

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

**MALATYA BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN
SIĞIRLARDAN PARAINFLUENZAVİRUS TİP-3
ENFEKSİYONU ÜZERİNDE
SEROEPİDEMİYOLOJİK ARAŞTIRMA**

T 58869

DOKTORA TEZİ

Araş. Gör. Aykut ÖZDARENELİ

F. Ü. VETERİNER FAKÜLTESİ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet KANDİL

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON BİRLİĞİ

ELAZIĞ - 1997

İÇİNDEKİLER

I.ÖNSÖZ	1
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Parainfluenzavirus tip 3 (PI-3)	1
1.1.1. Epizootioloji.....	3
1.1.2. Patogenez ve Patoloji.....	4
1.1.3. Klinik Belirtiler.....	5
1.1.4. Tanı	6
1.1.5. Immunité.....	6
1.1.6. Savaşım.....	7
2. MATERYAL VE METOT	9
2.1. Parainfluenzavirus Tip 3 (PI-3).....	9
2.2. Hücre Kültürü.....	9
2.3. Vasatlar ve Çözeltiler.....	9
2.4. Serum Numuneleri.....	10
2.5. Kobay Eritrositleri.....	10
2.6. Virus Üretilmesi ve Titrasyon	10
2.7. Hemaglutinasyon Testi.....	11
2.8. Hemaglutinasyon İnhibisyon Testi.....	12
2.9. Hemadsorpsiyon Testi.....	12
2.10. Nötralizasyon Hemadsorpsiyon Testi.....	13

3.BULGULAR.....	14
3.1. Virusun Titresi.....	14
3.2. Virusun Hemaglutinasyon (HA) Titresi.....	15
3.3. Hemaglutinasyon İnhibisyon (HI) Testi Sonuçları.....	16
3.4. Hemadsorpsiyon (H) Testi Sonuçları.....	19
3.5. Nötralizasyon Hemadsorpsiyon (NH) Testi Sonuçları.....	20
4. TARTIŞMA.....	21
5.KAYNAKLAR.. ..	24
6.ÖZET	36
7.SUMMARY.....	37
8. ÖZGEÇMİŞ.....	38
9.TEŞEKKÜR.....	39

TABLO, RESİMLER VE GRAFİKLER

Tablo 1: Sonbahar ve ilkbahar Dönemlerine Göre Pozitif Serumların Dağılımı	16
Resim 1: Hücre Kontrolü	14
Resim 2 : PI-3 Enfeksiyonundan 42 Saat Sonra CPE Görünümü.....	12
Resim 3: Hemaglutinasyon Görünümü.....	15
Resim 4: Hemaglutinasyon-Inhibisyon Görünümü.....	16
Resim 5: Hücre Kontrolü.....	19
Resim 6: Hemadsorpsiyon Görünümü.....	19
Resim 7: Hücre Kontrolü.....	20
Resim 8: Nötralizasyon Hemadsorpsiyon Görünümü.....	20
Grafik 1: Sonbaharda Reziprokal HI Antikor Titrelerinin Dağılımı.....	17
Grafik 2: İlkbaharda Reziprokal HI Antikor Titrelerinin Dağılımı.....	18
Grafik 3: Sonbahar ve İlkbaharda Reziprokal HI-Antikor Titrelerinin Karşılaştırılması.....	18

KISALTMALAR

PI-3	: Parainfluenzavirus-tip 3
IBR	: Infeksiyöz Bovine Rhinotracheitis
BRSV	: Bovine Respiratory Syncytial Virus
SF-4	: Shipping Fever-4
DKID50	: Doku Kültürü Infektif Doz % 50
CPE	: Cytopathic Effect
SN	: Serum Nötralizasyon
CF	: Complement Fixation
IFA	: Immunofluorescence Antibody
ELISA	: Enzym- Linked Immunosorbent Assay
HA	: Hemaglutinasyon
HI	: Hemaglutinasyon İnhibisyon
H	: Hemadsorpsiyon
NH	: Nötralizasyon Hemadsorpsiyon
IFN	: Interferon
IgA	: Immunoglobulin A
IgG	: Immunoglobulin G
DNA	: Deoksiribonükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
Log	: Logaritma
kDa	: Kilo Dalton
EBK	: Et Balık Kurumu
FCS	: Fötal Dana Serum
DMEM	: Dulbecco's Minimal Essential Medium
KB	: İnsan Oral Epidermoid Karsinoma
HeLA	: İnsan Cervix Epiteloid Karsinoma
MDBK	: Sığır Orjinli Devamlı Hücre Hattı
P	: Pasteurella
dv/dk	: Devir / Dakika

ÖNSÖZ

Sığır yetiştiriciliğinin hayvansal gıda maddeleri ve deri üretimi ve bir alternatif istihdam alanı olarak teşvik edildiği Doğu Anadolu Bölgesinde genellikle hayvan yetiştiriciliği bilimsel verilerden daha çok görgülere dayanılarak yapılmaktadır. Oysaki sağlıklı hayvan yetiştiriciliği söz konusu olduğunda, coğrafik bölgenin, iklimin, barınaklardaki hijyenik ortamın ve yönetim uygulamalarının canlı ile hastalık etkenleri arasındaki ilişkilerde etkin rol oynadıkları önemle belirtilmektedir. Özellikle kış aylarında barınaklarda hayvan yoğunluğunun fazla olmasının ve barınağın yetersiz havalandırılmasının ısı ve rutubet artmasına sebep olduğu ve bu koşulların doğrudan temas veya damlacık enfeksiyonları olasılığını yükselttiği vurgulanmaktadır. Bu nedenle uygun olmayan çevre koşullarının ve yönetim hatalarının hayvanları enfeksiyon hastalıklarına karşı duyarlı (predispose) hale getirdikleri uyarısı devamlı yapılmaktadır (9,12,17,28,68).

Parainfluenza tip 3 (PI-3) virusu, bovine respiratory syncytial virus (BRSV), infectious bovine rhinotracheitis virusu (IBRV) ve rhinovirus gibi virusların solunum sisteminde sebep oldukları enfeksiyonların hastalığa dönüşmesinde stress faktörleri olarak isimlendirilen iklim, barınak hijyeni, barınak değişimi, yem değişimi, taşınma ve diğer faktörlerin önemli etkilere sahip oldukları saptanmıştır (9,28,43,46,68). Bu nedenle faktörlere bağlı hastalıklar "faktör hastalıkları" olarak isimlendirilmiştir (68). Parainfluenza tip 3 virusu sığırlarda ve küçük baş hayvanlarda solunum sisteminde sekonder bakteriyel invazyon oluşumu için ortam hazırlayıcısı olarak görülmektedir (9,24,43).

Solunum sisteminde enfeksiyonlara sebep olan viruslar arasında yer alan PI-3 virusu ilk defa sığırlardan izole edilmiştir (56,67). Parainfluenza tip 3 virusu üst solunum sistemi mukoz hücrelerinde, alveolar makrofajlarda, nötrofillerde ve lenfositlerde tahribata sebep olmaktadır. Bu tahribata bağlı olarak makrofajların immünite ve fagositoz yeteneği, nötrofillerin bakteri öldürücü fonksiyonu engellenmek suretiyle akciğerlerin doğal savunma mekanizmaları etkisiz hale getirilmektedir. Böyle bir ortamda üst solunum

sisteminde fakültatif patojen olarak bulunan *Pasteurella hemolytica* ve diğer bakteriler aktif hale geçmekte ve çoğalarak alt solunum sistemine erişmektedir. Zira bu aşamada bakteriler fagositozdan, antikorların etkilerinden ve nötrofillerin öldürücü fonksiyonundan kurtulmaktadırlar. Oluşan sekonder bakteriyel enfeksiyonların katılımı ile viral pneumoni tedavi edilmediği takdirde ölümle sonuçlanan enzootik pneumoniye dönüşmektedir. Pneumoniler ölüm, vücut ağırlığı kaybına, verimde azalmaya, geç pazarlamaya ve tedavi giderlerine sebep olarak hayvancılıkta önemli ekonomik kayıpların nedeni olarak görülmektedirler.

Dünyada yaygın olduğu bilinen PI-3 virus enfeksiyonu Türkiye'nin batı ve iç bölgelerinde de saptanmıştır. Bu nedenle Malatya bölgesinde uygulanan yetiştirme koşullarında birbirini izleyen sonbahar ve ilkbahar dönemlerinde sığırlarda PI-3 virus enfeksiyonunu ve buna yetiştirme koşullarının etkilerini belirlemek bu araştırmanın amacı olmuştur.

1. GENEL BİLGİLER

İnsan ve sıcak kanlı hayvanların solunum sisteminde enfeksiyonlara veya solunum sistemi hastalıklarına sebep olan viruslardan bazılarının yer aldıkları paramyxoviridae ailesi üç genusu kapsamaktadır. Bunlar Paramyxovirus, Morbillivirus ve Pneumovirus olarak isimlendirilmektedirler.

Paramyxoviruslar insan, memeli hayvanlar ve kanatlıların solunum sisteminde enfeksiyonları veya hastalıkları oluşturmaktadırlar. Ayrıca bu virusların memeli ve kanatlı hayvanların eritrositlerini aglutine etme ve nöraminidaz aktivitelerinede sahip oldukları bulunmuştur(28,29,51,68).

