



T.C

BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENİZLİ VE BURDUR YÖRELERİNDEKİ SIĞIRLARDA
BOVINE RESPIRATORY SYNCYTIAL VİRUS
ENFEKSİYONUNUN SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Arif KARAOTCU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER VİROLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Yakup YILDIRIM

BURDUR-2019

T.C
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENİZLİ VE BURDUR YÖRELERİNDEKİ SIĞIRLARDA
BOVINE RESPIRATORY SYNCYTIAL VİRUS
ENFEKSİYONUNUN SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Arif KARAOTCU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER VİROLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Yakup YILDIRIM

Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0471-YL-17 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR-2019

KABUL VE ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Arif KARAOTCU tarafından *Prof.Dr. Yakup YILDIRIM* yönetiminde hazırlanan *Denizli ve Burdur Yörelerindeki Sığırlarda Bovine Respiratory Syncytial Virus Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması* başlıklı tez çalışması jüri üyesi olarak tarafınızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Viroloji Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

12 /07 /2019


Prof. Dr. Mehmet Tolga TAN
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Veteriner Fakültesi


Prof. Dr. Yakup YILDIRIM
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi


Dr. Öğr. Üyesi Sibel HASIRCIOĞLU
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

ONAY

Bu tez, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 26.7.2019 tarih ve 28...sayılı karar ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. M. Daga

Müdür

Sağlık Bilimleri Enstitüsü



TEŞEKKÜR

Hoşgörü ortamında bizleri eğitme gayreti içerisinde olan değerli zamanını, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, tez danışmanım, kıymetli hocam Prof.Dr. Yakup YILDIRIM'a, eğitimim boyunca tecrübelerinden faydalandığım Dr. Öğr. Üyesi Kamil ATLI, Arş. Gör. Dr. Hasbi Sait SALTİK ve Yüksek Lisans öğrencisi Biyolog Ayşegül USTA'ya

Sevgisiyle, koşulsuz desteğiyle her an yanımda olan eşim Emel KARAOTCU'ya, yardımları ve pozitif düşüncesiyle yanımda olduğu için abim Ramazan KARAOTCU'ya, yaşama sevincim canım kızlarım Betül KARAOTCU, Bilge KARAOTCU'ya, bu süreçte bana her daim destek olan babam Bekir KARAOTCU ve annem Fatıma KARAOTCU'ya

Varlıklarından dolayı onur duyduğum tüm aileme, gelişimimde emeği olan tüm dostlarıma manevi destekleri için sonsuz teşekkür ederim.

ETİK BEYAN

“Denizli ve Burdur Yörelerindeki Sığırlarda Bovine Respiratory Syncytial Virus Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması” başlıklı tez çalışmamdaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Yakup YILDIRIM danışmanlığında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Arif KARAOTCU

Tarih: 12.07.2019

İmza:



İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	ii
KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iv
ETİK BEYAN	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
TÜRKÇE ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Etiyoloji	3
2.1.1. Yapısal Olmayan Proteinler NS1 ve NS2	5
2.1.2. Küçük Hidrofobik SH Proteini	5
2.1.3. G Proteini	6
2.1.4. Füzyon Proteini	6
2.1.5. Nükleokapsit Proteinler	7
2.1.6. Matriks Proteinleri	7
2.1.7. BRSV'nin Antijenik ve Genetik Alt Grupları	8
2.2. Epidemiyoloji	9
2.3. Klinik Bulgular	11
2.4. Patogenez	12
2.5. İmmunpatolojik Mekanizmalar	14
2.6. İmmunite	16
2.7. Teşhis ve Ayırıcı Teşhis	18
2.8. Korunma ve Mücadele	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Örneklenen Hayvanlar	25
3.2. Örneklerin Toplanması	26
3.3. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	27
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	60

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. BRSV virionunun şematik yapısı	4
Şekil 2.2. Alveol lümenlerinde yangısal hücre infiltrasyonları ve sinsityal hücre formasyonları	14
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan örneklerin toplandığı Denizli ve Burdur İllerini gösteren harita	26
Şekil 3.2. Denizli ve Burdur siyasi haritaları	27
Şekil 3.3. BRSV Ab ELISA mikroyetkin görünümü	31
Şekil 4.1. Denizli-Burdur yörelerinde seropozitiflik oranları	32
Şekil 4.2. Denizli yöresinde çalışmanın yapıldığı odaklar ve pozitiflik oranları	33
Şekil 4.3. Burdur yöresinde çalışmanın yapıldığı odaklar ve pozitiflik oranları	34

TABLÖLAR

Tablo 3.1. Kan örnekleri alınan sığırların sayıları	25
Tablo 4.1. Denizli, Burdur yörelerinde BRSV Ab(+), (-) oranları	32
Tablo 4.2. Cinsiyete göre BRSV seroprevalans oranları	34
Tablo 4.3. Örnekleme yapılan sığır ırklarına göre BRSV seroprevalans oranları	35
Tablo 4.4. Yaş gruplarına göre BRSV serpozitiflik oranları	35

SİMGELER VE KISALTMALAR

APC	Antijen sunan hücre
BRSV	Bovine Respiratory Syncytial Virus
CPE	Sito Patolojik Etki
CRSV	Caprine Respiratory Syncytial Virus
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
F	Füzyon proteini
FAT	Floresan Antikor Testi
FI-RSV	Formalin-İnaktive Respiratory Syncytial Virus
G	Glikoprotein
HRSV	Human Respiratory Syncytial Virus
IF	İndirekt Floresan tekniği
IFN	İnterferon
Ig-A	İmmunglobulin A
Ig-E	İmmunglobulin E
Ig-G	İmmunglobulin G
Ig-M	İmmunglobulin M
KFT	Komplement Fikzasyon Testi
mRNA	Messenger Ribo Nükleik Asit
N	Nükleoprotein
NS1 ve NS2	İki yapısal olmayan protein
OD	Optik Dansite
ORSV	Ovine Respiratory Syncytial Virus
PCR	Polymerase Chain Reaction
PG	Prostaglandin
PHA	Fitohemaglutinin
PMV	Pneumovirus
RNA	Ribo Nükleik Asit
RNAaz	Ribonükleaz
RSV	Respiratory Syncytial Virus
SH	Hidrofobik protein
SN	Serum Nötralizasyon

ÖZET

DENİZLİ VE BURDUR YÖRELERİNDEKİ SIĞIRLARDA BOVINE RESPIRATORY SYNCYTIAL VİRUS ENFEKSİYONUNUN SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Bu çalışma, Denizli ve Burdur yörelerindeki sığırlarda Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) enfeksiyonunun varlığının serolojik olarak saptanması ve bu yörelerdeki yaygınlığı hakkında bilgi edinilmesi amacıyla yapılmıştır. Araştırmada, Ekim 2017- Mart 2018 tarihleri arasında hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı Denizli ilinin Acıpayam, Bozkurt, Çameli, Pamukkale, Serinhisar, Tavas ilçelerinde ve Burdur ilinin Çavdır, Gölhisar, Karamanlı, Tefenni ilçelerinde bulunan küçük aile işletmelerinde yetiştiriciliği yapılan 6 ay yaştan büyük farklı ırk ve cinsiyette toplam 271 adet sığırdan kan serumu örneği alınmıştır. Toplanan serum örneklerinin indirekt ELISA ile analizleri sonucunda BRSV seropozitifliği % 76,38 oranında bulunmuştur. İllere göre de BRSV antikor oranı da Denizli’de %68,38, Burdur’da %84,44 olarak tespit edilmiştir. Numunelerin toplandığı illerde tespit edilen seropozitiflik oranları arasındaki farklılığın istatistiki açıdan karşılaştırıldığında önemli olduğu ($P<0.01$) belirlenmiştir.

Sonuç olarak, Denizli ve Burdur yörelerinde küçük aile işletmelerinde yetiştirilen sığırlarda BRSV enfeksiyonunun yaygın olarak bulunduğu ve bu enfeksiyonun kontrolü/mücadelesi amacıyla ciddi önlemlerin alınması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), ELISA, Seroloji, Sığır

Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0471-YL-17 proje numarası ile desteklenmiştir.

ABSTRACT

SEROLOGICAL INVESTIGATION OF BOVINE RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS (BRSV) INFECTION IN CATTLE IN THE DENİZLİ AND BURDUR DISTRICTS

This study was carried out in order to detect presence serologically BRSV infection in cattle, located around Denizli and Burdur areas and to obtain information about its prevalence in these areas. In the study, between the dates October 2017 and March 2018, blood serum samples were taken from 271 cattle of different breed and gender, age than 6 months in Acıpayam, Bozkurt, Çameli, Pamukkale, Serinhisar and Tavas districts of Denizli where stockbreeding is densely practiced and in small family-owned farm found in Çavdır, Gölhisar, Karamanlı and Tefenni districts of Burdur. As a result of the analysis by indirect ELISA test of the collected serum samples, BRSV seropositivity was found 76,38%. BRSV antibody ratio according to provinces was detected as 68,38% in Denizli and 84,44% in Burdur. When we statistically compared the difference between the seropositivity rates detected in provinces where samples were collected, it was considered as fairly important ($P<0.01$).

Consequently, we revealed to the conclusion that BRSV infection has been commonly seen in cattle bred in small family-owned businesses located around Denizli and Burdur areas and serious precautions needed to be taken so as to control / struggle against this infection.

Keywords: Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Cattle, ELISA, Serology

This study was supported by Mehmet Akif Ersoy University Scientific Research Projects Unit. Project Number: 0471-YL-17

1. GİRİŞ

Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) enfeksiyonu tüm dünyada birçok bölgede yaygın olarak tespit edilmiştir. BRSV *Paramyxoviridae* ailesindeki *Pneumovirinae* alt ailesinin *Pneumovirus* genusunda bulunan RNA'lı ve zarlı bir virusdur. Bu genusta sığır respiratory syncytial virus (BRSV), keçi respiratory syncytial virus (CRSV), insan respiratory syncytial virus (HRSV), koyun respiratory syncytial virus (ORSV) ve fare *Pneumovirus* (PVM)' u yer almaktadır. (Evermann ve ark.,1985; Shadomy ve ark.,1997). Sığır respiratory syncytial virus (BRSV) ile insan respiratory syncytial virus (HRSV) arasında yakın antijenik ilişki bulunduğu tespit edilmiştir (Easton ve ark., 2004; Valarcher ve Taylor, 2007). Bu yakın antijenik ilişki sayesinde buzağılardaki BRSV enfeksiyonunun HRSV çalışmaları için; küçük hayvan modellerindeki in vivo olarak insanlardaki veya in vitro HRSV araştırma çalışmalarından ortaya çıkarılan bulgular da, BRSV'nin bazı virolojik ve patojenik niteliklerinin daha iyi ortaya çıkarılmasına imkan tanımaktadır (Rivera ve ark., 1987). RSV' u insanlarda solunum patojenleri olarak bilinmeden önce ilk olarak şempanzelerin koryza etkeni olarak bildirilmiştir. (Morris ve ark., 1956). RSV' larının antijenik ve genetik analizleri sonucu sığır, koyun, insan izolatlarının birbirinden farklı olduğu bildirilmiştir (Mallipedi ve Samal, 1993; Oberst ve ark., 1993).

RSV'nun elektromikroskopisinde virusun pleomorfik ve filamentöz özellik taşıdığı görülür (Smith ve ark., 1974). RSV genomu 10 virus proteinini kodladığı bildirilmiştir. Bunların 5 adedi virus zarını (tutunma glikoproteini G, füzyon proteinleri F1-F2, matriks proteinleri M1-M2 ve küçük hidrofobik protein SH) kodladığı, 3 adedi virus nükleokapsidini (büyük nükleokapsit proteini N, fosfoprotein P ve büyük protein L) kodladığı tespit edilmiştir. Bu proteinler harici iki adet yapısal olmayan protein NS1 ve NS2 bulunduğu bildirilmiştir (Lambert ve Pous, 1983; Olmsted ve Collins, 1989).

BRSV enfeksiyonları mevsimle ilişkili olup, düşük atmosferik basıncın hakim olduğu sonbahar-kış aylarında daha fazla görülür (Bryson ve ark., 1982; Edwards ve ark., 1984; Kimman ve ark., 1988). Doğal enfeksiyonlarda aniden ortaya çıkabilen, BRSV enfeksiyonunun inkübasyon periyodu kısa olduğu için duyarlı popülasyonlarda

yayılımı çok hızlıdır (Bohlender ve ark., 1982; Bryson ve ark., 1978; Edwards ve ark., 1984). 3-9 aylık yaştaki sığırlar BRSV enfeksiyonunda fazla etkilenmelerine rağmen, ileri yaştaki sığırlarda enfeksiyon subklinik olarak seyretmektedir (Fulton ve ark., 1982). Buzağuların çoğu BRSV ile 1-6 aylık yaşta enfekte oldukları bildirilmiştir.

BRSV enfeksiyonunun klinik tanısı semptomatik olarak tespit edilmesinin imkansız olduğu bildirilmiştir(Wellemans, 1990a). BRSV' nin hücre kültürüne dayalı dış ortamdan ve klinik örneklerden izolasyonu çok zor, masraflı ve zaman kaybına sebep olduğu bildirilmiştir. Bunun yerine teşhis için serum nötralizasyon ve ELISA testleri kullanılmaktadır. Son yapılan çalışmalarda serum antikorlarının tespitinde ELISA'nın serum nötralizasyon testinden daha duyarlı olduğu ortaya konulmuştur(Kovarcık, 2001).

BRSV enfeksiyonunun spesifik bir tedavisi yoktur. Ancak sekonder bakteriyel enfeksiyonlardan korunmak için antibiyotik uygulaması yapılabilir. Yayılım hızı yüksek olduğu için enfekte hayvan sürülerinin ve bu sürülerle temas eden insanların, duyarlı popülasyonlarla yakın temas etmesi önlenmelidir. Profilaktik amaçla aşı uygulamaları yapılabilir.

Planlanan bu araştırmada; Denizli-Burdur yörelerinde bulunan 6 aylık yaştan büyük ve BRSV' ye karşı aşılanmamış farklı ırk, cinsiyet ve yaşta olan sığırlardan toplanan kan serum örneklerinde BRSV enfeksiyonunun varlığının indirekt ELISA yöntemi ile serolojik olarak belirlenmesi ve söz konusu yörelerdeki yaygınlığı hakkın da bilgi edinilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bu hastalıkla ilgili olarak Türkiye'de sınırlı sayıda, araştırmanın planlandığı bölgede ise hiç araştırma yapılmamış olmasından dolayı da literatür bilgilerine katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

Bu veriler ışığında, Denizli-Burdur yörelerinde BRSV enfeksiyonun varlığı/yaygınlığı belirlenmesi ile enfeksiyon ile mücadele konusunda bilimsel yaklaşımda bulunulacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

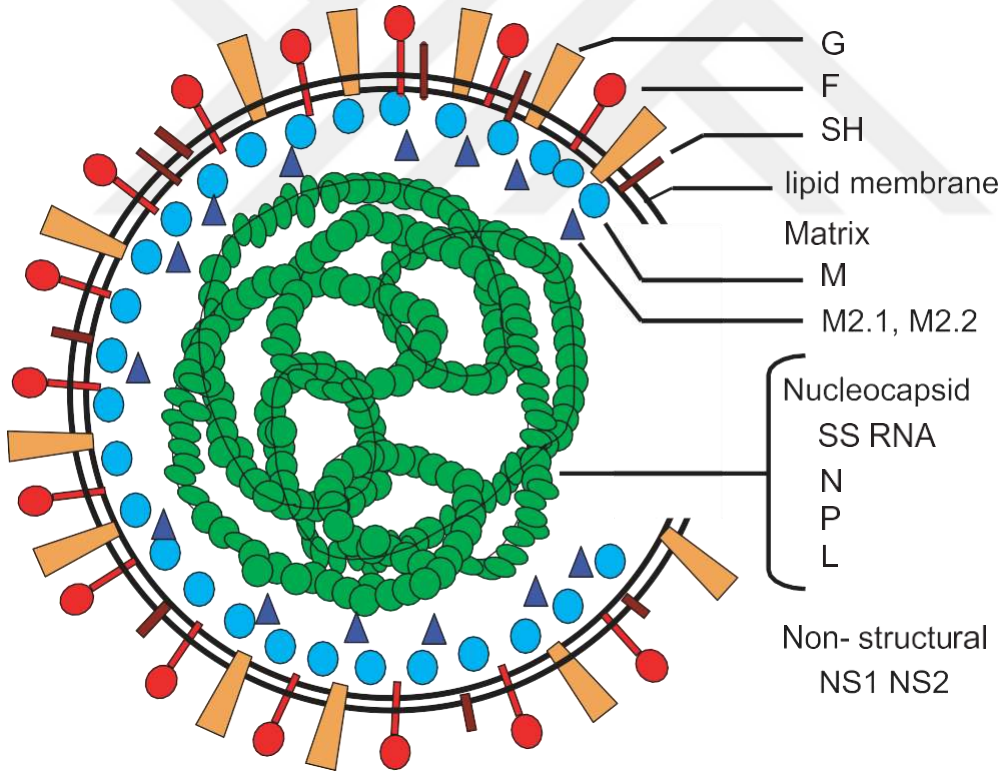
2.1. Etiyoloji

BRSV, Mononegavirales takımında, Paramyxoviridae familyasının Pneumovirinae alt familyasının Pneumovirus genusunda bulunan RNA genomuna sahip, zarlı bir virusdur (Collins, 1999). Bu genusta insan respiratory syncytial virus (HRSV), koyun respiratory syncytial virus (ORSV), sığır respiratory syncytial virus (BRSV), keçi respiratory syncytial virus (CRSV) ve fare pneumovirus (PVM) bulunmaktadır (Evermann ve ark., 1985; Shadomy ve ark., 1997). Bu genusta yer alan türler antijenik ve yapısal olarak birbirlerine benzerlik gösterir, ancak bu benzerlik düzeyi BRSV ve CRSV arasında daha yüksektir (Rosenquist, 1974; Smith, 2009).

RSV genel olarak yaygın pleomorfizm gösterir (Madeley ve Field, 1988). Virionları 80-450 nm çapında sferik veya 60-100 nm çapında 10 nm'den uzun filamentöz partiküller şeklinde görülür. Virionlar, 12-17 nm çapında helikal yapılı nükleokapsit ve tomurcuklanma sırasında konak hücre plazma membranından köken alan lipoprotein tabiatında bir zarf içerirler (Collins, 1999; Madeley ve Field, 1988). Virion yüzeyinde 6-10 nm aralıklı, 11-20 nm uzunluğunda diken benzeri glikoprotein çıkıntıları bulunur (Collins, 1999). RSV genomu 10 adet virusa ait proteinini kodlamaktadır. Bu proteinlerin 5 tanesi virus zarfında (tutunma glikoproteini G, füzyon proteinleri F1 - F2, matriks proteinleri M1 – M2 ve küçük hidrofobik protein SH), 3 tanesi virus nükleokapsidin de (büyük nükleokapsit proteini N, fosfoprotein P ve büyük protein L) bulunurlar. Ayrıca virusun iki tane de yapısal olmayan proteini (NS1, NS2) mevcuttur (Lambert ve Pous, 1983; Olmsted ve Collins, 1999). Büyük protein olan L, virusun ana polimeraz alt ünitesidir. Nükleokapsitteki fosfoprotein (P) RNA oluşumun da ko-faktör olabileceği ve serbest N ve L proteininin soluble (çözünebilir) formda devamlılığının sağlanması ile birlikte viral RNA'nın replikasyonu ve transkripsiyonunda rol oynadığı sanılmaktadır (Hardy ve Wertz, 1998). Ayrıca, zarfın iç kısmında transkripsiyon sonlandırma anti-faktörü olan ve yalnızca pneumoviruslarda bulunan M2-1 proteini ve destekleyici bir katman oluşturduğu düşünülen bir matriks (M) proteininde bulunduğu bildirilmiştir. RNA genomuna bağlı fonksiyonel düzenleyici M2-2 proteini ile yapısal olmayan iki protein

(NS1-NS2) bulunmaktadır (Deplanche ve ark., 2007). Tüm bu yapılara ilave olarak, HRS viral partikülü üzerinde MHC sınıf I molekülleri, hücresel proteinler, aktin ve koveolin-1'in bulunduğu bildirilmiştir (Brown ve ark., 2002; Ulloa ve ark., 1998).

