

Van Yöresinde Koyunlarda Parainfluenza Virus-3 (PIV-3), Bovine Herpes Virus-1 (BHV-1) ve Respiratory Syncytial Virus (RSV) Enfeksiyonlarının Serolojik Olarak Araştırılması¹

Mehmet ÇABALAR²

V. Soydal ATASEVEN²

Özet

Van yöresinde, PIV-3, BHV-1 ve RSV enfeksiyonlarının seroprevalansını tespit etmek üzere üç farklı alandan toplanan koyun serumlarında bir survey çalışma yapıldı. Bu amaçla, koyunlardan toplanan 468 adet kan serumu örneğinde PIV-3, BHV-1 ve RSV nötralizan antikorlarının varlığının tespiti için Serum nötralizasyon (SN) testi kullanıldı. Genel olarak, 225 (%48.0) serum örneği PIV-3'e, 250 (%53.4) serum örneği ise RSV'e karşı seropozitif olarak saptandı. Ancak, bütün koyunlar BHV-1'e karşı seronegatif olarak belirlendi. Kontrol edilen 468 adet serum örneğinden, 146 (%31.2) adedinin her iki virusa karşı nötralizan antikor taşıdığı saptanırken, 79 (%16.9)'u yalnızca PIV-3'e, 104 (%22.2)'üde yalnızca RSV'e karşı seropozitif olarak tespit edildi. Araştırma sonucunda, PIV-3 ve RSV'in koyunlarda solunum sistemi enfeksiyonlarının önemli etkenlerinden olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Koyun, PIV-3, BHV-1, RSV, Seroloji

Summary

Serological Survey for Parainfluenza Virus-3 (PIV-3), Bovine Herpes Virus-1 (BHV-1) and Respiratory Syncytial Virus (RSV) Infections in Sheep in Van

A serological survey was conducted to determine the prevalence of antibodies against PIV-3, BHV-1 and RSV in serum samples of sheep from three different areas of Van province. 468 serum samples collected from sheep were tested for PIV-3, BHV-1 and RSV antibodies by Serum neutralization (SN) test. In general total, 225 (48.0%) sera were detected to be seropositive for PIV-3, 250 (53.4%) sera for RSV. But, all sheep were seronegative for BHV-1 antibodies. Out of 468 serum samples tested, while 146 (31.2%) sera were seropositive for both PIV-3 and RSV, only 79 (16.9%) sera were detected as antibody carrier against PIV-3, only 104(22.2%) sera for RSV. The results of research indicated that the PIV-3 and RSV may be important agents in respiratory diseases of sheep flock.

Key words: Sheep, PIV-3, BHV-1, RSV, Serology

Giriş

Koyunlarda solunum sistemi enfeksiyonları koyun yetiştiriciliğinde ekonomik kayıpların başta gelen nedenidir. Bu ekonomik kayıpları hastalıkta tedavi giderleri, et-yapağı üretiminin gecikmesi ve özellikle kuzularda gelişme bozukluğu ve ölüm oluşturur (1-3). Koyunlarda hastalık tek bir etken tarafından meydana getirilebileceği gibi, birden fazla etken de enfeksiyonun oluşmasına neden olabilir. Bakteri, virus, parazit ve mantarlar olumsuz çevre koşulları ile birleşerek ağır solunum sistemi hastalıklarını ortaya çıkarmaktadır (1,4,5). Ayrıca viral ve bakteriyel etkenler arasındaki sinerjik etkileşim de solunum yolu enfeksiyonlarının oluşmasında yardımcı olmaktadır (5,6). Özellikle *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* ve *Mycoplasma ovipneumoniae* gibi bakteriler enfeksiyonların ortaya çıkmasında önemli role sahiptirler (5-7).

RSV ve PIV-3 sığır, koyun ve insanlarda solunum sisteminin yaygın viral patojenleri arasında bulunurlar (4,8-12). PIV-3 paramyxoviruslar familyasının paramyxovirus alt grubu içinde yer alırken, RSV aynı familyanın pneumovirus alt grubu içinde yer almaktadır (4). Herpesviruslar familyasının alfaherpes virus alt grubu içinde yer alan BHV-1, öncelikle sığırlarda solunum sistemi enfeksiyonunun önemli patojen etkeni olarak tanımlanmakla birlikte, koyunlarda da enfeksiyon oluşturduğu serolojik olarak tespit edilmiştir (4,13-15).