1.1. Parainfluenzavirus Tip 3 (PI-3)

Parainfluenzavirus tip 3 paramyxovirus genusunda bulunmaktadır. Parainfluenzavirus virionu küresel veya iplik şeklinde bir morfolojik görünümde, zarlı ve 150-300 nm lik bir büyüklüğe sahiptir. Genetik materyali 15-16 kb büyüklükte, negatif polariteli ve tek iplikli bir molekül ribonükleik asitten (RNA) ibarettir. Genom molekül ağırlığı 6×10^6 dır. Viral nükleokapsid 18 nm çapında bir heliksidir. Parainfluenzavirus tip 3 genomunun 6 veya daha fazla genden oluştuğu saptanmıştır. Bu genlerin 6 veya daha çok yapısal proteinleri ve birden fazla yapısal olmayan proteinleri kodladığı belirlenmiştir (28,29,51). Kimi araştırmada ise 6 yapısal proteinin ve çoğu zarlı viruslarda da bulunan bir hücresel aktin proteininin varlığı açıklanmıştır (62).Parainfluenzavirus tip 3 genomu tarafından kodlanan proteinlerden yedisinin virus spesifik oldukları bildirilmiştir. Bunlardan beş tanesinin virionda karakteristik rol oynadıkları belirlenmiştir (28,51).

Bu proteinler L (200 kDa), NP (60 kDa), P (60 kDa), M (34 kDa), F (65 kDa) ve HN (80 kDa) olarak isimlendirilmişlerdir. Bunlardan L (polimeraz proteinini) ve P (fosfoprotein) proteinleri RNA genomun çoğalması ve kopye edilmesinde, NP (nükleoprotein) proteininin genomun korunmasında, M (matrix proteinini) proteininin virion korunun stabilitesinin sağlanmasında bir işleve sahip oldukları vurgulanmıştır. Parainfluenzavirus tip 3 tek iplikli ve negatif polariteli RNA genom taşıdığından virus çoğalması için enzim

aktivitesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle virus çoğalmasında L,P,NP, M ve F proteinleri büyük önem taşımaktadırlar (28,51).

Paramyxovirusun diğer bir özelliğide hücre yüzeylerinde fusyona sebep olmasıdır. Bu olgu F (fusyon proteini) proteini ile gerçekleşmektedir. Başlangıçta inaktif formda yapılmış olan F proteininin hücresel tripsin benzeri proteazlarla F₁ ve F₂'ye parçalandıktan sonra biyolojik etkinlik kazandığı kanıtlanmıştır. Bu nedenle PI-3 virus enfektivitesinin F proteininin hücresel enzimlerle proteolitik parçalanmasına bağlı olduğu bildirilmiştir. Bu durum proteazlardan yoksun olan hücrelerde oluşan virionların enfeksiyöz olmadıklarının saptanmasıyla doğrulanmıştır. Bu bağlamda paramyxovirusların hücreleri enfekte etme yeteneği, virusların enfeksiyon mekanizmalarının bir ifadesi olarak görülmüştür. Diğer bir ifadeyle enfeksiyon mekanizmasının hücresel membranla viral zarın fusyonuna bağlı olduğu gözlenmiştir. Bu aktivitenin hücre yüzeyi ile paramyxovirus arasında nötral pH ortamında ve nöraminidaz katılımı ile gerçekleştiği belirlenmiştir (28,47,51). Diğer taraftan F proteininin hücreler arasında fusyonla virionların doğrudan hücre içi yayılmasında ve koruyucu bağışıklığın oluşumunda etkin olduğu bildirilmiştir (28,29,51).

Lipid bakımından zengin olan viral zarda HN (hemagglutinin-nöraminidaz) glikoproteinleri bulunmuştur. Bunlardan H glikoproteini virionların hücresel reseptörlere tutunmasında (adsorpsion) ve induktif bağışıklığın oluşumunda ve N glikoproteininin yeni nesil virionların hücreleri terketmesinde ve syncytianın meydana gelmesinde görev yaptıkları saptanmıştır (8,28,42,47,51).

Sığırlardan ve koyunlardan izole edilmiş olan PI-3 viruslarının antijenik özellikleri bakımından özdeş, buna karşın sığır ve insan PI-3 viruslarının antijenite yönünden farklı oldukları kanıtlanmıştır. Yapılan araştırmalarda insan ve sığır PI-3 viruslarının sadece bir müşterek epitopa sahip oldukları belirlenmiştir (2,17,48,64).

Parainfluenzavirus tip 3'ün eter ve kloroform gibi lipid eritici maddelere karşı duyarlı olduğu tesbit edilmiştir (5,68,80).

Geniş bir konakçı spektrumuna sahip olan PI-3 virusları dana, domuz, at ve tavşan böbreğinden hazırlanan primer hücre kültürlerinde, HeLa, KB ve MDBK gibi devamlı hücre hatlarında ve embriyolu tavuk yumurtasında üretilebilmiştir (10,72,80).

1.1.1. Epizootioloji

Parainfluenzavirus tip 3 enfekte hayvanların burun akıntısı ile saçılır. Danaların deneysel enfeksiyonlarında, enfeksiyondan 2-6 gün sonrasına dek mukozalardan virus saçıldığı gözlenmiştir (79). Hayvandan hayvana taşınma aerosol enfeksiyon şeklinde veya doğrudan temasla olmaktadır. Burun akıntısı ile virus saçtığı belirlenen klinik belirtili hayvanlardan doğal koşullarda enfeksiyonun danalara taşındığı ve 5-10 gün sonra danalarda klinik semptomların oluştuğu görülmüştür (9,39). Klinik gizli enfekte danaların burun salgısından virus üretilenmiştir. Bu nedenle bir sürüde gizli enfekte genç ve ergin sığırların buzağılar için bir enfeksiyon kaynağı oldukları kabul edilmiştir (1,9,68).

Parainfluenza tip 3 virusları ilk defa sığırlardan (36,56,67), insandan (1), koyunlardan (41) ve atlardan (22) izole edilmiştir. Bu tarihleri izleyen yıllarda buzağılardan, danalardan ve mandalardan PI-3 virus izolasyonu yapılmıştır (3,34,38,58,78).

Serolojik olarak PI-3 virus enfeksiyonunun varlığı sığırlarda, koyunlarda, keçilerde, köpeklerde, atlarda ve insanlarda tesbit edilmiştir (4,14,19,24,25,32,43,46,59,70,73,79,82,).

Parainfluenza tip 3 virus enfeksiyonunun dünyada sığır popülasyonlarında yaygın olduğu serolojik araştırma sonuçlarıyla kanıtlanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde (33), İngiltere'de(21), Kanada'da (23), Avusturya 'da (20), Tunus'da (35), Şili'de (66), İtalya'da (53), Suriye'de (75), Fas'ta (54), Meksika'da (74), Kore'de (18), Fransa'da (63), Polonya'da (69), İsviçre'de(50) ve Türkiye'de (14,25,60) kontrol edilen sığır popülasyonlarında farklı oranlarda PI-3 virusuna karşı seropozitif hayvanların bulunduğu bildirilmiştir.

1.1.2. Patogenez ve Patoloji

Tipik PI-3 virus enfeksiyonu vakalarında lezyonlar solunum sisteminde sınırlanmıştır. Akciğerler çoğu kere tüm göğüs boşluğunu doldurmuştur. İnterstitiel pneumoni akciğerlerin ön loplarda gözlenmiştir (68). Viral pneumoni subklinik, hafif, şiddetli ve öldürücü olabilmektedir. Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) enfeksiyonunda şiddetli ve PI-3 virus enfeksiyonunda hafif olarak görülmüştür. Bronchial silialı ve mukoz hücreleri, bronchiolar silialı ve siliasız hücreleri kapsayan solunum sistemi epitel hücrelerinde virusun çoğaldığı ve cythopathic effect (CPE) oluşturduğu tesbit edilmiştir (9,15,17,28,68).

Deneyssel olarak burun içi ve trachea içi PI-3 virusu verilen 4 aylık buzağılarda inokulasyondan 6-8 gün sonrasına dek burun salgısından virus izole edilebilmiştir (34). Kolostrum verilmemiş buzağılara burun içi yolla PI-3 virusu verildiğinde, doğal koşullarda oluşan pneumonide saptananlara benzer makro ve histolojik lezyonlu pneumoni gözlenmiştir (9).

Histolojik olarak bronchitis, bronchiolitıs ve bronchiolar lumende hücresel eksudat ve alveolar hücrelerde hiperplasiye rastlanmıştır. Bronchiolar ve alveolar eksudatlarda fibroblast ve mononükleer hücreler bulunmuştur. Bronchlarda, bronchiollerde, alveolar makrofajlarda ve alveollerde syncytia oluşumu tesbit edilmiştir. Stoplazma içi inkluzyon cisimcikleri hastalığın erken dönemlerinde alveolar ve bronchiolar epitel hücrelerinde saptanmıştır (7). Deneyssel PI-3 virus enfeksiyonlarında ise inkluzyon cisimcikleri enfeksiyondan 7 gün sonrasına dek kanıtlanabilmiştir (9).

Parainfluenzavirus tip 3 tek başına veya diğer viruslarla (IBRV, BRSV) birlikte oluşturduğu enfeksiyonlarda virus veya viruslar alveolar makrofajlarda, silialı epitel hücrelerde ve nötrofillerde tahribat yaparak akciğerlerin doğal savunma mekanizmalarını etkisiz hale getirmektedir. Böylece PI-3 virus enfeksiyonu tek başına ve / veya diğer viral enfeksiyonlarla birlikte solunum sisteminde pneumoni oluşturarak hayvanları sekonder bakteriyel invazyona duyarlı (predispose) yapmaktadır (9,12,13,28,52,57,73).

Sağlıklı hayvanların solunum sistemi sakinleri olarak *Pasteurella* nevileri normal koşullarda özellikle bademcik çıkıntılarında (tonsillar cryte) olmak üzere üst solunum sisteminde bulunurlar (30). Ayrıca stress faktörlerinin etkilerinden veya viral enfeksiyonlardan sonra alt solunum sisteminin patojen etkenlerden korunmasına yardımcı olan silialı epitel hücrelerinin tahrip edilmesi ve epitel hücrelerin yıkımı sonucu serbest kalan demirde bakteriyel invasyona katkıda bulunmaktadır. Bu suretle *Pasteurella hemolytica* (*P. hemolytica*) ve diğer bakteriler gibi fakültatif patojen etkenlerin akciğerlere invasyonu gerçekleşmekte ve bakteriyel bronchopneumoni meydana gelmektedir. Solunum sisteminde çoğalan bakteriyel mikrokoloniler fagositozdan, antikorların etkilerinden ve antibiotiklerin tesirlerinden kurtularak alt solunum sistemine yayılmaktadırlar (9,12,28,30,57).

