

# BUZAĞILARDA RESPIRATUAR SİNSİTYAL VİRUS (BRSV) ENFEKSİYONLARINDA PATOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELEMELER

Zafer ÖZYILDIZ<sup>1</sup>, Özlem ÖZMEN<sup>1</sup>, Hüseyin DOLU<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Burdur/Türkiye

Geliş Tarihi: 08.12.2017 Kabul Tarihi: 19.12.2017

Makale Kodu: 363907

## ÖZET

Bu çalışmada Burdur İli'ndeki buzağılarda saptanan sığır respiratuar sinsityal virus (BRSV) enfeksiyonları makroskopik, mikroskopik ve immunohistokimyasal bulgularıyla detaylı olarak incelendi. Solunum problemleri ile ölen ve immunohistokimyasal olarak BRSV tespit edilen buzağuların nekropsisinde makroskopik olarak kraniyo-ventral loblarda koyu kırmızı renkli ve sert kıvamlı pnömoni alanları gözlemlendi. Bu alanların kesit yüzlerinden köpüklü ve mukopurulent bir eksudat sızıyordu. Mikroskopik olarak akciğer kesitlerinde interstisyel ve bronko-interstisyel pnömoni bulguları gözlemlendi. Pnömoni bölgelerinde yoğun şekilde karakteristik sinsityal hücreler ve bazı bronş-bronşiyol epitellerinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimciklerine rastlandı. İmmunohistokimyasal incelemelerde; bronş, bronşiyol ve alveol epitelleri ile lümenlerindeki yangısal hücre ve özellikle sinsityal hücrelerin sitoplazmalarında immuno-pozitif alanlar dikkati çekti. Bu çalışmanın amacı; Burdur bölgesinde buzağılarda ciddi kayıplara neden olan BRSV hastalığında makroskopik, mikroskopik ve immunohistokimyasal bulgularının detaylı olarak sunulmasıdır.

**Anahtar kelimeler:** *BRSV, buzağı, patoloji, immunohistokimya*

## PATHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES IN RESPIRATORY CYNCİTIAL VIRUS (BRSV) INFECTIONS IN CALVES

### ABSTRACT

In this study, bovine respiratory syncytial virus (BRSV) infections of calves were examined in detail with macroscopic, microscopic and immunohistochemical findings in Burdur province. At necropsy of calves that died from respiratory findings and immunohistochemically BRSV diagnosed, dark red and hard areas in the cranio-ventral lobes grossly. Foamy and mucopurulent exudate was leaking from the cross-sections of these areas. Microscopically, findings of interstitial and broncho-interstitial pneumonia were observed in the lung sections. At the pneumonic areas, marked characteristic syncytial cells and intra cytoplasmic inclusion bodies were seen in some bronchiolar and bronchial epithelial cells. Immunohistochemically, immuno-positive areas were seen in the bronchial, bronchiolar and alveolar epithelial cells and the cytoplasm of inflammatory cells especially syncytial cells. The aim of this study was detailed presentation of macroscopic, microscopic and immunohistochemical findings of BRSV disease in calves which cause serious economic losses in Burdur province.

**Keywords:** *BRSV, calf, pathology, immunohistochemistry*

İletişim / Correspondence



Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Burdur/Türkiye



+90 248 213 2175



zozyildiz@mehmetakif.edu.tr

## GİRİŞ

Bovine respiratuar sinsityal virus (BRSV) enfeksiyonu sığırların önemli solunum yolu enfeksiyonlarından. Özellikle 2 hafta-6 aylık buzağlarda solunum sisteminde şiddetli klinik ve patolojik değişikliklere neden olmaktadır (1). Respiratuar sinsityal virus (RSV) enfeksiyonu, paramyxoviridea familyasına bağlı bir RNA virusu olan pneumovirüsler tarafından oluşturulur (2). Dünyanın bir çok ülkesinde yaygın olarak bulunan bu enfeksiyon (3,4) ülkemizde de sığır işletmelerinde buzağlarda özellikle solunum sistemi hastalıklarına bağlı kayıpların önemli nedenlerindedir (5-8).

Hastalık adını bronş, bronşiol ve alveol lümenlerinde bolca bulunan ve dökülmüş epitel hücre çekirdeklerinin sinsityumu (birleşmesi) ile oluşan sinsityal hücrelerden almıştır. Ayrıca bahsi geçen bölgelerdeki epitel hücre sitoplazmalarında bulunan eozinofilik pembe-homojen görünümlü inklüzyon cisimciklerinin görülmesi hastalığın tanısında önemli kriterlerdendir (1).

