmesi ve kış ayları enfeksiyon riskini daha da artırır (Valarcher, 2007). BRSV enfeksiyonunun sero-prevalansı farklı coğrafi bölgeler arasında büyük ölçüde değişir (Woldemeskel ve ark, 2000; Saa ve ark, 2012). BRSV viral iletiminde insektlerin büyük önemi vardır (Ames, 1993). Hastalığın morbidite oranı oldukça yüksektir, solunum yolu hastalıklarının %60'ında, mortalitenin %20'ye çıktığı görülür (Elvander, 1993; Baker, 1986). Virus saçılımı, enfekte hayvanlarda solunum yolu salgıları ile olmaktadır. Virus nakli direkt, indirekt temas ve aerosol yolla gerçekleşebilmektedir. Hastalarla direkt temasın yanında enfekte yem, su ve malzemeler indirekt bulaşma da rol oynamaktadır. Virusun nazal veya konjunktival yolla vücuda girmesi sonucu enfeksiyon oluşmasına rağmen, ağız yoluyla enfeksiyon oluşmamaktadır (Bohlender ve ark, 1982; Kimman ve ark, 1988; McIntosh ve Chanock, 1990; Wellemans, 1990a). Virus naklinde özellikle veteriner hekim ve hayvan bakıcıları da rol oynayabilir (Stott ve Taylor, 1985; Elvander, 1996). BRSV'nin esas rolü sekonder bakteriyel enfeksiyonlarda predispozisyona yol açmasıdır (Bohlender ve ark, 1982). Prevalans oranları coğrafik alanlara bağlı olarak değişmekle birlikte cinsiyet, ırk ve sürü

büyükluğu ile herhangi bir ilişki tespit edilememiştir. Benzer olarak klinik belirtilerin varlığı ile antikör prevalansı arasında bir ilişki yoktur (Mohanty ve ark, 1975; McNulty ve ark, 1983; Kimman ve ark, 1988).

Şiddetli klinik belirtiler özellikle buzağılarda gözlenir (Stott ve ark, 1980; Verhoeff ve ark, 1984; Kimman ve ark, 1988), aynı zamanda yetişkin sığırlarda da görülür (Elvander, 1996). Yetişkin sığırlarla küçük buzağılar karşılaştırıldığında, yetişkin sığırlarda BRSV' nin klinik semptomlarının seyrek olması virusa sık maruz kaldıktan sonra bağışıklık kazanmalarındandır. BRSV virusu sürüde düzenli olarak hayvanlarda görülebilir, nitekim her yaş sığırdaki klinik belirtileri gözlenebildiği gibi klinik belirti göstermeden de vücutlarında taşıyabilirler (Van der Poel, 1994). Maternal antikörler, doğal ve deneysel BRSV enfeksiyonundan sonra klinik belirtilere karşı en azından kısmi bir koruma sağlayabilir (Belknap ve ark, 1991). Klinik belirtiler geçtikten sonra BRSV yeniden tespit edilebilmesine rağmen, çok az veya hiçbir klinik semptom göstermeyebilir (Kimman ve ark, 1987).

Dünya üzerinde birçok ülkede RSV enfeksiyonu yaygın olarak bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada 559 sığır kan serumunda nötralizasyon testi ile %65.5 oranında pozitif sonuç elde edilmiştir (Baker ve ark, 1985). Brako ve ark (1984), Ocak-Mart ayları arasında topladıkları koyun serumlarında nötralizasyon testi ile %48.7 pozitiflik tespit etmişlerdir. Fulton ve ark (1982) tarafından 1979-1980 yılları arasında bir yıl süreyle toplanan keçi serumlarında RSV enfeksiyonu yönünden nötralizasyon testi ile yaptıkları serolojik çalışmada %50 seropozitiflik belirlemişlerdir. Kan serumlarının yanı sıra, süt serumu örneklerinde de %66 gibi yüksek bir düzeyde BRSV antikörleri yönünden serokonversiyon tespit edilmiştir (Elvander, 1996).

Türkiye'de hastalığa ilgili ilk bildirim, Burgu ve ark (1990) tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar, Türkiye'nin çeşitli yerlerinden topladıkları 490 sığır serumunda nötralizasyon testi ile yaptıkları çalışmada BRSV'ye karşı %46.12 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir. Alkan ve ark (1997), Türkiye'de sığırlarda BRSV enfeksiyonu seroprevalansını %44.6 olarak tespit etmişlerdir. Alkan ve ark (2000) yaptıkları izolasyon çalışmasında elde edilen örneklerin %31.5'inin değişik enfeksiyon etkenleriyle komplike enfeksiyon oluşturduğu bildirilmiştir. Pulat (1992), RSV'ye karşı koyun kan serumlarında nötralizasyon testi ile yaptıkları çalışmada bu virusa karşı % 35.16 pozitiflik tespit etmiştir.

2.3. Klinik Görünüm

Bazı RSV salgınlarında çift fazlı hastalık görüntüsü bildirilmiştir. Hastalığın ilk devresinde beden ısı artışı ve hafif solunum hastalığı bulguları karakteristiktir. İkinci devre ilk devreyi takip eder ve şiddetli solunum bozuklukları ile karakterizedir. Bu tüm RSV salgınlarında kesin bir bulgu değildir.

BRSV ile ilgili ağır solunum sistemi enfeksiyonları genç yaştaki hayvanlarda sıklıkla ortaya çıkmıştır. Yaşlılarda genellikle ya hiç klinik bulgu görülmez ya da oldukça hafif seyreder (Elvander, 1996).

RSV enfeksiyonunun patojenitesine hayvanın bakım düzeyi, yaş, insanlarda sosyo ekonomik statü, alışkanlıklar, immünyetmezlik ve bronkopulmoner displazi gibi hasta ile ilgili faktörler yanında (Brandenburg ve ark, 2001), çevre, stres ve aynı anda oluşan sekonder bakteriyel ve diğer viral enfeksiyonların katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Castleman ve ark, 1985c). BRSV enfeksiyonunda oluşan patolojik bozukluğa bağlı olarak mukosilyar savunma mekanizması ortadan kalktığı için RSV enfeksiyonları sıklıkla sekonder bakteriyel enfeksiyonlar ile birlikte seyredebilmektedir (Bohlender ve ark, 1982; Elvander, 1996).

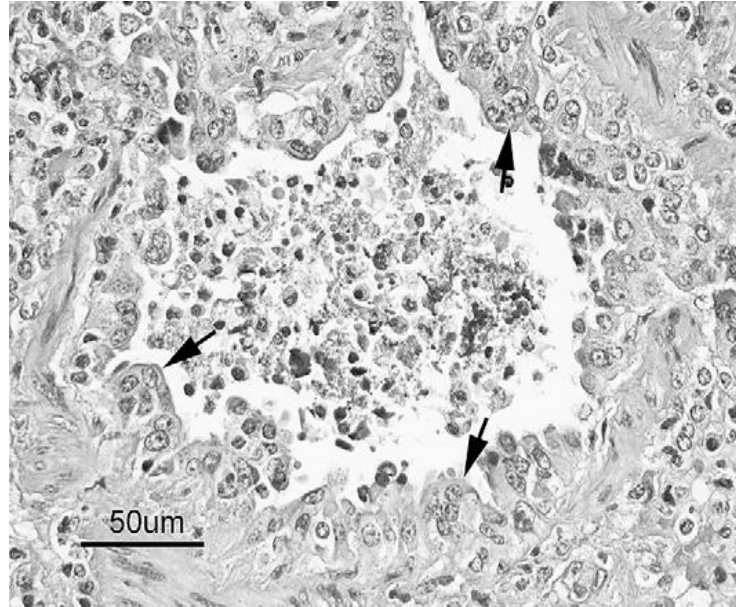
Hastalığın klinik belirtileri sıklığı gittikçe ilerleyen şiddetli bir öksürük, iştahsızlık, 40-42°C ateştir. Etkilenen hayvanların başları yere düşer, hafif nazal ve oküler akıntılar yanında solunum sayısında ciddi artışlar gözlenir. Genç hayvanlarda BRSV enfeksiyonunun akut fazı esnasında hem alt hem de üst solunum yolu ile ilgili klinik bulgular gözlenir. Üst solunum yolu bulgularında öksürük, nasal akıntı ve konjunktivitis ağır basarken, alt solunum yolu bulguları abdominal solunum, oskültasyonda bronşiyal ve bronkoveziküler sesler ve solunum sayısında artış olarak belirlenmiştir. Subkutan ödem gözlenen olgularda, ödem lokalizasyonu boyun ve boğaz altındadır. Bu bulgular akut fazda 6-10 gün sürer. Akut faz hızla gelişir ve tedaviye başlanmazsa sekonder bakteriyel enfeksiyonlara bağlı bakteriyel pnömoniler şekillenir ve 10-14 günde ölümler meydana gelir (Bohlender ve ark, 1982; Verhoeff ve ark, 1984a; Elvander, 1996).

Mikroskopik lezyonlar alveolar çöküş, mononükleer hücrelerin peribronşiyolar infiltrasyonu ile birlikte bir çoğalma ve eksüdatif bronşiolit ile karakterizedir (Thomas ve ark, 1984). Apoptotik epitel hücrelerde nekroz görülebilir (Viuff ve ark, 2002). Dev hücreleri veya syncytialar, bronşiyol epitel veya alveol duvarları ile lümenlerinde gözlenebilir (Viuff ve ark, 2002).

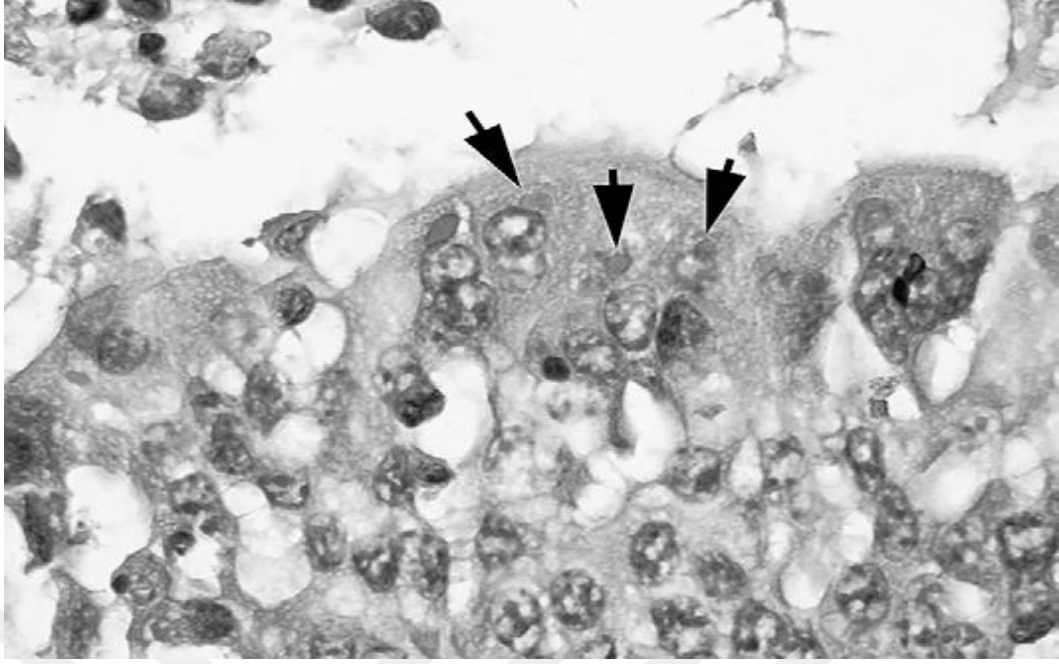
2.4. Patogenez

Doğal enfeksiyonlarda RSV'nin inkubasyon periyodu 4-5 gündür. Enfeksiyonun başlangıcında virus nazofarinkste çoğalmaktadır. Başlangıçta üst solunum yollarında enfeksiyona neden olmasına rağmen primer enfeksiyonun yayılması sonucu pneumoni, bronchitis, bronchiolitis ile seyreden alt solunum yolu enfeksiyonu oluşur (Collins, 1999; Brandenburg ve ark, 2001).

