

## ANKARA MEZBAHASINDA KESİLEN SIĞIRLARIN KAN SERUMLARINDA RESPIRATORY SYNCYTIAL VİRUS ANTİKORLARININ ARANMASI

Orhan AYLAN (\*)

### 1. GİRİŞ

Siğırlarda solunum sistemi enfeksiyonlarına neden olan çok sayıda virus bilinmektedir (18,24). Bunlar Infectious Bovine Rhinotracheitis virusu, Parainfluenza-3 virusu, Bovine Respiratory Syncytial virusu, Bovine Viral Diarrhea virusu, Rhinovirus, Enterovirus, Adenovirus ve Reoviruslardır. Son yıllarda siğırlarda akciğer enfeksiyonları sırasında bazı yeni viruslar da izole edilmiştir. Bazı araştırmacılar, siğırların solunum yolu enfeksiyonları arasında Siğır Vebası, Malignant Catarrhal Fever ve Ephemeral Fever hastalıklarını da belirtmektedirler (7).

BRSV, Avrupa ve ABD'de siğırların solunum yolu hastalıklarının önemli bir nedeni olarak tanımlanmaktadır (37). Araştırmalar, BRSV'u enfeksiyonunun ödem ve amfizem ile karakterize olduğunu, buzağılarda yüksek bir morbidite ve mortaliteye yol açtığını göstermiştir (7). BRSV siğırlarda tek başına olduğu kadar PI-3 veya P. haemolytica gibi enfeksiyöz ajanlarla birlikte de bulunabilir ve ağır solunum yolu hastalıklarını meydana getirir. Özellikle buzağılarda ve besicilik işletmelerinde buna bağlı olarak büyük ekonomik kayıplar oluşur (7,14,32).

BRSV enfeksiyonlarına immunolojik yanıt, serum ve sekresyonlardaki nötralizan veya komplementi bağlayan antikorların ölçülmesi ile, serolojik olarak tayin edilebilir (30). Nötralizan antikorlar, deneysel enfeksiyondan 7 gün sonra danaların serumlarında çok düşük düzeylerde tespit edilmiştir. Buna karşın doğal enfeksiyonlarda çok daha yüksek olup, üç haftada maksimum düzeye ulaşır (49).

---

(\*) Etilik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enst., Uzm. Vet. Hekim

BRSV enfeksiyonlarının virus izolasyonu ile teşhisi, çoğu kez sitopatik efekt belirgin hale gelmeden önce, şüpheli materyallerin hücre kültürü sistemlerinde kör pasajlara ihtiyaç göstermesi yüzünden güçtür (7,14,27,31). Ayrıca şüpheli materyalin uygun zamanda alınması da gereklidir. Bu nedenle bu işlemlere dayanan bir teşhis güç ve pahalı olmaktadır (18). Çoğunlukla teşhis için serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Serolojik teşhis amacıyla serum nötralizasyon, komplement fikzasyon, indirekt immunfloresans, indirekt hemaglutinasyon, ELISA gibi testler kullanılmaktadır (2,7,14,21,27,28,31,47).

Burgu ve ark. (7), Türkiye'de BRSV enfeksiyonunun varlığını serolojik olarak araştırmak amacıyla çeşitli Tarım İşletmeleri ve halk elindeki hayvanlardan sağlanan sığır kan serumlarında, SN testi ile % 46,12'lik bir seropozitiflik bulmuşlardır. Türkiye'de ilk kez yapılan bu çalışma ile RSV'un sığırları enfekte ettiğini bildirmişlerdir.

Pulat (32), Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan koyun kan serumlarında BRS virusuna karşı antikor varlığını saptamak amacıyla serum nötralizasyon (SN) ve indirekt hemaglutinasyon (IHA) testlerini kullanmıştır. SN testinde %35,16'lık, IHA testinde ise %34,70'lik seropozitiflik bulmuştur.

Bu çalışmada, Türkiye'nin değişik yerlerinden EBK Ankara Et Kombinasına kesime getirilen sığırların kan serumlarında, ilk kez ELISA testi kullanılarak seropozitiflik durumunun saptanması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

RSV, ilk defa 1956'da orta derecede üst solunum yolu semptomlarına sahip bir şempanzeden izole edilmiş ve "Şempanze Coryza Ajanı" olarak isimlendirilmiştir. Sonraki yıllarda, antijenik olarak benzer viruslar, alt solunum yolu hastalığına yakalanmış iki çocuktan izole edilmiştir. Bu izole edilen viruslar, hücre kültürlerinde meydana getirdikleri karakteristik sitopatojik etki nedeniyle, Respiratory Syncytial Virus olarak yeniden isimlendirilmiştir. 1960'ların başlangıcında yapılan bir seri epidemiyolojik çalışmalarla, RSV'nin çocuklarda diğer ajanlardan daha sık olarak ve özellikle de hayatın ilk yılında (0-1 yaş) bronşit ve pnemonilerle birlikte bulunduğu tespit edilmiştir (32,37).

Doggett ve ark. (11), sığır serumlarında RSV'ye karşı antikor bulmuşlar ve virusun sığırları sıklıkla enfekte ettiğini ortaya koymuşlardır. 1970 yılında Japonya, Belçika ve İsviçre'de sığır RSV'si izole edilmiştir (33,35,37). Kısa bir süre sonrada İngiltere ve ABD'de izole edilmiştir. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar RSV'nin sığırların alt solunum yolu hastalıklarındaki önemini ortaya koymuştur (5,20).

RSV, doğal olarak enfekte, solunum yolu hastalığı belirtileri gösteren bir Pygmy keçisinden de izole edilmiş ve 10 Pygmy keçisinden 5'inde anti-kor bulunmuştur. Fakat bu türlerde RSV'nin doğal insidansı ile ilgili bilgiler çok azdır (37).

RSV enfeksiyonu, İngiliz sığırlarında diğer viruslardan daha belirgin şekilde solunum yolu hastalığı ile birlikte bulunur. Ayrıca sığırlara ait verilerin insanlara ait verilerden daha az olmasına karşın hayvanlardaki hastalığın en yüksek insidansının 2 - 4,5 aylıklarda olduğu bildirilmektedir (37).

Seronegatif sığırların %90'dan fazlası RSV ile ilk maruz kalmada enfekte olur. Fakat maternal antikoların yüksek yüzdeleri, genç hayvanlarda enfeksiyonu önleyebilmesine karşın, sığırların % 70'i 9 aylık iken enfekte olur (37).

## 2.1. Etiyoloji

### 2.1.1. Virusun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Sığır ve insan RSV'si farelerin Pneumonia virusu ile birlikte Paramyxoviridae familyası içindeki, Pneumovirus genusunu oluşturmaktadır. Bu familya, helikal uzunlamasına nükleokapsit içeren, zarlı, pleomorfik virionlardan oluşur. Genomları lineerdir ve tek iplikçili RNA'dan oluşur (12,37,45). Replikasyon sitoplazmada şekillenir. Pneumovirus genusunu oluşturan viruslar neuraminidaz ve hemaglutinin'den yoksundurlar. Ayrıca paramyxo ve morbilli virus genuslarından, virion nükleokapsitlerinin boyutları bakımından da farklıdır (37,45).

Morfolojik olarak virion, yuvarlak veya pleomorfik 80-500 nm arasında ve filamentöz yapıdadır. RSV genomu 10 virus proteinini kodlar. Dört protein virusun zarıyla ilgilidir. Büyük Glycoprotein (G, 84k), Füzyon proteini (F, 68k), Matrix proteini (M, 26k) ve 22k proteini (40,43,44,48).

Virus, eter, kloroform, % 0,25 tripsin ve % 0,1 Sodium deoxycholate'a duyarlıdır. pH = 3'te kolayca inaktive olur.

Fakat pH = 4'ün üzerinde nisbeten stabildir. Infektivite ısı ile etkilenebilir. Yarı ömrü, 56°C'de 0,5-3 dakikada ve 37°C'de 1-7 saattir. Virus -50°C'nin altında aylarca stabil olarak kalır. İnorganik tuzlar; özellikle magnezyum ve kalsiyum gibi iki değerli katyonlar, glukoz ve sukroz, inaktivasyona karşı virusu korur % 20 sukroz ve magnezyum iyonları ilavesi RSV'nin konsantrasyon ve purifikasyonunu belirgin derecede artırır (37,45).

