

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI



HATAY İLİNDE HALK ELİNDE YETİŞTİRİLEN MANDALARDA SIĞIRLARIN
RESPIRATORİK SİNSİTYAL VİRUS (BRSV) VE PARAINFLUENZA VİRUS TİP 3
(BPIV-3) ENFEKSİYONLARININ PREVALANSI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet Alpay DEMİRAL

Danışman

Prof. Dr. Veysel Soydal ATASEVEN

HATAY-2024

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI

**HATAY İLİNDE HALK ELİNDE YETİŞTİRİLEN MANDALARDA SIĞIRLARIN
RESPIRATORİK SİNSİTYAL VİRUS (BRSV) VE PARAINFLUENZA VİRUS TİP 3
(BPIV-3) ENFEKSİYONLARININ PREVALANSI**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet Alpay DEMİRAL

Danışman

Prof. Dr. Veysel Soydal ATASEVEN

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 22.YL.002 proje numarasıyla desteklenmiştir.

HATAY-2024

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI

**HATAY İLİNDE HALK ELİNDE YETİŞTİRİLEN MANDALARDA
SİĞİRLARIN RESPIRATORİK SİNSİTYAL VİRUS (BRV) VE
PARAİNFLUENZA VİRUS TİP 3 (BPIV-3) ENFEKSİYONLARININ
PREVALANSI**

Yüksek Lisans Tezi
Mehmet Alpay DEMİRAL

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 18/01/2024 günü çevrimiçi olarak yapılan tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof.Dr. Yakup YILDIRIM
Üye: Prof.Dr. Veysel Soydal ATASEVEN
Üye: Doç.Dr. Fırat DOĞAN

Bu tez, Enstitümüz Viroloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

...../...../2024
Prof.Dr.İbrahim Halil ÇERÇİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Lisans ve lisansüstü öğretim hayatımda bilgisini, desteğini ve tezimin yazım aŐamalarında özverisini esirgemeyen tez danışmanım Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Veysel Soydal ATASEVEN'e, eğitimim süresince ilgisini esirgemeyen değerli hocam Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr.Fırat DOĞAN'a, tezimin istatistiksel verileri için değerli zamanını ayıran Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr.Öğretim Üyesi Ufuk KAYA'ya teŐekkürü borç biliyor, saygı, sevgi ve Őükranlarımı sunuyorum.

Hayatım boyunca sevgilerini ve karŐılıksız desteklerini esirgemeyen Sevgili annem İkbal'e ve babam Mehmet Fatih'e sonsuz minnet, saygı ve sevgilerimi sunuyorum.

Bu tez projesi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 22.YL.002 proje numarasıyla desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV-V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2-17
2.1. Pneumoviridae ve Paramyxoviridae Ailelerinin Yapısal Özellikleri	2
2.1.1. Sığır Respiratorik Sinsityal Virusunun (BRSV) Etiyolojisi	3-4
2.1.2. Sığır Parainfluenza Tip-3 Virusunun (BPIV-3) Etiyolojisi.....	5-6
2.2. Epidemiyoloji	6-10
2.2.1. BRSV Epidemiyolojisi	6-8
2.2.2. BPIV-3 Epidemiyolojisi	8-10
2.3. Klinik Görünüm ve Patogenez.....	10-12
2.4. Tanı.....	12-13
2.5. İmmünoloji.....	13-14
2.6. Korunma ve Mücadele.....	14-17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18-23
3.1. Gereç.	18
3.1.1. Hayvan Materyali	18
3.2. Yöntem.....	19-23
3.2.1. Kan Örneklerinin Hazırlanması.....	19
3.2.1.1. Kan Serum Örnekleri.....	19
3.2.1.2. Antikoagulanlı Kan Örnekleri	19
3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	19
3.2.2.1. Viral Nükleik Asit Ekstraksiyonu.....	19-20
3.2.2.2. Reverz Transkripsiyon: Komplementer Deoksiribonükleik asit (cDNA)	20
3.2.2.3. BRSV İçin Viral Nükleik Asit Amplifikasyonu.....	20-21
3.2.2.4. BPIV3 İçin Viral Nükleik Asit Amplifikasyonu.....	21

3.2.3.Serolojik Analizler.....	21
3.2.3.1.BRSV Spesifik Antikor Tespiti İçin İndirekt ELISA.....	21
3.2.3.2.BPIV-3 Spesifik Antikor Tespiti İçin İndirekt ELISA.....	22-23
3.2.3.İstatistiksel Analizler.....	23
4.BULGULAR	24-26
4.1. PCR Bulguları	24
4.2. Serolojik Analiz Bulguları	24
4.2.1. BPIV-3 Antikor Varlığı.....	24
4.2.2.BRSV Antikor Varlığı.....	24
4.3.İstatistiksel Bulgular.....	26
5.TARTIŞMA.....	27-33
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	34
7.KAYNAKLAR.....	35-40
ÖZGEÇMİŞ.....	41
EKLER.....	42-43
EK-1 HADYEK KARARI.....	42
EK-2 ETİK BEYAN	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1.1.Manda örneklerinin işletme tipi, yaş ve cinsiyete göre dağılımı.....	18
Çizelge 3.2.3.1 BPIV-3 indirekt ELISA değerlendirme ve seropozitivite formülü.....	22
Çizelge 3.2.3.2. BRSV indirekt ELISA sonuçlarının değerlendirme formülü.....	23
Çizelge 4.2.1a.BRSV ve BPIV-3 spesifik antikorları yönünden seropozitif hayvan sayısı.....	25
Çizelge 4.2.1b.İşletme tipi, yaş ve cinsiyet gruplarının istatistiksel değerlendirilmesi.....	25
Çizelge 4.2.1c.Yaş gruplarına göre BPIV-3 seropozitivite düzeylerinin dağılımı.....	26



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- bp : Baz Çifti
BRD : Bovine Respiratory Disease
cp : Sitopatojen
cDNA : Komplementer DNA
DNA : Deoksiribonükleik asit
dNTP : Deoksinükleotittrifosfat
EDTA : Etilendiamin Tetraasetik Asit
ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ICTV : Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi
MgCl₂ : Magnezyum Klorür
MDBK : Madin-Darby Bovine Kidney
NK: Negatif Kontrol
mL : Mililitre
mM : Milimolar
nm : Nanometre
OD : Optik Dansite
OIE : Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü
PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH : Asidite
PK: Pozitif Kontrol
PBS : Tamponlanmış Fosfat Solüsyonu
RNA : Ribonükleik asit
ÜSY: Üst Solunum Yolu
TBE: Tris Boric Acid-Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid
µL : Mikrolitre
µg : Mikrogram