Sonbahar ve kış mevsimlerinde sığırlarda pneumoni vakalarının arttığı gözlenmiştir. Bu mevsimlerde hayvanlar kapalı barınaklarda tutulduğundan, yetersiz hijyen, hayvan yoğunluğu, taşınma, sert iklim ve yem değişiminin viral enfeksiyonları şiddetlendirdiği saptanmıştır. Hayvan yoğunluğunun temas ve damlacık enfeksiyon olasılığını yükselttiği belirlenmiştir. Özellikle kış aylarında barınak içi ısı kaybını önlemek için barınaklarda yeterli havalandırmanın yapılmaması ısı ve rutubetin artmasına sebep olmaktadır. Bu gibi stresslerin patofizyolojik etkileriyle artan solunum sistemi viral enfeksiyonlarının *P. hemolytica* nevilerine karşı hayvanların duyarlılığını arttırdığı gözlenmiştir. Solunum sistemi epitel hücre tahribatı ve solunum yollarında sıvı birikiminin etkileri solunum sistemi viral enfeksiyonlarını izleyen bakteri çoğalmasını teşvik eden en önemli faktör olarak görülmüştür. Bu nedenle hastalığa karşı duyarlılığın oluşumunda stress faktörleri ve yönetim uygulamalarının önemi vurgulanmıştır (12,28,29,30,68).

1.1.3. Klinik Belirtiler

Tüm viral pneumonilerde klinik belirtiler benzer bulunmuştur. Parainfluenza tip 3 virus enfeksiyonlarının 3-4 günlük bir seyirden sonra tam bir iyileşme ile sonuçlandığı gözlenmiştir. Doğal ve deneysel PI-3 virus

enfeksiyonlarında klinik belirti olarak : Vücut ısısı yükselmesi, burun ve göz akıntıları, kalp ve akciğer bozuklukları ve öksürme gibi belirtilere rastlanmıştır. Sekunder bakteriyel enfeksiyonların katılımı sonucu oluşan bronchopneumoni de yukarıda belirtilenler dışında solunum güçlüğü ve depresyon saptanmıştır. Deneysel PI-3 virus enfeksiyonlarında klinik belirtiler enfeksiyondan sonra 2-5.ci günlerde görülmüş ve 10 gün devam etmiştir (9,17,28,34,68).

1.1.4. Tanı

Parainfluenza tip 3 virus enfeksiyonu çoğu kere klinik belirtilere dayanılarak saptandığından kesin bir tanı ancak virus izolasyonu veya serolojik testlerle gerçekleştirilmiştir.

Hastalığın akut döneminde alınan akciğer dokularından veya burun salgısından PI-3 virusu sıgır kökenli hücre kültürleri yardımıyla izole edilebilmiştir. Akciğer dokularından uzun bir süre içinde virus izole edilebildiğinden, virus izolasyonu için ekseriya klinik materyel olarak akciğer dokuları tercih edilmiştir. Enfeksiyondan 8 gün sonrasına dek burun salgısından da virus izolasyonu yapılmıştır (15,17,26,34,38,58,68). Parainfluenza tip 3 virus enfeksiyonunun teşhisinde: Hemaglutinasyon İnhibisyon (21,26,40,49,55,61,66,70,76) serum nötralizasyon (14,20,35,54,55), IFA ve ELİZA (23,27,63) ve nötralizasyon-hemadsorpsiyon (75) gibi serolojik yöntemlerden yararlanılmıştır.

1.1.5. İmmunité

Parainfluenza tip 3 virusu ile enfeksiyondan sonra nötralize edici, hemaglutinasyonu önleyici ve komplementi tutucu antikorların oluştuğu saptanmıştır.

Deneysel enfeksiyondan yaklaşık 7 gün sonra kan serumunda ve burun salgısında nötralize edici antikorlar bulunmuş ve bunların titresi 2-3 haftalık bir zaman içinde en yüksek düzeye erişmiştir. Nötralize edici antikor bir yılı aşkın bir sürede az titre kaybıyla tesbit edilebilmiştir. Burun mukozası hücrelerinde üretilen nötralize edici antikorlar IgA antikorları

olarak tanımlanmıştır. Yüksek dozda virusla enfeksiyondan sonra IgA ve IgG antikorların oluşumunun paralel seyrettiği belirtilmiştir. Enfeksiyona karşı korunmada salgısal IgA antikorların etkin oldukları vurgulanmıştır (9,37,65,68).

Kolostrum ile alınan maternal antikorların 4-5 ay persiste olduğu belirlenmiş ve bu nedenle 4-5 aylık buzağılarda serum antikor düzeyinin bağışıklık durumu için bir ölçü olamayacağı bildirilmiştir (11). Enfeksiyona karşı korunmada hücresel bağışıklığın etkin olmasına karşın humoral bağışıklığın hastalık oluşumunun önlenmesine veya hastalık şiddetinin azalmasına katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür (37,44,68).

Hemaglutinasyonu önleyici antikorlar PI-3 virus enfeksiyonundan 3 gün sonra kan serumunda bulunmuş ve antikor titresi yaklaşık 2 hafta sonra en yüksek düzeye çıkmıştır. Serumdaki HI antikorların nötralize edici antikorlar gibi davrandığı ve bu nedenle de PI-3 virusuna karşı humoral bağışıklığın belirleyicisi olarak HI antikor titresi saptanmıştır (68).

Parainfluenza tip 3 virus enfeksiyonundan 1 hafta sonra kan serumunda tesbit edilebilen komplementi tutucu antikorların 2-3 ay sonra serumda bulunamadığı bildirilmiştir (68).

1.1.6. Savaşım

Parainfluenza tip 3 virusunun sebep olduğu enfeksiyon veya hastalıkla savaşımında:

a) Sekunder bakteriyel enfeksiyonlarla komplikasyonlarda antibiotik tedavisi öngörülmektedir.

b) Parainfluenza tip 3 virus enfeksiyonuna karşı koruyucu aşılamanın yapılması gerekmektedir. Bu amaçla bazı ülkelerde canlı ve inaktive edilmiş virusla hazırlanmış aşılardan uygulandığı bilinmektedir. Türkiye'de de bu konuda çalışmaların yapılması zorunlu hale gelmiştir.

c) Yetiştiriciliğin kapalı işletmelerde yapılması durumunda ; Barınak hijyeni, hayvan yoğunluğu, barınağın düzenli havalandırılması ve yeni satın alınan hayvanların sürüye katılmazdan önce kontrol edilmesi gibi konulara önem verilmesi gerekir. Havalandırma ile bir taraftan barınak içi ısı ve rutubet düzeyi

ayarılanırken diğ er taraftan da barınakta bulunan viral aerosollerin uzaklaştırılması sağlanmış olur.



2.0. MATERYAL VE METOT

2.1. Parainfluenzavirus Tip 3 (PI-3)

Araştırmada kullanılan PI-3 virusunun SF 4 referans suşu "Central Veterinary Laboratory, New Haw, Haddlestone, Surrey, GB" isim ve adreste bulunan araştırma merkezinden temin edildi. Virus titresinin $DKID_{50} = 10^{7,2} / 0,1 \text{ ml}$ olduğu bildirildi.

2.2. Hücre Kültürü

Gerek antijen olarak kullanılan virusun üretilmesinde ve gerekse hemadsorpsiyon (H) ve nötralizasyon-hemadsorpsiyon (NH) testlerinin uygulanmasında Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) hücrelerinden yararlanıldı. Bu hücreler Amerika'dan "American Type Culture Collection, Rocvillia, MD " ve Şap Enstitüsü'nden sağlandı.

2.3. Vasatlar ve Diğer Çözeltiler

2.3.1. Hücre Üretme Vasatı

Hücre üretilmesinde %90 Dulbecco's Minimal Essential Medium (DMEM, Seromed Cat.No. T 48105, Biochrom KG Berlin), %10 fötal dana serumu (FCS) ve antibiotiklerden oluşan bir vasat kullanıldı.

2.3.2. Virus Çoğalma Vasatı

Virus üretilmesi için fötal dana serumu içermeyen hücre üretme vasatından yararlanıldı.

2.3.3. Tripsin Versen Çözeltisi

Bu çözelti için % 0125 oranında tripsin versen fosfatla tamponlanmış tuzlu su (PBS) içinde çözdürüldü ve çözelti sterilize edilerek -20 °C'de muhafaza edildi.

2.3.4. Fosfatla Tamponlanmış Tuzlu Su (PBS)

PBS çözeltisi NaCl 8 gr, KCl 0.2 gr, KH_2PO_4 0.2 gr, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 2.3 gr, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1 gr, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.132 gr litre suda çözülerek hazırlandı ve çözelti sterilize edilerek 4°C'de tutuldu.

2.3.5.Fötal Dana Serumu (FCS)

Bu serum ticari olarak temin edildi (Serva, Feinbiochemical GmbH, Almanya).

2.4. Serum Numuneleri

Serum numuneleri Malatya il merkezi ve çevresinde yetiştirilen ve aynı il Et ve Balık Kurumunda (EBK) kesilen klinik olarak sağlıklı görümlü sığırlardan sonbahar (Ekim- Kasım, 1994) ve bunu izleyen ilkbahar (Nisan-Mayıs, 1995) dönemlerinde alındı. Her dönemde 500'er adet olmak üzere toplam 1000 serum hazırlanarak kullanılıncaya dek -20°C'de muhafaza edildi.