¹ Bu araştırma, YYÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje no. 94-VF-335).

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı – VAN.

PIV-3, RSV ve BHV-1 enfeksiyonlarının serolojik tanısında serum nötralizasyon (SN), hemaglutinasyon inhibisyon (HI), ELISA ve indirekt immunofluoresan (IIF) teknikleri kullanılmaktadır (4). Goyal ve ark. (13) SN testi ile RSV için %52.9, BHV-1 için %0.5, HI testi ile PIV-3 için %71.7; Elazhary ve ark. (8) IIF testi ile RSV için %31, BHV-1 için %10.8, HI testi ile PIV-3 için %23.2 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir. Brako ve ark. (2) ise SN testi kullanarak RSV'e karşı %48.7, PIV-3'e karşı %74.1 oranında seropozitiflik belirlediklerini, ancak BHV-1 için seropozitiflik saptayamadıklarını bildirmişlerdir. Giangespero ve ark. (3) IIF testi ile RSV'e karşı %63.6 oranında nötralizan antikor varlığı bulurken, PIV-3'e karşı bu oran %24 olarak tespit edilmiştir.

Burgu ve ark. (16) SN testi ile PIV-3'e karşı %57.7 seropozitiflik saptarken, BHV-1'e karşı bütün koyunların seronegatif olduğu tespit edilmiştir. Akça (17) da SN testi ile BHV-1'e karşı seropozitiflik saptanmadığını bildirmektedir. Çokdoğan (18) PIV-3 için SN testi ile %7.81, HI testi ile %79.33 seropozitiflik tespit etmiştir. Pulat (19) ise, RSV'e karşı SN testi ile %35.16, HI testi ile %34.70 oranında pozitiflik saptamıştır. Yavru ve ark. (15) SN testi ile PIV-3 için %16.52, BHV-1 için %9.56, RSV için %18.26 oranında seropozitiflik belirlendiğini bildirmektedirler.

Van yöresinde hayvancılıkta önemli yeri olan geleneksel koyun yetiştiriciliği bölge insanının et ve süt tüketimini karşılamada başlıca role sahiptir. Solunum yolu hastalıklarının sık olarak görüldüğü bu yörede, özellikle kuzularda ölüm olgularının bir problem haline geldiği klinik olarak tespit edilmiştir. Türkiye'de koyunlarda gerek PIV-3 ve RSV enfeksiyonları, gerekse BHV-1 enfeksiyonları üzerine daha önceden çeşitli çalışmalar (15-20) yapılmış olmakla beraber, Van yöresinde bu enfeksiyonların seroprevalansı ile ilgili herhangi bir veri bildirilmemiştir. Bu çalışmada, Van yöresinde koyunlarda solunum sistemi enfeksiyonlarının oluşumunda PIV-3, BHV-1 ve RSV'ün rolünün seroprevalanslarının tespiti ile belirlenmesi ve ayrıca ülkemizde konu ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalara katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Hücre Kültürü: PIV-3, BHV-1 ve RSV'ün üretilmesi, titrelerinin belirlenmesi ve bu virüslere karşı oluşan antikorlarının tespiti amacıyla uygulanan Serum nötralizasyon (SN) testi için Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'ndan sağlanan Madin darby bovine kidney (MDBK) devamlı hücre kültüründen yararlanıldı.

Virus: Araştırmada, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'ndan sağlanan; PIV-3'ün HA-1 suşu, BHV-1'in Colorado suşu ve RSV'nin sığır kökenli Moredun Araştırma Enstitüsü'nden elde edilen suşu kullanıldı. Frey ve Liess (21)'in bildirdikleri mikrotitrasyon yöntemine göre MDBK hücre kültüründe PIV-3'ün titresi $DKID_{50}$: $10^{-5.5}$ /0.1 ml, BHV-1'in $10^{-5.75}$ / 0.1 ml, RSV'nin ise $10^{-4.75}$ / 0.1 ml olarak hesaplandı.