Viral enfeksiyon sırasında virusun solunum sistemi hücrelerine yaptığı patolojik etki sebebiyle oluşan yıkım, solunum yolları florasında bulunan *Pasteurella* sp., *Mycoplasma* sp., *Bordetella* sp. gibi fırsatçı bakterilere zemin hazırlamaktadır. Bu durum ise viral ve bakteriyel etkenlerin işe karıştığı mikts enfeksiyonlara (enzootik pnömoni) neden olmaktadır. Bu sebeple bazı araştırmacılar tarafından hastalık, respiratorik hastalık kompleksi içinde sunulmaktadır (1, 9).

İnsanlarda RSV adı altında ve aynı virüsün neden olduğu ciddi solunum sistemi hastalıklarına rastlanmaktadır. Özellikle immun sistemi zayıf olan ya da sürfaktan proteinlerinde (A,B,C,D) eksikliği bulunan çocuklarda ağır, hatta zaman zaman öldürücü hastalık tabloları görülebilmektedir. RSV'nin bağışıklık hücrelerinde yarattığı hasardan dolayı

immun yetersizliğe neden olduğu konusunda raporlar mevcuttur (10, 11).

Buzağlarda görülen BRSV olgularında klinik olarak burun ve gözyaşı akıntısı ile birlikte yüksek ateşle başlayan, devamında hırıltılı solunum ve solunum güclüğü ile karakterize, değişen şiddette bulgular gözlenmektedir. Nekropsi incelemelerinde akciğerin çoğunlukla kranial, kranio dorsal ve ventral loblarında koyu kırmızı renkli, karaciğer kıvamında alanlara rastlanmaktadır. Kesit yüzünde ödem ve atelektazik alanlar haricinde sekonder enfeksiyonların işe karışması ile bronş, bronşiol ve alveollerde irinli ve yer yer nekrotik alanlar görülmektedir. Fibrinli-nekrotik pnömoniye dönüştüğü durumlarda ise akciğerlerin göğüs kafesine yapıştığı dikkati çekmektedir. Mikroskopik olarak, akut dönemde interalveolar ve interlober septal dokuda kalınlaşma, nekrotik bronşiolitis, deskuamasyon ve ödem, kronik olaylarda ise interstisyel fibrozis gibi interstisyel pnömonin tipik bulgularını göstermektedir (12-15). Bununla birlikte alveol ve bronşiol lümenlerinde dökülmüş epitel hücre çekirdeklerinin birleşmesinden oluşan sinsityal hücre formasyonları ile bronş, bronşiol ve pnömositlerde görülen intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri hastalık için tanıtıcı bulgulardır (10, 11).

Bu çalışmada, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilmiş, solunum sistemi problemi ile ölen ve immunohistokimyasal olarak BRSV teşhisi konulan buzağı akciğerleri patolojik olarak incelendi.

## MATERYAL VE METOT

Çalışmanın materyalini Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na 2014-2017 yılları arasında solunum problemi ile ölen ve teşhis için getirilen BRSV şüpheli 6 hafta ile 5 aylık yaş

aralığındaki 12 adet buzağı akciğeri oluşturdu. Doku örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin patoloji takip prosedüründen geçirilerek parafine gömüldü. Bu parafin bloklardan 5µ kalınlığında normal ve Poly-l-lisinli lamalara kesitler alındı. Normal lamalara alınan kesitler rutin hematoksilin&eoziin boyama yöntemi ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Poly-l-lisin'li lamalara alınan seri kesitler ise standart ticari Avidin-Biyotin Peroksidaz Kompleks (ABC-P) kiti kullanılarak (UNIVERSAL HRP-DAP KIT 500 TEST, BIOGENEX, Cat. No: QD420-YIK) Anti-Respiratory Syncytial Virus antibody (Abcam, Cat. No: ab20745- 1/500 sulandırma) ile boyandı. Tüm kesitlerin Olympus BX51 ışık mikroskopunda Olympus DP25 kamera sisteminde mikrofotografları çekilerek değerlendirilmesi yapıldı. Ayrıca pnömoni bulgusu göstermeyen aynı yaşlardaki 10 adet buzağı akciğerine ait parafin bloklar histopatolojik olarak pnömoni yokluğu teyit edildikten sonra kontrol grubu olarak kullanıldı.