ÖZET

Hatay İlinde Halk Elinde Yetiştirilen Mandalarda Sığırların Respiratorik Sinsityal Virus (BRSV) ve Parainfluenza Virus Tip 3 (BPIV-3) Enfeksiyonlarının Prevalansı

BRSV ve BPIV-3 enfeksiyonlarının prevalanslarının belirlenmesinin amaçlandığı bu araştırmada, Hatay ilinin Kırıkhan ilçesinde halk elinde yetiştirilen manda popülasyonundaki 150 adet mandadan kan örnekleri toplandı. Örneklenen mandaların %88'inde BPIV-3 ve %4'ünde BRSV seropozitivitesi belirlendi. BPIV-3 seroprevalansı hayvan bazında %88; işletme düzeyinde ise %33,3-100 olmasına karşın BRSV seroprevalansı hayvan bazında %4; işletme düzeyinde ise %3,7-30 arasındaydı. Araştırmada, BPIV-3 ve BRSV nükleik asitleri saptanamadı. Yapılan çalışmanın sonucu olarak, örneklenen manda popülasyonunda BPIV-3 enfeksiyonun yüksek, BRSV enfeksiyonunun ise düşük seroprevalansa sahip olduğu gösterilmiştir. Ülkemizde mandalarda BRSV ve BPIV-3 enfeksiyonlarının epidemiyolojisinin açıklığa kavuşturulabilmesi için geniş boyutlu epidemiyolojik araştırmalar önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Manda, PCR, Seroloji, Sığır respiratorik sinsityal virusu (BRSV), Sığır parainfluenza virus tip 3 (BPIV-3).

ABSTRACT

Prevalence of Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) and Bovine Parainfluenza Virus Type 3 (BPIV-3) Infections in Privately Owned Water Buffaloes in Hatay province

In this study, which aimed to determine the prevalence of BRSV and BPIV-3 infections, a total of 150 blood samples were collected from privately owned water buffaloes in the Kırıkhan district of Hatay province. BPIV-3 seroprevalence was 88% per animal and 33.3-100% at the herd level; BRSV seroprevalence was 4% per animal and 3.7-30% at the herd level. In the study, BPIV-3 and BRSV nucleic acids were not detected. The findings showed that BPIV-3 infection had a high seroprevalence and BRSV infection had a low seroprevalence in water buffaloes tested, and the large-scale epidemiological studies are required to clarify the epidemiology of BRSV and BPIV-3 infections in water buffaloes in Türkiye.

Keywords: Water buffalo, PCR, Serology, Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Bovine Parainfluenza Virus Type 3 (BPIV-3).

1. GİRİŞ

Sığırların solunum sistemi hastalıkları (BRD) kompleksi; virus, bakteri ve mikoplazmal mikroorganizmaları içeren multifaktöriyel bir hastalık oluşumudur. BRD kompleksinin viral (BRSV, BPIV-3, BVDV, BHV-1) ve bakteriyel (*Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* ve *Mycoplasma bovis* vd.) patojenleri milyonlarca yıldır konakçılarıyla birlikte evrimleşmiştir. Bu patojenler, hem doğal hem de kazanılmış konakçı immün yanıtından korunmak için karmaşık mekanizmalar geliştirmişlerdir (Srikumaran ve ark. 2008). Sığır respiratorik sinsityal virus (BRSV) ve parainfluenza virus tip 3 (BPIV3) enfeksiyonları, dünya çapında sığırcılık endüstrisini ekonomik olarak etkileyen “Sığırların Solunum Sistemi Hastalıkları Kompleksi (BRD)” nin etiyojisinde rol oynayan viral ajanlar arasındaki önemli patojenlerdir. Tedavi maliyetlerine ve hayvan kaybına ek olarak enfeksiyonların neden olduğu buzağı ölümleri, yangıya bağlı büyümede yavaşlama ve süt veriminin azalması üretime yansıyan direk etkileridir (Lefverman 2018).

BRSV ve BPIV-3 enfeksiyonları en sık sonbahar ve kış aylarında ortaya çıkar (Valarcher ve ark. 2001). Solunum yoluyla yayılan viruslar solunum yollarının direncini azaltabilir ve hayvanı sekonder enfeksiyonlara karşı duyarlı hale getirebilir (Srikumaran ve ark. 2008). Bu nedenle, akut üst solunum yolu enfeksiyonu tablosu ile başlayan enfeksiyon diğer viral veya bakteriyel etkenlerin komplike olmasıyla genellikle ölüme yol açabilen alt solunum yolu enfeksiyonlarına evrilir. Her iki enfeksiyonda, doğrudan ve dolaylı olarak solunum yoluyla bulaşır ve sürü içi ya da sürüler arasında yayılım genellikle hızlıdır (Solis-Calderon ve ark. 2007). Bu nedenle, enfeksiyonların bulaşıcı doğası, hayvan refahına ve ekonomik olarak işletmeye ciddi etkisi ile birlikte etkili koruyucu tedbirlerin alınmasını gerektirmektedir.

Bu araştırmada, Hatay ilinde halk elinde aile tipi yetiştiricilik yapılan manda işletmelerinde BRSV ve BPIV-3 enfeksiyonlarının prevalansının araştırılması amaçlanmıştır. Dünyada ve ülkemizde farklı bir ruminant türü olan mandalarda her iki enfeksiyonun prevalansının araştırıldığı sınırlı sayıda araştırma bulunması nedeniyle bu araştırmanın ulusal ve uluslararası düzeyde bilimsel literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

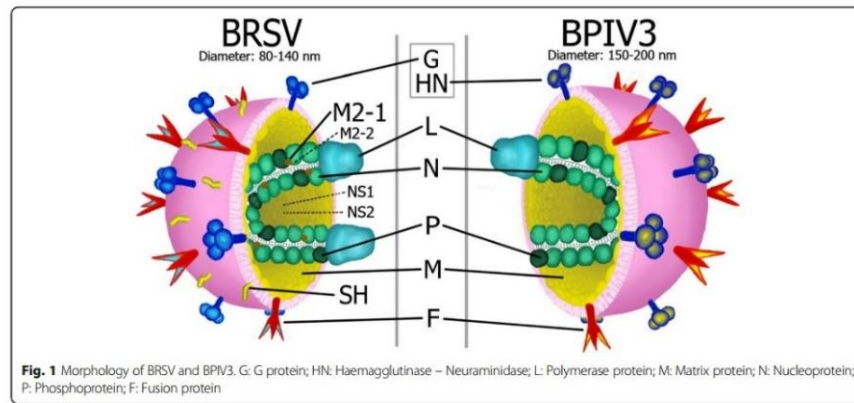
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pneumoviridae ve Paramyxoviridae Ailelerinin Yapısal Özellikleri (Genel Etiyoloji)