Respiratory syncytial virusunun 3 adet transmembran virion proteini bulunmaktadır. Bunlar füzyon (F), bağlanma (G) ve SH glikoproteinleridir. Viral sinsityum oluşumu ve penetrasyondan sorumlu olan F glikoproteininin ana görevi membran füzyonuna aracılık etmektir. F, F0 prekürsörü olarak 574 inaktif prekürsör aminoasitten sentezlenir ve furin tip hücresel proteazların aracılığıyla hücre içinde F2 ve F1 olarak iki alt üniteye ayrılır (Gonzales-Reyes ve ark., 2001). Hayvan ve insan kan serumlarında, RSV enfeksiyonunu müteakiben N, F ve G viral proteinlerine karşı oluşmuş spesifik antikorların şekillendiği bildirilmiştir.



Şekil 2.1. BRSV virionunun şematik yapısı (Valarcher ve Taylor, 2007).

2.1.1. Yapısal Olmayan Proteinler NS1 ve NS2

Pneumovirusların, aynı familyasındaki diğer viruslarla arasındaki en büyük farklılıklardan bir tanesi; sırasıyla 136 ve 124 aminoasitlik polipeptid zincirlerinden meydana gelen, 2 yapısal olmayan NS1 ve NS2 proteinlerine sahip olmasıdır. Bu 2 yapısal olmayan proteini kodlayan genler virus ile kontamine olmuş hücrelerde bolca transkripsiyona uğrayarak bol miktarlarda bulunmalarına rağmen, saflaştırılmış virionlarda yalnızca iz miktarda belirlenebilmişlerdir. HRSV'nin NS1 proteini, M proteini ile birlikte bulunur ve virus RNA'sının transkripsiyonunun güçlü bir inhibitörüdür ancak NS1 proteini kadar etkili değildir (Atreya ve ark., 1998). NS2 proteini enfekte hücrelerde P ve N proteinleri ile birlikte bulunurlar (Weber ve ark., 1995). Zayıflatılmış hücre kültürlerinde rekombinant HRSV ve BRSV üremesi için bu proteinler olmasına rağmen, in vitro şartlarda virus replikasyonu için gerekli değildirler (Buchholz ve ark., 1999; Schlender ve ark., 2000; Teng ve Collins, 1999). NS1 ve NS2 proteinleri interferon (IFN) alfa / beta regülasyonunda önemli rol oynamaktadırlar (Valarcher ve Taylor, 2007).

2.1.2. Küçük Hidrofobik SH Proteini

SH proteini in vivo veya invitro koşullarda virus replikasyonu için gerekli olmayan, işlevi iyi tanımlanmamış kısa bir zar integral proteindir (Karger ve ark., 2001). SH proteininin F proteini ile etkileşerek, virus aracılı hücre füzyonunda rol oynayabileceğine ilişkin bulgular olduğu bildirilmektedir (Feldman ve ark., 2001; Heminway ve ark., 1994).

2.1.3. G Proteini

G tutunma proteinine karşı oluşan spesifik antikolar, etkenin hücre yüzeyine bağlanmasına engel oldukları için G tutunma proteini majör bağlanma proteini olarak tanımlanır ve bu durumun BRSV'ye karşı koruyucu aşı hazırlanmasında önemli olduğu bildirilmiştir (Levine ve ark., 1987; Taylor ve ark., 1997; Taylor ve ark., 1998). Birkaç bağımsız katlanmış bölge içeren BRSV'nin G tutunma proteini virion üzerinde

bir trimer yapısında gözüktür. Dış zincir ise, 2 müsin benzeri polimerik bölge arasında korunan merkezi hidrofobik bir bölge içerir (Collins ve Mottet, 1992).

G proteininin yaklaşık %80' i enfeksiyondan 24 saat sonra salgılanan form olarak üretilir (Hendricks ve ark., 1988). Bu salgılanan formun nötralize antikorlara bağlanarak bir tuzak gibi davranabileceği ileri sürülmüştür (Ghildyal ve ark., 1999; Hickling ve ark., 1999; Malhotra ve ark., 2003).

Ayrıca G proteininin immun sistem ile etkileşerek başka rolleri olduğundan da şüphelenilmektedir. HRSV ve BRSV G proteini muhtemelen virionun hücre yüzeyindeki heparin bağlanma alanlarının, hücre membranları üzerindeki glukozamin ile etkileşimi yoluyla bağlanmasını desteklemektedir (Teng ve ark., 2001).

2.1.4. Füzyon (F) Proteini

F füzyon proteini, etkenin hücreye bağlanmasını sağlar ve virus-konakçı hücre membranı arasında füzyon yoluyla, nükleokapsidin sitoplazmaya iletilmesinden sorumludur. Aynı zamanda virusla enfekte veya enfekte olmamış hücre membranları arasında füzyon yoluyla çok çekirdekli dev hücrelerinin oluşmasından da sorumludur. F0 prekürsörü olarak, 574 inaktif prekürsör aminoasitten sentezlenen F proteini, furin tipi hücresel proteazlar aracılığıyla hücre içerisinde F1 ve F2 olmak üzere iki alt üniteye ayrılır (Gonzales-Reyes ve ark., 2001). F proteini de G proteini gibi nötralizan antikor oluşturan ana antijenidir. İn vitro ortamda F spesifik monoklonal antikorların çoğu RSV' yi nötralize eder (McIntosh ve Chanock, 1990; Stott ve Taylor, 1985).

2.1.5. Nükleokapsit Proteinler

Nükleokapsit proteinleri fosfoprotein (P), polimeraz (L) ve nükleoprotein'den (N) oluşur (Samal ve ark., 1991). Üçyüz doksan bir aminoasit uzunluğunda oluşan nükleoprotein, nükleotid ve aminoasit seviyeleri, değişik BRSV izolatları arasında çeşitlilik gösterir. N proteini içeren rekombinant aşılar ile yapılan aşılamalarda BRSV enfeksiyonuna karşı korunma sağladığı bildirilmiştir (Taylor ve ark., 1997). N proteinine karşı şekillenen direnç sitotoksik T hücreleri aracılığıyla oluşur. N proteini,

enfekte hücre içerisinde ve virionda çok miktarda bulunduğu ve farklı fonksiyonlarının olduğu bildirilmiştir. L, P ve muhtemelen M2-2 kombinasyonu ile birlikte N proteini, nükleokapsidin başlıca elemanları olup, bunlar virusun genomik RNA'sını RNAaz' lardan korumakla görevlidirler (Mallipedi ve ark., 1996; Samal ve ark., 1991).

N proteininin, virus RNA'sının transkripsiyonunda replikasyon safhasına geçişte rol oynadığı tespit edilmiştir (Mallipedi ve ark., 1996). P proteininin viral RNA sentezinde ko-faktör olabileceği ve serbest L ve N'nin çözünebilir formda devamlılığının sağlanmasında ve RNA'nın replikasyonu ve transkripsiyonunda fonksiyonel görev aldığı değerlendirilmektedir. BRSV'de polimeraz RNA'ya bağlı bir RNA polimeraz olup, L2162 aminoasit büyüklüğündedir. Bu proteinin viral transkripsiyon ve replikasyondan sorumlu olduğu bildirilmiştir (Yunus ve ark., 1998).

2.1.6. Matriks Proteinleri

RSV, Paramyxoviruslardan farklı olarak üç matriks proteini içermektedir. Diğer paramyxovirusların içerdiği M proteinleriyle minimum seviyede sekans akrabalığı bulunan RSV M proteini, 256 aminoasit uzunluğundadır. Bu protein virus membranının iç yüzeyinde bulunup, virusa benzer parçacıkların oluşmasında önemli bir görev üstlenmektedir. (Teng ve Collins, 1998). M2-M1 proteinlerinin her ikisinde M2-M2 mRNA aracılığıyla kodlanmaktadır ve bu proteinlerde 2 tane katlanmış translasyonel ORF bulunmaktadır (Collins ve ark., 1990). Üstte bulunan zincir ORF1 M2-1 proteinini kodlarken, altta bulunan zincir ise ORF2 M2-2 proteinini kodlar (Ahmadian ve ark., 1999; Bermingham ve Collins, 1999). M2-1 proteini, zincir sonlanmasının önleyici özelliği olan ve gen bağlanma bölgelerinde okunma sıklığını artıran sadece pneumoviruslarda bulunan bir matriks proteindir (Hardy ve Wertz, 1998). M2-2 proteini transkripsiyon sırasında RNA replikasyonunu düzenlenmesine aracılık eden bir diğer matriks proteindir (Bermingham ve Collins, 1999).

RSV' nin diğer Paramyxoviridae familyası üyeleriyle antijenik ilişkisi bulunamamıştır ancak; farklı türlere ait RSV' ler arasında antijenik ilişki olduğu bildirilmiştir (Collins, 1999). Çapraz nötralizasyon çalışmaları HRSV' ye karşı oluşmuş antiserumun yüksek titredeki BRSV' yi nötralize ettiğini ortaya koymuş ve

böylece BRSV ile HRSV arasında açık bir antijenik ilişki olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, duyarlı hücre spektrumu ve doğal konakçı enfeksiyonunda belirgin farklılıklar vardır (Collins, 1999; Lehmkuhl ve ark., 1985; McIntosh ve Chanock, 1990; Wellwmans, 1990a).

2.1.7. BRSV'nin Antijenik ve Genetik Alt Grupları

Yapılan çalışmalarla syncytial virusun farklı antijenik ve genetik alt grupları tanımlanmıştır. G proteinine karşı monoklonal antikorlar kullanılarak 4 antijenik subgrup sınıflandırması yapılmıştır. Bu subgruplar; AB, B, A ve tiplendirilmiş BRSV gruplarıdır (Furze ve ark., 1994; Larsen ve ark., 1998; Schriver ve ark., 1996). Bunun yanı sıra F ya da N proteinine göre 5, G proteinine göre ise 6 subgrup tanımlaması yapılmıştır (Valarcher ve ark., 2000).

BRSV, nöyraminidaz ve hemaglutinin aktivitelerine sahip olmaması ile Paramyxoviridae familyasının diğer üyelerinden farklılık gösterir (Cash ve ark., 1977; Matthews ve ark., 2000; McIntosh ve Chanock, 1990). BRSV 56 °C de ve 30 dk ısı ile inaktive olur ve düşük pH, eter, kloroforma oldukça duyarlıdır. Sıvı nitrojen tanklarında enfektif özelliğini 10 yıl ve üzeri koruduğu bildirilmiştir (Stott ve Taylor, 1985).

2.2. Epidemiyoloji

BRSV enfeksiyonu ile ilgili ilk olarak 1968 yılında Doggett ve ark. Tarafından antikor varlığı tespit edilmiş olup, 1970 yılında ise İsviçre' de Paccaud ve Jacquier tarafından antijen izole edilmiştir (Doggett ve ark., 1968; Paccaud ve Jacquier, 1970). Başlıca rezervuarı sığırlar olarak görülen bu enfeksiyon; sığır, koyun ve keçilerde yaygın olarak görüldüğü bildirilmiştir (Masot ve ark., 2000). Koyunlardaki seroprevalans araştırmalarında, hastalık düzeyleri yüksek oranlarda bulunmasına rağmen, RSV ile ilgili solunum sistemi enfeksiyonuna ciddi bir yatkınlık göstermedikleri bildirilmiştir. Buna karşın diğer viral ve bakteriyel hastalıklar ile stres

etkenleri RSV enfeksiyona duyarlılığı arttırabilmektedir. Deneysel olarak *P. haemolytica* ile RSV arasında sinerjizm olduğu gösterilmiştir (Bryson, 1993; Bryson ve ark., 1988; Giangaspero ve ark., 1997; Kimman ve ark., 1988).

RSV mevsimle ilişkisi olan bir solunum sistemi enfeksiyonudur. Hastalık daha çok düşük atmosferik basıncın hakim olduğu Ekim-Aralık ayları arasında görülür (Bryson ve ark., 1982; Edwards ve ark., 1984; Kimman ve ark., 1988). BRSV hastalığının görülme sıklığı değişik coğrafi bölgeler arasında büyük farklılıklar gösterir (Saa ve ark., 2012; Woldemeskel ve ark., 2000).

Virus saçılımı ve virus nakli enfekte hayvanların solunum yolu sekresyonlarıyla (aerosol) veya direkt temas yoluyla olmaktadır. Ayrıca enfekte su, yem ve malzemeler indirekt yolla bulaşmaya sebep olur. Hayvan bakıcıları ve veteriner hekim aracılığıyla da iatrojenik bulaşma görülebilir. Virusun ocüler veya nazal yolla vücuda girmesinin enfeksiyon oluşturmaya karşın, oral yolla enfeksiyon oluşturmamaktadır (Bohlender ve ark., 1982; Elvander, 1996; Kimman ve ark., 1988; McIntosh ve Chanock, 1990; Stott ve Taylor, 1985; Wellemans, 1990a). BRSV' nin gerçek rolü sekonder bakteriyel enfeksiyonlara predispozisyon oluşturmaktır. Özellikle *Mannheimia haemolytica* ile kombine sekonder enfeksiyonlar yaygın olarak görülmektedir (Baker ve Frey, 1985; Bohlender ve ark., 1982; Brodersen, 2010; Divers, 2007). BRSV prevalans oranlarının coğrafi konum, iklim ve atmosferik basınç farklılıkları ile değişmekle birlikte sürü büyüklüğü, cinsiyet ve ırk ile ilgili herhangi bir ilişki belirlenmemiştir. Yine benzer şekilde klinik semptomlar ile antikor prevalansı arasında da bir ilişki tespit edilmemiştir (Kimman ve ark., 1988; McNulty ve ark., 1983; Mohanty ve ark., 1975). BRSV enfeksiyonunun gelişiminde sürü yönetimi ve barınma koşulları önemli rol oynamaktadır. Genç sığırlarla yaşlıların bir arada bulunması, ahır ortamının havasız olması, taşınma, sütten kesme ve kalabalığa bağlı stres BRSV enfeksiyonu salgınlarına sebep olabilmektedir (Bryson ve ark., 1978; Pirie ve ark., 1981). İyi beslenme, barınma ve yönetim olmasına rağmen BRSV enfeksiyonu ile ilgili ve ilişkili enfeksiyonların olma ihtimali her zaman mümkündür (McFarland, 1985). Öyle ki en yüksek mortalite oranı besin değeri yüksek besinlerle beslenen buzağılarda görülür. Bu da mısır silajı gibi bazı yemlerin BRSV

enfeksiyonuna neden olduğuna ilişkin spekülasyonlar oluşmasına sebebiyet vermiştir(Murphy ve ark., 1990).

BRSV enfeksiyonu ergin sığırlar arasında yaş ile artış göstermektedir. 2 yaş altındaki sığırlarda BRSV prevalansı %50, 2 yaş üzeri hayvanlarda bu oran %70'tir (Collins ve ark., 1988; Van der Poel ve ark., 1993). Şiddetli klinik semptomlar çoğunlukla buzağılarda oluşur. Ama erişkin sığırlarda da oluşabilir. Morbidite %60-80 iken mortalite %20' lere ulaşabilir (Valarcher ve Taylor, 2007). Birincil enfeksiyonlarda hastalık şiddetli seyir gösteriyorken, ikincil enfeksiyonlarda (reenfeksiyonlar) hafif ya da subklinik seyrederek.

Bovine Respiratory Virus etkeni dünyanın pek çok yerinde yaygın olarak bulunmuştur. Virus Asya Avrupa ve Amerika' da izole edilmiştir (Valarcher ve Taylor, 2007). ABD'de RSV ile ilgili yapılan bir araştırmada, nötralizasyon testi uygulanan 559 adet sığır kan serumunda %65,5 oranında seropozitiflik belirlenmiştir (Baker ve ark., 1985). Brako ve ark. (1984) da Ocak-Mart ayları arasında aldıkları koyun kan serumlarını, serum nötralizasyon testi ile analiz etmişler ve %48,7 oranında bulmuşlardır. Fulton ve ark. (1982) ise 1979-1980 yılları arasında topladıkları keçi kan serumlarını, nötralizasyon testini kullanarak analiz etmişler ve RSV antikor pozitiflik oranını %50 olarak tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda kan serumlarında olduğu gibi, süt serumu örneklerinde de yüksek düzeyde (%66) seropozitiflik elde edilmiştir (Elvander, 1996).

Türkiye' de BRSV ile alakalı ilk araştırma, Burgu ve ark. (1990) tarafından yapılmıştır. Bu bildirimle ilgili çalışmada, Türkiye'nin farklı yerlerinden toplanan 490 adet kan serumunda serum nötralizasyon testi ile çalışılmış ve %46,12 düzeyinde antikor pozitiflik belirlenmiştir. Pulat (1992) ise nötralizasyon testini kullanarak koyun kan serumlarında yaptığı taramada RSV antikor pozitiflik oranını %35,16 olarak tespit etmiştir. Alkan ve ark. (1997) da sığırlarda BRSV enfeksiyonunun seroprevalansını %44,6 oranında bildirmişlerdir. Yine Alkan ve ark.'larının (2000) yaptıkları izolasyon araştırmasında elde edilen numunelerin %31,5'nin farklı enfeksiyon etkenleriyle komplike bir şekilde hastalık oluşturduğunu bildirmişlerdir.

2.3. Klinik Bulgular

Hastalık akut ve subklinik olarak iki formda görülür. Akut formda çift fazlı hastalık görüntüsü bildirilmiştir. Birinci dönemde 40-42°C' ye varan beden ısısı artışı ve solunum sayısında artış, öksürük, solunum güçlüğü, burun akıntısı ve konjunktivitis ile karakterize semptomlar görülür. İkinci dönemde ilk dönemi takip eder ve sekonder enfeksiyonların dahil olmasıyla birlikte pulmoner amfizem komplikasyonları görülür. Enfekte hayvanların solunum sayıları 100' e kadar çıkması sonucu solunum güçlüğü ortaya çıkabilir. Mukozalar siyanotik olup, ölümle sonuçlanan perakut form görülebilir.

Bovine Respiratory Syncytial Virus enfeksiyonunun inkübasyon periyodu yaklaşık 2-5 gün arasında değişmektedir. BRSV ya üst solunum yollarına yerleşerek asemptomatik olarak kalır veya alt ve üst solunum yollarının her ikisine de yerleşerek semptomatik seyreder (Valarcher ve Taylor, 2007).

BRSV hastalığının öksürük, yüksek ateş ve burun akıntısı en tipik belirtileridir (Baker ve Frey, 1985; Burgu ve Akça 1998; Radostits ve ark., 2006; Sarmiento-Silva ve ark., 2012). Solunum güçlüğü, ağızdan nefes alma ve tükürüğün köpürmesi hastalığın ileri safhasında görülür. Subkutan amfizem, akciğer yırtılmalarına bağlı olarak havanın mediastinumdan subkutan dokulara taşınması sonucu oluşur. Akciğerin auskultasyonunda çıtırtılı bronkoalveoler sesler artar (Baker ve Frey, 1985; Baker ve ark., 1997; Burgu ve Akça 1998; Grisset ve ark., 2015; Keleş ve ark., 1998; Radostits ve ark., 2006; Sacco ve ark., 2014; Sarmiento-Silva ve ark., 2012). Sekonder bakteriyel mykoplazmal enfeksiyonlarla birlikte seyrettiğinde klinik belirtilerin şiddeti artmaktadır (Hagglund, 2005; Valarcher ve Taylor, 2007). Bazı fetal olgularda tek enfeksiyöz ajan olarak BRSV bulunabilmektedir. Bu da erken aşamada sadece BRSV' nin enfeksiyon oluşturduğunu, hastalığın ilerlemesiyle sekonder bakteriyel mykoplazmal etkenlerin katıldığını göstermektedir. Bu durumda hastalığın erken dönemde tanısının önemini ortaya koymaktadır (Sarmiento-Silva ve ark., 2012).