RSV'nun en önemli hedef hücrelerinin başında siliyal ve non-siliyal epitel hücreleri ile alveoler tip-II pneumositler gelir. Deneysel çalışmalarda virusun trakeobronşiyal siliyal ve non-siliyal epitel hücreleri ve müköz hücrelerde de replike olduğu bildirilmiştir. Siliyal epitel hücrelerinin, RSV ile enfeksiyonu bu hücrelerin dejenerasyonuna, dolayısıyla mukosiliyar savunma fonksiyonlarının kaybına neden olur. Bunun sonucunda sekonder bakteriyel enfeksiyonlara predispozisyon söz konusu olur (Bryson ve ark, 1988; Trudel ve ark, 1989; Bryson, 1993). Enfeksiyonun akut safhalarında epitel hücre hiperplazisi ve hipertrofisine ek olarak hücre füzyonu sonucu sinsityum (Resim 2), dev hücresi ve eozinofilik intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri (Resim 3) ile karakterize sitopatolojik bozukluklar (cpe) gözlenir (Bryson ve ark, 1988; Giangaspero ve ark, 1997).



Resim 2: Sinsityal hücre



Resim 3: Bronşial epitelyum hücrelerinde oluşmuş intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri

Virus deneysel enfeksiyonlarda, inokulasyonu takiben 3-8. günler arasında saçılmaktadır (Stott ve Taylor, 1985). Masot ve ark (1993b) yaptıkları deneysel enfeksiyondan sonraki 3-7. günlerde siliyalı ve siliyasız alveoler, bronşiyal ve bronşiyoler epitel hücrelerinde antijen tespit edilmiştir. 3-15. günlerde viral antijen alveoler makrofajlarda ve mononükleer hücrelerde saptanmıştır. Sitoplazmik viral antijen nazal, nazofarengeal, bronşiyoler ve alveoler epitel hücrelerin yanısıra alveoler makrofajlarda da tespit edilmiştir. Sekonder bakteriyel enfeksiyonun oluşumundaki bir faktör olarak alveoler makrofajların enfeksiyonu ve sonuçta virusa maruz kalan makrofajların fagositik aktivitesinin baskılanmasıyla değerlendirilmektedir (Castleman ve ark, 1984b).

Hastalıktan ölen sığırlarda nekropside akciğerlerin tüm loblarında intersitisyel ve subpleural amfizem dikkati çeker. Amfizem aort, böbrek ve perikardiyal kese etrafındaki dokuda da mevcuttur. Etkilenen akciğerlere yapılan kesitlerde trachea ve bronşlarda köpüklü bir sıvı vardır. İntersitisyel pnömoni çok çekirdekli sinsitiyal epitel hücrede bronşiolitis ve amfizem gibi değişikliklerle karakterizedir. Bazı sinsityal hücrelerde eozinofilik inklüzyon cisimcikleri tespit edilebilmektedir (Bohlender ve ark, 1982; Castleman ve ark, 1985; Bryson, 1993). Buzağı pnömoni olgularında en ağır lezyonlar akciğerlerin kranioventral bölgelerinde görülürken, dorsokaudal bölgeler daha az etkilenirler. Kranial, orta, aksesör lopların ve kaudal lobun kranialinde enfeksiyonun 4-12. günlerinde konsolidasyon alanları mevcuttur (Bryson, 1993; Schreiber ve ark, 2000). Submukozal ve adventisyal dokular ödematöz

karakterdedir ve mukus sekresyonu artar. Bu olgular sonucu küçük bronşiyoller tıkanır ve sonuçta kollaps ve amfizem oluşur. Mononükleer hücre infiltrasyonu sonucu interalveoler duvar inceler ve alveoler boşluklar sıvı ile dolar. Alveol lümeninde çok sayıda sinsityal hücre olduğu görülmektedir (Mohanty ve ark, 1975; Cutlip ve Lehmkuhl, 1979; McIntosh ve Chanock, 1990).

2.5. İmmunopatolojik Mekanizmalar

RSV patogenezi ile ilgili teoriler, immunolojik gelişim, serum antikorlarının rolü, gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonu, IgE aracılı reaksiyon ve immunolojik olmayan mekanizmalardan köken alır (Stott ve Taylor, 1985). Chanock ve ark (1970) RSV enfeksiyonunun virusla serum antikorlarının etkileşmesi sonucu oluşan Tip-2 aşırı duyarlılık reaksiyonu olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Openshaw ve ark, 2001). Stewart ve Gerschwin (1989) tarafından yapılan deneysel BRSV enfeksiyonu sonucunda, spesifik IgE serum düzeyleri ile canlı virusun aerolizasyonu ve tekrarlayan uygulamalarını takiben oluşan semptomlar arasında bağlantı bulunduğunu tespit etmişlerdir (Stewart ve Gerschwin, 1989). İnsanlardaki RSV enfeksiyonunda, konvelasan evredeki serbest IgE ve RSV enfekte hücrelere bağlı IgE oranı çok yüksek bulunmuştur. Bunun astım, öksürük ve akut hastalıktaki hipoksinin nedeni olduğu ileri sürülmektedir (Saito ve ark, 1997).

Hem HRSV hem de BRSV periferik kan lenfositlerinin in vitro olarak fitohemaglutinine (PHA) yanıtını baskılar. BRSV'nin makrofaj, nötrofil ve lenfositler gibi çeşitli yangı hücrelerinin normal fonksiyonlarını ters yönde etkilediği düşünülmektedir. Prostaglandin E₂ (PGE₂), T hücre proliferasyonu veya IL-1 ve IL-2 üretimini azaltarak immunsupresyona neden olur. BRSV'ye maruz kalan buzağların lavaj sıvıları ve plazmalarında PG konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (Keles ve ark, 1998a). Maternal antikorlarda Tc hücre oluşumunu baskılar ve enfeksiyonun eliminasyonunu engeller. Bu antikorlar virus saçılımını arttırarak hastalığın patogenezi katkıda bulunurlar (Openshaw ve ark, 2001).

Virusla enfekte hayvanlardaki lenfositlerin mitojenlere karşı azalan proliferatif yanıtları, antijen sunan hücrelerin (APC) fonksiyonel defektleri ile de ilişkilidir. APC ve lenfoid hücreler arasındaki ortak çalışma sayesinde sadece virus enfeksiyonunda iyileşme sağlamakla kalmaz aynı zamanda duyarlı hayvanları sekonder enfeksiyonlara karşı da korur. Bu etkileşimdeki bir azalma konakçıda enfeksiyonun sonucu ve iyileşme prosesleri üzerinde de etkilere sahiptir (Stott ve Taylor, 1985). Monositler ve makrofajların fagositozu, antijen

sunumu ve immunmediatörlerin salınımı gibi çeşitli hücre bağımlı immunfonksiyonlar direk olarak veya indirek olarak enfekte hücrelerden soluble inhibitörlerin salınımı ile etkilenebilirler. BRSV'ye maruz kalan koyun ve buzağların antijen sunan hücre sayısında 80. saate kadar bir azalma olmaktadır (Keles ve ark, 1998d).

RSV enfeksiyonu sırasında hücre yıkımına yol açacak lokal antijen-antikor komplekslerinin oluştuğu gözlenmektedir. Virusla enfekte hücre, antijen-antikor kompleksleri aracılığıyla klasik ve alternatif komplement yolunu aktive etmektedir. Eksrete edilen RSV enfekte epitel hücrelerinde komplement komponentleri bulunmuştur. Komplement komponentleri bu alanlardaki virusla enfekte epitel hücreleri ve fagositik hücrelerde Immunfloresan (IF) tekniği ile tespit edilebilmiştir (McIntosh ve Chanoc, 1990; Bryson ve ark, 1991). RSV enfeksiyonu sonucu toplanan makrofajlardaki Fc reseptör sayısında azalma görülmüştür. Buna bağlı olarak BRSV konvansiyonel ve immunkompetent kuzularda Pasteurella haemolytica akciğer enfeksiyonu kolaylaşmaktadır. Fc reseptörlerinin azalması sonucu olarak sinerjistik viral ve bakteriyel enfeksiyonlar oluşmaktadır (Trigo ve ark, 1984b).

RSV'ye ilk maruz kalma esnasında spesifik IgA'ların oluşmaması nedeniyle maternal IgG solunum yollarının lumenine diffüze olur ve immunkompleksler oluşturur. RSV-IgG komplekslerinin fagositozunun nötrofiller tarafından yangısal mediatörlerin salınımını uyardığı gösterilmiştir. Bunun patolojik gelişime katkısı olduğu bildirilmiştir (Openshaw ve ark, 2001).

2.6. İmmunité

RSV enfeksiyonu sıklıkla genç hayvanlarda görülür. BRSV enfeksiyonu maternal antikorların yüksek veya orta düzeylerine rağmen oluşabilmektedir. Etkili korunmayı sağlayan pasif kazanılmış serum antikorlarının olmaması, hastalığa karşı korunmada serum antikorlarının dışındaki mukozal immunité gibi faktörlerinde etkili olduğunu göstermektedir. Maternal antikorlar ancak hastalık semptomlarını hafifletebilmektedir. 3 aylıktan küçük buzağlarda hastalığın sıklığı ve klinik bulguların şiddeti maternal antikor düzeyi ile ters orantılıdır (Kimman ve ark, 1988). Maternal antikorların varlığı lokal ve sistemik antikor cevabını bastırmakta ve enfeksiyonun ortadan kaldırılmasını engellemektedir. Maternal antikorlar tüm antikor izotiplerinin ortaya çıkışını baskılamakla birlikte, bu durumdan en az etkilenenin IgM izotipi olduğu bildirilmektedir (Kimman ve ark, 1988). Maternal antikorlara sahip olan buzağlara canlı virusun solunum sistemi yoluyla ilk kez uygulanmasını takiben ikinci virus enfeksiyondan sonra virus saçılımı gözlenmemiştir (Elvander, 1996). Ağır

hastalık tablosu oluşumu nadiren 3 aylıktan büyüklerde de bildirilmiştir. Buna bağlı olarak sadece maternal antikor düzeyi değil, hayvanların yaşı da korunmada önemlidir (Kimman ve ark, 1988). Kimman ve ark (1988), koruyucu aşılanmanın erken yapılması gerektiğini, 3-4 aylıktan genç buzağılarda parenteral yapılan aşının oldukça etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak maternal antikorlara sahip hayvanlarda aşıyla antikor cevabının uyarılması oldukça güçtür. Bu durumda lokal virus uygulamasıyla korunma sağlanabilir (Kimman ve ark, 1988). Maternal antikorların yeni doğanların immunolojik gelişimini ya da immun yanıtı baskıladığı görülmüştür. Ancak intranazal uygulanan virusun etkilerinde bu bildirilmemiştir. Maternal antikorlar yüksek titreli ise semptomların üst solunum yollarında sınırlı kaldığı belirtilmektedir (Stott ve Taylor, 1985).

Serum antikorları viral enfeksiyonlara karşı korunmada asıl rolü üstlenir. Deneysel ve doğal BRSV'ye spesifik nazal sekretorik ve serum antikorları tespit edilmiştir. Sekretorik IgA antikorları kısa süreli olmalarına karşın üst solunum yollarında direncin önemli araçlarıdır. T ve B lenfositlerin lenfokinleri ürettiği ve lenfokin üretimi sonucu özellikle T hücre fonksiyonunun uyarıldığı belirlenmiştir (Field ve ark, 1984; Openshaw ve ark, 2001).

Masot ve ark (1993a) yaptıkları çalışmada serum IgG düzeylerinin enfeksiyondan sonraki 5. günde en üst düzeye çıktığı ve bu düzeyin 9. güne kadar aynı kaldığı bildirilmiştir. Humoral aktivite en belirgin düzeyde 13-15. günlerde düşmektedir. IgA ise enfeksiyondan sonraki 1-7. günlerde bronşiyal, bronşiole ve alveoler epitelde bildirilmiştir. Bu bulgu IgA'nın solunum sistemi mukozasını koruyucu rolünü doğrulamaktadır. IgM ise sadece kan dolaşımında tespit edilmiştir. Serum IgM düzeyleri, IgA ve IgG gibi humoral RSV antikor titresiyile beraber artmaktadır.