Serum Örnekleri: Bu çalışmada; Gürpınar, Gevaş, Özalp ilçeleri ve merkeze bağlı bazı köylerden alınan 245 adet, Erciş-Altındere Tarım İşletmesi'nden alınan 75 adet ve Van ili mezbahasında kesilen hayvanlardan alınan 148 adet olmak üzere toplam 468 koyun kan serum örneği kullanıldı. Materyal sağlanan yerler ile örneklenen hayvan sayısı Tablo 1'de gösterildi. Halk elinde bulunan ve Tarım İşletmesinden örneklenen hayvanların 2 ve üzeri yaşta, mezbahadan örneklenen hayvanların ise gebe kesim yasaklamasının olduğu dönemde yapılmış olması nedeniyle yaklaşık 1 yaşında oldukları belirlendi.

Steril şartlarda kaolinli polystren tüpler (*Greiner, Nuertingen, Germany*) içine alınan kan örneklerinden serum ayırt edilerek 30 dakika süre ile 56 °C'lik su banyosunda inaktive edildi ve testte kullanılabilecek kadar -30 °C'de saklandı.

Tablo 1. Örneklemeye yapılan yerler ve örneklenen hayvan sayısı

Sıra No	Van	Hayvan Sayısı
I	Saha (ilçe-köyler)	245
II	Altındere Tarım İşletmesi	75
III	Mezbaha	148
TOPLAM		468

Serum Nötralizasyon (SN) Testi: Frey ve Liess (21) tarafından bildirilen mikronötralizasyon yöntemi kullanıldı. Bu amaçla mikronötralizasyon tabletinin (*Greiner, Nuertingen, Germany*) aynı sırada bulunan 2 gözüne, BHV-1 için sulandırılmamış, PIV-3 ve RSV için Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) ile sırasıyla 1/5, 1/2 oranında sulandırılmış serum örneklerinden konuldu. Serum sulandırmaları üzerine eşit miktarda bilinen virusdan (100DKID₅₀/ 0.05 ml) ilave edildi ve inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda 300.000 hücre/ml olacak şekilde sulandırılmış MDBK hücre kültüründen her bir test gözüne 0.05 ml konuldu. Değerlendirme, virus kontrol için ayrılan gözlerde % 80-100 cpe saptandığı anda doku kültürü mikroskobu ile yapıldı. Pozitif sonuç veren serum örneklerinin antikor titreleri, log₂ tabanına göre hazırlanan serum sulandırmalarına uygulanan mikronötralizasyon testi ile belirlendi.

Bulgular

Toplam 468 koyundan elde edilen kan serumlarının PIV-3, BHV-1 ve RSV spesifik antikorları yönünden yapılan kontrolü sonucunda, PIV-3' e karşı 225 (%48.0) adet serum örneği pozitif bulunurken, RSV'e karşı ise 250 (%53.4) adet serum örneği pozitif olarak belirlendi. Ancak, bütün koyunlar BHV-1'e karşı seronegatif olarak saptandı (Tablo 2). Örneklenen 468 koyundan, 146 (%31.2) adedi her iki virusa karşı seropozitif tespit edilirken, 79 (%16.9)'u yalnızca PIV-3'e, 104 (%22.2)'üde yalnızca RSV'e karşı seropozitif olarak bulundu. Diğer taraftan, örneklenen koyunların 139 (%29.7)'üde her iki virusa karşı seronegatif olarak belirlendi (Tablo 3).