2.5. Kobay Eritrositleri

Hemaglutinasyon, hemaglutinasyon-inhibisyon, hemadsorpsiyon ve nötralizasyon-hemadsorpsiyon testlerinin uygulanmasında kobay eritrositlerinden yararlanıldı.Bu amaçla kobay kalbinden 1:1 oranında Alsever çözeltisine (Dextrose 20.5 gr, Na citrat 8.0 gr, Sirke asidi 0.55 gr, NaCl 4.2 gr / lt.) alınan kan 1500 dv/dk da 10 dakika santrifüje edildi. Eritrosit sedimenti 3 defa PBS ile yıkandıktan sonra aynı çözeltiyle %1'lik eirtrosit süspansiyonu hazırlandı ve 4°C'de bekletildi. Genellikle HA, HI, H ve NH testlerinin uygulanmasında yeni hazırlanmış eritrosit süspansiyonu tercih edildi.

2.6. Virus Üretilmesi ve Titrasyonu

Madin Darby Bovine Kidney hücreleri 75 ml'lik özel şişelerde monolayer haline geldikten sonra hücre çoğalma vasatları uzaklaştırıldı ve her şişeye 10^3 sulandırılmış virustan 1 ml verildi. Hücre kültürü 37°C'de

60 dakika virus adsorpsiyonu için bekletildikten sonra kültürlere virus çoğalma vasatı bırakıldı. Monolayerde CPE oluşuncaya dek 37  C'de tutuldu. Yaklaşık olarak 48-72 saat sonra tüm monolayerde yıkım olmadan vasatlar alındı ve 4 C'de 3000 dv/dk da 30 dakika santrifüje edildi. Üst kısım alınarak sterilite kontrolü yapıldı ve 0.5 ml miktarlarında sıvı azot tankında korundu.

Virus titrasyonu Frey ve Liess'e (31) göre yapıldı. Bunun için Pl-3 virusunun DMEM ile log 10 tabanına göre 10^{-1} 'den 10^{-8} 'e dek sulandırmaları yapıldı. Her sulandırma basamağında mikrotitrasyon pleytinin 4 gözden her birine 0.1 ml bırakıldı. Virus kontrolü için 4 gözden her birine 0.05 ml DMEM ve 0.05 ml sulandırılmamı  virus ilave edidi. Hücre kontrolü için 4 gözden her birine 0.1 ml %5 FCS içeren DMEM vasatı ilave kondu. Virus sulandırma basamakları, virus kontrolü ve hücre kontrol gözlerinden her birine 0.05 ml hücre (2.5×10^5 / ml) ilave edildi. Mikrotitrasyon pleyti üzeri toksik olmayan bir şeffaf bantla kaplandıktan sonra 37 C'de tutuldu. Hücre kültürü her gün mikroskopla kontrol edildi ve CPE oluşumuna dayanılarak virusun DKID₅₀ titresi Kaerber metoduna (45) göre belirlendi.

2.7. Hemaglutinasyon Testi (HA)

Bu test Mayr ve ark. (55) ve Burleson ve ark. (16) tarafından belirlenen mikrohemaglutinasyon testi ilkelerine göre yapıldı. Testin uygulanmasında 96 gözlü ve U tabanlı mikrotitrasyon pleytlerinden yararlanılarak birinci gözden 12.ci göze kadar her göze 0.025 ml PBS (pH 7.2) bırakıldı. Sonra 1.ci göze 0.025 ml virus ilave edildi ve dikkatlice karıştırıldı. Bu gözden ba layarak her defasında 0.025 ml aktarmak suretiyle log 2 tabanına göre 2^{-1} den 2^{-11} dek virus sulandırmaları hazırlandı. Her göze 0.025 ml PBS bırakıldıktan sonra tüm gözlere 0.05 ml %1'lik kobay eritrositleri ilave edildi. Dikkatlice karıştırıldıktan sonra pleytler oda ısısında (20-22 C) 60 dakika bekletildi. Hemaglutinasyon titresi olarak eritrositlerin tamamen aglutine olduğu sulandırma basamağı kabul edildi.

2.8. Hemaglutinasyon İnhibisyon Testi (HI)

Bu testin uygulanmasında da Mayr ve ark. (55) tarafından belirlenen mikrottest ilkelerine uyuldu. Hemaglutinasyon inhibisyon testi uygulamasında kimi araştırmalarda serum numunelerinin 56°C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra, kimi araştırmada ise inaktive edilmeden PI-3 virusuna karşı spesifik HI antikorlarının varlığı bakımından kontrol edildiği görüldü (43,46). Mayr ve ark. (55) parainfluenza tip 1-4 viruslarına karşı sadece insan ve tavşan serumlarında nonspesifik inhibitörlerin bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmamızda bu konuya açıklık getirmek için 60 serum numunesinde her serumdan bir kısmı 56 °C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra ve diğer kısmı inaktive edilmeden aynı koşullarda HI testinde kontrol edildi. Aynı serumların inaktive edilmiş olanı ile inaktive edilmemiş olanının HI antikor titreleri arasında bir fark görülmeydi. Bu nedenle araştırmamızda tüm serum numuneleri inaktive edilmeden HI testiyle kontrol edildi.

Tüm serum numuneleri önce PBS ile 1:8 sulandırıldı. Yukarıdan aşağı doğru olmak üzere U tabanlı mikrotitrasyon pleytinin ilk gözüne her serum numunesinin 1:8 sulandırmasından 0.05 ml diğer 7 gözden her birine 0.025 ml PBS (pH 7.2) bırakıldı. İlk gözden 0.025 ml alınarak log 2 tabanına göre serumların 1:1024 kadar sulandırmaları yapıldı. Her sulandırma basamağına 4 HA birimli virustan 0.025 ml ilave edildikten sonra dikkatlice karıştırıldı ve 37 °C'de 60 dakika tutuldu. Bu süre sonunda her göze %1'lik eritrosit süspansiyonundan 0.05 ml verildi ve sonra pleytler oda ısısında (20-22°C) 60 dakika bekletildi. Eritrosit kontrolünde tam çökme olduğunda değerlendirme yapıldı. Virus aktivitesi 4 HA birimli virus kontrolünde izlendi. Hemaglutinasyon inhibisyon (HI) antikor titresi olarak eritrositlerin tam çöktüğü sulandırma basamağı kabul edildi.

2.9. Hemadsorpsiyon (H) Testi

Düz tabanlı mikrotitrasyon pleytinde MDBK hücreleri monolayer haline geldikten sonra hücre çoğalma vasatı uzaklaştırıldı. Her göze 100

DKID₅₀ = 10^{4.45}/0.05 ml içeren virustan 0.05 ml bırakıldı. Virus adsorpsiyonu için kültürler 60 dakika 37°C'de tutulduktan sonra gözlere 0.1 ml virus çoğalma vasatı ilave edildi ve kültürler 37°C'de bekletildi. Adsorpsiyon süresini izleyen 8-12-16 ve 20.ci saatlerde virus çoğalma vasatı alındı ve gözlere %0.5'lik kobay eritrosit süspansiyonundan 0.05 ml miktarlarda verildi ve kültürler 37°C'de 10 dakika tutuldu. Bu süre sonunda eritrosit süspansiyonu dikkatlice alındı ve monolayer adsorbe olmamış eritrositlerin uzaklaştırılması için PBS ile yıkandı. Değerlendirme mikroskop yardımıyla hücre yüzeyine eritrositlerin tutunup tutunmadığına bakılarak yapıldı (6,16,55,77).

2.10. Nötralizasyon Hemadsorpsiyon (NH) Testi

Bu test Tabbaa'ya (75) göre yapıldı. Hemaglutinasyon inhibisyon testinde negatif, 1:8 ve 1:16 aktiviteli serum numunelerinin her birinden 25 tane alındı ve bu serumlar 56 °C'de 30 dakika inaktive edildi. Serumların 1:4 sulandırmaları yapıldı. Serumların 1:4 sulandırmaları 1:1 oranında 100 DKID₅₀ = 10^{4.45}/ 0.05 ml içeren virusla karıştırıldı ve karışım 37°C'de 60 dakika tutuldu. Mikrotitrasyon pleytinde hücre çoğalma vasatı alınmış olan gözlere bu virus serum karışımından 0.05 ml verildi. Virus adsorpsiyonu için kültürler 37°C'de 60 dakika bekletildi. Bu süre sonunda gözlere 0.1 ml miktarlarda virus çoğalma vasatı ilave edildi ve 37°C'de tutulan pleytlere hemadsorpsiyon testinde belirlenen 16-20.ci saatlerde gözlere %0.5'lik kobay eritrosit süspansiyonundan 0.5ml verildi. Sonra kültürler 37°C'de 10 dakika bekletildi. Değerlendirme hemadsorpsiyon oluşumuna göre yapıldı (71,81).

3.BULGULAR

3.1. Virusun Titresi

MDBK hücre kültürü kullanılarak yapılan titrasyonda virusun enfeksiyözitesi CPE oluşumuna dayanılarak yapıldı (Resim 1-2). Virusun enfeksiyözite gücü $DKID_{50} = 10^{6.75} / 0.1$ ml olarak bulundu.

