

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK VİROLOJİSİ ANA BİLİM DALI**



**ORTA KARADENİZ BÖLGESİ SIĞIR VE KOYUNLARINDA
SOLUNUM SİSTEMİ ENFEKSİYONLARINA NEDEN OLAN
VİRUSLERİN SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Ahmed Eisa ELHAG IBRAHİM

Danışman

Prof. Dr. Zafer YAZICI

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.VET.1904.21.038 proje numarası ile desteklenmiştir

SAMSUN
2023

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

07/ 02/ 2023

Ahmed Eisa ELHAG IBRAHIM

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : ORTA KARADENİZ BÖLGESİ SIĞIR VE KOYUNLARINDA SOLUNUM SİSTEMİ ENFEKSİYONLARINA NEDEN OLAN VİRUSLERİN SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 26/12/2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 9

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

07/ 02/ 2023

Prof. Dr. Zafer YAZICI

ÖZET

ORTA KARADENİZ BÖLGESİ SIĞIR VE KOYUNLARINDA SOLUNUM SİSTEMİ ENFEKSİYONLARINA NEDEN OLAN VİRUSLERİN SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Ahmed Eisa ELHAG IBRAHİM
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Veterinerlik Virolojisi Ana Bilim Dalı
Doktora, Şubat/2023
Danışman: Prof. Dr. Zafer YAZICI

Türkiye'de yıllardır Sığır Solunum Hastalıkları Kompleksi (BRDC/BRD) çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara neden olmuştur. Bu nedenle, bu kompleks içindeki viral etiyolojik patojenleri tanımlamak için birçok serolojik ve virolojik çalışma yapılmıştır. *Bovine Herpes Virus Tip 1* (BoHV-1), *Bovine Viral Diarrhea Virus* (BVDV), *Bovine Respirovirus Tip-3* (BPIV-3), *Bovine Respiratory Sinsityal Virus* (BRSV), *Bovine Adenovirus* (BAV) ve *Bovine Corona Virus* (BCoV) gibi virusların BRDC'nin ana etkenleri olduğu düşünülmektedir. Bu viruslarla ilgili yapılan araştırmaların çoğunda uluslararası referans suşlar kullanılmıştır.

Bu çalışmada BRDC etkeni olan üç önemli patojenin (BoHV-1, BRSV ve BPIV-3c) yerel suşları kullanılmıştır. Türkiye'nin kuzeyinde yakın zamanda BRDC enfeksiyonu sonucu ölen hayvanların akciğerlerinden alınan örnekler, izole edilerek moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Bu çalışmada, geçmişten günümüze Türkiye'nin Orta Karadeniz bölgesindeki serolojik varlığının araştırılması ve BRDC viruslarının durumu hakkında kapsamlı veri toplanmasını amaçladık. Bu amaçla, aynı bölgeden tarafımızca tespit edilen ve moleküler olarak karakterize edilen saha izolatları kullanılarak bu doktora çalışmasında 2018-2020 yılları arasında 1750 arşivlenmiş serum örneği (1000 Sığır ve 750 koyun) kullanıldı. Araştırmamızda izlenen serolojik yöntem olan 1750 serum numunesinin tamamına yapılan nötralizasyon testleri sonucunda 143 BRSV, 182 BoHV-1 ve 247 BPIV-3c antikör pozitif serum numunesi tespit edilmiş ve BRSV, BoHV-1 ve BPIV-3c için genel seropozitiflik oranı sırasıyla (%8.17), (%10.40) ve (%14.11) olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, Orta Karadeniz bölgemizde incelenen serum örneklerinde sığır ve koyunlarda en çok BPIV-3'e karşı immünyanıt saptanırken, tüm incelenen serum örneklerinde BRSV ve BoHV-1 patojenlerinin de farklı seviyelerdeki varlığı gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: BRDC, BoHV-1, BRSV, BPIV-3c, Sığır, koyun, Orta karadeniz, Seroprevalans

ABSTRACT

SEROLOGICAL INVESTIGATION OF VIRUSES THAT CAUSE RESPIRATORY TRACT INFECTIONS IN CATTLE AND SHEEP IN THE CENTRAL BLACK SEA REGION

Ahmed Eisa ELHAG IBRAHIM
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Veterinary Virology
Doctorate Thesis, February/2023
Supervisor: Prof. Dr. Zafer YAZICI

In Türkiye, for many years, the Bovine Respiratory Disease Complex (BRD/BRDC) caused significant losses in farm animals' economies, placing a heavy burden on the national livestock industry. Because of this, many serological and virological studies have been conducted to define the viral etiological pathogens within this complex. Viruses like *Bovine Herpes Virus Type 1* (BoHV-1), *Bovine Viral Diarrhea Virus* (BVDV), *Bovine Respirivirus Type-3* (BPIV-3), *Bovine Respiratory Syncytial Virus* (BRSV), *Bovine Adenovirus* (BAV) and *Bovine Corona Virus* (BCoV) were believed to be the main causative agents of BRDC. However, most of the previous surveys of these viruses had been undertaken using international reference strains; thus, for obtaining more accurate results, we sought to use local strains of the three essential pathogens (BoHV-1, BRSV, and BPIV-3c) that causing this complex, which were detected, isolated, and molecularly characterized from lung autopsy of animals that died as a result of the BRDC infection recently in Northern Türkiye.

In this study, we aimed to collect comprehensive data on the status of BRDC viruses and investigate their serological presence in Türkiye's central Black Sea region from the past to the present. To this end, 1750 archived serum samples (1000 cattle and 750 sheep) collected between the years 2018-2020 were employed for this doctoral project using field isolates detected and molecularly characterized from the same region by us. As a result of the neutralization tests, which was the followed serological method for our research to all 1750 serum tested samples, 143 BRSV, 182 BoHV-1, and 247 BPIV-3c antibody positive serum samples were detected, and the overall seropositivity rate for BRSV, BoHV-1, and BPIV-3c was assessed as (8.17%), (10.40%) and (14.11%), respectively. In conclusion, without regard to animal species, BPIV-3 was the most serologically detected local isolate in the cattle and sheep examined serum samples of our Central Black Sea region, while BRSV and BoHV-1 isolates were at certain levels of prevalence rates. Also, it has been determined that BPIV-3 infections have high seroprevalence values in different provinces of our country.

Keywords: BRDC, BoHV-1, BRSV, BPIV-3c, Cattle, Sheep, Central black sea, Seroprevalence

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Bilgi ve desteğiyle doktora eğitiminin tamamlanmasını sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Zafer YAZICI'ya, Viroloji Anadilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA ve öğretim üyeleri Prof. Dr. Harun ALBAYRAK ve Dr. Öğr. Üyesi Cüneyt TAMER'e teşekkür ederim. Numunelerin toplanmasında, laboratuvar çalışmalarında ve tez yazılmasında emeği geçen Araş. Gör. Bahadır MÜFTÜOĞLU'na, Araş. Gör. Hanne Nur KURUÇAY'a, Araş. Gör. Seda GÖZEL'e ve doktora öğrencisi Gizem AKAY'a, ayrıca Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü çalışma arkadaşlarım Dr. Hamza KADI'ya, Serdar YILDIRIM'a, Sedat ORMANCI'ya ve tüm emeği geçen meslektaşlarıma teşekkür ederim. Aynı zamanda annem, babam, değerli eşim, çocuklarım ve arkadaşlarıma desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Bu çalışma, PYO.VET.1904.21.038 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi (OMÜ-BAP) tarafından desteklenmiştir.

Ahmed Eisa ELHAG IBRAHIM

Şubat 2023

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanım	3
2.2. Tarihçe	3
2.2.1. Bovine Respiravirus Tip-3/ Bovine parainfluenza virus 3 (BPIV-3)	3
2.2.2. Bovine Respiratory Sinsityal Virus (BRSV)	4
2.2.3. Bovine Herpesvirus Tip-1 (BoHV-1)	4
2.3. Etiyoloji	5
2.3.1. Viral patojenlerin sınıflandırılması ve Genomik Özellikleri	5
2.3.1.1. Bovine Respiravirus Tip-3/ Bovine parainfluenza virus 3 (BPIV-3)	5
2.3.1.2. Bovine Respiratory Sinsityal Virus (BRSV)	6
2.3.1.3. Bovine Herpesvirus Tip-1 (BoHV-1)	7
2.4. Epidemiyoloji	9
2.5. Patogenez	10
2.6. Klinik Bulgular	13
2.7. Teşhis	15
2.8. İmmünite	16
2.9. Korunma ve Kontrol	20
2.10. Amaç	21
3. MATERYAL VE METOD	22
3.1. Materyal	22
3.1.1. Örneklem Bölgesi ve İlleri	22
3.1.2. Kan Örneklerin Toplanması	22
3.1.3. Serum Örneklerinin Hazırlanması ve Stoklanması	23
3.1.4. Hücre kültürü	23
3.1.5. Viruslar	23
3.1.6. Vasatlar ve Besiyerleri	25
3.2. Metod	26
3.2.1. MDBK Hücre hatlarının üretilmesi	26
3.2.2. Viral Patojenlerin Üretilmesi	26
3.2.2.1. Protokol	26
3.2.3. Geleneksel Mikrotitrasyon Yöntemiyle Yerel izolatların Enfeksiyozite Gücünün Belirlenmesi	27
3.2.3.1. Protokol	27
3.2.4. Mikronötralizasyon Metodu	28
3.2.4.1. Protokol	29
3.2.4.2. Sonuçların Değerlendirilmesi	29
3.2.5. Serum Nötralizasyon 50 (SN ₅₀) Metodu	29
3.2.5.1. Protokol	30
3.2.5.2. Sonuçların Değerlendirmesi	30
3.2.6. İstatistiksel Analiz	30
4. BULGULAR	32
4.1. Örneklerin Toplanması	32

4.2.	Virusların Üremesi ve Enfektive Güç Tayinleri	32
4.3.	Serum Mikronötralizasyon Testi	34
4.3.1.	Nötralizasyon Testi Sonuçlarının Genel Değerlendirmesi	34
4.3.2.	Nötralizasyon Sonuçlarının Viral Patojenlere ve Hayvan Türlerine Göre Değerlendirilmesi	36
4.3.2.1.	BPIV-3c	36
4.3.2.2.	BRSV	37
4.3.2.3.	BoHV-1	38
4.3.2.4.	Çoklu Enfeksiyonlar	39
4.4.	Serum Nötralizasyon 50 (SN ₅₀)	41
4.4.1.	BPIV-3c Seropozitif Numunelerin Antikor Titre Değerleri (SN ₅₀)	42
4.4.2.	BRSV Seropozitif Numunelerin Antikor Titre Değerleri (SN ₅₀)	43
4.4.3.	BoHV-1 Seropozitif Numunelerin Antikor Titre Değerleri (SN ₅₀)	45
5.	TARTIŞMA	48
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER	56
	KAYNAKLAR	58
	ÖZ GEÇMİŞ	70



SİMGELER VE KISALTMALAR

\$	: Amerikan Doları
°C	: Santigrat Derece
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BAV-3	: Bovine Adenovirus Tip 3
BCoV	: Bovine Coronavirus
BoHV-1	: Bovine Herpesvirus-1
bp	: Baz Çifti
BPIV-3	: Bovine parainfluenza virus 3/ Bovine Respirovirus Tip-3
BRDC /BRD	: Bovine Respiratory Disease Complex
BRSV	: Bovine Respiratory Sinsityal Virus
BVDV	: Bovine Viral Diarrhea Virus
cm	: Santimetre
CO ₂	: Carbon Dioxide
CPE	: Sitopatik Efekt/ Cytopathic Effect
DKID ₅₀	: Doku Kültürü Efektif Doz
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Ethylenediamine Tetraacetic Acid
ELISA	: Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay
F	: Füzyon
FBS	: Fetal Bovine Serum
HN	: Hemaglutinin-Nöraminidaz
IBR	: Infectious Bovine Rhinotracheitis
ICTV	: International Committee on Taxonomy of Viruses
IFN	: İnterferon
IPB	: Infectious Pustular Balanophostitis
IPV	: Infectious Pustular Vulvovaginitis
kbp	: Kilo Baz Çifti
M	: Matriks
MDBK	: Madin Darby Bovine Kidney
ml	: Mililitre

NCP	: Sitopatojenik Olmayan (Non-Cytopathic) Pestivirus
NK	: Natural Killer Cells/ Doğal Öldürücü Hücrelerin
nm	: Nanometre
NP	: Nükleoprotein
ORF	: Open Reading Frame/ Açık Okuma Bölgesi
P	: Polimeraz Fosfoprotein
PAM	: Pulmoner Alveoler Makrofajları
PBS	: Phosphate Buffer Saline
PCR	: Polymerase Chain Reaction/ Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	: Power of Hydrogen/ Potansiyel Hidrojen
RIA	: Radioimmunassay
RNA	: Ribonükleik Asit
rpm	: Rotation Per Minute /Dakikadaki Devir Sayısı
SN	: Serum Nötralizasyon/ Seronegatif
SN ₅₀	: Serum Nötralizasyon 50 (Antikor Titre Değeri)
SNT	: Serum Nötralizasyon Testi
SP	: Seropozitif
VNT	: Virus Nötralizasyon Testi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. BRSV ve BPIV-3'ün morfolojisi.....	7
Şekil 2.2. BoHV-1 viral proteinlerin diyagramı	9
Şekil 2.3. BRSV ile enfekte bir buzağının bronşiol mukozal hücrelerinde sinsityum oluşumu ve BRSV'nin immun boyaması	11
Şekil 3.1. Araştırmanın yapıldığı illerin konumu.....	22
Şekil 3.2. Türkiye'de ilk yerli BPIV-3c izolatının filogenetik analizi	24
Şekil 3.3. Yerli BRSV izolatının filogenetik analizi	24
Şekil 3.4. Yerli BoHV-1 izolatının filogenetik analizi.....	25
Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan yerli izolat BPIV-3c için doku kültürü mikroskobu ile çekilen görüntüler.....	33
Şekil 4.2. Çalışmada kullanılan yerli izolat BRSV için doku kültürü mikroskobu ile çekilen görüntüler.....	33
Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan yerli izolat BoHV-1 için doku kültürü mikroskobu ile çekilen görüntüler.....	33
Şekil 4.4. Serum nötralizasyon testinin sonucunda gözlenen tekli ve çoklu seropozitiflik yüzdesel olarak (%) dağılımı	34
Şekil 4.5. Yapılan nötralizasyon testinin sonucunda gözlenen genel seropozitifliğin yüzdesel olarak (%) test edilen viruslara göre dağılımı	35
Şekil 4.6. Serum nötralizasyon testinin sonucunda genel seropozitifliğin yüzdesel olarak (%) hayvan türlerine göre dağılımı	35
Şekil 4.7. Test edilen viruslar için yapılan nötralizasyon testinin sonucunda gözlenen çoklu seropozitifliğin yüzdesel olarak (%) oranları.....	40
Şekil 4.8. BPIV-3c seropozitif örneklerin total antikor titre değerlerinin (SN ₅₀) hayvan türlerinde genel dağılım sonuçları.....	43
Şekil 4.9. BRSV seropozitif örneklerin total antikor titre değerlerinin (SN ₅₀) hayvan türlerinde genel dağılım sonuçları.....	45
Şekil 4.10. BoHV-1 seropozitif örneklerin total antikor titre değerlerinin (SN ₅₀) hayvan türlerinde genel dağılım sonuçları.....	47

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. BPIV-3, BRSV ve BoHV-1 için sınıflandırma, viral ve genomik özellikler	6
Tablo 3.1. Toplanan serum örneği sayılarının farklı iller ve hayvan türlerine göre dağılımı..	23
Tablo 4.1. Örneklenen hayvan türleri ve illeri	32
Tablo 4.2. Toplanan serum örneklerine yapılan BPIV-3c nötralizasyon testinin sonuçları ...	36
Tablo 4.3. Toplanan serum örneklerine yapılan BRSV nötralizasyon testinin sonuçları	37
Tablo 4.4. Toplanan serum örneklerine yapılan BoHV-1 nötralizasyon testinin sonuçları....	39
Tablo 4.5. Test viruslarına karşı ikili ve üçlü seropozitiflik oranlarının kombinasyonu	41
Tablo 4.6. BPIV-3c yönünden seropozitif tespit edilen serum örneklerinin SN ₅₀ değerlerinin illere ve hayvan türlerine göre dağılımı	42
Tablo 4.7. BRSV yönünden seropozitif tespit edilen serum örneklerinin SN ₅₀ değerlerinin illere ve hayvan türlerine göre dağılımı	44
Tablo 4.8. BoHV-1 yönünden seropozitif tespit edilen serum örneklerinin SN ₅₀ değerlerinin illere ve hayvan türlerine göre dağılımı	46

1. GİRİŞ

Günümüzde hayvansal proteinler insan yaşamında önemli bir yer tutmaktadır. Özellikle süt ve kırmızı et, besin olarak protein değeri açısından büyük önem taşımaktadır. Hayvansal protein kaynağı temininde sığır ve koyun yetiştiriciliği dünyanın birçok ülkesinde önemlidir ve bu hayvanların yetiştirilme sektörü, ülkelerin hayvancılık ekonomisinde büyük bir pay tutmaktadır. Bu sektörlerde meydana gelen kayıplar ülke ekonomilerini de önemli bir şekilde etkilemektedir (Taylor et al., 2010). Örneğin; yakın geçmişte özellikle Avrupa kıtasını etkileyen Mavdil virusu (Bluetongue virus-BTV) salgını, çiftlik hayvanları üzerindeki doğrudan etkileri, ticaret kısıtlamaları, gözetim ve kontrol maliyetleri nedeniyle ciddi ekonomik hasara neden olmuştur. 2006-2009 arasındaki 3 yıllık sürede Batı Avrupa ülkelerinde BTV-8 suşu 2 milyar ABD dolarından fazla ekonomik kayıplara neden olmuştur (Jacquot et al., 2017).

Özellikle primer konakçı olarak büyük ruminantları etkileyen ama zaman zaman küçük ruminantlarda varlığı tespit edilen sığır solunum sistemi hastalıkları kompleksi (Bovine Respiratory Diseases Complex, BRDC/BRD) hastalıkları geçmişten günümüze ülkelerin ve ülkemizin hayvancılık ekonomisini ciddi şekilde tehdit etmektedir. Sığır Solunum Sistemi Hastalıkları Kompleksi (BRDC); viral, bakteriyel, mikoplazmal ve hatta fungal patojenleri içeren bir komplekstir. Bu kompleksin içinde bulunan patojenlerin tek veya kombine enfeksiyonları sonucu ortaya çıkan salgınlar önemli ekonomik kayıplar oluşturur (Edwards, 2010). Bu kompleks içinde yer alan ve önemli olan viruslar; *bovine respiratory syncytial virus* (BRSV), *bovine herpesvirus tip-1* (BoHV-1) ve *bovine parainfluenza virus-3/respirovirus tip-3* (BPIV-3), *bovine coronavirus* (BCoV), *bovine adenovirus* (BAV) ve *bovine viral diarrhea virus* (BVDV) olarak önem arz etmektedir. Ülkemizde uzun yıllardır özellikle büyük ruminantlarda, BRDC içinde yer alan bu viral patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlar üzerine serolojik ve virolojik çalışmalar yapılarak sonuçları sunulmuştur (Yavru vd., 2005; Okur Gümüşova vd., 2007; Yazıcı vd., 2007 Duman vd., 2009; Timurkan vd., 2019). Bu çalışmaların tamamına yakın bir kısmında uluslararası referans suşlar kullanılmıştır (Yazıcı vd., 2007).

BoHV-1 sığırlarda latent seyirli bir enfeksiyon oluşturmaktadır. Virus solunum sisteminde “Infectious Bovine Rhinotracheitis” (IBR) ve genital sistemde “infectious pustular vulvovaginitis/infectious pustular balanopostitis” (IPV/IPB) olarak ayrı ayrı

enfeksiyona neden olabildiği gibi sığırlarda aynı anda respiratorik ve genital enfeksiyon oluşturabilir (Gagea et al., 2006; Fulton, 2009). Virusun latent seyirli bir enfeksiyon oluşturması nedeni ile BoHV-1 ile enfekte hayvanlar sürü içinde hastalığın yayılmasında en önemli kaynaklardan biridir (Snowder et al., 2006). Ayrıca BRDC içinde yer alan diğer önemli iki viral patojen BRSV ve BPIV-3 (eski *bovine parainfluenzavirus* 3) virusları da şiddetli solunum sistemi enfeksiyonu kaynağıdır (Edwards, 2010). Bu enfeksiyonlar hayvancılık endüstrisinde et, süt üretimi ve döl verimine etki eder ve büyük ekonomik kayıplara neden olabilir (Griffin, 1997). Sığırlar üzerinde enfeksiyon oluşturan bu viruslar, koyunlarda da klinik ve subklinik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Ekonomik açıdan büyük öneme sahip ve sürü sağlığı açısından risk oluşturan bazı viral solunum hastalıklarının yaygınlığının araştırıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Yeşilbağ ve Güngör, 2009; Alpay vd., 2014).

2018-2019 yılları arasında Orta Karadeniz Bölgesinde yer alan aile işletmelerinde yetiştirilen sığırlarda ölümle sonuçlanan şiddetli solunum sistemi enfeksiyonlarının varlığına işaret eden pnömoni vakaları tespit edilmiştir. Ölümle sonuçlanan bu vakaların BRDC içinde yer alan ve her vakada farklı olan tek viral patojen tarafından oluşturulduğu bildirilmiştir. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim dalında yapılan izolasyon, identifikasyon ve moleküler karakterizasyon çalışmaları sonucu bu vakalardan lokal izolatlar olarak BPIV-3c (MH357343) (Albayrak vd., 2019), BRSV (43TR2018) (Yazıcı vd., 2020), ve BoHV-1 (TRSAMSUN2019/4B) (Albayrak vd., 2020) lokal izolatları elde edilmiştir.

Bu doktora tez araştırmamız BRDC içinde yer alan yukarıda künyeleri verilen lokal viral izolatlar kullanılarak sığır ve koyun olmak üzere iki önemli ruminant türünde gerçekleştirilmiştir ve coğrafik olarak Türkiye'nin Orta Karadeniz bölgesinde bulunan büyük ve küçükbaş işletmelerinden toplanan kan örneklerinden bu 3 önemli virusun serolojik varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım

Sığır solunum sistemi hastalığı kompleksi (BRDC) bünyesinde birçok bakteriyel ve viral patojeni bulundurur. Günümüzde bu kompleks içinde yer alan patojenler tek veya birden fazla patojen ortak olarak süt ve besi işletmelerinde yüksek bulaş oranları nedeni ile ekonomik kayıplara neden olur ve bu işletmeler için önemli bir sorun teşkil eder (Snowder et al., 2006). BRDC içinde yer alan viral patojenler arasında *bovine respirovirus tip-3/bovine parainfluenza virus* (BPIV-3), *bovine respiratory sinsityal virus*, *bovine herpesvirus tip-1* (BoHV-1) başta olmak üzere *bovine viral diarrheea virus* (BVDV), *bovine adenovirus tip 3* (BAV-3) ve *bovine coronavirus* (BCoV) önemlidir. Ayrıca bakteriyel patojenler *Mannhemia haemolitica*, *Pastorella multocida*, *Histophilus somnus*, *Mycoplasma bovis* bu kompleksin içinde yer almaktadır (Martin and Lumsden, 1987).

Türkiye’de daha önce yapılan araştırmalar ile sığırlarda solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan birçok viral etkenin varlığı virolojik ve serolojik olarak ortaya konmuştur (Alpay vd., 2014; Timurkan vd., 2015).

2.2. Tarihçe

2.2.1. *Bovine Respirovirus Tip-3/ Bovine parainfluenza virus 3* (BPIV-3)

Bovine Respirovirus Tip-3/Bovine Parainfluenza Virus 3’ün (BPIV-3) gerek tek başına gerekse kombine olarak diğer virus ve bakteri türleriyle birlikte taşıma humması- shipping fever (SF) olarak isimlendirilen hastalığa neden olur. BPIV-3 ilk olarak 1959 yılında ABD’de shipping fever (SF) klinik belirtileri gösteren buzağların burun akıntısından izole edilmiş ve miksovirus (SF-4) adıyla rapor edilmiştir (Reisinger et al., 1959). Bu ilk izolasyonu takiben daha fazla izolasyon çalışmaları yapılmıştır ve insan *Parainfluenza virus-3* (HPI3V) HA-1 suşu ile arasında genetik benzerlik olduğu tespit edilmiştir; bu nedenle o zamandan beri *Bovine parainfluenza 3 virus* olarak isimlendirilmiştir ve 1969’da koyunlarda ilk izolasyonu yapılmıştır. (Edwards, 2010; Hore and Stevenson, 1969).

Türkiye’de ise ilk olarak 1969 yılında BPIV-3 bildirilmiş ve %86.8-%100 arasında seropozitif değerleri hemagglütinasyon inhibisyon testi ile ortaya konulmuştur (Erhan vd., 1973). İlerleyen yıllarda Türkiye’de ve dünyada yapılan farklı

çalışmalarda süt ve besi büyükbaş işletmelerindeki BPIV-3 seropozitiflik değerleri %11-%98.3 oranlarında saptanmıştır (ner ve Yeşilbağ, 2018).

2.2.2. Bovine Respiratory Sinsityal Virus (BRSV)

1968 yılında İngiltere'de Doggett et al. (1968), etiyolojisi bilinmeyen solunum sistemi hastalığından iyileşen yetişkin sığır ların ve buzağı ların, serumlarında iki *insan Respiratory sinsityal virus* (HRSV) suşuna karşı nötralizan antikör ların varlığını tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar HRSV benzeri bir ajanın sığır larıda solunum sistemi hastalıklarına neden olabileceğini ve bu viral patojenin HRSV ile antijenik benzerlik göstereceğini bildirmişlerdir.

1970 yılında, BRSV ilk olarak İsviçre'de, (Paccaud and Jacquier, 1970), Belçika'da (Wellemans et al., 1970) ve daha sonra Japonya'da (Inaba et al., 1970) izole edilmiştir.

Aynı virus 1971 yılında İngiltere'de (Jacobs and Edington, 1971) ve 1974'te Kuzey Amerika'da (Rosenquist, 1974) izole edilmiştir. 1992 yılında ise BRSV, dünya genelinde buzağı pnömonisinin ana nedeni ve BRDC içinde yer alan en önemli etiyolojik ajanlardan biri olarak tanımlanmıştır (Baker et al., 1992).

BRSV'nin ülkemizde ilk bildirimi Burgu vd. (1990) tarafından sığır larıda serolojik olarak yapılmıştır. Daha sonra ise Türkiye'de ve diğer ülkelerde süt ve besi büyükbaş ve küçükbaş işletmelerinde yapılan seroprevalans araştırmalarında %39.2'dan %100 oranlarına kadar pozitiflik değerleri saptanmıştır (ner ve Yeşilbağ, 2018).

2.2.3. Bovine Herpesvirus Tip-1 (BoHV-1)

İlk olarak 19. yüzyılda Almanya'da araştırmacılar Buchner ve Trommsdorf tarafından "*Blschenausschlag*" (coital vesicular exanthema) olarak tanımlanan IBR/IPV/IPB, 1928 yılında Reisinger ve Reimann tarafından virus olma ihtimali değerlendirilerek etiyolojik inceleme altına alınmıştır (Muylkens et al., 2007).

Sığır larıda "infectious pustular vulvovajinitis" (IPV) ve boğalarda "infectious pustular balanopostitis" (IPB) olarak bilinen bu enfeksiyonun semptomları, 1950'lerin başlarına kadar genital organlar ile sınırlı kalmıştır. Bu dönem içinde enfeksiyonun solunum formu Kuzey Amerika'da tespit edilmiş ve "infectious bovine rhinotracheitis" (IBR) olarak adlandırılmıştır. Gerek solunum yolu gerek genital sistem hastalıklarına neden olan virusun ilk izolasyonu 1958 yılında yapılmış ve

antijenik yapısı incelenerek *Herpesviridae* virus ailesi altında sınıflandırılmıştır (Biswas et al., 2013).

Türkiye'de sığırlarda ilk defa 1971 yılında Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Viroloji Laboratuvarı tarafından yapılan hastalık taramalarında BoHV-1'a karşı nötralizan antikör varlığı tespit edilmiştir (Erhan vd., 1971). Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda sığırlardaki serpozitiflik değerleri %17.1-%61.5 arasında saptanmıştır (Öner ve Yeşilbağ, 2018).

2.3. Etiyoloji

2.3.1. Viral patojenlerin sınıflandırılması ve Genomik Özellikleri

2.3.1.1. *Bovine Respirivirus Tip-3/ Bovine parainfluenza virus 3 (BPIV-3)*

Bovine parainfluenza virus- 3 (BPIV-3) veya *Bovine Respirivirus-3 (BRV3)*, Uluslararası Virus Sınıflandırma Komitesi (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) tarafından 2019 yılında yapılan son güncellemeye göre, *Mononegavirales* takımı altında, *Paramyxoviridae* virus ailesine ait ve *Respirivirus* cinsinde yer almaktadır (Tablo 2.1.) (ICTV, 2019a).

BPIV-3, 150 ile 250 nm arasında değişen bir çapa sahip olmanın yanı sıra, negatif polariteli, uzunluğu 15.000 nt'den fazla, tek iplikçikli bir RNA genomu içerir. Genom, altı gen bölgesi tarafından yedi protein kodlamaktadır. Bu proteinler matriks (M), nükleoprotein (NP), hemaglutinin/nöraminidaz (H/N), füzyon (F), polimeraz (P), fosfoprotein (P)'den oluşmaktadır (Şekil 2.1.) (Ohkura et al., 2015). Bu viral proteinler, fonksiyonel açıdan incelendiğinde hemaglutinin-nöraminidaz (HN) ve füzyon (F) proteinleri viral bağlanmadan sorumludur; özellikle farklı konakçıların kırmızı kan hücrelerine bağlanırlar. Daha sonra hücre dışına çıkarak hücrelere penetrasyonu, hücrelerarası yayılımı kolaylaştırır ve hücrelerde sinsityum oluşumlarına neden olur. Bu proteinler, nötralize edici antikörlerin ve hemaglutinasyon inhibitörlerinin uyarılması için önemlidir (Schmidt et al., 2000; Newcomer et al., 2017; Zhu et al., 2011).

BPIV-3 arasında yüksek oranda antijenik benzerlik ve buna bağlı olarak klinik semptomlar açısından ayırt edilmesi zor olan 3 genotip içermektedir. Bu genotipler A, B ve C olarak isimlendirilmiştir; ayrıca ve alt genotipler olabileceği bildirilmiştir (Ellis, 2010).