Purifiye virionlar, tek iplikçikli bir RNA ve 8 ya da 9 polipeptid içerir. RNA 50 s'lik sedimentasyon değerini ve yaklaşık  $5 \times 10^6$  daltonluk molekül

ağırlığına sahiptir. Virion RNA'sının yaklaşık %93'ü negatif polaritelidir. Virus suşları arasındaki küçük farklılıklar dışında, viriondaki polipeptid sayıları ve büyüklükleri benzerlik gösterir. Molekül ağırlığı 10.000 - 13.000 dalton arasında olan en küçük polipeptid, sadece 3 çalışma grubu tarafından ortaya konmuştur. Bu proteinin fonksiyonu ve RNA orijini bilinmemektedir. 19.000 - 25.000 dalton molekül ağırlığındaki ikinci bir protein düzenli olarak bulunur fakat fonksiyonu bilinmemektedir.

Matrix proteini olarak bilinen M proteini iyonik olmayan deterjanlarla viriondan ayrılabilir. Bu proteinin molekül ağırlığı 27.000 - 28.000 dalton'dur. P proteini 32.000 - 38.000 dalton ağırlığındadır ve nükleokapsitle birlikte bulunduğu sanılmaktadır. Enfekte hücrelerden veya purifiye virustan yüksek miktardaki tuz içindeki deterjan yıkımına ile izole edilen nükleokapsitler etkili şekilde NP proteini içerirler. F proteini (66.000 - 68.000 dalton) ve GP proteini (79.000 - 90.000 dalton) her ikisinde Glikoproteinler olup virionun yüzeyinde bulunurlar (43,44). Bu proteinler, düşük tuz solüsyonlarında, deterjanlarla ayrılabilir ve tripsinle kaldırılabilir. F proteini iki küçük glikoproteine (43.000 - 56.000 ve 19.000 - 22.000 dalton) disülfid bağlarıyla bağlanması ile oluşur. F ve GP glikoproteinlerine karşı elde edilen monoklonal antikorlar virusun enfektivitesini nötralize ederler. L proteini (160.000 - 200.000 dalton) hakkında çok az şey bilinmektedir. Fakat büyük yapısı ve nükleokapsitle birlikte bulunması, virionun RNA polimerazı olabileceğini düşündürmektedir. RSV'nin 11 adet insan ve 2 adet sığır suşunun polipeptid bileşimi temelde benzer olmasına karşın bazı proteinlerin moleküler ağırlıklarında küçük farklılıklar bulunmaktadır (4,25,33,45).

### 2.1.2. Virusun Antijenik Özellikleri

Sığır ve insan RSV'si arasındaki yakın antijenik ilişki Komplement Fiksasyon ve İmmunofloresan testleriyle doğrulanmıştır. Kros nötralizasyon deneyleri, insan RSV'sine karşı antiserumun, homolog virusu nötralize etme titresinin, sığır suşuna göre daha fazla olduğunu göstermiştir. İki virusun farklı doğal konakçılara sahip olması nedeniyle bazı farklılıklar (3) vardır. Örneğin, duyarlı hücre spektrumu ve antijenik farklılıklar gibi. Taylor ve arkadaşları, Sığır suşu inokule ettikleri farelerin solunum yollarından virusu elde edememişlerdir. Jacobs ve Edington (18), insan suşu ile daneların deneysel enfeksiyonunu başarmışlardır.

İnsan ve sığır RSV suşunun protein kompozisyonu sadece molekül ağırlığında çok küçük bir farklılık dışında, birbirlerine çok benzerdir. İnsan RSV'sinin iki alt grubu ayırt edilebilmiştir; bunlarda en büyük antijenik farklılıklar G proteini üzerinde lokalize olmuştur. BRSV ayrı bir grup olarak sınıflandırılabilir.

### 2.1.3. Virusun Üretilmesi

BRSV geniş bir duyarlı hücre spektrumuna sahiptir. Bütün hücre tiplerinde replike olur. Virus sığır orijinli böbrek, testis, tiroid, timus, duodenum, rectum; insan orijinli embriyonik akciğer ve böbrek, He La, Hep-2; maymun orijinli Vero; hamster orijinli akciğer ve böbrek; domuz orijinli embriyonik böbrek ve ayrıca koyun akciğer, böbrek hücre kültürlerinde üreyebilir (12,37,38,45).

En iyi üreme sığır hücre kültürlerinde olmaktadır. Fazla miktarlarda virus dana böbrek ve testis hücre kültürlerinden elde edilmektedir.

Direkt Immunfloresans (IF) testi ile RSV antijenleri inokulasyondan 16-18 saat sonra tespit edilebilmektedir. Floresans genellikle sitoplazmada sınırlıdır. 24 saat içindeki genellikle hücrenin uzunlamasına eksenine paralel 24 saat sonra floresans yavaşça sitoplazma periferine doğru hareket eder (31,37,45).

## 2.2. Epidemiyoloji

RSV, dünyanın birçok ülkesinde yaygın bir enfeksiyondur (2,27,37). Avrupa, Amerika ve Asya'nın birçok ülkesinde izole edilmiştir. Virus genellikle enfeksiyonun bulunmadığı ülkelere enfekte hayvan girişi ile yayılmaktadır. Virusun vektörlerle taşınıp taşınmadığı ya da enfeksiyonu geçiren hayvanların virusu taşıdığı henüz kanıtlanamamıştır (37,45). Muhtemelen virus izolasyonunun güçlülüğünden bu olasılığın düşünülmesi gerektiği bildirilmiştir (37). İnsanlar, özellikle veteriner hekimler ve hayvan bakıcıları virusun geçişinde rol alabilirler.

RSV enfeksiyonu sığır ve koyunların, hijyenik olmayan, aşırı kalabalık ahırlara kapatıldığı kış aylarında yaygındır. Buna rağmen sığır ve danelarda önemli salgınlar yaz aylarında da saptanmıştır (12,32).

Seronegatif sığırlar, sığır RSV'si ile enfekte edildikten 3-8 gün sonra burun boşluğundan virus saçmaya başlarlar. Bulaşma hava yolu ile damlacık enfeksiyonu tarzında olmaktadır, bulaşık yem ve suyun da bulaşmada rol alabileceği bildirilmiştir (12,32).

Bir bölgede bir sürünün etkilenmesi sonucu hastalık çiftlikten çiftliğe çok hızlı bir şekilde yayılır. Böylece enfekte bölgelerde hastalık endemik hale gelir ve aynı sürü hemen hemen her yıl etkilenir. Hayvanlar, özellikle besi sığırları, yaşlılar her zaman dirençli olmamalarına rağmen 3-9 aylara kadar çok duyarlıdırlar (37).

Bazı sürülerde virus bulunmasına rağmen herhangi bir hastalık oluşturmayabilir. Böyle sürülerde virusun varlığı zaman zaman serolojik kontroller yapılarak anlaşılmaktadır (45).

Transport gibi stres faktörleri de akut bir enfeksiyona neden olabilmektedir (26). Ayrıca hava, özellikle atmosferik basınç düşmeleri de hastalığın çıkışında önemli bir role sahiptir (26,45).

### 2.3. Patogenezi

RSV'nin en önemli rolü sekonder enfeksiyon ajanları için predizpozisyon oluşturmaktır. RSV; IBR, PI-3, BVD gibi patojenlerden biridir. Bu tip patojenler sekonder bakteriyel pnemonieler için ortam yaratırlar. Bu primer patojenler bakterilerle kombine enfeksiyonlar oluşturduklarında büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadırlar (12).

Birçok gözlem, RSV ile ilişkili hastalığın immunopatolojik bir reaksiyonun sonucu olduğu görüşüne yol açmıştır. Bu gözlemlerden biri; şiddetli hastalık belirtilerinin maternal orijinli spesifik antikorların varlığında oluşmasıdır (32,37,45).

Sığırlarda, deneysel enfeksiyon sonrası gözlenen hastalık semptomları doğal enfeksiyonlardaki gibi şiddetli değildir. Enfeksiyon sık sık subklinik kalır. Ayrıca doku kültürlerinde pasajlanamayan virusun doğal konakçıları için virulensinin daha fazla olabileceği ileri sürülmüştür (32).

RSV'nin neden olduğu ikinci etki ise sistemik anaflaksi ya da hipersensitivedir. Bu reaksiyon persiste RSV enfeksiyonu tarafından duyarlı hale getirilmiş immun sistemin aktivitesi sonucu gelişir. Anaflaksi mast hücrelerinin yüzeyindeki antijen ve IgE reaksiyonuna bağlı olmaktadır. Bu reaksiyon histamin ve heparin salgılanmasıyla, serotonin ve plazma kininlerin aktivasyonu ile sonlanır. Hafif bazı kızarıklıkların dışında, olası bazı akut solunum sistemi enfeksiyonlarında patolojik bozukluklara da yol açar (36).