Resim 1: Hücre Kontrolü (x40)



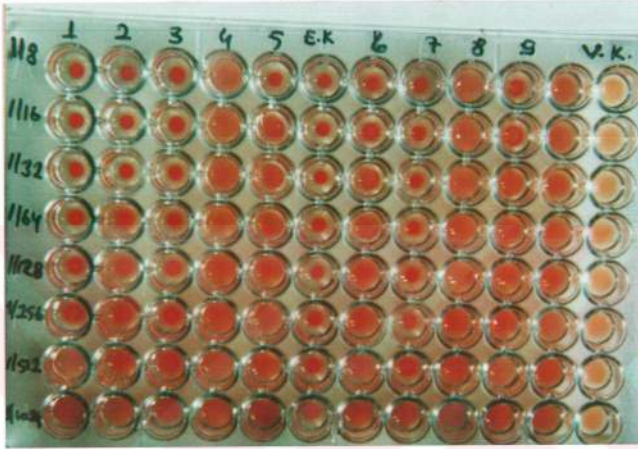
Resim 2: PI-3 Enfeksiyonundan 42 Saat Sonra CPE Görünümü (x400)



4.3. Hemaglutinasyon İnhibisyon (HI) Testi Sonuçları

Serum numuneleri HI- antikor varlığı bakımından mikrohemaaglutinasyon inhibisyon testiyle kontrol edildiler (Resim 4).

Resim 4 : Hemaglutinasyon İnhibisyon Görünümü



E.K. : Eritrosit Kontrol, V.K. : Virus Kontrol

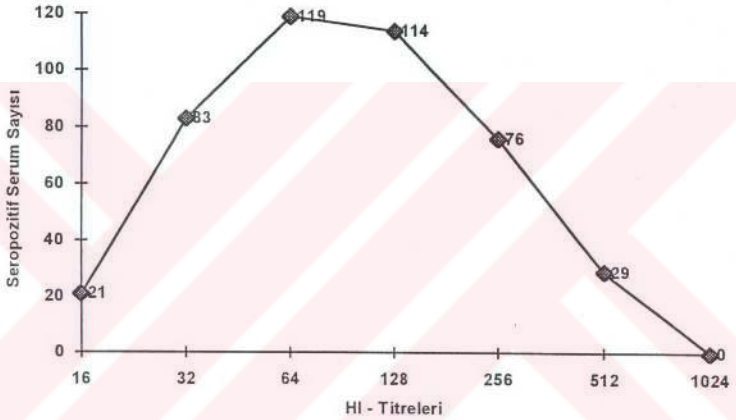
Bu test sonuçlarına göre Malatya bölgesinde yetiştirilen sığırlarından alınan 1000 serum numunesinin 897'sinde (%89.7) PI-3 virusuna karşı HI antikorlarının varlığına rastlandı. değerlendirmede 1: 16 ve daha yüksek HI-antikor titreleri pozitif olarak kabul edildi. PI-3 virusuna karşı pozitif bulunan serumların alınış zamanına göre dağılımları Tablo 1'de gösterildi.

Tablo 1: Sonbahar ve İlkbahar Dönemlerine Göre Pozitif Serumların Dağılımı

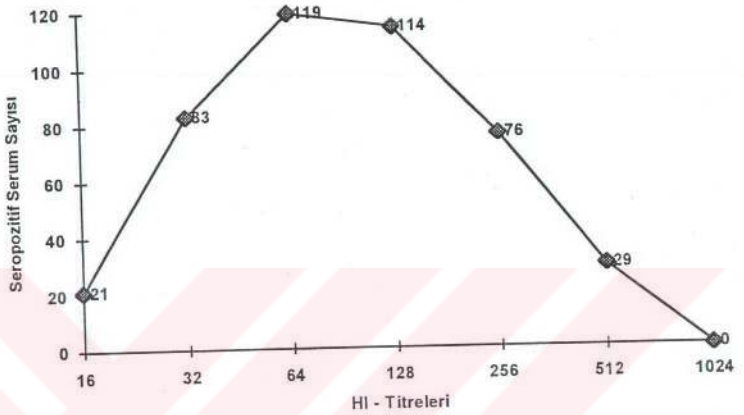
Dönem	Kontrol edilen serum sayısı	Pozitif serum sayısı	%
Sonbahar 1994	500	442	88.4
İlkbahar 1995	500	455	91.0

Pozitif serum numunelerinde reziprokal HI-antikor titreleri 8-1024 arasında bulundu. Reziprokal HI-antikor titreleri bakımından 1:16 ve daha yüksek titreli serumların sonbahar ve ilkbahar dönemlerine göre dağılımları grafik 1 ve 2'de verildi.

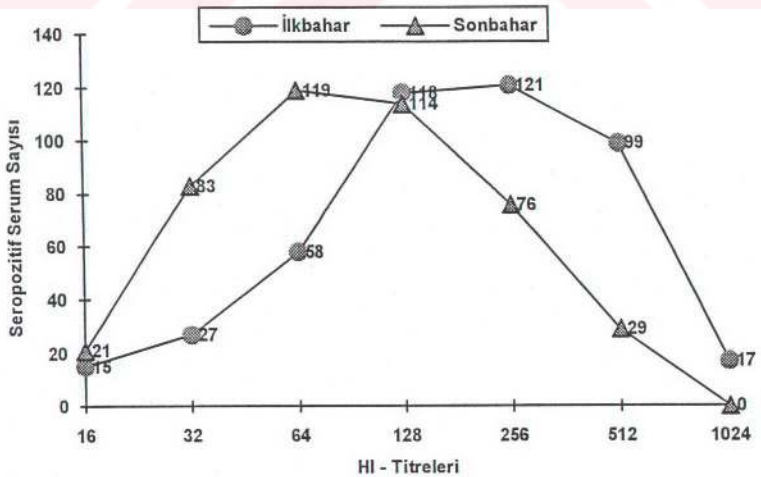
Grafik 1: Sonbaharda reziprokal HI antikor titrelerinin dağılımı



Grafik 2 : İlkbaharda reziprokal HI-antikor titrelerinin dağılımı



Grafik 3: Sonbahar ve ilkbaharda reziprokal HI-antikor titrelerinin karşılaştırılması

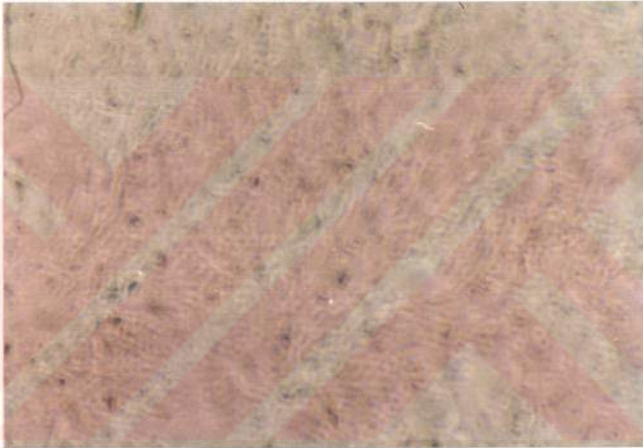


Grafik 3'de görülebileceği gibi ilkbahar döneminde 1: 128 ve daha yüksek HI-antikor titreli serum sayısının sonbahar döneminden daha fazla olduğu dikkati çekmektedir. Her iki dönemde seropozitif serumlar sayısal olarak karşılaştırıldığında, ilkbahar dönemi lehine %2.6'lık bir fark bulunmaktadır.

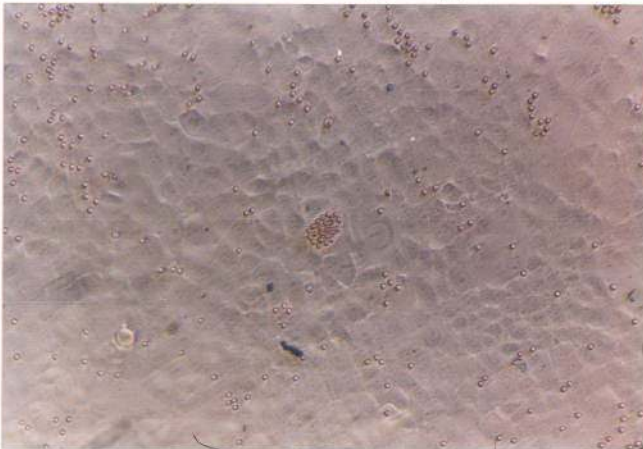
4.4. Hemadsorpsiyon (H) Sonuçları

100 DKID₅₀ = $10^{4.45}$ / 0.05 ml virus inokule edilen MDBK hücre monolayerinde enfeksiyondan sonra 8-20.ci saatlerde hemadsorpsiyon gözlemlendi (Resim 5-6).

Resim 5: Kontrol Hücre (x100)



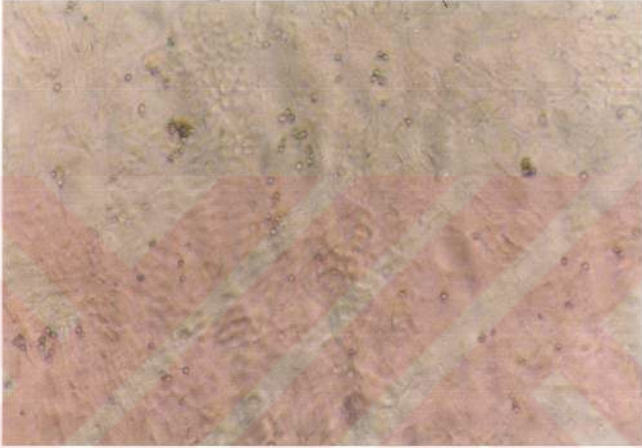
Resim 6: Hemadsorpsiyon Görünümü (x100), p.i. 16 saat



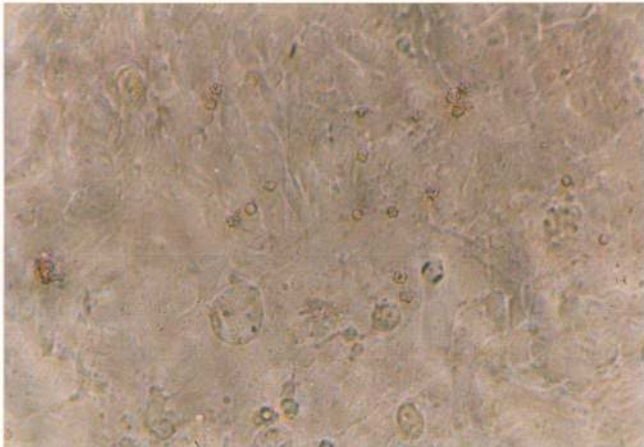
4.5. Nötralizasyon Hemadsorpsiyon (NH) Testi Sonuçları

HI testi ile negatif, 1:8 ve 1:16 HI-antikor titrelerine sahip serumlardan sadece 1:16 HI-titreli serumların hemadsorpsiyonu önledikleri görüldü (Resim 7-8).