Pneumoviridae ailesi, zarflı ve negatif anlamlı RNA viruslarının yer aldığı bir virus ailesidir. Bu aile, 2016 yılına kadar *Paramyxoviridae* ailesi içinde bir alt aile olarak sınıflandırılmıştı. Metapneumoviruslar memeliler veya kanatlılar için özgülken, İnsan (HRSV) ve sığır respiratorik sinsityal viruslarının (BRSV) da yer aldığı *Orthopneumovirus* cinsinin üyeleri memelileri enfekte etmektedir. Bu ailedeki virüslerde bulaşma birincil olarak aerosol yolla gerçekleşmektedir (ICTV 2017). BRSV, *Orthopneumovirus* cinsi içinde sınıflandırılmasından dolayı sığır orthopneumovirusu olarak da adlandırılmaktadır (Makoschey ve ark. 2021).

Sığır parainfluenza virus tip 3 (BPIV-3)'ün yer aldığı *Paramyxoviridae* ailesi, memelileri ve kanatlıların yanı sıra sürüngenleri ve balıkları da enfekte edebilen büyük, zarflı RNA viruslarını içermektedir. Birçok paramyxovirus konak özgüdür. Bulaşma özellikle doğrudan temas ve aerosol yolla olmak üzere genellikle horizontaldir (Murphy ve ark. 1999; ICTV 2019). BPIV-3, *Paramyxoviridae* ailesinin *Respirovirus* cinsi içinde sınıflandırılmıştır (ICTV 2019).

Her iki ailede de virionlar donma-çözülme, ısı, lipid çözücüler, iyonik ve iyonik olmayan deterjanlar, formaldehit ve oksitleyici maddelere karşı duyarlıdır (ICTV 2017).



Şekil 1. BRSV ve BPIV-3 virionlarının şematik görünümünü (Makoschey ve ark. 2021).

2.1.1.Sığır Respiratorik Sinsityal Virusunun (BRSV) Etiyolojisi

Pneumoviridae ailesindeki virionlar, tek sarmallı, negatif anlamlı bir viral RNA genomunu içerir. Pneumovirus genomu 4.8-250 kDa'lık 9-11 proteini kodlar. Yalnızca ribonükleoprotein (RNP) formunda bulaşıcıdır, ancak negatif anlamlı bir RNA virusu olarak replikasyon ve transkripsiyonu başlatabilmesi için P ve L proteinlerinin varlığı gereklidir. Bu ailedeki virionlar, nükleokapsidi çevreleyen bir lipid yapıda zarfa sahiptir. Zarf, tomurcuklanma yoluyla doğrudan konak hücre plazma membranından elde edilir ve üç transmembran viral glikoprotein içerir (ICTV 2017). Bunlar, füzyon proteini (F), büyük glikoprotein (G), ve küçük hidrofobik proteindir (SH). Zarf, nükleoprotein (N), fosfoprotein (P), viral RNA bağımlı polimeraz protein (L) ve ortalama 15000 nükleotidlik bir RNA genomundan oluşan helikal bir nükleokapsit ile çevrelenir (Valarcher ve Taylor 2007). Lipid zarfın altında, glikosillenmemiş bir zar veya matriks protein (M) tabakası bulunur ve bunun altında, ikinci bir glikosillenmemiş zar veya matriks proteininden (M2-1) oluşan ikinci bir tabaka bulunur. M2-1 proteini aileye özgüdür (ICTV 2017). Pneumoviruslardaki G proteini ile paramyxoviruslardaki HN proteini aynı işleve sahiptir ancak G proteininin hemagglütinasyon özelliği bulunmamaktadır (Toker 2019).

BRSV virionlarının morfolojik olarak 35-150 nm arasında değişen bir çapa sahip pleomorfik görünümde ya da 60 ila 100 nm arasında bir çapta 5 nm filamentöz bir yapıda iki farklı görünümde olabilmektedir (Valarcher ve Taylor 2007). BRSV, füzyon (F) proteininin aracılık ettiği bir süreç olan hücre plazma membranı ile viral zarfın füzyonu ile hücreye girer. Virus replikasyonu hücre sitoplazmasında meydana gelir (ICTV 2017). F proteini, yüksek oranda korunmuş tip I transmembran glikoprotein trimeridir. 5 N-bağlı glikanların eklenmesiyle modifiye edildiği ER'de F₀ öncüsü olarak üretilir. Golgi aygıtından geçiş sırasında bu glikanlar olgunlaşır ve F₀ proteini bölünerek füzyon işlevini etkinleştirir. Proteinin transmembran kısmı F₁, iki disülfid bağıyla F₂'ye bağlanır. Diğer birçok tip I viral füzyon proteini gibi pneumovirus F proteini bir homotrimerdir ve ortomyxoviruslardaki gibi her bir monomer furin benzeri bir proteaz ile proteolitik bölünme aracılığıyla aktive edilir. Bununla birlikte, *Pneumoviridae* ailesinde yer alan diğer viruslardaki F proteinlerinin aksine RSV F proteini pep27 olarak bilinen 27 amino asitlik bir peptidi serbest bırakan iki bölgede bölünür. Bölünmeyi takiben F monomerleri fonksiyonel trimerler halinde birleşir. İnsan RSV'sinin pep27'sinin bilinen bir işlevi yoktur, ancak BRSV pep27'si taşımasının benzeri bir peptit olarak işlev görerek düz kas kasılmasını teşvik ettiği ve muhtemelen diğer proinflamatuvar yanıtlara aracılık ettiği de düşünülmektedir. (King ve ark. 2021).