## **BULGULAR**

### **Nekropsi Bulguları**

Klinik olarak öksürük ve burun akıntısı bulunan buzağuların nekropsilerinde akciğerin çoğunlukla kranial loblarında lobüller dağılımlı koyu kırmızı renkli, konsolide alanlar gözlemlendi. Bu alanların kesit yüzünde bronş ve bronşiol lümenlerinde köpüklü bir ödem sıvısı ile birlikte mukopurulent bir ekssudat vardı (Figür 1). Şiddetli olaylarda ise boz beyaz renkli yer yer sekte yapılarındaki nekrotik alanlara rastlandı. Konsolide alanların çevresinde yoğun olmakla birlikte kranial loblarda amfizemli alanlar görüldü. Bazı olgularda akciğerde geniş konsolide alanlar bulunduğu ve akciğerlerin göğüs kafesine yapışık durumda olduğu tespit edildi.

### **Histopatolojik Bulgular**

Histopatolojik incelemelerde, akciğer-

de, viral pnömonilerde görülen interstisyel pnömoni bulgularının yanında muhtemel sekonder enfeksiyonların etkisiyle şekillenen bronkopnömoni bulgularıyla kendini gösteren bronkointerstisyel pnömoni belirgindi. Bunun yanında, interalveoler, interlobuler ve interlober damarların hiperemik olduğu tespit edildi. İnteralveolar septal doku, interlobuler septumlar ve interlober septumların mononükleer hücre infiltrasyonları ve ödemden dolayı genişlediği görüldü. Akut vakalarda bronş, bronşiol ve alveol lümenlerinde homojen, pembe renkli ödem sıvısı ve yer yer fibrin iplikçikleri belirlendi. Alveol lümenleri dökülmüş epitel hücreleri, bazı olgularda nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonları ile doluydu. Bazı alveol lümenlerinde 3'lü- 5'li epitel döküntülerinin birleşmesinden oluşan karakteristik "*sinsityal hücre formasyonları*"na rastlandı. Tip 1 pnömositler çoğunlukla yıkılmış olup tip 2 pnömositlerde hiperplazi belirgindi. Alveol duvarları silindirik yapıdaki tip 2 pnömositlerle kaplı olup viral pnömonilere özgü "*epitelizasyon*" ya da "*fötalizasyon*" bulguları mevcuttu. Şiddetli olaylarda bronş ve bronşiol lümenlerinde de dökülmüş epitel hücreleri ile nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonlarına rastlandı. Bu olgularda ayrıca parankim içerisinde geniş nekrotik alanlar dikkati çekti. Bu alanların çevresinde yoğun yangısal hücre infiltrasyonları vardı. Sinsityal hücre formasyonlarına bazı bronş ve bronşiyol lümenlerinde de rastlandı. Bazı bronş ve bronşiyollerde epitelial hiperplaziler gözlemlendi. Bronko-alveoler lenfoid dokuların (BALT) birçoğunda lenfoid folliküllerde hiperplazi dikkati çekti. Özellikle kronikleşen durumlarda interstisyel dokuda fibröz proliferasyonlar mevcuttu. Bu bölgeleri çevreleyen alveollerin ise atelektaziye uğradığı tespit edildi. Buna komşu alveollerde ise amfizemli bölgeler saptandı. Etkilenen bronş

ve bronşiol epitellerinden bazılarında homojen-pembe görünümde intrasitoplazmik "inklüzyon cisimcikleri"ne rastlandı. Özellikle bronko-interstisyel pnömoninin gözleendiği durumlarda interlober, lobuler septumlar ve pleurada ödem, fibrin birikimi, nötrofil ve makrofaj infiltrasyonları mevcuttu (Figür 2)

### İmmunohistokimyasal bulgular

#### *Anti RSV boyamalar:*

Etkenin varlığını ispat eden anti BRSV poliklonal antikor, immunohistokimyasal boyamalarda bronş, bronşiol epitelleri ve lümenlerindeki epitel döküntüleri içerisinde, ayrıca makrofaj ve lenfosit sitoplazmalarında immuno-pozitif alanlar olarak belirgindi. Bazı alanlarda bronşiol ve alveol lümenlerinde ince bir film tabaka halinde immuno-pozitif alanların varlığı tespit edildi. Alveol lümenlerindeki yangısal eksudat, hücre döküntüleri, makrofaj ve lenfosit sitoplazmaları ile sinsityal hücre formasyonlarında da yoğun immunopozitif alanlar gözleendi. Bunların dışında interstisyel doku içerisinde serbest halde ve makrofaj sitoplazmaları içinde de immunopozitif alanlar belirgindi. Kontrol grubu dokularında ise pozitif boyanma saptanmadı (Figür 3).