BRSV ile alakalı solunum yolu hastalıkları yaşlılarda genellikle klinik semptom göstermez ya da çok hafif seyir izler, buna karşın buzağılarda şiddetli seyreder. (Elvander, 1996).

Hayvanın besleme/bakım seviyesi, yaşı, immun yetmezlik ve bronkopulmoner displazi gibi hasta ile alakalı etkenlerin yanısıra (Brandenburg ve ark., 2001), stres, çevre ve aynı zamanda şekillenen sekonder bakteriyel ve viral enfeksiyonların RSV enfeksiyonunun patojenitesine etkili olduğu bildirilmiştir (Castleman ve ark., 1985a). Bunlara ek olarak insanlarda RSV enfeksiyonlarının oluşmasına sosyo-ekonomik statü ve alışkanlıklarda etki eder (Brandenburg ve ark., 2001).

Virusun alveoler makrofajları enfekte etmediği, ancak alt solunum yollarının fiziksel savunma mekanizması olan mukosilyar yapıyı ortadan kaldırdığından dolayı RSV enfeksiyonları genel olarak sekonder bakteriyel enfeksiyonlar ile birlikte seyretmektedir (Bohlender ve ark., 1985; Elvander, 1996).

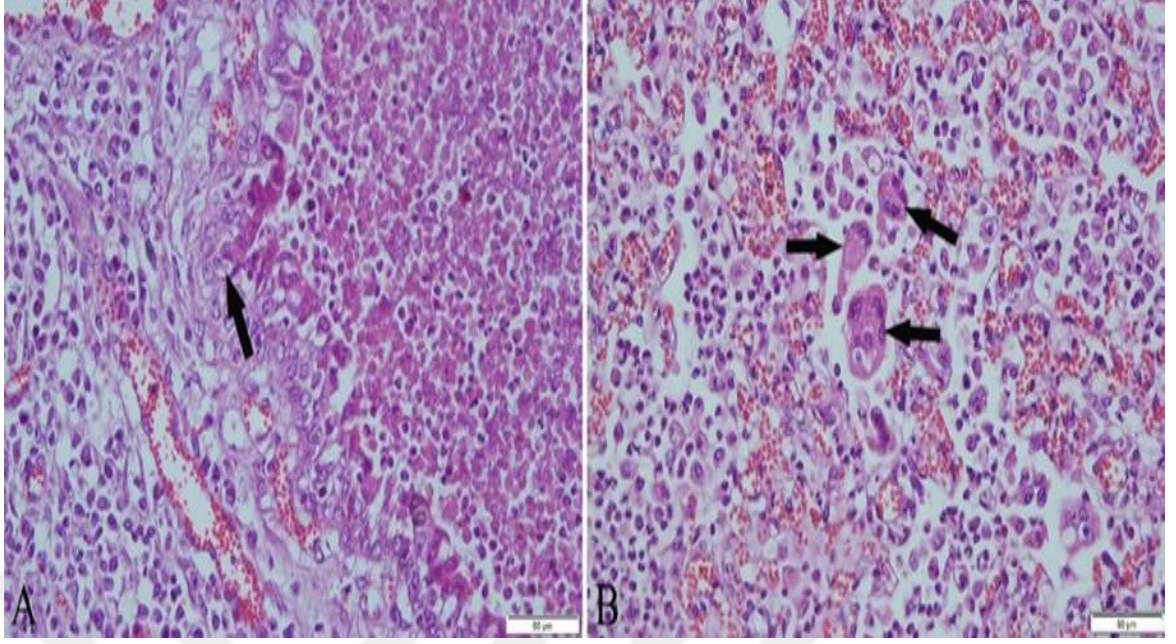
2.4. Patogenez

BRSV'nin inkübasyon süresi doğal enfeksiyonlarda 4-5 gündür. Hastalığın başında etken nazofarinkste çoğalır ve üst solunum yolları enfeksiyonu oluşur (Brandenburg ve ark., 2001; Collins, 1996).

RSV'nin başlıca hedef hücreleri non-siliyal ve siliyal epitel hücreleri ile alveoler tip-II pneumositlerdir. Yapılan deneysel çalışmalarda, virusun trakeobronşiyal non-siliyal ve siliyal epitel hücreleri ve müköz hücrelerde de çoğaldığı tespit edilmiştir. RSV ile siliyal epitel hücrelerinin enfekte olması durumunda bu hücreler dejenerasyona uğrar ve bu dejenerasyon mukosilyar savunma fonksiyonlarının kaybına sebep olur. Bu olayların sonucu olarak sekonder bakteriyel enfeksiyonlara predispozisyon oluşur (Bryson, 1993; Bryson ve ark., 1988; Trudel ve ark., 1989). Hastalığın akut safhasında epitel hücrelerde hipertrofi ve hiperplazi şekillenir. Bununla birlikte hücre füzyonu sonucu dev hücresi, sinsityum ve eozinofilik özellikte intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri ile karakteristik sitopatolojik bozukluklar (cpe) görülür (Bryson ve ark., 1988; Giangaspero ve ark., 1997).

Nekropside akciğerin çoğunlukla ventral, kraniyal ve kranio dorsal loblarında koyu kırmızı renkli, karaciğer kıvamında alanlar bulunur. Akciğerin kesit yüzünde atelektazik alanlar ve ödem haricinde sekonder patojen ajanların enfeksiyona dahil olması ile bronşiol, bronş ve alveoller irinle dolar ve yer yer nekrotik alanlar oluşur. Fibrinli-nekrotik pnömoninin şekillendiği formlarda akciğerin göğüs kafesine yapıştığı bildirilmiştir (Baker ve Frey, 1985; Özyıldız ve ark., 2017; Philippou ve ark., 2000; Viuff ve ark., 1996; Viuff ve ark., 2002).

Akut dönemde yapılan mikroskopik incelemede, interlober ve interalveoler septal dokuda kalınlaşma, ödem, deskuamasyon ve nekrotik bronşiolitis, kronik vakalarda ise intersitisyel pnömoninin en önemli bulgusu olan intersitisyel fibrozis görülür (Baker ve Frey, 1985; Philippou ve ark., 2000; Viuff ve ark., 1996; Viuff ve ark., 2002). Bununla birlikte bronşiol ve alveol lümenlerinde dökülmüş epitel hücrelerin çekirdeklerinin birleşmesinden şekillenen sinsityal hücre oluşumları ile bronşiol, bronş ve pnömositler içerisinde intrasitoplazmik yapıda inklüzyon cisimcikleri tespit edilebilir (Leung ve ark., 2005; Tripp, 2004). (Şekil 2.2)



Şekil 2.2. Alveol lümenleri içerisinde yangıya bağlı şekillenen hücre infiltrasyonları ile sinsityal hücre formları (Özyıldız ve ark., 2017)

2.5. İmmunopatolojik Mekanizmalar

RSV'ye karşı spesifik immunité koruyucu olduğu kadar, immünopatolojik bir mekanizma ile de alt solunum yolunda ağır hastalık tablosuna neden olabilmektedir. Bu hipotez deneysel hayvan çalışmalarında elde edilen bulgular ve formalinle inaktive edilmiş RSV (FI-RSV) aşılırları ile aşıl原因an bireylerdeki, doğal enfeksiyonu takip eden şiddetli alt solunum yolu enfeksiyonu ile desteklenmiştir (Brandenburg ve ark., 2001; Openshaw ve ark., 2002; Stott ve Taylor, 1985). RSV patogeneziine ilişkin görüşler serum antikorlarının rolü, immünolojik gelişim, IgE aracılı reaksiyon, immünolojik olmayan mekanizmalar ve gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonlarının etkili olduğuna ilişkindir (Stott ve Taylor, 1985). Chanock ve ark. (1970) RSV enfeksiyonunun serum antikorları ile virusun etkileşmesi sonucu ortaya çıkan Tip-2 aşırı duyarlılık reaksiyonu olabileceğini iddia etmişlerdir (Openshaw ve ark., 2002). Stewart ve Gerschwin (1989) birlikte yaptıkları deneysel bovine RSV enfeksiyonunun neticesinde, spesifik IgE'nin serumdaki miktarı ile aktif virusu soluma ile tekrar eden uygulamalarının akabinde oluşan semptomlar arasında ilişki bulunduğunu ortaya koymuşlardır. İnsanlardaki RSV enfeksiyonunda RSV ile enfekte hücrelere bağlı IgE

ile konvelasan evredeki serbest IgE değeri çok yüksek miktarda bulunmuştur. Bu değerin yüksekliğinin öksürük, astım ve akut hastalıktaki hipoksiye sebebiyet verdiği ileri sürülmüştür (Saito ve ark., 1997).

BRSV in-vitro olarak periferik kan lenfositlerinin fitohemaglutinine (PHA) cevabını depreşe eder. BRSV'nin nötrofil, lenfosit ve makrofaj gibi farklı yangı hücrelerinin normal fonksiyonlarına ters yönde etki ettiği tahmin edilmektedir. IL-1, IL-2 ve prostaglandin E2 (PGE2) üretimini azaltarak veya T hücre proliferasyonu ile immunsupresyona neden olur. BRSV'den etkilenen buzağların plazmalarında ve lavaj sıvılarında PG konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (Keleş ve ark., 1998). Maternal immunitede Tc hücre üretimini baskılayarak hastalığın eliminasyonuna engel olur ve virus saçılımını artırarak hastalığın patogeneze destek olurlar (Openshaw ve ark., 2002).

Antijen sunan hücrelerin (APC) fonksiyonel defektleri sonucu, hasta hayvanlarda lenfositlerin mitojenlere karşı oluşturdukları proliferatif yanıtlarında azalma görülür. APC ve lenfoid hücrelerin birlikte çalışması sonucunda, yalnızca viral enfeksiyonunda iyileşme sağlamakla kalmaz bununla birlikte duyarlı hayvanları sekonder hastalıklara karşı da dirençli kılar. Bu etkileşimde şekillenecek bir eksilme durumunda konakçıda hastalığın iyileşme süreci ve sonucu üzerinde negatif bir etki oluşturur (Stott ve Taylor, 1985). İmmunmediatörlerin salınımı, antijen sunumu, monositlerin ve makrofajların fagositozu gibi değişik hücre bağımlı immunfonksiyonların doğrudan veya dolaylı yoldan enfekte olmuş hücrelerden soluble inhibitörlerin salınımı ile etkilenebildikleri bildirilmiştir. BRSV'den etkilenen buzağı ve koyunların APC miktarında 80. saate kadar azalma olduğu bildirilmiştir (Keleş ve ark., 1998d).

RSV enfeksiyonu esnasında lokal antijen-antikor kompleksleri oluşur, bu yapıların hücre yıkımına yol açtığı ileri sürülmektedir. Virusa maruz kalan enfekte hücreler antikor-antijen kompleksleri vasıtasıyla alternatif ve klasik komplement yolunun aktivasyonunu sağlarlar. Ekstrete edilebilen RSV ile kontamine epitelyal hücrelerde komplement elemanları bulunmuş olup, bu bölgelerdeki fagositik hücrelerde ve enfekte epitel hücrelerinde Indirekt Floresan (IF) tekniği ile tespit

edilebilmişlerdir (Bryson ve ark., 1991; McIntosh ve Chanock, 1990). RSV enfeksiyonunun sonrasında eksrete edilen makrofajlardaki Fc reseptörlerinin sayısında eksilme görüldüğü bildirilmiştir. Bu reseptör azalması ile alakalı olarak RSV konvansiyel ve immunkomplement kuzularda P. Haemolyticaya bağlı akciğer enfeksiyonu oluşumu kolaylaşmaktadır. Yine Fc reseptörlerinin azalmasından dolayı sinerjistik bakteriyel ve viral enfeksiyonların oluştuğu bildirilmiştir (Trigo ve ark., 1984b).

Humoral immun yanıtın, viruslara karşı korunmada önemli bir rolü vardır. Yeni doğanlarda pasif kazanılmış bağışıklık, RSV enfeksiyonuna immun yanıtın gelişiminde immunsupresif etki yapabilir (Openshaw ve ark., 2002). RSV ile ilk karşılaşma sırasında spesifik IgA'ların oluşmamasından dolayı maternal IgG solunum sisteminin lümenine diffuze olarak immunkompleks yapılar şekillendiri. Oluşan bu RSV-IgG immun-komplekslerinin nötrofil hücreleri aracılığı ile fagositozunun yangısal mediatörlerin salınımını uyardığı ve bu olayın patolojik gelişimine katkı sağladığı belirtilmiştir (Openshaw ve ark., 2002).

2.6. İmmunité

BRSV hastalığı ağırlıklı olarak genç hayvanlarda görülmektedir. Buzağılarda maternal antikorların yüksek veya orta seviyelerde bulunmasına rağmen BRSV enfeksiyonunun oluşabildiği bildirilmiştir. Hastalığa karşı korunmada pasif kazanılmış serum antikorları ve mukozal immunité gibi faktörler etkilidir. Maternal antikorlara sahip bireylerde hastalık semptomları hafif seyredebilmektedir. 3 aylık yaştan küçük buzağılarda hastalığın klinik bulgularının şiddeti ve hastalığın sıklığı maternal antikor düzeyi ile ters orantılıdır (Kimman ve ark., 1988). Maternal antikorların bulunması sistemik ve lokal antikor cevabını baskılamakta ve enfeksiyonun yenilmesine engel olmaktadır. Maternal antikorların tüm antikor izotiplerinin oluşmasını baskıladığı; bu durumdan IgM izotipinin minimum düzeyde etkilendiği bildirilmiştir (Kimman ve ark., 1988). Maternal antikorları bulunan buzağılara canlı virusun aerosol yolla ilk kez uygulanmasının akabinde ikinci virus enfeksiyonundan sonra virus saçılımı olmadığı tespit edilmiştir (Elvander, 1996). Nadirde olsa 3 aylık yaştan büyük sığırlarda da ağır hastalık tablosu oluşumu bildirilmiştir. Buna isitinden hastalıktan korunmada sadece

maternal antikor düzeyi değil, hayvanlarının yaşının da önemli olduğu bildirilmiştir (Kimman ve ark., 1988). Koruyucu aşı çalışmasının erken uygulanması gerektiğini tavsiye eden Kimman ve ark. (1988) 3-4 aylık yaştan küçük buzağılarda parenteral yolla uygulanan aşının bir hayli etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yine Kimman ve ark. (1988) maternal antikorları bulunan hayvanlarda aşı ile antikor cevabının uyarılmasının güç olmasından dolayı, lokal virus uygulamasıyla koruma sağlanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Maternal antikorlar yüksek titrede bulunuyorlar ise hastalık semptomlarının üst solunum yollarında kısıtlı kaldığı bildirilmektedir (Stott ve Taylor, 1985).

Hayvan ve insan kan serumlarında BRSV enfeksiyonundan sonra F, G ve N viral proteinlerine karşı oluşmuş spesifik antikorlar tespit edilmiştir. Sadece F ve G proteinleri nötralizan antikorlar oluşturan ana antijenler olup, bu iki proteine karşı antikorlar RSV enfeksiyonuna karşı konakçı savunmasında önemli rol oynarlar (Openshaw ve ark., 2002). N proteini RSV spesifik Tc hücre yanıtını uyararak koruyucu bağışıklıkta rol oynar. F glikoproteini humoral ve hücrel immunitiyi artırır, ayrıca T hücreleri için N proteininden daha önemli bir hedeftir (Collins, 1999; McIntosh ve Chanock, 1990). Serum antikorları viral enfeksiyonlardan korunmada ana görevi üstlenirler. Doğal ve deneysel BRSV'ye özel serum ve nazal sekretorik antikorların varlığı belirlenmiştir. Sekretorik IgA'lar kısa zaman diliminde bulunmalarına rağmen üst solunum sisteminde direnç mekanizmasının önemli bir aracısıdır. B ve T lenfositler bu immün dirence lenfokin üreterek katkı sağlarlar (Field ve ark., 1984; Openshaw ve ark., 2002).

Masot ve ark. (1990a)'nın araştırmasında, kan serumundaki IgG seviyesinin enfeksiyon sonrası 5. günde en üst seviyeye ulaştığı ve bu seviyenin 9. güne kadar muhafaza edildiği sonucuna varılmıştır. Humoral aktivitenin ise belirgin seviyede 13.-15. günlerde düştüğü bildirilmiştir. Sekretorik IgA antikor enfeksiyondan sonraki 1.-7. günlerde alveoler ve bronşiyal epitel hücrelerde görülmüştür. Bu tespit sekretorik IgA'ların respiratorik sistemin mukozasını koruyucu rolü olduğunu ispatlamaktadır. IgM de yalnızca kan dolaşımında bulunmuş olup serumdaki düzeyinin, IgG ve IgA gibi humoral RSV antikor titresi ile birlikte arttığı bildirilmiştir.

Hücrel immun yanıt birçok viral patojene olduğu gibi BRSV enfeksiyonuna karşı korunmada ana faktördür. BRSV enfeksiyonunun sığırlardaki hücrel immun yanıtının in-vitro tespit edilmesinde lökosit göçü inhibisyon testi, lenfosit stimülasyon testi ve gecikmiş aşırı duyarlılık deri testi kullanılmaktadır (Field ve ark., 1984).

Yaş humoral immun yanıtın en önemli etkenlerinden biridir. Genç sığırların ilk enfeksiyon oluşumunu takiben 3 hafta içerisinde yeniden RSV hastalığına duyarlı hale geldikleri belirlenmiştir. Fakat bu kez virus saçılımının süresi ve miktarı ilk enfeksiyondakinden oldukça kısadır. Respiratorik sinsitial virus ile enfekte edilen ratların, pulmoner reenfeksiyonlara en az onsekiz ay boyunca tamamen dirençliyen, üst solunum sisteminin re-enfeksiyonlarına sekiz ay kadar dirençli oldukları bildirilmiştir (Stott ve Taylor, 1985). Reenfeksiyonun, ilk enfeksiyon zamanındaki hastanın yaşına, antijenik varyasyona, etkene 1. ve 2. maruz kalma arasındaki sürenin uzunluğuna bağlı olduğu iddia edilmektedir. İkinci enfeksiyondan sonra oluşan spesifik IgG'ler baskındırlar (Sharma ve Woldehiwet, 1992). Yaşlı hayvanlarda bulunan yüksek antikor titresleri re-enfeksiyonlara karşı direnç sağlamaz fakat klinik semptomların hafif seyretmesine neden olurlar (Elvander, 1996).

İlk enfeksiyondan sonra B hücreleri sayısında düşüş olmasına rağmen 2. enfeksiyonda bu sayı hızlıca yükselir. RSV'nin tek başına sürekli olarak yeteri miktarda hücrel immun yanıt oluşturamadığı lenfosit transformasyon testiyle gösterilmiştir (Sharma ve Woldehiwet, 1992).