Tablo 2. PIV-3, RSV ve BHV-1 enfeksiyonlarının seroprevalans sonuçları

Sıra No	Serum Sayısı	PIV-3		RSV		BHV-1	
		+	%	+	%	+	%
I	245	132	53.9	134	54.7	-	-
II	75	48	64.0	59	78.7	-	-
III	148	45	30.4	57	8.5	-	-
TOPLAM	468	225	48.0	250	53.4	-	-

Tablo 3. PIV-3 ve RSV enfeksiyonlarının seroprevalans sonuçlarının karşılaştırılması

Sıra No	Serum Sayısı	PIV-3		RSV		PIV-3 + RSV		Negatif	
		+	%	+	%	+	%	n	%
I	245	46	18.8	48	19.6	86	35.1	65	26.5
II	75	14	18.7	25	33.3	34	45.3	2	0.03
III	148	19	12.8	31	21.0	26	17.6	72	48.6
TOPLAM	468	79	16.9	104	22.2	146	31.2	139	29.7

Nötralizasyon testi sonucunda pozitif bulunan serumların antikor titre değerleri PIV-3 için 1:5 - 1:160 arasında, RSV için 1:2 - 1:128 arasında olduğu tespit edildi (Tablo 4).

Tablo 4. PIV-3 ve RSV'e karşı pozitif serumların SN₅₀ değerleri dağılımı

PIV-3		RSV	
SN ₅₀	Pozitif serum sayısı	SN ₅₀	Pozitif serum sayısı
1:5	11	1:2	29
1:10	23	1:4	33
1:20	34	1:8	41
1:40	52	1:16	52
1:60	34	1:24	23
1:80	35	1:32	49
1:120	19	1:64	13
1:160	17	1:128	10
TOPLAM	225	TOPLAM	250

Tartışma ve Sonuç

Koyun yetiştiriciliğinde, yetiştirme hastalıkları yönünden PIV-3 ve RSV enfeksiyonları ağırlık kaybı ve buna bağlı olarak verim düşüklüklerine yol açması nedeniyle ekonomik açıdan göz önüne alınması gereken hastalıklardır. Yetiştiricilik yapılan bölgelerde bu enfeksiyonlar hızla yayılabilir ve çoğunlukla kuzular daha duyarlıdırlar. Hastalıkların ortaya çıkmasında dış faktörlerin de etkisi vardır. Virusu almış olan hayvanlar, sekonder bir etkenle enfekte olmadığı sürece genellikle klinik bir tablo göstermezler. Bu nedenden dolayı yapılacak seroepidemiolojik kontroller, solunum sistemi hastalıklarının varlığının ortaya konulmasında önemli role sahiptirler.

Bu araştırmada, genel olarak 468 adet koyun serum örneğinden PIV-3 için 225 (%48.0)'i pozitif bulunurken, 250 (%53.4) serum örneği RSV için pozitif olarak belirlendi. Bütün koyunlar BHV-1'e karşı seronegatif olarak tespit edildi. Bu oranlar gerek Türkiye'de ve gerekse çeşitli ülkelerde bildirilen araştırmaların verilerine benzer olarak koyunların solunum sistemi enfeksiyonlarında PIV-3 ve RSV'un önemli etiyolojik ajanlardan olduğunu ve bu enfeksiyonların klinik ya da subklinik olarak koyunlarda yaygın bir seyir gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

PIV-3 için HI testi ile, Erhan ve ark.(22) seropozitiflik oranını %60, Erhan ve Martin (23) %80, Çokdoğan (18) %79.33 olarak belirlemişlerdir. Burgu ve ark (16) ise, SN testi ile PIV-3 virusuna karşı %57.7 oranında seropozitiflik saptarken, aynı testi kullanarak Çokdoğan (18) bu oranı %7.81, Yavru ve ark.(15) %16.52 olarak tespit etmişlerdir.

HI testi kullanarak PIV-3'e karşı, Elazhary ve ark.(8) seropozitif koyunların oranını %23.2, Taylor ve ark.(24) %60, Hore (25) %53, Lamontagne ve ark.(26) %28, Goyal ve ark.(13) ise, %71.7 olarak belirlemişlerdir. Broka ve ark.(2) SN testi ile PIV-3 için %74.1 oranında seropozitiflik olduğu bildirirken, Rosadio ve ark.(27) aynı yöntem ile seropozitif koyun oranını %82.3 olarak bulmuşlardır. Giangespore ve ark.(3) ise, IIF testi kullanarak PIV-3'e karşı %24 oranında nötralizan antikor varlığı tespit etmişlerdir.