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Sığır respiratuar sinsityal virus (BRSV) ve insan respiratuar sinsityal virus (HRSV) Paramyxoviridae ailesinin Pneumovirus grubundan RNA viruslarıdır (16). BRSV, dünyanın birçok bölgesinde genç sığırlarda oluşturduğu önemli enfeksiyonlar nedeniyle ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (12, 17). Çalışmanın materyalinin temin edildiği Burdur yöresinde de bu enfeksiyonun süt veya besi işletmelerinin önemli bir sorunu olduğu gerek daha önce yapılan serolojik çalışmalarla (8) gerekse bu çalışma ile belgelenmiştir.

BRSV enfeksiyonlarında nazal ve konjunktival akıntı ile birlikte şiddetli öksü-

rük belirgin semptomlardır. Olaya sekonder enfeksiyonların karışmasıyla bu tablo daha da ağırlaşır. 6 aylığa kadar olan buzağlarda yüksek ateş, solunum güçlüğü, yerden kalkamama, hırıltılı solunum, ağızdan köpüklü ödem sıvısının gelmesi, tedavilere zor yanıt vermesi ve enfeksiyonun hızla yayılımı önemli bulgulardandır (1, 18). Anabilim Dalımıza gelen nekropsi materyallerinde hayvan sahibinden alınan anemnez bulgularının da yukarıda bildirilen literatür bilgileriyle uyumlu olduğu dikkati çekti.

Viral kökenli pnömonilerin karakteristik bulgularından olan nekrotik bronşitis, bronşiolitis ve bronşial hiperplazi ile interstisyel dokudaki kalınlaşmalar BRSV enfeksiyonu için de geçerlidir. Ancak Parainfluenza, IBR, ortoreovirus gibi solunum sisteminin diğer viral enfeksiyonlarından bronş, bronşiol ve alveol epitellerinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimciklerinin ve hastalığa özgü sinsityal hücre formasyonlarının bulunması ile ayrılır (1, 9). Bu çalışmada akciğerlerin mikroskopik incelemesinde bronş, bronşiol epitellerinde ve tip I pnömositlerde nekroz ve deskuamasyon en belirgin bulgulardan- dı. Birçok alanda interlober, interlobuler ve interalveoler dokunun ödem ve mononükleer hücreler nedeni ile kalınlaştığı görüldü. Özellikle bronş ve bronşiol epitellerinde homojen-pembe renkli intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri sıklıkla gözleendi. Ayrıca, alveol ve bronşiol lümenlerinde çok sayıda sinsityal hücrelere rastlandı.

BRSV enfeksiyonu, sığırların enzootik pnömonisi olarak bilinen hastalığın ana etkenlerinden biridir. Virus, sitopatik etkiye ve immun sistem hücrelerinin yıkılmasına neden olarak hayvanda immun yetersizlik oluşturmakta ve sekonder bakteriyel enfeksiyonlara davetiye çıkarmaktadır. İmmun sistemin depresyonu ise ilaç tedavisinde başarısızlık ile sonuçlanmakta ve ölümcül

