

## Direkt İmmunfloresan ve Mikronötralizasyon Testleri ile Koyunlarda Parainfluenza-3 (PI-3) Virus Enfeksiyonunun Araştırılması\*

Ayşe GENÇAY<sup>1</sup>, Yılmaz AKÇA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE

**Özet:** Bu çalışmada, Ankara ili çevresindeki mezbahalara kesime getirilen solunum sistemi enfeksiyonu bulgularına sahip koyunlarda, parainfluenza-3 (PI-3) virus enfeksiyonunun varlığı mikro serum nötralizasyon (SN), hücre kültürü inokulasyonu ve direkt immunfloresan (DIF) testleri ile serolojik ve virolojik olarak araştırılmıştır.

Bu amaçla klinik ve/veya patolojik solunum sistemi bulgularına sahip 141 koyundan kan, nazal swap, akciğer ve mediastinal lenf yumrusu dokuları olmak üzere toplam 448 materyal örneklenmiştir. Mikro SN ile test edilen kan serumlarının 15 (%10,63)'inde 1/5-1/20 değerleri arasında değişen PI-3 virus antikor varlığı bulunmuştur. Hücre kültüründe yapılan virus izolasyon çalışmaları sonucu 132 adet nazal ve 140 adet akciğer örneğinin sırasıyla 30 (%22,72) ve 17 (%12,14) adedinde sitopatik efekt (CPE) gözlenirken, aynı örneklerin 23 (%17,42) ve 16 (%11,42) adedinde ise DIFT ile PI-3 viral antijen varlığı saptanmıştır. Lökosit ve mediastinal lenf yumrusu örneklerinde her iki test sonunda PI-3 virus varlığına rastlanmamıştır. Nazal epitel hücrelerine uygulanan DIFT sonucunda ise 132 koyunun 32 (%24,24) adedinde PI-3 virus antijeni belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre, koyunlarda PI-3 virus enfeksiyonunun yaygın olarak varlığı ortaya konulmuş ve rutin tanısında nazal epitel hücrelerine uygulanan DIF testinin kısa sürede sonuç veren ve duyarlı bir test olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** DIF, izolasyon, koyun, mikronötralizasyon, PI-3

### Investigation on Parainfluenza-3 (PI-3) Virus Infections with Immunofluorescence and Microneutralization Tests in Sheep

**Summary:** In this study, the presence of PI-3 virus infection was searched in sheep those showing respiratory disease symptoms brought to slaughtering house in the vicinity of Ankara by microserum neutralization (SN), cell culture inoculation and direct immunoflorescein (DIF) techniques both virologically and serologically.

For this purpose totaly 448 specimens including blood, nasal swap, lung and mediastinal lymph nodes sampled from 141 sheep which showed clinic and pathologic respiratory disease symptoms. The presence of antibodies against PI-3 virus was found to be vary titres between 1/5 - 1/20 in 15 (10.63%) serum samples tested with micro SN. According to the result 30 (22.72%) out of 132 nasal and 17 (12.14%) out of 140 lung sample inoculated cell culture developed cytopathic effect (CPE). From the same samples, the presence of PI-3 viral antigen was detected as 23 (17.42%) and 16 (11.42%) with DIFT. The presence of PI-3 virus from leukocyte and mediastinal lymph node samples was not found by using both of the tests. In the result of DIFT by using nasal epithelial cells, PI-3 virus antigen was detected in 32 (24.24%) of 132 sheep. Our results showed that PI-3 virus infections in sheep is quite common, DIF test which is applied to the nasal epithelial cells is a rapid and sensitive test for routine detection of this disease.

**Key Words:** DIF, isolation, microneutralization, PI-3, sheep

#### Giriş

Enfeksiyon sonrası kondüsyon kaybı, büyümede gerileme, pnömoni ve sekonder enfeksiyonlar (24,29) sonucunda ekonomik kayıplar ve ölümlere neden olan PI-3 virusu, koyunların solunum sisteminde sıklıkla izole edilen viral bir etken olup (21), ovine PI-3 virus olarak, klasifiye edilmemiş *paramyxovirinae* genusu altında ele alınmaktadır (17,25).