BRSV enfeksiyonunda da hücresel immun yanıtın geliştiği bildirilmiştir. BRSV enfeksiyonunda sığırlarda hücresel immun yanıtın in vitro belirlenmesinde lenfosit stimülasyon testi, gecikmiş aşırı duyarlılık deri testi ve lökosit göçü inhibisyon testi kullanılmaktadır (Field ve ark, 1984).

Akciğerlerdeki akut enfeksiyondan sonra virus spesifik T hücreleri uzun süre yüksek düzeyde kalmaktadır. İlk reenfeksiyonda lokal lenf nodüllerindeki virus spesifik bellek hücrelerinde bölünme başlar. Bu bölünme yeteneğindeki hücreler lenf nodüllerinde önemli ölçüde artmaksızın akciğerlerde yoğunlaşır, bu sonuçlar tekrar aktive olan hücrelerin hızla lenf nodüllerinden hedef organlara geçtiğini göstermektedir. Ayrıca, lokalize bir virus enfeksiyonundan sonra bellek T hücreleri enfekte organlarda varlığını devam ettirmektedir (Ostler ve ark, 2001).

Yaşın humoral immun yanıt üzerine önemli bir etkisi vardır. Buzağuların ilk enfeksiyondan sonraki üç hafta içinde tekrar BRSV enfeksiyonuna duyarlı hale geldikleri tespit edilmiştir. Ancak bu defa virus saçılımının miktarı ve süresi ilk enfeksiyondan çok daha kısadır. RSV ile enfekte edilen ratlar pulmoner reenfeksiyonlara en az 18 ay tamamen dirençli iken, üst solunum yolları reenfeksiyonlarına 8 ay dirençlidir (Stott ve Taylor, 1985). Reenfeksiyonun antijenik varyasyon, ilk enfeksiyon zamanındaki hastanın yaşı ile birinci ve ikinci maruz kalma arasındaki sürenin uzunluğuna bağlı olduğu ileri sürülmektedir. İkinci enfeksiyondan sonra virus spesifik IgG baskındır (Sharma ve Woldehiwet, 1992). Yaşlı hayvanlardaki yüksek antikor reenfeksiyonlara karşı koruyucu olmamaktadır. Ancak klinik semptomlar çok hafif görülmektedir. BRSV'nin farklı alt gruplarının olduğuna dair bulgular vardır ve antijenik farklılıklar virusun immunojenite ve virulensini etkileyebilir (Elvander, 1996).

İlk BRSV enfeksiyonundan sonra B hücrelerinde düşüş bildirilmesine rağmen ikinci enfeksiyonda aniden yükselmektedir. Tek RSV enfeksiyonu daima yeterli hücresel immunité sergilememektedir. Bu durum lenfosit transformasyon testi ile gösterilmiştir (Sharma ve Woldehiwet, 1992).

2.7. Teşhis ve Ayırıcı Teşhis

RSV enfeksiyonunun semptomatik olarak klinik tanısı imkansızdır (Wellemans, 1990a). Patolojik değişiklikler çok ayırt edici olmadığı için rutin tanı amacına uygun değildir (Bartha ve ark, 1986). Hastalığın tanısı, mevsimsel karakteri ve virolojik testlerle yapılmaktadır (Edwards ve ark, 1984; Edwards ve ark, 1988). BRSV salgınlarının olduğu çiftliklerden alınan organ ve svap numunelerinde, viral antijen varlığının tespiti ve hastalıktan etkilenmiş hayvanlarda serokonversiyonun tespit edilmesi ile virolojik teşhis mümkündür. Bu amaçla nazal ve solunum yolu sekretleri (Jalowsky ve ark, 1990; Kellog, 1991; Elvander 1996), nazofarengeal ve tracheal yıkantı örnekleri (Castleman ve ark, 1985c; Chonmaitree ve ark, 1987; Edwards ve ark, 1988; Jalowsky ve ark, 1990), nazal smearlar (Wellemans, 1990a), akciğer doku örnekleri (Edwards ve ark, 1984; Stott ve Taylor, 1985; Castleman ve ark, 1985a; Ciszewski ve ark, 1991; Bitgel, 1997) ve kan örnekleri (Sharma ve Woldehiwet, 1992; Bitgel, 1997; Keles ve ark, 1998) incelenmektedir.

RSV oldukça labil bir virustur. Ortam asiditesi, ısı, dondurma çözme işlemine çok duyarlıdır. Bu nedenle toplanan örnekler proteinden zengin medyum içinde hızla laboratuvara gönderilmelidir. Örnekler +4°C'de 3-5 saat, -70°C'de ise çok uzun süre saklanabilmektedir.

Tekrarlayan dondurma-çözdürme işlemleri virusun enfeksiyözitesinin tümüyle kaybına neden olabilmektedir (Bohlender ve ark, 1982; Kellogg, 1991; Bitgel, 1997).

RSV enfeksiyonunun hızlı tanısının, antiviral tedaviye hızla başlanması, antibiyotik kullanımının azaltılması ve antibiyotiklere karşı dirençli bakteri gelişiminin önlenmesi, nazokomial bulaşmanın engellenmesi ve doğru tanı ile uygun tedaviye yönlendirilmesi gibi olumlu etkileri vardır (Waner ve ark, 1990; Özkul ve Özsan, 1998; Yılmaz ve ark, 2000). BRSV enfeksiyonunun hızlı tanısı için doku örneklerinden direkt floresan tekniği (McNulty ve ark, 1983; Edwards ve ark, 1988; Waner ve ark, 1990; Kellogg, 1991; Bitgel, 1997), indirekt floresan tekniği (Freymuth ve ark, 1986; Adair ve ark, 1987), immünperoksidaz testi (Waris ve ark, 1992; Özkul ve Özsan, 1998), EIA (Bromberg ve ark, 1985; Freymuth ve ark, 1986; Waner ve ark, 1990; Kellogg, 1991) ve PCR teknikleri (Florent ve DeMarneffe, 1986; Elvander, 1996; Yılmaz ve ark, 2000) hücre kültürüne göre oldukça kısa süreli ve etkili yöntemler oldukları için tercih edilmektedir (Waner ve ark, 1990; Kellogg, 1991).

Hücre kültüründe sitopatolojik bozukluk göstermeyen enfeksiyöz virus yönünden negatif sonuç veren örnekler IF testi ile pozitif sonuç vermektedir. Ayrıca IF testi ile erken virus antijenlerinin tespiti kısa zamanda gerçekleşmektedir (Waris ve ark, 1992; Smith, 1992). Semptomların görüldüğü ilk birkaç gün çok miktarda virus tespit edilebilir. Hücre kültürlerinde virus izolasyonunun mümkün olmadığı enfeksiyonun ileri dönemlerinde, ancak bir antijen tespit metodu kullanılarak virusun varlığı tespit edilebilmektedir. Antijen tespit metodu olan IF' nin duyarlılığı 1-5. günlerde %88 iken, 6-10. günlerde %50, 11-15. günlerde %17 olarak tespit edilmiştir. Bu tekniklerle ancak sağlam hücreler değerlendirilmekte ve bu yöntemi kullananların oldukça deneyimli olmaları gerekmektedir (Smith, 1987; 1992). Ayrıca, birçok heteroploid hücre hattının BRSV'a duyarlılığının sınırlı olduğu tespit edilmiş olup, bu nedenle materyal hangi canlı türünden alınmışsa o canlı türüne ait hücre kültürünün IF testinde kullanılması önerilmektedir (Collins, 1999).

RSV enfeksiyonuna karşı oluşan antikorlar komplement fiksasyon testi (KFT) (Gillette, 1983), nötralizasyon testi (NT) (Gillette, 1983; Brako, 1984), indirekt ELISA (Gillette, 1983), immundiffüzyon testi (Brako ve ark, 1984) ve indirekt floresan antikor testi (FAT) (Gillette, 1983) ile tespit edilebilmektedir. Nötralizasyon testi ile spesifik ve düşük düzeydeki antikorlar tespit edilirken, immundiffüzyon testi, grup spesifik antikor veya çapraz reaksiyon veren antijenleri tespit için kullanılmaktadır (Brako ve ark, 1984). Gillette (1983), KFT, ELISA ve SN testlerini karşılaştırmıştır. 111 numunenin %98'i ELISA ve SN testleriyle pozitif bulunurken, KFT ile %50 pozitiflik tespit edilmiştir. SN testi uzun zaman almasına rağmen çok yüksek duyarlılık ve BRSV'ye karşı serolojik cevabı uyumlu olarak tespit

etmektedir. Komplementi fikse eden antikorların titresi ancak virusa tekrar maruz kalma sonrası artış gösterdiğinden KFT testinin spesifitesi düşüktür. Komplementi fikse eden antikorların titresi ilk enfeksiyondan sonra hızla düşer ve 3 ay sonra tespit edilemez. ELISA'da bazı serumların hücre antijenleriyle reaksiyona girmesi sonucu non-spesifik reaksiyonlar oluşabilmektedir. EISA ve KFT deneysel enfekte buzağılarda erken antikorların tespititi başarılı olurken, subklinik deneysel enfekte buzağı ve düşük antikor titresine sahip sığırlarda antikor tespitinde başarısız olmaktadır. Bunun nedeni olarak ilk oluşan veya persiste antikorların IgM oluşu, ELISA konjugatının IgG sınıfı antikor oluşu ile açıklanmaktadır.

2.8. Korunma ve Mücadele

BRSV enfeksiyonu tüm dünyada sığır, koyun ve keçilerde çok yaygındır. Virus solunum yolu salgıları ya da aerosol yolla hızla yayılmaktadır (Edwards ve ark, 1988). Şayet antikor titresi yüksekse klinik bulgular ya az, ya da subklinik seyretmektedir (Murphy ve ark, 1999).

Respiratory syncytial virus enfeksiyonu, özellikle yeni doğan, zayıf ve sütle beslenen buzağılarda solunum yolu enfeksiyonuna neden olan en önemli viral etkenlerdendir. Enfeksiyon ileri yaşlardaki sığırlarda nadir görülmektedir. Neonatal ve genç hayvanlarda BRSV enfeksiyonun kontrolü çok zordur. En iyi kontrol yolu; genç hayvanları ve buzağıları olası virus kaynağı olan yaşlılardan ayırmak ve pasif immunité ortadan kalkınca onları aşılamaştır. Pasif immunité BRSV'ye karşı korumamasına rağmen, hastalığın şiddetini azaltır. Ancak gebeliğin ileri dönemlerinde yapılan aşılama lar spesifik kolostral antikorların artışına neden olur (Baker, 1992). Son veriler, maternal antikorların RSV enfeksiyonuna karşı hayvanları korumadığı, ancak hastalığın şiddetini değiştirebileceği yönündedir (Baker, 1992). BRSV aşıları ile immunize edilen hayvanlarda enfeksiyon oluşumu önemli ölçüde azalmaktadır. Buna karşın aşılanmamış hayvanlarda yüksek düzeyde görülmektedir (Verhoeff ve ark, 1984b). Aşıların geliştirilmesi ve test edilmesi, deneysel sistemlerdeki kısıtlamalar ve hastalığın epidemiyolojisindeki engeller nedeniyle kısıtlıdır. Ağır RSV enfeksiyonları çok genç yaşlarda oluşması nedeniyle aşılanmanın doğumdan hemen sonra yapılabilmesi gereklidir. 3-4 aylık buzağılara parenteral yapılan aşının oldukça etkili olduğu görülmüştür. Ancak maternal antikorların varlığının aşı bağışıklığına ve hastalığın patogene zine etkisi olumsuz yönde olmaktadır (Kimman ve ark, 1988). Üretimi hedeflenen RSV aşısı, yeni doğanlarda maternal antikorların varlığında ve büyük ölçüde gelişmemiş immun sistemde etkili cevap oluşturabilmelidir (Brandenburg ve ark, 2001). Bu amaçla ilk aşı çalışmaları

formalin-inaktive RSV aşıları (FI-RSV) üzerinde yoğunlaşmıştır. FI-RSV aşılarının uygulandığı buzağılarda takip eden doğal RSV enfeksiyonu sonrası, muhtemelen nötralizan epitopların denatürasyonu nedeniyle koruyucu antikor cevabı ve normal bir sitotoksik lenfosit hücre cevabı oluşmamakta ve bunun sonucu olarak ağır bir hastalık tablosu yanında koruyucu etkisinde yetersiz olduğu gözlenmektedir (Collins, 1999; Openshaw ve ark, 2000; Crowe, 2002). Formalin-inaktive RSV aşılarının reaktogenite riski nedeniyle diğer aşılarla yönelik araştırmalar ağırlık kazanmıştır.