2.7. Teşhis ve Ayırıcı Teşhis

BRSV enfeksiyonunun semptomlarına bakarak tanı koymak olanaksızdır (Welleman, 1990a). Patolojik değişiklikler de hastalığa spesifik olmadığından dolayı klasik tanı amacına uygun bulunmamaktadır (Bartha ve ark., 1986). Hastalık tanısı mevsimsel özelliği ve virolojik testlerle yapılabilir (Edwards ve ark., 1984; Edwards ve ark., 1988). BRSV hastalığının bulunduğu işletmelerdeki hayvanlardan alınan svap ve organ örneklerinde, viral antijenin tespiti ve enfekte hayvanlardaki serokonversiyonun belirlenmesiyle virolojik teşhis konulabilir. Bu hedefle solunum yolu ve nazal sekretleri (Elvander, 1996; Jalowayski ve ark., 1990; Kellogg, 1991),

nazal smearlar (Wellemans, 1990a), tracheal ve nazofarengeal yıkantı örnekleri (Castleman ve ark., 1985c; Chonmaitree ve ark., 1987; Edwards ve ark., 1988; Jalowayski ve ark., 1990), akciğer dokusu örnekleri (Bitgel, 1997; Castleman ve ark., 1985c; Ciszewski ve ark., 1991; Edwards ve ark., 1984; Stott ve Taylor, 1985) ve kan örnekleri (Bitgel, 1997; Keleş ve ark.1998; Sharma ve Woldehiwet, 1992) incelenebilmektedir.

RSV dondurma çözme işlemine, ısıya ve ortam asiditesine oldukça duyarlıdır. Bundan dolayı toplanan numuneler süratli bir şekilde proteinden zengin bir ekstrat içinde laboratuvara gönderilmelidir. Numuneler 4 °C'de 3-5 saat, -70 °C'de ise uzun süre saklanabilirler. Tekrarlanan dondurma-çözme uygulamaları etkenin hastalık yapma kapasitesinin hepsinin kaybına neden olabilir (Bitgel, 1997; Bohlander ve ark., 1982; Kellogg, 1991). Hücre kültürüne inokule edilen virus 3-7 gün içinde tipik intrasitoplazmik inklüzyon cisimciği oluşturur. Ancak RSV' nin %26 oranında cpe oluşturmada da üreyebildiği bildirilmektedir. Cpe' nin görülmemesi durumunda, virusun kör pasajlarının yapılması gerektiği bildirilmiştir (Florent ve De Marneffe, 1986; Gillette, 1983; Kellogg, 1991).

BRSV hastalığının hızlı tanısı ile antiviral tedaviye hızlıca başlanması ve antibiyotik kullanım oranının azaltılması ile antibiyotiklere dirençli bakterilerin oluşumunun engellenmesi, nazokomial bulaşmanın önlenmesi ve doğru teşhisle uygun tedaviye yönlendirilmesi gibi bir takım faydalar elde edilir (Özkul ve Özsan, 1998; Waner ve ark., 1990; Yılmaz ve ark., 2000). BRSV enfeksiyonuna hızlı teşhis koymak için doku numunelerinden direkt immunfloresan tekniği (Bitgel, 1997; Edwards ve ark., 1988; Kellogg, 1991; McNulty ve ark., 1983; Waner ve ark., 1990), indirekt immunfloresan tekniği (Adair ve McFerran, 1987; Freymuth ve ark., 1986), immunperoksidaz testi (Özkul ve Özsan, 1998; Waris ve ark., 1992), EIA (Bromberg ve ark., 1985; Freymuth ve ark., 1986; Kellogg, 1991; Waner ve ark., 1990) ve PCR teknikleri (Elvander, 1996; Florent ve De Marneffe, 1986; Yılmaz ve ark., 2000) hücre kültürüne göre daha kısa süreli ve etkili yöntemler oldukları bildirilmiştir (Waner ve ark., 1990).

Hücre kültüründe cpe yapmayan, enfeksiyöz virus yönünden negatif çıkan numuneler IF testinde pozitif sonuç verebilmektedir. Aynı zamanda IF yöntemiyle erken virus antijenlerinin tespiti çok daha kısa bir sürede yapılabilmektedir (Smith ve ark., 1992; Waris ve ark., 1992). Semptomların görüldüğü ilk günler bol miktarda virus tespiti yapılabilir. Hastalığın ileri dönemlerinde hücre kültüründe virus izolasyonu mümkün olmadığı için IF yöntemi ile antijen tespiti yapılabilmektedir. IF yönteminin duyarlılığı 1.-5. günlerde %88, 6.-10. günlerde %50, 11.-15. günlerde %17 oranında belirlenmiştir. Bu yöntemlerle sadece sağlıklı hücrelerin değerlendirildiği ve testi yapanların oldukça deneyimli olması gerektiği bildirilmiştir (Smith, 1987; Smith ve ark., 1992). Birçok heteroploid hücre dizisinin BRSV'ye duyarlılığının kısıtlı olduğu tespit edilmiştir, bu yüzden numune hangi canlı türünden alındıysa o canlıya ait hücre hatlarının IF yönteminde kullanılması tavsiye edilmektedir (Collins, 1999).

RSV enfeksiyonunun tanısında serolojik yöntemler, antikor titresinin kısa süreli olmasından dolayı nadiren kullanılmaktadırlar. RSV'ye karşı oluşan spesifik antikorlar; nötralizasyon testi (Brako ve ark., 1984; Gillette, 1983), komplement fikzasyon testi (Gillette, 1983), immundiffüzyon testi (Brako ve ark., 1984), indirekt ELISA (Gillette, 1983), ve indirekt FAT (Gillette, 1983) ile tespit edilebilir. Nötralizasyon testiyle spesifik ve düşük düzeydeki antikorlar belirlenirken, immundiffüzyon yöntemi ile çapraz reaksiyon veren antijenleri ve/veya grup spesifik antikorları tespit edilebilir (16). Gillette (1983) BRSV enfeksiyonunun tanısında SN, ELISA ve KFT'yi karşılaştırmıştır. Yüzon bir örneğin %98'inde SN ve ELISA ile antikor pozitiflik tespit edebilirken, KFT yöntemiyle sadece %50 oranında pozitiflik bulabilmiştir. Serum nötralizasyon testinin yapılışı uzun zaman almasına rağmen BRSV antikorlarının belirlenmesinde oldukça yüksek oranda duyarlılık gösterir. Komplementi fikse eden antikor titresi yalnızca etkene tekrar maruz kalma sonrasında arttığı için KFT spesifitesinin düşük olduğu bildirilmiştir. Komplementi fikse eden antikor titresi ilk enfeksiyon sonra hızlıca düşmekte ve üç ay sonrasında tespit edilememektedir. KFT ve ELISA teknikleri ile deneysel olarak enfekte edilen buzağılarda erken oluşan spesifik antikorların tespiti mümkündür, ancak subklinik deneysel enfekte edilmiş buzağı ve düşük antikor titresine sahip sığırlarda spesifik antikorların tespiti mümkün değildir. Bunun sebebi ilk önce sentezlenen veya persiste

antikorların IgM sınıfı oluşu fakat ELISA yönteminde kullanılan konjugatının ise IgG sınıfı olmasındandır.

2.8. Koruma ve Mücadele

BRSV hastalığı sığır, koyun ve keçilerde çok yaygın olarak görülmektedir. Etken solunum yolu sekret ve ekstretleri ile yada aerosol yolla hızla yayılım gösterir (Edwards ve ark., 1988). Subklinik formda veya klinik bulguların az olduğu durumlarda, antikor titresinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Murphy ve ark., 1999). Deneysel olarak P. Haemolytica ve RSV arasında sinerjizm olduğu bildirilmiştir (Bryson, 1993; Bryson ve ark, 1988; Giangaspero ve ark., 1997).

BRSV enfeksiyonu, zayıf, yeni doğan, ve sütle beslenen buzağuların en önemli solunum yolu hastalıklarındandır. Yaşlı hayvanlarda seyrek olarak görülmektedir. Neonatal ve genç sığırlarda bu hastalığın kontrolü oldukça güçtür. BRSV enfeksiyonunu kontrol etmenin en iyi yolu; buzağuları ve genç hayvanları muhtemel virus kaynağı olan yaşlı sığırlardan ayrı tutmak ve pasif bağışıklık ortadan kalkınca aşılama çalışması yapmaktır. Pasif bağışıklık BRSV'ye karşı tam koruma sağlamaz ancak hastalığın şiddetinin azaltılmasında etkilidir. Gebeliğin ilerleyen döneminde yapılan aşılama, belirli kolostral antikorların artışına yol açtığını bildirilmiştir (Baker, 1992). Yapılan çalışmalarda bulunan verilere göre, BRSV'ye karşı maternal antikorların hayvanları tam korumadığı, ama enfeksiyon şiddetini değiştirmede etkili olduğu kanaatine varılmıştır (Baker, 1992). BRSV ile aşılanan hayvanlarda enfeksiyon oluşumunun önemli ölçüde azaldığı, aşılama yapılmayan hayvanlarda yüksek düzeyde enfeksiyon oluşumu gözlemlenmiştir (Verhoeff ve Van Nieuwstadt, 1984b). RSV enfeksiyonları çok genç hayvanlarda ağır seyrettiğinden dolayı aşılanmanın doğumdan sonra yapılması gerektiği bildirilmiştir. Parenteral yolla uygulanan aşının 3-4 aylık buzağularda etkili olduğu tespit edilmiştir. Maternal antikor varlığının aşı immunitesine ve hastalık patogeneze negatif yönde etki ettiği bildirilmiştir (Kimman ve ark., 1988). Yeni doğan hayvanlarda maternal antikor varlığında ve immun sistemi gelişimini tamamlamamış sığırlarda etkili cevap oluşturan RSV aşısı üretimi gerçekleştirilmelidir (Brandenburg ve ark., 2001). İlk aşı üretim çalışması formalin-inaktive RSV aşısı (FI-RSV) üstünde yoğunlaşarak yapılmıştır. Buzağularda

uygulanan FI-RSV aşısı, aşılama sonrası oluşan doğal RSV hastalığının takibinde, olası nötralizan epitopların denatürasyonu sebebiyle sitotoksik lenfosit hücre cevabı ve koruyucu antikor cevabı oluşmamaktadır ve buna bağlı ağır bir hastalık tablosu oluşturmuştur. Dolayısıyla FI-RSV aşısının koruyucu etkisinde yetersiz olduğu anlaşılmıştır (Collins, 1999; Crowe, 2002; Openshaw ve ark., 2002). FI-RSV aşılarının reaksiyon gösterme riski nedeniyle de diğer aşılarla karşı araştırmalar yapılmaktadır.

RSV enfeksiyonuna karşı oluşturulan canlı virus aşıları nazofarenksten uygulandıktan sonra doğal enfeksiyona eş dengeli bir immun yanıt meydana gelmekte ve bu RSV enfeksiyonunun ardından kuvvetli bir enfeksiyon tablosu gözlenmediği bildirilmiştir. Attenüe aşılarla oluşturulan topikal hastalık, maternal antikorların bulunmasına karşın hem serum hem de sekretorik antikorların oluşumunu sağlamaktadır. Gershwin ve Stewart (1990)' ın yaptıkları canlı aşı çalışmasında, aerosol yolla buzağılara aşı uygulanmış olup, aşılama sonrası meydana gelen doğal RSV hastalığında aşıları hayvanlarda aşısız hayvanlara göre virus saçılım oranının daha az olduğu belirtilmiştir (Brandenburg ve ark., 2001; Crowe, 2002).

RSV enfeksiyonuna karşı oluşturulan diğer aşı grubu alt ünite aşılarıdır. Alt ünite aşıların, RSV F ve G proteininden köken aldığı bildirilmiştir (Brandenburg ve ark., 2001). Bu aşılar bağışıklık sistemi yetersiz ve gelişmemiş hayvanlarda etkili bağışıklık oluşturmamaktadır. Bundan dolayı hastalıktan korunmada iyi bir aşı adayı olarak görülmezler. Bu aşıların daha önceden hastalanmış ve reenfeksiyon sonucu ağır hastalık tablosu gösterebilecek bireylerde kullanılabileceği belirtilmiştir (Crowe, 2002).

RSV enfeksiyonuna karşı yapılan son çalışmalarda RSV G ve F antijenleri birleştirilmiş plazmid DNA vektörleri (DNA aşıları) rodentlerde çalışılmıştır. Bu çalışmalara göre aşılama sonrası hem nötralizan antikorların hem de sitotoksik T hücre aracılı immun yanıtın oluşumunda oldukça etkili olduğu gözlemlenmiştir. Fakat sekonder enfeksiyonu takiben "Pulmoner eozinofilia" oluşturdukları tespit edilmiştir (Brandenburg ve ark., 2001).

RSV enfeksiyonuna karşı geliştirilen bir diğer aşı adayı canlı vektör aşılardır. RSV antijenlerini sunan canlı vektörler hem MHC-sınıf-I-Sitotoksik T hücre cevabı hemde iyi düzeyde virus nötralizan antikör oluştururlar. RSV proteinlerinin ekspresyonu Adenovirus ve vaccinia viruları ile geliştirilmişlerdir. Walravens ve ark. (1991), BRSV RB94 suşunun F protein zincirini bir baculovirus vektörüne (AcNPV) klonlayarak rekombinant aşı elde etmişlerdir. Bu aşı ile aşılanan Balb/c farelerinde BRSV' ye karşı spesifik immun yanıtın yükseldiği görülmüştür (Walravens ve ark., 1991). Yapılan çalışmalarda BRSV G proteini için Bovine Herpes virusun kullanıldığı rekombinant aşının mukozal immunitiyi yeterli düzeyde sağladığı görülmüştür (Murphy ve ark., 1999).

RSV enfeksiyonuna karşı parenteral olarak uygulanan canlı aşılarda tek olumsuz yönü, maternal antikörlerin aşı virusunu nötralize ederek immunitiyi oluşumunu engellemesidir. Bu durumdan etkilenmemek için mukozal yolla aşı uygulaması yapılması gerektiği bildirilmiştir (Brandenburg ve ark., 2001).

BRSV enfeksiyonunda sekonder bakteriyel etkenlere bağlı pnömonilere sık rastlanılmakta olup antibiyotikler ile tedavi edilmelidir. BRSV hastalığının immunpatogeneze bağlı olarak oluşan bronkospazmlara, pulmoner konsolidasyon ve yaygın inflamasyonla mücadele etmek için antihistaminikler ve non-steroidal antiinflatuar ilaçlar kullanılmalıdır. Hastalıktan etkilenen buzağılara 2-3 gün konsantre yem ve silaj yedirilmemeli, ihtiyacı kadar kuru ot verilmelidir. Böylelikle bu enfeksiyonun patolojik mekanizması olan aşırı duyarlılık bir ölçüde azaltılabilir (Baker, 1993).

Planlanan bu araştırmada; Denizli ve Burdur yörelerinde bulunan 6 aylık yaştan büyük ve BRSV' ye karşı aşılanmamış farklı ırk, cinsiyet ve yaşta olan sığırlardan toplanan kan serum örneklerinde BRSV enfeksiyonunun varlığının indirekt ELISA yöntemi ile serolojik olarak belirlenmesi ve söz konusu yörelerdeki yaygınlığı hakkında bilgilendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bu hastalıkla ilgili olarak Türkiye de sınırlı sayıda araştırmanın planlandığı, çalışmamızın yapılacağı bölgelerde ise hiç araştırma yapılmamış olmasından dolayı da literatür bilgilerine de katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

Araştırma sonucunda elde edilen veriler ışığında, Denizli ve Burdur yörelerinde BRSV enfeksiyonunun varlığının/yaygınlığının ortaya konulması ile söz konusu enfeksiyon ile mücadelede bilimsel yaklaşımda bulunulacaktır ve oluşabilecek BRSV salgınlarına karşı temel veriler elde edilecektir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklenen Hayvanlar

Bu araştırmada, Denizli ve Burdur yörelerinde (Şekil 3.1) bulunan farklı ırk, cinsiyet ve yaşta, 271 sığırdan kan örneği toplandı (Tablo3.1). Altı ay yaştan daha büyük hayvanlardan örnekleme yapıldı. Koagulanlı tüplere alınan kan örnekleri soğuk zincirde laboratuvara getirildi.

Tablo 3.1. Kan örnekleri alınan sığırların sayıları

İl	Erkek	Dişi	Toplam
Denizli	95	41	136
Burdur	59	76	135
Toplam	154	117	271

Çalışmada kullanılacak örnek sayısının belirlenmesinde openepi programı kullanılarak; %99,9 güven seviyesinde, %90 güven aralığı, %10 hata payında 473000 popülasyon büyüklüğüne (Denizli ili sığır sayısı: 263983, Burdur ili sığır sayısı: 208934, 2017 yılı TÜİK verileri) (<https://biruni.tuik.gov.tr>.) sahip sürü de BRSV enfeksiyonunun tahmini prevalansının %50 oranında olması değerlendirilerek örneklem büyüklüğü 271 olarak hesaplanmıştır (https://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm).

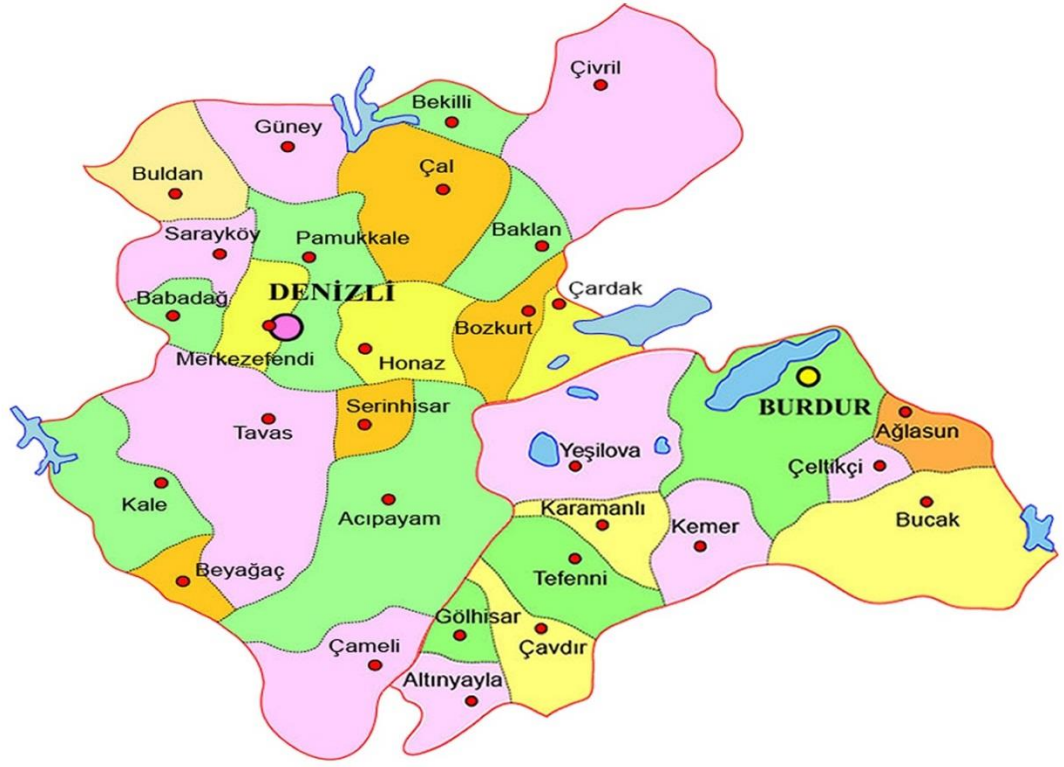
Kan örnekleri alınan 271 adet sığırdan 117'si dişi, 154'ü erkekti. Örnekleri alınan sığırlardan en küçüğü 6 ay yaşta, en büyüğü ise 13 yaşındaydı. Denizli ilinden 6 adet ilçede (Acıpayam, Bozkurt, Çameli, Pamukkale, Serinhisar, Tavas), Burdur ilinden ise 4 adet ilçede (Çavdır, Gölhisar, Karamanlı, Tefenni) yetiştirilen sığırlardan örnekleme yapıldı (Şekil 3.2).