Türkiye'de RSV enfeksiyonu üzerine koyunlarda yapılan ilk çalışmada Pulat (19) 1092 serum örneğinden 384 (%35.16)'ünde SN testi ile RSV nötralizan antikorları tespit ederken, aynı örneklerin HI testi sonucunda 379 (%34.70)'ünün hemagglütinasyon aktivitesi gösterdiğini bildirmektedir. Yavru ve ark. (15) tarafından yapılan çalışmada ise, SN testi ile koyunlarda RSV enfeksiyonuna karşı %18.26 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir.

Goyal ve ark.(13) SN testi kullanarak RSV'e karşı %52.5 oranında seropozitiflik saptarken, aynı test ile Brako ve ark.(2) seropozitiflik oranını %48.7, Rosadio ve ark.(27) %47.1, Lamontagne ve ark.(26) ise %35 olarak tespit etmişlerdir. Lehmkuhl ve ark.(14) ise, HI testi ile %84.5 oranında RSV'e karşı seropozitiflik saptamışlardır. IIF testi kullanarak, Adair ve ark.(1) RSV'e karşı %33.3, Elazhary ve ark.(8) %31, Giangespore ve ark.(3) %63.6 oranında nötralizan antikor varlığı belirlemişlerdir.

BHV-1 enfeksiyonunun Türkiye'de koyunlarda serolojik olarak ilk araştırılması Akça (17) tarafından yapılmış ve 439 adet koyun serumunda SN testi ile nötralizan antikor saptanamamıştır. Burgu ve ark.(16) da aynı test ile koyun serumlarında seropozitiflik belirlenmediğini bildirmektedirler. Yavru ve

ark.(15) ise, SN testi ile koyunlarda BHV-1'e karşı %9.56 oranında seropozitiflik saptamışlardır. Serum nötralizasyon (SN) testi ile BHV-1 için, Goyal ve ark.(13) %0.5, Elazhary ve ark.(8) %10.8, Lehmkuhl ve ark.(14) %5.4 oranında seropozitiflik tespit ederken, Brako ve ark.(2), Rosadio ve ark.(27) ile Lamontagne ve ark.(26) seropozitiflik belirlenmediğini bildirmektedirler.

Diğer taraftan, bu araştırmada 79 (%16.9) adet serum örneği yalnızca PIV-3 için, 104 (%22.2)'ü yalnızca RSV için, 146 (%31.2)'sı ise her iki virus için nötralizan antikor yönünden pozitif olarak belirlendi. 139 (%29.7) adet serum örneği de her iki virusun nötralizan antikorları yönünden negatif olarak tespit edildi.

Araştırmadan elde edilen veriler genel olarak incelendiğinde, örnekleme zamanında serumların %29.7'sinin her iki virusa karşı da spesifik antikorlar taşımadığı, örneklenen koyunların %70.3'ünün ise, tek tek ya da birlikte spesifik PIV-3 ve RSV antikorları yönünden pozitif olduğu anlaşılmaktadır. Bununla birlikte, özellikle kapalı yetiştiricilik yapılan tarım işletmesinden alınan koyunların her iki virusa karşı yalnızca 2 (%0.03)'sinin seronegatif tespit edilmesi, eğer yakın zamanda sürü akut bir enfeksiyon geçirmemişse, sürekli olarak bu iki virusun sürü içinde sirkülasyonda olduğu sonucuna varılabilir. Diğer taraftan, sahadan toplanan serumların küçük çok sayıda halk elindeki yetiştirmelerden toplanmış olmasına rağmen, seroprevalansın tarım işletmesinden toplanan serumlara göre daha düşük tespit edilse de yüksek kabul edilmelidir. Bu durum halk elindeki koyunların da bu etkenlere yüksek oranda maruz kaldığını ortaya koymaktadır.