Şiddetli klinik bulgular temelde buzağılarda görülmektedir (Stott ve ark, 1980; Kimman ve ark, 1988). Ancak erişkin sığırlarda da gözlenebilir (Elvander, 1996). Erişkinle kıyaslandığında, genç hayvanlarda BRSV enfeksiyonlarından kaynaklanan klinik bulguların sıklığının daha yüksek olması virusa sık maruz kalmayı takip eden spesifik bağışıklık düzeyi ile açıklanabilir. Yaptığımız çalışma daha çok 1 yaşını doldurmuş sığırlarda olduğu için klinik semptomlar hafif ya da hiç gözükmemektedir. Van der Poel ve arkadaşlarının 1994’de yaptığı çalışmada da virusun düzenli olarak sirküle olduğu sürülerde klinik bulgular sadece buzağılarda saptanmıştır.

RSV enfeksiyonundan korunma amacıyla geliştirilen canlı virus aşılarının nazofarenksten uygulanması sonucu doğal enfeksiyondakine benzer şekilde dengeli bir immun cevap oluşmakta, buna karşın doğal bir RSV enfeksiyonunu takiben şiddetli bir hastalık tablosu gözlenmemektedir. Attenüe viruslarla topikal enfeksiyon cazip bir strateji olup, maternal antikorların varlığında bile hem sekretorik hem de serum antikorları oluşumunu sağlar. Stewart ve Gershwin’in (1990) yaptıkları canlı aşı çalışmasında, buzağılara aerosol yolla uygulanan aşılama sonrası oluşan doğal RSV enfeksiyonunda aşıli hayvanlarda aşısız hayvanlara nazaran virus saçılım oranının daha düşük olduğu belirlenmiştir (Brandenburg ve ark, 2001; Crowe, 2002).

RSV enfeksiyonundan korunmada geliştirilen diğer aşı grubu alt üniteadaki aşılardır. Alt ünite aşılar, RSV G ve F proteininden köken almıştır (Brandenburg ve ark, 2001). Bu aşılar immun sistemi gelişmemiş ve yetersiz bireylerde etkili immunité oluşturmamaktadır. Bu nedenle immunizasyon için iyi bir aşı adayı değildir. Bu aşıların önceden enfekte olmuş ve reenfeksiyon sonucu ağır hastalık riski altında olan bireylerde uygun olabileceği bildirilmiştir (Crowe, 2002).

Sekonder bakteriyel etkenlere bağlı oluşan pnömoniler BRSV enfeksiyonunda çok yaygındır. Bu amaçla antimikrobiyal tedavide kullanılacak preparasyonlar antibiyotiklerdir. BRSV enfeksiyonunun immunpatogeneze bağlı olarak şekillenen bronkospazmlar, pulmoner konsolidasyon ve yaygın inflamasyona bağlı olarak non-steroidal antiinflatuar

ilaçlar ve antihistaminikler önerilmektedir. BRSV enfeksiyonunda destekleyici tedavi olarak etkilenen buzağılara 2-3 gün silaj ve konsantre yem verilmemeli, bireysel ihtiyacı oranında kuru ot verilmelidir. Böylece BRSV enfeksiyonunun patolojik mekanizması olan aşırı duyarlılık bir ölçüde azaltılmış olmaktadır (Baker, 1993).

Bu tez çalışması; Aydın ili ve çevresinde BRSV enfeksiyonu ile ilgili daha önce geniş çaplı araştırma yapılmamış olması nedeniyle planlanmıştır. Araştırmada, Aydın ili ve çevresindeki, BRSV aşısı uygulaması yapılmayan süt sığırcılığı işletmelerinde, 6 aylıktan büyük hayvanlar örneklenmiş, BRSV enfeksiyonunun serolojik durumunun sürü içi risk faktörleri (sürü büyüklüğü, sürüye yeni hayvan girme oranı, yaş, ırk, cinsiyet, gebelik sayısı, kapalı-yarı açık-açık işletme, uygulanan biyogüvenlik tedbirleri, yıllık işçi değişim sayısı, yıl içersinde merada bulunma veya ahırda birarada bulunma süreleri, ahıra giriş zamanları vb.) ile birlikte değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Etik Yönü

Çalışmaya başlamadan önce Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulundan 19.09.2013 tarih, 2013-8 oturum ve 79 karar sayılı etik kurul onayı alınmıştır.

3.2. Hayvan Materyali

Bu çalışmada Aydın ili ve çevresinde bulunan, halk elindeki 5 farklı süt sığırcılığı işletmesinden tesadüfi örnekleme ile toplam 369 adet kan toplandı. Buna göre 1 no' lu işletmeden 20 hayvan, 2 no' lu işletmeden 26 hayvan, 3 no' lu işletmeden 157 hayvan, 4 no' lu işletmeden 105 hayvan ve 5 no' lu işletmeden 61 hayvan örnekledi.

3.3. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

Kan örnekleri V.Jugularis'den steril olarak koagulanlı tüplere alınıp +4°C de muhafaza edilerek laboratuara getirildi. Laboratuarda 15 dk. 2500 rpm'de santrifüj edilerek kan serumları ayrıldı. Serum fraksiyon stok tüplerine alınan serum örnekleri test edilinceye kadar -20°C'lik derin dondurucuda saklandı.

Toplanan kan serumları Svanova Bovine Respiratory Syncytial Virus ELISA kiti ile BRSV spesifik antikorları yönünden test edilmiştir.

3.4. Kan Serumlarında Antikor Aranması

Toplanan kan serumlarında Bovine Respiratory Syncytial Virusa spesifik antikorların belirlenmesi için ticari indirekt ELISA kiti [Svanovir BRSV-Ab, Svanova Boehringer Ingelheim, Uppsala, SWEDEN (10-2500-02)] kullanıldı.

Test, üretici firmanın verdiği prosedür doğrultusunda gerçekleştirildi. Kit prosedürü solid faz indirekt ELISA esasına dayanmakta olup, örnekler non-enfeksiyöz BRSV antijeni ile kaplı mikrotitrasyon pleytlerine konulmakta, örneklerde BRSV antikorları varsa antijenlere bağlanmaktadır. Daha sonra BRSV antikorları ile bir kompleks oluşturan HRP konjugat ortama ilave edilmektedir. Substrat solüsyonu eklenmeden önce yapılan yıkama işlemi ile

ortamdaki bağlanmayan antikorlar uzaklaşmaktadır. Substrat ve konjugat etkileşimine bağlı gözlerde oluşan mavi renk pozitifliğin göstergesi olmaktadır. Reaksiyon stop solüsyonu ile durdurulmakta ve renk maviden sarıya dönmektedir. Sonuç çıplak gözle okunabildiği gibi, bir mikropleyt fotometrede de 450 nm’de optik dansitesi (OD) ölçülebilmektedir. Buna göre; tüm materyal kullanmadan önce oda ısısına getirildi. Testte kullanılacak pleytler numaralandırıldı. Yıkamada kullanılacak olan PBS Tween solüsyonu 1 pleyt için; 25 ml PBS Tween üzerine 475 ml distile su eklenerek hazırlandı. Birinci sıra BRSV Ag kaplı ve yanındaki sıra kontrol Ag kaplı gözlerde olmak üzere ikili çalışıldı. Sırayla tüm gözlerle 100 µl Numune sulandırma solüsyonu konuldu. Her pleytte 1. göz pozitif kontrol 2. göz negatif kontrol olarak ayrıldı. Bu gözlerle 4 µl pozitif ve negatif kontrol serumu eklendi. 4 µl serum örneği Ag kaplı ve yanındaki kontrol Ag kaplı gözlerle eklendi. Pleytleri arada çalkalayarak 37°C de 1 saat inkubasyona bırakıldı. 1 saatin sonunda 3 kez PBS Tween solüsyonu ile yıkama yapıldı. Yıkama ardından tüm gözlerle 100 µl HRP konjugatı koyulup 37°C de 1 saat inkubasyona bırakıldı. 1 saatin sonunda 3 kez yıkama yapıldı. Yıkama ardından tüm gözlerle 100 µl substrat koyuldu. Oda ısısında 10 dakika bekletildi. Bu 10 dakikalık süre ilk göz dolduğunda başlatıldı. Ardından 50 µl stop solüsyon eklenerek karıştırıldı. 15 dakika içerisinde 450 nm’de okutuldu. Sonuçların hesaplanması iki basamakta gerçekleştirildi. Buna göre;

- Düzenlenmiş OD Değerleri (OD_{Düz})

BRSV ile kaplı gözlerdeki optik dansite (OD_{BRSV}) değerlerinin, bu değerlerden karşılık gelen kontrol antijen ile kaplı gözlerdeki optik dansite (OD_{Kontrol}) değerlerinin çıkarılması ile düzenlenmiş (OD_{Düz}) değerleri bulunmuştur.

$$OD_{BRSV} - OD_{Kontrol} = OD_{Düz}$$

Düzenlenmiş OD değeri her örnek ve kontrol için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

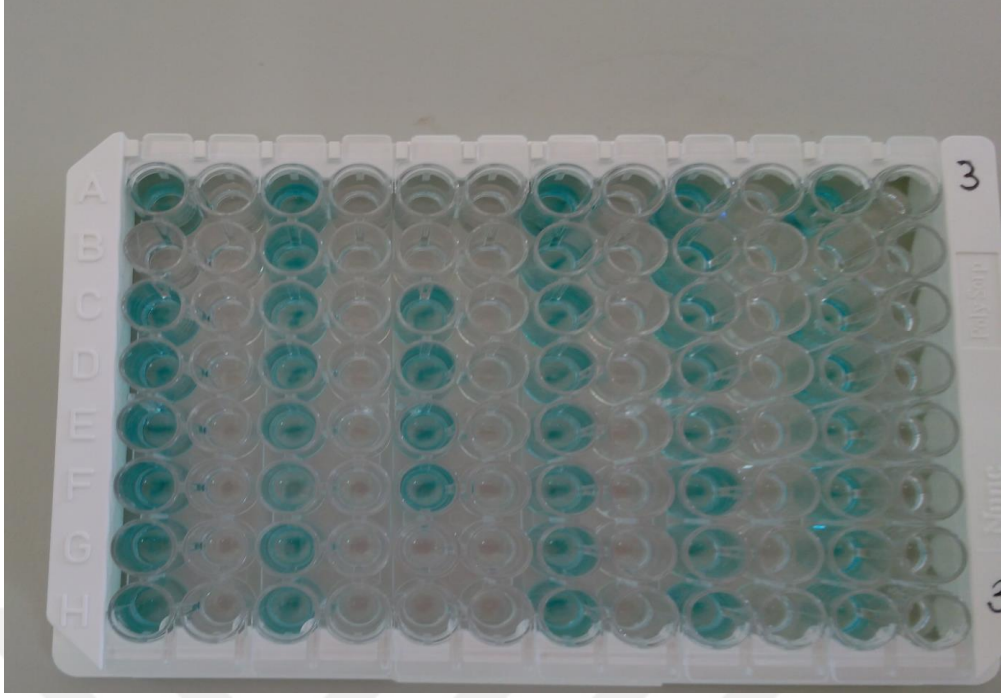
- Pozitiflik Değerleri Yüzdesi (PP)

Test örnekleri ve negatif kontrollere ait tüm düzeltilmiş OD değerleri, pozitif kontrolün düzeltilmiş ODdeğeri ile ilişkilendirilmektedir.

$$PP = OD_{Düz} (\text{örnek ya da negatif kontrol}) / OD_{Düz} (\text{Pozitif kontrol}) \times 100$$

Testin geçerliliği OD_{Düz} (Pozitif kontrol) >0.5 , PP(negatif kontrol) <10 olmasına bağlıdır.