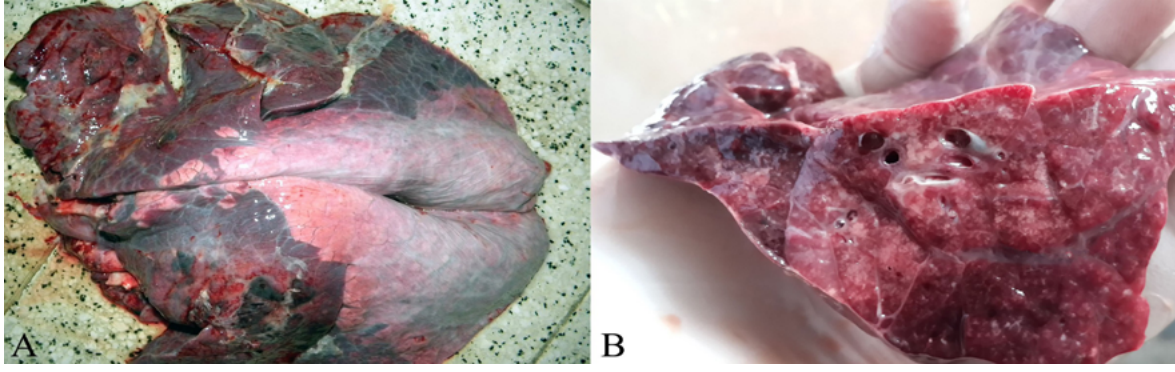
vakalarla karşılaşmaktadır. Bu tür karışık enfeksiyonların sonucunda ise interstisyel pnömoni bronkointerstisyel pnömoniye dönüşmekte ve klinik tablo daha da ağırlaşmaktadır (3, 9, 19). Çalışmada, incelenen akciğer kesitlerinde interstisyel pnömoni yanında bir çok alanda yoğun nötrofil lökosit ve bakteri kümelerinin hatta bazı kesitlerde ise fibrinli pnömoninin önemli bir göstergesi olan plöyritisin görülmesi literatür bilgilerini destekler nitelikteydi.

Hastalığıdaki ana etkenin BRSV olduğunu belgeleyen immunohistokimyasal boyamalarda bronş, bronşiol, alveol epitel ve lümenlerindeki hücre yığınaklarında, mononükleer seriden yangısal hücrelerin sitoplazmalarında immuno-pozitif alanlar bulunduğu bildirilmiştir (4). Çalışma materyalini oluşturan akciğer kesitlerinde de yapılan immunohistokimyasal boyamalarda hem lezyonlu bölgeler (bronş, bronşiol ve alveol epitelleri), hem de alt solunum yolları lümenlerindeki hücre döküntüleri ve yangısal hücrelerde immunopozitif alanlara rastlandı. Bununla birlikte bronş ve bronşiolde gözlenen hiperplastik epitel hücrelerinde de immunopozitif boyanmalar mevcuttu.

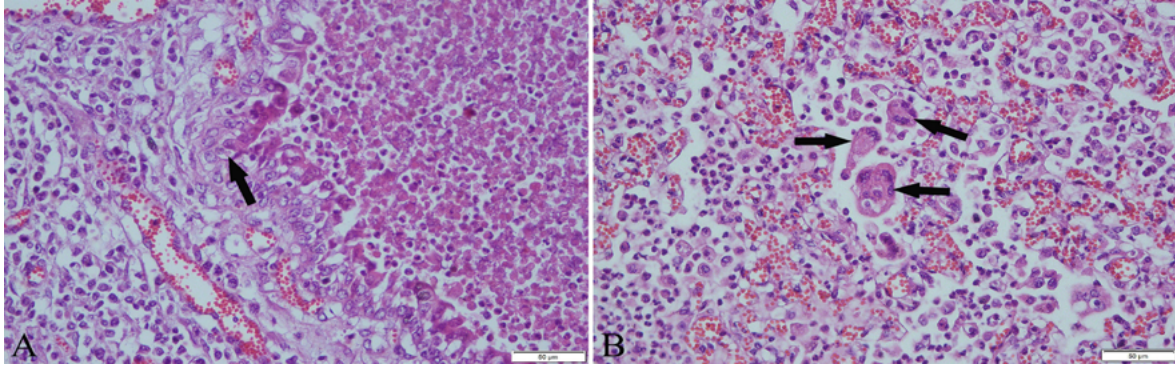
Hastağın viral kökeninden dolayı kemotaktik yanıt oluşmamakta ve immun yanıt geliştikten sonra iyileşme süreci başlamaktadır. Hastalıkta sekonder bakteriyel enfeksiyonların işe karışması akut nötrofilik yanıtın erken başlamasına ve hastalığın şiddetinin artmasına neden olmaktadır. Ancak çeşitli kemotaktik ajanların uyarılarak lezyonlu dokuların ve etkenlerin opsonizasyonunun sağlanması (20-23) ve virusla enfekte hücrelerin şiddetli yangı nedeniyle yıkımlanarak enfekte epitellerin temizlenmesi konularında daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Hastalıkta immun sistemi aktive edici ve solunum yollarını tıkayan ödem ve fibrin çıkışını baskılayıcı ilaçların beraber kullanımının sekonder enfeksiyonlar konusunda

hastalığıdaki tedavi yaklaşımlarını avantajlı duruma getirebileceği düşüncesi için ileri düzeyde araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