Mezbahadan toplanan serumlarda, tarım işletmesi ve sahadan toplanan serumların pozitifliğine oranla oldukça daha az pozitiflik tespit edilmiş olması ise, örneklemenin gebe hayvan kesimi yasaklamasının olduğu dönemde yapılması sonucu olarak çoğunlukla ortalama 1 yaşındaki kuzulardan alınmış olması ile açıklanabilir. Nitekim, St. George (28) ile Lamontagne ve ark. (26) yaptıkları çalışmalarda, koyunlarda yaşa bağlı olarak PIV-3'e karşı antikor oranının arttığını saptamışlardır. Çokdoğan (18)'de çalışmasında 5-6 aylık kuzularda antikor oranının yüksekliğini maternal antikorların varlığına bağlarken, yaş ilerledikçe antikor düzeyindeki düşüşü maternal antikordaki azalmaya, 2 yaş grubundan sonra antikor düzeyinde meydana gelen artışı ise hayvanların enfeksiyonla karşılaştıklarının bir işareti olduğunu bildirmektedir.

Sonuç olarak, her iki virusun koyunlarda tek tek ya da birlikte solunum sistemi enfeksiyonlarına neden olabileceği sonucuna varıldı. Ayrıca, gerek halk eli gerekse kapalı tarım işletmesinden elde edilen veriler, virusların sürü içinde sirkülasyonda olabileceğini ve bu enfeksiyonların birer yetiştirme hastalığı olarak değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, Van yöresinde bu enfeksiyonlarla ilgili kesin verilerin ortaya konabilmesi için, akut enfeksiyonlarda virus izolasyonu - antijen tespiti ve çift serum örnekleme ile antikor artışının belirlenmesi ya da klinik semptom göstermeyen sürülerdeki belirli hayvanlardan periyodik olarak alınacak serum örneklerinde antikor titre seyrine bağlı olarak virusun sürü içinde sirkülasyonda olup-olmadığına yönelik araştırmaların yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Adair BM, Mc Ferran JB, Mc Killop ER, Mc Cullough SJ. Survey for antibodies to respiratory viruses in two groups of sheep in Northern Ireland Vet Rec 1984;20:403-406.
2. Brako EE, Fulton RW, Nicholson SS, Amborski GF. Prevalence of bovine viral diarrhoea, parainfluenza-3, goat respiratory syncytial, bovine leukemia, and bluetongue viral antibodies in sheep. Am J Vet Res. 45 (4): 813- 816 (1984).
3. Giangaspero M, Vanopdenbosch E, Nishikawa H, Tabbaa D: Prevalence of antibodies against respiratory viruses (parainfluenza virus type 3, respiratory syncytial virus, reovirus and adenovirus) in relation to productivity in Syrian awassi sheep. Trop Anim Hlth Prod, 29: 83-91 (1997).
4. Dinter Z, Morein B: Virus infections of ruminants, *Virus infections of vertebrates*. Elsevier Science Publishers BV Amsterdam-Oxford-Newyork-Tokyo (1990).
5. Trigo FJ, Breeze RG, Liggitt HD, Evermann JF, Trigo E: Interaction of bovine respiratory syncytial virus and *Pasteurella haemolytica* in the ovine lung AmJ Vet Res, 45(8): 1671-1678 (1984).
6. Sharma R, Woldehiwet Z: Increased susceptibility to *Pasteurella haemolytica* in lambs infected with bovine respiratory syncytial virus. J Comp Path, 103: 411-419 (1990).
7. Davies DH: Aetiology of pneumonias of young sheep. Prog Vet Microbiol Immun, 1: 229-248 (1985).
8. Elazhary MASY, Silim A, Dea S: Prevalence of antibodies to bovine respiratory syncytial virus, bovine viral diarrhoea virus, bovine herpesvirus-1, and bovine parainfluenza-3 virus in sheep and goats in Quebec Am J Vet Res, 45(8): 1660-1662 (1984).