Resim 7: Hücre Kontrolü (x100)



Resim 8:Nötralizasyon Hemadsorpsiyon Görünümü (x200),p.i. 16 saat



5.TARTIŞMA

Genellikle hayvancılığın bilimsel verilerden daha çok görgülere dayanılarak yapıldığı Doğu Anadolu Bölgesinde kış aylarında pneumoni vakaları sıkça görülmektedir. Buna sebep olarak bir taraftan bu mevsimde hayvanların yoğun olarak kapalı barınaklarda tutulmaları, barınaklarda yeterli düzeyde havalandırmanın yapılmaması ve diğer stress faktörleriyle solunum sistemi viral enfeksiyonlarının birlikte etkileri gösterilebilir. Bu nedenle Malatya ili merkez ve çevresinde yetiştirilen sığırlarda PI-3 virus enfeksiyonunun ve yetiştirme koşullarının etkilerini araştırmak amacıyla sonbahar 1994'de 500 ve ilkbahar 1995'de 500 olmak üzere toplam 1000 sığır serumu PI-3 virusuna karşı HI-antikorların varlığı yönünden kontrol edildi. Bulgularımız PI-3 virus enfeksiyonunun bulunduğu işaret etmektedir.

Araştırma sonuçlarımız sığır sürülerinde aynı konuda yapılmış olan yurtdışı ve yurtiçi serolojik araştırma sonuçlarıyla karşılaştırıldığında; Amerika Birleşik Devletleri'nde %91.9-95'inde (33), İngiltere'de 1500 sığır serumunun %95'inde ve 2000 sığır serumunun %83.6'sında (21) Kanada'da 1745 sığır serumundan %93.9'unda (23), Avusturya'da 770 sığırdan %69.3'ünde (20), Tunus'ta kontrol edilen sığırların %35.9'unda (35), Şili'de 474 sığırdan %72,8'inde (66), İtalya'da 550 sığırdan %63'ünde (53) Suriye'de 172 sığır serumundan %12.2'sinde (75), Fas'ta kontrol edilen sığırların %68'inde (54), Meksika'da 1271 sığırdan %69.3'ünde (74), Kore'de %85'sinde (18), Fransa'da 1578 sığırdan % 85,3'ünde (63) , Polonya'da 43 sığırdan % 97 'sinde (69), İsviçre'de 123 sığır serumundan %84'ünde (50) PI-3 virusuna karşı HI ve / veya nötralize edici antikorlar bulunmuştur.

Yurtiçinde gerçekleştirilen araştırmalarda: Bursa bölgesinde yapılan bir serolojik araştırmada 338 dana serumundan %94,3'ünde (14) ve aynı bölgede diğer bir araştırmada kontrol edilen hayvanlarda %96 oranında (25) ve Konya

bölgesinde yetiştirilen 116 sığır serumunun % 49,5'inde PI-3 virusuna karşı antikorlar bulunmuştur (60).

Araştırmamızda sonbaharda %88.4 ve ilkbaharda %91 olarak bulunan bu değerler kimi ülkelerde belirlenen değerlerle uyum sağlamakta, kimi ülkelerde elde edilen araştırma sonuçlarından çok yüksek görülmektedir. Bulgularımız diğer yurtiçi sonuçlarıyla birlikte değerlendirildiğinde, PI-3 virus enfeksiyonunun Türkiye'de yaygın olduğu ifade edilebilir.

Numune alım zamanları arasında yaklaşık 6 aylık bir zaman olmasına rağmen seropozitif serum sayısında ilkbahar dönemi lehine %2.6'lık bir farkın varlığı dikkati çekmektedir. Diğer taraftan sonbaharda 1:128 - 1:1024 HI-antikor titresine sahip 219 seruma karşılık ilkbahar döneminde aynı HI titreli serum sayısının 355 olduğu görülmektedir. Parainfluenza tip 3 virus enfeksiyonlarında, enfeksiyondan 2-3 hafta sonra HI ve nötralize edici antikorların en yüksek düzeye eriştiği ve 8-12 aylık bir süre içinde yavaş yavaş kaybolduğu dikkate alındığında, ilkbahar döneminde 1:128 - 1:1024 HI-titreli serum sayısının çokluğu kısa bir süre önce bir reenfeksiyonunun gerçekleşmiş olduğunu göstermektedir. Bu olgunun meydana gelmesine yetiştirme koşullarının ve yönetim uygulamalarının katkıda bulunduğu ileri sürülebilir.

Hemadsorpsiyon ve nötralizasyon hemadsorpsiyon testlerinin PI-3 virus enfeksiyonuna ilişkin olarak virus çoğalması ve spesifik antikor tesbitinde uygulanabileceği saptandı. Ayrıca nötralizasyon hemadsorpsiyon yöntemi ile HI testinde 1:16 HI-antikor titresinin pozitif olarak kabul edilmesi doğrulandı.

Elazığ ve Malatya'da kış aylarındaki çevre koşullarının PI-3 virus enfeksiyonunun oluşumunda ve yayılmasında etkin olduğu koyunlarda ve keçilerde belirlenmiştir. Bu araştırmada sonbahar ve ilkbaharda saptanan PI-3 virus enfeksiyon oranları arasındaki fark keçilerde %16 koyunlarda %7,6 olarak bulunmuştur (46). Araştırmamızda sonbahar ve ilkbahar dönemlerinde belirlenen enfeksiyon oranları arasındaki fark ise %2,6

olarak tesbit edilmiştir. Bu bulgular bize yöredeki yetiştirme koşullarından sığırların daha az etkilendiğini ifade etmektedir.

Sığır solunum sistemi hastalıkları viruslar, bakteriyel etkenler ve stress faktörlerinin birlikte etkileri sonucu oluştuğundan, bu gibi hastalıklara karşı korunmada özellikle viral enfeksiyonlara ve stress faktörlerine yönelik bir korunma programına öncelik verilmelidir. Parainfluenza tip 3 virus enfeksiyonuna karşı bazı ülkelerde canlı veya inaktif viral aşılar geliştirilmiştir. Türkiye'de de böyle bir aşının geliştirilmesi ve uygulanması PI-3 virus enfeksiyonuna karşı korunmada önemli bir katkı sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

1. Abinanti, F.R. Byrne, R.J. Watson, R.L. Poelma, L. J. Lucas, F.R. and Huebner, J.K. (1960). Observation of Infections of Cattle with Myxovirus Parainfluenza -3 . Am. J. Hyg. 71, 52-58.
2. Abinanti, F.R. Chanock, R.M. Cook, M.K. Wong, D. and Warfield, M. (1961). Relationship of Human and Bovine Strains of Myxovirus Parainfluenza 3. Proc. Soc. Exp. Biol. 106, 466-469.
3. Abraham, A. and Alexander, R. (1986). Isolation of Parainfluenza-3 Virus from Bull's Semen. Veterinary-Record. 119(20), 502.
4. Ackermann, U. (1975). Seroepizootologische Untersuchungen Über das Vorkommen von Reo-, Adeno-, Herpes-, Parainfluenza- und Influenzaviren beim Hund Inaug. Dis., Tierarztl. Fak. der Ludwig Maximilians-Universität, München.
5. Behrens, H. (1987). Lehrbuch der Schafkrankheiten. 3. Aufl. s. 7-26, Verlag Paul Parey. Berlin, Hamburg.
6. Bergman, H. and Liberman, H. (1967). Isolierung und Charakterisierung Boviner Parainfluenza-3- Viren in der DDR. Arch. exp. veterinarmed. Bd. 21, H.6. 1486-1497.
7. Betts, A.O. Jennings, A.R. Omar, A.R. Page, Z.E. Sperce, J.B. and Walker, G.R. (1964). Pneumonia in Calves Caused by Parainfluenzavirus Type-3. Vet. Rec. 76, 382-384

8. Beverly, H.R. Yang, Y. and Mark, G.S. (1994). Paramyxovirus Mediated Cell Fusion Requires Co-expression of both the Fusion and Hemagglutinine-Neurominidase Glycoproteins. *Virus Research* 31, 1-16.
9. Blood, C.D. Radostits, M.O. Arundel, H.J. and Gay, C.C. (1990). *Veterinary Medicine A Text Book of Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. 7th. Ed.s. 891-897, Bailliere Tindal, London, Tokyo.
10. Bögel, K. (1961). Virologische Untersuchungsbefunde bei Kälber mit respiratorischem Syndrom unter besonderer Berücksichtigung der Parainfluenza 3 virus isolation. 11. Teil-M.h. *Tierheilk.* 13, 162-174.
11. Bögel, K. and Liebelt, J. (1963). Beziehung Zwischen Maternalen Antikörpern und Impferfolg nach der Vaccinierung des Kalbes mit Parainfluenza-3 Lebendimpfstoff. *Zbl. Abt. 1. Orig.* 191, 133-138.
12. Bradford, P.S. (1990). *Large Animal Internal Medicine. Disease of Cattle, Horses, Sheep and Goats*. s. 573-574. The C.V. Mosby Company. Baltimore Toronto, Philadelphia.
13. Briggs, R.E. Kehrl, M. and Frank, G.H. (1988). Effects of Infections with Parainfluenzavirus-3 and Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus Neutrophil Function in Calves. *American-Journal-of -Veterinary-Research*. 49(5), 682-686.
14. Burgu, İ. Öztürk, F. Akça, Y. Toker, A. (1984). Karacabey Harasındaki Sığırlarda Parainfluenza-3 Virusunun Neden Olduğu Viral Pnömoni Olayı. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 31(2): 180-185.
15. Burgu, İ and Akça, Y. (1987). First Isolation of IBR Virus in Turkey. *Tropical-Animal-Health-and-Production*. 19(1), 56.