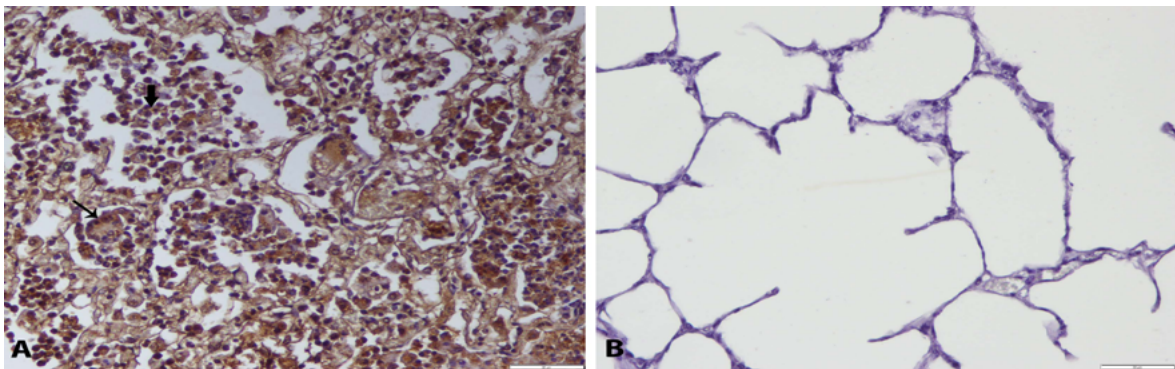
Sonuç olarak, sunulan çalışma ile Burdur bölgesindeki pnömonili buzağılarda BRSV enfeksiyonunun önemi ve patolojik bulguları detaylı olarak incelenip irdelenmiştir. Hastalık her yıl birçok işletmede ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bilinçli ve profesyonel işletmeler hastalığa karşı geliştirilen aşı uygulamalarını kullanarak bu hastalıktan minimal seviyede etkilenmektedir. Ancak halen ilimizde çok sayıda küçük işletme bulunmakta ve bunların da BRSV enfeksiyonu konusunda yeterli bilgisi bulunmamaktadır. Hastalığıdaki patogenetik mekanizmaların açığa çıkarılarak daha iyi anlaşılması ve bunun ışığında üretilecek yeni tedavi ve koruma yaklaşımları enfeksiyona maruz kalan işletmelerde ölüm oranını ve ekonomik kayıpları önemli ölçüde azaltacaktır. Bu çalışma Burdur ili'ndeki BRSV enfeksiyonları konusunda farkındalığı ortaya çıkaracak ve bundan sonra yapılacak çalışmalara ışık tutacak niteliktedir.



**Figür 1.** Akciğer, buzağı; A. Kranial loblarda konsolide alanlar, B. Konsolide alanların kesit yüzünün görüntüsü.



**Figür 2.** Akciğer, buzağı, interstisyel pnömoni (BRSV); A. Şiddetli nekrotik bronşiolitis ve intrasitoplazmik inklüzyon cisimciği (Ok), HE, bar: 50 µm, B. Alveol lümenlerinde yangısal hücre infiltrasyonları ve sinsityal hücre formasyonları (Oklar), HE, bar: 50 µm.



**Figür 3.** Akciğer, buzağı, bronko-interstisyel pnömoni; A. Alveol lümenlerinde fagositik hücre sitoplazmalarında (kalın ok) ve sinsityal hücre formasyonlarında (ince ok) immuno-pozitif boyanmalar, ABC-P, bar: 50 µm, B. Kontrol, normal akciğer dokusunun histolojik dokusu, ABC-P, bar: 50 µm.