Sığırlarda anaflaksi IgGve IgE tarafından oluşturulmaktadır. Stewart ve Gershwin (36), BRSV-spesifik IgE'lerin serumdaki konsantrasyonu ile enfeksiyon sonrası oluşan hastalık belirtileri arasında açık bir ilişki bulmuşlardır. Ancak doğal koşullarda gelişen hastalık tablosunun aksine, deneysel olarak oluşturulan primer ve sekonder enfeksiyonun neden olduğu hastalık belirtilerinin benzer olduğunu ve aşırı duyarlılık reaksiyonunun virusun üretildiği hücre komponentlerine karşı gelişebileceği bildirilmiştir (24, 32,36).

Enfeksiyonun sığırlar arasındaki mevsimsel sirkülasyonu sırasında virusun 2 haftalık ve daha büyük buzağılarda sık olarak enfeksiyonlara neden olduğu gözlenmiştir. Şiddetli hastalık belirtileri, hemen hemen tümü maternal antikor taşıyan 1-3 aylık buzağılarda görülmüştür. Bu nedenle saha şartlarında maternal antikorların RSV ile ilgili hastalığa karşı etkili bir korunma sağlayamadığı bildirilmiştir (32).

#### 2.4. Patoloji

Hastalıktan ölen hayvanlarda patolojik değişiklikler sadece solunum sisteminde görülür. Postmortem lezyonlar spesifik değildir (32).

Sığırlarda, subpleural ve tüm akciğer loblarında interstisyel amfizem görülür. Pleura atında amfizematöz şişlikler ve çok sayıda ekimotik kanamalar mevcuttur. Hastalıktan etkilenmiş akciğerler pembe renkli ve katı adenomatöz bir yapıdadır. Bronşial mukoza yüzeyleri çoğunlukla köpüklü bir eksudatla kaplıdır. Sekonder pneumonie'nin varlığında lezyonlar akciğer odakları birleşerek geniş lezyonlu alanlar oluştururlar (12,22).

Nadiren danalarda amfizem sırt ve boyun derisi altındaki dokular içerisine kadar ulaşır. Özellikle larynx ve myokard üzerinde peteşial kanamalar görülür (11).

Histopatolojik değişiklikler, enfeksiyonun süresi ve sekonder enfeksiyonların varlığına bağlıdır. Pl-3 enfeksiyonunda görülenden daha ve çok çekirdekli sinsityal dev hücreler görülür. Bu dev hücreler, hiperkromatik, elips şeklinde üst üste 2-8 adet çekirdek taşırlar. Hücreler içinde bazen eozinofilik inkluzyon cisimcikleri görülebilir. Bunun dışında alveolar duvarlarda kalınlaşma, makrofaj, nötrofil infiltrasyonu, alveolar hava boşluklarında epitelial hücre dökülmesi görülen en önemli mikroskopik bulgulardandır.

Sığırlardaki deneysel enfeksiyonlarda; alveolar epitelial hücrelerin şişmesi, interstisyel ödem, lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu ile karakterize hafif bir interstisyel pneumoni gözlenmiştir. Tracheal ve bronşial epitelial hücrelerde virus partiküllerinin olgunlaşması ve tomurcuklanması; siliumlu hücrelerin siliumlarını yitirmesine, sinsityal epitel hücrelerinin oluşumuna, mitokondri ve endoplazmik retikulumun şişmesine ve hücre nekrozuna neden olmaktadır. Bronş ve bronşiolde amfizem gözlenmiştir. Lezyonlu akciğer bölgelerinde solunum yollarının lumenleri değişik derecede eksudatla tıkanmıştır. Alveoller içerisinde de eksudat vardır. İnter alveolar septal bölge önemli derecede kalınlaşmış ve alveoller tamamen kollabe olmuşlardır (5,8,10).

## 2.5. Klinik Belirtiler

Hastalık akut ve subklinik olmak üzere iki klinik formda görülebilir. Akut formda iki dönem saptanmıştır. Birinci dönemde 40-42°C'ye yaklaşan ateş, solunum sayısında artış kuru, devamlı ve sert bir öksürükle birlikte aşırı solunum güçlüğü, burun ve gözlerde akıntı ve de konjunktivitis vardır. İkinci dönemde ise hayvanların yaşlarına bağlı olarak sekonder bakteriyel enfeksiyonlar veya pulmoner amfizem komplikasyonları ile karakterizedir (12,17).

Bazen hasta hayvanlarda, solunum sayısı 80-100 olup şiddetli bir dyspne görülebilir. Hayvanlar iştahsızdırlar ve çoğu kez de konstipasyon vardır. Mukozalar siyanotiktir. Akut faz çok kısa zamanda geliştiğinden tedavi şansı yoktur ve ölümlerle sonuçlanabilir (3,12,37).

Subklinik form ise daha çok yaşlı hayvanlarda görülür.

Salgın görülen sürülerde, belirli yaş grubundaki hayvanların %80-90'ının etkilendiği gözlenir (45). Sürüde mortalite oranı % 20'ye kadar ulaşabilir. Altı haftalık buzağılarda belirtiler farklıdır. Amfizem görülmez. Öksürük, yüksek ateş ve burun akıntısı en tipik belirtilerdir (45).

## 2.6. İmmunite

Epidemiyolojik çalışmalar, RSV ile reenfeksiyona karşı hiçbir sağlam korunma olmamasına karşın, alt solunum yolu hastalığına karşı birikici kazanılmış bir direncin mevcut olduğunu ortaya koymuştur (37).

Önceden mevcut serum antikorlarına sahip yetişkinler, deneysel olarak enfekte olabilir ve sığırlar primer ve RSV enfeksiyonundan sonraki 3 hafta içinde tekrardan enfekte olabilirler. Fakat virus saçılmasının süre ve miktarı ilk enfeksiyon boyunca şekillenenden belirgin derecede daha azdır (37).

### 2.6.1. Serum Antikorları

RSV'ye karşı serum antikorları, Komplemant Fiksasyon, Nötralizasyon, ELISA, İndirekt İmmunfloresans, Radioimmunoassay, Single Radial Hemoliz, Radioimmunopresipitasyon ve Komplemente bağımlı hücre erimesi gibi birçok tekniklerle ölçülebilir (24,37).

Serum antikorlarının akciğerlerdeki koruyuculuğu oldukça önemlidir. Akciğerlerin enfeksiyondan korunmasında rol alan serum antikorlarının, akciğerlerdeki hastalıklı bölgelere, difüzyon ve ekudasyon yoluyla taşındıkları sanılmaktadır (24,37).



Pasif olarak kazanılmış serum antikorları, parenteral olarak uygulanmış olan canlı RSV aşısına karşı çocukların, beyaz ratların ve buzağuların immun yanıtını açık şekilde baskılar. Fakat intranasal olarak uygulanmış virusa etki bu şekilde gözlenmemiştir. Maternal antikordan yoksun 1-4 haftalık gnotobiotik buzağulardaki RSV enfeksiyonuna karşı serum anti-kor yanıtında belirgin farklar yoktur. Ayrıca maternal antikorları tesbit edilemeyecek düzeylere düşmüş olan, 6-7 aylık buzağularda aynı durum söz konusudur.

### 2.6.2. Maternal Antikorlar

Çocuklarda ve buzağularda maternal antikorların yaygın olduğu gözlenmiştir. Bu durum, yaşlı bireylerin sıkça reenfeksiyonu sonucu oluşur. Çocuklarda maternal antikorların IgG<sub>1</sub> izotopinde olduğu, virusun F ve G proteinleri ile reaksiyona girdikleri bildirilmiştir (24,37).

Buzağularda maternal antikorlar IgG<sub>1</sub> izotipinde bulunur ve 23 günlük yarı ömürleri vardır. Aktif olarak mukoza yüzeylerine taşınmazlar. Buzağularda maternal antikorlar etkin şekilde F ve N proteinine karşı yönlendirilirler. Bazı buzağular virusun G proteinine karşı maternal antikora da sahiptirler (24,37).

İnsanların aksine buzağular maternal antikorları sadece kolostrum yoluyla kazanırlar (37).

Maternal antikorlar tüm virus izotiplerine karşı serum ve mukozal antikorların oluşumunu baskırlar. Sekiz aylığa kadar olan çocuklarda, maternal antikorların virusun F ve G proteinlerine karşı zayıf ve düzensiz yanıtlara neden oldukları tesbit edilmiştir (24,37).

Yeni doğmuş farelerde pasif olarak edinilmiş antikorların, sadece anti-kor yanıtını azaltmadığı, aynı zamanda spesifik sitotoksik T hücre öncüllerinin gelişimini de engelledikleri gösterilmiştir (13,37).

Deneysel şartlar altında maternal antikora sahip buzağular kolayca enfekte olabilirler. Yeni doğmuş beyaz ratlarda plasenta yolu ile ve memedeki süttten kazanılmış antikorlar, akciğerlerdeki virus replikasyonunu azaltırken, burundaki replikasyonu azaltamamıştır.