PP değeri <10 olan serum örnekleri negatif, ≥ 10 olan serum örnekleri pozitif olarak kabul edilmiştir.



Resim 4: Çalışmada kullanılan ELISA pleyti

4. BULGULAR

Araştırmada 5 farklı sütçü işletmede bulunan toplam 369 hayvan örneklenmiştir (Tablo 1). Yetiştiricilerden alınan bilgiye göre, işletmelerdeki hayvanların BRSV'ye karşı aşıllı olmadıkları ve herhangi bir özel korunma-kontrol programının uygulanmadığı anlaşılmıştır.

Tablo 1. İşletmelere göre örneklenen hayvan sayısı

İşletme Kodu	Örneklenen Hayvan Sayısı
1	20
2	26
3	157
4	105
5	61
Toplam	369

Örneklenen 1 nolu işletmede yarı açık yetiştirme yapılmakta olup, hayvanlar 6 ay süre ile merada bulunmakta ve eylül-ekim aylarında ahıra girmektedir. İşletmedeki hayvanlar holstein ırkı, dişi, 12-48 ay yaş aralığında ki, 6 aya kadar gebe ya da gebe olmayan hayvanlardır. Bu işletmede bulunan toplam 30 hayvanın 20 adedi örneklenmiştir. Yıllık işçi değişimi yapılmayıp, sürüye yıllık yeni hayvan katılması oranı yaklaşık %20'dir (Tablo 2-3).

Örneklenen 2 nolu işletmede yarı açık yetiştirme yapılmakta olup, hayvanlar 4 ay süre ile merada bulunmakta ve eylül-ekim aylarında ahıra girmektedir. İşletmedeki hayvanlar holstein ırkı, dişi, 12-48 ay yaş aralığındaki, 6 aya kadar gebe ya da gebe olmayan hayvanlardır. Bu işletmede bulunan toplam 67 hayvanın 26 adedi örneklenmiştir. Yıllık işçi değişimi yapılmayıp, sürüye yıllık yeni hayvan katılması oranı yaklaşık %40'tır (Tablo 2-3).

Örneklenen 3 nolu işletme kapalı işletme olup, hayvanlar yıl boyu ahırda bulunmaktadır. İşletmedeki hayvanlar holstein ve simental ırkı, dişi, 12-48 ay yaş aralığındaki, 6 aya kadar gebe ya da gebe olmayan hayvanlardır. Bu işletmede bulunan toplam

342 hayvanın 157 adedi örneklenmiştir. Yıllık işçi değişimi yapılmayıp, sürüye yıllık yeni hayvan katılması oranı yaklaşık %30'dur (Tablo 2-3).

Örneklenen 4 nolu işletme kapalı işletme olup, hayvanlar yıl boyu ahırda bulunmaktadır. İşletmedeki hayvanlar holstein ırkı, dişi, 12-36 ay yaş aralığındaki, gebe olmayan hayvanlardır. Bu işletmede bulunan toplam 480 hayvanın 105 adedi örneklenmiştir. Yıllık işçi değişimi yapılmayıp, sürüye dışarıdan yeni hayvan alımı yapılmamaktadır (Tablo 2-3).

Örneklenen 5 nolu işletmede yarı açık yetiştirme yapılmakta olup, hayvanlar 4 ay süre ile merada bulunmakta ve eylül-ekim aylarında ahıra girmektedir. İşletmedeki hayvanlar holstein ırkı, dişi, 12-48 ay yaş aralığındaki, 6 aya kadar gebe ya da gebe olmayan hayvanlardır. Bu işletmede bulunan toplam 70 hayvanın 61 adedi örneklenmiştir. Yıllık işçi değişimi yapılmayıp, sürüye yıllık yeni hayvan katılması oranı yaklaşık %40'tır (Tablo 2-3).

Tablo 2. Muhtemel risk faktörlerine ait veriler-1

İşletme Kodu	Sürü Büyüklüğü	Yaş Aralığı	Cinsiyet	İrk	Gebelik
1	30	12-48	Dişi	Holstein	Yok/ 6 aylığa kadar
2	67	12-48	Dişi	Holstein	Yok/ 6 aylığa kadar
3	342	12-48	Dişi	Holstein/ Simental	Yok
4	480	12-36	Dişi	Holstein	Yok/ 6 aylığa kadar
5	70	12-48	Dişi	Holstein	Yok/ 6 aylığa kadar

Tablo 3. Muhtemel risk faktörlerine ait veriler-2

İşletme Kodu	İşletme Tipi	Merada Bulunma (Ay)	Ahıra Giriş Zamanı	Yıllık İşçi Değişimi	Sürüye Yeni Hayvan Girme Oranı (%)
1	Yarı Açık	6	Eylül-Ekim	Yok	20
2	Yarı Açık	4	Eylül-Ekim	Yok	40
3	Kapalı	Meraya çıkmaz	Yıl boyu ahırda	Yok	30
4	Kapalı	Meraya çıkmaz	Yıl boyu ahırda	Yok	0
5	Yarı Açık	4	Eylül-Ekim	Yok	40

Araştırmada alınan kan serum örneklerinde BRSV antikorlarının tespiti için yapılan ELISA sonuçlarına göre, işletmeler bazında %97,1 ila %100 arasında değişen oranlarda seropozitiflik saptanmış olup, 1 nolu işletmeden alınan 20 kan serum örneğinin tamamı (%100), 2 nolu işletmeden alınan 26 kan serum örneğinin tamamı (%100), 3 nolu işletmeden alınan 157 kan serum örneğinin 155 adedi (%98,7), 4 nolu işletmeden alınan 105 kan serum örneğinin 102 adedi (%97,1) ve 5 nolu işletmeden alınan 61 kan serum örneğinin tamamı (%100) pozitif bulunmuştur (Tablo 4).

Buna göre çalışmada örnekleme yapılan bütün işletmelerde seropozitiflik saptanmıştır (%100). İşletmeler genelinde ise alınan toplam 369 kan örneğinin 364 adedi seropozitif, 5 adedi seronegatif saptanmış, BRSV seropozitiflik oranı %98,6 olarak belirlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. İşletmelere Göre Seropozitiflik Oranları

İşletme Kodu	Örneklenen Hayvan Sayısı	BRSV Ab Pozitif Bulunan Hayvan Sayısı	Seropozitiflik Oranı
1	20	20	% 100
2	26	26	% 100
3	157	155	% 98,7
4	105	102	% 97,1
5	61	61	% 100
Toplam	369	364	%98,6

5.TARTIŞMA

BRSV dağılımı dünya çapında olup virus Avrupa, Amerika ve Asya'da ki sığırlardan izole edilmiştir (Paccaud ve ark, 1970; Inaba ve ark, 1972). RSV enfeksiyonunun ilk virolojik verileri 1970 yılında Paccaud ve Jacquier tarafından Avrupa'da bildirilmiştir (Stewart ve Gerschwin,1990). İlk serolojik veriler ise 1968 yılında Doggett tarafından ortaya konmuştur (Morgan ve ark, 1985; Steeven ve ark,1989).

Daha sonra dünyanın birçok ülkesinde sığır, koyun ve keçilerde klinik ve subklinik olarak seyrettiği bildirilmiştir. Lamontagne ve ark (1985) modifiye komplement fikzasyon testini kullanarak koyunlarda BRSV antikor prevalansını % 35, keçilerde ise %36 olarak saptamıştır. Lehmkuhl ve ark (1985), koyunlardan topladıkları kan serumlarından mikronötralizasyon testi ile yaptıkları sero-epidemiolojik çalışmada BRSV antikor prevalansını %84,5 olarak saptanmıştır. Leamaster ve ark (1983), mikronötralizasyon testini kullanarak yaptıkları serolojik çalışmada BRSV antikorlarını koyunlarda %57 olarak tespit ederken, kuzularda %49 olarak saptamışlardır. Kuzulardaki bu düşüş kolostrumla alınan BRSV antikorlarının hızla azalmasına bağlanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada 559 sığır kan serumunda nötralizasyon testi ile %65.5 oranında pozitif sonuç elde edilmiştir (Baker ve ark, 1985). Uruguay'da Costa ve ark (2000) yaptığı bir çalışmada %95 oranında bir seropozitiflik oranı bulunmuştur. BRSV enfeksiyon sıklığı oldukça yüksek olup, sütçü sürülerde %60 (Baker ve ark, 1986), etçi sürülerde %70'lere varan epizootik solunum yolu hastalıklarından sorumludur (Caldow ve ark, 1988).

İngiltere'de yapılan bir çalışmada 9 aylık etçi buzağların %70'inden fazlasının BRSV ile enfekte olduğu saptanmıştır (Stott ve ark, 1980). Aynı durum Hollanda'da bir yaştan altındaki sığırlarda saptanmıştır (Kimman ve ark, 1988). İsveç'te sütçü sürülerde yapılan bir çalışmada 5-11 aylık buzağlarda BRSV antikorlarının oranı %35 bulunmuştur.

Larsen ve ark (1999) , Vilcek ve ark (1994) yaptığı çalışmalarda BRSV enfeksiyonun patogeneğinde 2-3 gün içinde BRSV antijenleri nazal swabta, 8-10 gün sonra da enfeksiyon tespit edilmiştir (Larsen ve ark, 1999). Heally ve ark (1983) akut solunum sistemi semptomları gösteren 133 sığır serum örneklerinden % 94 oranında seropozitiflik tespit ettiklerini ve aynı sığırlardan 4-6 hafta sonra tekrar alınan serum örneklerinde ise %100 oranında nötralizan antikor saptadıklarını bildirmişlerdir.

Edwards ve ark (1984), iki yıllık periyotta topladıkları 686 adet pnömoni bulguları gösteren sığır akciğer örneklerinin 44 adedinde (%6,4) DİF testi ile BRSV antijenini pozitif olarak saptamışlar ancak virus izolasyonunu başaramamışlardır.

Türkiye’de BRSV enfeksiyonunun ilk serolojik verileri Burgu ve ark (1990) Türkiye’nin değişik bölgelerinden sağlanan sığır kan serumlarında yaptıkları sero-epidemiolojik çalışmada %46.12 olarak saptanmıştır.

Türkiye’de BRSV enfeksiyonunu ile ilgili olarak daha sonra yapılan çalışmalarda, Bolat (1991) %43.75, Alkan ve ark (1997) %44.66 oranında seropozitiflik saptamışlardır. Alkan ve ark (2000) yaptıkları izolasyon çalışmasında elde edilen örneklerin %31.5’inin değişik enfeksiyon etkenleriyle komplike enfeksiyon oluşturduğu bildirilmiştir.

BRSV mortalitesi düşük olmakla birlikte morbiditesi yüksek bir enfeksiyondur. Etken tek başına klinik bozukluklara neden olmasının yanında, sekonder olarak bakteriyel enfeksiyon gelişimine zemin hazırlayabilir. Diğer etkenlerle birlikte seyrettiğinde prognozun ağırlaştığı görülür. Yılın her mevsiminde görülebilmekle birlikte, klinik vakalara daha çok kış aylarında rastlanmaktadır. Sürü genelinin antikor varlığı, oranı, titre seviyesi ve sürüde stres faktörlerinin varlığına bağlı olarak, akut ve epidemiler halinde seyreder. Enfeksiyonun neden olduğu ekonomik kayıpların temelinde verim düşüklükleri vardır.