**KAYNAKLAR**

1. Caswett JL Williams KJ. Respiratory system: Infectious disease of the respiratory system, In Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animal, Volume 3. 5th edition. Edit. Maxie MG. Elsevier Saunders, Edinburgh; pp: 596-598, 2006.
2. McIntosh KR Chanock M. Respiratory syncytial virus, in: Virology, eds. Fields, B. M. & D. M. Knipe, 2nd edn, Raven Press, New York; pp. 1045-1072, 1990.
3. Ellis JA Philbert H West K Clark E Martin K Haines DM. Fatal pneumonia in adult dairy cattle associated with active infection with bovine respiratory syncytial virus, Can VetJ. 1996; 37: 103-105.
4. Flores EF Weiblen R Medeiros Botton MSA Irigoyen LF Driemeier D Schuch LF Morales MA. Retrospective search for bovine respiratory syncytial virus (BRSV) antigens in histological specimens by immunofluorescence and immunohistochemistry, Pesq Vet Bras. 2000; 20(4): 139-143.
5. Çabalar M Şahna KC. Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Süt Sığırlarında Parainfluenza Virus-3, Bovine Herpes Virus-1 ve Respiratory Syncytial Virus Enfeksiyonlarının Seroepidemiolojisi, Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg. 2000; 11(2): 101-105.
6. Duman R Yavru S Kale M Avcı O. Seroprevalence of viral upper respiratory infections in dairy cattle. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2009; 15: 539-542.
7. Yıldırım Y Yılmaz V Majorashin ARF. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Sınır İllerinde Bulunan Sığırlarda Viral Solunum Sistemi Enfeksiyonlarının Seroprevalansı, Kafkas Univ Vet Fak Derg 2009; 15(4): 601-606.
8. Kale M Oztürk D Hasırcıoğlu S Pehlivanoglu F Turutoglu H. Some Viral and Bacterial Respiratory Tract Infections Of Dairy Cattle During the Summer Season, Acta Veterinaria (Beograd), 2013; 63 (2): 227-236.
9. Hagglund S Svensson C Emanuelson U Valarcher JF Alenius S. Dynamics of virus infections involved in the bovine respiratory disease complex in Swedish dairy herds. Vet J. 2006; 172(2): 320-8.
10. Tripp RA. Pathogenesis of respiratory syncytial virus infection. Viral Immunology, 2004; 17: 165-181.
11. Leung AKC Kellner JD Davies HD. Respiratory syncytial virus bronchiolitis. Journal of the National Medical Association, 2005; 97: 1708-1713.
12. Baker JC Frey ML. Bovine respiratory syncytial virus, Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 1985; 1: 259-275.
13. Philippou S Otto P Reinhold P Elschner M Streckert HJ. Respiratory syncytial virus-induced chronic bronchiolitis in experimentally infected calves. Virchows Arch. 2000; 436: 617-621.
14. Viuff B Uttenthal A Tegtmeier C Alexandersen S. Sites of replication of bovine respiratory syncytial virus in naturally infected calves as determined by in situ hybridization. Vet Pathol. 1996; 33: 383-390.
15. Viuff B Tjørnehoj K Larsen LE Rontved CM Uttenthal A Ronsholt L Alexandersen S. Replication and clearance of respiratory syncytial virus: apoptosis is an important pathway of virus clearance after experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. Am J Pathol. 2002; 161: 2195-2207.
16. Pringle CR. Virus taxonomy – a bulletin from the Xth International Congress of Virology in Jerusalem. Arch Virol. 1996; 141: 2251-2256.
17. Stott E Taylor G. Respiratory syncytial virus: a brief review, Arch. Virol. 1995; 84:1-52.
18. Van der Fels-Klerx HJ Martin SW Nielen M Huirne RBM. Effects on productivity and risk factors of bovine respiratory disease in dairy heifers; a review for the Netherlands. Neth J Agr Sci 2002; 50: 27-45.
19. Stott E Thomas L Collins A Crouch S

Jebbet J Smith G Luther P Caswell R. A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease, *J. Hyg. (Lond.)* 1980; 85: 257-270.

20. Hamvas A. Inherited Surfactant Protein-B Deficiency and Surfactant Protein-C Associated Disease: Clinical Features and Evaluation, *Semin Perinatol.* 2006; 30(6): 316-26.

21. Jack DL Klein NJ. Mannose-binding lectin: targeting the microbial world for complementMalcolm W. Turner attack and opsonophagocytosis. *Immunological Reviews.* 2001; 180: 86-99.

22. Laad AD Thomas ML Fakih AR, Chip-lunkar SV. Human gamma delta T ce lls recognize heat shock protein-60 on oral tumor cells, *Int J Cancer.* 1999; 80 (5): 709-714.

23. Xiong H Pamer EG. Monocytes and infection: Modulator, messenger and effector. *Immunobiology.* 2015; 220: 210-214.