Şiddetli hastalık tablolarının çoğunun buzağı ve çocuklarda maternal antikorlar mevcut iken şekillendiğinden dolayı, bu antikorların bir antijen anti-kor reaksiyonu sonucu hastalığı şiddetlendirebildiği ileri sürülmektedir (37).

### 2.6.3. Mukozal Antikorlar

İnsanlarda, RSV enfeksiyonundan mukozal IgA'nın yararlı etkilerine ait bulgular sınırlıdır. İlk enfeksiyondan sonra spesifik IgA'nın görünmesi ile virusun ortadan kaybolma zamanları yakın ilişkilidir. Ancak mukozal IgA yanıtı maternal antikorlar tarafından baskılanmış buzağular ile spesifik IgA yanıtı oluşturan buzağular, aynı zaman periyodu içinde virus saçarlar (23, 24,37,45).

Buzağularda primer enfeksiyondan 8-10 gün sonra kanda IgM'lerin oluştuğu, bundan kısa süre sonra ise göz, burun, akciğer hatta barsaklardan alınan örneklerde IgA'ların tesbit edilebildiği bildirilmiştir (23,24). Antikorlar çeşitli zaman süreleri için gözlenebilir kalmıştır. BRSV'ye özgü IgG<sub>1</sub> ve IgG<sub>2</sub> daha sonra görülmüş ve sadece serumda tesbit edildikleri bildirilmiştir. Maternal antikor içeren veya içermeyen buzağularda 3-4 ay sonraki reenfeksiyonlarda serum ve mukozal yüzeylerde bellek yanıtı saptanmıştır. Bellek yanıtları reenfeksiyondan 6 gün sonra mukozalarda IgA ve serumda IgG<sub>1</sub> ve IgG<sub>2</sub> seviyesinde hızlı ve güçlü bir artışla karakterizedir. Reenfeksiyondan sonra, mukoza yüzeylerinde güçlü IgM yanıtı gözlenmiştir, ancak bu primer enfeksiyondan daha hızlı değildir (24).

Seronegatif buzağulara intramuskuler olarak uygulanan virus, mukozal antikor yanıtı başlatmada başarısız olmuş, fakat mukozal bellek yanıtını başlatmıştır. Bu bulgu immün hücrelerin eprüvasyondan önce veya sonra perifer lenf düğümlerinden mukozalara, aynı zamanda mukozalar arasında da sirküle olduğunun göstergesidir. Intramuskuler (IM) olarak immunize edilmiş buzağularda bellek yanıtı, intranasal yolla immunize edilmiş buzağulara göre daha geç başlar. Virus saçılımı inokulasyondan 5-6 gün sonra pik noktaya ulaştığından IgA bellek yanıtının hızı önemlidir.

Mukozal bellek yanıtı intranasal immunizasyondan daha hızlıdır. Çünkü lokal bellek hücreleri aktive edilir.

### 2.6.4. Hücresel İmmünite

T hücrelerinin hastalıktan iyileşme ve hastalığa karşı korunmadaki rolü hakkında çok az şey bilinmektedir. Enfeksiyon sonrası buzağı ve çocuklarda T hücre proliferasyonu tesbit edilmiştir. Fakat bunların fonksiyonu ve korunmadaki rolü bilinmemektedir. Virusa özgü MHC (Major Histocompatible Complex) ile sınırlı sitotoksik T hücreleri fare, beyaz rat ve insanlarda ortaya konmuş; yardımcı T hücreleri de farelerde ortaya konmuştur. MHC ile sınırlı olmayan sitotoksikite ise beyaz ratlarda görülmüştür. Hücresel immün yanıtı yetersiz olan çocuk ve farelerin virusu elemine ede-

memeleri T hücrelerinin yararlı olduğunu göstermiştir. Spesifik sitotoksik T hücre line'ları ve klonlarının enfekte farelere nakli virus saflaşması ile son bulur. Fakat farelerde T hücrelerinin hemoraji ve nötrofil infiltrasyonu ile karakterize öldürücü solunum sistemi hastalığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (13,24).

## 2.7. Tanı

Semptomlara dayanarak klinik tanı mümkün değildir. Bu nedenle kesin tanı direkt ve indirekt laboratuvar yöntemleriyle yapılmaktadır (6,7,14,17,27).

### 2.7.1. Direkt Tanı

Direkt tanı ya virus izolasyonu (37,45) ya da organ numunelerinde ve nasal akıntıda viral antijen tesbiti esasına dayanmaktadır (16,19).

Etken izolasyonu, virusun aşırı derecede labil olması nedeniyle oldukça güçtür. Ayrıca izolasyon materyalinin de uygun zamanda alınması gereklidir. Hastalığın başlangıç döneminde (seröz nasal akıntı, ateş ve konjunktivitis'in bulunduğu dönemde) steril bir swap yardımıyla alınan nasal mukus, proteinden zengin vasat bulunan bir tüp içerisine konur ve soğuk bir kutu içinde hemen laboratuvara gönderilir. Buzağılardan alınan postmortem akciğer doku örnekleri de aynı şartlarda laboratuvara ulaştırılır.

Nasal mukus ve özellikle karakteristik amfizem lezyonlarının bulunduğu mediastinal, kardial ve apikal akciğer loblarından alınan organ örneklerinde direkt floresan tekniği (9,16,19,29) ve ELISA testi ile viral antijenler tespit edilebilir (3,16,19).

Hücre kültüründe virus izoasyonu, sitopatik efektin çok geç görülmesi nedeniyle güçtür (45). Inkubasyon süresinin 20 günden 45-50 güne kadar uzayabildiği değişik araştırmacılar tarafından bildirilmektedir.

### 2.7.2. İndirekt Tanı

RSV'nin teşhisinde daha çok, indirekt tanı yöntemlerinden olan serolojik testlerden yararlanılmaktadır. Serum Nötralizasyon, Komplemant Fiksasyon, İndirekt İmmunfloresans, ELISA ve İndirekt Hemagglütinasyon en çok kullanılan testler arasındadır (1,2,7,14,17,27,28,30,31,32,41,42,46,47).

Martin (27), sığırlarda RSV antikörlerini İndirekt Hemagglütinasyon Testi kullanarak tesbit etmiş ve bu testin SN testinden çok daha duyarlı, çok daha hızlı ve daha kısa sürede sonuç veren bir test olduğunu ileri sürmüştür.

Nieuwstadt ve Verhoeff (42), BRSV enfeksiyonlarının serolojik araştırılmasında KF ve SN testlerini kullanmışlardır. KF testinin, SN testine oranla daha kullanışlı olduğunu saptamışlardır.

Potgieter ve Aldridge (31), sığır serumlarında RSV antikorlarının aranmasında İndirekt Floresan Antikor testini kullanmışlardır.

Westenbrink ve ark. (47), BRSV serum antikorlarının aranması için rutin bir teşhis testi olarak kullanılmak üzere bir ELISA yöntemi geliştirilmesinde, İndirekt Çift Antikor Sandwich Assay'i seçmişlerdir. Bu testin KF ve SN testlerine oranla çeşitli teknik avantajları olduğunu da ortaya koymuşlardır.

## 2.8. Koruma ve Kontrol

BRSV taşıyıcılarının varlığı henüz kanıtlanamamış olmasına rağmen, enfeksiyonu geçiren duyarlı hayvanların taşıması olasıdır. BRSV olmayan bölgelere BRSV'un girmesiyle hastalığın enzootik olması gerçeği bu hipotezi desteklemektedir (45).

RSV'ye karşı aşılama çalışmalarında, virusun epidemiyolojik özellikleri gözönünde bulundurulmalıdır. Hastalık genellikle genç ya da yenidoğan hayvanlarda görüldüğünden, koruma öncelikle genç hayvanlara yönelik olmalıdır. Ayrıca doğal enfeksiyon sonucunda oluşan immunitenin hayvanları reenfeksiyona karşı yeterince koruyamaması diğer önemli bir noktadır (12,39).