PI-3 virus enfeksiyonları akut ve subklinik olarak gelişmekte (5), sürü bazında nazal ve okuler akıntı, ateş ve öksürük ile beraber hızlı bir şekilde yayılmaktadır. İlerleyen olgularda bronşiyolitisi ve interstisyel pnömonitisi ile karakterize bronchopneumoniye bağlı ölümler görülebilmektedir (27,6).

Koyunların PI-3 virus enfeksiyonları dünyanın her yerinde meydana gelmekte olup, ilk virolojik teşhis verileri Hore ve ark. (19) ve St.George (32) tarafından, Türkiye'de ise 1969'da Erhan ve Martin (10) tarafından sağlanmıştır. Daha sonraki yıllarda birçok

Geliş Tarihi/Submission Date : 31.10.2003

Kabul Tarihi/Accepted Date : 08.04.2004

\* Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

ülkede (5,8,20,28,31) ve Türkiye'de (7,11,35) gerek virus izolasyonları gerekse serolojik kontrol sonuçları ile enfeksiyonun yaygınlığı ortaya konulmuştur.

Bu çalışmada, klinik ve/veya patolojik olarak solunum sistemi enfeksiyonu bulgularına sahip koyunlarda, PI-3 virusunun serolojik ve virolojik olarak araştırılmasının yanı sıra, nazal epitel hücrelerine uygulanan direkt immüfloresan (DIF) testinin, hastalığın rutin tanısında kullanım olanağının araştırılması amaçlanmıştır.

inaktive edildi

**İzolasyon Materyalleri :** Virolojik kontrol amacıyla koyunlardan; 132 nazal swap, 141 antikoagulanlı kan, 140 adet akciğer ve 35 adet mediastinal lenf yumrusu örnekleri olmak üzere toplam 448 materyal sağlandı. Bu örneklerin hayvanda tespit edilen klinik ve/veya patolojik solunum sistemi hastalığı belirtilerine göre sayısal dağılımı Tablo 1.'de sunuldu.

**Tablo 1.** Solunum sistemi bulgularına göre toplanan serolojik kontrol ve izolasyon materyallerinin sayısal dağılımları.

BULGULAR	Hayvan Sayısı	Serolojik Kontrol Materyali	İzolasyon Materyalleri			
		Serum	Nazal Swap	Lökosit	Akciğer	Mediastinal Lenf Yumrusu
Klinik(+) Patoloji(+)	37	37	36	37	36	13
Klinik(-) Patoloji(+)	83	83	75	83	83	17
Klinik(+) Patoloji(-)	21	21	21	21	21	5
<b>TOPLAM</b>	<b>141</b>	<b>141</b>	132	141	140	35
			<b>448</b>			

### Gereç ve Yöntem

**Hücre Kültürü ve Virus:** Çalışmada virus izolasyonunda, koyun fötüslerine ait böbrek dokusundan hazırlanan fetal kuzu böbrek (FKB) hücre kültürü, PI-3 virusunun üretilmesi ve titrasyonu ile mikro serum nötralizasyon testlerinde ise Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) hücre kültürü kullanıldı. Hücre kültürlerinin üretilmesinde %10 oranında inaktive edilmiş konvansiyonel dana serumu içeren DMEM' den yararlanıldı. Serum nötralizasyon testinde (SNT), Parainfluenza-3 (PI-3) virusun SF-4 suşu kullanıldı.

**Konjugat:** Direkt immüfloresan testinde ticari olarak sağlanan PI-3 virusa karşı hazırlanmış anti-PI-3-FITC-Ig konjugatı kullanıldı (Weybridge, CVL,).

**Araştırmada Kullanılan Hayvanlar:** Çalışmada Ankara'nın farklı mezbahalarına kesime getirilen, klinik ve postmortem kontrollerde solunum sistemi hastalığı belirtisi ve/veya patolojisi tespit edilen toplam 141 koyun kullanıldı.