3.2. Örneklerin Toplanması

Kan numuneleri *V.jugularis*'ten steril olarak koagulanlı tüplere alınıp +4 °C de muhafaza edilerek laboratuara getirildi. Laboratuara getirilen kan numuneleri 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan serum stok tüplere konularak test aşamasına kadar -20 °C de saklandı.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan örneklerin toplandığı Denizli ve Burdur illerini gösteren harita.



Şekil 3.2. Denizli ve Burdur siyasi haritası

3.3. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Sığırlardan alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda, indirek ELISA yöntemi kullanılarak Bovine Respiratory Syncytial Virusa spesifik antikorların varlığı araştırıldı. Bu amaçla BioX Diagnostics firmasının ürettiği monoscreen Ab ELISA BRSV (BIO K 061/5 Rochefort-Belçika) kiti kullanıldı.

Bu test kiti BRS virusunun F (füzyon) proteinine spesifik monoklonal antikorlarla duyarlılaştırılmış biçimde hazırlanmıştır. Bu sayede rekombinant bir F proteinini kullanılarak BRSV'a özgü antikorlar tespit edilir. Pleytin tek rakamlı kolonları (1, 3, 5, 7, 9, 11) rekombinant viral proteini içerirken, çift rakamlı kolonları (2, 4, 6, 8, 10, 12) kontrol antijen ile kaplanmıştır. Kit bu şekilde hazırlanarak yanlış pozitif sayısının azaltılması hedeflenmiştir.

Bu yöntem solid faz indirekt ELISA prensibinde çalışmaktadır. Seyreltilmiş kan serumu örnekleri non-enfeksiyöz BRSV antijeni ile kaplı mikrotitrasyon

pleytlarının gözlerine konulduktan sonra inkübasyona bırakılır ve eğer serumda BRSV spesifik antikorları varsa antijenlere bağlanmaktadır. İnkübasyon süresinin sonunda mikropleytin kuyucuklarının yıkanmasını müteakiben, BRSV antikorları ile kompleks oluşturabilen anti-bovine IgG1 monoklonal antikorı ile işaretli-horseradish peroxidase konjugatı ortama ilave edilmektedir. Pleytler daha sonra ikinci bir kez 21°C (±5 °C) de inkübe edilir ve ortamdaki bağlanmamış antikorlar uzaklaştırmak için tekrar yıkanır. Daha sonra kuyucuklara substrat (TMB 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) solüsyonu eklenir. Test serumlarında spesifik BRSV immünoglobulinleri mevcutsa, konjugat, viral antijeni içeren kuyucuklara bağlanır ve enzim katalize uğrar, renksiz kromojen pigmentli bileşiğe dönüşür. Konjugat ve substrat etkileşimine bağlı olarak kuyucuklarda meydana gelen mavi renk pozitifliğin göstergesi olarak kabul edilir. Bu testte elde edilen mavi rengin yoğunluğu, numunedeki spesifik antikor titresi ile orantılıdır. Daha sonra reaksiyon stop solüsyonu eklenerek durdurulmakta ve sonuçlar fotometrik olarak (fotometrede 450 nm) pleytin her bir kuyucuğunun optik dansitesi (OD) ölçülerek kantitatif değerler elde edilir.

Test, üretici şirketin bildirdiği kit prosedürüne göre yapıldı. Buna göre kan serumu numuneleri ve test kiti reaktifleri uygulama öncesi oda ısısına çıkarılarak 30-45 dak. tutulduktan sonra kısa bir vorteks yapıldılar.

Testin yapılması sırasında, pleyt kuyucuklarının yıkanmasında kullanılacak konsantre yıkama solüsyonu, gerekli miktarda prosedüre uygun olarak 1/20 oranında distile su ile sulandırılarak hazır hale getirildi. Teste başlamadan önce kan serumlarının her birisinin de tüpler içerisinde 1/100 dilüsyonları hazırlandı. Bu işlem de, kitin içerisinde bulunan usulüne uygun olarak hazırlanmış 5x dilution bufferdan steril boş bir stok tüp içerisine 990 µl bunun üzerinede 10 µl serum örneği eklendi ve kısa bir vorteks yapıldı. Bütün serum örneklerinin bu şekilde 1/100 dilüsyonları hazırlandı. Aynı şekilde pozitif ve negatif kontrollerde usulüne uygun olarak 1/100 oranında dilüe edildi.

Oda ısısında bekletilen pleytler usulüne uygun olarak ambalajlarından çıkarılarak numaralandırma yapıldı. A1 ve A2 kuyucuklarına pozitif kontrol, B1 ve B2 kuyucuklarına negatif kontrol, olmak üzere diğer tüm kuyucuklarada sulandırılmış her

bir serum örneğinden yanyana iki kuyucuk (D1-D2 gibi) gelecek şekilde 100 µl konuldu. Daha sonra pleyt üzeri yapışkan bir filmle kapatılarak 21°C (±3 °C) de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda yapışkan film tabaka çıkarılarak önceden usulüne uygun olarak hazırlanan yıkama solüsyonundan bütün kuyucuklara 300 µl konuldu ve yıkama yapıldı. Yıkama işlemi 3 kez tekrarlandıktan sonra 1/50 oranında dilisyon buffer ile sulandırılan konjugatından bütün kuyucuklara 100 µl ilave edildi ve pleytin üzeri yapışkan film tabakayla örtülerek 21°C (±3 °C) de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda yapışkan film tabaka çıkarılarak yukarıdaki yıkama işlemi tekrarlandı ve kuyucuğun her birine 100 µl substrat (tetramethylbenzidine-TMB) solüsyonu konularak 10 dakika 21 °C (±3 °C) de karanlıkta inkübe edildi. Bu süre bittikten sonra pleytin bütün kuyucuklarına 50 µl stop solüsyonu konularak reaksiyon durduruldu. ELISA pleytleri, 450 nm dalga boyunda filtrenin kullanıldığı ELISA okuyucusunda (Mindray MR-96A, Hamburg-Almanya) değerlendirildi. Elde edilen bu absorbans değerleri kitin protokolünde belirtildiği şekilde hesaplandı (Şekil 3.3).

Sonuçların Değerlendirilmesi

Pozitif ve negatif kontroller ile örneklerle ait tek rakamlı sütunlardaki kuyucuklarda kaydedilen her bir OD değerden, çift rakamlı sütunlardaki kuyucuklarda tespit edilen her bir OD değeri çıkartılarak nihai OD değerleri kontroller ve numuneler için hesaplanır.

Testin geçerliliği için, negatif kontrol optik dansite (OD_{NC}) değeri 0,300'den küçük (<0,300) olmalı, pozitif kontrol optik dansite (OD_{PC}) değeri de 0,800'den büyük (>0,800) olmalıdır. Çalışmada tespit edilen kontrol değerlerinin bahsedilen şartlara uygun olduğu belirlendi.

Örneklerin değerlendirilmesinde; örneğin nihai OD değerini (OD_{Sample}) 100 ile çarpıp, örneğin tek rakamlı kuyucuğunda tespit edilen kendi pozitif OD değerine bölünmesi sonucunda her bir numunenin % değeri belirlendi.

$$\text{Value \%} = (\text{Delta OD}_{\text{Sample}} \times 100) \div (\text{Delta OD positive})$$

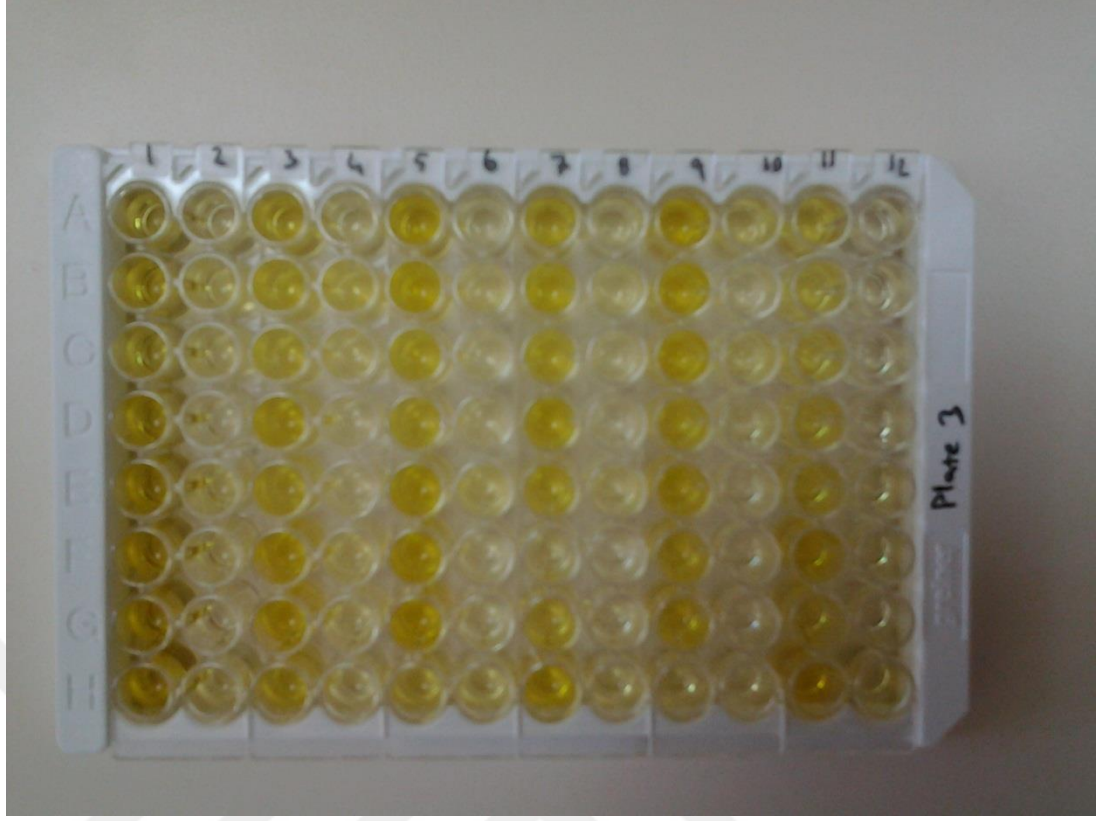
Bu test ile bilinmeyen bir örneğin reaktif değeri 0 ila +++++ arasında değişen bir ölçekte belirlenebilir.

Test prosedürüne göre; aşağıdaki tablo kullanılarak, her bir serumun pozitiflik derecesi belirlendi ve bir artı (+) değerinden büyük veya ona eşit olan her bir sonuca sahip örnek pozitif kabul edildi.

0		+		++		+++		++++		+++++
Val ≤	%20	< Val ≤	%40	< Val ≤	%60	< Val ≤	%80	< Val ≤	%100	< Val

İstatistik Değerlendirme

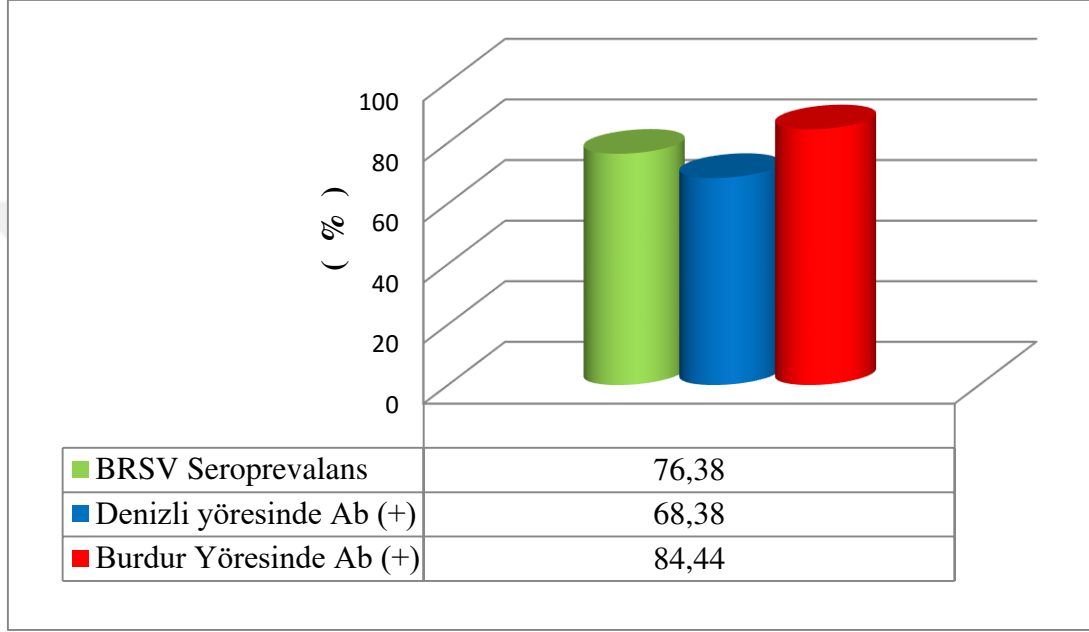
İstatistik değerlendirme, Minitab 16 Statistical Software yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Denizli ile Burdur yörelerindeki, farklı ırk hayvanlardaki, farklı yaş gruplarındaki ve dişiler ile erkeklerde belirlenen seropozitif değerler arasındaki farklılıkların önemli olup olmadığını belirlemek için de Ki-Kare (chi-square - χ^2) testi kullanılarak istatistiksel analizler yapıldı. Araştırmada $P < 0.05$ değeri elde edilen veriler anlamlı (önemli) olarak kabul edildi.



Şekil 3.3. BRSV Ab-ELISA mikroyeğin görünümü

4.BULGULAR

Çalışma kapsamında toplanan 271 sığır kan serumunda BRSV enfeksiyonunun seroprevalans oranı %76,38 tespit edildi. İller bazında bakıldığında; Denizli yöresinde seropozitiflik %68,38, Burdur yöresinde ise %84,44 oranında bulundu (Şekil 4.1).



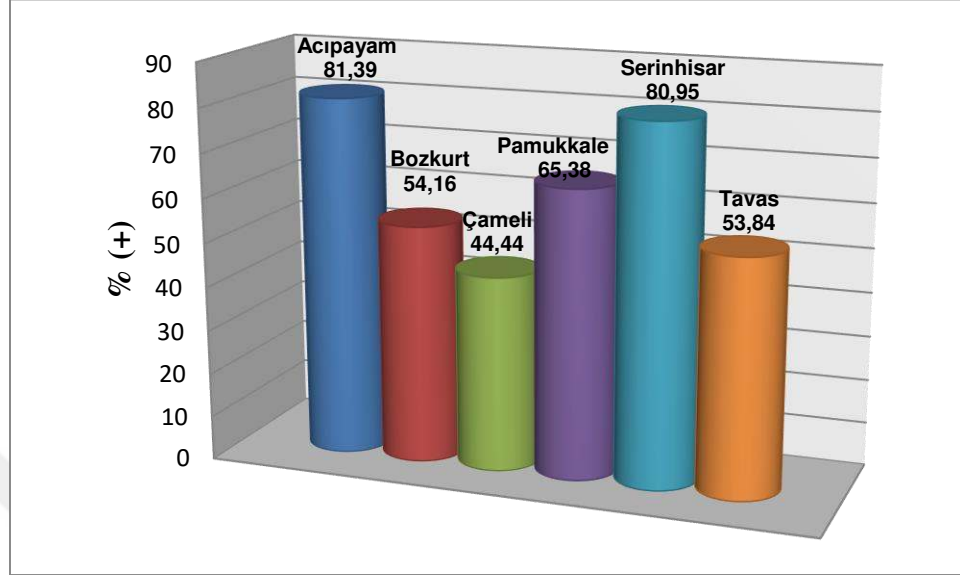
Şekil 4.1. Denizli ve Burdur yörelerinde seropozitiflik oranları

Tablo 4.1. Denizli ve Burdur yörelerinde BRSV Ab (+), (-) oranları.

İl	Toplam	BRSV Ab		BRSV Ab	
		(+)	%	(-)	%
Denizli	136	93	68,38	43	31,62
Burdur	135	114	84,44	21	15,56
Toplam	271	207	76,38	64	23,62

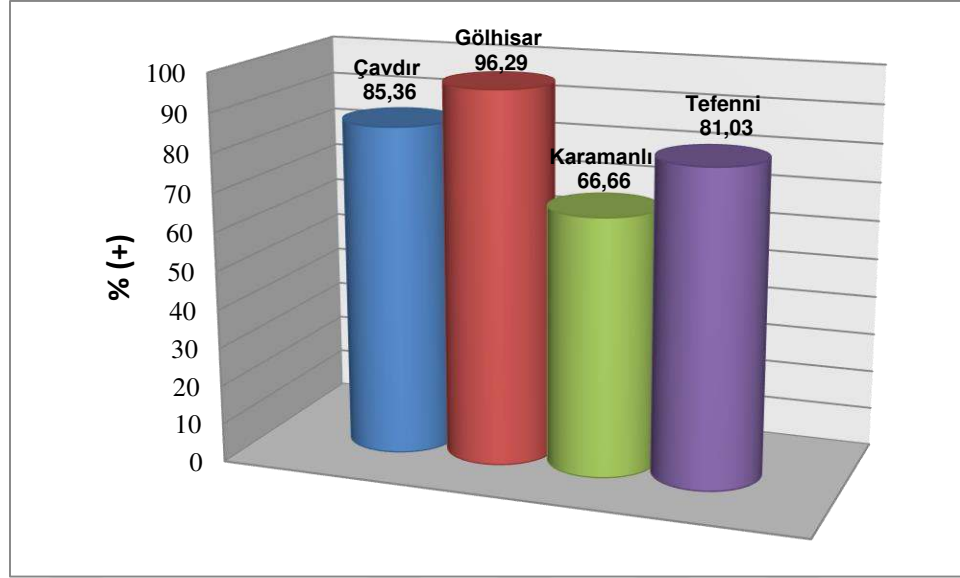
Çalışmanın bir bölümünü oluşturan Denizli yöresinde ilçe bazında en yüksek seropozitiflik (%81,39) Acıpayam ilçesinde tespit edildi. Denizli ilinin diğer ilçelerinden Bozkurt'ta %54,16, Çameli'de %44,44, Pamukkale'de %65,38,

Serinhisar’da %80,95 ve Tavas’ta ise %53,84 oranında seropozitiflik saptandı (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Denizli yöresinde çalışmanın yapıldığı ilçeler ve pozitiflik oranları

Yine araştırmanın diğer bölümünü oluşturan Burdur yöresinde de en yüksek (%96,29) seropozitifliğe Gölhisar ilçesinde rastlandı. Örnekleme yapıldığı diğer ilçelerden Çavdır’da %85,36, Karamanlı’da %66,66 ve Tefenni’de ise %81,03 seropozitiflik belirlendi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Burdur yöresinde çalışmanın yapıldığı ilçeler ve pozitiflik oranları

Araştırmamızda tespit ettiğimiz seropozitifliğin cinsiyetlere göre dağılımına baktığımızda erkeklerde %68,83, dişilerde ise %86,32 oranında olduğu görülmüştür (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Cinsiyete göre BRSV seroprevalans oranları

Cinsiyet	Materyal Sayısı	BRSV Ab		BRSV Ab	
		(+)	%	(-)	%
Erkek	154	106	68,83	48	31,17
Dişi	117	101	86,32	16	13,68
Toplam	271	207	76,38	64	23,62

Numune alınan sığır ırkları Holstein, Simental, Montofon ve Angus da BRSV seropozitifliği sırasıyla %75,46, %85,19, %85,19, %80,95 oranında belirlendi (Tablo 4.3). İl bazında değerlendirildiğinde Denizli yöresindeki sığır ırklarında bu seropozitiflik oranları Angus ırkında %78,94, Holstein’de %66,33, Simental’ de %72,72, Montofon’da ise %60 olarak bulundu. Aynı şekilde Burdur yöresinde ırklara göre seropozitifliğin dağılımı; Angus ırkında %100, Holstein’de %83,48, Simental’de %93,75 ve Montofon’da da %50 oranında belirlendi.