Formalinle inaktive edilmiş, Freund adjuvantlı aşılar; seronegatif hayvanlarda yüksek düzeyde nötralizan antikorlar oluşturmalarına rağmen hayvanların tümünü enfeksiyondan koruyamamışlardır. Bunun formalinle inaktivasyon sırasında virusun Fusion (F) proteininin denatüre olarak antijenik özelliğini yitirmesinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

Sığırlar, glutaraldehid ile tesbit edilmiş BRSV enfekte hücre içeren Freund ya da Saponine Quil-A adjuvanlı inaktif aşı ile aşılanmıştır. Bu hayvanlar üzerinde yapılan deneysel enfeksiyon çalışmalarında, aşılanmamış kontrol grubundaki hayvanların tümünde virus izole edilmesine rağmen, aşılanmış olan 12 danadan sadece birinden virus izole edilebilmiştir (32). Bu tip RSV aşılarının bazı sakıncalarına rağmen yine de iyi bir immunitite oluşturdıkları bildirilmektedir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Kontrol Edilen Hayvanlar

Araştırmada Et ve Balık Kurumu Ankara Et Kombinasında kesilen sığırlar Bovine Respiratory Syncytial Virus antikorları yönünden test edildi. Bu amaçla 1992 yılı Nisan ve Mayıs aylarında kesime gelen sığırlardan tesadüfi örnekleme yapılarak, kan numuneleri alındı.

#### 3.2. Serum Numunelerinin Hazırlanması

Serolojik kontrol amacıyla kullanılacak kan numuneleri Kaolin ile kaplanmış polistiren tüplere<sup>(\*)</sup> alındı. Kan numuneleri pıhtılaşmayı takiben metal bir tel ile tüp çeperinden ayrılarak +4°C'de 2000 devirde santrifüj edildi. Ayrılan her serum numunesi, kendisine ait protokol numarası taşıyan tüplere bölündükten sonra, 56°C'de 30 dakika süreyle inaktive edilerek test edilene kadar -20°C'de saklandı.

#### 3.3. Serolojik Kontrol

376 adet sığır kan serumunun RSV antikorları yönünden kontrolü ELISA Testi ile yapıldı.

#### 3.4. ELISA Testi

Bu amaçla N.V. Beldico S.A.<sup>(\*\*)</sup> firması tarafından üretilen ve RSV antijenleri ile kaplı tabletleri içeren ticari ELISA kit'i kullanıldı.

##### 3.4.1. Numunelerin Hazırlanması

Testte kullanılacak serum numuneleri 1/100 oranında sulandırma solusyonu ile sulandırıldı. Bunun için test tüplerine 4 ml. sulandırma sıvısı dağıtıldı ve 40 µl kan serumu ilave edildi. Aynı sulandırma pozitif ve negatif referans serumlarına da uygulandı.

##### 3.4.2. Testin Yapılışı

Sensitize (duyarlı) edilmiş olan tabletler ambalajından çıkarıldı. Sulandırılmış numuneler ve referans serumlar her göze 100 µl olacak şekilde konuldu. Her numune virusla sensitize edilmiş gözlere olduğu kadar (tek sütunlar) kontrol antijeni ile sensitize edilmiş gözlere de (çift sütunlar) konuldu.

(\*) Greiner, Nirtingen, Germany

(\*\*) N.V. Beldico S.A. Marche-en-Famenne, Belgium

Tabletler 1 saat süreyle oda derecesinde inkubasyona bırakıldı. Süre sonunda tabletler ters-yüz edilerek boşaltıldı. Daha sonra Yıkama Solusyonu ile tabletteki bütün gözler tamamen dolacak şekilde ve hava kabarcığı olmayacak tarzda 5 kez yıkandı. Sonra kurutma kağıdında kurutuldu.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
B	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
C	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
D	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
E	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
F	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
G	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
H	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-

(+) RSV antijeni ile kaplı gözler

(-) Negatif kontrol antijeni ile kaplı gözler

Çok kanallı bir otomatik pipet yardımıyla daha önce sulandırılmış konjugattan 100 µl, her göze dağıtıldı ve yine oda derecesinde 1 saat inkubasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda tabletler boşaltıldı, 5 kez Yıkama Solusyonu ile yıkandı ve kurutuldu. Substrat Kromojen hazırlandı ve her göze 100 µl miktarında en seri şekilde dağıtıldı. Pozitif gözlerde birkaç dakika sonra mavi bir renk şekillendi. 5-10 dakika sonra her göze 50 µl miktarında Reaksiyon Durdurucu sıvıdan konularak reaksiyon durduruldu.

### 3.4.3. Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi

ELISA testi sonuçlarının değerlendirilmesi test sonucunda oluşan renk ve bu rengin farklı ölçülerdeki filtre sistemlerini içeren spektrofotometrede<sup>(\*)</sup> okunması esasına dayanmaktadır. Bu nedenle ELISA testini takiben

(\*) Titertek Multiskan, Finland.

her gözde oluşan farklı tonda renklilik spektrofotometrede oduktan sonra her göz için elde edilen matematiksel sayı, üretici firma tarafından önerilen, aşağıdaki formül uygulanarak pozitif ve negatif numuneler tespit edildi. 450 nm'lik filtre kullanılarak yapılan okumada kontrol antijeni ile sensitize edilmiş gözlerin optik dansitesi, virus ile sensitize edilmiş karşılık gelen gözlerdeki optik dansiteden çıkarıldı.

$\Delta$ .D.O. Numune Serum : Tablette bir serum için, virus ile sensitize edilmiş gözde elde edilen matematiksel değer, kontrol antijeni ile sensitize gözde elde edilen değerden çıkarılması ile elde edilen değerdir.

$$Cf = \frac{\Delta.D.O. \text{ Numune Serum}^* - \Delta.D.O. \text{ Negatif Serum}^*}{\Delta.D.O. \text{ Pozitif Serum}^* - \Delta.D.O. \text{ Negatif Serum}}$$

$\Delta$ .D.O. Negatif Serum : Negatif referans serumun, virus antijeni ile sensitize edilmiş gözde elde edilen matematiksel değer, kontrol antijeni ile sensitize edilmiş gözde elde edilen değerden çıkarılması ile elde edilen değerdir.

$\Delta$ .D.O. Pozitif Serum : Pozitif referans serumun, virus antijeni ile sensitize edilmiş gözde elde edilen matematiksel değer, kontrol antijeni ile sensitize edilmiş gözde elde edilen değerden çıkarılması ile elde edilen değerdir.

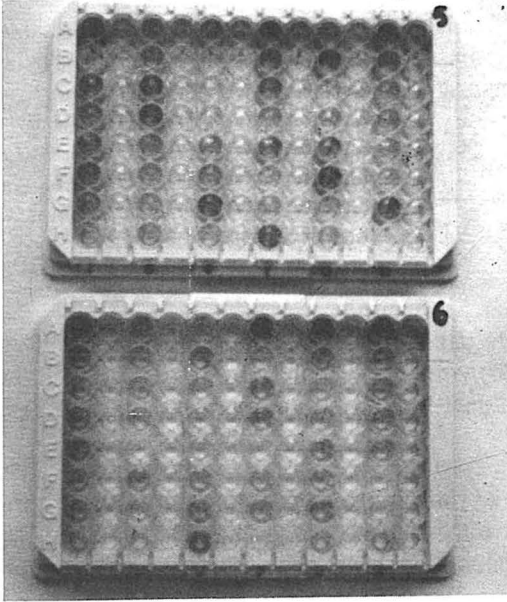
Yukarıdaki formülün kullanılması ile ayrıca numuneler içindeki derecelendirme de yine üretici firmanın önerdiği sınırlar dahilinde yapıldı.

$Cf < 0$	0
$0 < Cf < 0,2$	0
$0,2 < Cf < 0,4$	+
$0,4 < Cf < 0,6$	++
$0,6 < Cf < 0,8$	+++
$0,8 < Cf < 1$	++++
$1 < Cf$	+++++

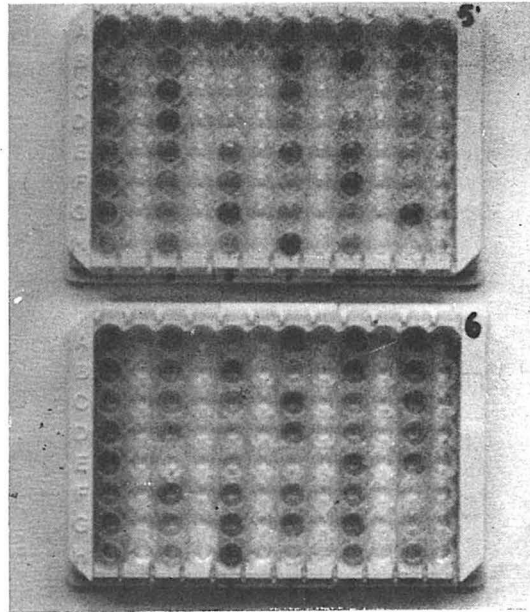
#### 4. BULGULAR

##### 4.1. ELISA Testi Sonuçları

ELISA Testi ile kontrol edilen toplam 376 adet sığır serumundan 254 adedi (% 67.5) pozitif olarak tespit edilmiştir (Resim 1,2).