BPIV-3 genotiplerinin tam genom analizleri incelendiğinde, genotip A'nın (BPIV-3a) dünya üzerinde en yaygın genotip olduğu görülür. Diğer genotipler B ve C

için coğrafik kısıtlanma söz konusudur. Genotip B (BPIV-3b), Avustralya'da saptanmıştır (Horwood et al., 2008); genotip C (BPIV-3c) ise Arjantin, Kore ve Çin'deki izolatlardan tespit edilmiştir (Maidana et al., 2012; Oem et al., 2013; Zhu et al., 2011).

Sıcaklık, nem, pH ve viral depolama ortamının bileşimi gibi çevresel koşullar, BPIV-3 partiküllerinin enfektivitesini etkilemekte ve buna bağlı olarak çoğu durumda virusun izolasyonunu engellemektedir (Segura et al., 2013). Virionlar 37°C'de kararsızdır ve 50°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda 15 dakika süreyle inaktive edilir. Optimal stabilite ve enfektivite, fizyolojik pH'da (pH 7.4–8.0) meydana gelir, enfektivite pH 3.0–3.4'te hızla kaybolur (Trybała et al., 1991).

Tablo 2.1. BPIV-3, BRSV ve BoHV-1 için sınıflandırma, viral ve genomik özellikler

Takım	<i>Mononegavirales</i>	<i>Mononegavirales</i>	<i>Herpesvirales</i>
Aile	<i>Paramyxoviridae</i>	<i>Pneumoviridae</i>	<i>Herpesviridae</i>
Alt aile	<i>Orthoparamyxovirinae</i>	-	<i>Alphaherpesvirinae</i>
Cins	<i>Respirovirus</i>	<i>Orthopneumovirus</i>	<i>Varcellovirus</i>
İsimler	<i>Bovine Parainfluenza 3 virus</i> (BPI3V); <i>Bovine Parainfluenza virus 3</i> (BPIV-3); <i>Bovine Respirovirus 3</i> (BRV3)	<i>Bovine Orthopneumovirus</i> (BRSV); <i>Bovine Respiratory Sinsityal Virus</i> (BRSV)	<i>Infectious bovine rhinotracheitis virus</i> (IBRV); <i>Bovine Herpesvirus Tip 1</i> (BoHV-1); <i>Bovine alphaherpesvirus 1</i> (BoAHV1)
Genom oluşumu ve şekli	Negatif anlamlı, segment içermeyen, tek iplikçikli RNA genom	Negatif anlamlı, segment içermeyen, tek iplikçikli RNA genom	Çift sarmallı, segment içermeyen DNA genom
Zarın varlığı	Var	Var	Var
Nükleokapsid simetrisi	Helikal	Helikal	İkosahedral

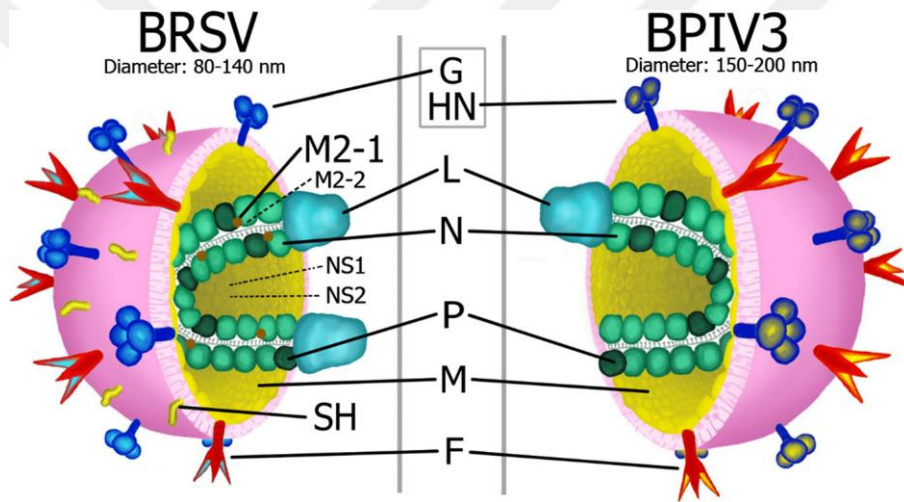
2.3.1.2. *Bovine Respiratory Sinsityal virus* (BRSV)

Tablo 2.1'de gösterildiği üzere BRSV, *Mononegavirales* takımı altında *Pneumoviridae* familyasının *Orthopneumovirus* cinsinde yer alır. Uluslararası Virus Sınıflandırma Komitesi (ICTV) tarafından yapılan son sınıflandırmalarda isim değişikliği yapılarak *bovine orthopneumovirus* olarak tanımlanmıştır (ICTV, 2019b).

BRSV tek iplikçikli negatif polariteli RNA genomu taşıyan bir virustur. Genom 11 protein kodlamaktadır. Virionu oluşturan lipid zarf yüzeyinde en büyüğü glikoprotein (G), füzyon (F) proteini ve küçük hidrofobik (SH) olmak üzere 3 adet

glikoprotein bulunur. Zarf sarmal bir nükleoprotein (N), fosfoprotein (P), viral RNA'ya bağımlı polimeraz proteini (L) ve matriks (M) proteini içermektedir. Ayrıca iki adet NS1 ve NS2 olarak bilinen yapısal olmayan proteini mevcuttur. Bununla birlikte, F ve G glikoproteinleri, predominant nötralizasyon ve koruyucu epitoplari içermektedir (Şekil 2.1.) (Collins et al., 2001).

BRSV, G proteinine yönelik monoklonal antikorlar kullanılarak dört antijenik alt grupta sınıflandırılmıştır: Bunlar, A, B, AB ve tiplendirilmemiş olarak sınıflandırılmaktadır; ancak bunlar tek bir ana antijenik grubun varyantlarını temsil etmektedir. (Furze et al., 1994; Deplanche et al., 2007). Virusun genetik değişkenlik derecesi %15'ten az olmakla birlikte aşılamanın neden olduğu seçici baskının bu virusun evrimini yönlendirdiğini düşündürmektedir (Valarcher et al., 2000).



Şekil 2.1. BRSV ve BPIV-3'ün morfolojisi. G: G proteini; HN: Hemaglutinaz – Nöraminidaz; L: Polimeraz proteini; M: Matris proteini; N: Nükleoprotein; P: Fosfoprotein; F: Füzyon proteini (Makoschey and Berge, 2021)

2.3.1.3. Bovine Herpesvirus Tip-1 (BoHV-1)

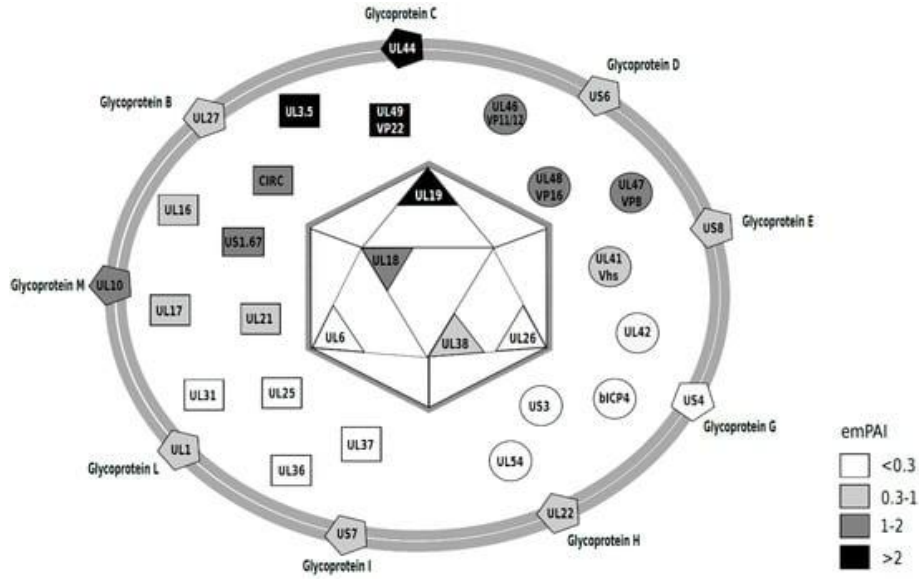
Bovine herpesvirus 1 (BoHV-1), *Herpesvirales* takımı, *Herpesviridae* virus ailesinin *Alphaherpesvirinae* alt ailesinde, *Varicellovirus* cinsi altında sınıflandırılan bir DNA virusudur (Tablo 2.1.). Virusun adı ICTV tarafından 2019 yılında açıklanan sınıflandırmada değiştirilerek *Bovine alphaherpesvirus 1* olarak açıklanmıştır (BoAHV1) (ICTV, 2019c).

BoHV-1, *Herpesviridae* virus ailesinin karakteristik özelliklerini gösterir; zarf içeren, yaklaşık olarak 135-140 kbp boyuta sahip ve 70 protein kodlayan, çift sarmallı bir DNA genomu taşır (Xu et al., 2017; Biswas et al., 2013). Virus genomunu

çevreleyen 162 kapsomerden oluşan kapsid, ikosahedral simetrik bir virion morfolojisi gösterir. (Biswas et al., 2013; Aslım ve Bulut, 2020). Kapsid ve zarf arasındaki boşluklarda tegument olarak isimlendirilen protein, virusun taşınmasında, virion formasyonunda ve transaktivasyonda görev alır. Virusun sahip olduğu genom, benzersiz uzun (unique long, UL) ve benzersiz kısa (unique short, US) olmak üzere iki diziyi içiren uzun bir ışımsal çift sarmallı DNA molekülünden oluşmaktadır. (Muytkens et al., 2007) ve genomunda 73 adet açık okuma bölgesi (open reading frames; ORF) bulunmaktadır. Bu ORF bölgelerinden 33 tane yapısal ve 13 tane yapısal olmayan protein kodlanır. (Xu et al., 2017; Muytkens et al., 2007). BoHV-1 genomunda UL ve US üzerinde yer alan glikoprotein kodlayan 10 adet gen bulunmaktadır (Muytkens et al., 2007; Aslım ve Bulut, 2020). Bunlardan, gK(UL53), gC(UL44), gB(UL27), gH(UL22), gM(UL10), gL(UL1) UL üzerinde, kalan gG(UL4), gD(UL6), gI(US7) ve gE(US8) ise US üzerinde yer almaktadır (Şekil 2.2.) (Muytkens et al., 2007; Aslım ve Bulut, 2020).

Genomik analiz ve viral peptit modellerine dayanarak, BoHV-1 virusu BoHV-1.1, BoHV-1.2 ve BoHV-1.3/BoHV-5 olmak üzere alt tiplere ayrılır. Bu alt tiplerden BoHV-1.1 solunum sistemi enfeksiyonuna, BoHV1.2 genital sistem enfeksiyonlarına ve BoHV-1.3/BHV-5 sığırların sinir sistemi bozukluklarına neden olur (Muytkens et al., 2007).

Virusun *in vitro* üretilmesinde sığır böbrek devamlı hücre hattı (Madin Darby Bovine Kidney, MDBK) kullanılmaktadır. Ayrıca virusu üretmek için fõtal akciğer fibroblast ve sığır turbinat (BT) devamlı hücre hatları kullanılabilir. BoHV-1, belirtilen hücre hatlarında yuvarlaklaşma ve lizis ile karakterize sitopatik değışikler (CPE) oluşturarak ürer. Virus 4 °C 'de 1 ay süre ile stabil kalabilir; inaktive olabilmesi için 56 °C'de 21 dakika, 37 °C'de 10 gün ve 22 °C'de 50 gün kadar süreye ihtiyaç vardır (Fenner et al., 1987). Virus, yemlerde 30 günden fazla aktivitesini koruyabilir. BoHV-1, zarflı olduğu için birçok dezenfektana duyarlıdır ve %0,5 NaOH, %0,01 HgCl₂, %1 klorlu kireç, %1 fenolik türevler, %1 kuaterner amonyum bazları ve %10 Lugol iyodu ile inaktivasyonu kolaydır. Formalin (%5) de ise BoHV-1, 1 dakika içinde inaktive olur (Nandi et al., 2009).



Şekil 2.2. Farklı viral proteinleri temsil eden BoHV-1 viral partikül diyagramı. Katlanarak artan modifiye edilmiş protein zenginlik indeksleri (Exponentially modified protein abundance indexes-emPAI) skorlarına dayalı olarak tahmin edildi ve yoğunlukla (daha koyu = daha yoğun) ilişkili olan bir gri ölçekte sunuldu. emPAI değerleri < 0,3 (beyaz); 0,3–1 (açık gri); 1–2 (koyu gri) ve >2 (siyah).

Diyagram, geçmişteki çalışmalardan esinlenmiştir (Barber et al., 2017)

2.4. Epidemiyoloji

Sığırlarda solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan viruslar arasında en sık tespit edilenler BRSV ve BPIV-3' tür. Bu iki virusun insidansları genellikle ilkbahar ve sonbahar aylarında artış göstermektedir (Lamontagne et al., 1985).

BRSV için primer ve hedef konakçı sığırlardır; ancak koyun, keçi, bufalo, geyik, domuz, maymun, kedi, köpek ve at bu virusun enfeksiyon spektrumunda yer alır. Özellikle fazla sayıda yetiştirilmesi nedeni ile koyunlar, sığırlardan sonra bu viruslar için önemli konakçı olarak kabul edilmektedir (Çeribaşı vd., 2014). BRSV aynı zamanda keçilerde de enfeksiyon oluşturabilmektedir. Bu virus genç buzağılarda, hem besi hem de süt sığırlarında solunum sistemi hastalığının ana nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (ICTV, 2019b; Gershwin, 2012). Ayrıca virus, küçük çocuklarda solunum sistemi hastalığına neden olan, insan respiratory syncytial virus (HRSV) ile yakından ilişkilidir (Meyer et al., 2008).

BPIV-3 için temel konakçı sığırlardır ancak koyun ve keçilerde de enfeksiyon görülmektedir. Bu virusun, domuzlar, bufalolar, köpekler, atlar ve maymunlar gibi diğer türleri enfekte ettiği bildirilmekle birlikte insanlarda da enfeksiyon bildirilmiştir (Toth and Jankura, 1990; Maidana et al., 2012). BPIV-3 genetik ve antijenik benzerliklerle insan parainfluenza virus-3 (HPIV-3) ile yakından ilişkilidir. Serolojik

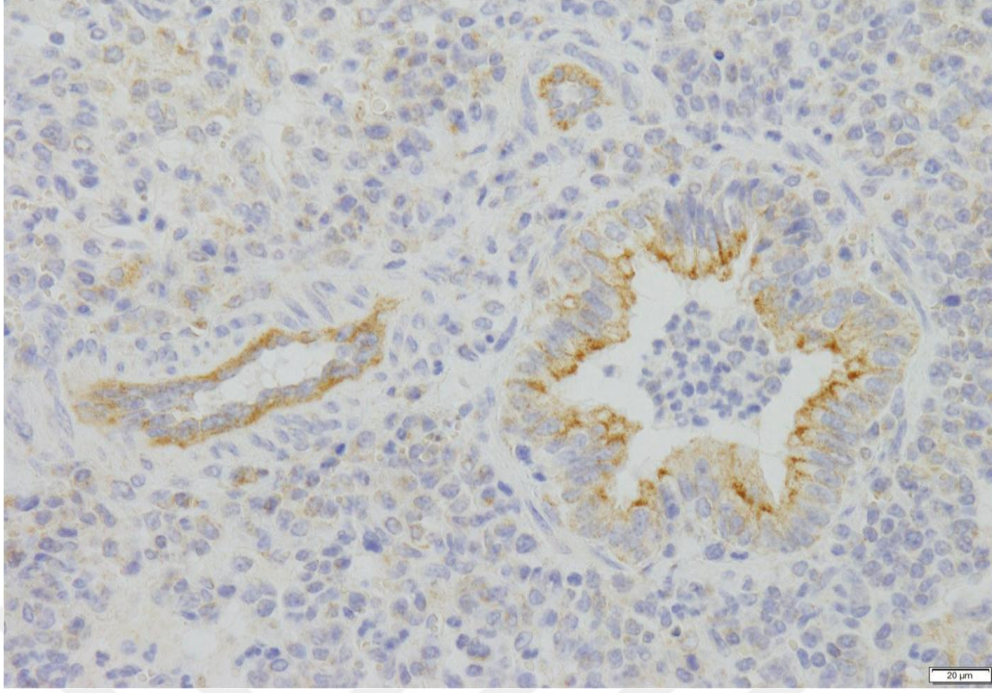
alışmalar, bu viruslar arasında yaklaşık %25 oranında çapraz nötralizasyon olduğunu bildirmektedir (Skiadopoulos et al., 2003).

BRSV ve BPIV-3, akut enfeksiyonu geçiren hayvanlardan enfeksiyonun 9. gününe kadar gözyaşı, burun akıntısı, tükürük ve aerojen yolla saçılarak bulaşıır. Bu iki viral patojenden kaynaklanan enfeksiyonlar, el arabaları, enfekte yem ve ahır malzemeleri yoluyla mekanik yolla dolaylı olarak yayılabilir. Subklinik enfekte hayvanların sürüye katılması bulaşmada önemli bir rol oynar (Lamontagne et al., 1985).

BoHV-1 için ana konakçı sığırdır. Keçi, koyun, manda ve develer de bu virusun enfeksiyon spektrumunda yer almaktadır. Yapılan deneysel alışmalar BoHV-1'in koyun ve keçilerde enfeksiyon oluşturabildiği gösterilmiştir (Whetstone and Everman, 1988). BoHV-1'in prevalansını etkileyen faktörler arasında yaş, cinsiyet ve sürünün büyüklüğü önem taşımaktadır. Kalabalık sürülerde 3-6 yaş arası erkek hayvanların BoHV-1'e daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Virusun bulaşması burun, göz ve genital akıntılar, hayvanlar arasında doğrudan temas yoluyla gerçekleşir. Ayrıca virus ile kontamine sperma kullanımı, embriyo transferi uygulamaları ve virus ile kontamine materyaller virusun diğer önemli bulaşma yollarıdır. Dondurulmuş spermada virusun bulaşıcılığı devam ettiği için suni tohumlama yöntemi sırasında boğalarda BoHV-1 varlığı araştırılmalıdır. BoHV-1 latent karakterli bir virus olması nedeni ile sürülerde bulnan latent enfekte hayvanlar enfeksiyon bulaşmasında en önemli kaynaklardan biridir (Muylkens et al., 2007).

2.5.Patogeneze

Post mortem incelemede elde edilen sonuçların, BRSV ve BPIV-3 için benzer olduğu saptanmıştır. Gözlemlenen en yaygın makroskopik lezyon, özellikle kranial akciğer loblarında multilobüler konsolidasyondur (şekil 2.3.). BRSV enfeksiyonundan sonra akciğerlerde interlobüler amfizem görülmesine karşılık, BPIV-3 enfeksiyonundan sonra bu tarz bir bulgu tanımlanmamıştır. Her iki enfeksiyonda görülen histolojik lezyonlar ise, peribronşiyal mononükleer infiltrasyon, epitelyal nekroz, sinsityum oluşumu ve bronşiolitistir (şekil 2.3.), (Ellis, 2010; Borchers et al., 2013).



Şekil 2.3. BRSV ile enfekte bir buzağının bronşiol mukozal hücrelerinde sinsityum oluşumu (Makoschey and Berge, 2021)

BRSV ve BPIV-3 aerojen yolla bulaşır. Solunum ile alınan viruslar bağışıklık sisteminin ilk savunma hattı olan mukozaya nüfuz ederek mukozal bozulmalara yol açar. Daha sonra hücre zarlarındaki sialik asit kalıntılarına bağlanarak üst solunum yolunun epitel hücrelerini istila eder. BRSV ve BPIV-3 çoğalması daha çok solunum yolunda gerçekleşir (Çeribaşı vd., 2014). Enfekte hayvanlar birkaç gün burun akıntısı ile virüsü yayarlar. Genel olarak BRSV, in vitro olarak doku kültüründe ve klinik olarak enfekte hayvanda BPIV-3'e nazaran daha düşük titreler gösterir (Salt et al., 2007). Her iki virusun trakea hücrelerini, bronşiyolları ve pnömosit hücrelerini enfekte ettiği gösterilmiştir (Şekil 2.3.) (Viuff et al., 1996; Bryson et al., 1983). BPIV-3, BRSV'den farklı olarak pulmoner alveoler makrofajları da (PAM) enfekte ederek buralarda çoğalır. BPIV-3'ün PAM'da replikasyonu, fagositoz ve immunosupresif prostaglandinlerin baskılanması ile ilişkilendirilmiştir. Lenfosit proliferasyonu, virus ile enfekte sığır alveoler makrofajları tarafından baskılanır (Adair et al., 2000).

Her iki virus da hücre hatlarında, sinsitya oluşumu ile karakterize sitopatik efekt gösterir. BRSV ile enfekte hayvanda, proinflatuar genler regüle olur ve özellikle bu virus ile ilişkili perakut vakalarda mast hücre dejenerasyonu gözlemlenir (Johnston et al., 2019). Bu bulgular, konakçı bağışıklık yanıtının daha fazla doku hasarına neden olarak akciğer patolojisine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (Valarcher and

Taylor, 2007). Antonis et al. (2010), 1 günlük - 6 haftalık arası yaşta olan antikör negatif buzağılarda BRSV enfeksiyonunun patogeneziindeki yaşa bağlı farklılıkları araştırmıştır. Bu araştırmacılar neonatal buzağılarda 6 haftalık buzağılara oranla daha fazla virus replikasyonu ve akciğer konsolidasyonu, ancak daha düşük proinflatuar yanıt, spesifik humoral immün yanıt, akciğer nötrofilik infiltrasyonu bildirmişlerdir. Proinflatuar sitokinleri üretme kapasitesinin yaşla birlikte arttığı görülmüş ve BRSV'nin patogeneziinde gözlenen yaşa bağlı farklılıkların nedeni olarak gösterilmiştir.

Ayrıca, BPIV-3 ile enfekte olmuş buzağının akciğerlerindeki mast hücrelerinde artan seviyelerde histamin salınmasının, bağışıklık tepkisinin patogenezi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. (Ogunbiyi et al., 1988). Bunun yanında ateş ve Tümör Nekroz Faktörü (TNF) α , Interleukin (IL) 1 β ve IL6 gibi diğer inflamasyon belirtileri ile ilgili sitokinlerin transkripsiyonunun, BPIV-3 ile enfeksiyondan sonra regüle edildiği bildirilmiştir (Makoschey and Berge, 2021). Ortaya çıkan doku hasarı, konakçının proenflatuar yanıtı ile kombinasyon halinde, hastalığın şiddetlenmesine yol açan ikincil bakteriyel enfeksiyonları desteklemektedir (Sudaryatma et al., 2018).

BoHV-1 virusunun konakçıya girişi ve replikasyonu, solunum ve genital sistem mukozası ile konjunktiva epitel hücrelerinde gerçekleşir. (Mars et al., 2000). Genital yolla bulaşmada, virusla enfekte sperma kullanılarak yapılan suni tohumlamanın yanı sıra BoHV-1 ile aktif enfekte boğaların çiftleşmesi de rol oynar. BoHV-1 hedef hücreye girdikten sonra organizmaya, primer olarak çoğaldığı bölgeden kan, sinirler, enfekte hücre-hücre etkileşimi ile viremi yoluyla yayılır (Wrathall et al., 2006). Virus, buzağılarda doğum sonrası 14. günden itibaren trake/larenks, akciğer, karaciğer, rumen/omazum, ince/kalın bağırsaklar, abomazum, özafagus, böbrek, kalp, timus ve lenf nodülleri ve özellikle de adrenal bezler gibi bir çok dokuda tespit edilebilmektedir (Moeller et al., 2013).

BoHV-1 enfeksiyonunda akut dönemde üst solunum yolu mukozalarında hiperemi ve ödem ile birlikte seyreden rhinitis meydana gelirken, mukopurulent akıntılar ve fokal bölgelerde oluşan nekroze odaklar çoğu vakada bildirilmiştir (Moeller et al., 2013). Akciğerlerde bronşial epitelde dökülmelerin yanında nekroze yapılar da görülür. Kalpte küçük miyokardiyal nekroz alanları intersitisyel bağ dokuda sınırlı ödem ve nekrotik alanlarda nötrofilik infiltrasyon görülebilir. Özofagus ve rumenin yüzey epitelinde çok çekirdekli sinsityal hücreler, eozinofilik intranükleer inklüzyon cisimciklerinde artış ve nekrozlar gözlenir. Abomazum

lezyonları ise; mukozada multifokal nekroze alanlar, lamina propriada bulunan bezler ve stromal bağ dokuda yıkımlanmalar ile karakterizedir. Adrenal bez, karaciğer, böbrek, lenf nodülleri ve timus paransiminde multifokal nekroz alanlarının yanısıra nötrofil ve nekrotik hücre döküntüleri oluşur. Bağırsak düz kas hücrelerinde ise; nekroze alanların yanında enfekte dokularda yangı gözlenebildiği bildirilmiştir (Moeller et al., 2013).

BoHV-1 üst solunum yolu ve tonsil epitel hücrelerinde replike olduktan sinir hücrelerini enfekte eder. Sinir uçlarına yerleşen virus, nöro-aksonal iletim ile trigeminal ganglionlara gider. Virusun latent kaldığı diğer bir bölge de tonsillerdir. İn vivo olarak yapılan çalışmalar ile virusun buradan yeniden aktif olarak enfeksiyona neden olabileceği de bildirilmiştir. Latent BoHV-1 enfeksiyonunun reaktivasyonu, kortikosteroid uygulamaları ve stres faktörleri sonucunda da tetiklenebilmektedir. Ganglionlarda meydana gelen reaktivasyondan sonra virus tekrar replike olur. Daha sonra replike olan virus, aksonal yolla perifer dokulara herhangi bir immun yanıtı neden olmadan ilerler. Buradan mukoza, nasal sekresyon ve semen gibi sıvılar aracılığıyla duyarlı konakçılara bulaşır (Biswas et al., 2013; Muylkens et al., 2007). Gebe sığırlarda BoHV-1'in solunum formunun 15-64 günlük inkübasyon sonunda ya da modifiye canlı BoHV-1 ile aşılama durumunda gebeliğin üçüncü trimesterinde abortlara neden olabileceği bildirilmiştir (Crook et al., 2012).

2.6. Klinik Bulgular

Bu virusların özellikle BRSV ve BPIV-3 neden olduğu enfeksiyonlar klinik seyrin yanısıra subklinik seyirli olabilirler. Virus ile enfekte hayvanların beslenme yetersizlikleri, olumsuz çevre koşulları, çeşitli stres faktörleri ve sekonder bakteriyel ve viral enfeksiyonlar ile komplikasyonlar bu virusların yol açtığı hastalıkların prognozunu daha da kötüleştirebilir (Çabalar ve Can-Şahna, 2000).

BRSV ve BPIV-3'ün solunum sisteminde replikasyonu sonucunda alveolar makrofajlar, lenfositler ve hücrelerin mukosiliyer yapıları olumsuz etkilenebilmektedir (Vangeel et al., 2009). Bu viruslar için inkübasyon süresi 1-4 gün arasındadır; çoğu olguda klinik bulgular 3-4 gün içinde ortaya çıkar. Hastalığın erken evrelerinde komplikasyonsuz vakalarda yüksek ateş görülmezken, seröz burun ve konjunktival akıntılar gözlemlenebilir ve bu belirtiler bu virusların varlığına işaret edebilir (Fenner et al., 1987). Hastalığın başlamasını takip eden 4-5 gün içinde ileri evrelerinde yüksek ateş, öksürük, solunum güçlüğü, iştahsızlık, depresyon, hafif

mukoid-mukopurulent burun akıntısı ve bazen de konjuktival akıntı görülebilir (Verhoeff and Van Nieuwstadt, 1984; Carriere et al., 1983). Klinik belirtiler çoğunlukla genç hayvanlarda gözlemlenir. Erişkin hayvanlarda bu bulgular bağışıklık sistemlerinin gelişimine bağlı olarak değişebilir ve/veya hiç görülmeyebilir (Verhoeff and Van Nieuwstadt, 1984).

BoHV-1 genel karakteristik olarak latent seyirli bir enfeksiyondur. Enfeksiyonun formuna göre virus trigeminal ve dorsal ganglionlara yerleşir ve buradan çeşitli faktörlerin etkisi ile aktif hale geçerek dönemsel olarak ya solunum sistemi enfeksiyonu ya da genital sistem enfeksiyonunun neden olur. IBR olarak bilinen hastalık formu BoHV-1 2a alt tipi tarafından oluşturulur. Sığırlarda IBR hastalığında burun akıntısı, bilateral konjunktivit ve köpük içeren yoğun salivasyon en belirgin IBR semptomları arasındadır. Burun mukozasında yoğun hiperemi şekillenmesinden dolayı hastalık “Kırımızı Burun/Red Nose” olarak tanımlanmaktadır. Bu belirgin semptomlar dışında öksürük, ateş, apati, iştahsızlık ve özellikle süt veriminde düşüş diğer semptomlar arasında yer almaktadır. Prognoz açısından bu form genel olarak 14-15 gün arasında hastalığın iyileşmesi ile sonuçlanır. Latent enfeksiyon olması nedeni ile çeşitli stres faktörlerinin takip eden süreçte devreye girmesi ile enfeksiyon tekrarlar. Diğer solunum sistemi viral patojenleri ve sekonder bakteriyel enfeksiyonlar, hastalığın seyrini şiddetli pnömونيye çevirerek ölümle sonuçlanan solunum yolu enfeksiyonlarına neden olabilir (Muykens et al., 2007).

BoHV-1 genital sistem enfeksiyonlarına neden olabilir. Virusun 2b alt tipi ise enfeksiyöz püstüler vulvovaginitis ve/veya enfeksiyöz püstüler balanopostitis ile seyreden enfeksiyonlar oluşturur (Raaperi et al., 2014). BoHV-1 affinite gösterdiği türlerde genital sistem bozuklarına neden olmaktadır. Hastalığın bu formu IPV/IPB olarak tanımlanmakta yoğun hiperemi ile seyreden vulvovaginitis (dişilerde) ve balanopostitis (erkeklerde) dikkati çekmektedir. Özellikle genital formda abortlar ile sonuçlanan vakalar mevcuttur (Zajac et al., 2010; Nettleton et al., 2017). Öte yandan, BoHV-5 sığırların beyin trigeminal ganglionlarına yerleştiği için koordinasyon bozukluğu, kas titremeleri, körlük, dönme, baş dayama, çırpınma hareketleri ve nihayetinde daha ciddi klinik belirtiler gösteren ölümcül meningoensefalite neden olabilir (Gratzek et al., 1966).