G glikoproteini, RSV'nin birincil bağlanma proteini. Ser, Thr ve Pro bakımından zengin ve glikanların eklenmesiyle yüksek oranda modifiye tip II transmembran proteini. Başlangıçta G proteini moleküler ağırlığı 32 kDa'dır ancak hücrelerdeki son formu 90-100 kDa'dır. İlk modifikasyonlar olan palmitilasyon ve N-bağlı glikosilasyon endoplazmik retikulumda translasyon sırasında meydana gelir ve 45 kDa'lık bir ürünle sonuçlanır. Palmitilasyon, sitoplazmik N-terminal alanı içindeki sisteinleri değiştirirken, N-bağlı glikozilasyon, ektodomainin iki hiper değişken müsin benzeri bölgesinde meydana gelir. Golgi aparatına girdikten sonra bu müsin benzeri bölgelere O-bağlı glikanlar eklenir, bu da tamamen glikozile edilmiş bir 90-100 kDa glikoprotein ile sonuçlanır. Son olarak, G proteini tomurcuklanan virionlara dahil edildiği plazma zarına ulaşır (King ve ark. 2021). Viral zarf ve hücre zarının füzyonunu takiben, ribonükleoprotein (RNP) kompleksi sitoplazmaya salınır ve viral RNA'nın polimeraz tarafından transkripsiyonu başlar. Transkripsiyon, subgenomik RNA üreten sıralı bir başlatma-durdurma mekanizması içerir. Her mRNA kodlama birimini çevreleyen kısa korunmuş sinyaller, bir transkripsiyon geni başlangıç (GB) ve sonlandırma/poliadenilasyon gen sonu (GS) sinyali tarafından yönlendirilir. Promotör-proksimal genlerin aşağı regülasyon genlerinden daha sık kopyalandığı bir polar transkripsiyon gradyanı vardır. RNA replikasyon polimerazı, negatif iplikli genomik RNA'yı kopyalamak için bir kalıp görevi gören pozitif anlamlı replikatif bir ara ürünün senteziyle sonuçlanan bir okuma moduna geçtiğinde meydana gelir. (Valarcher ve Taylor 2007). Polimeraz daha sonra 1-52 nt uzunluğunda intergenik bölgeyi (İB) tarar. Polimeraz moleküllerinin bazıları, İB'yi geçerken serbest kalır ve sonraki her bir gen için azaltılmış gen ekspresyonu gradyanı oluşturur (King ve ark. 2021). Hem genomik hem de antijenomik RNA paketlenir. Nükleokapsidler sitoplazmada toplanır ve daha sonra M proteini ile birlikte viral glikoproteinlerin bulunduğu hücre zarına doğru göç eder. Viral tomurcuklanma, doğrudan hücre zarının yüzeyinde veya sitoplazmik veziküllerde meydana gelebilir. HRSV tomurcuklanması polarize solunum yolu epitel hücrelerinin apikal yüzeyde meydana gelir ve bu durum in vitro olarak polarize sığır solunum yolu epitel hücrelerinin BRSV enfeksiyonunda da görülmektedir (Valarcher ve Taylor 2007).

F ve G proteinlerine karşı monoklonal antikor ve poliklonal antikor serum analizlerine dayalı olarak BRSV alt grupları tanımlanmıştır. F, G ve nükleoprotein dizileri filogenetik olarak maksimum olasılık (maksimum benzerlik sınıflandırması) algoritmaları ile analiz edilerek I-IX'a kadar 9 alt grup belirlenmiştir (Timurkan ve ark. 2019; Zhou ve ark. 2023).

2.1.2.Sığır Parainfluenza Tip 3 Virusunun (BPIV-3) Etiyolojisi

Paramyxoviridae ailesindeki virionların çapı 150 nm'den 500 nm'ye kadar değişen büyüklüğe sahip ve pleomorfik görünümündedir. Nükleokapsid helikal simetriye sahiptir ve nükleokapsidi çevreleyen bir lipit zarftan oluşur. Tomurcuklanma yoluyla doğrudan konakçı hücre plazma membranından köken alan zarf iki transmembran glikoproteini içerir. Peplomerler, hemaglutinin-nöraminidaz proteini (HN) (pneumoviruslardaki nöraminidaz aktivitesinden yoksun olan G proteininin eşdeğeridir) ve bir füzyon proteini (F) olmak üzere iki glikoproteinden oluşur. Her iki protein de tüm paramiksovirus enfeksiyonlarının patogeneğinde anahtar rol oynar (Murphy ve ark. 1999). Bunlar homo-oligomerler olarak 8–12 nm uzunluğunda, 7–10 nm aralığında sivri uçlu çıkıntılar şeklindedir. Ayrıca, cinse bağlı olarak bir veya iki ek transmembran proteini mevcut olabilir (ICTV 2019).

BPIV-3, dokuz proteini kodlayan 6 gen (N-P-M-F-HN-L) içeren 15.456 nükleotidden oluşan tek sarmallı, negatif anlamlı RNA genomuna sahiptir. P ve L proteinleri, ister N proteini ile ilişkili ister sitoplazmada serbest olsun, her zaman bir kompleks içinde bulunur ve viral mRNA'nın transkripsiyonu ve genomik RNA'nın replikasyonu için gerekli olan viral RNA polimerazını içerir. Korunmuş, glikolize edilmemiş matriks proteini (M) enfekte bir hücrede en bol bulunan viral proteindir. Zarfın iç yüzünde bulunur ve virusun oluşumu, tomurcuklanması ve projeni virionlarının hücreden salınması için gereklidir (Ellis 2010). F proteini, virion disülfide bağlı F ve F alt birimlerini üretmek için hücresel proteazlar tarafından bölünmenin ardından aktive olan bir öncü (F) olarak enfekte hücreler içinde sentezlenir. Ayrıca virusa bağlı olarak yapısal veya yapısal olmayan çinko'yu (Zn) (V) bağlayan sistein açısından zengin yapısal olmayan proteinleri (C), küçük bir integral membran proteinini (SH) ve transmembran proteinlerini (tM) kodlar. Virion enzim aktiviteleri, RNA'ya bağımlı RNA polimerazı ve L proteininde fonksiyonel olarak kodlanan mRNA guanilil- ve metiltransferazları içerir (ICTV 2019).

Virusun hücreye bağlanarak enfeksiyonun başlatılmasına hemaglutinin-nöraminidaz (HN) glikoproteini aracılık eder. Bu glikoprotein, aynı zamanda virusa özgül nötralize edici antikorları da indükler. Füzyon proteini, bir hücresel proteaz tarafından proteolitik bölünme ile aktive edilen aktif olmayan bir öncü formda yeni oluşturulmuş virionlarda bulunur. Füzyon proteininin bölünmesi viral enfektivite için esastır. Ayrıca, virulanz spesifik amino asit proteaz tanıma motiflerinin varlığı veya yokluğu ile ilişkilendirilmiştir. Füzyon proteini, viral enfektivite ve füzyon yoluyla doğrudan hücreden hücreye yayılma için gerekli

olduğundan paramiksovirus enfeksiyonlarının patogeneğinde anahtar rol oynar. Paramiksovirus aşuları maksimum etki için hemaglutinin-nöraminidaz proteininin yanı sıra füzyon proteinine karşı da antikor oluşturabilmelidir (Murphy ve ark. 1999).