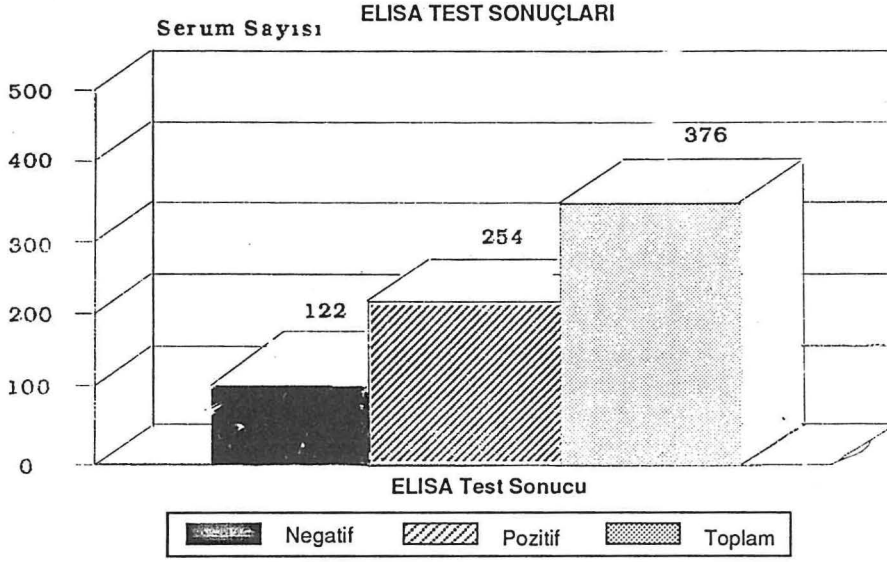
Resim 1 : 5 ve 6 No.lu ELISA  
tabletlerinde reaksiyon  
durdurulmadan önce



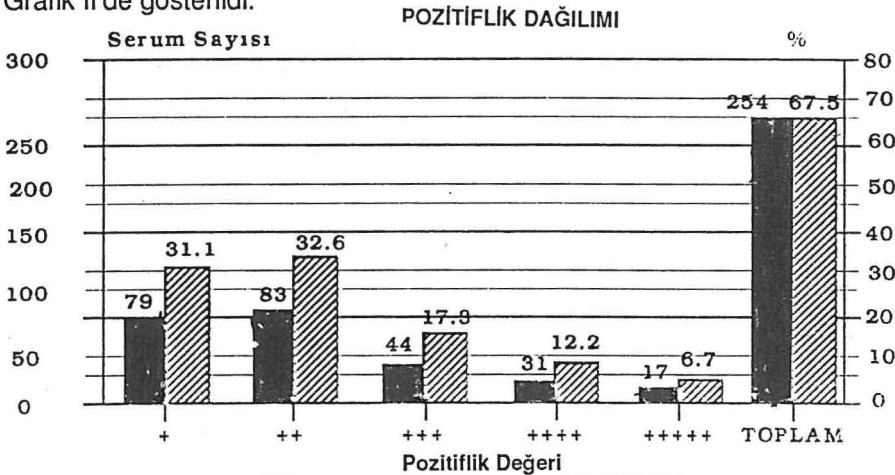
Resim 2 : 5 ve 6 No.lu ELISA  
tabletlerinde reaksiyon  
durdurulduktan  
sonra



Test edilen serumlar içindeki pozitif ve negatiflerin dağılımı Grafik I'de gösterilmiştir.



Pozitif olduğu saptanan 254 adet serum numunesinin test sonucunda verdiği (O.D.) matematiksel değerler üretici firma tarafından önerilen sınıflandırma tablosuna uygulandığında 79 adedinin "+" pozitif (% 31,1), 83 adedinin "++" pozitif (% 32,6), 44 adedinin "+++" pozitif (% 17,3), 31 adedinin "++++" pozitif (% 12,2), 17 adedinin "+++++" pozitif (% 6,7) olduğu tespit edildi. Seropozitif olarak saptanan 254 adet numunenin pozitiflik dağılımı Grafik II'de gösterildi.



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada E.B.K. Ankara Et Kombinasında kesilen sığırlardan alınan kan serumlarında BRSV'na karşı antikor varlığını tespit etmek amacıyla ELISA Testi kullanılmıştır.

ELISA testi ile kontrol edilen toplam 376 adet sığır serumunun 254 adedi (% 67,5) pozitif olarak bulunmuştur.

Potgieter ve Aldridge (31), BRS antikorlarının ortaya konması için IFAT'ı kullanmışlardır. Araştırmacılar, Oklahama Hayvan Hastalıkları Teşhis Laboratuvarına gönderilen sığır serumlarının PBBS içinde 1/10'luk dilusyonlarını test etmişler ve toplam 331 serumdan 244 serumu (% 73,6) pozitif bulmuşlardır. Ayrıca araştırmacılar IFAT'ın mikro-serum nötralizasyon veya komplement fikzasyon testlerinde kullanılan otomatik yöntemlerin aksine serumların seri dilusyonlarının elle yapılması ve serumların enfekte hücre prepartalarına uygulanmasının güçlüğü gibi dezavantajları olduğunu da bildirmişlerdir.

Adair ve Mc Ferran (1), K. İrlanda'da 36 çiftlikteki yerli koyun ırklarına ait 100 serum numunesi ve 16 çiftlikteki solunum yolu sorunlarına sahip buzağılara ait 100 serum numunesini IFAT ile RSV antikorları yönünden test etmişlerdir. Buzağı serum numunelerinin toplandığı, 16 çiftliğin hepsinde pozitif hayvanlar saptanmıştır. Bu hayvanlara ait 20 adet floresans pozitif sığır serumu RSV antikorları bakımından SN testi ile titre edilmiş ve bu serumların 1/6'dan 1/32'ye kadar değişen SN titrelerine sahip oldukları saptanmıştır.

Martin (27), İngiltere'de 803 adet 2 yaşlı düvelere ait serum numunelerini IHA ile test etmiş ve % 94 oranında RSV'ye karşı antikor bulmuştur. Bu çalışmada elde edilen sonuçlarla, aynı araştırmacı IHA testinin RSV'ye karşı oluşan antikorların tespitinde SN testinden daha duyarlı olduğunu, daha kolay ve çabuk sonuç verdiğini bildirmiştir. Ayrıca araştırmacı, SN testi ile IHA testi arasında doğrusal bir korelasyon bulunduğunu ve IHA testinin SN testinden 64 kez daha yüksek antikor titresi verdiğini belirtmiştir.

Florent ve De Marneffe (14), BRS antikorlarının ELISA ile araştırılmasının, Nötralizasyon testi kadar etkili olduğunu, ayrıca sonuçların daha kısa sürede elde edilmesi ve bir günde çok sayıda numune işlenmesi gibi avantajlarının bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar test ettikleri serumları 1/40 oranında sulandırdıklarını ve 414 nm'lik filtre kullanarak matematiksel değerlerin belirlendiğini ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada da 376 adet serum 1/100 oranında sulandırılmış ve 450 nm'lik filtre kullanılarak

yapılan okumada 79 adedinin "+" pozitif, 83 adedinin "++" pozitif, 44 adedinin "+++" pozitif, 31 adedinin "++++" pozitif, 17 adedinin "+++++" pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Van Nieuwestadt ve Verhoeff (41), BRSV enfeksiyonlarının serolojik olarak araştırılmasında KF ve SN testlerini kullanmışlar, her iki testinde avantaj ve dezavantajları olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, SN testinde teste alınacak serum sayısının sınırlı olması, hücre kültürü gerektirmesinin önemli dezavantajlar olduğunu ve KF testinin daha kullanışlı olmasına rağmen purifiye antijen preparatlarında hücre komponentleriyle reaksiyon ve serumların antikomplementler aktivitesi nedeniyle düşük serum dilusyonlarında yanlış pozitif reaksiyonlar verebildiğini de bildirmişlerdir.