2.7. Teşhis

BRDC ile ilgili hastalıkların klinik tanısı için çeşitli tanı yöntemleri uygulanmaktadır. Ayrıca dış muayene ve klinik puanlama yöntemleri uygulanarak yapılan klasik teşhis yöntemleri ise daha fazla kullanılmaktadır. Perino ve Apley (1998) tarafından geliştirilen bir yöntemle BRDC skorlaması yapılarak teşhise gidilmektedir. Bu skorlama 4 kategori içermektedir. Solunum sistemi semptomları kontrol edildiğinde yorgunluk olmadan depresyon olması durumu skor-1, yürüyüşte belirgin bir değişiklik yoksa skor-2, yürüme bozukluğu belirgin ve yoğun depresyon durumu varsa skor-3, ayağa kalkamama ve agoni durumlarında ise skor-4 olarak kabul edilmektedir. Ayrıca lökositoz, nötrofili, fibrinojen ve akut faz protein konsantrasyonu artışı gibi diğer önemli hematolojik bulgular da hastalığın seyri sırasında saptanabilmektedir (Richeson et al., 2013). Fosfor, magnezyum, potasyum, demir, alkalen fosfataz düzeylerinde azalma, bilirubin ve aspartat amino transferaz düzeylerinde artış gibi BRDC ile ilgili diğer biyokimyasal bulgular da hastalık gelişimi için semptom olarak kabul edilmektedir (Martin and Lumsden, 1987).

Radyografi ve ultrasonografi gibi tanısal görüntüleme prosedürleri veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Her iki tanı aracı da pnömoninin antemortem tanısı için gerekli olan invaziv olmayan yöntemlerdir (Ollivett ve Buczinski, 2016). Sığırlarda akciğer hastalıklarının teşhisinde radyografinin kullanılması, ekipman maliyetleri, hayvanı kısıtlamak için anesteziklerin kullanılması ve radyasyona maruz kalma nedeniyle çok pratik bir işlem değildir. Günümüzde alternatif olarak ultrason cihazlarının özellikle BRDC için akciğer hastalıklarının tanısında kullanımı yaygınlaşmakta ve ekonomik hale gelmektedir (Braun, 2009). Flöck, çeşitli akciğer hastalıkları olan sığırlarda yaptığı ultrason çalışmasında, birçok ekojenik yıldız kuyruğu artefaktının varlığına işaret ederek, akciğer ödemi olan hayvanlarda önemli ultrason bulgularını belirtmiştir. Aynı çalışmasında bronkopnömonili sığırların toraks ultrasonunda akciğer yüzey alanının distal bölgesinde küçük bir hipoekoik bölge ve yıldız kuyruğu artefaktı görülebildiğini belirtmiştir. Ayrıca akciğer konsolidasyonunu belli bir alana yayılan hiperekoik ekojenite ve bu yapıyı da karaciğer parankimine benzer bir alan olarak tanımlamıştır. Ayrıca pleural efüzyonlu bir sığırın akciğer ultrason muayenesinde pleural yüzey düzensizliği ve göğüs duvarı ile pleural boşluk arasında hipoekoik ekojeniteye sahip serbest sıvı varlığını saptamıştır (Flöck, 2004).

BRDC içinde yer alan BPIV-3, BRSV ve BoHV-1'in laboratuvar tanısı için en fazla tercih edilen yöntem viral antijenleri ve/veya antikorları tespit eden direkt ve indirekt ELISA teknikleridir. Bu yöntem için ticari olarak geliştirilen çoklu ELISA testleri laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca yukarıda isimleri verilen 3 virus ile ilgili laboratuvarlara gelen şüpheli materyallerden hücre kültürlerinde izolasyon yapılmaktadır. Bu amaçla en yaygın kullanılan hücre kültürü primer fibroblast kültürleridir. MDBK, izolasyon amaçlı kullanılan en yaygın devamlı hücre hattıdır. Şüpheli materyal olarak BPIV-3 ve BRSV için burun sürüntü örnekleri ve eğer ölen hayvan varsa nekropsi sonucu alınan akciğer dokuları viral patojenlerin izole edilmesinde kullanılabilir (Autio et al, 2007). Ayrıca virus/serum nötralizasyon, immunohistokimya, komplement fiksasyon testi, aglütinasyon testi gibi konvansiyonel testler ile PCR ve multipleks PCR yöntemleri gibi moleküler tanı yöntemleri de BRDC'nin içinde yer alan virusları saptamak için kullanılmaktadır (Jamali et al., 2014).

2.8. İmmünite

BRSV ve BPIV-3'e karşı koruyucu bağışıklık tepkisi, farklı rollere sahip humoral (antikor) ve hücresel bağışıklığı içerir. Nötralize edici antikorlar, şiddetli hastalığa karşı koruma ile korelasyon gibi görünse de, hücresel bağışıklığın, akut enfeksiyonu takiben virusun tamamen ortadan kalkması için gerekli olduğu düşünülmektedir. (Makoschey and Berge, 2021).

Koruyucu antikorlarla en çok ilişkilendirilen viral proteinler, sırasıyla BRSV'nin ana yüzey glikoproteinleri G ve F; BPIV-3'ün ise HN ve F'dir. Enfekte sığırlar, bu glikoproteinlerin yanı sıra bazı minör viral proteinlere karşı antikorlar geliştirir (Ellis, 2010; Gershwin, 2012). BRSV ve BPIV-3'ün anti-F antikorlarının hücre penetrasyonunu ve hücre füzyonunu önlediği gösterilmiştir (Makoschey and Berge, 2021), ancak BRSV'nin F proteininin ayrıca nötralize edici olmayan antikorları indükleyen epitopları vardır. Bu durum, patogeneizde komplement aktivasyonunu artırabilir ve BRSV'nin iyileşme sürecine katkıda bulunabilir. (Thomas et al., 1998). Hem saha hem de deneysel koşullar altında, nötralize edici antikorların varlığının (ya annede üretilen ya da daha önceki enfeksiyonlardan kaynaklı) hastalığı tam olarak önlemediği, ancak hem BRSV hem de BPIV-3 proteinleri için hastalığın şiddetini azalttığı gösterilmiştir (Ellis, 2010). Antikor pozitif buzağılarla yapılan bir epidemiyolojik çalışmada, nötralize edici antikor seviyeleri, BRSV ile enfeksiyondan

sonra hastalığın şiddeti ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir (Makoschey and Berge, 2021). İlginç bir şekilde, BRSV F proteinine yönelik sığır monoklonal antikorlarının enfeksiyondan 24 saat önceki intratrakeal uygulaması, gnotobiyotik buzağların akciğerlerini virus enfeksiyonundan korumuştur. (Thomas et al., 1998).

Lokal mukozal IgA ve sistemik IgM ve IgG'den oluşan humoral bir bağışıklık yanıtı, genellikle BRSV veya BPIV-3 ile enfeksiyondan sonraki yaklaşık 1 hafta içinde saptanabilir (Graham et al., 1999; Makoschey and Berge, 2021). Mukozal antikorlar 6 ila 8 haftadan sonra düşük seviyelere inerken, serum antikorları 3 ila 5 ay devam etmektedir. Mukozal ve sistemik IgA ve mukozal IgM ile BRSV'ye karşı güçlü bir ikincil bağışıklık yanıtı, enfeksiyondan 6 gün sonra bile görülebilmektedir (Makoschey and Berge, 2021). BRSV veya BPIV-3 ile yeniden enfekte olma durumunda güçlü bir serum ve mukozal antikor tepkisi ile sonuçlanır. Yüksek konsantrasyonlarda mukozal antikorların hastalığa karşı koruma sağladığı, serum antikorlarının ise hastalık ortaya çıktıktan sonra şiddetini azalttığı kaydedilmiştir. (Ellis, 2010).

Kolostral antikorlar klinik hastalığa karşı kısmi koruma sağlamaktadır; ancak enfeksiyon veya aşılardan sonra aktif humoral bağışıklık yanıtını da baskılayabilir (Makoschey and Berge, 2021).

BRSV'ye karşı hücrel bağışıklığı başlatma mekanizmaları oldukça kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Guzman and Taylor, 2015; Makoschey and Berge, 2021). Birkaç viral protein, T hücresi hedefi olarak tanımlanmıştır. $CD4^+$ T hücreleri için epitoplar, BRSV'nin F ve G proteinleri üzerinde belirlenmiştir (Fogg et al., 2001). $CD8^+$ T hücreleri için M2, F ve N proteinleri ise en önemli hedefler gibi görünmektedir (Cherrie et al., 1992). BRSV enfeksiyonunu takiben akciğerlerde $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücrelerinde artış olur (Antonis et al., 2006). $CD8^+$ sitotoksik T lenfositlerinin, BRSV enfeksiyonun iyileşme sürecinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Gaddum et al., 2003; Makoschey and Berge, 2021). Yapılan in vivo bir çalışmada daha önce aşılanmış buzağlarda BPIV-3 enfeksiyonundan sonra benzer gözlemler yapılmıştır. Alveolar makrofajlar tarafından nötrofil kemotaktik faktörlerin üretimi ve sonuçta akciğerlere nötrofil akışı, kontrol hayvanlarına göre daha hızlı meydana gelerek virusun daha hızlı elimine edilmesine neden olmuştur. (Adair et al., 2000). Ayrıca, hücrel bağışıklığın BPIV-3 enfeksiyonundan sonra hem önemli bir koruma hem de iyileşme mekanizması olabileceği bulunmuştur. Konağın solunum yolu tedavisinde bulunan makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından doğuştan gelen

bir yanıtta sonra, viral antijenlerin T-yardımcı lenfositler tarafından tanınması, BPIV-3 enfeksiyonlarının büyük çoğunluğunu görünmez kılan mekanizmaları tetikleyebilir (Spilki, 2016; Adair et al., 2000). Proinflamatuvar sitokinlerin salgılanması ve CD8⁺ hücrelerinin aktivasyonu, deneysel olarak BPIV-3 ile enfekte olmuş sığırların akciğerlerinde gözlenmiş ve enfeksiyonun iyileşme süreci ile ilişkilendirilmiştir. (Adair et al., 2000).

Doğal veya deneysel BRSV enfeksiyonundan önce inaktif BRSV aşısı ile aşılanmış buzağılarda virusa karşı oluşan immünite daha güçlü hale gelir (Schreiber et al., 2000; Antonis et al., 2010).

BRSV, hastalığın patogeneze katkıda bulunan çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin indüklenmesiyle sonuçlanan doğuştan gelen bağışıklık tepkisini aktive eder (Valarcher and Taylor, 2007; Antonis et al., 2010). Ayrıca, BRSV'nin bir CD8⁺ T sitotoksik hücre tepkisinin stimülasyonunu hafifletmek ve bunun yerine Th2 tepkisini teşvik etmek için doğal ve sonradan kazanılmış bağışıklık tepkisini modüle edebildiği gösterilmiştir (Gershwin, 2012).

İnsan ve sığır RSV enfeksiyonlarında NS1 ve NS2 proteinleri, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin ana antiviral savunma mekanizmalarından biri olan tip 1 İnterferon'un (IFN) indüklenmesini baskılar. Ayrıca, NS proteinleri, virusun tip I IFN'lerin antiviral etkilerine karşı direncini sağlamaktadır. G protein, doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık tepkisinin bileşenlerini modüle ederek BRSV'ye özgü bağışıklık tepkisinde bir azalmaya yol açabilir (Valarcher and Taylor, 2007; Pollock et al., 2017). Bu immün modüle edici özellikler, iki proteinden birini kodlayan genlerin silinmesinin neden buzağılarda zayıflamaya yol açtığını açıklayabilir (Taylor et al., 2014). Doğal enfeksiyonun yeniden enfeksiyonu önlemedeki başarısızlığı, BRSV'nin konağın bağışıklık yanıtını baskılama kapasitesiyle ilişkili olabilir. (Makoschey and Berge, 2021).

Sığırlarda özellikle IgG2 nötralize edici antikorlar ve hemaglutinasyonu inhibe eden antikorlar, iyileşen hayvanların serumunda saptanabilir (Chamorro et al., 2014). BPIV-3 enfeksiyonunda tekrar indüklenen klinik belirtilerin başlamasına karşı koruma, yüksek nötralize edici antikor titreleri ve bir bellek hücresel bağışıklık tepkisinin varlığı ile ilişkilidir (Spilki, 2016; Adair et al., 2000). Mukoz membranların bağışıklığı, özellikle IgA aracılı, reenfeksiyona karşı korunmada da önemli görülmektedir. Bununla birlikte, bağışıklık genellikle geçicidir ve hayvanlar birkaç ay sonra yeniden enfeksiyona duyarlı hale gelebilir. (Lee et al., 2001).

BoHV-1'e karşı aşılanmış annelerden kolostrum alan yavru­larda yeterli seviyede koruyucu antikor bulunur ve kolostrum yoluyla alınan antikor miktarına bağlı olarak maternal antikorlar yavruyu ilk birkaç ay korur (İşcan, 2010). Doğumdan sonraki ilk saatlerde kolostrum alamamış yavru­larda ve kolostrum yolu ile az antikor alan yavru­larda hastalık daha şiddetli ve sistemik seyredebilir. BoHV-1 enfeksiyonlarının iyileşmesinde humoral immün yanıtın önemli bir yeri vardır. Hücre­sel immün yanıt ise daha çok tekrarlayan enfeksiyonları engellemeye çalışır (Yıldırım vd., 2011). Vücutta BoHV-1 enfeksiyonuna karşı gelişen ilk yanıt spesifik olmayan yangısal ve hücre­sel reaksiyondur. Viral replikasyonu takiben indüklenen interfeon (IFN) salınımı ve komplement aktivasyonu nonspesifik mekanizmalar arasındadır (Babiuk et al., 1996). Bunun sonucunda, erken sitokin salınımı, polimorf nükleer nötrofiller, makrofajlar, doğal katil hücreleri (Natural Killer Cells-NK) ve büyük granüler lenfositler gibi hücrelerin aktivasyonuna sebep olur. Nonspesifik olarak aktive olan immün sistem hücreleri BoHV-1'e karşı spesifik immün yanıtın başlamasında önemli bir yer tutar (Muylkens et al., 2007).

Spesifik hücre­sel immün yanıt, enfeksiyonu takip eden 5. gün oluşur ve enfeksiyondan sonraki 7-10 günde en yüksek düzeye çıkar. BoHV-1 enfeksiyonlarına karşı oluşan hücre­sel immün yanıt; makrofajların, interleukin (IL)-2, IFN-gama üretiminin ve doğal öldürücü hücrelerin (NK) aktivitelerinin, viral gC ve gD spesifik CD4⁺ T-hücre farklılaşmasının ve aynı zamanda sitotoksik T lenfosit aktivitelerinin uyarılmasının kontrolü altındadır (Abril et al., 2004; Muylkens et al., 2007). Majör tegument proteinlerine ek olarak gB, gC ve gD proteinleri proliferatif yanıtta ve hücre­sel immün yanıtta önemli rol oynar. Ayrıca bu proteinler üzerindeki epitoplara CD4⁺ T lenfositlerini stimüle ederek bu hücrelerin aktivasyonunu sağlarlar. BoHV-1 enfeksiyonunda yardımcı T1 ve T2 hücreleri temel yanıtı vermesine karşın, diğer hücre içi patojenlerde bu yanıt yardımcı T1 hücreleri ile olur. (Babiuk et al., 1996; Mena et al., 2002). Spesifik humoral immün yanıt, enfeksiyonun 10. gününden itibaren belirlenebilir. Enfeksiyon sonrasında kanda farklı türden immünglobulinler tespit edilebilir. IgA ve IgM ikinci hafta sonunda maksimum titreye ulaşırken, bu oran IgG de ise 2-4 haftayı bulmaktadır. Antikor tepkisi genellikle nötralize edilen antikorları içerir ve antiviral antikor bağımlı hücre­sel sitotoksositeye yol açar. BoHV-1 enfeksiyonundan üç yıl sonra dahi antikorların varlığı bildirilmiştir (Muylkens et al., 2007; İşcan, 2010).

2.9. Korunma ve Kontrol

Sığırlarda BRDC içinde yer alan patojenlerin neden olduğu hastalıklar ile mücadelede iyi beslenme, aşılama süreçleri, stres faktörlerinin azaltılması, biyogüvenlik kurallarına uyulması ve yeterli hava sirkülasyonu sağlanması gibi birçok önemli faktörün yerine getirilmesine ihtiyaç vardır (Gorden and Plummer, 2010). BRDC hastalıkları ile daha iyi ve daha etkin mücadele için kullanılan aşılara güncellemek için yeni teknolojilerden yararlanıldığı süreçlere devam etmek gereklidir (Hilton, 2014).

1970'lerin sonlarında başlayan BRDC içinde yer alan viral patojenleri için farklı aşılar geliştirme çalışmaları başarılı kabul edilebilir ve çeşitli intranazal, parenteral modifiye canlı ve inaktive kombine aşılarda ticari olarak bulunabilirliği ile sonuçlanmıştır (Brodersen, 2010). Günümüzde uygulamalı aşı araştırmalarının ana odak noktası, aşılarda BRDC içinde yer alan patojenlere karşı antikor pozitif buzağılarda kullanılmasıdır (Ellis, 2010).

BoHV-1 enfeksiyonlarının kontrolünde marker ve multivalan gibi çok çeşitli aşı türü kullanılmaktadır. Canlı virus aşılarda intranazal yolla uygulandığında latent enfeksiyona veya latent virusun reaktivasyonuna ve abortlara da neden olabilmektedir. İnaktif aşılarda immunsupresyona, latentliğe ve abortlara neden olmadığından canlı aşılara göre daha güvenlidir. 10-14 gün ara ile 2 doz uygulaması önerilen inaktif aşılarda, ikinci doz aşı uygulandıktan sonra yaklaşık 7-10 gün içerisinde korumaya başlar (Patel, 2005). Marker aşılarda bazı viral gen bölgelerinin delesyonu ile oluşturulur. BoHV-1'in eradikasyonunu amaçlayan ve gE(-) marker aşılarda kullanımı temeline dayanan kontrol programları birçok Avrupa ülkesinde uygulanmaktadır. Çünkü bu aşılarda doğal enfekte hayvanlar ile aşılanmış hayvanların birbirinden ayırma olanak sağlamaktadır (SCAHAW, 2000; Ackermann and Engels, 2006). Multivalan kombine aşılarda ise BoHV-1'in yanında BVDV, BRSV ve BPIV-3 antijenlerinin yanısıra bazı bakteri suşları içerecek şekilde oluşturulmuş ve bu aşılarda ile farklı viral enfeksiyonlara karşı aynı anda korunma sağlanması amaçlanmaktadır. Bu ticari aşılarda çoğu inaktive edilmiş virusları içerir. Ayrıca son günlerde bu virusları içeren kombine canlı zayıflatılmış aşının kullanımına izin verilmiştir (Mars et al., 2000; Yılmaz vd., 2022).

Çeşitli antibiyotikler, zaman zaman BRDC içinde yer alan viral patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlarda sekonder bakteriyel enfeksiyonların önüne geçmek amacı ile terapötik ve profilaktik amaçlar için kullanılmıştır. Yaygın olarak kullanılan

antibiyotik ilaçlar penisilin (Mechor et al., 1987), enrofloksasin (Hamm et al., 1999), oksitetrasiklin (Keita et al., 2007), seftiofur sodyum (Hibbard et al., 2002), levofloksasin (Dumka and Srivastava, 2006), florfenikol, tulatromisin (Perrett et al., 2008; Arslan vd., 2010), marbofloksasin (Grandemange et al., 2012) ve klinafloksasindir (Sweeney et al., 2013).

Çiftlikte solunum yolu hastalığı için buzağların rutin olarak taranması nadiren yapılmaktadır (McGuirk and Peek, 2014). BRDC'yi önlemek için mevcut olan aşılar geliştirme çabaları devam etmektedir (Hilton, 2014). Ek olarak, bir nitrik oksit salma solüsyonu (NORS) geliştirilmiş ve BRDC'nin önlenmesinde potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (Sheridan et al, 2016). Öte yandan, sütten kesme öncesi ve sonrası prosedürleri bilinen tek kaynaklı sığır satın almak, viral patojene maruz kalmayı en aza indirebilir ve bağışıklığı artırabilir. Sığır taşıma tekniklerinin ve stresi azaltan tesislerin kullanılması, konakçı bağışıklık savunmasının bakteriyel ve viral kolonizasyona karşı etkili kalmasını sağlayacaktır. Ayrıca, BRDC'nin kontrolü, operasyonda yaygın olan hastalık zorluklarını etkili bir şekilde ele alan kapsamlı bir sürü sağlığı bağışıklama ve yönetim programı aracılığıyla yönetilmelidir (Lee et al., 2001; Edwards, 2010).

2.10. Amaç

Bu tezin amacı ve gerekçesi:

Bu tez çalışması ile BRDC içinde yer alan üç majör viral patojen, BPIV-3, BRSV ve BoHV-1 tarafından oluşturulan enfeksiyonların serolojik varlığının Orta Karadeniz Bölgesinde araştırılmasını hedeflenmektedir. Araştırmada Orta Karadeniz Bölgesi'nin Samsun il ve ilçelerinde ölümle sonuçlanan BRDC vakalarından izolasyonu ve karakterizasyonu yapılan yerli izolatlar kullanılmıştır. Bu lokal izolatların varlığını ve geçmişten günümüze olan sirkülasyonunu, bu bölgede yer alan 5 ilde (Samsun, Ordu, Amasya, Giresun ve Tokat) aile işletmelerinden 2018 yılından itibaren toplanan sığır ve koyun serumlarında kapsamlı olarak araştırılması ve bu önemli virusların seroprevalansının tespit edilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca geçmişten günümüze BRD kompleksi içinde yer alan bu üç viral patojenin mevcut durumunu ortaya koymak amaçlanmıştır. Enfeksiyonu bulaştırmada taşııcı ya da rezervuar olarak rol oynadığı düşünülen koyunlarda, virusların sirkülasyonunun olup olmadığı hakkında bilgi edinilmesi ve sürü sağlığı açısından risk oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi de hedeflenmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Örnekleme Bölgesi ve İlleri

Bu doktora tez çalışması Şekil 3.1'de gösterildiği gibi Türkiye'nin kuzeyinde yer alan coğrafi olarak Samsun, Amasya, Tokat Ordu illerini kapsayan Orta Karadeniz illeri ile Giresun ilinde yer alan aile işletmelerinden örnekleme yapılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Araştırmanın yapıldığı illerin konumu

3.1.2. Kan Örneklerin Toplanması

Araştırma için kullanılan sığır ve koyun kan serumları Tarım ve Orman Bakanlığı Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim dalında bulunan 2018-2021 arasında yukarıda belirtilen beş ilde yetiştirilen büyükbaş ve küçükbaş hayvanlardan rutin muayene için toplanan serumlardan temin edilmiştir. Bu tez çalışmasında örnekleme Tablo 3.1.'de görüldüğü üzere 1000 adedi sığır 750 adedi koyun olmak üzere toplam 1750 serum numunesi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan serumların alındığı hayvanların:

- BRDC içinde yer alan viral patojenlere karşı aşılanmamış olmasına
- Sığırların 1 ve daha yukarı yaşta ve koyunların 6 ay ve yukarı yaşta olmasına dikkat edilmiştir.

Tablo 3.1. Toplanan serum örneği sayılarının illere ve hayvan türlerine göre dağılımı

Örnekleme Yapılan İller	Sığır	Koyun	Toplanan örneği
Amasya	200	150	350
Giresun	200	150	350
Ordu	200	150	350
Samsun	200	150	350
Tokat	200	150	350
Total Serum Örnekleri	1000	750	1750

3.1.3. Serum Örneklerinin Hazırlanması ve Stoklanması

Araştırma kapsamında yer alan illerde bulunan aile işletmelerinde ve farklı çifliklerde yetiştirilen sığır ve koyunlardan silikon tüplere alınan kan örnekleri soğuk zincir altında Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı laboratuvarlarına getirildi. Kan örnekleri 2500X rpm'de 15 dakika soğutmalı santrifüj (Nüve, Türkiye) ile santrifüj edilerek serumun ayrılması sağlandı. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra üst kısımda oluşan serumdan 2 ml hacminde steril mikrotüplere (Eppendorf, Almanya) alındı; 56°C'de 30 dakika inaktive edildi ve testlerde kullanılıncaya kadar -20 °C'de derin dondurucuda (Beko, Türkiye) muhafaza edildi.

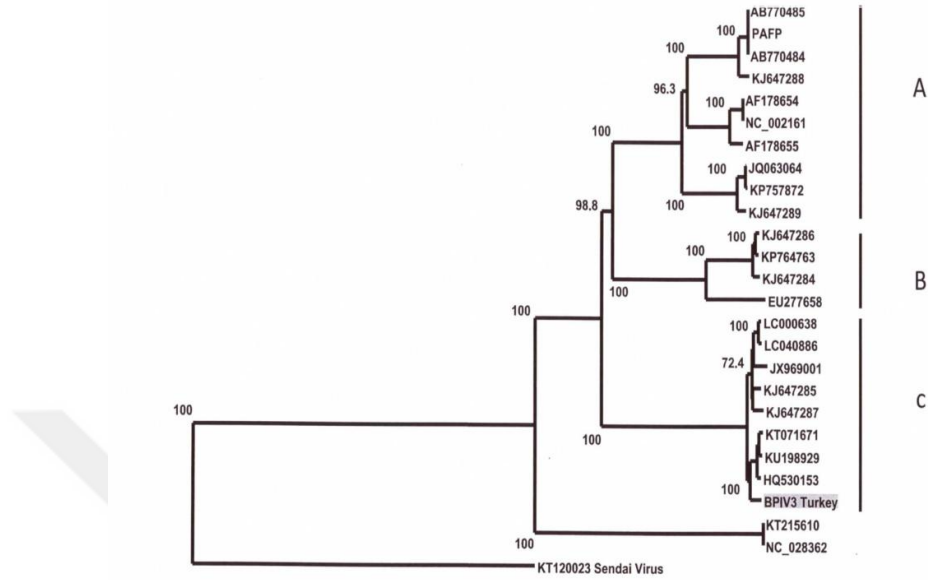
3.1.4. Hücre kültürü

Bu çalışmada kullanılan tüm izolatların (BPIV-3c, BRSV ve BoHV-1) enfektivite güç tayininde ve nötralizasyon testlerinde belirtilen viral patojenler için ideal olan sığır böbrek epitel hücresi olan devamlı MDBK (Madin Darby Bovine Kidney - MDBK) hücre hattı kullanıldı. Araştırmada kullanılan hücreler çalışmanın gerçekleştirildiği Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı hücre kültürü ve virus stok koleksiyonundan temin edildi. Hücre hatları ve tüm sarf malzemeleri kullanılmadan önce sitopatojenik olmayan pestivirus enfeksiyonundan arı olduğu, ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi ile doğrulanmıştır (Yazıcı vd., 2017).

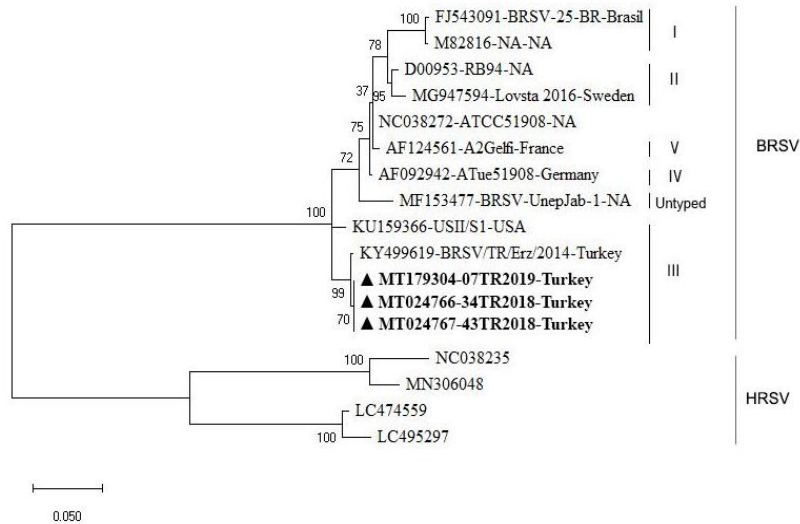
3.1.5. Viruslar

BRDC içinde yer alan önemli viral patojenler olan, BPIV-3c, BRSV ve BoHV-1, son yıllarda Orta Karadeniz Bölgesi'ndeki çeşitli illerde tespit edilmiştir. Bu çalışmada Samsun'da şiddetli alt solunum yolu enfeksiyonlarından ölen sığırlardan alınan akciğer dokularından izolasyonu ve identifikasyonu yapılan BPIV-3c, BRSV

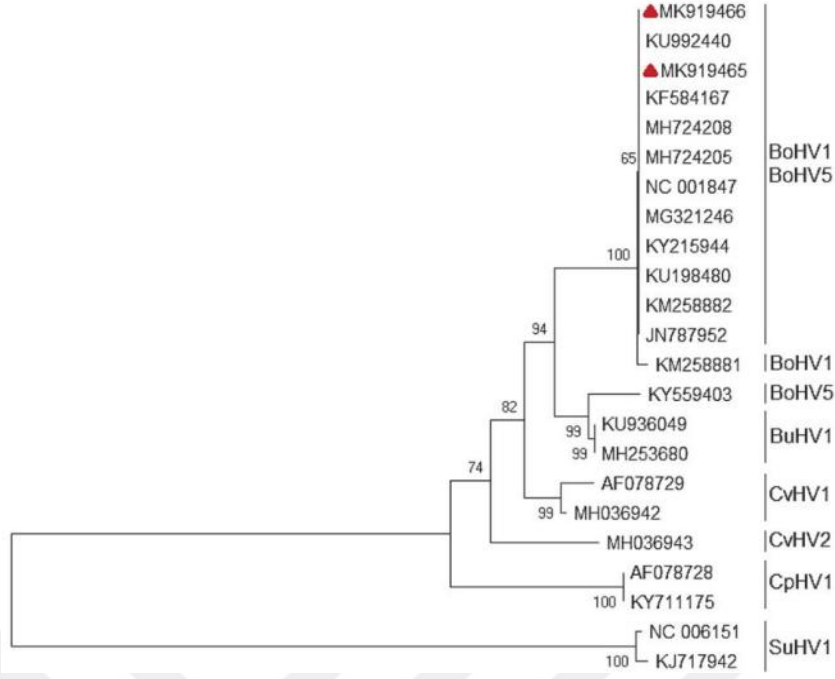
ve BoHV-1 izolatları kullanılmıştır (Yazıcı vd., 2020; Albayrak vd., 2019; 2020). İlgili izolatların orijinleri aşağıda verilen filogenetik analizlerde belirtilmiştir (Şekil 3.2., 3.3. ve 3.4.).