Bugüne kadar filogenetik analize dayalı olarak, BPIV-3a, BPIV-3b ve BPIV-3c olarak adlandırılan üç BPIV-3 genotipi tanımlanmıştır (Albayrak ve ark. 2019).

2.2.Epidemiyoloji

2.2.1.BRSV Epidemiyolojisi

Sığırlar, enfeksiyonun ana rezervuarıdır; ancak koyunlar da enfekte olabilir (Sarmiento-Silva ve ark. 2012). Sığırlar BRSV'nin doğal konakçısı olmasına rağmen, koyun, keçi, bizon, dağ keçisi veya develer gibi diğer türlerin epidemiyolojik bir rol oynaması da mümkündür (Valarcher ve Taylor 2007). Virus bulaşı, solunum yolu sekretlerinin saçılması sonucu aerosol yolla veya damlacık enfeksiyonu neticesinde gerçekleşir (Sihvonen 2021). Virusun indirekt bulaşmasında çiftlikleri ziyaret eden bireyler, giysi veya ekipman gibi fomitler de rol oynamaktadır (Sarmiento-Silva ve ark. 2012; Sihvonen 2021). Ortak meralar veya canlı hayvan ticareti ile ilişkili olarak direkt temas önemli bir bulaşma yoludur. Diğer yandan, yeni enfekte olmuş hayvanların sürüye katılmasıyla sürüler arasında bulaşma gerçekleşebilir. Salgınlar genellikle sonbahar ve kış aylarında görülür (Valarcher ve ark. 2001). Sıcaklık değişimleri, yüksek popülasyon yoğunluğu, hayvan nakli, yem değişimi vb. gibi birçok risk faktörü sığır solunum yolu hastalığı kompleksi ile ilişkili virusların ortaya çıkmasına zemin hazırlar (Solis-Calderon ve ark. 2007). Ayrıca, sürü büyüklüğü, bakım-besleme şartları, süttan kesim, üretim türü, iklim, sürüler arasındaki mesafenin kısa olması, yazın meradaki hayvanların kapalı ortama alınmaları, yabancıların işletmeyi ziyaret sıklığı gibi faktörler solunum yolu enfeksiyonlarıyla ilişkili risk faktörleri olarak gösterilmiştir (Ataseven ve ark. 2010; Sihvonen 2021). İyi sürü yönetimi uygulamaları ve sıkı hijyen rutinlerinin genel sağlık durumu üzerinde doğrudan etkisi olduğu da öne sürülmüştür (Solis-Calderon ve ark. 2007).

Süt sığırlarında BRSV enfeksiyonu sıklıkla 2 hafta ile 9 ay arasındaki genç buzağılarda görülebilir (Almeida ve ark. 2005). BRSV, 6 aylıktan küçük buzağılarda solunum yolu hastalığında yaygın bir primer patojen olarak kabul edilmekte olup, yetişkin süt sığırlarında da solunum yolu hastalığı salgınları ile ilişkili olarak rapor edilmiştir (Moore ve ark. 2015). 6 aylıktan küçük ve genellikle 2 ila 10 haftalık sığır ve mandalarda pnömoni vakaları yaygın olarak görülmektedir (Kamdi ve ark. 2020). Sürülerde re-enfeksiyonlar sık görüldüğünden subklinik enfekte yetişkin hayvanlar enfeksiyonun ana kaynağıdır. (Almeida

ve ark. 2005). İnkubasyon süresi 2 ila 5 gün arasında bildirilmektedir. Klinik belirtiler öksürük, burun akıntısı, ateş ve depresyonu içerir ve şiddetli vakalarda hayvanlarda dispne gelişebilir. Bu belirtiler sıklıkla genç hayvanlarda görülür, ancak BRSV her yaştan sığırdan hastalığa neden olabilir (Toftaker 2019).

BRSV ilk olarak 1967 yılının Şubat ayında Cenevre/İsviçre'deki solunum sistemi hastalığı bulguları gösteren düve ve buzağıdan izole edilmiştir (Paccaud ve Jacquier 1970). Sonraki yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar enfeksiyonun sığırlarda yüksek bir prevalansa sahip olduğunu göstermiştir (Valarcher ve Taylor 2007). BRSV seroprevalansı; ABD, Uruguay, Venezuela, İran, Brezilya, Meksika, Arjantin, Ekvador, Belçika ve Brezilya'da sırasıyla %65,5, %95, %85, %64,2, %75, %90,8, %78,64, %80,5, %40 ve %79,5 oranlarında bildirilmiştir (Baker ve ark. 1985; Obando ve ark. 1999; Solis-Calderon ve ark. 2007; Pardon ve ark. 2011; Roshtkhari ve ark. 2012; Saa ve ark. 2012; Ferella ve ark. 2018; Hoppe ve ark. 2018; Costa ve ark. 2000). ABD'de yetişkin sığırlarda gerçekleştirilen serolojik çalışmada %67'lik bir seropozitiflik saptanmıştır (Rossi ve ark. 1974). Norveç'te 134 süt sığırı işletmesinde iki farklı periyotta alınan kan örneklerinden indirekt ELISA testiyle ilk periyotta %34, ikinci periyotta %41 lik BRSV sürü seropozitifliği saptanmıştır. Toplamda 1189 numunenin 233'ü (%20'si) BRSV'ye karşı antikorlar bakımından pozitif bulunmuştur (Klem ve ark. 2013). Bir başka çalışmada, BRSV enfeksiyonunun endemik olarak görüldüğü bir ada ülkesi olan Yeni Zelanda'daki 272 süt sığırı işletmesinde BRSV seroprevalansının %76,47 olduğu bildirilmiştir (Motha ve Hansen 1997).