**Serolojik Kontrol Materyalleri:** Tüm koyunlardan PI-3 virus spesifik antikorların tespiti amacıyla kan serumu örneği alındı ve 56 °C'de 30 dakika süreyle

**Mikro Serum Nötralizasyon (SN) ve Nötralizasyon<sub>50</sub> (SN<sub>50</sub>) Testleri:** Kan serumlarında antikor varlığının belirlenmesi amacıyla Frey ve Liess (14) tarafından bildirilen mikro SNT kullanıldı. Spesifik PI-3 virus antikorları içerdiği saptanan kan serumlarının SN<sub>50</sub> değerleri, 1/5 den başlayan sulandırılmalarına (1/5,1/10,.....,1/160) serum nötralizasyon testi uygulanarak belirlendi.

**Nazal Swap Örneklerine Direkt İmmüfloresan Testi (DIFT) Uygulanması:** Bu amaçla; swap örnekleri, +4 °C'de 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Sediment PBS ile resüspanse edilip santrifüj işlemi tekrarlandıktan sonra dipteki hücre peleti 0,1 ml PBS ile sulandırıldı ve lamlara yayıldı. Preparatlar +4 °C'de soğutulmuş aseton ile 10 dakika fikze edilerek PBS ile yıkandı ve anti-PI-3 virus – FITC-Ig konjugatı ile muamele edildi. Nemli ortamda 37 °C'de 30 dakika bekletildikten sonra PBS ile yıkanan ve kurutulan lamalar immüfloresan mikroskopunda PI-3 virus antijeni yönünden değerlendirildi

**İzolasyon Materyallerinin FKB Hücre Kültürüne İnokulasyonu:** Bu amaçla inokulum materyalleri

(lökosit, doku ve swap örnekleri) adsorbsiyonlu yöntem ile, önceden hazırlanan FKB hücre kültürü tüplerine (200.000 hücre/ml) 0,1'er ml hacimde inokule edildi. Etüve kaldırılan tüpler 7 gün süreyle sitopatik değişiklikler yönünden gözlemlendikten sonra dondurulup çözdürülerek 3000 rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen hücre kültür süpernatantı hem direkt immunfloresan testi ile PI-3 virus yönünden kontrol edildi, hem de virus izolasyonu için tekrar FKB hücre kültüründe 2. ve 3. pasajlara tabi tutuldu.

**Pasaj Sıvılarına Direkt İmmunfloresan Testi (DIFT) Uygulanması:** Direkt immunfloresan testinde Cell Culture Staining Chamber (CCSC) sisteminden yararlanıldı. Lamellerin üzerinde MDBK hücre kültürünün üretildiği CCSC tüplerine numunelerin 1. pasaj sıvıları adsorbsiyonlu yöntem ile inokule edildi. İki günlük inkubasyon (37 °C'de %5 CO<sub>2</sub>) sonunda PBS ile yıkanan lameller çıkarılarak kurutuldu ve +4 °C'deki aseton ile 5-10 dakika fikze edildi. Lameller anti-PI-3 virus -FITC-Ig konjugatı ile muamele edildikten sonra lam üzerine kapatılarak intrasitoplazmik PI-3 virus ve/veya antijenleri yönünden değerlendirildi.

### Bulgular

Mikro SNT'nin uygulandığı 141 koyun serumunun 15 adedinde PI-3 virus spesifik nötralizan antikor varlığı saptanırken, SN<sub>50</sub> testi sonucunda, bu serumların 1/5-1/20 değerleri arasında değişen antikor düzeyine sahip oldukları belirlendi (Tablo 2).