Tablo 4.3. Örnekleme yapılan sığır ırklarına göre BRSV seroprevalans oranları

İrk	Materyal Sayısı	BRSV Ab		BRSV Ab	
		(+)	%	(-)	%
Holstein	216	163	75,46	53	24,54
Simental	27	23	85,19	4	14,81
Montofon	7	4	85,19	3	42,86
Angus	21	17	80,95	4	19,05
Toplam	271	207	76,38	64	23,62

Araştırmada örnekleme yapılan hayvanların yaşlarına göre BRSV seropozitiflik oranları da belirlendi. Buna göre 6 ay-1 yaş grubundaki hayvanlarda %68,12, 2-3 yaş grubundaki hayvanlarda %72,52, 4-5 yaş grubundaki hayvanlarda %93,62, 6-7 yaş grubundaki hayvanlarda %76,92, 8-9 yaş grubundaki hayvanlarda %100, 10 yaş ve üzeri grubundaki hayvanlarda da %100 oranında antikor pozitiflik tespit edildi (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Yaş gruplarına göre BRSV seropozitiflik oranları

Yaş	Örneklenen Hayvan Sayısı	BRSV Ab		BRSV Ab	
		Pozitif		Negatif	
		sayısı	%	sayısı	%
6 ay-1 yaş	69	47	68,12	22	31,88
2-3 yaş	131	95	72,52	36	27,48
4-5 yaş	47	44	93,62	3	6,38
6-7 yaş	13	10	76,92	3	23,08
8-9 yaş	5	5	100	0	0
10 yaş ve üzeri	6	6	100	0	0
Toplam	271	207	76,38	64	23,62

İstatistik Değerlendirme Sonuçları

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, Denizli ve Burdur da tespit edilen BRSV seropozitiflik oranları arasındaki farklılık, istatistiki açıdan önemli olarak ($P<0.01$) tespit edildi ($\chi^2=9,689$, $P= 0,002$). Buna karşın 4 farklı sığır ırkında tespit edilen seropozitiflik değerleri arasındaki farklılığın, istatistiki açıdan karşılaştırıldığında ise önemsiz olduğu ($P>0.05$) tespit edildi ($\chi^2=2,941$, $P= 0,401$). Yine farklı yaş gruplarında belirlenen seropozitiflik değerleri arasındaki farklılığın da istatistiki açıdan anlamsız olduğu ($P>0.05$) belirlendi ($\chi^2=14,840$, $P= 0,011$).

5. TARTIŞMA

İnsan sağlığını korumak, geliştirmek, yaşam kalitesini yükseltmek ve yaşamın devamlılığını sağlamak için gerekli olan ana besin öğelerinin karşılanmasında sığır yetiştiriciliği, dünya et ihtiyacının %26'sını, süt ihtiyacının ise %96'sını karşılamasıyla insan beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır.

Sığır yetiştiriciliği yapılan işletmelerin başarılı olabilmesi için iyi bakım ve besleme sağlamının yanı sıra hayvan sağlığının da korunması gereklidir. Bu bağlamda solunum sistemi hastalıkları sığır sağlığını etkileyen en önemli hastalık tablolarının başında gelmektedir. Solunum yolu enfeksiyonları bir ve ya birden çok patojen etkenin birlikte sinerjik etki gösterdiği kompleks hastalık tablosu şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Solunum sistemine yerleşen ve enfeksiyon oluşturan etkenlerin içerisinde yer alan bovine respiratory syncytial virus (BRSV) da tek başına veya diğer viral, bakteriyel etkenlerle birlikte sığır sağlığını tehdit etmektedir.

BRSV enfeksiyonu tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de sığır, keçi ve koyun popülasyonlarında yaygın olarak görülmekte ve geçimini hayvan yetiştiriciliği yaparak sağlayan yörelerde önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Ergin hayvanlarda hafif seyirli veya subklinik hastalık tablosu oluşturan respiratory syncytial virus (RSV), genç hayvanlarda daha ağır solunum sistemi enfeksiyonlarının şekillenmesine sebep olabilmektedir (Elvander, 1996). Farklı hayvan türlerinde benzer klinik semptomlar oluşturan virus, yerleştiği dokuya göre üst ve alt solunum sistemi veya her ikisinin birlikte enfeksiyonuna neden olmaktadır. Ateş, iştahsızlık ve gittikçe ilerleyen bir öksürükle başlayan hastalığa nazal ve oküler akıntılar eşlik etmektedir. Solunum sayısındaki belirgin artış, konjunktivitis, abdominal solunum ve baş-boyun bölgesinde ödem ağır vakalarda karşılaşılan bulgulardandır. Enfeksiyonun görüldüğü işletmelerde yemden yararlanma gücünün azalması, ağırlık kaybı ve erginlerde süt veriminin azalması gibi nedenlerle ekonomik kayıplar oluşturmaktadır.

BRSV'nin patojenitesine yaş, bakım-besleme ve immun yetmezlik faktörlerinin yanı sıra stres, çevre ve aynı anda meydana gelen sekonder viral ve bakteriyel enfeksiyonlarında katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Brandenburg ve ark., 2001; Castleman ve ark., 1985c). Özellikle enfeksiyon neticesinde şekillenen patolojik bozukluğa bağlı olarak mukosilyar savunma sistemi zarar gördüğü için respiratory syncytial virus çoğunlukla sekonder enfeksiyon etkenleriyle birlikte hastalık tablosu oluşturmaktadır (Bohlender ve ark., 1982; Elvander, 1996).

BRSV enfeksiyonlarında oluşan nötralizan antikorların, virusun proteinlerine bağlı olarak titreleri ve immun direnç süreleri değişkenlik gösterir. Bu konuyla alakalı olarak Westenbrink ve ark. (1989) yaptıkları çalışmada, virusun Mr 200K (L), 87K (G), 46K (F0), 41K (N), 35K (P), 28K ve 24K (F2), 27K (M), 22K ve <14K proteinlerine karşı oluşan antikorları tanımlamışlar ve özellikle F ve N proteinlerine karşı oluşan antikorların 4-9 aylık buzağılarda yüksek titrede şekillendiğini tespit etmişlerdir. Buna karşın 2-3 haftalık buzağılarda maternal yolla aldıkları F ve N antikorlarına rağmen yine de ciddi şekilde BRSV enfeksiyonuna yakalandıklarını bildirmişlerdir. Sonuçta F ve N proteinlerine karşı oluşan antikorların tek başına enfeksiyondan iyileşmede ve korunmada yetersiz olduğunu tespit etmişlerdir.

İlk serolojik verileri 1968 yılında Doggett tarafından ortaya konulan BRSV enfeksiyonu ile ilgili olarak takip eden yıllarda oldukça fazla çalışma yapılmıştır (Morgen ve ark., 1985; Stewart ve Gershwin 1989). Enfeksiyonla ilgili olarak ilk yapılan çalışmalar serolojik verilerle alakalı olsa da daha sonraki araştırmaların birçoğu virusun yapısı, replikasyon siklusu ve patogenezi ile ilişkilidir.

Rossi ve Kiesel (1974), mikronötralizasyon testini kullanarak yaptıkları serolojik araştırmada %67 oranında yetişkin sığırlarda BRSV antikorları tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada sürü bazında solunum sistemi enfeksiyonu şekillenen üç sürüde BRSV serokonversiyon oranının %100 olduğu görülmüştür. Çalışma kapsamında solunum sistemi klinik bulguları görülmeyen bir sürüde serokonversiyon durumunun tespit edilmesi bu sürüde yüksek insidenste subklinik BRSV

enfeksiyonunun varlığına bağlanmıştır. Araştırma sonucunda BRSV'ün sığır solunum yolu enfeksiyonlarının oluşumunda önemli bir patojen olduğu kanısına varılmıştır.

Pernthaner ve ark. (1990) da 1376 adet kan serumu örneğinde respiratorik viral patojenlere karşı oluşmuş spesifik antikor yanıtı tespit etmeye çalışmışlar ve kan serumu örneklerinin %17,4'ün de BRSV seropozitifliği belirlemişlerdir. Çoklu hastalık oranları bakımından değerlendirildiğinde de, sıklıkla iki yada daha çok virusa (BAV1, BAV2, IBR) spesifik kan serumlarında antikor varlığı tespit etmişlerdir.

Klem ve ark. (2013) Norveç'te 134 süt sığırı sürüsünü altı ay arayla BRSV yönünden aldıkları kan serumlarına uyguladıkları indirekt ELISA yöntemiyle taramışlar ve birinci örneklemede sürülerin %34'de, ikinci örneklemede ise % 41'inde seropozitiflik tespit etmişler. Birinci örneklemede negatif olan sürülerin altı ay sonraki testlerinde bu sürülerin %42'sinin pozitif olduğu bununla birlikte başlangıçta seropozitiflik tespit edilen sürülerin de ikinci örneklemede % 33'ünün negatife döndüğü belirlenmiştir. Hastalığın yaz ve kış aylarında görüldüğü fakat sürülerde kış aylarında şekillenen BRSV enfeksiyonunun popülasyonda daha çok hayvanı etkilediğini bildirilmiştir. Yine Klem ve ark. (2014) Norveç sığır sürülerinde görülen solunum sistemi hastalıklarında BRSV'nin etiyolojik rolünü araştırmışlar ve sığırlarda görülen 21 solunum sistemi enfeksiyonu salgınının 18'inde (%86) tek başına serolojik veya virolojik olarak saptamışlardır. Bu sürülerde diğer viral patojenlerin varlığı da belirlenmiş olsa da BRSV pozitif hayvanların sayısı ana patojenin BRSV olduğunu gösterir nitelikteydi. Bunun yanında bu araştırmada, aynı coğrafi bölgede aynı anda BRSV'nin iki farklı suşunun birbirlerinden bağımsız olarak enfeksiyon oluşturduğu da tespit edilmiştir.

Adair ve McFerran (1987) farklı türlerde BRSV enfeksiyonu sonucu oluşan antikor titrelerinin farklılık gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. IFAT kullanarak yaptıkları araştırmada sığır serumlarında BRSV SN₅₀ titrelerini 1/6 ile 1/32 oranları arasında, koyun serumlarında ise SN₅₀ değerlerinin 1/4 ile 1/12 oranları arasında bulmuşlardır. Antikor titrelerinde görülen bu farklılığı enfeksiyonu oluşturan RSV suşlarının değişik antijenik yapıda olmaları ile açıklamışlardır.

Kresic ve ark. (2018) 2011-2016 yılları arasında Hırvatistan’da görülen BRSV suşlarının genetik çeşitliliğini araştırmışlar ve bunların üç farklı genetik alt grup içerisinde yer aldığını belirlemişlerdir. Araştırmada yapılan BRS virusunun G geninin sekans analizleri, Hırvatistan'daki enfeksiyonların iki yeni alt gruba (VII ve VIII) ait BRSV suşlarının neden olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmada, BRSV’nin immun sistemden kaçışı için viral mekanizmada sürekli evrimin şekillendiği temel bir immunodominant bölge içinde özgün mutasyonların şekillendiği tespit edilmiştir.

Diğer birçok hayvan türlerinde de BRSV enfeksiyonunun durumu ile ilgili araştırmalar yapılmıştır. Lamontagne ve ark. (1985) yaptıkları serolojik çalışmada, 182 koyun sürüsünden ve 40 keçi sürüsünden hayvanların %10 kapsayacak şekilde kan serumu örnekleme yapmışlar ve bunlarda BRSV antikor prevalansını koyunlarda %35, keçilerde ise %36 olarak saptamışlardır. Numune alınan hiçbir sürüde klinik bulguların varlığıyla BRSV antikor prevalans oranları arasında ilişki belirlenmemiştir.

Motha ve Hansen (1997) Yeni Zelanda’da 14736 küçük süt sığırları sürüsünden (işletmesinden) rastgele seçtikleri 272 sürüde indirikt ELISA yöntemini kullanarak yaptıkları serolojik taramada, sürüler arasında BRSV enfeksiyonunun seroprevalansını %76.47 oranında bulmuşlardır. Bir ada ülkesi olan Yeni Zelanda’da endemik olarak görülen BRSV’nin, sürülerde görülen solunum sistemi problemlerinde önemli bir etiyolojik ajan olduğu düşünülmüştür.

Hoppe ve ark. (2018) yılda yaklaşık 44.6 milyon buzağının üretildiği Brezilya’da 26 çiftlikten topladıkları 1243 kan serumu örneğinde BRSV antikorlarının varlığını belirlemek için virus nötralizasyon testini kullanarak %79.5 oranında seropozitiflik belirlemişlerdir. Numunelerin alındığı 26 çiftlikte BRSV seroprevalansının %40 ile %100 arasında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu yüksek seropozitifliğin yaş ve BHV-1 / BVDV koenfeksiyonlarının varlığı ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Araştırma sonucunda viral yayılımın azaltılması için biyogüvenlik önlemlerinin alınmasının ve buzağların doğal emzirme metodu ile beslenmelerinin yüksek BRSV seroprevalansından korunmak için faydalı olacağı önerilmiştir.

Ferella ve ark. (2018) da Arjantin’de BRSV’nin seroprevalansını %78.64 oranında bildirmişlerdir. Sürülerde tespit edilen yüksek pozitifliği de; hayvanın yaşı, solunum sistemi hastalığı klinik bulgularının mevcudiyeti ve sürü büyüklüğü gibi faktörlerin etkili olduğunu öne sürmüşlerdir.

Türkiye’de BRSV enfeksiyonunun serolojik verileriyle alakalı ilk araştırma Burgu ve ark. (1990) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada küçük aile işletmelerinde ve kamu işletmelerinde yetiştirilen 490 sığırdan aldıkları kan serumu örneklerinde serum nötralizasyon testi ile %46,12 oranında BRSV’ye spesifik nötralizan antikorlar pozitifliği saptamışlardır. Alkan ve ark. (1997) ise kamuya ait 10 işletmeden topladıkları 480 sığır kan serumunda %44,6 oranında BRSV seropozitifliği bildirmişlerdir. Bu on işletme arasında BRSV seropozitifliğinin %4 ile %86 arasında değiştiği saptanmıştır. Aynı çalışmada solunum sistemi hastalığına neden olan diğer viral etkenlerin (PI-3, BAV-1, BAV-2, BAV-3, BHV-1, BVDV) serolojik dağılımına da bakılmış ve örneklemelerin yapıldığı işletmelerde çoklu enfeksiyonların yüksek oranlarda görüldüğü tespit edilmiştir. Çabalar ve Can Şahna (2000) Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde bulunan kamuya ait (5 adet) ve özel işletmelerde (12 adet) yetiştirilen süt sığırlarından aldıkları 471 kan serum örneğinde BRSV seropozitifliğini %67,3 olarak saptamışlardır. Bu işletmelerin %88,2’sinde (15 işletmede) seropozitif hayvanın bulunduğunu tespit etmişlerdir. Yavru ve ark.’nın (2005) yaptıkları çalışmada BRSV seropozitifliği %46,06 oranında bildirilmiştir. Yeşilbağ ve Güngör (2008) de Marmara Bölgesinde bulunan 7 ilden topladıkları sığır kan serumlarında BRSV antikor pozitifliğini %73,0 oranında belirlemişlerdir. Aynı zaman da bu çalışmada, büyük kapasiteli süt sığırı işletmelerinde BRSV enfeksiyonunun küçük kapasiteli işletmelere nazaran çok daha yüksek oranlarda bulunduğu ve sürü kapasitesinin solunum yolu viral enfeksiyonlarında önemli bir risk oluşturduğu ileri sürülmüştür. Güdek (2016) ise Aydın ili ve çevresinde yetiştirilen süt sığırlarında BRSV seropozitifliğini %98,6 olarak bildirmiştir. Ayrıca bu antikor pozitifliğin işletmeler bazında %97,1 ile %100 arasında değiştiğini belirlemiştir. Öner ve Yeşilbağ da (2018) yaptıkları çalışmada 6-15 aylık besi hayvanlarında BRSV spesifik antikor pozitifliğini %97,1 oranında bulmuşlardır.

Bu çalışmada ise, BRSV enfeksiyonunun seroprevalansı %76,38 oranında tespit edilmiştir. Çalışmanın yapıldığı illere göre de bu seropozitiflik oranları Denizli de %68,38, Burdur da ise %84,44 olarak belirlenmiştir. İlçelere göre ise seropozitiflik oranlarının dağılımı Denizli ilinin ilçelerinde %44,44 - %81,39 oranları arasında, Burdur ilinin ilçelerinde ise %66,66-%96,29 oranları arasında saptanmıştır. Bu sonuçlar Türkiye de daha önce yapılan başka araştırmalarda bildirilen verilerle paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda tespit ettiğimiz seropozitiflik oranının daha öncekilerle benzerlik göstermesi oldukça değerli bir veridir. Ülkemizde bölgeler arasında devamlı bir hayvan sirkülasyonunun olması, patojen enfeksiyon etkenlerinin yayılmasında önemli bir faktördür. Buda farklı bölgelerde, bazı enfeksiyonların benzer oranlarda oluşmasının sebeplerinden birisi olarak değerlendirilebilir.

Denizli- Burdur yöresinde küçük aile işletmelerinde sığır yetiştiriciliği ekstansif ve yarı açık veya kapalı şekilde yapılmakta olup, bölgenin mevsimsel geçiş dönemleri fazladır. Bu durum bir çok patojen mikroorganizmanın enfeksiyon oluşturmaları için uygun ortam oluşturmaktadır.

Araştırmamızda il, ırk, yaş ve cinsiyetlere göre tespit edilen farklı BRSV seropozitif oranları arasındaki farklılık istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada erkek hayvanlarda BRSV enfeksiyonunun seroprevalansı %68,83, dişilerde ise %86,32 oranında olduğu belirlendi. Bu farklılığın istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.001$) olduğu tespit edildi. Yine Burdur ve Denizli illerinde tespit edilen farklı oranlarındaki antikor pozitifliğinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.01$) olduğu belirlendi. Ancak sığır ırklarında tespit edilen seropozitif oranlarını arasındaki farklılık ile yaş gruplarında belirlenen değişik antikor pozitif oranları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemsiz ($P>0.05$) oldukları ortaya konulmuştur.

Çalışmamızda, numune alınan hayvanlara söz konusu enfeksiyona karşı aşılama yapılmadığı ve araştırmada maternal antikorların seroprevalansı etkileyebilme ihtimalini ortadan kaldırmak için 6 ay yaştan büyük hayvanlardan örnekleme yapılmış

olmasından dolayı, tespit edilen serolojik verilerin doğal enfeksiyona bağlı olduğunu göstermektedir.

Lersan ve ark. (2001) sürü bazında BRSV enfeksiyonundan korunma ve mücadelesine dönük olarak yaptıkları çalışmada, buzağılarda enfeksiyonun çok şiddetli geliştiği ve mortalitesinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Buzağılarda BRSV'nin ateş, burun akıntısı, öksürük ve solunum sayısında artış ile karakterize klinik bulgular oluşturduğu, ölümle sonuçlanan vakalarda yapılan otopsilerde de tipik değişikliklerle görülen pnömoni olgularına rastlanmıştır. Bu buzağılara, RSV kaynaklı ağır solunum sistemi hastalığı çıkmadan 2 ay önce uygulanan RSV aşısının da yeteri kadar koruyuculuk sağlamadığını tespit etmişlerdir. Bunun nedeni olarak da, buzağıkların anneden aldıkları maternal antikorların aşılama sonrasında immun direnç oluşumunu olumsuz etkilemesi gösterilmiştir. Çalışma sonucunda maternal antikorların etkisinin ortadan kalktıktan sonra buzağıkların BRSV'ye karşı aşılamalarının uygun olacağı kanaatine varmışlardır.