Aydın ili sığır yetiştiriciliği entansif olarak da yapılmakla birlikte, genellikle yarı açık şekilde yapılmaktadır. Bu çalışmada, BRSV enfeksiyonun Aydın ili sığırcılık işletmelerindeki durumu hakkında bilgi edinmek ve enfeksiyonun oranını belirleyen etkili faktörlerin neler olduğu konusunda bilgi edinmek amaçlandı. Bu amaçla, 5 farklı işletmeden klinik olarak sağlıklı görümlü, 6 aylıktan yüksek, 369 dişi Simental-Holstein ırkı inekten kan serum örnekleri elde edildi. Örneklenen her bir sığırın ayrıntılı kayıtları bulunmakta idi ve insidens üzerinde belirleyici olabilecek tüm olası bilgiler not alındılar. Hayvanlara ve sürülere ait dikkate alınan veriler şunlar idi; sürü büyüklüğü, sürüye yeni hayvan girme oranı, yaş, ırk, cinsiyet, gebelik sayısı, kapalı-yarı açık-açık işletme, uygulanan biyogüvenlik tedbirleri, yıllık işçi değişim sayısı, yıl içerisinde merada bulunma veya ahırda birarada bulunma süreleri, ahıra giriş zamanları.

Beş işletmeden sürü büyüklüğüne bağlı olarak 20 ile 157 arasında değişen, BRSV açısından aşılanmamış toplam 369 örnek elde edildi (tablo 1). Tümü dişi olan hayvanların yaş aralığı 12-48 ay aralığında olup, ırk konusunda da bir örneklik söz konusudur. Zayıf da olsa immunsupresif faktör olarak gebelik durumu hayvanların çoğunluğunda bulunmamakla birlikte 6 aydan küçük erken gebelik bir kısım hayvan açısından söz konusudur (tablo 2). Beş işletmenin ikisinde (3 ve 4 nolu işletmeler) hayvanlar tamamen kapalı yetiştiricilik şartlarında

bulundurulmakla birlikte, diğer işletmelerde yılın 4 ile 6 aylık bölümünde merada yetiştirilmekte idiler (tablo 3). İşletmelerin tümünde işçi değişimi olmayıp, sürüye yeni hayvan katılımı 4 nolu işletme hariç %20 ile %40 oranlarında yapıldığı bildirilmiştir.

Yapılan serolojik kontroller sonucunda, test edilen 369 hayvanın 364'ünde (%98.6) BRSV spesifik antikor varlığı tespit edilmiş olup, belirlenen oran ülkemizde bu güne kadar yapılan çalışmalar arasında en yüksek değerdir. Burgu ve ark (1990) yapmış olduğu çalışmada %46,12 seropozitiflik bulurken, Bolat (1991) %43.75, Alkan ve ark (1997) %44.66 oranında seropozitiflik saptamışlardır.

Söz konusu virusun virion özellikleri ve bulaşma dinamiklerine bağlı olarak insidens üzerinde etkili olabileceği düşünülen faktörlerin incelenmesi, belirlenen seropozitifliğin son derece yüksek olması nedeniyle yapılamamıştır. Anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte en düşük oran, tamamen kapalı yetiştirmenin yapıldığı, işçi değişiminin ve sürüye yeni hayvan katılımının olmadığı 4 nolu işletmede tespit edilmiştir (tablo 4).

Diğer tüm zarlı viruslar gibi, BRSV de saha şartlarında zarsız viruslara nazaran çok daha frajil bir yapıya sahiptir. Etkenin yer aldığı Paramyxoviridae ailesi ise bilinen virus aileleri içinde ısı, dezenfektan, pH ve UV ışınlarına direnç açısından en fazla hassasiyete sahip viruslar arasındadır (Bohlender ve ark, 1982, Kellogg, 1991; Bitgel, 1997). Dolayısıyla virusun saha şartlarında epidemiyolojik özellikleri değerlendirildiğinde, direkt bulaşma en önemli yol olarak öne çıkmaktadır. İndirekt olarak bulaşmalar da her zaman için söz konusudur ancak ister klinik ister subklinik olsun, akut enfekte bireylerden saçılan virusun ahır ve mera şartlarında yarattığı kontaminasyonun öneminin çok fazla olacağını, yani fomitlerin rolünün büyük olduğunu söylemek sadece aynı sürü içinde bulunan hayvanlar açısından mümkündür. Aynı yetiştirme ortamını paylaşan hayvanlar ayrıca aerosol olarak da virusu kolaylıkla alabilmektedirler.

Yılın yaklaşık yarısını merada geçiren sığırların diğer sürülerle yakın teması veya fomitlerle virus ile teması çok olasıdır. Bir, iki ve beş nolu işletmelerde bu durum söz konusudur. Ancak normal şartlarda kapalı yetiştiricilikte bulaşma riskinin daha düşük olması beklenir. Sürüye laboratuvar kontrolleri yapılmadan yeni hayvan katılımının hemen bütün enfeksiyonlar açısından her zaman için en önemli bir risk faktörleri arasında olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada kapalı yetiştiriciliğin yapıldığı 3 nolu işletmede hayvan katılımı söz konusu ise de dört nolu işletmede hemen hemen dikkate değer olabileceği düşünülen risk faktörlerinin neredeyse tümü bulunmamakla birlikte, yine de elde edilen %97.1' lik oran beklenebilecek kadar düşük değildir. Bu durumda, çiftliğin konumun diğer işletmeler ile

aerosol bulaşmanın olasılık olabileceği kadar yakın olup olmadığı ile işçilerin başka işletmelerde de eş zamanlı olan çalışması veya bulunması gibi noktalar düşünülmelidir.

Bu çalışmada kullanılan hayvanların sağlık kayıtları bulunduğu ve aşısız oldukları bilgisinden hareketle, tespit edilen antikorların doğal enfeksiyon sonucu olduğu kabul edildi. Test metodu olarak kullanılan ELISA, sensitivite ve spesifitesi oldukça yüksek olmakla birlikte, kalitatif bir testtir. Serum Nötralizasyon₅₀ testinde olduğu gibi kantitatif bir sonuç elde edilemediği için hayvanlardaki antikor titre değerleri belirlenemedi. Buna bağlı olarak, belirlenen seropozitiflik yüksek olsa da, aslında hayvanlardaki antikor seviyelerinin koruyucu titrede olup olmadığı ve akut enfeksiyonun yaklaşık ne zaman geçirilmiş olabileceğine dair yorum yapabilmek mümkün olmamıştır. Ancak yapılan çalışmalar, IgG1'in 10.-17. günlerde ortaya çıktığı, 24.-38. günlerde maksimum düzeye ulaştığı ve en fazla 8 aya kadar saptanabilir olduğu bilgisine dayanak (Kimman ve ark, 1988; Schrijver ve ark, 1996), hayvanların yaklaşık son 8 aylık dönemde enfeksiyona maruz kaldıkları söylenebilir. Enfeksiyonun immunolojik dinamiklerine bakıldığında yaşı artmasının ve tekrar doz uygulamalarının sonucunda antikor yanıtın daha koruyucu olduğunu ortaya koymaktadır. Kimman ve arkadaşları (1988), maternal antikorların etkisi, modifiye canlı ve inaktif aşılardan koruyucu etkisini araştırmıştır. Aynı çalışmada buzağılar inaktive BRSV aşısı ile aşılmasına rağmen BRSV enfeksiyonunun ortaya çıkarak respiratorik hastalıklara neden olabileceğini belirtmiştir. Bazı hayvanlarda BRSV enfeksiyonunun persiste kalabileceği Thomas ve arkadaşlarının 1980'de yaptığı araştırma da ortaya konmuştur, ancak saha şartlarındaki önemini ortaya koyan çalışmalar bulunmamaktadır.

Virus kış aylarında sığırlarda düzenli olarak hastalık çıkışlarına neden olur (Stott ve ark, 1980). Sığırlarda yapılan seroprevalans çalışmalarında, enfeksiyon oranları yüksek bulunmuş olmasına rağmen, RSV ile ilişkili solunum yolu hastalığına ciddi bir eğilim göstermedikleri bildirilmektedir. Ancak diğer bakteriyel ve viral enfeksiyonlar ile stres faktörleri RSV enfeksiyonuna karşı duyarlılıklarında artışa neden olabilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışmada, klinik olarak solunum sistemi enfeksiyonu belirtilerine sahip olmayan sığırlarda, etiyolojik ajan RSV' nin serolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır. Elde edilen çok yüksek seropozitiflik oranları enfeksiyonun yayılmasında olası risk faktörlerinin sağlıklı olarak değerlendirilebilmesine olanak sağlamamıştır, dolayısıyla istatistiksel inceleme de yapılamamıştır. Daha önce bildirilmiş olan prevalans incelemelerinde (Kimman ve ark. 1988), coğrafik alanlara bağlı olarak değişiklikler belirlenmiş ise de, cinsiyet, ırk ve sürü büyüklüğü ile herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir. Benzer olarak klinik belirtilerin varlığı ile antikor prevalansı arasında bir ilişki yoktur. Bu çalışmada da sürü içi risk faktörlerinin hastalık prevalansına bir etkisi görülmemiştir.

Sürü içerisindeki herhangi bir koruma kontrol programı uygulanmayıp özellikle immun sistemi baskılayarak BRSV enfeksiyonuna predispozisyon yaratabileceği düşünülmekte, bunu tespit etmeye yönelik araştırmalar planlanması önerilmektedir.

Araştırmada yüksek enfeksiyon sıklığı ile seyreden BRSV enfeksiyonu, diğer viral ve bakteriyel enfeksiyonlara predispozisyon yarattığı bilinmektedir. Dolayısıyla, hastalıktan kaynaklı ekonomik kayıpların önüne geçilebilmesi için, işletmelerdeki hayvanların sonbahar aylarında her yıl düzenli olarak aşılanarak bağışık tutulması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Adair M, Mcferran B.** Differences in fluorescent antibody staining of Bovine Respiratory Syncytial Virus – infected cells by ovine and bovine sera. *Veterinary Microbiology*, 1987, s13:87-91.
- Ahmadian G, Chambers P, Easton J.** Detection and characterization of proteins encoded by the second ORF of the M2 gene of pneumoviruses, *Journal of General Virology* 1999, s80:2011–2016.
- Alansari H, Potgieter N.** Molecular cloning and sequence analysis of the phosphoprotein, nucleocapsid protein, matrix protein and 22K (M2) protein of the ovine respiratory syncytial virus, *Journal of General Virology*, 1994, s75:3597–3601.
- Alkan F, Özkul A, Karaoğlu MT, Bilge S, Akça Y, Burgu İ, Yeşilbağ K, Oğuzoğlu TÇ.** Sığırlarda viral nedenli solunum sistemi enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1997, 44: 73-80.
- Alm K, Koskinen E, Vahtiala S, Andersson M.** Acute BRSV Infection in Young AI Bulls: Effect on Sperm Quality. *Reproduction in Domestic Animals*. 2009, 44, s456–459.
- Alm K, Taponen J, Dahlbom M, Tuunainen E, Koskinen E, Andersson M.** A novel automated fluorometric assay to evaluate sperm viability and fertility in dairy bulls. *Theriogenology*, 2001, s56, 677–684.
- Atreya PL, Peeples ME, Collins PL.** The NS1 protein of human respiratory syncytial virüs is a potent inhibitör of minigenome transcription and RNA replication. *Journal of Virology*, 1998, 72, 1452-1461.
- Ames TR.** The epidemiology of BRSV infection. *Veterinary Medicine* 1993, 88, 881–885.
- Baker JC, Ames TR, Markham RJ.** Seroepizootiologic study of bovine respiratory syncytial virus in a dairy herd. *American Journal of Veterinary Research*, 1986, 47:240–245.
- Baker JC.** Bovine Respiratory Syncytial Virus. In: *Veterinary Diagnostic Virology*, Castro AE, Heuschele WP (Edt), Mosby-Year book Inc, 1992, 85-88.
- Baker JC.** Treating BRSV infection. *Veterinary Medicine Symposium on BRSV infection*, 1993.
- Bartha A, Benko M, Kukedi A, Vetesi F.** Study of prolonged virus infection in cattle stocks infected by Bovine Respiratory Syncytial Virus. *Acta Veterinaria Hungarica*, 1986, s34(3-4): 271-279.