**Tablo 2.** SNT sonucu ve SN50 testi uygulanan seropozitif serumlarda antikor titre dağılım sonuçları.

	Toplam Serum Sayısı	PI-3 Ab(+) Serum	Antikor Titre Dağılımları			
			1/5	1/10	1/15	1/20
Hayvan Sayısı	141	15	6	2	3	4
% Değeri		10,63	4,25	1,41	2,12	2,83

FKB hücre kültüründe yapılan virus izolasyon çalışmalarında 132 swap örneğinin 30 (%22,72), 140 adet akciğer örneğinin 17'sinde (%12,14) hücre yuvarlaklaşması, gruplaşması ve lizis ile seyreden CPE bulguları gözlenirken, lökosit ve mediastinal lenf yumrusu örneklerinde CPE bulgusu saptanmadı (Tablo 3).

Tüm izolasyon materyallerinin 1. pasaj sıvılarına uygulanan DIFT sonucu 132 swap, 140 akciğer örneğinin sırasıyla 23 (%17,42) ve 16'sında (%11,42) PI-3 viral antijen varlığı hücre sitoplazmalarında görülen spesifik floresan ışıltama ile saptanırken lökosit ve mediastinal lenf yumrusu örnekleri negatif olarak değerlendirildi (Tablo 3).

Lam preparatlarının kullanıldığı DIF testi sonucunda, 132 swap örneğinden 32'sinin (%24,24) nazal epitel hücrelerinde PI-3 virus antijeni varlığı saptandı.

Epitel hücrelerinin 1. pasaj sıvılarına ve lam preparatlarına uygulanan DIF testinin değerlendirilmesinde OP (observed agreement) yöntemi (33) kullanıldı ve iki yöntem arasında 0,719 değerinde uyumluluk (OP: observed agreement) bulundu.

### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada koyunlardan alınan kan serumlarının %10,63'ünde nötralizan antikor varlığı saptanmıştır (Tablo 2). Bu oran PI-3 virusa karşı nötralizan antikor oranlarının %70-95 arasında bildirildiği birçok çalışmadan (3,13,16,23) daha düşük olup, Türkiye'deki çalışmalarda (4,7,18,34) % 7,81-58 arasında değiştiği bildirilen veriler ile uyum göstermektedir. Bu sonucun oluşmasında enfeksiyonun zamanı, enfekte eden virusun dozu, örneklenen bireylerin yaşları, bakım ve beslenme koşulları gibi birçok faktörün etkili olduğu bilinmektedir.

Araştırmada pozitif serumlardaki antikor titreleri ise 1/5 - 1/20 arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir (Tablo 2). Örneklenen hayvanların bir yaşından büyük olmaları nedeniyle, tespit edilen bu yanıtın doğal enfeksiyonun sonucu olduğu düşünülmektedir.

PI-3 virus enfeksiyonunu takiben nötralizan antikorlar en erken 5 gün en geç 4-5 hafta içerisinde nazal sekresyonda gözlenmekte (30), bu yüzden virus izo-

**Tablo 3.** FKB hücre kültüründe yapılan izolasyon ve Pasaj sıvılarına uygulanan DIF testi bulguları.

İzolasyon Materyali	Materyal Sayısı	Virus İzolasyonu		DIFT Sonuçları		
		Sayısı	%	PI-3 Antijen (+)	% <sup>a</sup>	% <sup>b</sup>
Nazal Swap	132	30	22,72	23	17,42	76,66
Akciğer	140	17	12,14	16	11,42	94,11
Lökosit	141	-	-	-	-	-
M. Lenf yumrusu	35	-	-	-	-	-
<b>TOPLAM</b>	<b>448</b>	<b>47</b>	<b>10,49</b>	<b>39</b>	<b>8,70</b>	<b>82,97</b>