9. Lehmkuhl HD, Cutlip RC: Characterization of parainfluenza type 3 virus isolated from the lung of a lamb with pneumonia. *Am J Vet Res*, 43(4): 626-628 (1982).
10. Ames TR: The epidemiology of BRSV infection. Symposium on BRSV infection. *Veterinary Medicine/September*, pp. 881-885 (1993).
11. Trigo FJ, Breeze RG, Evermann JF, Gallina AM: Pathogenesis of experimental bovine respiratory syncytial virus infection in sheep. *Am J Vet Res*, 45(8): 1663-1670 (1984).
12. Stott EJ, Taylor G: Respiratory syncytial virus. Brief review. *Arch. Virol.* 84: 1-52 (1985).
13. Goyal SM, Khan MA, McPherson SW, Robinson RA, Boylan WJ: Prevalence of antibodies to seven viruses in a flock of ewes in Minnesota. *Am.J.Vet. Res.*, 49(4): 464-67 (1988).
14. Lehmkuhl HD, Cutlip RC, Bolin SR, Brogden KA: Seroepidemiologic survey for antibodies to selected viruses in the respiratory tract of lambs *Am J Vet Res*, 46: 2601-2604 (1985).
15. Yavru S, Öztürk F, Gürhan İ, Şimşek A, Ünver G, Duman R, Yapkiç O: Koyunlarda solunum yolu viruslarının serolojik olarak araştırılması. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, (baskıda) (1998).
16. Burgu İ, Öztürk F, Akça Y: Tahirova devlet üretme çiftliği koyunlarında viral enfeksiyonlar üzerinde serolojik araştırmalar. *Ankara Üniv. Vet Fak Derg*, 31(2): 167-179 (1984).
17. Akça, Y: Türkiye'de sığır ve koyunlarda enfeksiyöz bovine rhinotracheitis - enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR-IPV) üzerinde serolojik araştırmalar. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara (1981).
18. Çokdoğan R: Türkiye'de koyunlarda parainfluenza-3 (PI-3) enfeksiyonu üzerinde seroepidemiolojik araştırmalar. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniv Sağlık Bil Enst, Ankara (1989).
19. Pulat H: Koyunlarda respiratory syncytial virus izolasyonu ve seroepidemiolojisi. Doktora tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bil. Enst., Ankara (1992).
20. Erhan M, Onar B, Csontos L, Hopkins IG: Koyun, sığır ve atların bazı virüsü ve bedsonya hastalıkları üzerinde serolojik çalışmalar. *Pendik Vet Kont ve Araşt Enst Dergisi*, 4: 51-58 (1971).
21. Frey HR, Liess B: Vermehrungskinetik und vermendbarkeit einer stark zytopathogenen VD-MD virusstammes für diagnostische untersuchungen mit der mikrotiter-methode. *Zbl Vet Med B*, 18: 61-71 (1971).
22. Erhan M, Onar B, Tanzer F: Parainfluenza-3 virusunun koyun ve sığırlardan izolasyonu ve bu virusa karşı aynı hayvanların kan serumlarında hemaglutinasyon- inhibisyon testi ile antikor aranması. *Pendik Vet Kont ve Araşt Enst Dergisi*, 6: 67-76 (1973).
23. Erhan, M, Martin WB: Türkiye'de koyunlarda parainfluenza-3 virus enfeksiyonu hakkında ilk rapor. *Pendik Vet.Kont. ve Araşt Enst Dergisi*, 11: 90-101 (1969).
24. Taylor WP, Momoh M, Okeke ANC, Gunde AA: Antibodies to parainfluenza 3 in cattle, sheep and goats from Northern Nigeria. *Vet Rec*, 97: 183-184 (1975).
25. Hore DE: A survey of sheep sera for antibodies to an ovine strain of parainfluenza 3 virus. *Br Vet J*, 125(7): 311-315 (1969).
26. Lamontagne L, Descoteaux JP, RoyR: Epizootiological survey of parainfluenza -3, reovirus-3, respiratory syncytial and infectious bovine rhinotracheitis viral antibodies in sheep and goat flocks in Quebec. *Can J Comp Med*, 49: 424-428 (1985).
27. Rosadio RH, Evermann JF, De Martini JC: A preliminary serological survey of viral antibodies in Peruvian sheep. *Vet Microbiol*, 10: 91-96 (1984).
28. St George TD: A survey of sheep throughout Australia for antibody to parainfluenza type 3 virus and to mucosal disease virus. *Aust Vet J*, 47: 370-374 (1971).