Şekil 3.2. Türkiye'de ilk yerli BPIV-3c izolatının filogenetik analizi (gri olarak vurgulanmış, MH357343 kayıt numarasıyla GenBank'a yüklendi ve genotip C olarak belirlendi). Bu Ağaç MEGA X yazılımı ile maksimum olabilirlik yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur (Albayrak dv. 2019)



Şekil 3.3. Yerli BRSV izolatının filogenetik analizi (3. kalın ▲ ile işaretlenmiştir). Bu ağaç MEGA X yazılımı ile maksimum olabilirlik yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur. Filogenetik ağaca göre, mevcut suşumuz alt grup III'te yer almıştır. Bu BRSV dizileri, GenBank erişim numaraları, suş adları ve coğrafi kökenleri kullanılarak adlandırıldı. NA: Mevcut değil. (Yazıcı vd., 2020)



Şekil 3.4. Yerli BoHV-1 izolatının filogenetik analizi (2. koyu kırmızı üçgenle işaretlenmiştir ve erişim numarası (MK919465) ile Gen bankasına kaydedilmiştir). Filogenetik ağacı MEGA X yazılımı ile maksimum olabilirlik yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur. (Albayrak vd., 2020)

3.1.6. Vasatlar ve Besiyerleri

Hücre hatlarının kültürasyonu, viruslarının üretilmesi ve devamlılığının sürdürülebilmesi amacı ile ticari Dulbecco's Modified Essential Medium (DMEM, Gibco, Birleşik Krallık) olarak bilinen besiyeri %10 fetal serum (FCS, Biological Industrial, İsrail) ve %1 antibiyotik solüsyonu olarak penisilin ve streptomisin (Biological Industrial, İsrail) katkı maddeleri eklenerek hazırlandı. Ayrıca, hücre hatlarının subkültürlerinin yapılabilmesi için proteolitik enzim olarak ticari Tripsin-EDTA solüsyonu (Gibco, Birleşik Krallık) kullanıldı.

Kullanılan tüm besiyerlerinin, antibiyotik solüsyonunun, fetal serumun ve Tripsin-EDTA solüsyonu sitopatojenik olmayan (ncp) pestivirus kontaminasyonu riski yönünden ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi kullanılarak test edildi ve pestivirus suşları kontaminasyonu olmadığı tespit edildi (Yazıcı vd., 2017).

3.2. Metot

3.2.1. MDBK Hücre hatlarının üretilmesi

Araştırmada kullanılan MDBK hücre hatları subkültür işlemi ile çoğaltıldı ve çalışmada kullanılmak üzere stok oluşturuldu. Bu hücre stoğunun oluşturulmasında MDBK hücre hatları 75 cm² üreme yüzeyi olan ve 200 ml hacimli tek kullanımlık (disposable) steril hücre kültürü şişelerinde (TTP, İsviçre) %10 oranında FCS içeren DMEM kullanılarak tek tabaka (monolayer) olacak şekilde subkültürleri yapıldı; virusların üretilmesinde, enfeksiyözite güç tayininde ve nötralizasyonlarda kullanılmak üzere -80°C'lik derin dondurucularda saklandı.

3.2.2. Viral Patojenlerin Üretilmesi

Bu doktora tez çalışmasında bölgemizde izole edilen BPIV-3c (MH357343), BRSV (43TR2018) ve BoHV-1 (TRSAMSUN2019/4B) yerli izolatları kullanıldı ve bu izolatlar *in vitro* olarak MDBK hücre hatlarında aşağıda verilen protokole göre üretildi ve stoklandı. Bu amaçla hücre kültürlerinde tek kullanımlık 75 cm² üreme yüzeyine ve 200 ml hacime sahip steril polistiren MDBK hücre hattı şişeleri kullanıldı.

3.2.2.1. Protokol

- Çalışmada kullanılan 3 yerli virus izolatının üretilmesi ve pasajlanması amacı ile aynı protokol ve aynı hücre kültürü kullanıldı. Virus üretilmesinde adsorbsiyonlu virus ekimi yöntemi kullanıldı.
- İlk aşamada MDBK hücre hatlarının %10 oranında FBS ve %1 oranında antibiyotik içeren DMEM besi yeri kullanılarak üretilde ve geleneksel protokol uygulanarak subkültürü yapıldı.
- Subkültür işlemini takip eden 18-24 saat içinde hücre hatları kontrol edildi ve %85-90 oranında tek tabaka (monolayer) olan hücre hatları virus inokulasyonu için kullanıldı.
- Bu işlem için MDBK hücrelerin besi yeri dökülerek uzaklaştırıldı ve hücre yüzeyi 3-4 ml PBS ya da serum içemeyen DMEM ile iki defa yıkanarak metabolizma atıkları uzaklaştırıldı.
- Hücre hattı şişesi içine hacminin %1 oranında BPIV-3c (MH357343), BRSV (43TR2018) ve BoHV-1 (TRSAMSUN2019/4B) yerli izolatları hücre yüzeyine inokule edildi.

- İnkubasyon için ise BPIV-3c ve BRSV için 60 dakika; BoHV-1 için ise 60 ile 90 dakika arası 37°C’de adsorbsiyona bırakıldı.
- İnkubasyon işlemi sona erdikten sonra inokule edilen viruslar uzaklaştırılarak hücre hattı şişe hacminin %10’u oranında olacak şekilde FBS içermeyen DMEM besi yeri ilave edildi ve 37°C’de inkubasyona bırakıldı. Virusların üremesi sırasında oluşan sitopatolojik etkiyi (CPE) tespit edebilmek amacı ile her gün doku kültürü mikroskobu (Olympus, Japonya) ile kontrol edildi.
- MDBK hücre hatlarında viruslar tarafından %80-85 oranında CPE oluşumları değerlendirildiği zaman virus içeren hücre hattı şişeleri derin -80°C’lik derin donduruculara kaldırılarak donduruldu ve 3 saat sonra 37 °C’de çözöldü.
- Çözme ve Dondurma işlemi 3 kere yapıldıktan sonra virus içeren süspansiyonlar steril tek kullanımlık 50 ml hacimli polisteren tüplere alındı ve ile soğutmalı santrifüj kullanılarak 3000 rpm devirde, 10 dakika süre ile çevrildi.
- Santrifüj işlemi sonucunda süpernatant 0.22 µm filitrelerinden (Milipor, ABD) geçirildi, ve 1 ml porsiyonlar şeklinde steril eppendorf tüplere (Eppendorf, Almanya) bölünerek -80°C’lik derin donduruculara kaldırıldı.

3.2.3. Geleneksel Mikrotitrasyon Yöntemiyle Yerel İzolatların Enfeksiyözite Gücünün Belirlenmesi

Çalışmamızda kullanılan ve MDBK hücre kültürlerinde üretilen BPIV-3c (MH357343), BRSV (43TR2018) ve BoHV-1 (TRSAMSUN2019/4B) lokal izolatların enfeksiyözite gücü standart Frey and Liess (1971) tarafından bildirilen geleneksel mikrotitrasyon yöntemiyle Doku Kültürü Enfektif Doz (DKID₅₀/ml) olarak belirlendi.

3.2.3.1. Protokol

- Viral patojenlerin 10⁻¹ ile 10⁻¹⁰ değerleri arasında 10 katlı (Log₁₀) dilüsyonları yapıldı. Bu işlem için 96 kuyucuklu düz tabana sahip steril mikrotitrasyon tablaları (plate) kullanıldı (TPP, İsviçre). Mikrotitrasyon tablalarında (plate) her dilüsyon basamağı için 4 kuyucuk işaretlendi. Her virus izolatu için aynı mikrotitrasyon tablası kullanıldı.

- İlk olarak dilüsyonlar için seçilen tüm kuyucuklara çok kanallı otomatik pipet yardımı ile **90** µl FBS içermeyen DMEM konuldu.
- İlk dört kuyucuğun her birinin içerisine **10** µl viral izolat ilave edildi, homojenize etmek için pipetasyon işlemi ile karıştırıldı ve ilk dört kuyucuk içinde virusların 1/10 dilüsyonları elde edildi.
- İlk dört kuyucuktan **10** µl çekilerek bir sonraki dört kuyucuğa aktarıldı ve pipet ile dikkatlice homojenize edildi. Son sulandırma basamağına kadar (10.sıra) bu işleme devam edildi ve seri sulandırmayı takiben son sulandırma basamağının kuyucuklarından **10** µl dışarıya atıldı. Böylece 10^{-1} ile 10^{-10} değerleri arasında seri dilüsyonu gerçekleştirildi.
- Ayrıca, dört kuyucuk hücre kontrol olarak seçildi. Bu kuyucukların her birisine 100 µl FBS içermeyen DMEM konuldu. Aynı şekilde dört kuyucuk virus kontrol amacıyla seçildi. Bu kuyucukların her biri içine 50µl saf virus (lokal suşlarından) konuldu ve üstüne 50µl FBS içermeyen DMEM ilave edildi.
- Otomatik hücre sayım cihazı (Biorad, ABD) ile sayılarak 3×10^4 hücre/ 0.1 ml olacak şekilde hazırlanan MDBK hücre süspansiyonundan tüm test gözlerin üzerine 100µl hacimde konuldu. Teste kullanılan pleytlerin üzeri şeffaf bant ile kapatıldı, sonra 37°C, %5 CO₂'li ve %95 nem içeren ortamda (Nüve, Türkiye), 3 gün süre ile inkube edildi. Her gün içerisinde CPE yönünden kontrolü yapıldı.
- Inkubasyon süresi sonunda virusun DKID₅₀ değeri Reed and Muench (1938)'un bildirdiği formüle göre hesaplandı.

3.2.4. Mikronötralizasyon Metodu

Bu çalışmada, toplanan serum örneklerinde BPIV-3c (MH357343), BRSV (43TR2018) ve BoHV-1 (TRSAMSUN2019/4B) spesifik nötralizan antikorlarının araştırılması amacı ile Frey and Liess (1971) tarafından geliştirilen standart mikronötralizasyon yöntemi kullanıldı. Test 96 kuyucuklu steril mikrotitrasyon tablalarında (pleyt) gerçekleştirildi.

3.2.4.1. Protokol

- Her şüpheli serum örneği için 96 gözlü mikrotitrasyon tablalarında iki kuyucuk seçildi ve bu kuyucuklara serum numunelerinden 50 µl konuldu.
- Çalışmada kullanılan viral patojenler 100 DKID₅₀ oranında konsantre edildi.
- 100 DKID₅₀ oranında konsantre edilen viral patojenlerden 50 µl her kuyucuğa eşit hacimde ilave edildi ve olası bir virus-antikor nötralizasyonu sağlamak amacıyla titrasyon protokolünde verildiği viral patojenlere göre değişmek üzere 60-90 dakika süre ile 37°C, %5 CO₂'li ve %95 nem içeren inkubatörde inkubasyona bırakıldı.
- Süre sonunda 3x10⁴ hücre/ 0.1 ml olacak şekilde hazırlanan MDBK hücre süspansiyonu her test gözüne 100 µl hacimde ilave edildi.
- Pleytler 37°C, %5 CO₂'li ortamda üç gün süreyle inkübe edildi ve sonra test sonuçları değerlendirildi.

3.2.4.2. Sonuçların Değerlendirilmesi

Bu metodun sonuçlarının değerlendirilmesi testin uygulanmasından üç gün sonra doku kültürü mikroskobu kullanılarak yapıldı. Burada kriter olarak viral patojenlerin oluşturdukları CPE alındı. CPE tespit edilmeyen (CPE -) kuyucuklarda yer alan serum numuneleri viral suşları için homolog olan ve viruslar üremesini inhibe eden antikorları taşıdığı için nötralizasyon testi pozitif (NT +) olarak kabul edildi ve seropozitif olarak değerlendirildi. CPE görülen (CPE +) gözlerde ise serum örneklerinin taşıdığı antikorlar ve viral suşlar birbirleri için spesifik olmaması nedeni ile virusların ürediği ve üremelerinin bloke edilmediği kabul edilerek nötralizasyon negatif (NT -) olarak ve seronegatif olarak değerlendirildi.

3.2.5. Serum Nötralizasyon 50 (SN₅₀) Metodu

Araştırma sonucunda nötralizasyon testinin değerlendirilmesi ile seropozitif olarak tespit edilen serumlara antikor titre değerlerini tespit etmek amacı ile SN₅₀ testi uygulandı. Bu test ile BRDC içinde yer alan lokal viral izolat enfeksiyonlarının geçirildiği dönem hakkında bilgi edinilmesi amaçlandı.

3.2.5.1. Protokol

- Seropozitif olarak tespit edilen serumların 1/4 ile 1/1024 değerleri arasında iki katlı dilüsyonları yapıldı.
- Bu amaçla 96 kuyucuklu mikrotitrasyon tablasında (TPP, İsviçre) her sulandırma basamağı için 2 kuyucuk seçildi.
- 96 kuyucuklu tablanın tüm kuyucuklarına çok kanallı pipet yardımı ile 75 µl serum içermeyen DMEM vasatı konuldu.
- İlk sırada yer alan kuyucuklara her serum numunesi için iki kuyucuk olacak şekilde ve her bir serum numunesinden 25 µl konuldu ve dikkatlice karıştırıldı ve böylece virusun 1/4 dilüsyonu elde edildi.
- Çok kanallı pipet 50µl oranına ayarlandı ve ilk kuyucuklardan 50 µl çekilerek ikinci sıradaki kuyucuklara aktarıldı ve dikkatlice karıştırıldı. Bu işlem son dilüsyon basamağına kadar devam ettirildi ve son dilüsyon basamağının kuyucuklarından sulandırmayı takiben 50 µl atıldı.
- Tüm gözlerin üzerine 3×10^4 hücre/ 0.1 ml olacak şekilde hazırlanan MDBK hücre süspansiyonu her test gözüne 50 µl hacimde ilave edildi. Tablanın üzeri şeffaf bant ile kapatıldı ve 37°C, %5 CO₂'li ortamda 3 gün süre ile inkube edildi. Her gün CPE yönünden kontrolü yapıldı ve sonuçlar okundu.

3.2.5.2. Sonuçların Değerlendirmesi

Virus üremesini durduran ve hücrede herhangi bir sitopatolojik değişiklik göstermeyen CPE (-) serum örnekleri, aranan antikor yönünden pozitif, virus üremesine bağlı olarak hücrede sitopatolojik değişiklikler oluşturan CPE (+) serum örnekleri ise aranan antikor yönünden negatif olarak değerlendirildi. Antikor yoğunluğunu tespit etmek amacıyla enfekte edilen gözlerin yarısında virus üremesinin durduğu serum sulandırma basamağı virusa karşı pozitif olan serumun antikor titresi olarak değerlendirildi.

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Bu doktora tez çalışması sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi için GraphPad Prism (GraphPad versiom 5.0, ABD) paketi kullanıldı. Ortalamalar arasındaki farkın önemi değerlendirilerek ki-kare analizleri ile

test edildi ve $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (Corder and Foreman, 2014).



4. BULGULAR

4.1. Örneklerin Toplanması

Bu tez çalışması kapsamında Orta Karadeniz Bölgesi illeri Samsun, Ordu, Amasya, Giresun ve Tokat'ta bulunan işletmelerden 2018-2021 yılları arasında toplanıp stoklanan sığır ve koyun arşivlenmiş toplam 1750 serum numunesi ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.1.'de verildiği gibi serumların illere göre dağılımı, her ilden 200 sığır ve 150 koyun numunesi olacak şekilde dengeli bir dağılım hedeflenmiştir.

Hayvan sahiplerinin verdikleri anamnez bilgilerinde örnekleme yapılan hayvanların hiçbirinin sığırların solunum sistemi hastalıkları kompleksinde yer alan patojenlere karşı aşılanmadığı belirtilmiştir. Örnekleme yapılmadan önce klinik muayene işlemlerini gerçekleştiren veteriner hekimler hayvanlarda herhangi bir hastalık bulgusu gözlenmediğini beyan etmiştir.

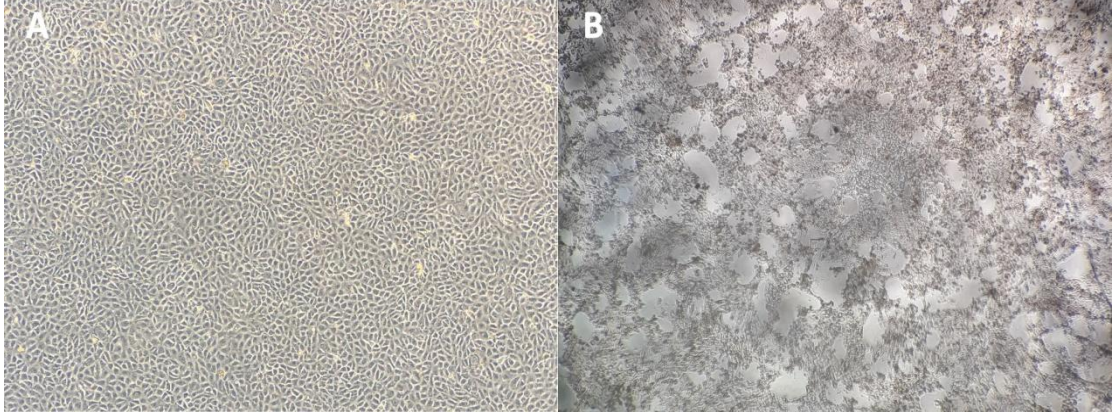
Tablo 4.1. Örneklenen hayvan türleri ve illeri

Hayvan türü	Örnekleme Yapılan İller					Toplam(%)
	Amasya	Giresun	Ordu	Samsun	Tokat	
Sığır	200	200	200	200	200	1000(47.14)
Koyun	150	150	150	150	150	750(42.86)
Toplam (%)	350(20.00)	350(20.00)	350(20.00)	350(20.00)	350(20.00)	1750(100.00)

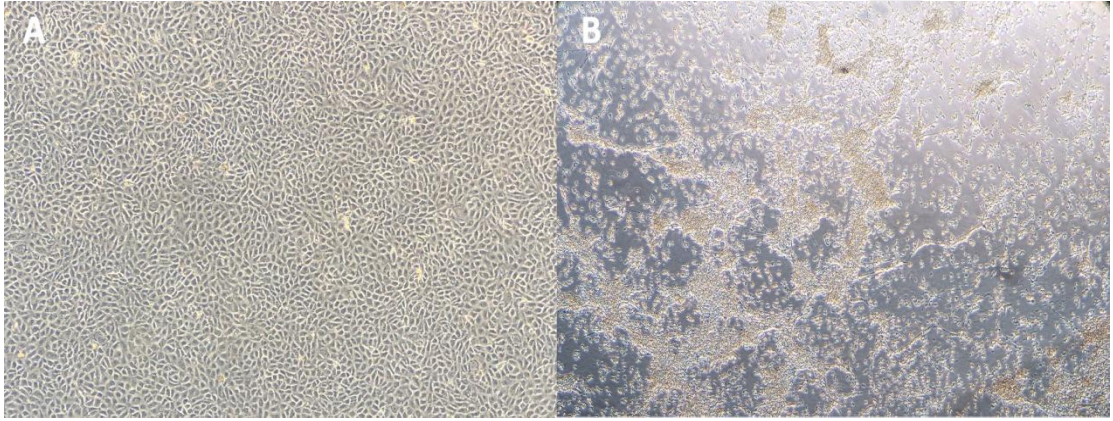
4.2. Virusların Üremesi ve Enfektive Güç Tayinleri

Araştırmamızda kullanılan yerli viral izolatlarımız BPIV-3c (MH357343), BRSV (43TR2018) ve BoHV-1 (TRSAMSUN2019/4B) MDBK hücre kültürlerinde inokulasyonları sonucunda virusların 48-72 saat içinde %85-90 izleyen CPE oranına ulaştığı tespit edilmiştir (Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3).

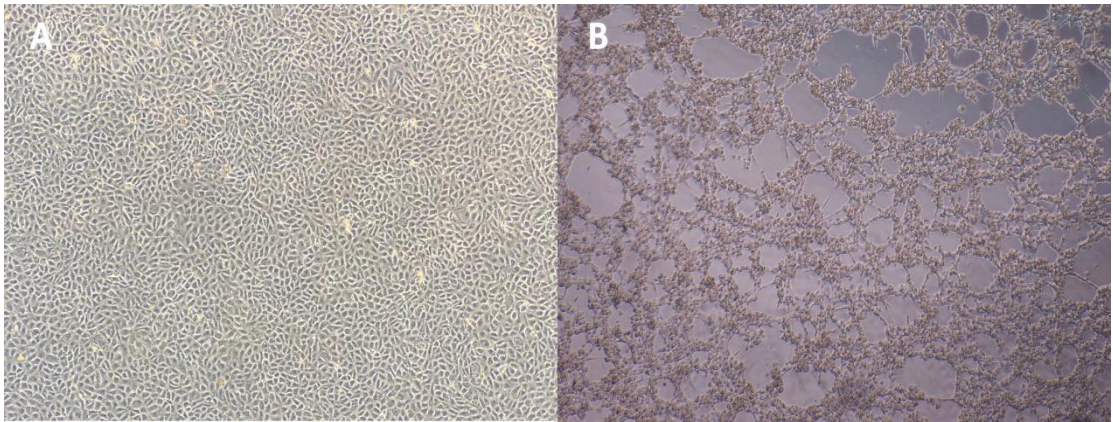
Viral patojenlerin üremesini takiben enfeksiyözite güç tayini için yapılan miktotitrasyon testi sonucunda elde edilen titre değerleri Reed and Muench (1938)'un uyguladığı formül kullanılarak BPIV-3c (MH357343) için $10^{-6,75}$, BRSV (43TR2018) için $10^{-6,25}$ ve BoHV-1 (TRSAMSUN2019/4B) için $10^{-7,5}$ DKID₅₀/ml olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan yerli izolat BPIV-3c (MH357343) için doku kültürü mikroskobu ile çekilen görüntüler (10x, Olympus, Japan). A: MDBK Hücre hattı kontrolü B. BPIV-3c (MH357343) izolatının hücre kültüründeki 72 .saat sonunda görülen CPE



Şekil 4.2. Çalışmada kullanılan yerli izolat BRSV (43TR2018) için doku kültürü mikroskobu ile çekilen görüntüler (10x, Olympus, Japan). A: MDBK Hücre hattı kontrolü B. BRSV (43TR2018) izolatının hücre kültüründeki 72. saat sonunda görülen CPE



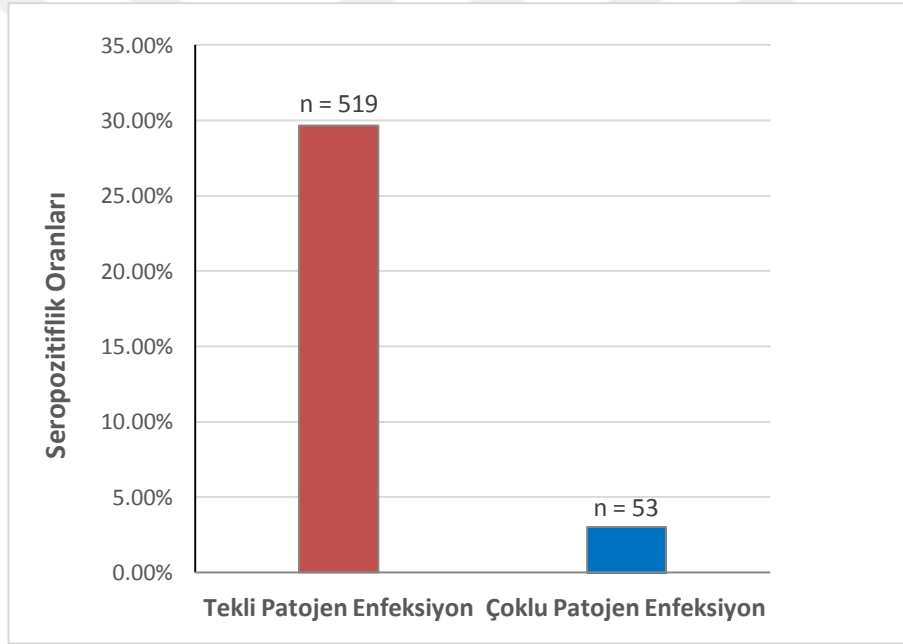
Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan yerli izolat BoHV-1 (TRSAMSUN2019/4B) için doku kültürü mikroskobu ile çekilen görüntüler (10x, Olympus, Japan). A: MDBK Hücre hattı kontrolü B. BoHV-1 (TRSAMSUN2019/4B) izolatının hücre kültüründeki 72. saat sonunda görülen CPE

4.3. Serum Mikronötralizasyon Testi

Araştırmada kullanılan yerli izolatlarımız BPIV-3c, BRSV ve BoHV-1 MDBK hücre hattı inokulasyonları sonucunda 48-72 saat içinde % 85-90 oranında CPE oluşturmuşlardır. Bu bulguya dayanarak serum nötralizasyon ve SN₅₀ testlerinde sonuçların okunarak değerlendirme süresi 72 saat sonu olarak kabul edilmiştir.

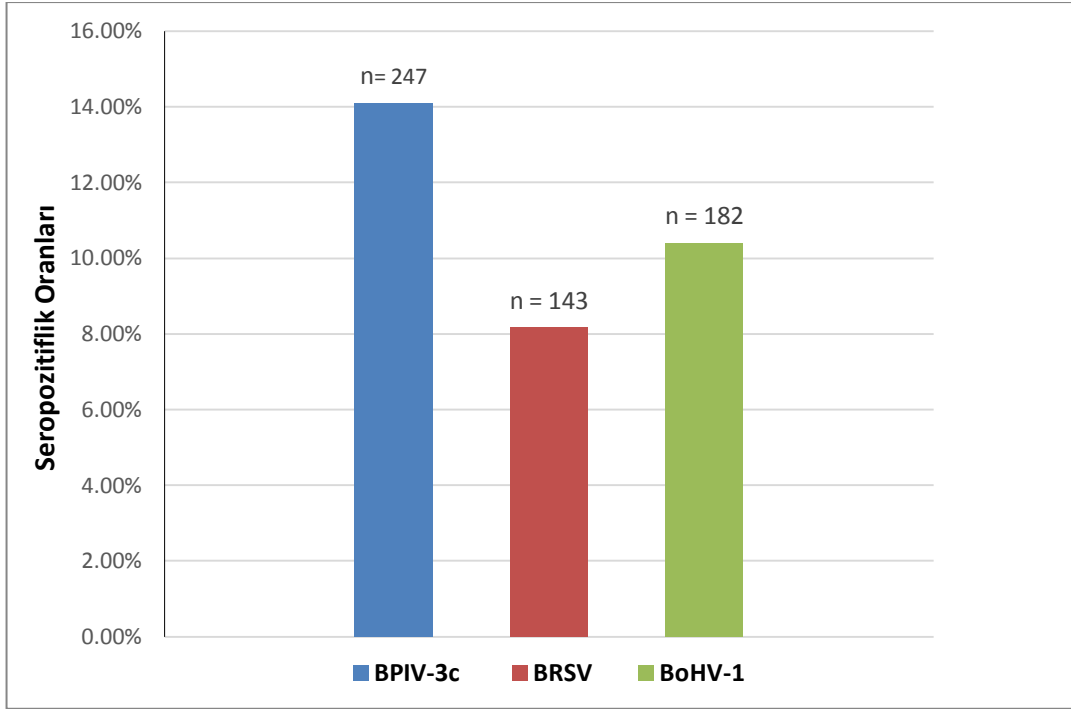
4.3.1. Nötralizasyon Testi Sonuçlarının Genel Değerlendirmesi

Nötralizasyon testlerinin değerlendirilmesi sonucunda test edilen 1750 serum numunesinde %32.69 (572/1750) viral patojen gözetmeksizin bir virusa karşı antikor tespit edilmiştir. %29.66 (519/1750) oranında tek viral patojene karşı seropozitiflik bulunurken %3.03 (53/1750) oranında birden fazla viral patojenle ortak seropozitiflik tespit edilmiştir (Şekil 4.4.).

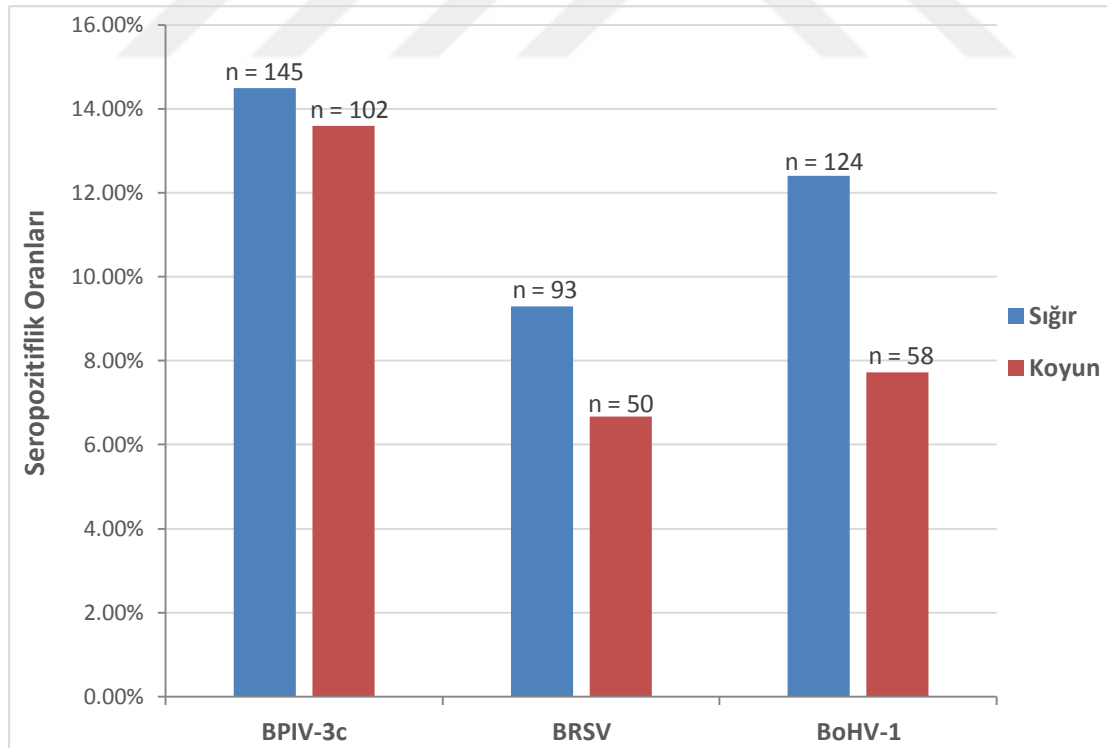


Şekil 4.4. Serum nötralizasyon testinin sonucunda gözlenen tekli ve çoklu seropozitiflik yüzdesel olarak (%) dağılımı. n: numune sayısı işaret eder

Sığırlar ve koyunlar toplamında genel seropozitiflik oranları BPIV-3c için %14.11 (247/1750), BRSV için %8.17 (143/1750), ve BoHV-1 için %10.40 (182/1750) olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.5.), ve hayvan türlerine göre seropozitiflik dağılımı Şekil 4.6.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.5. Yapılan nötralizasyon testinin sonucunda gözlenen genel seropozitiflik yüzdesel olarak (%) test edilen virüslere göre dağılımı. n: numune sayısını işaret eder. Sırasıyla BPIV-3, BRSV ve BoHV-1, seropozitif örnek sayıları n: 247, n:143 ve n:182



Şekil 4.6. Serum nötralizasyon testinin sonucunda genel seropozitifliğin yüzdesel olarak (%) hayvan türlerine göre dağılımı. n: numune sayısı işaret eder

4.3.2. Nötralizasyon Sonuçlarının Viral Patojenlere ve Hayvan Türlerine Göre Değerlendirilmesi

4.3.2.1. BPIV-3c

Bu doktora tez çalışmasında BPIV-3c için oluşan antikor varlığını tespit etmek amacı ile yapılan nötralizasyon testi ile ilgili veriler tablo 4.2. içinde detaylı olarak gösterilmiştir. Tür gözetmeksizin genel BPIV-3c seropozitifliği %14.11 (247/1750) olarak tespit edilmiştir. Bulunan seropozitiflik oranı genel olarak değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($\chi^2=0.2864$; $p<0.5926$).