a: PI-3 virus antijen/materyal sayısı

b: PI-3 virus antijen/izolat sayısı

lasyonunda, özellikle enfeksiyonun ilk 6 günü içerisinde üst solunum yolları swapları veya sıvılarından ve akciğer dokularından alınan materyaller önem taşımaktadır (19,29). Bu çalışmada materyallerin mezbahaya kesime getirilen hayvanlardan sağlanması nedeniyle hastalığın klinik süreci bilinmemektedir. Araştırmada, virus izolasyon ve PI-3 viral antijen varlığına ilişkin veriler (Tablo 2) karşılaştırıldığında DIFT testinin uygulanması sonucu, PI-3 virus antijeni saptanan tüm pasaj sıvılarının hücre kültürü inokulasyonlarının da CPE pozitif olduğu görülmüştür. Bu sonuç PI-3 virus enfeksiyonunun rutin tanısında hücre kültürü virus izolasyonuna dayanan IF testinin güvenle kullanılabilceğini bildiren çalışmaların (12,15,22,26) verileri ile paralellik göstermektedir.

DIF testi sonucunda, hücre kültüründe CPE oluşturan nazal swap izolatlarının %76,66'sının, akciğer izolatlarının ise %94,11'inin PI-3 virus olarak tanımlanmış olması (Tablo 3), viral etkenler tarafından oluşturulan solunum sistemi enfeksiyonları arasında PI-3 virusun önemli bir yeri olduğunu göstermektedir. Nitekim, respiratorik epitellerde hasara neden olan viral ajanlar arasında yaygın olarak PI-3 virusun önde geldiği görüşü birçok araştırmacı (2,17,21) tarafından da bildirilmektedir.

Lökosit ve mediastinal lenf yumrusu örneklerine uygulanan virus izolasyon çalışmalarının negatif olarak değerlendirilmesi, hastalığın patogeneğinde viremi döneminin mevcut olmamasından dolayı doğal olarak karşılanmıştır.

PI-3 virus antijeninin tespiti amacı ile nazal epitel preparatlarına uygulanan DIF testi sonucunda, toplam 132 koyun nazal swap örneğinden 32 (%24,24)

adedinde floresan ışıltama ile karakterize PI-3 virus antijeni varlığı saptanmıştır.

Elde edilen veriler karşılaştırıldığında pasaj sıvılarına uygulanan DIF testi ile nazal swap epitellerine uygulanan DIF testi arasında OP değeri 0,719 bulunmuş ve bu değerle önemli uyumluluk gösterdiği saptanmıştır. Bu konuda yapılan çalışmalar sınırlı olup, Landry ve Ferguson'un (22) enfeksiyonun başlangıç sürecinde yetersiz mukus ve epitel hücrelerinin bulunması nedeniyle DIF testinin sınırlı kaldığını gösteren çalışmaları ile yakınlık göstermektedir.

Elde edilen veriler ile koyunlarda PI-3 virus enfeksiyonunun oldukça yaygın düzeyde olduğu ve hücre kültüründe pasajı takiben uygulanan IF testinin güvenle kullanılabilcek bir yöntem olduğu, ancak yeterli hücre sayısının varlığı, testin deneyimli kişilerce değerlendirilmesi v.b. konuların dikkate alınması gerektiği belirlenmiştir. Ayrıca daha önce bildirildiği gibi (1,9) 2-4 saat içerisinde uygulanması ile özellikle erken dönem enfeksiyonunun tanı şansını arttırdığından nazal swap örneklerine uygulanan IF testinin PI-3 virus enfeksiyonunun teşhisinde kısa sürede sonuçta giden bir yöntem olduğu düşünülmüştür.

#### Kaynaklar

1. Alkan F, Özkul A, Bilge-Dağalp S, Yeşilbağ K, Oğuzoğlu TÇ, Akça Y, Burgu İ, 2000. Virological and serological studies on the role of PI-3 virus, BRSV, BVDV and BHV-1 on respiratory infections of cattle. I. The detection of etiological agents by direct immunofluorescence technique. *Dtsch Tierarz Wochenschr.*, 107(5): 193-195.