Türkiye'de BRSV enfeksiyonu hakkında yapılan bir çalışmada Burgu ve ark (1990) tarafından sığırlarda %46,12 oranında nötralizan antikor varlığı rapor edilmiştir. BRSV enfeksiyonu ile ilgili başka bir çalışmada Alkan ve ark. (1997)'ı tarafından %44,6 oranlarında seropozitiflik bulunmuştur. Bir başka çalışmada, test edilen sığır kan serumlarının %67,3'ü BRSV spesifik antikorları yönünden seropozitif bulunmuştur (Çabalar ve Can-Şahna 2000). Öner ve Yeşilbağ (2018) tarafından 6-15 ay arasındaki yaşlardaki besi sığırlarında yapılan araştırmada BRSV seroprevalansı %97,1 olarak saptanmıştır. Bu araştırmada en yüksek oran 6-8 aylıklarda (%100), en düşük seropozitiflik ise 12-15 aylık (%93,8) grupta bildirilmiştir. Türkiye'de küçük ruminantlarda yapılan seroepidemiolojik çalışmalarda bulunmaktadır. Çabalar ve Ataseven (1999) yaptıkları çalışmada Van ilinde koyunlarda %53,4 oranında seropozitiflik saptanmıştır. Güneydoğu Anadolu bölgesinde yapılan bir çalışmada sığır, koyun ve keçilerde sırasıyla %71,2, %79,7 ve %100 seroprevalans değerleri tespit edilmiştir (Kadiroğlu ve ark. 2020). Kuzeybatı Anadolu bölgesinde yapılan bir çalışmada BRSV ile

ilgili genel seroprevalans değerleri %73 olarak bildirilmiştir (Yeşilbağ ve Gungör 2008). Genel olarak Türkiye'deki sığırlarda seropozitifliğin %44,6–97,1 arasında olduğu bildirilmektedir (Kadiroğlu ve ark. 2020).

Dünyada ve ülkemizde mandalarda BRSV enfeksiyonuna yönelik sınırlı sayıda epidemiyolojik araştırma bulunmaktadır. Hindistan'ın Punjab şehrinde sığır ve mandaların karışık bulunduğu 40 sürüden alınan kan serumu örnekleriyle yapılan test sonucu BRSV seroprevalansının %47,06 olduğu tespit edilmiştir (Goswami ve ark. 2017). Başka bir çalışmada, Mısır'da mandalarda BRSV enfeksiyonunun seroprevalansı %37,5 olarak bildirilmiştir (Ahmed ve ark. 2001). Pastrana ve ark. (2022) Kolombiya'da 861 manda değerlendirilerek yapılan serolojik bir çalışmada, mandalarda tespit edilen BRSV'ye ait seroprevalans değeri %58,9 olarak bildirilmiştir. Goswami ve ark. (2016) tarafından yapılan başka bir çalışmada Kuzey Hindistan'ın Punjab bölgesinde 105 mandadan 51 inde %48,57'lik BRSV'ye ait seroprevalans değeri saptanmıştır. Türkiye'deki mandalarda yapılan çalışmada BRSV seroprevalansı %28 olarak bildirilmiştir (Akça ve ark. 2004).

Yapılan filogenetik çalışmalarla BRSV suşları 9 alt grup içinde sınıflandırılmıştır. Bazı Avrupa suşları (İngiltere ve İsviçre) alt grup I'de; Hollanda, Belçika, Fransa, Danimarka, İsveç ve Japonya'dan izole edilen suşlar alt grup II'de; ABD kaynaklı izolatlar alt grup III'de; Alt grup IV, Avrupa ve ABD suşlarını; V ve VI alt grupları sadece Fransa ve Belçika izolatlarını içermektedir. Alt grup VII daha sonraki yıllarda tespit edilmiştir ve halen sınıflandırılmamış bazı suşlar bilinmektedir (Timurkan ve ark. 2019; Zhou ve ark. 2023). Alt grup IX, Çin'de pnömonik buzağıların akciğer örneklerinden identifiye edilmiştir (Zhou ve ark. 2023). Türkiye'de solunum sistemi enfeksiyonu bulguları gösteren sığırlarda alt grup III olarak saptanmıştır (Hacıoğlu ve ark. 2019; Timurkan ve ark. 2019).

2.2.2.BPIV-3 Epidemiyolojisi

BPIV-3, sığır, keçi, koyun, deve, alpaka ve lamalar dahil olmak üzere serolojik olarak çeşitli evcil ve vahşi ruminantlarda tespit edilmiştir. Koyunlarda ve insanlarda çapraz enfeksiyonlar bildirilmiştir (Albayrak ve ark. 2019). Ilıman iklimlerde enfeksiyon en sık sonbahar ve kış aylarında ortaya çıkar ve sıklıkla diğer akut solunum yolu viral enfeksiyonları ile birlikte seyreder. Nazal akıntılar, oküler akıntılar ve damlacık enfeksiyonu yoluyla bulaşır. Bu nedenle meradan ahıra alınma, hayvan pazarlarında ve nakil sırasında kalabalık ortamlarda bulaş artar. Deneysel olarak, BPIV-3 stabildir ve enfektivitesi ortam ısısı düştüğü (6°C)

enfektivitesi artan virusun nazal sekretlerdeki bulaşıcılığı en az 3 saat olduğu bildirilmiştir. BPIV-3'ün çevresel koşullarda gerçek enfektivite süresi bilinmemektedir (Ellis 2010).

Keçilerde BPIV-3'ün yaygınlığı ve önemi daha az belgelenmiştir. Son zamanlarda, BPIV-3 benzeri virüsler, nörolojik belirtileri olan domuzlardan izole edilmiştir. Prospektif bulaşma deneylerinde domuzların intranasal enfeksiyonunu takiben hafif solunum yolu hastalığı görülse de, Minnesota ve Iowa'daki domuzlar üzerinde yapılan bir sero-taramanın negatif sonuçlarına dayanarak, bunların domuzları enfekte eden ancak enzootik bir durum oluşturamayan BPIV-3 varyantları olduğu sonucuna varılmıştır (Ellis 2010)

Solunum yoluyla yayılan diğer viruslar gibi BRSV ve BPIV-3 de solunum yollarının direncini azaltabilir ve hayvanı sekonder akciğer enfeksiyonlarına karşı duyarlı hale getirebilir. BRSV veya BPIV3 için yetişkin hayvanlar, genç hayvanlara göre daha yüksek seropozitiflik oranlarına sahiptir. Sığırlarda yaş grupları ile BRSV veya BPIV3 arasındaki ilişki yetişkin hayvanlardaki temas olasılığının yüksek oluşundan kaynaklanmaktadır (Solis-Calderon ve ark. 2007).