Tür gözetmeksizin BPIV-3c seropozitifliği en yüksek olarak %16.57 (58/350) Samsun ilinde gözlemlendi. Samsun ilini sırası ile %14.85 (52/350), %14.57 (51/350) ve %12.57 (44/350) seropozitiflik oranları ile Giresun, Tokat ve Amasya illeri izledi. Ordu BPIV-3c seropozitifliği ise %12 (42/350) en düşük il olarak bulundu. Araştırmada örnekleme yapılan hayvan türlerine göre BPIV-3c seropozitifliği sığırlarda %14.50 (145/1000) ve koyunlarda %13.60 (102/750) bulundu.

Tablo 4.2. Toplanan serum örneklerine yapılan BPIV-3c nötralizasyon testinin sonuçları.

Sp: Seropozitif; χ^2 : chi-square değerini işaret eder

BPIV-3c	Sığır	Koyun	Toplam		
İller	Sp% (pozitifler/total)	Sp% (pozitifler/total)	χ^2	P değeri	Sp% (pozitifler/total)
Amasya	11.10 (22/200)	14.64 (22/150)	1.048	< 0.3059	12.57 (44/350)
Giresun	15.50 (31/200)	14 (21/150)	0.1525	< 0.6962	14.85 (52/350)
Ordu	14.50 (29/200)	8.67 (13/150)	2.762	< 0.0965	12 (42/350)
Samsun	16 (32/200)	17.33 (26/150)	0.1102	< 0.7399	16.57 (58/350)
Tokat	15.50 (31/200)	13.33 (20/150)	0.3232	< 0.5697	14.57 (51/350)
Total	14.50 (145/1000)	13.60 (102/750)	0.2864	< 0.5926	14.11 (247/1750)
χ^2	2.662	5.061			
P değeri <	0.6159	0.2811			

Test edilen sığır serumlarında BPIV-3c seropozitiflik oranları illere göre değerlendirildiğinde Samsun ili %16 (32/200) oranı ile ilk sırada yer alırken bu illerimizi Giresun, Tokat %15.50 (31/200) aynı oran ve Ordu %14.50 (29/200) oranı ile takip etti. İl genelinde en düşük BPIV-3c seropozitifliği %11.10 (22/200) oran ile Amasya ilinde tespit edildi. Hayvan türleri bazında sığırlar için iller arasında seropozitiflik farklılığı orta düzeyde belirlenmiş ve istatistiksel açıdan anlamlı olarak tespit edilmemiştir ($\chi^2=2.662$; $p<0.6159$).

Test edilen koyun serumlarında iller genelinde BPIV-3c seropozitifliği ise en yüksek olarak %17.33 (26/150) oranı ile Samsun ilinde bulunmuştur. Ordu ili seropozitiflik %08.67 (13/150) oranı ile en düşük il olarak belirlenmiştir. Diğer iller için koyun serumlarında BRSV seropozitiflik oranı azalan bir şekilde Amasya %14.64 (22/150), Giresun %14 (21/150) ve Tokat %13.33 (20/150) olarak tespit edilmiştir. Koyunlarda iller arasında pozitif serum oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($\chi^2=5.061$; $p<0.2811$).

4.3.2.2. BRSV

BRSV varlığı açısından taranan hayvan türleri, örnek sayıları, bu örneklerin illere göre dağılımı, seropozitif örnek sayıları ve genel seropozitiflik oranları tablo 4.3. içinde detaylı olarak sunulmuştur. Hayvan türü gözetmeksizin BRSV pozitiflik oranı %8.17 olarak hesaplanmıştır. Bulunan bu seropozitiflik oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=3.961$; $p<0.0466$).

Genel seropozitiflik oranları illere göre değerlendirildiğinde en yüksek BRSV seropozitiflik oranı %11.70 (41/350) ile Giresun ilinde tespit edilmiştir. Giresun ilimizi sırası ile %9.40 (33/350), %8.60 (30/350) ve %6.30 (22/350) oranları ile Amasya, Tokat ve Ordu illeri izlemiştir. Samsun ili BRSV seropozitifliğinde ise %4.90 (17/350) ile en düşük il olarak bulunmuştur. Tablo 4.3 incelendiğinde hayvan türlerine göre BRSV seropozitifliği dağılımı sığırlarda %9.30 (93/1000) ve koyunlarda ise %6.67 (50/750) bulunmuştur.

Tablo 4.3. Toplanan serum örneklerine yapılan BRSV nötralizasyon testinin sonuçları.

Sp: Seropozitif; χ^2 : chi-square değerini işaret eder.

BRSV	Sığır	Koyun	Toplam		
	Sp%	Sp%	Sp%		
İller	(pozitifler/total)	(pozitifler/total)	X^2	p değeri	(pozitifler/total)
Amasya	15.50 (31/200)	1.33 (2/150)	20.14	< 0.0001	9.40 (33/350)
Giresun	12.50 (25/200)	10.67 (16/150)	0.2786	< 0.5976	11.70 (41/350)
Ordu	9 (18/200)	2.67 (4/150)	5.837	< 0.0157	6.30 (22/350)
Samsun	4.50 (9/200)	5.33 (8/150)	0.1288	< 0.7197	4.90 (17/350)
Tokat	5 (10/200)	13.33 (20/150)	7.595	< 0.0059	8.60 (30/350)
Total	9.30 (93/1000)	6.67 (50/750)	3.961	< 0.0466	8.17 (143/1750)
X^2	21.41	25.71			
P değeri <	0.0003	0.0001			

Araştırmada Sığır serumlarında BRSV' ye karşı antikor tespit etmek için yapılan nötralizasyon testi sonucunda bu viral patojene karşı iller bazında seropozitiflik değerlendirildiğinde Amasya ili %15.50 (31/200) oran ile ilk sırada yer almıştır. Bu ilimizi Giresun %12.50 (25/200), Ordu %9 (18/200) ve Tokat %5 (10/200) takip etmiştir. İl genelinde en düşük BRSV seropozitifliği %4.50 (9/200) oran ile Samsun ilinde tespit edildi. sığırlarda iller arasında BRSV seropozitiflik oranları istatistiksel olarak yüksek oranda anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=21.41$; $p<0.0003$).

İller genelinde koyunlarda BRSV seropozitifliği en yüksek olarak %13.33 (20/150) oranı ile Tokat ilinde tespit edilmiştir. Amasya ilinde seropozitiflik %1.33 (2/150) oranı ile en düşük il olarak belirlenmiştir. Diğer iller için koyun serumlarında BRSV seropozitiflik oranı azalan bir şekilde Giresun %10.67 (16/150), Samsun %5.33 (8/150) ve Ordu %2.67 (4/150) olarak tespit edilmiştir. Hayvan türlerin bazında koyunlar için iller arasında seropozitiflik farklılığı istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı tespit edilmiştir ($\chi^2=25.71$; $p<0.0003$).

4.3.2.3. BoHV-1

BoHV-1 varlığı açısından taranan hayvan türleri, örnek sayıları, bu örneklerin illere göre dağılımı, seropozitif örnek sayıları ve genel seropozitiflik oranları tablo 4.4. içinde detaylı olarak gösterilmiştir. Sığır ve koyunlarda tür farkı olmadan BoHV-1 için genel seropozitiflik oranı %10.40 olarak tespit edilmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde hayvan türü gözetmeksizin iller arasında BoHV-1 seropozitifliği dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=10.02$; $p<0.0016$).

Genel seropozitiflik oranları illere göre değerlendirildiğinde en yüksek BoHV-1 seropozitiflik oranı Giresun ve Ordu illerinde %12.29 (43/350) ile aynı oranda ve en yüksek olarak bulunmuştur. Bu illerimizi %10 (35/350) ve %9.14 (32/350) oranları ile Samsun ve Amasya illeri takip ederken Tokat ili BoHV-1 seropozitifliği ise %8.29 (29/350) en düşük il olarak tespit edilmiştir.

Hayvan türlerine göre BoHV-1 seropozitifliği sığırlarda %12.40 (124/1000) ve koyunlarda ise %7.73 (58/750) oranında bulunmuştur.

Tablo 4.4. Toplanan serum örneklerine yapılan BoHV-1 nötralizasyon testinin sonuçları.

Sp: Seropozitif; χ^2 : Ki-kare değerini işaret eder.

BoHV-1	Sığır	Koyun	Toplam		
	Sp%	Sp%			Sp%
İller	(pozitifler/total)	(pozitifler/total)	χ^2	<i>P değeri</i>	(pozitifler/total)
Amasya	9 (18/200)	9.33 (14/150)	0.01146	< 0.9147	9.14 (32/350)
Giresun	15.50 (31/200)	8 (12/150)	4.474	< 0.0344	12.29 (43/350)
Ordu	15.50 (31/200)	8 (12/150)	4.474	< 0.0344	12.29 (43/350)
Samsun	10.50 (21/200)	9.33 (14/150)	0.1296	< 0.7188	10.00 (35/350)
Tokat	11.50 (23/200)	4 (6/150)	6.345	< 0.0118	8.29 (29/350)
Total	12.40 (124/1000)	7.73 (58/750)	10.02	< 0.0016	10.40 (182/1750)
χ^2	6.481	4.036			
<i>P değeri</i> <	0.1660	0.4011			

Sığırlarda BoHV-1 seropozitifliği illere göre değerlendirildiğinde Giresun ve Ordu illeri %15.50 (31/200) aynı oran ile ilk sırada yer alırken bu illerimizi Tokat %11.50 (23/200) ve Samsun %10.50 (21/200) takip etmiştir. İl genelinde incelendiğinde en düşük BoHV-1 seropozitifliği %9 (18/200) oran ile Amasya ilinde tespit edilmiştir. Tür bazında sığırlar için iller arasında seropozitiflik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı olarak tespit edilmemiştir ($\chi^2=6.481$; $p<0.1660$).

İller genelinde BoHV-1 seropozitifliği toplanan koyun serumlarında en yüksek olarak %9.33 (14/150) aynı oran ile Amasya ve Samsun illerinde bulunmuştur. Tokat ilinde seropozitiflik %4 (6/150) oranı ile en düşük il olarak belirlenmiştir. Giresun ve Ordu illeri için koyun serumlarında BoHV-1 seropozitiflik oranı aynı şekilde %8 (12/150) olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde koyunlarda seropozitiflik oranları iller arasında pozitif serum oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($\chi^2=4.036$; $p<0.4011$).

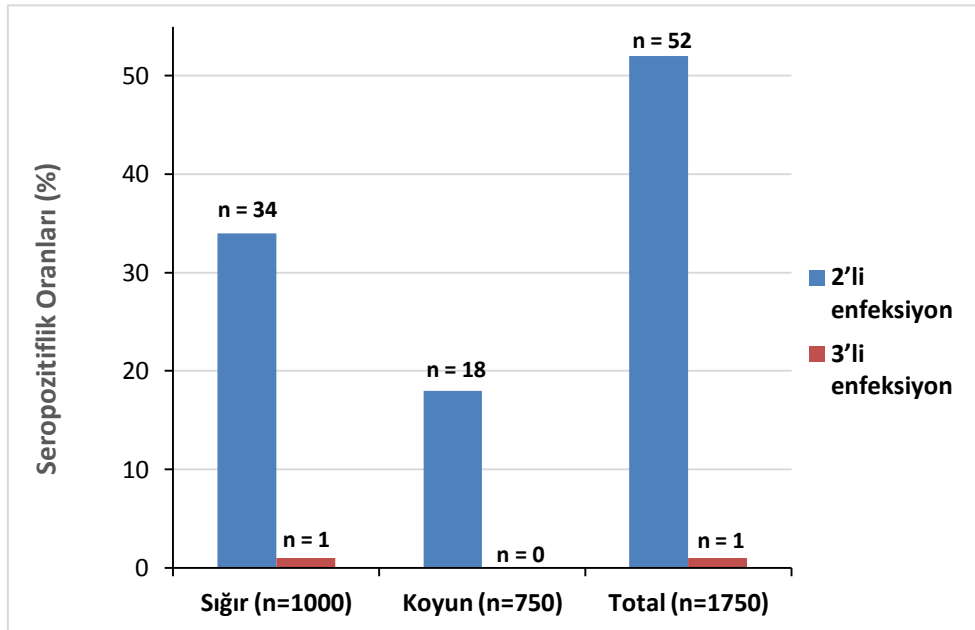
4.3.2.4. Çoklu Enfeksiyonlar

Bu tez çalışmasında elde edilen önemli veriler arasında çoklu enfeksiyon bulguları önem arz etmektedir. Bu konu ile ilgili veriler aşağıda verilmiştir.

- Örneklem yapılan seropozitif sığırların ve koyunların tümünde en az iki veya daha fazla etkene karşı spesifik antikor varlığı tespit edilmiştir (Şekil 4.7., Tablo 4.5.).
- Çalışmada seropozitif bulunan 572 örnekte %90.73 (519/572) oranında tek viral patojenin solunum sistemi enfeksiyonu oluşturduğu tespit

edilirken %9.27(53/572) oranında birden fazla viral patojen tarafından ortak enfeksiyon oluşturulduğu gözlemlenmiştir.

- Genel anlamda örnekleme yapılan 1750 serumdan %30.28 (53/1750) adedinde 2 ve ya 3 viral patojen ile ortak enfeksiyon tespit edilmiştir.
- Toplamda 2 viral patojen ile enfeksiyon oranı %2.97 (52/1750) ve 3 viral patojen ile enfeksiyon oranı %0.06 (1/1750) olarak tespit edilmiştir.
- 52 örnekte 2 viral patojenle ortak enfeksiyona işaret ederken sadece 1 örnekte 3 viral patojenle ortak enfeksiyon görülmüştür.
- Üç viral patojen ile enfeksiyon sığır serumlarında tespit edilmiştir. Koyun serum örneklerinde üç viral patojen ile enfeksiyon tespit edilmemiştir.
- İki viral patojenle enfekte 34 adet sığır serumu 18 adet koyun serumu tespit edilmiştir.
- Örnekleme yapılan sığır serumlarında ikili enfeksiyon oranı %3.4 (34/1000), üçlü viral enfeksiyon oranı %0.1 (1/1000) olarak tespit edilmiştir.
- Koyunlarda ikili enfeksiyon oranı %2.4 (18/750) olarak tespit edilirken üçlü viral enfeksiyon tespit edilmemiştir (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Test edilen viruslar için yapılan nötralizasyon testinin sonucunda gözlenen çoklu seropozitiflik yüzdesel olarak (%) oranları. n: numune sayısı işaret eder.

Çoklu enfeksiyon bulguları Tablo 4.5. içinde detaylı olarak verilmiştir. Bu tablo incelendiğinde elde edilen veriler aşağıda verilmiştir.

- BRSV ve BPIV-3c kombinasyonu ile ikili enfeksiyon en sık görülen çoklu enfeksiyon olmuştur. İki viral patojen ortak enfeksiyon görülen 52 seropozitif numuneden 21 adedinde BRSV ve BPIV-3c ile ortak enfeksiyon görülmüştür.
- İki viral patojen içeren BRSV ve BoHV-1 ortak enfeksiyon kombinasyonu tespit edilen seropozitif serum sayısı 19 adettir.
- 12 adet serum numunesinde BoHV-1 ve BPIV-3 ortak enfeksiyonu tespit edilmiştir.
- Üçlü pozitiflik kombinasyonu (BRSV+ BoHV-1+ BPIV-3c) sadece 1 sığır serumunda ve Amasya ilinde belirlenmiştir.
- En fazla çoklu enfeksiyon Giresun ilinde tespit edilmiştir. Bu ilde çoklu enfeksiyona sahip 19 örnek belirlenmiştir.

Tablo 4.5. Test viruslarına karşı ikili ve üçlü seropozitiflik oranlarının kombinasyonu

İller	2'li enfeksiyon									3'li enfeksiyon			Çoklu Enfeksiyon Genel Toplamı
	BRSV+ BoHV-1			BRSV+ BPIV-3c			BoHV-1+ BPIV-3c			BRSV+ BoHV-1+ BPIV-3c			
	Sığır	Koyun	Toplam	Sığır	Koyun	Toplam	Sığır	Koyun	Toplam	Sığır	Koyun	Toplam	
Amasya	2	-	2	1	-	1	1	2	3	1	-	1	7
Giresun	11	1	12	3	3	6	1	-	1	-	-	-	19
Ordu	2	-	2	3	6	9	-	-	-	-	-	-	11
Samsun	1	2	3	-	1	1	3	-	3	-	-	-	7
Tokat	-	-	-	3	1	4	3	2	5	-	-	-	9
Total	16	3	19	10	11	21	8	4	12	1	-	1	53

4.4. Serum Nötralizasyon 50 (SN₅₀)

Araştırmada kullanılan viral patojenlere karşı antikor tespit edilen tüm serum örneklerinde antikor titre değerleri araştırıldı. Bu amaçla pozitif serumların 1/4 ve 1/1024 arasında dilüsyonları yapıldı. Elde edilen sonuçlar, aşağıda viral patojenlere göre sunulmuştur.

4.4.1. BPIV-3c Seropozitif Numunelerin Antikor Titre Değerleri (SN₅₀)

BPIV-3c yönünden seropozitif olan 247 serum örneğinde antikor titre (SN₅₀) değerlerinin hayvan türleri ve illere göre dağılımları ve yüzdesel oranları tablo 4.6 ve şekil 4.8 içinde kapsamlı olarak gösterilmiştir.

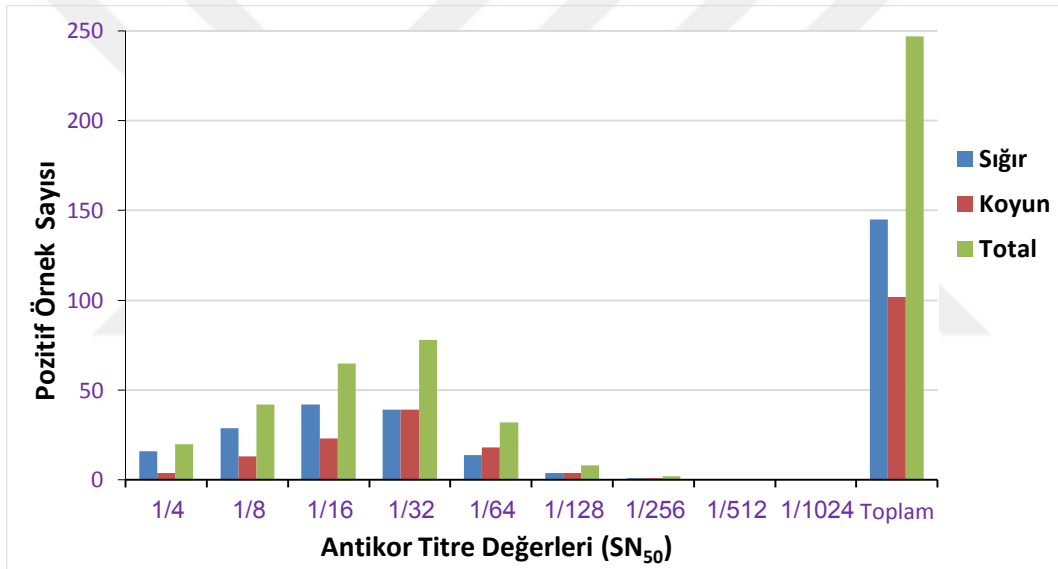
Tablo 4.6. BPIV-3c yönünden seropozitif tespit edilen serum örneklerinin SN₅₀ değerlerinin illere ve hayvan türlerine göre dağılımı.

BPIV-3c Antikor Titre Değerleri											
İller	Hayvan Türü	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	İller Hayvanlar Toplamı
Amasya	Sığır	3	4	6	7	2	-	-	-	-	22
	Koyun	3	5	8	4	2	-	-	-	-	22
Giresun	Sığır	3	5	9	6	4	3	1	-	-	31
	Koyun	-	6	3	8	4	-	-	-	-	21
Ordu	Sığır	1	6	11	7	4	-	-	-	-	29
	Koyun	-	1	3	6	3	-	-	-	-	13
Samsun	Sığır	9	8	7	6	1	1	-	-	-	32
	Koyun	-	-	4	14	7	1	-	-	-	26
Tokat	Sığır	-	6	9	13	3	-	-	-	-	31
	Koyun	1	1	5	7	2	3	1	-	-	20
Total Titreler (%)		(%8.10)	(%17) 42	(%26.32) 65	(%31.58) 78	(%12.96) 32	(%3.24) 8	(%0.81) 2	0	0	247

BPIV-3c açısından SN₅₀ titrelerinin değerlendirilmesinden önemli bulgular aşağıda verilmiştir.

- Genel olarak tür farkı yapılmadan antikor titre değerleri incelendiğinde 1/32 dilüsyonda en fazla yığılım tespit edilmiştir. 78 pozitif serum örneğinde 1/32 antikor titre değeri bulunmuştur.
- 2 adet pozitif serum numunesinde 1/256 dilüsyonda antikor titresi gözlemlenmiştir. Bu dilüsyon basamağı en az yığılımın olduğu antikor titresi olmuştur.
- BPIV-3c yönünden seropozitif olan sığır serum örneklerinde 1/4 ve 1/256; seropozitif koyun serumlarında ise 1/4 - 1/256 arasında antikor titre değeri tespit edilmiştir.

- Seropozitif koyun serumlarının 1 adedinde 1/256 dilüsyonda antikor titresi elde edilirken seropozitif sığır serumlarının 1 adedinden 1/256 dilüsyonda antikor titresi bulunmuştur.
- Koyunlarda 1/512 ve 1/1024 titre değeri tespit edilemezken sığırlarda aynı şekilde 1/512 ve 1/1024 dilüsyon için antikor titre değeri gözlemlenmemiştir.
- Seropozitif koyun serum örneklerinden en fazla yığılmanın olduğu antikor titre değeri 1/32 dilüsyon olarak tespit edilmiştir. Bu sulandırma basamağında 41 seropozitif koyun serumu gözlemlenmiştir.
- Seropozitif sığır serum örneklerinden en fazla yığılmanın olduğu antikor titre değeri 1/16 dilüsyon olarak gözlemlenmiştir. Bu sulandırma basamağında 42 seropozitif sığır serumu tespit edilmiştir.



Şekil 4.8. BPIV-3c seropozitif örneklerin total antikor titre değerlerinin (SN₅₀) hayvan türlerinde genel dağılım sonuçları.

4.4.2. BRSV Seropozitif Numunelerin Antikor Titre Değerleri (SN₅₀)

BRSV yönünden seropozitif olan 143 serum örneğinde antikor titre (SN₅₀) değerlerinin hayvan türleri ve illere göre dağılımları ve yüzdesel oranları tablo 4.7 ve şekil 4.9 içinde kapsamlı olarak gösterilmiştir.

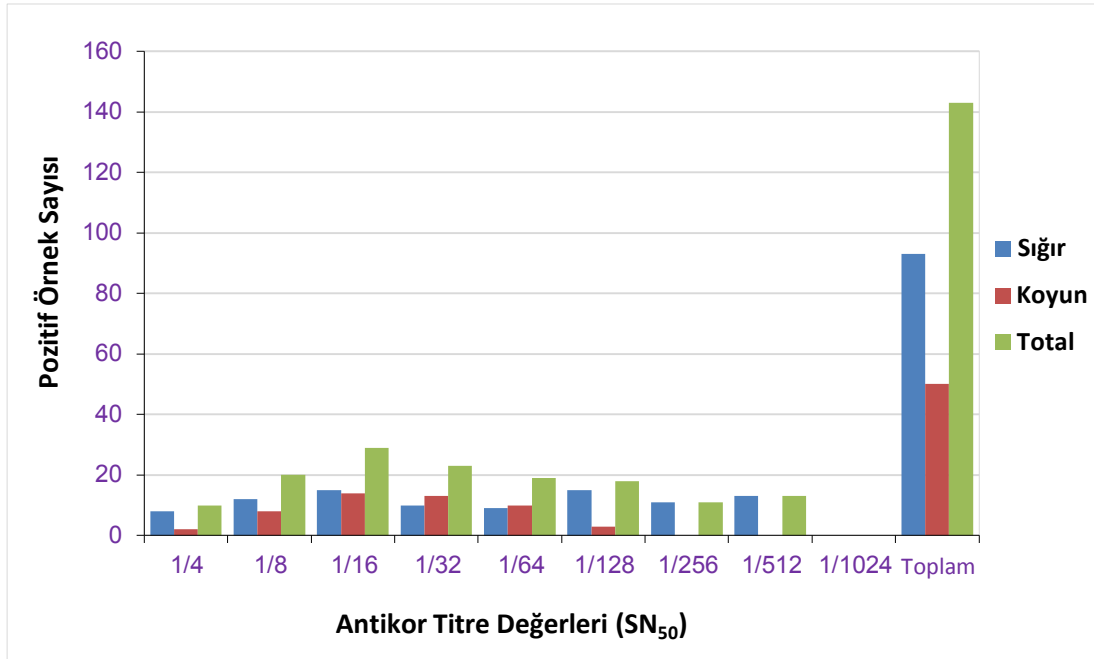
Tablo 4.7. BRSV yönünden seropozitif tespit edilen serum örneklerinin SN₅₀ değerlerinin illere ve hayvan türlerine göre dağılımı.

BRSV Antikor Titre Değerleri											
İller	Hayvan Türü	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	İller Hayvanla Toplamı r
Amasya	Sığır	2	4	4	4	5	7	2	3	-	31
	Koyun	-	1	1	-	-	-	-	-	-	2
Giresun	Sığır	2	3	3	-	2	3	6	6	-	25
	Koyun	2	2	6	2	4	-	-	-	-	16
Ordu	Sığır	2	5	4	4	1	2	-	-	-	18
	Koyun	-	1	-	1	1	1	-	-	-	4
Samsun	Sığır	2	-	4	2	1	-	-	-	-	9
	Koyun	-	1	1	2	2	2	-	-	-	8
Tokat	Sığır	-	-	-	-	-	3	3	4	-	10
	Koyun	-	3	6	8	3	-	-	-	-	20
Total Titreleler (%)		(%6.99)	(%13.99)	(%20.28)	(%16.08)	(%13.29)	(%12.59)	(%7.69)	(%9.09)	0	143

BRSV açısından SN₅₀ titrelerinin değerlendirilmesinden önemli bulgular aşağıda verilmiştir.

- Genel olarak tür farkı yapılmadan antikor titre değerleri incelendiğinde 1/16 dilüsyonda en fazla yığılım tespit edilmiştir. 29 pozitif serum örneğinden 1/16 antikor titre değeri bulunmuştur.
- 10 adet pozitif serum numunesinde 1/4 dilüsyonda antikor titresi gözlemlenmiştir. Bu dilüsyon basamağı en az yığılımın olduğu antikor titresi olmuştur.
- BRSV yönünden seropozitif olan sığır serum örneklerinde 1/4 ve 1/512; seropozitif koyun serumlarında ise 1/4 - 1/128 arasında antikor titre değeri tespit edilmiştir.
- Seropozitif koyun serumlarının 3 adedinde 1/128 dilüsyonda antikor titresi elde edilirken seropozitif sığır serumlarının 13 adedinden 1/512 dilüsyonda antikor titresi bulunmuştur.
- Koyunlarda 1/512 ve 1/1024 titre değeri tespit edilemezken sığırlarda sadece 1/1024 dilüsyon için antikor titre değeri gözlemlenmemiştir.

- Seropozitif koyun serum örneklerinden en fazla yığılmanın olduğu antikor titre değeri 1/16 dilüsyon olarak tespit edilmiştir. Bu sulandırma basamağında 14 seropozitif koyun serumu gözlemlenmiştir.
- Seropozitif sığır serum örneklerinden en fazla yığılmanın olduğu antikor titre değeri 1/128 dilüsyon olarak gözlemlenmiştir. Bu sulandırma basamağında 15 seropozitif sığır serumu tespit edilmiştir.



Şekil 4.9. BRSV seropozitif örneklerin total antikor titre değerlerinin (SN₅₀) hayvan türlerinde genel dağılım sonuçları.

4.4.3. BoHV-1 Seropozitif Numunelerin Antikor Titre Değerleri (SN₅₀)

BoHV-1 yönünden seropozitif olan 247 serum örneğinde antikor titre (SN₅₀) değerlerinin hayvan türleri ve illere göre dağılımları ve yüzdesel oranları tablo 4.8. ve şekil 4.10. içinde kapsamlı olarak gösterilmiştir.