2. Allen JW, Viel K, Bateman KG, Nagy E, Rosendal S, Shewen PE, 1992. Serological titers to bovine herpesvirus 1, bovine viral diarrhoea virus, parainfluenza-3 virus, bovine respiratory syncytial virus and pasteurilla haemolytica in feedlot calves with respiratory diseases; associations with bacteriological and pulmonary cytological variables. *Can J Vet Res.*, 56: 4, 281-288.
3. Brako EE, Fulton RW, Nicholson SS, Amborski GF, 1984. Prevalence of bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhoea, parainfluenza-3, goat respiratory syncytial, bovine leukemia, and bluetongue viral antibodies in sheep. *Am J Vet Res.*, 45(4): 813-816.
4. Burgu İ, Öztürk F, Akça Y, 1984. Tahirova devlet üretme çiftliği koyunlarında viral enfeksiyonlar üzerine serolojik araştırmalar. *A Ü Vet Fak Derg.*, 31(22): 167-179.
5. Clark RK, Jessup DA, Kock MD, Weaver RA, 1985. Survey of desert bighorn sheep in California for exposure to selected infectious diseases. *J Am Vet Med Assoc.*, 1;187(11): 1175-1179.
6. Cutlip RC, Lehmkuhl HD, Brogden KA, 1993. Chronic effects of coinfection in lambs with parainfluenza-3 virus and Pasteurella haemolytica. *S Rum Res.*, 11: 2, 171-178.
7. Çokdoğan R. 1989. Türkiye' de koyunlarda parainfluenza-3 (PI-3) enfeksiyonu üzerine seroepidemiolojik araştırmalar. *Doktora Tezi*. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
8. Davies, DH, 1980. Isolation parainfluenza virus type 3 from pneumonic lambs. *NZ Vet J.*, 28(7): 148.
9. Edwards S, White H, Newman RH, Nixon P, 1988. A veterinary service scheme for the rapid diagnosis of viral infections in ruminants, using immunofluorescence. *State Vet J.*, 42: 120, 41-47.
10. Erhan M, Martin WB, 1969. A preliminary report on parainfluenza-3 virus infection of sheep in Turkey. *Pendik Vet Kont ve Araş Ens Derg.*, II(2): 90-101.
11. 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 ve Araş Ens Derg.*, IV (2): 67-76.
12. Eugene GR, Freymuth F, Bahloul C, Badrane H, Vabret A, Tordo N, 1998. Detection of respiratory syncytial virus A and B and Parainfluenzavirus 3 sequences in respiratory tracts of infants by a single PCR with primers targeted to the L-polymerase gene and differential hybridization. *J Clin Microbiol.*, 36 (3) : 796-801.
13. Fischman HR, 1965. Presence of neutralizing antibody for myxovirus parainfluenza-3 in sheep sera. *Proc Soc Expt Biol Med.*, 118: 725-727.
14. Frey HR, Liess B, 1971. Vermehrungskinetik und verwendbarkeit eines stark zytopathogenen VD-MD Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotiter-methode. *Zbl Vet B.*, 18: 61-71.
15. Freymuth F, Petitjean J, Eugene G, Vabret A, Brouard J, Duhamel F, Guillois B, 1995. Diagnostic des infections a virus respiratoric syncytial. *Med Mal Infect.*, 23: 824-829.
16. Goyal SM, Khan MA, McPherson SW, Robinson RA, Boylan WJ, 1988. Prevalence of antibodies to seven viruses in a flock of ewes in Minnesota. *Am J Vet Res.*, 49(4): 464-467.
17. Gupta CK, 1999. Parainfluenza viruses (Paramyxoviridae): Animal. Granoff, A., Webster, R. G. Eds. *Encyclopedia of Virology*. Academic Press, U. K. pp. 1134-1140.
18. Gürcay M, Bolat Y, 1995. Elazığ ve çevresindeki koyunlarda parainfluenza-3 virus (PI-3) enfeksiyonlarının serolojik araştırılması. *F Ü Sağ Bil Der.*, 9(2): 225-230.
19. Hore DE, Stevenson RG, Gilmour NJL, Vantsis JT, Thompson DA, 1968. Isolation of parainfluenza virus from the lungs and nasal passages of sheep showing respiratory disease. *J Comp Path.*, 78(2): 259-265.
20. Jetteur P, Thiry E, Pastoret PP, 1990. Serological survey of IBR, CHV2, PI3, bovine respiratory syncytial virus and rinderpest virus sheep and goats in Zaire. *Rev El Med Vet P Trop.*, 43: 4, 435-437.
21. Kimberling CV. 1988. *Jensen and Swift's Diseases of Sheep*. 3<sup>th</sup> Edition, Lea&Febiger: Philadelphia. Chapter 7.pp. 173-177.