16. Burleson, F.G. Chambers, T.M. and Wiedbrouk, D.L. (1992). Virology A Laboratory Manual s. 86-97 ve 130-134. Academic Press. San Diego. USA.
17. Castro, E.A. Heuschele, P.W. (1992). Veterinary Diagnostic Virology. s. 114-116. Mosby Yearbook, London, Boston, Sydney.
18. Choi, W.P. Izowa, H. Onuma, M. Kodoma, H. Mihami, T. and Ohnuma, T. (1982). Preliminary Survey for Antibodies Against Five Bovine Viruses in Cattle in Korea. Japanese-Journal-of- Veterinary-Reserch. 31(4), 108-111.
19. Çokdoğan, R. (1989). Türkiye'de Koyunlarda Parainfluenza-3 (PI-3) Enfeksiyonu Üzerinde Seroepidemiolojik Çalışmalar. Doktora Tezi A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
20. Coulibaly, S. (1990). Serological Studies on the Occurrence of Antibodies Against Viral Pathogens in Cattle in Austria. Wiener-Tierarztliche-Monatsschrift. 77(7), 245.
21. Dawson, P.S. and Darbyshire, J.H. (1964). The Occurrence and Distribution in the United Kingdom of Antibodies to Parainfluenza-3 and Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus in Bovine Sera. Vet. Rec. 76, 111-115.
22. Ditchfield, J. Zibitnew, A. and Macpherson, W.L. (1963). Association of Myxovirus Parainfluenza 3 (RE 55) with Upper Respiratory Infection of Horses. Cand. Vet. J. 4, 175-180.

23. Durham, P.J.K. and Hassard, L.E. (1990). Prevalance of Antibodies to Bovine Rhinotrachetis, Bovine Virus Diarrhea, Bovine Respiratory Syncytial and Parainfluenza -3. Canadian - Veterinary-Journal.31(12), 815-820.
24. Elazhary, M. Silim, A. and Deo, S.(1984). Prevalance of Antibodies to Bovine Respiratory Syncytial Virus, Bovine Viral Diarrhea Virus, Bovine Herpes Virus 1 and Bovine Parainfluenza 3 Virus in Sheep and Goats in Quebec. American -Journal -of- Veterinary-Reserch. 45(8), 1660-1662.
25. Erhan,M. Onar, B. Tanzer,F. Csantos,L. ve ark. (1973).Koyun, Sığır ve Atların Virusu ve Bedsonya Hastalıkları Üzerine Serolojik Çalışmalar. Pendik Vet. Kont. ve Araş. Ens. Dergisi. 4,51-58.
26. Erhan,M. Onar, B. ve Tanzer, F. (1973). Parainfluenza-3 Virusunun Koyun ve Sığırlardan İzolasyonu ve Bu Virusa Karşı Aynı Hayvanların Kan Serumlarında HI Testi ile Antikor Aranması.Pendik Vet. Kont. ve Araş. Ens. Dergisi.6,67-76.
27. Fedova, D. Novotny, J. and Kubinova, I. (1992). Serological Diagnosis of Parainfluenzavirus Infections: Verification of Sensitivity and Specificity of the Hemagglutination-Inhibition (HI), Complement-Fixation(CF), Immunofluorescence (IFA) Tests and Enzym Immunoassay (ELISA). Acta- Virol.36(3),304-312.
28. Fenner,J.F. Gibbs, J.P.E. Murphy, A.F. Rott,R. Studdert, C.M. and White, O.D. (1993). Veterinary Virology. 2th Ed.s. 471-478. Acad. Press. Inc. New York, Boston and London.

29. Fields, N.B. and Roizman, B. (1991). Fundemental Virology. 2th Ed.s. 21-22. Raven Pres. New York.
30. Frases, M.C. Bergeron, A.J. Mays, A. and Aiello, E.S. (1991). The Merck Veterinary Manual 7th Ed. MERCK and co., inc. Rahway, N.J., USA.s. 722.
31. Frey, H.R. and Liess, B. (1971). Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit einer Stark Zytopathogenen VD-MD-Virusstammes für Diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotitermethode. Zbl. Vet. Med. 18, 61-71.
32. Fulton, R.W. Downing, M.M. and Hagstad, H.V. (1982). Prevalance of Bovine Herpesvirus-1, Bovine Viral Diarrhea and Parainfluenza-3 Virus Bovine Adenoviruses-3 and 7 and Goat Respiratory Syncytial Viral Antibodies in Goats. American-Journal-of -Veterinary-Research. 43(8), 1454-1457.
33. Fulton, R.W. and Seger, C.L. (1982). Infectious Bovine Rhinotracheitis, Bovine Viral Diarrhea and Parainfluenza-3 viral Antibodies in Louisiane Cattle. Bovine-Practitioner. 17, 63-65.
34. Ghram, A. Reddy, P.G. Marill, J.L. Blecha, F. and Minocha, H.C. (1989). Bovine Herpes Virus 1 and Parainfluenza-3 Virus Interactions: Clinical and Immunological Response in Calves. Canadian-Journal-of -Veterinary-Reserch. 53(1), 62-67.
35. Ghram, A. and Minocha, H.C. (1990). Neutralizing Antibodies to Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) and Bovine Parainfluenza (PI-3) viruses in cattle in Tunisia. Archives-de-1' Institut- Pasteur-de-Tunis. 67, 25-31.
36. Gillespie, J. (1955). Shipping Fever of Cattle. Aduanc. Vet. Sci. 7. 225-271.

37. Glynn, H.F. and Ronald, G.M. (1971). Relationship of Serum and Nasal Secretion-Neutralizing Antibodies in Protection of Calves Against Parainfluenza-3 Virus. *Am. J. Vet. Res.* 32(11),1707-1712.
38. Hamblin, C. Hedger, R.S. and Condi, J.B. (1980). The Isolation of Parainfluenza-3 Virus from Free-Living African Buffalo. *Veterinary-Record.* 107(1), 1-18.
39. Heddleston, K.L. Reisinger, R.C. and Dinter, Z. (1962). Studies on the Transmission and Etiology of Bovine Shipping Fever. *Amer. J. Vet. Res.* 23, 548-553.
40. Hird, D. Perez, E. Caballero, M. Rodriguez, L. and Velazquez, J. (1990). Identification of Selected Diseases Agents from Calves on Costa Rican Tropical Cloud-Forest Dairy Farms. *Preventive-veterinary-Medicine.* 9(3), 221-231.
41. Hore, D.E. (1966). Isolation of Ovine Strains of Parainfluenza virus Serologically Related to Type 3. *Br. Vet. J.* 125, 311-316.
42. Horvath, C.M. Paterson, R.G. Shaughnessy, M.A. Wood, R. and Lamb, R.A. (1992). Biological Activity of Paramyxovirus Fusion Proteins: Factors Influencing Formation of Syncytia. *Journal of Virology.* 4564-4569.
43. Hönger, D. Reiterer, C.S. Kölbl, S. and Schuller, W. (1989). Serologische Untersuchungen auf Antikörper gegen virale Infektionskrankheiten bei Schafen in Österreich-Parainfluenza 3-, Respiratory Syncytial -und Border Disease-Virusinfektion. *Wien. Tierärztl. Wschr.* 76, 210-214.

44. Hussain,A. and Mohanty, S.B. (1984). Antibody and Complement-Mediated Cytotoxicity for Bovine Parainfluenza-3 Virus- Infected Cells. American-Journal-of -Veterinary-Research. 45(6), 1219-1221.
45. Kaerber,G (1931).Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reinhenversuche. Arch.Exp.Pathol. Pharmakol. 162,480-483.
46. Kandil, M. Metin,N. ve Gülcü, B.H. (1996). Elazığ ve Malatya İllerinde Koyunlarda ve Keçilerde Parainfluenzavirus Tip-3'e Karşı Hemaglutinasyonu Önleyici Antikorlar Üzerinde Serolojik Araştırma.VHAG-Proje No:1038 (Yayınlanmadı).
47. Kingsbury, W.D. (1991). Paramyxoviridae and Their Replication. In Fundemental Virology, Second Ed. Edited by B.N. Fields, D.M. Knep et al.s.507-521. Raven Press. New York.
48. Klipmark, E. Rydbeck, R. Shibuto,H. and Norrby, E. (1990). Antigenic Variation of Human and Bovine Parainfluenzavirus Type 3 Strains.Journal -of-General-Virology.71(7).1577-1580.
49. Kramer,L.L. Sweat,R.L. and Yong, G.A. (1963). Epizootiology of Bovine Myxovirus Parainfluenza-3 (SF 4) in Nebraska Cattle as Determined by Antibody Titres. J.Amer. Vet.Ass. 142,375-378.
50. Lauchli,C. Kocherhans,R. and Wyler,R. (1990). Multiple Viral Infections of the Respiratory Tract of Cattle During the Winter of 1986-87 Wiener-Tierarztliche-Monatsschrift 77(4),109-110, 112-116.
51. Levy,A.J. Fraenkel-Conrat,H. and Owens, A.R. (1994). Virology 3th ed. s. 85-89, Prentile Hall Inc. Englewood, Cliffs New Jersey.