Virusun ilk izolasyonu Amerika Birleşik Devletleri'nde nakil ateşi saptanan sığırların nazal akıntısından gerçekleştirilmiş olup, miksovirus SF-41 olarak adlandırılmıştır. İlerleyen araştırmalarda, BPIV-3'ün dünya çapındaki sığır popülasyonlarında endemik olduğu gösterilmiştir (Ellis 2010). Venezuela'da beş farklı bölgeden sığır serum örneklerinde BPIV-3 seroprevalansının %94 olduğu tespit edilmiştir (Obando ve ark. 1999). Belçika'da sığırlardan kan serumlarında sürü düzeyinde %53,3, buzağılarda %9,4 oranlarında BPIV-3 seropozitifliği saptanmıştır (Pardon ve ark. 2011). İran'ın Khorasan Razavi ilindeki sığırlarda gerçekleştirilen serolojik araştırmada %89,5 oranında BPIV-3 seropozitifliği rapor edilmiştir (Roshtkhari ve ark. 2012). Sığırlarda ve küçük ruminantlarda BPIV-3 prevalansı üzerinde Türkiye'de yapılan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, sığırlarda enfeksiyonun seroprevalansının % 11-91,1 (Alkan ve ark. 1997; Okur Gümüşova ve ark. 2007; Yeşilbağ ve Güngör 2008; Alpay ve ark. 2014; Kadiroğlu ve ark. 2020; Akpınar ve ark. 2022); küçük ruminantlarda ise %3,3-%48 arasında olduğu rapor edilmiştir (Çabalar ve Ataseven 1999; Ataseven ve ark. 2010; Alpay ve ark. 2014; Kadiroğlu ve ark. 2020). BPIV-3 nükleik asidinin subklinik mastitisli sığırların meme dokusunda da rapor edilmiştir (Altun ve ark. 2019).

Mandaların (*Bubalus bubalis*), BPIV-3 dahil olmak üzere birçok viral enfeksiyona duyarlı olduğu bildirilmiştir. Manda sağlığı ile ilgili potansiyel enfeksiyöz ajan olan BPIV-3 sığırlara bulaşma riski nedeniyle epidemiyolojik önem taşımaktadır (Maidana ve ark. 2012).

Kamdi ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada genç sığır ve mandalarda RT-PCR testi ile BPIV-3'ün %3,69'luk bir insidansa sahip olduğu bildirilmiştir (Kamdi ve ark. 2020). Lotfi ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada 513 mandadan alınan serum örneklerinden yapılan serolojik test sonucu BPIV-3 e ait seroprevalans değeri %45,2 olarak tespit edilmiştir. Pastrana ve ark. (2022) tarafından Kolombiya'da 37 çiftlikten 861 mandada gerçekleştirdikleri bir serolojik bir çalışmada toplam popülasyonda %73,6; çiftlik düzeyinde ise %100 seroprevalans oranı rapor edilmiştir. Goswami ve ark. (2017) Hindistan'ın Punjab şehrinde süt sığırı ve manda karma yetiştiriciliğinin yapıldığı 40 adet işletmede (82 sığır ve 105 manda) BPIV-3 seroprevalansını %27,8 olarak belirlemiştir. Akça ve ark. (2004) Türkiye'de mandalarda yaptıkları çalışmada BPIV-3 seropozitiflik oranını %11 olarak bildirirken, Müftüoğlu ve ark. (2021) BPIV-3 seropozitiflik oranını sığır, keçi, koyun ve mandalarda sırasıyla %56,2; %63; %32,2 ve %26 olarak belirlemişlerdir.

Filogenetik araştırmalara göre BPIV-3 a, b ve c olmak üzere 3 genotip içinde sınıflandırılmaktadır. Genotip a, Amerika Birleşik Devletleri, Mısır, Çin ve Japonya'da izole edilmiştir. Genotip b ilk olarak Avustralya'da bildirilmiştir. Genotip c ise Çin, Güney Kore ve Japonya'da saptanmıştır (Zhu ve ark. 2011; Sobhy ve ark. 2017; Konishi ve ark. 2014; Oem ve ark. 2013; Neill ve ark. 2015; Horwood ve ark. 2008). Ayrıca, her üç genotip de Arjantin'de rapor edilmiştir (Maidana ve ark. 2012). Moleküler ve serolojik araştırmalarda Türkiye'de sirküle olduğu bildirilen BPIV3 suşlarının genotip a ve c içinde yer aldığı rapor edilmiştir (Albayrak ve ark. 2019; Timurkan ve ark. 2019; Müftüoğlu ve ark. 2021; Küçük ve Yıldırım 2022).

2.3.Klinik Görünüm ve Patogenez

BRSV enfeksiyonunda hastalık tablosu yaygın olarak 2-6 aylık buzağularda görülür, ancak ölümcül olgular duyarlı veya immünsupresif yetişkin hayvanlarda da ortaya çıkabilir. BRSV enfeksiyonunda diğer ajanların neden olduğu buzağı pnömonilerinden farklı olarak, ani başlayan taşipne ve ekspiratuar dispne veya "akciğer sönümlenmesi" olmasıdır. Enfeksiyonu takibeden 3.günden itibaren ateş ($\geq 40^{\circ}\text{C}$), anoreksi, öksürük ve burun akıntısı ile karakterize bulgular dikkati çeker (Ellis 2013a).

BRSV, pulmoner parankim de dahil olmak üzere solunum yollarındaki çeşitli siliyer ve siliyer olmayan epitel hücrelerinde çoğalabilir. BPIV3'ün aksine, BRSV in vitro veya in vivo olarak pulmoner alveolar makrofajları (PAM) enfekte etmemesine karşın sürfaktan üreten hücreleri enfekte edebilmektedir (Ellis 2013a). BRSV'nin patolojik etkisinin enfekte

hücrelerin lizisinin yol açtığı üst solunum yolundan alt solunum yoluna ilerleyen hücre kaybı ve pulmoner parankimde (tip I ve tip II pnömositler) apoptotik mekanizmalar ile şekillenen hasar neticesinde oluştuğu bildirilmiştir (Michel ve ark. 2008). Füzyon proteininin F₂ alt birimi, in vivo ve in vitro olarak BRSV'ye bağlı sitopatolojinin karakteristik bir özelliği olan sinsiyeum oluşumuna aracılık eder. Füzyon proteininin translasyonu ile gelişen modifikasyon sonucunda üretilen virokinler düz kas kontraksiyonunu indükleyerek bronkospazma yol açar (Ellis 2013a).