22. Landry ML, Ferguson D, 2000. Simulfluor respiratory screen for rapid detection of multiple respiratory viruses in clinical specimens by immunofluorescence staining. *J Clin Microbiol.*, 38: (2), 708-711.
23. Lea-Master BR, Evermann JF, Mueller GM, Prieur MK, Schalie JVD, 1984. Serologic and virologic studies on naturally occurring respiratory syncytial virus and Haemophilus somnus infections in sheep. *Proceedings of Annual Meeting of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians*, 26: 265-276
24. Malone FE, McLullough SJ, McLoughlin MF, Ball HJ, O'hagan J, Neil SD, 1988. Infectious agents in respiratory disease of housed, fattening lambs in Northern Ireland. *Vet Rec.*, 1;187(11): 203-207.
25. Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MG, Studdert MJ, 1999. *Veterinary Virology*. Paramyxoviridae. Chapter 26, Academic Press., pp. 411-418.
26. Nasrallah GK, Meqdam MM, Al-Shurman A, 2000. Prevalence of parainfluenza and influenza viruses amongst children with upper respirator tract infection. *Saudi Med J.*, 21 (11): 1024-1029.
27. Palfi V, Nagy G, 1981. Pathogenicity of a parainfluenza-3 (PI-3) virus isolated from lambs. *Magyar-Allatorvosok-Lapja*, 36(9): 616-620.
28. Parks JB, Post G, Thorne T, Nash P, 1972. Parainfluenza-3 virus infection in Rocky Mountain Bighorn sheep. *JAVMA.*, 161 (6): 669-672.
29. Sharp JM, 1991. Acute respiratory virus infections. Martin WB, Aitken ID. eds. *Diseases of Sheep*, Ed.: Oxford, Blackwell Scientific Publications, pp. 139-143.
30. Smith WD, Dawson AM, Wells PW, Burrells C, 1976. Immunoglobulins in the serum and nasal secretions of lambs following vaccination and aerosol challenge with parainfluenza 3 virus. *Res Vet Sci.*, 21(3): 341-348.
31. Snodgrass DR, Herring JA, Reid HW, Scott FMM, Gray EW, 1980. Virus infections in cattle and sheep in Scotland. 1975-1978. *Vet Rec.*, 106: 193-195.
32. St.George TD, 1969. The isolation of myxovirus parainfluenza type 3 from sheep in Australia. *Aust Vet J.*, 45: 321-325.
33. Thrusfield M. 2001. *Veterinary Epidemiology*. 2. Ed., Chapter: 17, Blackwell Science Ltd., Chapter 17, pp. 266-285.
34. Yavru S, Öztürk F, Gürhan İ, Ünver G, Duman R, Yapkiç O, 1997. Koyunlarda solunum yolu viruslarının serolojik olarak araştırılması. *Veterinarium*, 8(1-2): 38-44.
35. Yonguç AD, Alçora A, Vural B, 1994. Türkiye'de caprine herpesvirus enfeksiyonu. *Doğa Tr Vet Hay Derg.*, 18(1): 17-21.

## Yazışma Adresi:

Araş. Gör. Dr. Ayşe GENÇAY  
Erciyes Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Viroloji Anabilim Dalı  
Sümer, 38090 Kayseri – TÜRKİYE  
Telefon : +90.352.3380005 / 1213  
Fax : +90.352.3372740  
E-mail : aysegencay@yahoo.com