Sığırlarda görülen alt/üst solunum sistemi hastalıkları iştahsızlık, ateş, burun akıntısı ve solunum sayısı artışı ile başlayıp, bazı olgularda kendiliğinden iyileşme gösteren, bazen de kronikleşerek verim kayıplarına hatta ölümlere sebep olan bir veya birden çok enfeksiyon etkeni tarafından oluşturulurlar. Bu enfeksiyonlar özellikle besi sığırlarında yemden yararlanma ve bunu bağlı olarak da canlı ağırlık artışında azalma veya ağırlık kaybı, büyüme hızında yavaşlama, besi süresinin uzaması, tedavi masrafları ve prognozun kötü olduğu vakalarda ölümlere neden olmasından dolayı işletmeleri güç durumlara düşürmektedir. Yapılan bir değerlendirmede (Sacco ve ark., 2014), sığırcılık endüstrisine bu hayvanların solunum yolu hastalıklarından kaynaklanan ekonomik maliyetinin (ölüm, düşük performans (verim, büyümüş ve üreme), aşılama ve tedavi uygulamaları) yıllık 1 milyar Amerikan Doları olduğu tahmin edilmiştir. Bu bakımdan bu hastalıklar hem işletmeler hem de ülke ekonomileri için çok önemlidir. Hastalıklara bağlı ekonomik kayıpların en aza indirgenmesi için hayvanları BRSV ve diğer patojen etkenlerden koruma ve mücadele programlarının uygulanması, tedavi masraflarının azaltılması başlıca hedef olmalıdır.

BRSV enfeksiyonu ile mücadelede güncel aşı suşlarından hazırlanmış aşının kullanımı oldukça önemlidir. Valarcher ve ark. (2000) BRSV'nin Avrupa ve Kuzey Amerika izolatlarının nükleoprotein (N proteini), füzyon proteini (F proteini) ve glikoprotein (G proteini) bölgelerinin amino asit sekanslarını çıkararak nükleotidlerini belirlemişler ve bunların sekanslarını karşılaştırmışlardır. 1967 yılından beri aşılanmanın yaygın olarak yapıldığı ülkelerin izolatlarında N, G ve F proteinlerinin sürekli olarak evrimleştiğini gözlemlenmişlerdir. Araştırma sonucunda, gelecekte kullanılacak BRSV aşı suşlarının BRSV'nin evriminde (mutasyonunda) dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir.

BRSV'nin etkinliğini ve prevalansını azaltmak için etkili sürveyans stratejisi uygulamak ve negatif sürülerde yüksek biyogüvenlik tedbirleri almak faydalı olacaktır. Enfeksiyondan korunmada maternal antikorların önemi unutulmamalı ancak maternal antikor almış iki aylıktan küçük buzağuları BRSV hastalığından korumak için uygulanan aşının maternal antikor varlığında çalışmadıkları hatırdan çıkarılmamalıdır.

Viral hastalıklardan koruma amacıyla uygulanan aşılar da asıl hedef bireyselden ziyade sürü direncinin artırılmasıdır. Bu sayede sürüdeki dirençli hayvanların mevcudiyeti, duyarlı bireylerin enfeksiyon etkenleriyle temas ihtimalini en aza indirecek ve sürü halinde enfeksiyona direnci arttıracaktır. Solunum sistemi hastalıklarının multi-faktöriyel etiyolojisi ve hayvanların bu etmenlere kısa zaman içerisinde maruz kalmaları koruma ve tedavide güçlükler çıkarmaktadır. Bu bakımdan viral kaynaklı hastalıklardan korunmada, aşı uygulaması en önemli seçenek olarak değerlendirilmeli ve polivalan aşılar korunmada kullanılmalıdırlar.

Hayvansal orjinli temel besin maddeleri ve bunlarla alakalı istihdam alanlarını kapsayan hayvan yetiştiriciliği çok önemli ekonomik boyutları olan bir sektördür. Araştırmalarda elde edilen bilgilerin değerlendirilmesi neticesinde, ülkemizde sığır yetiştiriciliği alanında başarıya ulaşmak için işletme yönetimi, yetiştirme şartları ve enfeksiyöz hastalıklarla alakalı çalışmaların yapılması, eradikasyon ve kontrol programlarının uygulanması ve üreticilerin bu hususlarda eğitilmelerinin gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Sonuç olarak, BRSV enfeksiyonunun oldukça yaygın oranda varlığının ortaya konulduğu bu araştırmanın verileri dikkate alındığında, söz konusu hastalığın hem Denizli ve Burdur yöreleri hem de Türkiye hayvan yetiştiriciliği bakımından önemli olduğu ve enfeksiyonun önlenmesi amacı ile ciddi tedbirlerin alınması gerektiği görülmektedir. Özellikle organize hayvan yetiştiriciliği yapılmayan küçük ölçekli aile işletmelerinde bu konular daha da önemlidir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma ile Denizli-Burdur yörelerindeki sığırlarda Bovine Respiratory Syncytial virus enfeksiyonunun seroprevalansının belirlenmesine çalışılmış ve söz konusu enfeksiyonun varlığı/yaygınlığı serolojik olarak ortaya konulmuştur.

Bu çalışma sonucunda BRSV antikor pozitifliğinin Denizli yöresindeki sığırlarda %68,38 (93/136), Burdur yöresindeki sığırlarda ise %84,44 (114/135) oranında olduğu tespit edildi. Araştırma sonuçlarına göre BRSV'nin bölgede aktif olduğu görülmektedir. Elde ettiğimiz veriler son yıllarda yapılmış bu tür çalışmalarla paralellik göstermesiyle birlikte Denizli-Burdur yöresinde bu konuyla ilgili sığırlarda yapılmış ilk çalışma olması bakımından da önem arz etmektedir. Daha önce bildirilmiş olan prevalans çalışmalarında, coğrafik alanlara bağlı olarak değişiklikler belirlenmiştir ancak; ırk ve cinsiyet ile ilgili bir ilişki bulunamamıştır.

Bu hastalık 1970 yılında tespit edildikten sonra, birçok ülkede sığırlarda BRSV enfeksiyonu görülmüş ancak son yıllarda bu salgınların sıklığının arttığı tespit edilmiştir. Bu enfeksiyonun sıklığının artmasının nedeni olarak ülkemizin iklim çeşitliliğinin fazla olması, kontrolsüz hayvan hareketleri ve gerek kamu gerek özel olarak aktif bir aşılama çalışmasının olmaması düşünülebilir. Bundan dolayı önümüzdeki yıllarda BRSV enfeksiyonundan etkilenen işletmelerin artması muhtemeldir.

KAYNAKLAR

Adair BM, McFerran JB (1987). Differences in fluorescent antibody of Bovine Respiratory Syncytial Virus-infected cells by ovine and bovine sera. *Vet. Microbiol*, **13**, 87-91.

Adair BM., McFerran JB. (1987). Differences in fluorescent antibody staining of bovine respiratory syncytial virus-infected cells by ovine and bovine sera. *Veterinary Microbiology*, **13**, 87-91.

Ahmadian G, Chambers P, Easton J. (1999). Detection and characterization of proteins encoded by the second ORF of the M2 gene of pneumoviruses, *Journal of General Virology* **80**, 2011-2016.

Alkan F, Özkul A, Bilge-Dağalp S, Yeşilbağ K, Oğuzoğlu Ç, Akça Y, Burgu İ (2000). Virological and serological studies on the role of PI-3 virus, BRSV, BVDV and BHV-1 on respiratory infections of cattle. 1.The detection of etiological agents by direct immunofluorescence technique. *Dtsch.tierarztl.Wsch.*,**107(5)**, 193-212.

Alkan F, Özkul A, Karaoğlu T, Bilge S, Akça Y, Burgu İ, Oğuzoğlu Ç, Yeşilbağ K. (1997). Sığırlarda Viral Nedenli Solunum Sistemi Enfeksiyonlarının Seroepidemiolojisi. *Ank.Ün. Vet. Fak.Derg.*,**44(1)**, 73-80.

Atreya PL, Peeples ME, Collins PL. (1998). The NS1 protein of human respiratory syncytial virus is a potent inhibitor of minigenome transcription and RNA replication. *Journal of Virology*, **72**, 1452–1461.

Baker JC. (1986). Bovine respiratory syncytial virus: pathogenesis, clinical signs, diagnosis, treatment, and prevention. The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian. *Beef Continuing Education Article* **8(9)**,31-673.

Baker JC (1992). Bovine Respiratory Syncytial Virus. *In: Veterinary Diagnostic Virology*, 85-88. Ed.by Castro AE, Heuschele W.P. Mosby-Year book Inc.

Baker JC (1993). Treating BRSV infection. *Vet Med.*, Symposium on BRSV infection..

Baker JC Frey ML. (1985). Bovine respiratory syncytial virus, *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* **1**, 259-275.

Baker JC, Ames TR, Markham RJF (1985). Serologic studies of BRSV in Minnesota cattle. *Am J.Vet.Res.* **46(4)**, 891-892.

Baker JC, Ellis JA, Clark EG. (1997). Bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **13(3)**, 425-54.

Bartha A, Benko M, Kukedi A, Vetesi F (1986). Study of prolonged virus infection in cattle stocks infected by Bovine Respiratory Syncytial Virus. *Acta Veterinaria Hungarica*, **34(3-4)**, 271-279.

Bermingham A, Collins PL. (1999). The M2-2 protein of human respiratory syncytial virus is a regulatory factor involved in the balance between RNA replication and transcription, *Proceeding of the National Academy of Sciences, USA*, **96**, 11259-11264.

Bitgel A (1997). Trakya bölgesindeki solunum sistemi infeksiyonu belirtisi gösteren sığırlarda immunfloresan test ile infectious bovine rhinotracheitis (IBR), respiratory syncytial virus (RSV) ve parainfluenza tip 3 (PI-3) antijenlerinin tespiti. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, **28(2)**, 127-140.

Bohlender RE, McCune MW, Frey ML (1982). Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection. *Modern Veterinary Practice*, **63 (8)**, 613-618..

Brako EE, Fulton RW, Nicholson S.S, Amborski G.F. (1984). Prevalance of bovine herpesvirus-1, BVD, PI-3, goat respiratory syncytial, bovine leukemia, and bluetongue viral antibodies in sheep. *Am. J. Vet. Res.*, **45(4)**, 813-816.

Brandenburg AH, Neijens HJ, Osterhaus ADME (2001). Pathogenesis of RSV lower respiratory tract infection: Implications for vaccine development. *Vaccine*, **19**, 2769-2782.

Brodersen BW. (2010). Bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **26(2)**, 323-33

Bromberg GK, Tannis G, Daidone B, Clarke L, Sierra M (1985). Comparison of Ortho Respiratory Syncytial Virus ELISA and Hep-2Cell Culture. *J Clin. Mic.*, **22(6)**, 1071-1072.

Brown G, Aitken J, Rixon HWM, Sugrue RJ. (2002). Caveolin-1 is incorporated into mature respiratory syncytial virus particles during virus assembly on the surface of virus-infected cells, *Journal of General Virology*, **83**, 611-621.

Bryson DG, (1993). Necropsy findings associated with BRSV pneumonia, Review Symposium on BRSV Infection, *Veterinary Medicine*, 894-899.

Bryson DG, Evermann JF, Liggitt HD, Foreyt WJ, Breeze RG. (1988). Studies on the pathogenesis and interspecies transmission of RSV isolated from sheep. *American Journal of Veterinary Research*, **49 (8)**, 1424-1430.

Bryson DG, McFerran JB, Ball HJ, Neill SD (1978). Observations on outbreaks of respiratory disease in housed calves. Epidemiological and clinical findings. *Vet Rec.*, **103**, 485-489.

Bryson DG, McNulty M S, Logan EF, Cush PF. (1982). Respiratory syncytial virus pneumonia in young calves: Clinical and pathologic findings. *Am. J.Vet. Res.*, **44(9)**, 1648-1655.

Bryson DG, Platten MF, McConnel S, McNulty MS. (1991). Ultrastructural features of lesions in bronchoalveolar epithelium in induced Respiratory Syncytial Virus pneumonia of calves. *Vet Pathol.***28**, 293-299.

Buchholz U.J., Finke S., Conzelmann K.K. (1999). Generation of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) from cDNA:BRSV NS2 is not essential for virus replication in tissue culture, and the human RSV leader region acts as a functional BRSV genome promoter, *J. Virol.* **73**, 251-259

Burgu İ, Akça Y. (1998). Özel Viroloji Ders Notları. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi; p.10-2

Burgu İ, Toker A, Akça Y, Alkan F. (1990). A seroepidemiologic study of Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) in Turkey. *Dtsch.tierarztl. Wschr.*, **97**, 88-89.

Cash P, Wunner WH, Pringle CR. (1977). A comparison of the polypeptides of human and bovine Respiratory Syncytial viruses and murine pneumonia virus. *Virology*, **82**, 369-379.

Castleman WL, Chandler SK, Slauson DO (1985a). Experimental bovine respiratory syncytial virus infection in conventional calves: Ultrastructural respiratory lesions. *American Journal of Veterinary Research*, **46(3)**, 540-546.

Castleman WL, Torres-Medina A, Hawkins KL, Dubovi EJ, Atz JM (1985c). Severe respiratory disease in dairy cattle in New York state associated with bovine respiratory syncytial virus infection. *Cornell Veterinary*, **75**, 473-483.

Chonmaitree T, Bessette-Henderson BJ, Hepler RE, Lucia HL (1987). Comparison of Three Rapid Diagnostic Techniques for Detection of RSV from Nasal Wash Specimens. *J.Clin.Microbiol*,**25**,746-747.

Ciszewski DK, Baker JC, Slocombe RF, Reindel JF, Deborah MH, Clark EG (1991). Experimental reproduction of respiratory tract disease with bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Microbiology*,**28**, 39-60.

Collins JK, Teegarden RM, MacVean DW, Salman, Smith GH, Frank GR (1988). Prevalence and specificity of antibodies to bovine respiratory syncytial virus in sera from feedlot and range cattle. *Am J Vet Res.*, **49**, 1316– 1319.

Collins P.L., Mottet G. (1992). Oligomerization and post-translational processing of glycoprotein G of human respiratory syncytial virus: altered O-glycosylation in the presence of brefeldin A, *J. Gen. Virol.* **73**, 849–863.

Collins PL (1999). Respiratory Syncytial Virus-Human (Paramyxoviridae) Granoff A, Webster RG, (Edt), In:Encyclopedia of Virology, II,Edited, Vol.3, 1479-1487.

Collins PL, Hill MG, Johnson PR. (1990). 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*, **71**, 3015-3020.

Crowe Jr. JE (2002). Respiratory Syncytial Virus vaccine development. *Vaccine*, **20**, S32-37

Çabalar M., Can Şahna K., (2000). Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Süt Sığırlarında Parainfluenza Virus-3, Bovine Herpes Virus-1 ve Respiratory Syncytial Virus Enfeksiyonlarının Seroepidemiolojisi, Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg., **11(2)**, 101 – 105.

Deplanche M, Lemarie M, Mirandette C. (2007). In vivo evidence for quasispecies distributions in the bovine respiratory syncytial virus genome. *Journal of General Virology*, **88(Pt4)**, 1260-5.

Divers TJ. (2007). Respiratory diseases In: Divers TJ, Peek S. eds. Rebhun's diseases of dairy cattle. *Elsevier Health Sciences* 79-105

Doggett JE, Taylor-Robinson D, Gallop RGC. (1968). A study of an inhibitor in bovine serum active against respiratory syncytial virus. *Archiv für die gesamte Virus for schung* **23(1-2)**: 126-37.

Easton AJ, Domachowske JB, Rosenberg HF. (2004). Animal pneumoviruses: molecular genetics and pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, **17**, 390-412.

Edwards S, Newman RH, Stanley M. (1984). Respiratory Syncytial Virus Diagnosis. *Veterinary Record*, **114(4)**, 101.

Edwards S, White H, Newman RH, Nixon P (1988). A veterinary service scheme for the rapid diagnosis of viral infections in ruminants using Immunofluorescence. *State Veterinary Journal*, **42(120)**, 41-47.

Elvander M. (1996). Severe respiratory disease in dairy cows caused by infection with bovine respiratory syncytial virus, *Veterinary Record*, **138**, 101-105.

Erişim Adresi: https://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm. **Erişim Tarihi:** 01.06.2019.

Evermann JF, Liggitt HD, Parish SM, Ward AC, LeaMaster BR. (1985). Properties of a respiratory syncytial virus isolated from a sheep with rhinitis. *American Journal of Veterinary Research*, **45(8)**, 1641-1643.

Feldman S.A., Crim R.L., Audet S.A., Beeler J.A. (2001). Human respiratory syncytial virus surface glycoproteins F, G and SH form an oligomeric complex, *Arch. Virol.* **146**, 2369–2383.

Ferella A, Aguirreburualde MSP, Margineda C, Aznar N, Sammarruco A, Santos MJD, Mozgovoij M (2018). Bovine respiratory syncytial virus seroprevalence and risk factors in feedlot cattle from Córdoba and Santa Fe, Argentina. *Rev Argent Microbiol.*, **50(3)**, 275-279.

Field EW, Smith MS, Smith MH (1984). Cell-mediated immune response in cattle to bovine respiratory syncytial virus. *Am.J.Vet.Res.*, **45(8)**, 1641-1643.

Florent G, De Marneffe C (1986). Enzyme linked immunosorbent assay used to monitor serum antibodies to bovine respiratory disease viruses. *Vet Microbiol.*, **11**, 309-317.

Freyemuth F, Quibriac M, Petitjean J, Amiel ML, Pothier P, Denis A, Duhamel JF (1986). Comparison of two new tests for rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infections by enzyme-linked immunosorbent assay and immunofluorescence techniques. *J.Clin. Microbiol.*, **24(6)**, 1013-1016.

Fulton RW, Downing MM, Hagstad HV. (1982). 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)**, 1454-1457.

Furze J, Wertz G, Lerch R, Taylor G. (1994). Antigenic heterogeneity of the attachment protein of bovine respiratory syncytial virus, *J. Gen. Virol.* **75**, 363–370

Ghildyal R., Hartley C., Varrasso A., Meanger J., Voelker D.R., Anders E.M., Mills J. (1999). Surfactant protein A binds to the fusion glycoprotein of respiratory syncytial virus and neutralizes virion infectivity, *J. Infect. Dis.* **180**, 2009–2013.

Giangaspero M, Vanopdenbosch E, Nishika H, Tabbaa D. (1997). 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*, **29(2)**, 83-91.

Gillette KG (1983). Enzyme-linked immunosorbent assay for serum to bovine respiratory syncytial virus: Comparison with complement-fixation and neutralization tests. *Am.J.Vet.Res.*, **44(12)**, 2251-2255.

Gonzales-Reyes L, Ruiz-Arguello MB, Garcia-Barreno B, Calder L, Lopez JA, Albar JP, Skehel JJ, Wiley DC, Melero JA. (2001). 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*, **8(17)**, 9859-9864.

Grissett GP, White BJ, Larson RL. (2015). Structured literature review of responses of cattle to viral and bacterial pathogens causing bovine respiratory disease complex. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **29(3)**, 770-80.

Güdek M. (2016). Aydın İli ve çevresindeki süt siğirciliği işletmelerinde bovine respiratory syncytial virus (BRSV) enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın.