Westenbrink ve ark. (47), sütçü sürülerden topladıkları kan serumlarını ELISA, KF ve SN testleriyle test etmişlerdir. Serumların, BRSV antikor titreleri bakımından ELISA ve KF test sonuçları arasında en yakın korelasyonu verdiğini ortaya koymuşlardır. Her iki test arasında korelasyonun % 88 (36/41), ELISA ile SN testi arasında % 73 (30/41), KF ve SN testleri arasında ise % 73 (27/37) olduğunu bildirmişlerdir. SN testinin akut dönem serumlarının büyük bir yüzdesindeki BRSV antikorlarını ortaya çıkarmada etkili olduğunu, fakat çift serum numunelerindeki belirgin titre artışı esasına dayanarak BRSV enfeksiyonlarının teşhisinin yapılmasında daha az etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Gillette (17), BRV virusuna karşı serum antikorlarının araştırılması için ELISA, KF ve SN testlerini karşılaştırmıştır. Genç buzağılardaki serolojik yanıtların ve pasif olarak kazanılmış antikorların ortaya konulması için ELISA ve SN testlerini karşılaştırmış ve SN testinde pozitif sonuç veren saha serum numunelerinin yaklaşık % 98'inin ELISA'da da aynı sonucu verdiği saptanmıştır. Hem ELISA hem de KF testi BRSV ile subklinik enfeksiyona sahip 2 deney buzağısındaki erken ortaya çıkarılan antikorların (maruz kalmadan 1-4 hafta sonra) ortaya konmasında başarısız kaldığını tespit etmiştir. ELISA ve SN testlerinde negatif sonuç veren bazı serumların KF testinde pozitif sonuç vermesinden dolayı KF testinin daha az spesifik olduğunu bildirmiştir. Ayrıca hem ELISA ve hem de KF testinde pozitif sonuç veren genç besi buzağılarından elde edilen serum numunelerinin % 50'sinde antikorların ortaya konmasında KF testinin başarısız olduğunu saptamıştır.

Burgu ve ark. (7), Türkiye'de çeşitli Tarım İşletmeleri ve halk elindeki hayvanlardan sağlanan sığır kan serumlarında mikronötralizasyon testi ile yaptıkları seroepidemiolojik çalışmada % 46,12'lik seropozitiflik tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, kontrol ettikleri 490 sığır serumunun 226'sında 1/2

serum sulandırılmasında BRSV'a karşı nötralizan antikor saptamışlardır. Pozitif serumların SN<sub>50</sub> (Serum Nötralizasyon<sub>50</sub>) değerlerinin ise 1/2,82 - 1/31,6 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Pulat (32), Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan koyun kan serumlarında BRS virusuna karşı antikor varlığını saptamak amacıyla serum nötralizasyon (SN) ve Indirekt Hemaglütinasyon (IHA) testlerini kullanmıştır. SN testinde 1092 kan serumunun 384 (% 35,16)'ü, IHA testinde ise 379 (% 34,70)'u pozitif olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak Türkiye'de de sığır, koyun ve keçilerde önemli ekonomik kayıplara neden olan IBR-IPV ve PI-3 gibi solunum sistemi enfeksiyonları içinde BRSV enfeksiyonunun da gözönünde tutulması gerektiği bu çalışma ile de ortaya konmuştur. BRSV'un A.B.D., Avrupa ve Kanada'daki sığır populasyonlarında prevalansının çok yüksek olduğu ve buralardaki solunum yolu hastalıklarının potansiyel bir nedeni olabileceği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir.

Florent ve ark. (15), İsviçre'de çeşitli yaş gruplarındaki 530 sığıra ait kan serumlarını test etmişlerdir. Sonuçta 410 (% 77,4) sığır serumu BRSV antikorları yönünden pozitif olarak saptanmıştır, prevalansının da buzağı ve genç boğalarda % 56,3, ineklerde ise % 85,1 arasında olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da 376 sığır serumu kullanılmış ve 254 (% 67,5)'ünün pozitif olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada alınan kan serumları tesadüfi örnekleme yöntemi ile toplanmış olup Türkiye'nin değişik bölgelerinden gelen hayvanları kapsamakta idi. Daha önce yapılmış olan, iki ayrı serolojik çalışmanın sonuçları ile varlığı tespit edilen BRSV'un, bu çalışma ile de, bir kez daha varlığı ELISA Testi ile tespit edilmiştir.

## 6. ÖZET

E.B.K. Ankara Et Kombinasında kesilen sığırlardan sağlanan 376 kan serumunda Respiratory Syncytial Virus (RSV)'una karşı antikorlar ELISA Testi kullanılarak araştırıldı.

376 sığır serum örneğinde 254 (% 67,5)'ü pozitif olarak saptandı. Bu serumların test sonucunda verdikleri matematiksel değerler (O.D.), üretici firma tarafından önerilen sınıflandırma tablosuna uygulandığında 79 adedinin "+" pozitif (%31,1), 83 adedinin "++" pozitif (%32,6), 44 adedinin "+++" pozitif (%17,3), 31 adedinin "++++" pozitif (% 12,2), 17 adedinin "+++++" pozitif (% 6,7) olduğu tespit edildi.

## 7. SUMMARY

### The Detection of Antibodies to Respiratory Syncytial Virus. In The Blood Sera of Cattle Slaughtered in The Abbotoir of Ankara.

The antibodies to Respiratory Syncytial Virus (RSV) were investigated by ELISA Test in the 376 blood sera of the cattle slaughtered in Ankara Abbotoir of Meat and Fish Company (E.B.K.).

254 of the 376 serum samples (67,5 %) were determined to be positive. The mathematical values (optical density) that were given by the serum samples were determined to be 79 of them "+" positive (31,1 %), 83 of them "++" positive (32,6 %), 44 of them "+++" positive (17,3 %), 31 of them "++++" positive (12,2 %), 17 of them "+++++" positive (6,7 %) when these values were applied to the classification tables proposed by the manufacturer company.

## 8. KAYNAKLAR

- 1- ADAIR, B.M., Mc FERRAN, J.B. : Difference in fluorescent antibody staining of bovine respiratory syncytial virus-infected cells by ovine and bovine-sera. *Vet. Microbiol.*, 13 : 87-91, 1987.
- 2- ADAIR, B.M., Mc FERRAN, J.B. Mc KILLOP, E.R., Mc CULLOUGH, S.J. : Survey for antibodies to respiratory syncytial viruses in two groups of sheep in Northern Ireland. *Vet. Rec.*, 115 : 403-406, 1984.
- 3- ANDERSON, L.J., HIERHOLZER, J.C., TSOU, C., HENDR, R.M., FERNIE, B.F., STONE, Y., Mc INTOSH, K. : Antigenic characterization of respiratory syncytial virus strains with monoclonal antibodies. *The Journal of Infectious Disease*, 151 : 626-633, 1985
- 4- ANDERSON, L.J., HIERHOLZER, J.C. STONE, Y.O., TSOU, C. FERNIE, B.F. : Identification of epitopes on respiratory syncytial virus proteins by competitive binding immunoassay. *J. Clin. Microbiol.*, 23 : 475-480, 1986.
- 5- BRYSON, D.G., Mc NULTY, M.S. LOGAN, E.F., CUSH, P.F. : Respiratory syncytial virus pneumonia in young calves: Clinical and pathologic findings. *Am. j. Vet. Res.*, 9 : 1643-1655, 1983.
- 6- BRYSON, D.G., CUSH, Mc. NULTY, M.S., PLATTEN, M., ALLAN, G.M. : An immunoperoxidase method of detecting respiratory syncytial virus antigens in paraffin sections of pneumonic bovine lung. *Am. J. Vet. Res.*, 49 : 1121-1126, 1988.
- 7- BURGU, I., TOKER, A., AKÇAY, Y., ALKAN, F. : A seroepidemiologic study of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) in Turkey. *DTV.*, 2 : 88-89, 1990.
- 8- CASTLEMAN, W.L., CHANDLER, S.K., SLAUSON, D.O. : Experimental bovine respiratory syncytial virus infection in conventional calves : Ultrastructural respiratory lesions. *Am. J. Vet. Res.*, 46 : 554-560, 1985.