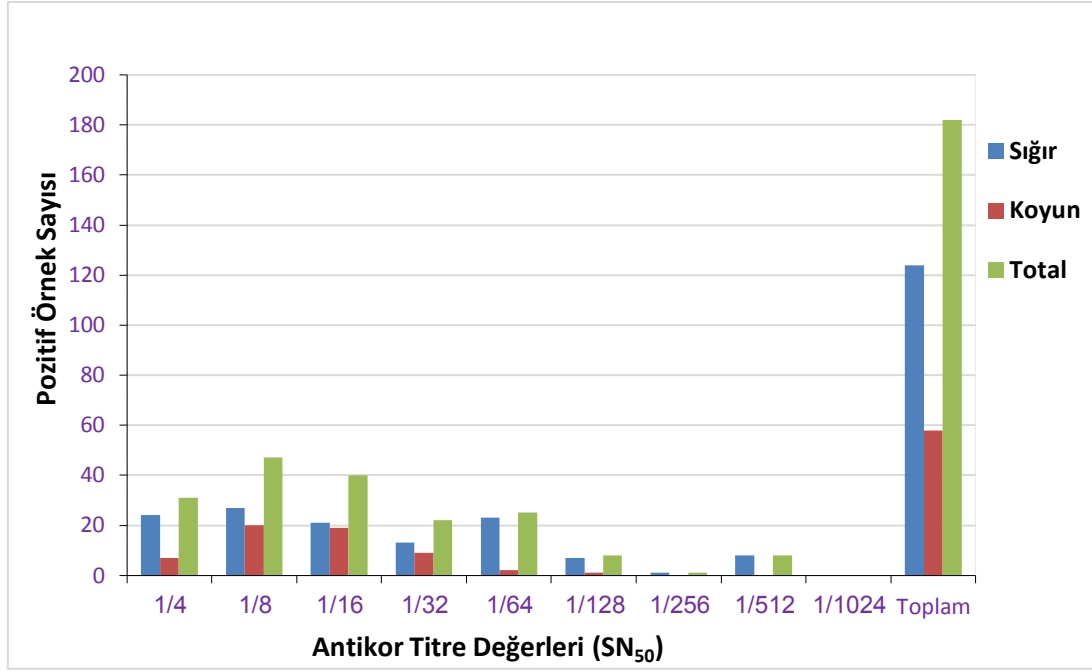
Tablo 4.8. BoHV-1 yönünden seropozitif tespit edilen serum örneklerinin SN₅₀ değerlerinin illere ve hayvan türlerine göre dağılımı.

BoHV-1 Antikor Titre Değerleri											
İller	Hayvan Türü	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	İller Toplamı Hayvanlar Toplamı
Amasya	Sığır	-	1	5	3	5	-	-	4	-	18
	Koyun	2	4	5	3	-	-	-	-	-	14
Giresun	Sığır	5	7	7	2	2	4	-	4	-	31
	Koyun	4	5	2	-	-	1	-	-	-	12
Ordu	Sığır	12	15	4	-	-	-	-	-	-	31
	Koyun	-	7	4	1	-	-	-	-	-	12
Samsun	Sığır	1	-	2	3	13	1	1	-	-	21
	Koyun	1	3	7	3	-	-	-	-	-	14
Tokat	Sığır	6	4	3	5	3	2	-	-	-	23
	Koyun	-	1	1	2	2	-	-	-	-	6
Total Titre (%)		31 (%17.03)	47 (%25.82)	40 (%21.98)	22 (%12.09)	25 (%13.74)	8 (%4.40)	1 (%0.55)	8 (%4.40)	0	182

BoHV-1 açısından SN₅₀ titrelerinin değerlendirilmesinden önemli bulgular aşağıda verilmiştir.

- Genel olarak tür farkı yapılmadan antikor titre değerleri incelendiğinde 1/8 dilüsyonda en fazla yığılmanın tespit edilmiştir. 47 pozitif serum örneğinden 1/8 antikor titre değeri bulunmuştur.
- 1 adet pozitif serum numunesinde 1/256 dilüsyonda antikor titresi gözlemlenmiştir. Bu dilüsyon basamağı en az yığılmanın olduğu antikor titresi olmuştur.
- BoHV-1 yönünden seropozitif olan sığır serum örneklerinde 1/4 ve 1/512; seropozitif koyun serumlarında ise 1/4 - 1/128 arasında antikor titre değeri tespit edilmiştir.
- Seropozitif koyun serumlarının 1 adedinde 1/128 dilüsyonda antikor titresi elde edilirken seropozitif sığır serumlarının 8 adedinden 1/512 dilüsyonda antikor titresi bulunmuştur.
- Koyunlarda 1/256, 1/512 ve 1/1024 titre değeri tespit edilemezken sığırlarda sadece 1/1024 dilüsyon için antikor titre değeri gözlemlenmemiştir.

- Seropozitif koyun serum örneklerinden en fazla yığılmanın olduğu antikor titre değeri 1/16 dilüsyon olarak tespit edilmiştir. Bu sulandırma basamağında 19 seropozitif koyun serumu gözlemlenmiştir.
- Seropozitif sığır serum örneklerinden en fazla yığılmanın olduğu antikor titre değeri 1/8 dilüsyon olarak gözlemlenmiştir. Bu sulandırma basamağında 27 seropozitif sığır serumu tespit edilmiştir.



Şekil 4.10. BoHV-1 seropozitif örneklerin total antikor titre değerlerinin (SN₅₀) hayvan türlerinde genel dağılım sonuçları.

5. TARTIŞMA

Son yıllarda bir çok ülkede sığır solunum yolu hastalıklarına neden olan patojenler kaynaklı enfeksiyon ve hastalıkların ülke hayvancılık ekonomileri üzerinde oluşturdukları zararlar artarak devam etmektedir. Bu enfeksiyonların oluşmasının ana kaynağı olan sığır solunum sistemi hastalıkları-kompleksi (Bovine respiratory disease complex, BRDC) içinde tanımlanan viral, bakteriyel ve fungal patojenler hayvancılık endüstrisi ve ekonomisi için önemli bir tehdit oluşturmaktadır (Korcubic et al., 2018). Griffin (1997) ve Snowden et al. (2006), yayınladıkları araştırmalarda BRDC içinde yer alan patojenlerden kaynaklanan enfeksiyonların dünyanın en önemli hayvan ve hayvan ürünleri sektörüne sahip ABD ekonomisine getirdiği ekonomik yükü ve zararı her yıl için; 1 milyar dolar (US\$) hayvan kayıplarından ve 3 milyar dolar veteriner hekim, ilaç ve tedavi harcamalarından olmak üzere yaklaşık 4 milyar ABD doları (US\$) olarak bildirmektedir. Özellikle hayvancılık endüstrisi ve ekonomisinin gelişmiş olduğu bir çok ülkede bu kompleks içinde yer alan patojenlerin neden olduğu ABD benzeri ekonomik hasar şekillenmektedir. Ülkemizde BRDC içinde yer alan özellikle viral patojenler ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Ancak geçmişten günümüze bu patojenlerin Türkiye hayvancılık ve hayvan ürünleri endüstrisi yönünden neden olduğu ekonomik hasar ve zarar üzerine kapsamlı araştırmalar mevcut değildir. Bununla birlikte özellikle geçimini hayvancılık ile sağlayan aile işletmeleri için bu kompleks içinde yer alan viral patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların önemi her geçen gün artmaktadır.

Bu doktora tez çalışması, ülkemizde izolasyonu, identifikasyonu ve moleküler karakterizasyonu yapılan yerli (lokal) izolatlar ile gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonucunda elde edilen veriler bu virusların bölgemizde geçmişten günümüze durumu hakkında kapsamlı bilgiler sağlamaktadır.

Gerçekleştirilen bu çalışmada örnekleme yapılan hayvanlarda araştırmada kullanılan 3 lokal viral izolata karşı koruma sağlaması muhtemel olan aşılarda aşılanma yapılmadığına dair bilgiler örnekleme yapan veteriner hekimler tarafından alınan anamnez ile elde edilmiştir. Ayrıca araştırmada seroprevalansı etkileyebilme ihtimali olan maternal antikorların etkisini ortadan kaldırmak amacı ile örnekleme yapılan hayvan türlerinde sığırlarda 1 yaş ve üzeri, koyunlarda ise 6 ay ve üzeri olmak üzere yaş sınırlaması yapılmıştır. Bu nedenle bu araştırmada elde edilen serolojik veriler ve tespit edilen seropozitiflik sonuçları tamamen doğal enfeksiyon sonucu

oluşma ihtimalini güçlendirmektedir. Ayrıca bu doktora tez çalışması, bölgemizde 2007-2021 yılları arasında Okur Gümüşova vd. (2007), Yazıcı vd. (2007), Albayrak vd. (2007), Yazıcı vd. (2015), Tamer vd. (2018) ve Yazıcı vd. (2021) tarafından büyük ve küçük ruminantlarda ilgili viral patojenlere karşı yapılan serolojik çalışmaların sonuçlarını güncelleme özelliği taşımaktadır.

Araştırmada elde edilen veriler büyük ruminantlara spesifik olan bu viral enfeksiyonların bulaştırılmasında rol oynadığı düşünülen küçük ruminantlarda, virus sirkülasyonu varlığı hakkında önemli bulgular sunmaktadır. Özellikle yüksek BPIV-3c seroprevalansı tespit edilen koyunlar, virusun sığırlara bulaşmasında bir rezervuar veya taşıyıcı olabileceği yönünde yorumlanabilir.

Literatür olarak araştırması yapıldığı zaman ruminantlarda ülkemizde içinde olduğu bir çok ülkede solunum sisteminin viral enfeksiyonlarının en önemli virusları olan BPIV-3, BRSV ve BoHV-1 üzerine çok sayıda virolojik ve serolojik araştırma makalesi olduğu görülmektedir. (Stott et al., 1980; Alkan vd., 1997; Alpay vd., 2014).

Mahmoud ve Allam, (2013), Orta Doğu ülkelerinden Suudi Arabistan'da BRDC bünyesinde yer alan bazı viral etkenlerin prevalansını araştırdıkları çalışmada sığırlarda BoHV-1, BPIV-3 ve BRSV için tespit edilen nötralizan antikör varlığını sırasıyla %17.4, %67.6 ve %75.5 olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada özellikle BPIV-3 ve BRSV için tespit edilen serolojik oranlar bu doktora tez araştırmasının sonuçları ile karşılaştırıldığında daha yüksektir. Ayrıca ülkemize sınırı bulunan İran'da 1036 sığırdan toplanan kan örnekleri kullanılarak gerçekleştirilen serolojik bir çalışmada BoHV-1 ve BPIV-3 için seroprevalansları %5.1 ve %95.2 olarak bildirilmiştir (Hashemi et al., 2022). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar tez çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında BoHV-1 açısından seropozitiflik oranının düşük, BPIV-3 açısından ise seropozitiflik oranının ise yüksek olduğu görülmektedir. Aynı şekilde Avrupa Birliği ülkelerinden Belçika'da gerçekleştirilen araştırmada solunum sistemi hastalık semptomları gösteren buzağılarda viral patojenlere karşı oluşan nötralizan antikör varlığı BPIV-3 için %53.3, BRSV için %40 ve BoHV-1 için %26.7 olarak bildirilmiştir (Pardon et al., 2011). Bu sonuçlar tez araştırma sonuçlarından daha yüksektir.

Kadiroğlu vd. (2020) yaptıkları çalışmada BoHV-1, BPIV-3 ve BRSV viruslarına karşı oluşan antikörlerin varlığını serum nötralizasyon testi kullanarak araştırmışlardır. Bu araştırma ekibi bölgesel olarak BoHV-1, BPIV-3 ve BRSV için sırası ile %21.9, %28.9 ve %75.8 seropozitiflik oranları bildirmiştir. Bu seropozitiflik

oranları doktora tez çalışmamızın sonuçlarından daha yüksektir; ancak BRSV seropozitifliğinin aksine BoHV-1 ve BPIV-3 seropozitiflik oranları daha yakındır. BRSV seropozitifliği ise tez çalışması sonucundan çok daha yüksektir. Avcı vd. (2014) ELISA testi kullanarak yaptıkları bir çalışmada sığır solunum viruslarının Orta Anadolu bölgesindeki sığırlarda yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacı ekibinin bildirdiği sonuçlara göre serum örneklerinde BoHV-1, BRSV ve BPIV-3 viruslarına karşı oluşan nötralizan antikor varlığı sırasıyla %57.8, %78.2 ve %85.6 olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu veriler tarafımızdan gerçekleştirilen tez çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek görülmektedir. Yukarıda literatür bilgisi ile bildirilen araştırma sonuçları incelendiğinde BRDC içinde yer alan viral patojenler kaynaklı enfeksiyonlarda özellikle BPIV-3 ve BRSV major virus olarak gözükmemektedir. Doktora tez çalışmamızda elde edilen sonuçlar yukarıda verilen sonuçlara nazaran daha düşüktür; ancak çalışmamızda özellikle BPIV-3 daha baskın viral patojen olarak tespit edilmiştir.

BPIV-3 virusu BRDC içinde yer alan ve shipping fever (SF) nedeni olan, tek başına veya sekonder bakteriyel kontaminasyonlar ile şiddetli pnömoni olgularında rol oynayan, besi ve sütçü işletmelerde önemli ekonomik hasarlara neden olan viral patojendir (Ellis, 2010). Türkiye’de BPIV-3 ile ilgili gerçekleştirilen virolojik ve serolojik çalışmalarda geçmişten günümüze Genotip A (BPIV-3a) olarak tanımlanan BPIV-3 referans SF-4 suşu kullanılmıştır. Bunun sonucu bildirilen seropozitiflik oranlarında BPIV-3a seropozitivitesi işaret edilmektedir. Türkiye’de geçmiş yıllarda yapılan serolojik çalışmalarda BPIV-3a için genel seropozitiflik oranı %21.1 ile %88.8 arasında değişmektedir (Alkan vd., 1997; Okur Gümüsova vd., 2007; Yazıcı vd., 2007; Yeşilbağ ve Güngör, 2009). Bu doktora tez çalışmasında ise BPIV-3 olarak tespit edilen ve moleküler karakterizasyonu sonucu genotip C olarak tanımlanan lokal BPIV-3 (BPIV-3c) izolatu kullanılmıştır. Türkiye’de BPIV-3 ile ilgili yapılan serolojik çalışmalar genel olarak BPIV-3a SF-4 suşu ile gerçekleştirilmiştir; BPIV-3c ile yapılan serolojik çalışma sayısı sadece 2’dir (Yazıcı vd., 2019; Müftüoğlu vd., 2021). Bu tez araştırması ise BPIV-3c ile ilgili sınırlı serolojik çalışmalar arasında yer almaktadır ve genel BPIV-3c seropozitifliği %14.11 olarak tespit edilmiştir. Tez çalışmasında elde edilen %14.11 BPIV-3c seropozitiflik oranı Yazıcı vd. (2019) tarafından yapılan ilk çalışmada BPIV-3c için bildirdikleri %21.3 ve Müftüoğlu vd. (2021) tarafından yapılan ikinci BPIV-3c çalışmasında bildirilen %23.3 seropozitiflik oranlarından daha düşük tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında elde edilen BPIV-3c

seropozitiflik oranı daha önce bildirilen BPIV-3c seropozitiflik oranlarından daha düşük olmasına rağmen BPIV-3 genotip C'nin hala bu bölgede aktif olarak sirkulasyonda olduğunun göstergesidir. Ülkemizde olduğu gibi BPIV-3c üzerine yapılan uluslararası sınırlı sayıda serolojik araştırma mevcuttur. Bu araştırmalardan Tiwari et al. (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışma önemlidir ve bu çalışmada BPIV-3c seropozitifliğini %8.4; türlere göre ise seropozitiflik oranları sığırlarda %13.4 ve koyunlarda ise %16.7 olarak bildirilmiştir. Bu değerler özellikle tez çalışmamızda elde edilen sığırlarda %14.5 ve koyunlarda ise %13.6 BPIV-3c seropozitiflik oranlarına yakındır. Ülkemizde hedef konakçısı sığırlar olan BPIV-3 ile ilgili farklı tür olarak özellikle koyunlarda serolojik çalışmalar mevcuttur. Marmara bölgesinde koyunlarda BPIV-3 seropozitiflik oranları serum nötralizasyon testi ile %8.8 olarak tespit edilmiştir (Yeşilbağ ve Güngör, 2009). Van ilinde gerçekleştirilen bir çalışmada immunohistokimya analizleri ile tespit edilen %5.8 oranında pozitiflik tespit edilmiştir (Gülbahar vd., 2002). Çabalar ve Ataseven (1999) Van ilinde koyunlarda yaptıkları serolojik taramalarda BPIV-3 için %52 oranında, Turan ve Bolat (1999) Urfa ve Diyarbakır illerinde koyunlarda yaptıkları çalışmada ise, BPIV-3 seropozitifliğini %55.25 oranında bildirmişlerdir. Bu çalışmaların tamamında elde edilen veriler BPIV-3 referans suşu SF-4 ile gerçekleştirilmesi nedeni ile BPIV-3 genotip A seropozitiflik oranları olarak yorumlanabilir. Tez çalışmamızda ise 750 koyundan yapılan örneklemede %13.6 oranında BPIV-3c seropozitiflik tespit edilmiştir. Bu oran Marmara bölgesinde koyunlarda tespit edilen %8.8'lik sonuca göre daha yüksektir. Van ve diğer bölgelerden bildirilen seropozitiflik oranlarından ise daha düşüktür. Bununla birlikte koyunlarda elde ettiğimiz BPIV-3c seropozitiflik oranları diğer serolojik çalışmalarda elde edilen seropozitiflik oranları ile birlikte değerlendirildiğinde türler arasında çapraz bulaşmada koyunların etkili olma ihtimalini ve BPIV-3 için ülkemizde görülen genotip A ve genotip C için rezervuar tür olacağı görüşünü desteklemektedir. Ayrıca tez araştırmamızda edilen BPIV-3c seropozitiflik oranının sığırlarda tespit ettiğimiz seropozitiflik oranına yakın olması lokal izolatımızın sirkulasyonda kalmasına ve yayılmasına yardım etme ihtimaline de işaret etmektedir.

BRDC'nin önemli bir etkeni olan BRSV, bütün ülkelerde ve ülkemizde çiftlik hayvanlarında görülmektedir. BRSV enfekte ettiği hayvanlarda büyük ölçüde akciğer hasarına yol açarak ölümler ve büyük ekonomik kayıplara neden olabilmektedir (Gagea et al., 2006; Lekeux, 2006; Sakhaee et al., 2009). Bu doktora tez çalışmasında

BRSV için genel seropozitiflik oranı %8.17, örnekleme yapılan hayvan türü bazında ise sığırlarda %9.3 ve koyunlarda ise %6.67 olarak belirlenmiştir. Diğer BRDC içinde yar alan viral patojenler gibi BRSV ile ilgili birçok uluslararası ve ulusal araştırma mevcuttur. Bu araştırmalarda tespit edilen BRSV seropozitiflikleri tez çalışmamızda elde edilen BRSV seropozitiflik oranlarından daha yüksektir. Hoppe et al. (2018) Brezilya'da 26 çiftlikte BRSV seroprevalansının %40 ile %100 arasında değiştiğini bildirmiştir. Ferella et al. (2018) tarafından Arjantin'de BRSV seropozitifliği %78.64 olarak tespit ederken bu yüksek pozitiflikte solunum sistemi hastalığında görülen klinik bulgularının mevcudiyeti, sürü büyüklüğü ve hayvanın yaşı gibi çeşitli faktörlerin etkili olmasına bağlamaktadır. Türkiye'de BRSV için ilk serolojik çalışma Burgu vd. (1990) tarafından gerçekleştirilmiştir ve seropozitif oranı %46.12 olarak bildirilmiştir. Bu ilk bildirimini takiben Türkiye'de BRSV seropozitifliği bölgelere göre sığırlarda %44.6 - 97.1, keçi ve koyunlarda ise %50.9 - 74.7 arasında olduğunu gösteren bir çok çalışma mevcuttur (Yavru vd., 2005; Duman vd., 2009; Avcı vd., 2014; Alpay vd., 2014; Öner ve Yeşilbağ, 2018). Bildirilen bu seropozitiflik oranları doktora tez çalışmamızdan çok daha yüksektir. Bu doktora tez çalışmasında elde edilen verilerin düşük olmasının en önemli nedenlerinden birinin, çalışmada kullanılan serum örneklerinin küçük ölçekli aile işletmelerinden alınması olabilir. İşletme ölçeği büyüdükçe ve virusun aerosol yolla rahat yayılması nedeni ile BRSV seropozitiflik oranları artabilir. Bu görüşü destekleyene önemli araştırma Alkan vd. (1997) tarafından 10 farklı sığır işletmesinde gerçekleştirilen çalışmadır ve bu araştırmacı ekibi işletmenin ölçeğine göre BRSV'nin serolojik dağılımının %4 ile %86 oranlarında değiştiği bildirmişlerdir.

BoHV-1, BRDC içinde yer alan, latent özelliğe sahip, stres şartlarından dolayı tekrar reaktivite kazanan, çok sayıda ülkede özellikle hayvan ticareti ve hareketliliğinin olduğu yerlerde oldukça önemli bir yetiştiricilik problemine neden olan viral patojendir. Ayrıca bu virus, immun sistemi baskılayarak hedef konakçı olarak sığır başta olmak üzere keçi ve koyunlarda genital ve solunum yolu hastalıklarına yol açar ve diğer enfeksiyonlar için de predispozisyon sağlar (Babiuk et al., 1996). Gerek BPIV-3 gerekse BRSV için olduğu gibi BoHV-1 ile ilgili de çok sayıda uluslararası ve ulusal araştırma mevcuttur. Örneğin İrlanda'da, sığırlarda yapılan bir araştırma sonucuna göre BoHV-1 için nötralizan antikor varlığı sürülerde %11.5 - %45.5 arasında değişmektedir (Barrett et al., 2018). Ülkemizde yapılan serolojik çalışmalarda BoHV-1 için referans suşlar Cooper ve Colorado

kullanılmaktadır. Bu doktora tez çalışması dışında, lokal izolat kullanılarak yapılan serolojik çalışma bulunmamaktadır. Ülkemizde büyük ve küçük ruminantlarda daha önce BoHV-1 ile yapılan serolojik çalışmalarda, seroprevalans oranı %2.27'den %61.5'e kadar değişmektedir (Albayrak vd., 2007; Yeşilbağ ve Güngör, 2008; Yılmaz ve Coşkun, 2016). Bu çalışmaların tamamı yukarıda belirtilen referans suş kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Lokal BoHV-1 izolatımız kullanılarak yapılan serolojik bu tez çalışmasında genel BoHV-1 seropozitifliği %10.4 olarak tespit edildi. Elde edilen bu seropozitiflik oranının diğer çalışmalarda elde edilen oranların çoğundan düşük olmasının en önemli nedeninin çalışmada lokal izolat kullanılması olabileceği düşüncesindeyiz. Tür bazında değerlendirme yapıldığında ise primer konakçı olarak sığırlarda Yeşilbag ve Güngör (2008) %73.1 ve Aslan vd. (2015) ise %41.3 oranlarında BoHV-1 seropozitifliği bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise sığırlarda BoHV-1 seropozitiflik oranı %12.4 olarak bulunmuştur. Bu oran özellikle Türkiye'de sığırlarda yapılan BoHV-1 serolojik çalışmalarında bildirilen seropozitiflik oranlarından daha düşüktür. Bunun en önemli nedenlerinden birisi yukarıda belirtildiği üzere ülkemizde BoHV-1 ile yapılan çalışmalarda genel olarak referans suşların tercih edilmesi ve bu çalışmada tercih edilen virusun yerli ve yeni bir izolat olması, dolaşımında daha az bulunmasıdır.

Farklı bir tür olarak koyunlarda ülkemizde bir çok çalışma ile BoHV-1 seropozitiflik oranları araştırılmıştır ve bu çalışmalarda BoHV-1 seropozitiflik oranlarının %2.44 ve %9.8 arasında değiştiği görülmektedir (Yeşilbağ ve Dağalp, 2006; Yeşilbağ ve Güngör, 2009). Ayrıca tez çalışmasının yapıldığı bölgede Albayrak vd. (2007) koyunlarda yaptıkları kapsamlı serolojik taramada BoHV-1 seropozitifliğini %1.74 olarak tespit etmişlerdir. Tez çalışmamızda koyunlarda elde edilen seropozitiflik oranı %7.73 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada elde ettiğimiz seropozitiflik oranı Albayrak vd. (2007) tarafından bildirilen değerden daha yüksektir. Bu yükselişin en önemli nedenlerinden birisi küçük aile işletmelerinde sığırlar ile koyunların birlikte barındırılması ve Pommer and Schamber, (1991) tarafından bildirildiği üzere türler arası çapraz reaksiyonların alfaherpesviruslar arasında yüksek olma ihtimaline bağlanabilir. Elde ettiğimiz verilere göre bölgemizdeki bazı yetiştiriciliklerde küçük ruminant gibi potansiyel rezervuar hayvanların sığırlarla aynı yerde barındırılmasının oluşturabileceği riskler göz ardı edilmemelidir.

Bu araştırmada tespit edilen en önemli sonuçlardan birisi üç önemli virusa karşı nötralizan antikor tespit edilen 572 seropozitif numunede tek bir patojen tarafından

enfeksiyona neden olma bulgusu %90.73 (519/572), birden fazla virus yani çoklu enfeksiyon bulgusu %9.27 (53/572) oranlarında tespit edilmesidir. Bu sonuç araştırmamızda örnekleme yapılan bölgede ve zaman diliminde genel olarak BRDC enfeksiyonlarında tek bir viral patojenin daha etkili olduğunu göstermiştir. Çoklu enfeksiyonlar %98.11 oranında iki viral patojen tarafından, %1.89 oranında ise 3 viral patojenin kombinasyonu sonucu şekillenmektedir. Bununla birlikte çoklu enfeksiyonların aynı dönemde olması şeklinde yorum yapılabildiği gibi bu enfeksiyonların birbirini takip eden farklı dönemlerde oluşma ihtimali de mevcuttur.

Sığırlarda birden fazla virusun neden olduğu enfeksiyon seroprevalansı %3.4 bulunurken koyunlarda ise bu oran %2.4 olarak bulunmuştur. Çalışmada kullanılan 3 virusun ortak olarak ya da ayrı ayrı enfeksiyona neden olduğu sadece 1 adet örnek tespit edilmiştir. Bu örnek Amasya ilinde sığırlardan alınan örnektir. Bunun dışında diğer hayvanların ise ikili enfeksiyonların farklı kombinasyonları olduğu ve en fazla görülen kombinasyonun BRSV + BPIV-3c şeklinde olduğu tespit edilmiştir.

Öner ve Yeşilbağ (2018) yaptıkları çalışmada üç farklı virus ile kombine enfeksiyonlara karşı tespit ettikleri antikor varlığını (%17.9), iki farklı virus ile kombine enfeksiyonlara karşı oluşan antikor varlığından (%1.7) daha yüksek bulmuşlardır. Tez çalışması sonuçları farklı olmasına rağmen, çoklu enfeksiyonların yüksek oranda çıkması ile uyumludur. Yukarıda belirtilen çalışma da bizim sonuçlarımıza benzer bir şekilde (BRSV + BIPV-3) en fazla görülen ikili virus kombinasyonlarıdır. Bunun nedeni gerek BRSV ve gerek BPIV-3 birbirleri ile yakın ilişkili olan viral patojenlerdir ve benzer antijenik ve epidemiyolojik özellikler gösterebilirler. Bu nedenle her iki virusa karşı kombine aşılar çok yaygındır ve çeşitli geleneksel canlı zayıflatılmış ve inaktive olmuş aşılar ticari olarak temin edilebilir (Makoschey and Berge, 2021).

Okur Gümüsova vd. (2007), BRDC viruslarına (BHV-1, BVDV, BPIV-3, BAdV-1 ve BAdV-3) karşı yaptıkları bir serolojik araştırmada en yüksek çoklu enfeksiyon oranlarını iki viral patojene karşı saptamışlardır. Bu çalışmanın sonunda elde edilen 2, 3, 4 ve 5'li virus kombinasyonları ile oluşan seropozitiflikleri sırasıyla %59.04, %58.5, %39.3 ve %35.8 olarak bildirilmiştir. Ayrıca, Akça vd. (2004) tarafından BRDC içinde yer alan farklı viruslar ile (BPIV-3, BRSV, BAdV-1, 2 ve 3) yaptıkları araştırmada tek bir virusa karşı %20.5, iki virus için %29.4, üç virus için %27.2 ve dört ile beş virus için %9.7 seropozitiflik bildirilmiştir. Lauchli et al. (1990), yaptıkları çalışmada ise BRDC içinde yer alan (BRSV, BAdV-1, BAdV-4, BCov,

BVDV ve BPIV-3) viral etkenlere karşı, inceledikleri sığırların %25'inde tek enfeksiyon ve %75'inde çoklu enfeksiyon bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçların çoklu enfeksiyon yönünden değerlendirilmesinde bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile uyumlu olduğu görülmektedir. Tez çalışmamızın aksine Alkan vd. (1997) BoHV-1, BPIV-3, BRSV, BVDV, BAdV-1, BAdV-2, BAdV-3, Enterovirus 1 ve Enterovirus 2 viruslarına karşı yaptıkları serolojik çalışmada 1, 2, 3 - 8 virusa karşı sırasıyla %9.38, %11.46 ve %72.01 enfeksiyon oranları saptamışlardır. Aynı çalışmada solunum yolu enfeksiyonuna neden olan başka viral etkenlerin (BoHV-1 ve BPIV-3) seropozitifliğini incelemişlerdir ve bu enfeksiyonların bulgularımızın tersine çoklu olarak görüldüğü işletmelerde yüksek oranda bulunduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada üç yerel viral izolatımıza karşı seropozitiflik saptanan serumlarda tespit edilen antikor titre değerleri (SN_{50}) 1/4 ile 1/1024 dilüsyonları arasında değişmektedir. Genel olarak BPIV-3c için antikor titreleri 1/4 ile 1/256 gözlemlenmiştir. 1/32 en yüksek saptanan antikor değeridir. BPIV-3c yönünden seropozitif olan sığır serum örneklerinde 1/4 ve 1/256; seropozitif koyun serumlarında ise 1/4 - 1/256 arasında antikor titre değeri tespit edildi. Öte yandan, BRSV açısından genel olarak değerlendirildiğinde antikor titre değerleri 1/4 ve 1/512 arasında değişmektedir. Tır bazında ise seropozitif olan sığır serum örneklerinde 1/4 ve 1/512; seropozitif koyun serumlarında ise 1/4 - 1/128 arasında antikor titre değeri tespit edilmiş ve 1/16 dilüsyonda en fazla gözlenen SN_{50} titre genel olarak değerlendirilmiştir. BoHV-1 için ise seropozitif bulunan serum örneklerinin SN_{50} test değerleri genel olarak 1/4 - 1/512 arasında değişmektedir. Tır bazında ise sığır serum örneklerinde 1/4 ile 1/512 arasında, seropozitif koyun serumlarında ise 1/4 ve 1/128 arasında dağılım tespit edilmiştir ve genel olarak 1/8 en yüksek belirlenen dilüsyon olarak bulunmuştur.