- Belknap E, Baker JC, Patterson JS, Walker RD, Haines DM, Clark EG.** The role of passive immunity in bovine respiratory syncytial virus-infected calves. *The Journal Infectious Diseases*, 1991, 163:470–476.
- Bermingham A, Collins PL.** The M2-2 protein of human respiratory syncytial virus is a regulatory factor involved in the balance between RNA replication and transcription, *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 1999, 96:11259–11264.
- Bitgel A.** Trakya bölgesindeki solunum sistemi infeksiyonu belirtisi gösteren sığırlarda immunfloresan test ile infectious bovine rhinotracheitis (IBR), respiratory syncytial virüs (RSV) ve parainfluenza tip 3 (PI-3) antijenlerinin tespiti. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 1997, 28(2): 127-140.
- Bohlender RE, McCune MW, Frey ML.** Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection. *Modern Veterinary Practice*, 1982, 63 (8): 613-618.
- Bolat Y.** Elazığ’da sığır respiratory syncytial virus (BRSV) enfeksiyonlarının serolojik olarak araştırılması. *Fırat Üniversitesi Dergisi (Sağlık Bilimleri)*, 1991,5 (1): 25-31.
- Brandenburg AH, Neijens HJ, Osterhaus ADME.** Pathogenesis of RSV lower respiratory tract infection: Implications for vaccine development. *Vaccine*, 2001, 19:2769-2782.
- Bromberg K, Tannis G, Daidone B, Clarke L, Sierra M.** Comparison of Ortho Respiratory Syncytial Virus ELISA and Hep-2 Cell Culture. *Journal of Clinical Microbiology*, 1985, 22(6):1071-1072.
- Brown G, Aitken J, Rixon HWM, Sugrue RJ.** Caveolin-1 is incorporated into mature respiratory syncytial virus particles during virus assembly on the surface of virus-infected cells, *Journal of General Virology*, 2002, 83:611–621.
- Bryson DG, Evermann JF, Liggitt HD, Foreyt WJ, Breeze RG.** Studies on the pathogenesis and interspecies transmission of RSV isolated from sheep. *American Journal of Veterinary Research*, 1988, 49(8):1424-1430.
- Bryson DG.** Necropsy findings associated with BRSV pneumonia, Review Symposium on BRSV Infection, *Veterinary Medicine*, 1993, 894-899.
- Bryson DG, Platten MF, McConnel S, McNulty MS.** Ultrastructural features of lesions in bronchoalveolar epithelium in induced Respiratory Syncytial Virus pneumonia of calves. *Veterinary Pathology*, 1991,28:293-299.
- Caldow GL, Edwards S, Nixon P, Peters AR.** Associations between viral infection and respiratory disease in young beef bulls, *Veterinary Record*, 1988, 122:529–531.
- Cash P, Wunner WH, Pringle CR.** A comparison of the polypeptides of human and bovine Respiratory Syncytial viruses and murine pneumonia virus. *Virology*, 1977, 82:369-379.

- Castleman WL, Chandler SK, Slauson DO.** Experimental bovine respiratory syncytial virus infection in conventional calves: Ultrastructural respiratory lesions. *American Journal of Veterinary Research*, 1985a, 46(3): 540-546.
- Castleman WL, Lay JC, Dubovi EJ, Slauson DO.** Experimental bovine respiratory syncytial virus infection in conventional calves: Light microscopic lesions, microbiology and studies on lavaged lung cells. *American Journal of Veterinary Research*, 1985b, 46(3): 547-553.
- Castleman WL, Torres-Medina A, Hawkins KL, Dubovi EJ, Atz JM.** Severe respiratory disease in dairy cattle in New York state associated with bovine respiratory syncytial virus infection. *Cornell Veterinary*, 1985c, 75: 473-483.
- Chonmaitree T, Bessette-Henderson BJ, Hepler RE, Lucia HL.** Comparison of Three Rapid Diagnostic Techniques for Detection of RSV from Nasal Wash Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 1987, 25: 746-747.
- Ciszewski DK, Baker JC, Slocombe RF, Reindel JF, Deborah MH, Clark EG.** Experimental reproduction of respiratory tract disease with bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Microbiology*, 1991, 28: 39-60
- Citterio CV, Luzzago C, Sala M, Sironi G, Gatti P, Gaffuri A, Lanfranchi P.** Serological study of a population of alpine chamois (*Rupicapra rupicapra*) affected by an outbreak of respiratory disease, *Veterinary Record*, 2003, 153: 592–596.
- Collins PL.** Respiratory Syncytial Virus-Human (Paramyxoviridae). Granoff A, Webster RG, (Edt), In: *Encyclopedia of Virology*, II. Edited, Vol. 3: 1999, 1479-1487.
- Collins PL, Chanock RM, Murphy BR.** Respiratory syncytial virus. Kriple DM, Howley PM (Edt), 4th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, *Fields virology*, 2001, pp. 1443–1485.
- Collins PL, Hill MG, Johnson PR.** The two open reading frames of the 22K mRNA of human respiratory syncytial virus: sequence comparison of antigenic subgroups A and B and expression in vitro, *Journal of General Virology*, 1990, 71: 3015–3020.
- Costa M, Garcia L, Yunus AS, Rockemann DD, Samal SK, Cristian J.** Bovine respiratory syncytial virus: first serological evidence in Uruguay. *Veterinary Research*, 2000, 31: 241-246.
- Crowe Jr JE.** Respiratory Syncytial Virus vaccine development. *Vaccine*, 2002, 20: S32-37.
- Cutlip CR, Lehmkuhl HD.** Lesions in lambs experimentally infected with Bovine Respiratory Syncytial Virus. *American Journal of Veterinary Research*, 1979, 40: 1479-1482.

- Deplanche M, Lemaire M, Mirandette C.** In vivo evidence for quasispecies distributions in the bovine respiratory syncytial virus genome. *Journal of General Virology*, 2007, 88(Pt 4):1260–5.
- Dunbar MR, Jessup DA, Evermann JF, Foreyt WJ.** Seroprevalence of respiratory syncytial virus in free-ranging bighorn sheep. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1985, 187:1173–1174.
- Easton AJ, Domachowske JB, Rosenberg HF.** Animal pneumoviruses: molecular genetics and pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, 2004, 17, 390–412.
- Edwards S, Newman RH, Stanley M.** Respiratory Syncytial Virus Diagnosis. *Veterinary Record*, 1984, 114(4):101.
- Edwards S, White H, Newman RH, Nixon P.** A veterinary service scheme for the rapid diagnosis of viral infections in ruminants using Immunofluorescence. *State Veterinary Journal*, 1988, 42(120): 41-47.
- Elvander G, Barnouin J.** A nation-wide epidemiological study of acute bovine respiratory disease in France. *Preventive Veterinary Medicine*, 2009, 89:265-271.
- Elvander M.** Severe respiratory disease in dairy cows caused by infection with bovine respiratory syncytial virus, *Veterinary Record*, 1996, 138:101–105.
- Evermann JF, Liggitt HD, Parish SM, Ward AC, LeaMaster BR.** Properties of a respiratory syncytial virus isolated from a sheep with rhinitis. *American Journal of Veterinary Research*, 1985, 46, 947–951.
- Field EW, Smith MS, Smith MH.** Cell-mediated immune response in cattle to bovine respiratory syncytial virus. *American Journal of Veterinary Research*, 1984, 45(8):1641-1643.
- Florent G, De Marneffe C.** Enzyme linked immunosorbent assay used to monitor serum antibodies to bovine respiratory disease viruses. *Veterinary Microbiology*, 1986, 11:309-317.
- Freymuth F, Quibriac M, Petitjean J, Amiel ML, Pothier P, Denis A, Duhamel JF.** Comparison of two new tests for rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infections by enzyme-linked immunosorbent assay and immunofluorescence techniques. *Journal of Clinical Microbiology*, 1986, 24(6):1013-1016.
- Fulton RW, Downing MM, Hagstad HV.** Prevalance of bovine herpesvirus-1, BVD, PI-3, bovine adenoviruses-3 and –7, and goat respiratory syncytial viral antibodies in goats. *American Journal Veterinary Research*, 43(8): 1982, 1454-1457.
- Furze JM, Roberts SR, Wertz GW, Taylor G.** Antigenically distinct G glycoproteins of BRSV strains share a high degree of genetic homogeneity, *Virology*, 1997, 231:48–58.

Giangaspero M, Vanopdenbosch E, Nishika H, Tabbaa D. Prevalance of Antibodies Against Respiratory Viruses (PI-3, RSV, Reovirus and Adenovirus) in relation to productivity in Syrian awassi sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 1997, 29(2): 83-91.

Grell SN, Riber U, Tjornehoj K, Larsen LE, Heegaard PM. Age-dependent differences in cytokine and antibody responses after experimental RSV infection in a bovine model. *Vaccine* 2005, 23, 3412–3423.

Gonzales-Reyes L, Ruiz-Arguello MB, Garcia-Barreno B, Calder L, Lopez JA, Albar JP, Skehel JJ, Wiley DC, Melero JA. Cleavage of the human respiratory syncytial virus fusion protein at two distinct sites is required for activation of membrane fusion. *Proceeding of the National Academy Sciences*, 2001, 8(17):9859-9864.

Hardy RW, Wertz GW. The product of the respiratory syncytial virus M2 gene ORF1 enhances readthrough of intergenic junctions during viral transcription, *Journal of Virology*, 1998, 72:520–526.

Healy AM, Monaghan ML, Bassett HF, Gunn HM, Markey BK, Collins JD. Morbidity and mortality in a large Irish feedlot; microbiological and serological findings in cattle with acute respiratory diseasa. *British Veterinary Journal*, 1983, 149: 549-560.

Inaba Y, Tanaka Y, Sato K, Omori T, Matumoto M. Bovine respiratory syncytial virus – Studies on an outbreak in Japan, 1968–1969, *Japanese Journal of Microbiology*, 1972, 16:373–383.

Jalowsky AA, Walpita P, Puryear BA, Connor JD. Rapid detection of Respiratory Syncytial virus in nasopharyngeal specimens obtained with the rhinoprobe scraper. *Journal Clinical Microbiology*, 1990, 28(4):738-741

Karger A, Schmidt U, Buchholz UJ. Recombinant bovine respiratory syncytial viruswithdeletionsoftheGorSHgenes:G and F proteins bind heparin, *Journal of General Virology*, 2001, 82:631–640.

Keles I, Woldehiwet Z, Murray RD. In vitro studies on mechanisms of immunosupression associated with bovine respiratory syncytial virus. *Journal Comparative Pathology*, 1998a, 118:337-345.

Keles I, Woldehiwet Z, Murray RD. The effects of virus-spesific antibodies on the replication of bovine respiratory syncytial virus in vitro and on clinical disease and immune responses in lambs. *Journal Comparative Pathology*, 1998d, 62:221-234.

Kellogg A. Culture vs direct antigen assays for detection of microbial pathogens from lower respiratory tract specimens suspected of containing the respiratory syncytial virüs- *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 1991, 115:451-456.

- Kimman TG, Zimmer GM, Westenbrink F, VanLeeuwen EMJ.** Epidemiological Study of BRSV Infection in calves: Influence of maternal antibodies on the outcome of disease. *Veterinary Record*, 1988, 123:104-109.
- Kimman TG, Straver PJ, Zimmer GM.** Pathogenesis of naturally acquired bovine respiratory syncytial virus infection in calves: morphologic and serologic findings, *American Journal of Veterinary Research*, 1989, 50:684–693.
- Lamontagne L, Descoteaux JP, Roy R.** Epizootiological survey of PI-3, Reovirus-3, Respiratory Syncytial and Infectious Bovine Rhinotracheitis viral antibodies in sheep and goat flocks in Quebec. *The Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1984, 49:424-428.
- Larsen LE.** Bovine respiratory syncytial virus (BRSV): a review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 2000, 41, 1–24.
- Larsen LE, Uttenthal A, Arctander P, Tjornehoj K, Viuff B, Rontved C, Ronshold L, Alexandersen S, Blixenkrone-Moller M.** Serological and genetic characterisation of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) indicates that Danish isolates belong to the intermediate subgroup: no evidence of a selective effect on the variability of G protein nucleotide sequence by prior cell culture adaption and passages in cell culture or calves, *Veterinary Microbiology*, 1998, 62: 265–279.
- Leamaster BR, Evermann JF, Mueller GM, Prieur MK, Vander Schalie J.** Serological and virological studies on naturally occurring respiratory syncytial virus and Haemophilus somnus infections in sheep. 26th Annual Proceedings, *American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians*, 1983, 265-276.
- Lehmkuhl HD, Cutlip RC, Bolin SR, Brogden KA.** Seroepidemiological survey for antibodies to selected viruses in the respiratory tract of lambs. *American Journal of Veterinary Research*, 1985, 46(12):2601-2604.
- Madeley CR, Field AM.** Respiratory Syncytial Virus. In: *Virus Morphology*. 1988, 68:162-162.
- Mallipeddi SK, Lupiani B, Samal SK.** Mapping the domains on the phosphoprotein of bovine respiratory syncytial virus required for N-P interaction using a two-hybrid system, *Journal of General Virology*, 1996, 77:1019–1023.
- Masot AJ, Kelling CL, Lopez O, Sur JH, Redondo E.** In situ hybridization detection of bovine respiratory syncytial virus in the lung of experimentally infected lambs. *Veterinary Pathology*, 2000, 37, 618–625.