Hagglund S (2005). Epidemiology, Detection and Prevention of Respiratory Virus Infections in Swedish Cattle. Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

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

Heminway B.R., Yu Y., Tanaka Y., Perrine K.G., Gustafson E., Bernstein J.M., Galinski M.S. (1994). Analysis of respiratory syncytial virus F, G, and SH proteins in cell fusion, *Virology* **200**, 801–805.

Hendricks D.A., McIntosh K., Patterson J.L. (1988). Further characterization of the soluble form of the G glycoprotein of respiratory syncytial virus, *J. Virol.* **62**, 2228–2233.

Hickling T.P., Bright H., Wing K., Gower D., Martin S.L., Sim R.B., Malhotra R. (1999). A recombinant trimeric surfactant protein D carbohydrate recognition domain inhibits respiratory syncytial virus infection in vitro and in vivo, *Eur.J.Immunol.* **29**, 3478–3484.

Hoppe IBAL., Ramos de Medeiros AS., Arns CW., Samara SI. (2018). Bovine respiratory syncytial virus seroprevalence and risk factors in nonvaccinated dairy cattle herds in Brazil. *BMC Veterinary Research*, 14:208

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

Karger A, Schmidt U, Buchholz UJ. (2001). Recombinant bovine respiratory syncytial virus with deletion of the G and F genes: G and F proteins bind heparin, *Journal of General Virology*, **82**, 631,640.

Keleş I, Woldehiwet Z, Murray R.D. (1998d). The effects of virus-specific antibodies on the replication of bovine respiratory syncytial virus in vitro and on clinical disease and immune responses in lambs. *J.Comp. Pathol.*, **62**, 221-234.

Keleş İ, Woldehiwet Z, Murray RD (1998). Replication of bovine respiratory syncytial virus in bovine and ovine peripheral blood lymphocytes and monocytes and monocytic cell lines. *Veterinary Microbiology* **61**, 237-48.

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

Kimman TG, Zimmer GM, Westenbrink F, VanLeeuwen EMJ. (1988). Epidemiological Study of BRSV Infection in calves: Influence of maternal antibodies on the outcome of disease. *Veterinary Record*, **123**, 104-109.

Klem TB., Gulliksen SM., Lie K-I., Løken T., Østerås O., Stokstad M. (2013). Bovine respiratory syncytial virus: infection dynamics within and between herds. *Veterinary Record*, **16**, 1-6. doi: 10.1136/vr.101936.

Klem TB., Rimstad E., Stokstad M. (2014). Occurrence and phylogenetic analysis of bovine respiratory syncytial virus in outbreaks of respiratory disease in Norway. *BMC Veterinary Research* 2014, 10:15. doi:10.1186/1746-6148-10-15

Kovarcik K (2001). The development and application of an indirect ELISA test for the detection of antibodies to bovine respiratory syncytial virus in blood serum. *Vet Med Czech.*, **46**, 29-34.

Kresic N., Bedekovica T., Brnica D., Simica I., Lojkica I., Turk N. (2018). Genetic analysis of bovine respiratory syncytial virus in Croatia. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **58**, 52-57. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2018.09.004>.

Lambert DM, Pous MW (1983). Respiratory syncytial virus glycoproteins. *Virology*, **130**, 204-214.

Lamontagne L., Descoteaux JP., Roy R. (1985). Epizootiological Survey of Parainfluenza-3, Reovirus-3, Respiratory Syncytial and Infectious Bovine Rhinotracheitis Viral Antibodies in Sheep and Goat Flocks in Quebec. *Can J Comp Med* 1985; 49: 424-428.

Larsen L.E, Uttenthal A, Arctander P, Tjørnehoj K, Viuff B, Rontved C, Ronshold L, Alexandersen S, Blixenkrone-Møller M. (1998). 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 adaptation and passages in cell culture or calves, *Vet. Microbiol.* **62**, 265–279.

Larsen LE, Tegtmeier C, Pedersen E. (2001). Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) pneumonia in beef calf herds despite vaccination. *Acta Vet. Scand.*, **42**, 113-121.

Lehmkuhl HD, Cutlip RC, Bolin SR, Brogden KA. (1985). Seroepidemiological survey for antibodies to selected viruses in the respiratory tract of lambs. *American Journal of Veterinary Research*, **46(12)**, 2601-2604.

Leung AKC Kellner JD Davies HD. (2005). Respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Journal of the National Medical Association*, **97**, 1708-1713.

Levine S, KlaiberFranco R, Paradiso P.R (1987). Demonstration that glycoprotein G is the attachment protein of respiratory syncytial virus, *J. Gen. Virol.* **68**, 2521–2524.

Madeley CR, Field AM. (1988). Respiratory Syncytial Virus. In: *Virus Morphology*. **68**, 162-162.

Malhotra R., Ward M., Bright H., Priest R., Foster M.R., Hurle M., Blair E., Bird M. (2003). Isolation and characterisation of potential respiratory syncytial virus receptor(s) on epithelial cells, *Microbes Infect.* **5**, 123–133.

Mallipeddi SK, Samal SK (1993). Analysis of ovine respiratory syncytial virus (RSV) G glycoprotein gene defines a subgroup of ungulate RSV. *J Gen Virol.*, **74**, 2787-2791..

Mallipedi SK, Lupiani B, Samal SK. (1996). 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*, **77**:1019-1023.

Masot AJ, Kelling CL, Lopez O, Sur JH, Redondo E. (2000). In situ hybridization detection of bovine respiratory syncytial virus in the lung of experimentally infected lambs. *Veterinary Pathology*, **37**, 618-625.

Matthews JM, Young TF, Tucker SP, Mackay JP. (2000). The core oh the Respiratory Syncytial virus fusion protein is a trimeric coiled coil. *Journal of Virology*, **74(13)**, 5911-5920.

McFarland JH (1985). Bovine respiratory syncytial virus. British Cattle Veterinary Association. Proceedings for 1983-1984, 69-73.

McIntosh K, Chanock RM. (1990). Respiratory Syncytial Virus. Fields BN, Knipe DM (Edt). Raven Press New York. *Virology*, **2(38)**, 1045-1072.

McNulty MS, Bryson DG, Allan GM. (1983). Experimental Respiratory Syncytial Virus pneumonia in young calves: Microbiologic and immunofluorescent findings. *American Journal of Veterinary Research*, Vol**44(9)**, 1656-1659.

Mohanty SB, Ingling AL, Lillie MG. (1975). Experimentally induced Respiratory Syncytial virus infection in calves. *American Journal of Veterinary Research*, **36(4)**, 417-419.

Morgen KL, Kyle RAM, Martin HT, Duncan AL (1985). Serum antibody to respiratory syncytial virus in goats in the UK. *Vet. Rec.*, **2**, 239-240

Morris JA, Blount RE, Savage RE (1956). Recovery of a cytopathic agent from chimpanzees with coryza. *Proc Soc Exp Biol Med.*, **92**, 544-549.

Motha J., Hansen M. (1997). Serological survey for bovine respiratory syncytial virus in New Zealand Surveillance **24(4)**, 28

Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC. Studdert MJ. (1999). Veterinary Virology. 3rd ed. USA: Elsiver; p.411-27.

Oberst RD, Hays MP, Evermann JF, Kelling CL (1993). Characteristic differences in reverse transcription-polymerase chain reaction products of ovine, bovine, and human respiratory syncytial viruses. *J Vet Diagn Invest.*, **5**, 322-328.

Olmsted RA, Collins PL (1989). The 1A protein of respiratory syncytial virus is an integral membrane protein present as multiple, structurally distinct species. *J Virol.*, **63**, 2019-2029.

Openshaw PJM, Fiona JC, Olszewska W. (2002). Immunopathogenesis of vaccine-enhanced RSV disease. *Vaccine*, **20**, 27-31.

Öner EB., Yeşilbağ K. (2018). Besi sığırlarında solunum sistemi virüslerinin seroprevalansı ve persiste BVD virüs enfeksiyonu tespiti. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **65**, 1-7.

Özkul A, Özsan M (1998). Hücre Kültürlerinde Respiratory Syncytial virus enfeksiyonunun direkt immunoperoksidaz tekniği ile hızlı tanısı. *Flora*, **3(4)**, 258-262.

Özyıldız Z, Özmen Ö, Dolu H (2017). Buzağılarda Respiratuar Sinsityal Virus (BRSV) Enfeksiyonlarında Patolojik ve İmmunohistokimyasal incelemeler *MAE Vet Fak Derg*, **2(2)**:131-138.

Paccaud MF, Jacquier CL. (1970). A respiratory syncytial virus of bovine origin. *Archiv für die gesamte Virus for schung* **30(4)**:327-42.

Pernthaner A, Baumgartner W, Cerny Reitenet S, Köfer J. (1990). Seroepidemiologische Untersuchungen auf erregerrespiratorischer erkrankungen beim rind. *Dtsch TierarztlWochenschr*, **97 (6)**, 217-264.

Philippou S Otto P Reinhold P Elschner M Streckert HJ. (2000). Respiratory syncytial virus-induced chronic bronchiolitis in experimentally infected calves. *Virchows Arch.* **436**, 617-621.

Pirie HM, Petrie L, Pringle CR, Allan EM, Kennedy GJ (1981). Acute fatal pneumonia in calves due to respiratory syncytial virus. *Vet Rec.*, **108**, 411-416.

Pulat H. (1992): Koyunlarda Respiratory Syncytial Virus İzolasyonu ve Seroepidemiolojisi. *A.Ü. Sağlık Bilimleri Enst. Tezi*, Ankara.

Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constableeds PD (2006). Disease associated with Viruses and Chlamydia II. In: Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constableeds PD, eds. *Veterinary Medicine A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. 10thed. Philadelphia: Saunders, Elsevier p.1343-8.

Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constableeds PD. (2006). Disease associated with Viruses and Chlamydia II. In: Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constableeds PD, eds. *Veterinary Medicine A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. 10thed. Philadelphia: Saunders, Elsevier; p.1343-8.

Rivera H, Madewell BR, Ameghino E. (1987). Serologic survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (*Lama pacos*). *American Journal of Veterinary Research*, **48**, 189-91.

Rosenquist BD. (1974). Isolation of respiratory syncytial virus from calves with acute respiratory disease. *Journal of Infectious Diseases*, **130**, 177-82.

Rossi CR., Kiesel GK. (1974). Serological Evidence for the Association of Bovine Respiratory Syncytial Virus with Respiratory Tract Disease in Alabama Cattle. *Infection and Immunity*, **10 (2)**, 293-298.

Saa LR, Perea A, Jara DV, Arenas AJ, Garcia-Bocanegra I, Borge C, Carbonero A. (2012). Prevalance of and risk factors for bovine respiratory syncytial virus (BRSV) infection in nonvaccinated dairy and dual-purpose cattle herds in Ecuador. *Tropical Animal Health Production* **44**, 1423-1427.

Sacco RE, McGill JL, Pillatzki AE, Palmer MV, Ackermann MR. (2014). Respiratory syncytial virus infection in cattle. *Veterinary Pathology Veterinary Pathology* **51(2)**, 427-36.

Sacco RE., McGill JL., Pillatzki AE., Palmer MV., Ackermann MR. (2014). Respiratory Syncytial Virus Infection in Cattle. *Veterinary Pathology*, **51(2)**, 427-436. doi: 10.1177/0300985813501341.

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

Samal SK, Zamora M, McPhilips TH, Mohanty SB. (1991). Molecular cloning and sequence analysis of bovine respiratory syncytial virus mRNA encoding thje major nucleocapsid protein, *Virology*, **180**:453-456.

Sarmiento-Silva RE, Nakamura-Lopez Y, Vaughan G. (2012). Epidemiology, molecular epidemiology and evolution of bovine respiratory syncytial virus. *4(12)*,3452-67.

Schlender J., Bossert B., Buchholz U., Conzelmann K.-K. (2000). Bovine respiratory syncytial virus nonstructural proteins NS1 and NS2 cooperatively antagonize alpha/beta interferon-induced antiviral response, *J. Virol.* **74**, 8234–8242.

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

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

Sharma R, Woldehiwet Z (1992). Reinfection of lambs with bovine respiratory syncytial virus. *Res. Vet. Scien*, **52**, 72-77.

Smith MH, Frey ML, Dierks RE (1974). Isolation and characterization of a bovine respiratory syncytial virus. *Vet Rec*, **94(25)**, 599.

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

Smith TF (1987). Rapid diagnosis of viral infections. *In: Advances in Experimental Medicine and Biology.* **263**, 115-121, Ed. Klegler, B., Plenum press, New York.

Smith TF, Wold AD, Epsy MJ (1992). Diagnostic Virology. *In: Advances in Experimental Medicine and Biology Innovations in Antiviral Development and The Detection of Virus Infection.*, **312**, 191-199, Ed: Block T.M, Plenum Press, New York.

Stewart RS, Gershwin LJ. (1989). Detection of IgE antibodies to Bovine Respiratory Syncytial virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **20**, 313-323.

Stewart RS, Gershwin LJ (1990). Systemic and secretory antibody to sequential bovine respiratory syncytial virus infections in vaccinated and nonvaccinated calves. *Am. J. Vet Res*, **51(10)**, 1596-1602.

Stott AJ, Taylor G (1985). Respiratory Syncytial Virus. A Review. *Archives of Virology*, **84**: 1-52.

Taylor G., Rijsewijk F.A.M., Thomas L.H., Wyld S.G., Gaddum R.M., Cook R.S., Morrison W.I., Hensen E., van Oirschot J.T., Keil G. (1998). Resistance to bovine respiratory syncytial virus (BRSV) induced in calves by a recombinant bovine herpesvirus-1 expressing the attachment glycoprotein of BRSV, *J. Gen. Virol.* **79**, 1759–1767.

Taylor G., Thomas L.H., Furze J.M., Cook R.S., Wyld S.G., Lerch R., Hardy R., Wertz G.W. (1997). 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, *J. Gen. Virol.* **78**, 3195–3206.

Teng M.N., Collins P.L. (1999). Altered growth characteristics of recombinant respiratory syncytial viruses which do not produce NS2 protein, *J. Virol.* **73**, 466–473

Teng M.N., Whitehead S.S., Collins P.L. (2001). Contribution of the respiratory syncytial virus G glycoprotein and its secreted and membrane-bound forms to virus replication in vitro and in vivo, *Virology* **289**, 283–296.

Teng MN, Collins PL (1998). Identification of the respiratory syncytial virus proteins required for formation and passage of helperdependent infectious particles, *Journal of General Virology*, **72**:5707-5716.

Trigo FJ, Breeze RG, Liggitt HD, Evermann JF, Trigo E (1984b). Interaction of bovine respiratory syncytial virus and *Pasteurella haemolytica* in the ovine lung. *Am J. Vet. Res.*, **45**(8), 1671-1678.

Tripp RA. (2004). Pathogenesis of respiratory syncytial virus infection. *Viral Immunology*, **17**, 165-181.

Trudel M, Nadon F, Simard C, Belanger F, Alain R, Seguin C, Lussier G (1989). Compression of Caprine, Human and Bovine Strains of Respiratory Syncytial Virus. *Archives of Virology*, **107**, 141-149.

Ulloa L, Serra R, Asenjo A, Villanueva N. (1998). Interactions between cellular actin and human respiratory syncytial virus (HRSV). *Virus Research*, **53**, 13-25.

Valarcher J.-F, Schelcher F, Bourhy H, (2000). Evolution of bovine respiratory syncytial virus, *J. Virol.* **74**:10714–10728.

Valarcher JF, Taylor G. (2007). Bovine respiratory syncytial virus infection. *Veterinary Research*, **38**, 153-180.

Van der Poel WHM, Kramps JA, Middel WGJ, Van Oirschot JT, Brand A (1993). Dynamics of bovine respiratory syncytial virus: a longitudinal epidemiological study in dairy herds. *Arch Virol.*, **133**, 309-321.

Verhoeff J, Van Nieuwstadt APKMI (1984b). Prevention of Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection and clinical disease by vaccination. *Vet. Rec.*, **115**, 488-492.

Viuff B, Tjørnehoj K, Larsen LE, Røntved CM, Uttenthal A, Rønsholt L, Alexandersen S. (2002). Replication and clearance of respiratory syncytial virus: apoptosis is an important pathway of virus clearance after experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. *Am J Pathol.* **161**, 2195-2207.

Viuff B Uttenthal A Tegtmeier C Alexandersen S. (1996). Sites of replication of bovine respiratory syncytial virus in naturally infected calves as determined by in situ hybridization. *Vet Pathol.* **33**, 383-390.

Walravens K, Didembourg C, Ketmann R, Collard A, Coppe P, Leterson J, Burny A (1991). Cloning and Expression of the Fusion Protein of the BRSV in Baculovirus Vector. The Pathogenesis of Viral Diseases Molecular, Virological and Immunological Aspects, II.Congress of the European Society For Veterinary Virology.

Waner JL, Whitehurst NJ, Todd SJ, Shalaby H, Wall L (1990). Comparison of directigen RSV with viral isolation and direct immunofluorescence for the identification of Respiratory Syncytial Virus. *J.Clin.Microbiol*, **28(3)**, 480-483.

Waris M, Meurman O, Mufson MA, Ruuskanen O, Halonen P (1992). Shedding of infectious virus and virus antigen during acute infection with respiratory syncytial virus. *J. Med. Virol*, **38**, 111-116.

Weber E., Humbert B., Streckert H.-J., Werchau H. (1995). Nonstructural protein 2 (NS2) of respiratory syncytial virus (RSV) detected by an antipeptide serum, *Respiration* **62**, 27–33.

Wellemans G. (1990a). Bovine Respiratory Syncytial Virus. Dinter Z, Morein B (Edt). . Elsevier Science Publishers B.V. In: Virus Infections of Ruminants; 377–378.

Westenbrink F., Kimman TG., Brinkhof JMA. (1989). Analysis of the Antibody Response to Bovine Respiratory Syncytial Virus Proteins in Calves. *J. Gen. Virol.*, **70**, 591-601.

Woldemeskel M, Kebede E, Yigezu L, Potgieter LN. (2000). Prevalance of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and bovine herpesvirus-4 (BHV-4) in cattle from Ethiopia. *Dtsch Tierarztl. Wochenschr.* **107**, 464-466.

Yavru S., Şimsek A., Yapkiç O., Kale M. (2005). Serological evaluation of viral infections in bovine respiratory tract. *Acta Veterinaria (Beograd)*, **55(2-3)**, 219-226.

Yeşilbağ K., Güngör B. (2008). Seroprevalence of bovine respiratory viruses in North-Western Turkey. *Trop Anim Health Prod.* **40(1)**, 55-60.

Yılmaz G, Uzel N, Işık N, Uğur S, Aslan S, Badur S (2000). Akut alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda viral etkenler ve respiratory syncytial virus alt grupları. *İnfeksiyon Dergisi*, **14(2)**, 157-164.

Yunus AS, Collins PL, Samal SK. (1998). 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*, **79**:2231-2238.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Arif KARAOTCU
Doğum Yeri ve Yılı : Tavas/1987
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Telefon No : 0505 613 79 16
Elektronik Posta : arif.karaotcu@gmail.com.tr
İletişim Adresi : Tavas İlçe Tarım ve Orman
Müdürlüğü Tavas/DENİZLİ



Eğitim Durumu (Kurum ve Yılı):

Lisans: Anklara Üniversitesi Veteriner Fakültesi 2006-2012

Yüksek Lisans: Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Viroloji Anabilim Dalı 2016-2019

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1. Harp Akademileri Komutanlığı (Gıda Kontrol ve Hijyen Denetim Subayı) 2012-2013
2. Ardanuç İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü (Veteriner Hekim) 2013-2014
3. Serinhisar İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü (Veteriner Hekim) 2014-2018
4. Tavas İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü (Veteriner Hekim) 2018-.....