Bu sonuçlar, araştırmanın gerçekleştirildiği bölgede bu 3 önemli virusun sığırlarda ve koyunlarda neden olduğu yakın zamanlı enfeksiyonlara ilişkin kanıtlar sunmaktadır. Bu virusların özellikleri ve çiftliklerdeki yetiştirme şartlarına bağlı bulaşma dinamikleri göz önüne alındığında enfeksiyonun iki türde de eş zamanlı seyredeceği öngörülebilir. Genel olarak, bu hayvanlarda antikor titreleri orta seviyede bulunmuştur, fakat söz konusu klinik veya subklinik olarak doğal enfeksiyona maruz kalındığı ve serokonversiyon şekillendiği gözlemlenmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu doktora tez çalışması BRDC içinde yer alan 3 önemli virusun bölgemizde izole edilen lokal izolatlar kullanılarak ülkemiz için çok önemli olan iki ruminant türü olan sığır ve koyun örneklerinde gerçekleştirilmiştir. Bu tez çalışması geçmişten günümüze Orta Karadeniz Bölgesinde BRDC içinde yer alan bu üç major viral patojen için yapılan en kapsamlı araştırmalardan birisi olma özelliğini taşımakta ve lokal BPIV-3c, BRSV, ve BoHV-1 kullanılması ise çalışmanın özgünlüğü açısından önem arz etmektedir. Ayrıca çalışmada sığırlarda solunum sistemi enfeksiyonları sonucu ortaya çıkan şiddetli pnömoninin neden olduğu ölüm vakalarından izole edilen bu 3 yerli izolatın çalışmanın gerçekleştiği periyotta dolaşımda olduğunun kanıtlanması açısından ayrıca önemlidir. Araştırmada BPIV-3c yeni adı ile *bovine respirovirus 3c* diğer iki patojenle karşılaştırıldığında genel anlamda dolaşımda daha yaygın olarak görülmektedir. Bu viral patojeni BoHV-1 ve BRSV izlemektedir. Ayrıca araştırma yapılan sığır ve koyun popülasyonlarında ikili ve üç patojenden kaynaklanan çoklu enfeksiyonların varlığının tespit edilmesi, aile işletmelerinde önemli ekonomik zararların oluşma ihtimalini yükseltmektedir. Bu doktora tez çalışmasının sonuçlarına göre:

- Solunum sistemi viral enfeksiyonlarının aile işletmeleri için büyük risk oluşturabileceği, gelişmekte olan ülke ekonomilerine ise özellikle hayvancılık endüstrisi ve ekonomisi açısından önemli zararlara neden olacağını ikaz eden gerekli seminerlerin verilmesi; özellikle üreticilere anlatılması,
- Özellikle BoHV-1'in latent seyirli bir enfeksiyon oluşturması nedeni ile düşük oranda seropozitiflik tespit edilmesinin bile sürüler için risk olacağı ve latent enfekte hayvanların bulaşmada her zaman en önemli kriterlerden biri olduğu bilinci ile üreticilerin aydınlatılması ve ülke genelinde kapsamlı bir koruma ve kontrol projeksiyonunun hazırlanması,
- Sığırlar için spesifik olan bu üç majör solunum sistemi virusunun epidemiyolojisinde küçük ruminantların rolü olma ihtimalinin olması nedeni ile özellikle aile işletmelerinde ve hayvan çifliklerinde barınma işlemlerinin mutlaka ayrılması gerekliliği,
- Özellikle BoHV-1'in yayılmasında bu araştırmada örnekleme yapılmayan keçilerde kapsamlı virolojik ve serolojik çalışmaların yapılması,

- Maliyetleri arttırıcı olsa bile özellikle büyük işletmelerde BRDC içinde yer alan viral patojenlere karşı spesifik kombine aşı uygulamalarının yaygınlaştırılması,
- BRSV ve BPIV-3c ile ilgili olarak ise iki virusun dolaşımında olması, her geçen gün tehlike ve verdikleri hasarın ağırlaşması nedeni ile gerekli tedbirlerin alınması,
- Özellikle ülkemizde yaygın olarak görülen BPIV-3a varlığına ek olarak sirkülasyona yeni genotipin (BPIV-3c) dahil olmasının olası sonuçlarının araştırılması,
- BPIV-3c ve BPIV-3a dışından bu virusa ait diğer önemli genotip olan BPIV-3b ile ilgili araştırmaların yapılması,
- Gelişmiş ülkelerde olduğu üzere ülkemiz için de BRDC patojenlerinin neden olduğu ekonomik hasarın tespitine yönelik plan ve projeler gerçekleştirilerek bu planlar doğrultusunda detaylı koruma, kontrol ve eradikasyon projelerinin gerçekleştirilmesi tarafımızdan tavsiye edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abril, C., Engels, M., Liman, A., Hilbe, M., Albini, S., Franchini, M., Suter, M., & Ackermann, M. (2004). Both viral and host factors contribute to neurovirulence of bovine herpesviruses 1 and 5 in interferon receptor-deficient mice. *Journal of virology*, 78(7), 3644–3653. <https://doi.org/10.1128/jvi.78.7.3644-3653.2004>
- Ackermann, M., & Engels, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary microbiology*, 113(3-4), 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.11.043>
- Adair, B. M., Bradford, H. E., Bryson, D. G., Foster, J. C., & McNulty, M. S. (2000). Effect of parainfluenza-3 virus challenge on cell-mediated immune function in parainfluenza-3 vaccinated and non-vaccinated calves. *Research in veterinary science*, 68(2), 197–199. <https://doi.org/10.1053/rvsc.1999.0354>
- Akca, Y., Burgu, I., Gur, S., & Bilge Dagalp, S. (2004). A study on investigation of occurrence of some virus infection in Buffaloes in Turkey. *Revue de médecine vétérinaire*, 155(5), 268–271.
- Albayrak, H., Tamer, C., Ozan, E., Muftuoglu, B., Kadi, H., Dogan, F., Cagiran, A. A., Elhag, A. E., Akman, A., Kurucay, H. N., Gumusova, S., & Yazici, Z. (2020). Molecular identification and phylogeny of bovine herpesvirus-1 (BoHV-1) from cattle associated with respiratory disorders and death in Turkey. *Med. Weter*, 76(6), 358–361. <http://dx.doi.org/10.21521/mw.6393>
- Albayrak, H., Yazici, Z., & Okur-Gumusova, S. (2007). Seroprevalence to bovine herpesvirus type 1 in sheep in Turkey. *Veterinarski arhiv*, 77(3), 257–263.
- Albayrak, H., Yazici, Z., Ozan, E., Tamer, C., Abd El Wahed, A., Wehner, S., Ulrich, K., & Weidmann, M. (2019). Characterisation of the First Bovine Parainfluenza Virus 3 Isolate Detected in Cattle in Turkey. *Veterinary sciences*, 6(2), 56. <https://doi.org/10.3390/vetsci6020056>
- Alkan, F., Özkul, A., Karaoğlu M. T, Bilge Dağalp, S., Akça, Y., Burgu, İ., Yeşilbağ, K., & Oğuzoğlu, T. Ç. (1997). Sığırlarda viral nedenli solunum sistemi enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 44(1), 73–80.
- Alpay, G., Tuncer, P., & Yeşilbağ, K. (2014). Bir ada ekosistemindeki sığır, koyun ve keçilerde bazı viral enfeksiyonların seroprevalansı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 61(1), 43–48.
- Antonis, A. F., Claassen, E. A., Hensen, E. J., de Groot, R. J., de Groot-Mijnes, J. D., Schrijver, R. S., & van der Most, R. G. (2006). Kinetics of antiviral CD8 T cell responses during primary and post-vaccination secondary bovine respiratory syncytial virus infection. *Vaccine*, 24(10), 1551–1561. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.10.005>
- Antonis, A. F., de Jong, M. C., van der Poel, W. H., van der Most, R. G., Stockhofe-Zurwieden, N., Kimman, T., & Schrijver, R. S. (2010). Age-dependent differences in the pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus infections related to the development of natural immunocompetence. *The Journal of general virology*, 91(Pt 10), 2497–2506. <https://doi.org/10.1099/vir.0.020842-0>
- Arslan, H. H., Yavuz, O., Nisbet, C., Cenesiz, S., & Aksu, D. S. (2010). Comparative evaluation of the effects of florfenicol and tulathromycin on clinical recovery and acute phase proteins in undifferentiated natural bovine respiratory disease. *Rev Méd Vét*, 161, 535–539.
- Aslan, M. E., Azkur, A. K., & Gazyagci, S. (2015). Epidemiology and genetic characterization of BVDV, BHV-1, BHV-4, BHV-5 and Brucella spp. infections in

- cattle in Turkey. *The Journal of veterinary medical science*, 77(11), 1371–1377. <https://doi.org/10.1292/jvms.14-0657>
- Aslım, H. P. & Bulut, O. (2020). Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) ve Subtipleri. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 9(2), 133-147. Retrieved from: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/bdhad/issue/58644/847116>
- Autio, T., Pohjanvirta, T., Holopainen, R., Rikula, U., Pentikäinen, J., Huovilainen, A., Rusanen, H., Soveri, T., Sihvonon, L., & Pelkonen, S. (2007). Etiology of respiratory disease in non-vaccinated, non-medicated calves in rearing herds. *Veterinary microbiology*, 119(2-4), 256–265. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.10.001>
- Avcı, O., Yavru, S., & Şevik, M. (2014). Antibody prevalence against respiratory viruses in naturally infected cattle in Central Anatolia. *Eurasian J Vet Sci*, 30(2), 80-84. Retrieved from: <https://dergipark.org.tr/en/pub/eurasianjvetsci/issue/24803/262039>
- Babiuk, L. A., van Drunen Littel-van den Hurk, S., & Tikoo, S. K. (1996). Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Veterinary microbiology*, 53(1-2), 31–42. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(96\)01232-1](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(96)01232-1)
- Baker, J. C., Wilson, E. G., McKay, G. L., Stanek, R. J., Underwood, W. J., Velicer, L. F., & Mufson, M. A. (1992). Identification of subgroups of bovine respiratory syncytial virus. *Journal of clinical microbiology*, 30(5), 1120–1126. <https://doi.org/10.1128/jcm.30.5.1120-1126.1992>
- Barber, K. A., Daugherty, H. C., Ander, S. E., Jefferson, V. A., Shack, L. A., Pechan, T., Nanduri, B., & Meyer, F. (2017). Protein Composition of the Bovine Herpesvirus 1.1 Virion. *Veterinary sciences*, 4(1), 11. <https://doi.org/10.3390/vetsci4010011>
- Barrett, D., Parr, M., Fagan, J., Johnson, A., Tratalos, J., Lively, F., Diskin, M., & Kenny, D. (2018). Prevalence of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV), Bovine Herpes Virus 1 (BHV 1), Leptospirosis and Neosporosis, and associated risk factors in 161 Irish beef herds. *BMC veterinary research*, 14(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1324-9>
- Biswas, S., Bandyopadhyay, S., Dimri, U., & Patra, P. H. (2013). Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) - a re-emerging concern in livestock: a revisit to its biology, epidemiology, diagnosis, and prophylaxis. *The veterinary quarterly*, 33(2), 68–81. <https://doi.org/10.1080/01652176.2013.799301>
- Borchers, A. T., Chang, C., Gershwin, M. E., & Gershwin, L. J. (2013). Respiratory syncytial virus--a comprehensive review. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 45(3), 331–379. <https://doi.org/10.1007/s12016-013-8368-9>
- Braun U. (2009). Traumatic pericarditis in cattle: clinical, radiographic and ultrasonographic findings. *Vet. J.*, 182(2), 176–186. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.06.021>
- Brodersen B. W. (2010). Bovine respiratory syncytial virus. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 26(2), 323–333. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.04.010>
- Bryson, D. G., McNulty, M. S., McCracken, R. M., & Cush, P. F. (1983). Ultrastructural features of experimental parainfluenza type 3 virus pneumonia in calves. *Journal of comparative pathology*, 93(3), 397–414. [https://doi.org/10.1016/0021-9975\(83\)90027-0](https://doi.org/10.1016/0021-9975(83)90027-0)
- Burgu, I., Toker, A., Akca, Y., & Alkan, F. (1990). A seroepidemiologic study of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) in Turkey. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 97(2), 88–89. PMID: 2311535
- Carrière, P. D., Maxie, M. G., Wilkie, B. N., Savan, M., Valli, V. E., & Johnson, J. A. (1983). Exposure of calves to aerosols of parainfluenza-3 virus and Pasteurella haemolytica. *Canadian journal of comparative medicine*, 47(4), 422–432. PMID: 6320999

- Chamorro, M. F., Walz, P. H., Haines, D. M., Passler, T., Earleywine, T., Palomares, R. A., Riddell, K. P., Galik, P., Zhang, Y., & Givens, M. D. (2014). Comparison of levels and duration of detection of antibodies to bovine viral diarrhea virus 1, bovine viral diarrhea virus 2, bovine respiratory syncytial virus, bovine herpesvirus 1, and bovine parainfluenza virus 3 in calves fed maternal colostrum or a colostrum-replacement product. *Canadian journal of veterinary research*, 78(2), 81–88. PMID: 24688168
- Cherrie, A. H., Anderson, K., Wertz, G. W., & Openshaw, P. J. (1992). Human cytotoxic T cells stimulated by antigen on dendritic cells recognize the N, SH, F, M, 22K, and 1b proteins of respiratory syncytial virus. *Journal of virology*, 66(4), 2102–2110. <https://doi.org/10.1128/JVI.66.4.2102-2110.1992>
- Collins, P. L., Channock, R.M. & Murphy, B.R. (2001) Respiratory syncytial virus. In: Knipe, D.M., Howley, P.M., Griffin, D.E., Lamb, R.A. and Martin, M.A. (eds) *Fields Virology*. Raven Press, New York, pp. 1443–1485.
- Corder, G. W., & Foreman, D. I. (2014). *Nonparametric statistics: A step-by-step approach*. John Wiley & Sons. New York: Wiley, pp. 978-1813.
- Crook, T., Benavides, J., Russell, G., Gilray, J., Maley, M., & Willoughby, K. (2012). Bovine herpesvirus 1 abortion: current prevalence in the United Kingdom and evidence of hematogenous spread within the fetus in natural cases. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 24(4), 662–670. <https://doi.org/10.1177/1040638712448187>
- Çabalar, M., & Ataseven, V. S. (1999). “Van Yöresinde Koyunlarda Parainfluenza Virus-3 (PIV-3), Bovine Herpes Virus-1 (BHV-1) ve Respiratory Syncytial Virus (RSV) Enfeksiyonlarının Serolojik Olarak Araştırılması”. *Y.Y.Ü. Sağlık Bil. Derg.*, 5, 73–78.
- 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. <https://dergipark.org.tr/en/pub/yyuvfd/issue/13751/166564>
- Çeribaşı, A. O., Ozkaraca, M., Ceribasi, S., & Ozer, H. (2014). Histopathologic, immunoperoxidase and immunofluorescent examinations on natural cattle pneumonia originated from Parainfluenza type 3, Respiratory Syncytial virus, Adenovirus type 3 and Herpesvirus type 1. *Rev Med Vet*, 165(7-8), 201-12.
- Del Médico Zajac, M. P., Ladelfa, M. F., Kotsias, F., Muylkens, B., Thiry, J., Thiry, E., & Romera, S. A. (2010). Biology of bovine herpesvirus 5. *Veterinary journal*, 184(2), 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.03.035>
- Deplanche, M., Lemaire, M., Mirandette, C., Bonnet, M., Schelcher, F., & Meyer, G. (2007). In vivo evidence for quasispecies distributions in the bovine respiratory syncytial virus genome. *The Journal of general virology*, 88(Pt4), 1260–1265. <https://doi.org/10.1099/vir.0.82668-0>
- Doggett, J. E., Taylor-Robinson, D., & Gallop, R. G. (1968). A study of an inhibitor in bovine serum active against respiratory syncytial virus. *Archiv für die gesamte Virusforschung*, 23(1), 126–137. <https://doi.org/10.1007/BF01242120>
- Duman, R., Yavru, S., Kale, M., Avcı, O. (2009). Seroprevalence of viral upper respiratory infections in dairy cattle. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15, 539–542.
- Dumka, V. K., & Srivastava, A. K. (2006). Pharmacokinetics, urinary excretion and dosage regimen of levofloxacin following a single intramuscular administration in cross bred calves. *J. Vet. Sci.*, 7(4), 333–337. <https://doi.org/10.4142/jvs.2006.7.4.333>
- Edwards T. A. (2010). Control methods for bovine respiratory disease for feedlot cattle. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 26(2), 273–284. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.03.005>

- Ellis J. A. (2010). Bovine parainfluenza-3 virus. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 26(3), 575–593. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.08.002>
- Erhan, M., Onar, B., Csontos, L., Hopkins, I. G. (1971). Serological survey on some virus and bedsonia disease of cattle, sheep and horse. *Pendik Vet Kont Araş Ens Derg*, 4, 67-76.
- Erhan, M., Onar, B., Tanzer, F. (1973). Parainfluenza-3 virusunun koyun ve sığırlardan izolasyonu ve bu virusa karşı aynı hayvanların kan serumlarında hemagglütinasyon inhibisyon testiyle antikor taranması. *Pendik Vet Kont Araş Ens Derg*, 4, 67-76.
- Fenner, F., Bachmann, P. A., Gibbs, B. P. J., Murphy, F. A., Studdert, M. J., & White, D. O. (1987). Academic Press. Veterinary Virology. Orlando, Florida, USA.
- Ferella, A., Pérez Aguirreburualde, M. S., Margineda, C., Aznar, N., Sammarruco, A., Dus Santos, M. J., & Mozgovej, M. (2018). Bovine respiratory syncytial virus seroprevalence and risk factors in feedlot cattle from Córdoba and Santa Fe, Argentina. *Revista Argentina de microbiologia*, 50(3), 275–279. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.07.004>
- Flöck M. (2004). Diagnostic ultrasonography in cattle with thoracic disease. *Veterinary journal*, 167(3), 272–280. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00110-2](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00110-2)
- Fogg, M. H., Parsons, K. R., Thomas, L. H., & Taylor, G. (2001). Identification of CD4+ T cell epitopes on the fusion (F) and attachment (G) proteins of bovine respiratory syncytial virus (BRSV). *Vaccine*, 19(23-24), 3226–3240. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(01\)00030-5](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(01)00030-5)
- Frey, H. R., & Liess, B. (1971). Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit eines stark zytopathogenen VD-MD-Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotiter-Methode. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B.*, 18(1), 61–71.
- Fulton R. W. (2009). Bovine respiratory disease research (1983-2009). *Animal health research reviews*, 10(2), 131–139. <https://doi.org/10.1017/S146625230999017X>
- Furze, J., Wertz, G., Lerch, R., & Taylor, G. (1994). Antigenic heterogeneity of the attachment protein of bovine respiratory syncytial virus. *The Journal of general virology*, 75 (Pt 2), 363–370. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-75-2-363>
- Gaddum, R. M., Cook, R. S., Furze, J. M., Ellis, S. A., & Taylor, G. (2003). Recognition of bovine respiratory syncytial virus proteins by bovine CD8+ T lymphocytes. *Immunology*, 108(2), 220–229. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2003.01566.x>
- Gagea, M. I., Bateman, K. G., van Dreumel, T., McEwen, B. J., Carman, S., Archambault, M., Shanahan, R. A., & Caswell, J. L. (2006). Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 18(1), 18–28. <https://doi.org/10.1177/104063870601800104>
- Gershwin L. J. (2012). Immunology of bovine respiratory syncytial virus infection of cattle. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 35(3), 253–257. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.01.005>
- Gorden, P. J., & Plummer, P. (2010). Control, management, and prevention of bovine respiratory disease in dairy calves and cows. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 26(2), 243–259. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.03.004>
- Graham, D. A., Mawhinney, K. A., German, A., Foster, J. C., Adair, B. M., & Merza, M. (1999). Isotype- and subclass-specific responses to infection and reinfection with parainfluenza-3 virus: comparison of the diagnostic potential of ELISAs detecting seroconversion and specific IgM and IgA. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 11(2), 127–133. <https://doi.org/10.1177/104063879901100204>

- Grandemange, E., Fournel, S., Giboin, H., & Woehrle, F. (2012). Efficacy of a single injection of marbofloxacin in the treatment of bovine respiratory disease. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 163(6), 287-294.
- Gratzek, J. B., Peter, C. P., & Ramsey, F. K. (1966). Isolation and characterization of a strain of infectious bovine rhinotracheitis virus associated with enteritis in cattle: isolation, serologic characterization, and induction of the experimental disease. *American journal of veterinary research*, 27(121), 1567–1572.
- Griffin D. (1997). Economic impact associated with respiratory disease in beef cattle. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 13(3), 367–377. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30302-9](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30302-9)
- Guzman, E., & Taylor, G. (2015). Immunology of bovine respiratory syncytial virus in calves. *Mol immunol*, 66(1), 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2014.12.004>
- Gülbahar, M. Y., Çabalar, M., & Ertürk, A. (2002). Detection by immunoperoxidase technique of parainfluenza type-3 virus and respiratory syncytial virus antigens in naturally occurring pneumonia in lambs. *YYÜ Vet Fak Derg*, 13(1-2), 74-77.
- Hamm, M., Wollen, T., Highland, R., Davidson, J., TerHune, T., Lechtenberg, K., Apley, M., Miles, D., Wray, M., Bechtol, D. & Waite, A., (1999). Clinical efficacy of enrofloxacin against bovine respiratory disease comparing different treatment regimens. *The Bovine Practitioner*, 33, 56–59.
- Hashemi, M., Bakhshesh, M., Khezri, M., Gharagouzlouian, M. M., & Tavakoli, G. (2022). A two-year serological study of bovine viral diarrhoea virus, bovine alphaherpesvirus 1 and bovine parainfluenza virus type 3 in Qazvin dairy cattle farms, Northwestern of Iran. *Veterinarski arhiv*, 92(1), 1-10. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.1123>
- Hibbard, B., Robb, E. J., Chester, S. T., Jr, Dame, K. J., Moseley, W. W., & Bryson, W. L. (2002). Dose determination and confirmation for ceftiofur crystalline-free acid administered in the posterior aspect of the ear for control and treatment of bovine respiratory disease. *Veterinary therapeutics*, 3(1), 22–30.
- Hilton W. M. (2014). BRD in 2014: where have we been, where are we now, and where do we want to go?. *Animal health research reviews*, 15(2), 120–122. <https://doi.org/10.1017/S1466252314000115>
- Hoppe, I. B. A. L., Medeiros, A. S. R., Arns, C. W., & Samara, S. I. (2018). Bovine respiratory syncytial virus seroprevalence and risk factors in non-vaccinated dairy cattle herds in Brazil. *BMC veterinary research*, 14(1), 208. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1535-8>
- Hore, D. E., & Stevenson, R. G. (1969). Respiratory infection of lambs with an ovine strain parainfluenza virus type 3. *Research in veterinary science*, 10(4), 342–350.
- Horwood, P. F., Gravel, J. L., & Mahony, T. M. (2008). Identification of two distinct bovine parainfluenza virus type 3 genotypes. *Journal of General Virology*, 89(7), 1643– 1648. <https://doi.org/10.1099/vir.0.2008/000026-0>
- Inaba, Y., Tanaka, Y., Omori, T. & Matumoto, M. (1970). Isolation of bovine respiratory syncytial virus. *Japanese Journal of Experimental Medicine*, 40, 473–474.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). (2019a). 2019 Release. Available online: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202101621 (accessed on 18 December 2022).
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). (2019b). 2019 Release. Available online: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202101650 (accessed on 18 December 2022).

- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). (2019c). 2019 Release. Available online: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202101440 (accessed on 18 December 2022).
- İşcan UT. (2010). İskilip (Çorum) yöresindeki süt sığırlarında Bovine Herpesvirus Tip 1 (BHV1)'in prevalansı. Yüksek Lisans Tezi; Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.
- Jacobs, J. W., & Edington, N. (1971). Isolation of respiratory syncytial virus from cattle in Britain. *The Veterinary record*, 88(26), 694. <https://doi.org/10.1136/vr.88.26.694-b>
- Jacquot, M., Nomikou, K., Palmarini, M., Mertens, P., & Biek, R. (2017). Bluetongue virus spread in Europe is a consequence of climatic, landscape and vertebrate host factors as revealed by phylogeographic inference. *Proc Biol Sci*, 284(1864), 20170919. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0919>
- Jamali, H., Rezagholipour, M., Fallah, S., Dadrasnia, A., Chelliah, S., Velappan, R. D., Wei, K. S., & Ismail, S. (2014). Prevalence, characterization and antibiotic resistance of *Pasteurella multocida* isolated from bovine respiratory infection. *Veterinary journal*, 202(2), 381–383. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.07.024>
- Johnston, D., Earley, B., McCabe, M. S., Lemon, K., Duffy, C., McMenamy, M., Cosby, S. L., Kim, J., Blackshields, G., Taylor, J. F., & Waters, S. M. (2019). Experimental challenge with bovine respiratory syncytial virus in dairy calves: bronchial lymph node transcriptome response. *Scientific reports*, 9(1), 14736. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51094-z>
- Kadiroğlu, B. , Alpay, G. & Yeşilbağ, K. (2020). Diyarbakır Bölgesindeki Ruminantlarda Solunum Sistemi Virüslerinin Seroprevalansı ve Pestivirus Varlığının Araştırılması. *Journal of Research in Veterinary Medicine*, 39(1), 26-33. <https://doi.org/10.30782/jrv.559809>
- Keita, A., Pommier, P., Pagot, E., Couper, A., & Cromie, L. (2007). A combination oxytetracycline/flunixin treatment of respiratory infections in cattle. *Rev Med Vet*, 158, 86-91.
- Kurčić, V., Đoković, R., Ilić, Z., & Petrović, M. (2018). Etiopathogenesis and economic significance of bovine respiratory disease complex (BRDC). *Acta Agriculturae Serbica*, 23(45), 85-100. <https://doi.org/10.5937/AASer1845085K>
- Lamontagne, L., Descôteaux, J. P., & 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. *Canadian journal of comparative medicine*, 49(4), 424–428.
- Lauchli, C. H., Kocherhans, R., & Wyler, R. (1990). Multiple virusinfektionen bei respirationstrakterkrankungen des rindes im winter 1986/87. *Wien. Tierarztl. Mschr*, 77, 109-116.
- Lee, M. S., Greenberg, D. P., Yeh, S. H., Yogev, R., Reisinger, K. S., Ward, J. I., Blatter, M. W., Cho, I., Holmes, S. J., Cordova, J. W., August, M. J., Chen, W., Menta, H. B., Coelingh, K. L. & Mendelman, P. M. (2001). Antibody responses to bovine parainfluenza virus type 3 (PIV3) vaccination and human PIV3 infection in young infants. *Journal of Infectious Diseases* 184, 909–913.
- Lekeux P. (2006). BRDC and the modulation of lung inflammation. *Veterinary journal*, 171(1), 14–15. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.12.004>
- Mahmoud, M. A., & Allam, A. M. (2013). Seroprevalence of bovine viral diarrhea virus (BVDV), bovine herpes virus type 1 (BHV-1), parainfluenza type 3 virus (PI-3V) and bovine respiratory syncytial virus (BRSV) among non vaccinated cattle. *Global Veterinaria*, 10(3), 348-353. Available from: [http://www.idosi.org/gv/gv10\(3\)13/18](http://www.idosi.org/gv/gv10(3)13/18).