- Masot AJ, Gomez-Tejedor C, Martinez S, Redondo E.** The Immunologic Response to Experimental Infection with Bovine Respiratory Syncytial Virus in Lambs. *Journal of Veterinary Medicine series B*, 1993a, 40: 659-666.
- Masot AJ, Gomez-Tejedor C, Tovar I, Gazquez A, Redondo E.** Location of bovine respiratory syncytial virus antigens in the lung of experimentally-infected lambs; Comparative study using indirect fluorescent antibody test, avidin-biotin-peroxidase complex and transmission electron microscopy. *European Journal of Histochemistry*, 1993b, 37:75-82.
- Matthews JM, Young TF, Tucker SP, Mackay JP.** The core of the Respiratory Syncytial virus fusion protein is a trimeric coiled coil. *Journal of Virology*, 2000, 74(13):5911-5920.
- McIntosh K, Chanock RM.** Respiratory Syncytial Virus. Fields BN, Knipe DM (Edt). Raven Press New York. *Virology*, 1990, 2(38):1045-1072.
- McNulty MS, Bryson DG, Allan GM.** Experimental Respiratory Syncytial Virus pneumonia in young calves: Microbiologic and immunofluorescent findings. *American Journal of Veterinary Research*, 1983, Vol.44(9): 1656-1659.
- Mohanty SB, Ingling AL, Lillie MG.** Experimentally induced Respiratory Syncytial virus infection in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 1975, 36(4):417-419.
- Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ.** Paramyxoviridae, *Veterinary Virology*, 1999, 26: 411-428.
- Openshaw PJM, Fiona JC, Olszewska W.** Immunopathogenesis of vaccine-enhanced RSV disease. *Vaccine*, 2002, 20:27-31.
- Ostler T, Hussell T, Surh CD, Openshaw P, Ehl S.** Long-term persistence and reactivation of T cell memory in the lung of mice infected with respiratory syncytial virus. *European Journal of Immunology*, 2001, 31(9): 2471-2482.
- Özkul A, Özsan M.** Hücre Kültürlerinde Respiratory Syncytial virus enfeksiyonunun direkt immunoperoksidaz tekniği ile hızlı tanısı. *Flora*, 1998, 3(4):258-262.
- Paccaud MF, Jacquier CL.** A respiratory syncytial virus of bovine origin, Arch. *Gesamte Virusforsch.* 1970, 30:327-342.
- Rivera H, Madewell BR, Ameghino E.** Serologic survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (*Lama pacos*). *American Journal of Veterinary Research*, 1987;48:189-91.
- Rosenquist BD.** Isolation of respiratory syncytial virus from calves with acute respiratory disease. *Journal of Infectious Diseases*, 1974, 130:177-82.
- Saa LR, Perea A, Jara DV, Arenas AJ, Garcia-Bocanegra I, Borge C, Carbonero A.** Prevalence of and risk factors for bovine respiratory syncytial virus (BRSV) infection in non-

vaccinated dairy and dual-purpose cattle herds in Ecuador. *Tropical Animal Health Production* 2012, 44, 1423–1427.

Saito T, Deskin RW, Casola A, Haeberle H, Olszewska B, Ernst PB, Alam A, Ogra PL, Garofalo R. Respiratory Syncytial virus induces selective production of the chemokine Rantes by upper airway epithelial cells. *Journal of Infectious Diseases*, 1997, 175:497-504.

Samal SK, Zamora M, McPhillips TH, Mohanty SB. Molecular cloning and sequence analysis of bovine respiratory syncytial virus mRNA encoding the major nucleocapsid protein, *Virology*, 1991, 180:453–456.

Schreiber P, Matheise JP, Dessy F, Heimann M, Letesson JJ, Coppe P, Collard A. High mortality rate associated with bovine Respiratory Syncytial virus (BRSV) infection in Belgian White Blue calves previously vaccinated with an inactivated BRSV Vaccine. *Journal Veterinary Medicine Series B*, 2000, 47:535-550.

Schrijver RS, Daus F, Kramps JA, Langedijk JP, Buijs R, Middel WG, Taylor G, Furze J, Huyben MW, Van Oirschot JT. Subgrouping of bovine respiratory syncytial virus strains detected in lung tissue, *Veterinary Microbiology*, 1996, 53:253– 260.

Shadomy SV, Baker JC, Mufson MA, Velicer LI. Phosphoprotein profile analysis of ruminant respiratory syncytial virus isolates. *American Journal of Veterinary Research*, 1997, 58(5):478-481.

Sharmar R, Woldehiwet Z. Reinfection of lambs with bovine respiratory syncytial virus. *Research Veterinary Science*, 1992, 52:72-77.

Smith TF. Rapid diagnosis of viral infections. Kleger B (Edt). In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1987, 263:115-121.

Smith TF, Wold AD, Epsy MJ. Diagnostic Virology. Block TM (Edt). In: *Advances in Experimental Medicine and Biology Innovations in Antiviral Development and The Detection of Virus Infection*, 1992, 312: 191-199.

Smith RA. North American cattle marketing and bovine respiratory disease (BRD). *Animal Health Research Reviews*, 2009,10(2):105–8.

Stewart RS, Gershwin LJ. Detection of IgE antibodies to Bovine Respiratory Syncytial virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1989, 20:313-323.

Stewart RS, Gershwin LJ. Systemic and secretory antibody to sequential bovine respiratory syncytial virus infections in vaccinated and nonvaccinated calves. *American Journal of Veterinary Research*, 1990, 51(10):1596-1602.

- Stott EJ, Thomas LH, Collins AP, Crouch S, Jebbett J, Smith GS, Luther PD, Caswell R.** A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease, *The Journal Hygiene*, 1980, 85:257–270.
- Stott AJ, Taylor G.** Respiratory Syncytial Virus. A Review. *Archives of Virology*, 1985, 84:1-52.
- Taylor G, Bruce C, Barbet AF, Wyld SG, Thomas LH.** DNA vaccination against respiratory syncytial virus in young calves, *Vaccine*, 2005, 23:1242–1250.
- Taylor G, Stott EJ, Furze J, Ford J, Sopp P.** Protective epitopes on the fusion protein of respiratory syncytial virus recognized by murine and bovine monoclonal antibodies, *Journal of General Virology*, 1992, 73:2217–2223.
- Taylor G, Thomas LH, Furze JM, Cook RS, Wyld SG, Lerch R, Hardy R, Wertz GW.** Recombinant vaccinia viruses expressing the F, G or N, but not the M2, protein of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) induce resistance to BRSV challenge in the calf and protect against the development of pneumonic lesions, *Journal of General Virology*, 1997, 78:3195–3206.
- Teng MN, Collins PL.** Identification of the respiratory syncytial virus proteins required for formation and passage of helperdependent infectious particles, *Journal Virology*, 1998, 72:5707–5716.
- Thomas LH, Cook RS, Wyld SG, Furze JM, Taylor G.** Passive protection of gnotobiotic calves using monoclonal antibodies directed at different epitopes on the fusion protein of bovine respiratory syncytial virus, *The Journal of Infectious Diseases*, 1998, 177:874– 880.
- Thomas LH, Stott EJ, Collins AP, Jebbett J.** Experimental pneumonia in gnotobiotic calves produced by respiratory syncytial virus. *British Journal of Experimental Pathology*, 1984, 65:19–28.
- Trigo FJ, Breeze RG, Liggitt HD, Evermann JF, Trigo E.** Interaction of bovine respiratory syncytial virus and *Pasteurella haemolytica* in the ovine lung. *American Journal of Veterinary Research*, 1984b, 45(8):1671-1678.
- Trudel M, Nadon F, Simard C, Belanger F, Alain R, Seguin C, Lussier G.** Comparison of Caprine, Human, and Bovine Strains of Respiratory Syncytial Virus. *Archives of Virology*, 1989, 107:141-149.
- Ulloa L, Serra R, Asenjo A, Villanueva N.** Interactions between cellular actin and human respiratory syncytial virus (HRSV). *Virus Research*, 1998, 53:13–25.
- Valarcher JF, Schelcher F, Bourhy H.** Evolution of bovine respiratory syncytial virus. *Journal of Virology*, 2000, 74:10714–10728.

- Valarcher JF, Taylor G.** Bovine respiratory syncytial virus infection. *Veterinary Research* 2007, 38, 153–180.
- Van der Poel WHM, Brand A, Kramps A, Van Oirschot JT.** Respiratory syncytial virus infections in human beings and in cattle. *The Journal of Infectious Diseases*, 1994, 29:215–228.
- Verhoeff J, Van Nieuwstadt AP.** BRS virus, PI3 virus and BHV1 infections of young stock on self-contained dairy farms; epidemiological and clinical findings. *Veterinary Record*, 1984, 114:288–293.
- Verhoeff J, Van Der Ban M, Van Nieuwstadt APKMI.** Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection in young dairy cattle: Clinical and haematological findings. *Veterinary Record*, 1984a, 7: 9-12.
- Verhoeff J, Van Nieuwstadt APKMI.** Prevention of Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection and clinical disease by vaccination. *Veterinary Record*, 1984b, 115: 488-492.
- Viuff B, Tjørnehoj K, Larsen LE, Rontved CM, Uttenthal A, Ronsholt L, Alexandersen S.** Replication and clearance of respiratory syncytial virus: apoptosis is an important pathway of virus clearance after experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. *American Journal of Pathology*, 2002, 161, 2195– 2207.
- Waner JL, Whitehurst NJ, Todd SJ, Shalaby H, Wall L.** Comparison of directigen RSV with viral isolation and direct immunofluorescence for the identification of Respiratory Syncytial Virus. *Journal of Clinical Microbiology*, 1990, 28(3):480-483.
- Waris M, Meurman O, Mufson MA, Ruuskanen O, Halonen P.** Shedding of infectious virus and virus antigen during acute infection with respiratory syncytial virüs, *Journal of Medical Virology*, 1992, 38:111-116.
- Wellemans G.** Bovine Respiratory Syncytial Virus. Dinter Z, Morein B (Edt). . Elsevier Science Publishers B.V. In: Virus Infections of Ruminants; 1990a, 377-378.
- Woldemeskel M, Kebede E, Yigezu L, Potgieter LN.** Prevalence of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and bovine herpesvirus-4 (BHV-4) in cattle from Ethiopia. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 2000, 107, 464–466.
- Yılmaz G, Uzel N, Işık N, Uğur S, Aslan S, Badur S.** Akut alt solunum yolu infeksiyonu olan çocuklarda viral etkenler ve respiratory syncytial virus alt grupları. *İnfeksiyon Dergisi*, 2000, 14(2):157-164.
- Yunus AS, Collins PL, Samal SK.** Sequence analysis of a functional polymerase (L) gene of bovine respiratory syncytial virus: determination of minimal trans-acting requirements for RNA replication, *Journal of General Virology*, 1998, 79:2231–2238.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Ankara’da doğdum. İlkokulu ve ortaokulu Atatürk İlköğretim okulunda, lise öğrenimi ise Amasya Lisesi’nde tamamladım. 2007 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesinde okumaya hak kazandım. 2012 yılında mezun oldum. 2012 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans programına başladım.