Respiratory syncytial virus - Aylan

- 9 - CHONMATREE, T., BESSETTE - HENDERSON, B.J., HEPLER, R.E., LUCIA, H.L. : Comparison of three rapid diagnostic techniques for detection of respiratory syncytial virus from nasal wash specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 25 : 746-747, 1987.
- 10- CUTLIP, R.C., LEHMKUHL, H.D. : Lesions in lambs experimentally infected with bovine respiratory syncytial virus. *Am. J. Vet. Res.*, 40 : 1479-1481, 1979.
- 11- DOGGETT, J.E., TAYLOR - ROBINSON, D., GALLOP, R.G.C. : A study of an inhibitor in bovine serum active against respiratory syncytial virus. *Arch. Ges. Virusforsch.*, 23 : 126-137, 1986.
- 12- FENNER, F., BACHMAN, P.A., GIBBS, E.P.J., MURPHY, F.A., STUDDERT, M.S., WHITE, D.O. : *Veterinary Virology*. 1.th. ed., Orlando, Florida Academic Press, pp. 501-502, 1987.
- 13- FIELD, E.W., SMITH, M.H. : Cell-mediated immune response in cattle to bovine respiratory syncytial virus. *Am. J. Vet. Res.*, 45 : 1641,1643, 1984.
- 14- FLORENT, G., De MARNEFFE, C. : Enzyme linked immunosorbent assay used to monitor serum antibodies to bovine respiratory disease viruses. *Vet. Microbiol.*, 11 : 309-317, 1986.
- 15- FLORNET, G., De MARNEFFE, C., BOLLER, E. : Bovine respiratory syncytial virus in Switzerland: a serological study. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*, 127 : 661-663, 1985.
- 16- FREYMUTH, F., QUIBRAC, M., PETITJEAN, J., AMIEL, M.L., POTHIER, P., DENIS, A., DUHAMEL, J.F. : Comparison of two new tests for rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infections by enzyme-linked immunosorbent assay nad immuofluorescence techniques. *J. Clin. Microbiol.*, 24 : 1013-1016, 1986.
- 17- GILLETTE, .G. : Enzyme-linked immunosorbent assay for serum antibody to bovine respiratory syncytial virus: Comparison with complement fixation and neutralization tests. *Am. J. Vet. Res.*, 44 : 2251-2255, 1983.
- 18- JACOBS, J.W., EDINGTON, N. : Experimental infection of calves with respiratory syncytial virus. *Res. Vet. Sci.*, 18 : 299-306, 1975.
- 19- KIMMAN, T.G., ZIMMER, G.M., STRAVER, P.J., De LEEUW, P.W. : Diagnosis of bovine respiratory syncytial virus infections improved by virus detection in lung lavage samples. *Am. J. Vet. Res.*, 47 : 143-147, 1986.
- 20- KIMMAN, T.G., WESTENBRINK, F., SCHREUDER, E.C., STRAVER, P.J. : Local and systemic antibody response to bovine respiratory syncytial virus infection and reinfection in calves with and without maternal antibodies. *J. Clin. Microbiol.*, 25 : 1097,1106, 1987.
- 21- KIMMAN, T.G., WESTENBRINK, F., STRAVER, P.J., VAN ZAANE, D., SCHREUDER, B.E.C. : Isotype-specific ELISA for the detection of antibodies to bovine respiratory syncytial virus. *Res. Vet. Sci.*, 43 : 180-187, 1987.
- 22- KIMMAN, T.G., STRAVER, P.J., ZIMMER, G.M. : Pathogenesis of naturally acquired bovine respiratory syncytial virus infection in calves: Morphologic and serologic findings. *Am. J. Vet. Res.*, 50: 684-693, 1989.
- 23- KIMMAN, T.G., WESTENBRINK, F., STRAVER, P.J. : Priming for local and systemic

- antibody memory responses to bovine respiratory syncytial virus: Effect of amount of virus, virus replication, route of administration and maternal antibodies. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 22 : 145-160, 1989.
- 24- KIMMAN, T.G., WESTENBRINK, F. : Immunity to human and bovine respiratory syncytial virus. *Arch. Virol.*, 112 : 1-25, 1990.
- 25- LAMBERT, D.M., PONS, M.W. : Respiratory syncytial virus glycoproteins. *Virology*, 130 : 204-214, 1983.
- 26- Le BLANC, P.H., BAKER, J.C., GRAY, P.G., ROBINSON, N.E., DERKSEN, F.J. : Effects of bovine respiratory syncytial virus on airway function in neonatal calves. *Am. J. Vet. Res.*, 52 : 1401-1406, 1991.
- 27- MARTIN, H.T. : Indirect haemagglutination test for the detection and assay of antibody to bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Rec.*, 113 : 290-293, 1983.
- 28- Mc CULLOUGH, S.J., ADAIR, B.M., Mc KILLOP, E.R. : A survey of serum antibodies to respiratory viruses in cattle in Northern Ireland. *Irish Veterinary Journal*, 41 : 342-344, 1987.
- 29- Mc NULTY, M.S., BRYSON, D.G., ALLAN, G.M. : Experimental respiratory syncytial virus pneumonia in young calves : Microbiologic and immunofluorescent findings. *Am. J. Vet. Res.*, 44 : 1656-1659, 1983.
- 30- MEURMAN, O., RUUSKANEN, O., SARKKINEN, H., HANNINEN, P., HALONEN, P., Immunoglobulin class-specific antibody response in respiratory syncytial virus infection measured by enzyme immunoassay. *Journal of Medical Virology*, 14 : 67-72, 1984.
- 31- POTGIETER, L.N.D., ALDRIDGE, P.L. : Use of indirect fluorescent antibody test in the detection of bovine respiratory syncytial virus antibodies in bovine serum. *Am. J. Vet. Res.*, 38 : 1341-1343, 1977.
- 32- PULAT, H. : Koyunlarda respiratory syncytial virus izolasyonu ve Seroepidemiolojisi. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. Ankara, 1992.
- 33- SCOTT, F.W., SHIVELY, J.N., GASKIN, J., GILLESPIE, J.H. : Bovine syncytial virus isolations. *Arch. Ges. Virusforsch.*, 43 : 43-52, 1973.
- 34- SHARMA, R., WOLDEHIWET, Z. : Reinfection of lambs with bovine respiratory syncytial virus. *Res. Vet. Sci.*, 52 : 72-77, 1992.
- 35- SMITH, M.H., FREY, M.L., DIERKS, R.E. : Isolation, characterization and pathogenicity studies of a bovine respiratory syncytial virus. *Arch. Virol.*, 47 : 237-247, 1975.
- 36- STEWART, R.S., GERSHWIN, L.J. : Role of IgE in the pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus in sequential infections in vaccinated and nonvaccinated calves. *Am. J. Vet. Res.* 50 : 349-355, 1989.
- 37- STOT, E.J., TAYLOR, G. : Respiratory syncytial virus. Brief review. *Arch. Virol.*, 84 : 1-52, 1985.
- 38- THOMAS, L.H., STATT, E.J., JEBBET, J., HAMILTON, S. : The growth of respiratory syncytial virus in organ cultures of bovine foetal trachea. *Arch. Virol.*, 52 : 251-258, 1976.
- 39- THOMSON, J.R., NETTLETON, P.F., GREIG, A., BARR, J. : A bovine respiratory virus vaccination trial. *Vet. Rec.*, 1 : 450-453, 1986.

Respiratory syncytial virus - Aylan

- 40- TRUDEL, M., NADON, F., SIMARD, C., BELAGER, F., ALAIN, R., SEGUIN, C., LUSSE-  
ER, G. : Comparison of caprine, human and bovine strains of respiratory syncytial virus.  
Arch. Virol., 107 : 141,149, 1989.
- 41- Van NIEUWSTADT, A.P., VERHOEFF, J. : Serology for diagnosis and epizootiological  
studies of bovine respiratory syncytial virus infections. Res. Vet. Sci., 35 : 153,159, 1983.
- 42- VERHOEFF, J., Van NIEUWSTADT, A.P. : BRS virus, Pi-3 virus and BHV-1 infections of  
young stock on self-contained dairy farms: Epidemiological and clinical findings. Vet.  
Rec., 114 : 288-293, 1984.
- 43- WAGNER, D.K., NELON, D.L., WALSH, E.E., REIMER, C.B., HENDERSON, F.W.,  
MURPHY, B.R. : Differential immunoglobulin G subclass antibody titers to respiratory  
syncytial virus F and G glycoproteins in adults. J. Clin. Microbiol., 25 : 748-750, 1987.
- 44- WALSH, E.E., HRUSKA, J. : Monoclonal antibodies to respiratory syncytial virus prote-  
ins: Identification of the fusion protein. Journal of Virology, 47 : 171-177, 1983.
- 45- WELLEMANS, G. : Bovine respiratory syncytial virus. In: DINTER, Z., MOREIN, B. : Vi-  
rus Infections of Ruminantes. Elsevier Science Publishers Company Inc. Amsterdam,  
Netherlands, 1990.
- 46- WESTENBRINK, F., KIMMAN, T.G. : Immunglobulin M-specific enzyme-linked immuno-  
sorbent assay for serodiagnosis of bovine respiratory syncytial virus infections. Am. J.  
Vet. Res., 48 : 1132,1137, 1987.
- 47- WESTENBRINK, F., BRINKHOF, J.M.A., STRAVER, P.J., QUAK, J., De LEEUW, P.W. :  
Comparison of a newly developed enzyme-linked immunosorbent assay with comple-  
ment fixation and neutralisation tests for serology of bovine respiratory syncytial virus in-  
fections. Res. Vet. Sci., 38 : 334-340, 1985.
- 48- WESTENBRINK, F., KIMMAN, T.G., BRINKHOF, M.A. : Analysis of the antibody respon-  
se to bovine respiratory syncytial virus proteins in calves. J. Gen. Virol., 70 : 591-601,  
1989.