52. Liggitt,D. Huston, L. Silflow,R. Everman,J. and Trigo,E.(1985). Impaired Function of Bovine Alveolar Macrophages Infected with Parainfluenza-3 Virus. American-Journal-of -Veterinary-Reserch.46(8),1740-1744.
53. Maglione, E. Accone, I. Maglione, D. Nebbia, P. and Rosati, S. (1988). Prove comparative di inibizione dell' emoagglutinazione efissazione del complemento per la diagnosi della infezione da virus parainfluenzae 3 nei bovini. Annali-dellei -Facolta-di-Medicina-Veterinaria-Torina 33, 53-64.
54. Mahin, L. Wellemans,G and Shimi, A. (1985). Prevalance of Antibodies to Bovine Herpes Virus -1(IBR-IPV), Bovine Virus Diarrhea, Bovine Respiratory Syncytial, Parainfluenza -3, Adeno A and Adeno B Viruses in Indigenous and Imported Morocon Cattle. Annales-de-Recherches-Veterinaires. 16(3), 279-283.
55. Mayr,A. Bechmann, A.P. Bibrack, B. and Witmann, G. (1977). Virologische Arbeitsmetshoden. Band II.s. 267-268. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
56. Mc Kercher, D.G. Saito, J.K. Woda,E.M. and Straub,O. (1958). Current Status of the Newer Virus Disease of Cattle. Proc. 62 th Ann. Meeting U.S Livestock Sanitary Assoc. 136-158.
57. Mims,A.C. (1991). The Pathogenesis of Infectious Disease.s. 219-220. Acad. Pres. New York, Boston, Tokyo.
58. Muzychin,S.I. and Letetskii,V.A. (1988). Isolation and Properties of Bovine Parainfluenzavirus Veterinarnaya-Nauka proizvods tuu. 26,3-7.
59. Öztürk, F. (1985). Konya Tarım İşletmesi Sığırlarında Parainfluenza Virus Tip 3 Enfeksiyonu Üzerinde Serolojik Araştırmalar. S.Ü. Vet.Fak. Derg.1, 1-5.

60. Öztürk, F. Toker, A. Yavru, S. ve Gökçay, Y. (1988). Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Sığırlarında Parainfluenza-3 (PI-3) Virusuna Karşı Nötralizan Antikor Dağılımları, Antikor Titreleri Üzerinde Araştırmalar. Veteriner-Fakültesi- Dergisi, - Selçuk Üniversitesi. 4(1), 183-188.
61. Öztürk, F. ve Duman, R. (1992). Sığırlarda PI-3 Virusuna Karşı Hemaglutinasyonu İnhibe eden Antikor Saptanması. Hayvancılık Araştırma Dergisi. 2(2), 24-27.
62. Panigrahi, P. Mohanty, S.Y. Waheshwari, R.K. and Friedman, R.M. (1987). Structural Proteins of Bovine Parainfluenza 3 virus. Vet. Microbiol. 13 (3), 205-210.
63. Penn, F. Espinasse, J. and Savay, M. (1990). Viroses respiratoires bovines, Donnees epidemiologiques 1984-1990 du Laboratoire NORDEN. Actualites-en-buiatrie, Paris. 90.195-199.
64. Ranjit, R. and Compans, W.R. (1986). Monoclonal Antibodies Reveal Extensive Antigenic Differences between the Hemagglutinine-Neurominidase Glycoproteins at Human and Bovine Parainfluenza-3 Virus. Virology 148, 232-236.
65. Ranold G.M. and Glynn, H.F. (1971). Relationship of Serum and Nasal Secretion-Neutralizing Antibodies in Protection of Calves Exposed to Parainfluenza-3 Virus. Am. J. Vet. Res. 32(11), 1699-1706.
66. Reinhardt, G. Polette, M. and Cano, M. (1980). Serological Survey of Parainfluenza-3 Virus in Cattle in the Chilean Province of Valdivia. Zentralblatt-fur-Veterinarmedizin. 27(2), 144-148.

67. Reisinger, R.C. Heddlestone, K.L. and Manthei, A.C. (1959). A Myxovirus (SF4) Associated with Shipping Fever of Cattle. J. Amer. Vet. Med. Ass. 135, 147-152.
68. Rolle, M. and Mayr, A. (1978). Microbiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 4. Aufl. s. 3, 456-467, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
69. Rulka, J. (1990). Diagnostyka zakazen wirusem parainfluenzy btdla przy uzyciu odczynu immunodyfuzji (ID). Medycyna Weterynaryjna. 46(4), 88-89.
70. Sandow, D and Schmidt, J. (1967). Vorkommen haemagglutination-shemmender Antikörper gegen parainfluenzaviren bei verschiedener Tierpezies. Z. Med. Mikrobiol. und Immunol. 153, 233-249.
71. Schmidt, J.N. Lennette, H.E. and Hanahoe, F.M. (1966). A Micro Method for Performing Parainfluenza Virus Neutralization Tests Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 122, 1062-1066.
72. Sinha, S.K. and Abinanti, R.F. (1962). Shipping Fever of Cattle. Advanc. Vet. Sci. 7, 225-271.
73. St George, T.D. and Liefman, C.E. (1972). A Field Experiment to Assess the Role of Parainfluenza Type 3 Virus in Pneumonia in A Flock of Sheep in Victoria. Austr. J. Biol. Sci. 25, 318-328.
74. Suzan, M.V. and Aguilar, F. (1983). Estudio serologico de algunas infecciones virales del ganado bovine en Mexico. Revista-Latinoamericana-de-Microbiologia. 25(1), 57.

75. Tabbaa, D.V. (1988). Untersuchungen über die Bedeutung von Parainfluenza-3-und Leukose-Virusinfektionen der Rinder in Syrien. *Mh.Vet-Med.* 44,44-45.
76. Timoney, P.J. (1971). Recovery of Parainfluenza-3 Virus from Acute Respiratory Infection in Calves. *Irish.Vet.J.* 25,121-124.
77. Toth, T.E. and Jankura, D. (1990). Analysis of Bovine Parainfluenza Virus Replication in Bovine Embryonic Lung Cells by Indirect Fluorescent Antibody and Hemadsorption Assay. *Journal-of-Virological Methods.* 27(1),113-119.
78. Ulbrich, F. (1991). Nachweis von Antikörpern gegen IBR, IPV-, VD/MD- und PI3-Virus bei Vietnamesischen Wasserbüffeln (*Bubalus bubalis*). *Monatshefte-für-Veterinarmedizin.* 46(10),374-375.
79. Woods, G.T. Sibinović, K. and Marguis, G. (1965). Experimental Exposure of Calves, Lambs and Colostrum-Deprived Pigs to Bovine Myxovirus Parainfluenza -3. *Amer. J.Vet.Res.* 26,52-56.
80. Woods, G.T. (1968). The Natural History of Bovine Myxovirus Parainfluenza 3. *Amer. J. Vet. Med. Ass.* 132, 771-777.
81. Wulff, H. Soeken, J. Poland, D.J. and Chin YDT. (1967). A New Micro-Neutralization Test for Antibody determination and Typing of Parainfluenza and Influenza Viruses. *Proc.Soc.Exp.Med.* 125, 1045-1049.
82. Zmudzinski, J. Baczynski, Z. and Skulmowska-Kryszkowska, D. (1980). Serological Examination of Horses for the Presence of Antibodies Against Pneumotropic Viruses. *Bulletin-of-the-Veterinary-Institute-in-Pulawy.* 24:1/4,49-51.

ÖZET

Hemaglutinasyon inhibisyon (HI) testi kullanılarak sığır serum numuneleri Parainfluenza tip-3 (PI-3) virusuna karşı antikor varlığı bakımından kontrol edildi. Serum numuneleri sonbahar 1994 ve onu izleyen ilkbaharda Malatya'da klinik olarak sağlıklı sığırlardan alındı. Kontrol edilen 1000 sığır serumlarından 897'sinde (%89,7) PI-3 virusuna karşı reziprokal antikor titreleri 1:16'dan 1:1024'e kadar değişti. İlkbaharda sığırlarda tesbit edilen seropozitiflerin oranı sonbahardakilerden yüksek bulundu.



SUMMARY

Serological Survey for Hemagglutination-Inhibition Antibodies to Parainfluenzavirus Type 3 (PI-3) in Cattle in Malatya and its Vicinity.

Cattle serum samples were examined for the antibodies against parainfluenzavirus type 3 virus using the hemagglutination-inhibition (HI) test. These sera were collected in autumn 1994 and in its following spring from clinically healthy cattle in Malatya. Antibodies to PI-3 virus were detected in 897 of 1000 cattle sera (%89,7). Reciprocal antibody titres to PI-3 virus in cattle ranged from 1:16 to 1:1024. It was found that the proportion of seropositive sera determined in cattle in spring was higher than those in autumn.

T.C. VETERİNERER GENEL MÜDÜRLÜĞÜ
DOKÜMANLARI BÖLÜMÜ

ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında Ankara'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Konya'nın Çumra ilçesinde, lise öğrenimimi Malatya'da tamamladım. 1986 yılında F.Ü. Veteriner Fakültesine girdim ve 1991'de mezun oldum. 1992 yılında Samsun'da askerlik görevimi yaptım. Şubat 1993 tarihinde F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsünün açmış olduğu doktora programında Viroloji Anabilim Dalını kazandım. Halen aynı Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.



TEŞEKKÜR

Sayın Prof. Dr. Mehmet Kandil'e bu doktora konusunun verilmesi ve çalışmanın tamamlanmasındaki büyük katkıları için teşekkürü bir borç bilirim.

Her zaman değerli yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr. Yusuf Bolat ve Doç. Dr. M.Ziya Doymaz'a şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasındaki katkılarından dolayı mesai arkadaşım Arş.Gör. Hakan Bulut'a teşekkür ederim.



T.C. YÜKSEK ÖĞRETİM KURULU
BİLİM VE TEKNOLOJİ BAKANLIĞI