- Maidana, S. S., Lomonaco, P. M., Combessies, G., Craig, M. I., Diodati, J., Rodriguez, D., Parreno, V., Zabel, D., Konrad, J. L., Crudelli, G., Mauroy, A., Thiry, E. & Romera, S. A. (2012) Isolation and characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Argentina. *BMC Veterinary Research*, 8, 83. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-83>
- Makoschey, B., & Berge, A. C. (2021). Review on bovine respiratory syncytial virus and bovine parainfluenza - usual suspects in bovine respiratory disease - a narrative review. *BMC veterinary research*, 17(1), 261. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02935-5>
- Mars, M. H., de Jong, M. C., van Maanen, C., Hage, J. J., & van Oirschot, J. T. (2000). Airborne transmission of bovine herpesvirus 1 infections in calves under field conditions. *Veterinary microbiology*, 76(1), 1–13. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(00\)00218-2](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(00)00218-2)
- Martin, S. W., & Lumsden, J. H. (1987). The relationship of hematology and serum chemistry parameters to treatment for respiratory disease and weight gain in Ontario feedlot calves. *Canadian journal of veterinary research*, 51(4), 499–505.
- McGuirk, S. M., & Peek, S. F. (2014). Timely diagnosis of dairy calf respiratory disease using a standardized scoring system. *Animal health research reviews*, 15(2), 145–147. <https://doi.org/10.1017/S1466252314000267>
- Mechor, G. D., Rousseaux, C. G., Radostits, O. M., Babiuk, L. A., & Petrie, L. (1987). Protection of newborn calves against fatal multisystemic infectious bovine rhinotracheitis by feeding colostrum from vaccinated cows. *Canadian journal of veterinary research*, 51(4), 452–459.
- Mena, A., Ioannou, X. P., Van Kessel, A., Van Drunen Little-Van Den Hurk, S., Popowych, Y., Babiuk, L. A., & Godson, D. L. (2002). Th1/Th2 biasing effects of vaccination in cattle as determined by real-time PCR. *Journal of immunological methods*, 263(1-2), 11–21. [https://doi.org/10.1016/s0022-1759\(02\)00029-7](https://doi.org/10.1016/s0022-1759(02)00029-7)
- Meyer, G., Deplanche, M., & Schelcher, F. (2008). Human and bovine respiratory syncytial virus vaccine research and development. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 31(2-3), 191–225. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2007.07.008>
- Moeller, R. B., Jr, Adaska, J., Reynolds, J., & Blanchard, P. C. (2013). Systemic Bovine herpesvirus 1 infections in neonatal dairy calves. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 25(1), 136–141. <https://doi.org/10.1177/1040638712470448>
- Muftuoglu, B., Kurucay, H. N., Elhag, A. E., Yildirim, S., Cicek-Yildiz, Y., Tamer, C., Ozan, E., Sahna, K. C., Yildirim, Y., Albayrak, H., Okur-Gumusova, S., & Yazici, Z. (2021). A serosurvey for bovine respirovirus 3 in Turkish domestic ruminants: The first comparison study of A and C genotypes. *Veterinary medicine and science*, 7(5), 1625–1632. <https://doi.org/10.1002/vms3.534>
- Muylkens, B., Thiry, J., Kirten, P., Schynts, F., & Thiry, E. (2007). Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Veterinary research*, 38(2), 181–209. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006059>
- Nandi, S., Kumar, M., Manohar, M., & Chauhan, R. S. (2009). Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal health research reviews*, 10(1), 85–98. <https://doi.org/10.1017/S1466252309990028>
- Nettleton, P., & Russell, G. (2017). Update on infectious bovine rhinotracheitis. *In Practice*, 39(6), 255–272. <https://doi.org/10.1136/inp.j2226>
- Newcomer, B. W., Neill, J. D., Galik, P. K., Riddell, K. P., Zhang, Y., Passler, T., Velayudhan, B. T., & Walz, P. H. (2017). Serologic survey for antibodies against three genotypes of bovine parainfluenza 3 virus in unvaccinated ungulates in

- Alabama. *American journal of veterinary research*, 78(2), 239–243. <https://doi.org/10.2460/ajvr.78.2.239>
- Oem, J. K., Lee, E. Y., Lee, K. K., Kim, S. H., Lee, M. H., & Hyun, B. H. (2013). Molecular characterization of a Korean bovine parainfluenza virus type 3 isolate. *Veterinary microbiology*, 162(1), 224–227. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.10.013>
- Ogunbiyi, P. O., Black, W. D., & Eyre, P. (1988). Parainfluenza-3 virus-induced enhancement of histamine release from calf lung mast cells--effect of levamisole. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 11(4), 338–344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1988.tb00193.x>
- Ohkura, T., Minakuchi, M., Sagai, M., Kokuho, T., Konishi, M., Kameyama, K. I., & Takeuchi, K. (2015). Infection of the upper respiratory tract of hamsters by the bovine parainfluenza virus type 3 BN-1 strain expressing enhanced green fluorescent protein. *Virology*, 476, 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.12.015>
- Okur Gümüsova, S., Yazici, Z., Albayrak, H., & Cakiroglu, D. (2007). Seroprevalence of bovine viral respiratory diseases. *Acta veterinaria (Beograd)*, 57(1), 11-16. <https://doi.org/10.2298/AVB0701011O>
- Ollivett, T. L., & Buczinski, S. (2016). On-Farm Use of Ultrasonography for Bovine Respiratory Disease. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 32(1), 19–35. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2015.09.001>
- Öner, E. B. & Yeşilbağ, K. (2018). Besi sığırlarında solunum sistemi viruslarının seroprevalansı ve persiste BVD virus enfeksiyonu tespiti. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 65(1), 1-7. https://doi.org/10.1501/Vetfak_0000002820
- Paccaud, M. F., & Jacquier, C. (1970). A respiratory syncytial virus of bovine origin. *Archiv für die gesamte Virusforschung*, 30(4), 327–342. <https://doi.org/10.1007/BF01258363>
- Pardon, B., De Bleecker, K., Dewulf, J., Callens, J., Boyen, F., Catry, B., & Deprez, P. (2011). Prevalence of respiratory pathogens in diseased, non-vaccinated, routinely medicated veal calves. *The Veterinary record*, 169(11), 278. <https://doi.org/10.1136/vr.d4406>
- Patel J. R. (2005). Relative efficacy of inactivated bovine herpesvirus-1 (BHV-1) vaccines. *Vaccine*, 23(31), 4054–4061. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.12.010>
- Perino, L. J., & Apley, M. D. (1998). Clinical trial design in feedlots. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 14(2), 343–365. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30258-9](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30258-9)
- Perrett, T., Abutarbush, S. M., Wildman, B. K., Fuchs, M. T., Schunicht, O. C., Pollock, C. M., Fenton, R. K., Jim, G. K., Guichon, P. T., Booker, C. W., Berg, J., Roder, J., & Spire, M. (2008). A comparison of florfenicol and tulathromycin for the treatment of undifferentiated fever in feedlot calves. *Veterinary therapeutics*, 9(2), 128–140.
- Pollock, N., Taylor, G., Jobe, F., & Guzman, E. (2017). Modulation of the transcription factor NF-κB in antigen-presenting cells by bovine respiratory syncytial virus small hydrophobic protein. *The Journal of general virology*, 98(7), 1587–1599. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000855>
- Pommer, J., & Schamber, G. (1991). Isolation of adenovirus from lambs with upper respiratory syndrome. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 3(3), 204–210. <https://doi.org/10.1177/104063879100300303>
- Raaperi, K., Orro, T., & Viltrop, A. (2014). Epidemiology and control of bovine herpesvirus 1 infection in Europe. *Vet J*, 201(3), 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.05.040>
- Reed, L. J., & Muench, H. A. (1938). Simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am J Hyg*, 27, 493-497.

- Reisinger, R. C., Heddleston, K. L., & Manthei, C. A. (1959). A myxovirus (SF-4) associated with shipping fever of cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 135(3), 147–152.
- Richeson, J. T., Pinedo, P. J., Kegley, E. B., Powell, J. G., Gadberry, M. S., Beck, P. A., & Falkenberg, S. M. (2013). Association of hematologic variables and castration status at the time of arrival at a research facility with the risk of bovine respiratory disease in beef calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243(7), 1035–1041. <https://doi.org/10.2460/javma.243.7.1035>
- Rosenquist B. D. (1974). Isolation of respiratory syncytial virus from calves with acute respiratory disease. *The Journal of infectious diseases*, 130(2), 177–182. <https://doi.org/10.1093/infdis/130.2.177>
- Sakhaee, E., Khalili, M., & Kazemi nia, S. (2009). Serological study of bovine viral respiratory diseases in dairy herds in Kerman province, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 10(1), 49-53. <https://doi.org/10.22099/ijvr.2009.1089>
- Salt, J. S., Thevasagayam, S. J., Wiseman, A., & Peters, A. R. (2007). Efficacy of a quadrivalent vaccine against respiratory diseases caused by BHV-1, PI3V, BVDV and BRSV in experimentally infected calves. *Vet J*, 174(3), 616–626. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.10.007>
- SCAHAW (Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare) Report on Bovine Herpesvirus 1 (BHV1) marker vaccines and the accompanying tests. European Commission, Sanco/C3/AH/R20/2000. p. 2. October, 25th 2000
- Schmidt, A. C., McAuliffe, J. M., Huang, A., Surman, S. R., Bailly, J. E., Elkins, W. R., Collins, P. L., Murphy, B. R., & Skiadopoulos, M. H. (2000). Bovine parainfluenza virus type 3 (BPIV3) fusion and hemagglutinin-neuraminidase glycoproteins make an important contribution to the restricted replication of BPIV3 in primates. *Journal of virology*, 74(19), 8922–8929. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.19.8922-8929.2000>
- Schreiber, P., Matheise, J. P., Dessy, F., Heimann, M., Letesson, J. J., Coppe, P., & Collard, A. (2000). High mortality rate associated with bovine respiratory syncytial virus (BRSV) infection in Belgian white blue calves previously vaccinated with an inactivated BRSV vaccine. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 47(7), 535–550. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2000.00380.x>
- Segura C, J., Figueroa Ch, D., García-M, L., & Pescador R, A. (2013). Parainfluenza-3 and bovine respiratory syncytial virus: intraherd correlation adjusted for sensitivity and specificity. *Revista MVZ Córdoba*, 18(3), 3807-3811.
- Sheridan, M. P., Regev-Shoshani, G., Martins, J., Vimalanathan, S., & Miller, C. (2016). Nitric oxide modulates the immunological response of bovine PBMCs in an in vitro BRDC infection model. *Research in veterinary science*, 109, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.09.004>
- Skiadopoulos, M. H., Schmidt, A. C., Riggs, J. M., Surman, S. R., Elkins, W. R., St Claire, M., Collins, P. L., & Murphy, B. R. (2003). Determinants of the host range restriction of replication of bovine parainfluenza virus type 3 in rhesus monkeys are polygenic. *Journal of virology*, 77(2), 1141–1148. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.2.1141-1148.2003>
- Snowder, G. D., Van Vleck, L. D., Cundiff, L. V., & Bennett, G. L. (2006). Bovine respiratory disease in feedlot cattle: environmental, genetic, and economic factors. *Journal of animal science*, 84(8), 1999–2008. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-046>

- Spilki, F. R. (2016). Bovine Parainfluenza Virus Type 3. In M. Munir (Ed.), *Mononegaviruses of Veterinary Importance, Volume 2: Molecular Epidemiology and Control*, pp. 98– 105. CABI. <https://doi.org/10.1079/9781780644172.0098>
- Stott, E. J., Thomas, L. H., Collins, A. P., Crouch, S., Jebbett, J., Smith, G. S., Luther, P. D., & Caswell, R. (1980). A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease. *The Journal of hygiene*, 85(2), 257–270. <https://doi.org/10.1017/s0022172400063294>
- Sudaryatma, P. E., Nakamura, K., Mekata, H., Sekiguchi, S., Kubo, M., Kobayashi, I., Subangkit, M., Goto, Y., & Okabayashi, T. (2018). Bovine respiratory syncytial virus infection enhances *Pasteurella multocida* adherence on respiratory epithelial cells. *Veterinary microbiology*, 220, 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.04.031>
- Sweeney, M. T., Quesnell, R., Tiwari, R., Lemay, M., & Watts, J. L. (2013). In vitro activity and rodent efficacy of clinafloxacin for bovine and swine respiratory disease. *Frontiers in microbiology*, 4, 154. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00154>
- Tamer, C., Palanci, H. S., Yazici, Z., Bayram, E., Cakmaker, M., Ozan, E., Onkol S., Gumusova, S., & Albayrak, H. (2018). Serological data of bovine herpes virus type-1 and bovine viral diarrhoea virus infections in various ruminants in small-scale farms in the Central and Eastern Black Sea Region, Turkey. *Indian J Anim Res*, 52(6), 903-906. <https://doi.org/10.18805/ijar.v0iOF.8470>
- Taylor, G., Wyld, S., Valarcher, J. F., Guzman, E., Thom, M., Widdison, S., & Buchholz, U. J. (2014). Recombinant bovine respiratory syncytial virus with deletion of the SH gene induces increased apoptosis and pro-inflammatory cytokines in vitro, and is attenuated and induces protective immunity in calves. *The Journal of general virology*, 95(Pt 6), 1244–1254. <https://doi.org/10.1099/vir.0.064931-0>
- Taylor, J. D., Fulton, R. W., Lehenbauer, T. W., Step, D. L., & Confer, A. W. (2010). The epidemiology of bovine respiratory disease: what is the evidence for preventive measures?. *The Canadian veterinary journal*, 51(12), 1351–1359. PMID: 21358927
- Thomas, L. H., Cook, R. S., Wyld, S. G., Furze, J. M., & Taylor, G. (1998). Passive protection of gnotobiotic calves using monoclonal antibodies directed at different epitopes on the fusion protein of bovine respiratory syncytial virus. *The Journal of infectious diseases*, 177(4), 874–880. <https://doi.org/10.1086/515234>
- Timurkan, M. Ö., Aydın, H., & Belen, S. (2015). The detection and molecular characterization of bovine respiratory coronavirus infection by RT-PCR in Erzurum. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10(3), 186-192.
- Timurkan, M. Ö., Aydın, H., & Sait, A. (2019). Identification and Molecular Characterisation of Bovine Parainfluenza Virus-3 and Bovine Respiratory Syncytial Virus - First Report from Turkey. *Journal of veterinary research*, 63(2), 167–173. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0022>
- Tiwari, K., Cornish, C., Gamble, B., Thomas, D., & Sharma, R. N. (2016). Seroprevalence of bovine parainfluenza virus Type 3 (bPI-3V) in ruminants from Grenada. *Open Journal of Veterinary Medicine*, 6(2), 23-27. <http://dx.doi.org/10.4236/ojvm.2016.62004>
- Toth, T. E., & Jankura, D. (1990). Analysis of bovine parainfluenza-3 virus replication in bovine embryonic lung cells by indirect fluorescent antibody and hemadsorption assays. *Journal of virological methods*, 27(1), 113–119. [https://doi.org/10.1016/0166-0934\(90\)90151-5](https://doi.org/10.1016/0166-0934(90)90151-5)
- Trybała, E., Larski, Z., & Wiśniewski, J. (1991). The effect of some physical and serological treatments on haemofusing activity of bovine parainfluenza virus type 3. *Acta microbiologica Polonica*, 40(1-2), 59–64. PMID: 1725092

- Turan, T. & Bolat, Y. (1999). Diyarbakır ve Şanlıurfa yöresinde yetiştirilen koyunlarda parainfluenza tip -3 enfeksiyonunun seroepidemiolojisi. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 13 (2), 39-47.
- Valarcher, J. F., & Taylor, G. (2007). Bovine respiratory syncytial virus infection. *Veterinary research*, 38(2), 153–180. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006053>
- Valarcher, J. F., Schelcher, F., & Bourhy, H. (2000). Evolution of bovine respiratory syncytial virus. *J Virol.*, 74(22), 10714–10728. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.22.10714-10728.2000>
- Vangeel, I., Ioannou, F., Riegler, L., Salt, J. S., & Harmeyer, S. S. (2009). Efficacy of an intranasal modified live bovine respiratory syncytial virus and temperature-sensitive parainfluenza type 3 virus vaccine in 3-week-old calves experimentally challenged with PI3V. *Veterinary journal*, 179(1), 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.08.008>
- Verhoeff, J., & van Nieuwstadt, A. P. (1984). BRS virus, PI3 virus and BHV1 infections of young stock on self-contained dairy farms: epidemiological and clinical findings. *The Veterinary record*, 114(12), 288–293. <https://doi.org/10.1136/vr.114.12.288>
- 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. *Veterinary pathology*, 33(4), 383–390. <https://doi.org/10.1177/030098589603300403>
- Wellemans, G., Leunen, J. & Luchsinger, E. (1970) Isolement d'un virus (220/69) serologiquement semblable au virus respiratoire syncytial (RS) humain. *Annals Medicine Veterinaire*, 114, 89–93.
- Whetstone, C. A., & Evermann, J. F. (1988). Characterization of bovine herpesviruses isolated from six sheep and four goats by restriction endonuclease analysis and radioimmunoprecipitation. *American journal of veterinary research*, 49(6), 781–785. PMID: 2840840
- Wrathall, A. E., Simmons, H. A., & Van Soom, A. (2006). Evaluation of risks of viral transmission to recipients of bovine embryos arising from fertilisation with virus-infected semen. *Theriogenology*, 65(2), 247–274. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.05.043>
- Xu, J., Wu, J., Jiang, B., He, H., Zhang, X., Li, X., Yang, D., Huang, X., Sealy, J. E., Iqbal, M., & Li, Y. (2017). Bovine single chain Fv antibody inhibits bovine herpesvirus-1 infectivity by targeting viral glycoprotein D. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(23-24), 8331–8344. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8566-0>
- Yavru, S., Simsek, A., Yapık, O., & Kale, M. (2005). Serological evaluation of viral infections in bovine respiratory tract. *Acta veterinaria (Beograd)*, 55(2-3), 219-226. <https://doi.org/10.2298/AVB0503219Y>
- Yazıcı, Z., Albayrak, H., Ozan, E., & Gumusova, S. (2015). Serological status of bovine herpes virus type 1 in cattle in small scale private farms in the Central Black Sea Region, Turkey. *Pak. Vet. J*, 35, 101-102.
- Yazıcı, Z., Gumusova, S., Tamer, C., Cagırgan, A. A., Akman, A., Ozan, E., Kadi, H., Palanci, H. S., & Albayrak, H. (2017). Molecular identification and phylogenetic analysis of non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus isolate obtained from a local respiratory outbreak in Northern Turkey. *Medycyna Weterynaryjna*, 73(05). <https://doi.org/10.21521/mw.5694>
- Yazıcı, Z., Gumusova, S., Tamer, C., Muftuoğlu, B., Ozan, E., Arslan, S., Bas, O., Elhag, A. E., & Albayrak, H. (2019). The first serological report for genotype C bovine parainfluenza 3 virus in ruminant species of mid-northern Turkey: Traces from the past. *Trop. Biomed*, 36, 803-809. PMID: 33597501

- Yazıcı, Z., Okur Gumusova, S., & Albayrak, H. (2007). Serological profile of some viral infections in unvaccinated cattle in Turkey. *Medycyna Weterynaryjna*, 63(02), 187-189.
- Yazıcı, Z., Ozan, E., Tamer, C., Muftuoglu, B., Barry, G., Kurucay, H. N., Elhag, A. E., Cagırgan, A. A., Gumusova, S., & Albayrak, H. (2020). Circulation of Indigenous Bovine Respiratory Syncytial Virus Strains in Turkish Cattle: The First Isolation and Molecular Characterization. *Animals*, 10(9), 1700. <https://doi.org/10.3390/ani10091700>
- Yazıcı, Z., Ozan, E., Tamer, C., Muftuoglu, B., Elhag, A. E., Bas, O., Arslan, S., Gumusova, S., & Albayrak, H. (2021). Serological study on the presence of some alpha-herpesviruses in goats of northern Anatolia, Turkey. *Veterinary research*, 12(3), 273–276. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.108448.2574>
- Yeşilbaş, K. & Dağalp, S. B. (2006). Koyunlarda bovine herpesvirus -1 enfeksiyonunun seroprevalansı . *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* , 53 (2) , 141-143 . https://doi.org/10.1501/Vetfak_0000000073
- Yeşilbaş, K., & Güngör, B. (2008). Seroprevalence of bovine respiratory viruses in North-Western Turkey. *Tropical animal health and production*, 40(1), 55–60. <https://doi.org/10.1007/s11250-007-9053-x>
- Yeşilbaş, K., & Güngör, B. (2009). Antibody prevalence against respiratory viruses in sheep and goats in North-Western Turkey. *Tropical animal health and production*, 41(4), 421–425. <https://doi.org/10.1007/s11250-008-9225-3>
- Yıldırım, Y., Yılmaz, V., Kalaycıoğlu, A. T., Bilge dağalp, S., Majarashin, A. R. F., Çelebi, Ö., & Akça, D. (2011). An investigation of a possible involvement of BVDV, BHV-1 and BHV-4 infections in abortion of dairy cattle in Kars district of Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(6), 879-883. DOI: [10.9775/kvfd.2011.623](https://doi.org/10.9775/kvfd.2011.623)
- Yılmaz, A., Umar, S., Turan, N., Kayar, A., Richt, J. A., & Yılmaz, H. (2022). Current scenario of viral diseases and vaccination strategies of cattle in Turkey. *Journal of infection in developing countries*, 16(8), 1230–1242. <https://doi.org/10.3855/jidc.14767>
- Yılmaz, V. & Coşkun, N. (2016). Kars İlinde Koyunlarda Bovine Herpes Virus Tip 1 Enfeksiyonunun Araştırılması . *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* , 5 (1), 40-43 . Retrieved from: <https://dergipark.org.tr/en/pub/huvfd/issue/29582/317347>
- Zhu, Y. M., Shi, H. F., Gao, Y. R., Xin, J. Q., Liu, N. H., Xiang, W. H., Ren, X. G., Feng, J. K., Zhao, L. P., & Xue, F. (2011). Isolation and genetic characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from cattle in China. *Veterinary microbiology*, 149(3-4), 446–451. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.11.011>

ÖZGEÇMİŞ

Ahmed Eisa ELHAG IBRAHIM, Sudan’da Alshaikh Mustafa Alameen Model Boys Lisesi’ni bitirdikten sonra Khartoum Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nden 12.11.2007 tarihinde mezun oldu. 2010 yılında Khartoum Üniversitesi Tropikal Hayvan Sağlığı Yüksek Lisans programına başladı, 24.12.2012 tarihte bitirdi. 17.11.2017 tarihinde OMÜ Veterinerlik Virolojisi Ana Bilim Dalı Doktora programına girdi. Mezuniyetinden bu yana Veteriner Hekimi olarak görev yapan A.E.E.I., iyi/orta derecede Arapça (Anadil), İngilizce ve Türkçe bilmektedir (IELTS: B2, TÖMER: C1). Temel ilgi alanları, Viral Zoonoz Hastalıklar, Moleküler Viroloji, in vitro Hücre Sistemleri.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-0738-1825

Yayınlar:

- 1- Elhag, A.E*, Bernard, F., & El Badwi, S. M. A. (2017). Protective Activity of Camel's Milk and Urine Mixture (*Camelus dromedarius*) against ethanol-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Adv. Biosci. Biotech.* 8, 378–387. <https://doi.org/10.4236/abb.2017.810027>
- 2- Yazici, Z., Gumusova, S., Tamer, C., Muftuoglu, B., Ozan, E., Arslan, S., Bas, O., Elhag, A.E.*, & Albayrak, H. (2019). The first serological report for genotype C bovine parainfluenza 3 virus in ruminant species of mid northern Turkey: Traces from the past. *Trop. Biomed.* 36(3): 803–809. <http://msptm.org/files/Vol36No3/803-809-Yazici-Z.pdf>.
- 3- Okur-Gumusova, S., Tamer, C., Ozan, E., Cavunt, A., Kadi, H., Muftuoglu, B., Eisa Elhag, A.*, Yazici, Z. & Albayrak, H. (2020). An investigation of the seroprevalence of Crimean-Congo hemorrhagic fever and lumpy skin disease in domesticated water buffaloes in northern Turkey. *Trop. Biomed.* 37(1): 165–173. <http://msptm.org/files/Vol37No1/165-173-Okur-Gumusova-S.pdf>.
- 4- Khalafalla, A. I., Elhag, A. E.*, & Ishag, H. Z. A. (2020). Field Investigation and Phylogenetic Characterization of Orf virus (ORFV) Circulating in Small Ruminants and Pseudocowpoxvirus (PCPV) in Dromedary Camels of Eastern Sudan, *Heliyon*, 6 (3), e03595. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03595>
- 5- Albayrak, H., Tamer, C., Ozan, E., Muftuoglu, B., Kadi, H., Dogan, F., Akman, A., Cagiran, A. A., Elhag, A. E.*, Kurucay, H. N., Gumusova, S., Yazici, Z. (2020). Molecular identification and phylogeny of bovine herpesvirus-1 (BoHV-1) from cattle associated with respiratory disorders and death in Turkey. *Med. Wet.* 76 (06): 358–362. <http://dx.doi.org/10.21521/mw.6393>
- 6- Alsharif, M. H. K., Gasmalla, H. E. E., Elamin, A. Y., Almasaad, J. M., Elhag, A. E.* (2020). In light of covid-19 crisis: proposed guidelines for the “new norm” of anatomy

teaching. *Medical Science*, 24(105), 3281–3290.
<https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000604259000044>

- 7- Yazici, Z, Ozan, E., Tamer, C., Muftuoglu, B., Barry, G., Kurucay, H. N., Elhag, A. E*, Cagiran A. A, Gumusova, S, & Albayrak , H. (2020) Circulation of Indigenous Bovine Respiratory Syncytial Virus Strains in Turkish Cattle: The First Isolation and Molecular Characterization. *Animals*, 10(9), 1700. <https://doi.org/10.3390/ani10091700>
- 8- Ozan, E., Muftuoglu, B., Sahindokuyucu, I., Kurucay, H. N., Inal, S., Kuruca, N., Elhag, A. E.*, Karaca, E., Tamer, C., Gumusova, S., Albayrak, H., Barry, G., Gulbahar, M. Y., & Yazici, Z. (2021). The Footsteps of Marek's Disease Virus in Vaccinated Poultry Flocks of Turkey: Its First Isolation with Molecular Characterization, *Arch. Virol.* 166(2): 1–11. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00705-020-04943-6>
- 9- Yazici, Z., Ozan, E., Tamer, C., Muftuoglu, B., Elhag, A. E.*, Bas, O., Arslan, S., Gumusova, S., & Albayrak, H. (2021). Serological study on the presence of some alphaherpesviruses in goats of northern Anatolia, Turkey, *Veterinary Research Forum*, 12(3), 273–276. <http://dx.doi.org/10.30466/VRF.2019.108448.2574>
- 10- Muftuoglu, B, Kurucay, H. N., Elhag, A. E. *, Yildirim, S., Cicek-Yildiz, Y., Tamer, C., Ozan, E., Can-Sahna, K., Yildirim, Y, Albayrak, H., Okur-Gumusova, S., & Yazici, Z. (2021). A serosurvey for Bovine respirovirus 3 in Turkish domestic ruminants: The first comparison study of A and C genotypes, *Vet Med. Sci.* 7(5), 1625–1632. <https://doi.org/10.1002/vms3.534>
- 11- Albayrak, H., Sahindokuyucu, I., Muftuoglu, B., Tamer, C., Kadi, H., Ozan, E., Yilmaz O., Kilic, H., Kurucay, H. N., Coven, F., Gumusova, S., Yazici, Z., & Elhag, A. E.* (2021). Sentinel Serosurveillance of backyard hens proved West Nile Virus Circulation in the western provinces of Turkey, *Vet. Med. Sci.* 7(6), 2348–2352. <https://doi.org/10.1002/vms3.589>
- 12- Çiçek Yıldız, Y., Elhag, A. E.*, & Yazıcı, Z. (2021). Lethal Mutagenesis in Viruses and Its Effects. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 11 (2), 194-198. <https://doi.org/10.53518/mjavl.987781>
- 13- Sahindokuyucu, I., Turkmen, M. B., Sumer, T., Elhag, A. E.,* Alciğir, M. E., Yazici, Z., Barry, G., Gulbahar, M. Y., & Kul, O. (2022). First detection and molecular characterization of a Pigeon aviadenovirus A and Pigeon circovirus co-infection associated with Young Pigeon Disease Syndrome (YPDS) in Turkish Pigeons (*Columba livia domestica*), *Vet. Med. Sci.*, 8 (1): 139–149. <https://doi.org/10.1002/vms3.662>
- 14- Taskin, M. H., Kurucay, H. N., Kadi, H., Tamer, C., Ozan, E., Muftuoglu, B., Albayrak, H., Gumusova, S., Igde, M., Elhag, A. E. *, & Yazici, Z. (2022). Infectivity and Replication Inhibition Effect of 5-Fluorouracil on Herpes Simplex Virus Type-1 Associated with Mutations in Thymidine Kinase Gene. *Farmacia*, 70 (6), 1105-1113. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2022.6.14>
- 15- Kurucay, H. N., Tamer, C., Muftuoglu, B. Elhag, A. E.,* Gozel, S., Cicek-Yildiz, Y., Demirtas, S., Ozan, E., Albayrak, H., Okur-Gumusova, S., & Yazici, Z. (2023). First isolation and molecular characterization of canine parvovirus-type 2b (CPV-2b) from red foxes (*Vulpes vulpes*) living in the wild habitat of Turkey. *Virol. J.*, 20, 27. <https://doi.org/10.1186/s12985-023-01988-2>
- 16- Kadi, H., Kurucay, H. N., Elhag, A. E. *, Dogan, F., Yildirim, S., Tutuncu, H., Muftuoglu, B., Tamer, C., Gumusova, S., Yazici, Z., Mesquita, J.R.,& Albayrak, H. (2023). A one-year extensive molecular survey on SARS-CoV-2 in companion animals of Turkey shows a lack of evidence for viral circulation in pet dogs and cats. *Vet. Anim. Sci.*, 19, 100280. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2022.100280>

- 17- Taskin, M. H., Tamer, C., Muftuoglu, B., Ozan, E., Kilic, S. S., Akkoyunlu, G. K., Kurucay, H. N., Albayrak, H., Igde, M., Mesquita, J. R., Elhag, A. E. *, Gumusova, S., & Yazici, Z. (2023). The first serological detection of West Nile virus infection among residents living in northern Turkey, *Journal of Vector Borne Diseases* - ahead of print. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.364755>

Kongre ve Konferans bildirileri

- 1- Saeed, S. I., Elhag, A. E. *, Abdelaziz, S. A., Yazici, Z., Goni, M. D., & Aradaib, E. I. Determination of Risk Factors Associated with Bluetongue Virus Antibodies Detected from Camels in Central Sudan, 1st World Society for Virology Conference (Tackling Global Viral Epidemics), 16-18 June 2021, held virtually, pp. 92.
- 2- Elhag, A. E. *, & Yazici, Z. Camel Pox Virus (CMLV) Infection and Zoonotic Importance, 1st World Society for Virology Conference (Tackling Global Viral Epidemics), 16-18 June 2021, held virtually, pp. 69.
- 3- Elhag, A. E. *, Ozan, E., Tamer, C., Mufuoglu, B., Kurucay, H. N., Gumusova, S., Albayrak, H., & YAZICI, Z. The First Time Isolation and Characterization of Indigenous Bovine Respiratory Syncytial Virus Strains of Turkey from Respiratory Disorders Causing Deaths in Cattle, EDUVET International Veterinary Sciences Congress, 25-27 June 2021, Samsun, Turkey, pp. 78-79.
- 4- Elhag, A. E. *, & Yazici, Z. Overviewing of MERS-CoV and SARS- CoV as a Zoonotic Infection. 23rd Annual Conference of the European Society for Clinical Virology (ESCV), 15-17 September 2021, Online, pp. 42.
- 5- Elhag, A. E. *, & Khalafalla, A. I. Contagious Ecthyma (CE) Infection in Eastern Africa: A Constant Threat to Livestock Productivity. 19th Annual SASVEPM (Southern African Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine) Congress, 24-26 August 2022, East London South Africa.
- 6- Elhag, A. E. *, & Yazici, Z. A Serological Report on Bovine Respirivirus Type-3 (BPIV-3) In The Central Black Sea Region of Turkey: Traces From Cattle And Sheep Local Herds. XV. National (International Participation) Veterinary Microbiology Congress, 26-28 October 2022, Şanlıurfa, Turkey, pp. 30-31.
- 7- Elhag, A. E. *, & Yazici, Z. A Serological Report on Bovine Respirivirus Type-3 (BPIV-3) In The Central Black Sea Region of Turkey: Traces From Cattle And Sheep Local Herds. XV. National (International Participation) Veterinary Microbiology Congress, 26-28 October 2022, Şanlıurfa, Turkey, pp. 30-31.

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

- 1- Ali Kuşçu Lisansüstü Bilim ve Teknoloji Burs Programı, Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı (YTB) - Kültür ve Turizm Bakanlığı, Türkiye (2017-).
- 2- Erasmus 2020 KA103 Lisansüstü öğrenciler için staj hareketliliği hibesi, Portekiz Abel Salazar Biyomedikal Bilimler Enstitüsü - Porto Üniversitesi (ICBAS-U.Porto) (15.03.2022 - 17.06.2022).