BPIV-3 ile enfeksiyonu ise 2-8 aylık sığırlarda yaygın olarak görülür. BPIV-3 enfeksiyonu subklinik seyredebilir veya nadiren öksürük, ateş, depresyon, hiperpne, taşipne, okulonazal akıntı ve pnömoni gibi klinik bulgularla semptomatik seyredebilir (Berg ve Moreno-Lopez 2013). Enfekte sığırlar, 8 ila 10 gün boyunca nazal sekresyonlarla BPIV-3 virusunu saçabilirler (Frank 1993).

BPIV-3, nadiren tek başına şiddetli klinik bulgulara yol açar. Buna karşın, BPIV-3'ün alveolar makrofajları enfekte etmesi nedeniyle bu hücrelerin akciğer savunmasında önemli olan fagositik ve bağışıklık fonksiyonlarının baskılanması, lenfosit blastogenezinin baskılanması ve bakterilerin yıkılmasında önemli olan nötrofil fonksiyonunu bozarak konağın bağışıklığını zayıflattığı için sekonder bakteriyel pnömonilere yatkınlık oluşturabilir (Frank 1993).

Doğal enfeksiyonlarda, pnömoniden ölen buzağılarda kaudal akciğer loblarında amfizem tanımlanmıştır. Deneysel enfeksiyonlarda, hafif rinit ve trakeobronşitten hafif ila diffüz pnömoniyeye kadar değişmektedir. Bronşiyolit ve hafif bronşit, komplike olmayan primer BPIV-3 pnömonisinin başlıca histolojik lezyonlardır. Üst solunum yolunda, mono ve polinükleer hücrelerin infiltrasyonu ile epitelyal hiperplazi, metaplazi veya nekroz gözlenir. Alt solunum yollarında, virus küçük bronşlarda, bronşiyollerde ve alveollerde patolojiye neden olur. BPIV-3 enfeksiyonunun akut evrelerinde, birçok bronşiyal, bronşiyolar ve alveolar epitel hücresinde ve alveolar makrofajlarda eozinofilik intrasitoplazmik ve bazen intranükleer inklüzyon cisimcikleri gözlenir. Bronşiyolar ve alveolar duvarlarda epitelyal sinsiyeum oluşumunun bazı BPIV3 suşları ile enfeksiyonların belirgin bir özelliği olduğu ancak BRSV'ye nazaran daha az yaygın olduğu bildirilmiştir. Hafif ödemli bronşiyol duvarlarında nötrofil ve lenfosit infiltrasyonu izlenir. Alveoller atelektazik ve ödemlidir. Artan sayıda makrofaj ve nötrofil içerir. Yüksek dozda virus içeren deneysel enfeksiyonlar, tip II pnömositlerin hiperplazisine ve alveolar septumun kalınlaşmasına neden olur.

Bronşiyolar eksudanın organizasyonu fibröz kitleli bronşiolitis obliteransına yol açabilir (Berg ve Moreno-Lopez 2013).

2.4.Tanı

Respiratorik sistem enfeksiyonlarında semptomatik bulgulara bakılarak klinik tanı koymak zordur. Her iki enfeksiyonun tanısı; serolojik, virolojik ve moleküler tanı yöntemleriyle gerçekleştirilebilmektedir. Epidemiyolojik çalışmalarda, serolojik testler sıklıkla tercih edilmektedir (Ataseven 2021a).

BRSV'nun direkt tanısı amacıyla, respiratorik hastalık bulguları gösteren hayvanlardan laboratuvara antikoagulanlı kan, nazal ya da nazofarengeal sürüntü, konjunktival sürüntü ve trakeal kazıntı gönderilmelidir (Ataseven 2021a, Frank 1993, Larsen 2000; TC Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 2014a). Hücre kültüründe virus izolasyonu, virusun oldukça labil olması ve laboratuvara taşınması sırasında çoğunlukla enfeksiyözitesini kaybedebilmesi nedeniyle oldukça zordur (Frank 1993). Laboratuvara ulaştıktan sonra bile sık yapılan dondurma-çözdürme işlemleri sonrası enfeksiyözitesi kaybolabilir. Hücre kültürlerine inokulasyonundan itibaren 3 ila 7 gün içerisinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimciği ve sinsityum tarzında sitopatojenite gelişimi gözlenir. Direkt tanı yöntemleri olarak, ELISA, RT-PCR ve IF teknikleri kullanılmaktadır (Ataseven 2021a). İndirekt tanıda, kan serumunda antikor saptanması amacıyla nötralizasyon ve indirekt ELISA teknikleri sıklıkla kullanılmaktadır (Frank 1993).

BRSV enfeksiyonları ile ilişkili histopatolojik lezyonların postmortem bulguları tanı koymada yardımcıdır. Patolojik olarak, yaygın bir interstisyel amfizem ve interstisyel ödem vardır. Akciğerlerde amfizematöz bül gözlenebilir. Sıklıkla ortaya çıkan sekonder bakteriyel pnömonide kranioventral akciğer loblarında konsolidasyon ortaya çıkar. Histolojik lezyonlar sıklıkla bronşiyol epitelinde ve akciğer parankiması boyunca sinsitiyal hücrelerin varlığıyla karakterizedir (Frank 1993).

BPIV-3 enfeksiyonunun tanısı için laboratuvara canlı hayvanlardan enfeksiyonun akut fazı sırasında örneklenen nazal veya nazofarengeal sürüntü, trakeal kazıntı, antikoagulanlı kan ile bronkoalveoler lavaj sıvıları gönderilebileceği gibi; ölü hayvanlardan akciğer, mediastinal lenf yumruları, nazal sürüntü ve trakeal kazıntı gönderilebilir (Frank 1993; TC Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 2014b; Ataseven 2021b). MDBK, RK-13, Vero, sığır ve kuzu fetal akciğer, böbrek, testis ve tiroid primer ve devamlı hücre kültürleri BPIV-3 izolasyonunda kullanılabilir (Frank 1993; Ataseven 2021b). Virus izolasyonu için en uygun doku

akciğerdir (Frank 1993). Enfeksiyonun altıncı gününden itibaren virus izole etme olasılığı zaman içerisinde azalmaktadır. Virus identifikasyonunda RT-PCR, direkt ELISA, hemadsorbsiyon inhibisyon ve immünofloresan testleri kullanılmaktadır. BPIV-3 özgül antikolar hemaglutinasyon inhibisyon, virus nötralizasyon, indirekt ELISA, indirekt immünfloresan ve plak redüksiyon testleriyle saptanabilmektedir (Ataseven 2021b).

2.5. İmmünoloji

Sığırların solunum sistemi hastalıkları (BRD) kompleksi; virus, bakteri ve mikoplazmal mikroorganizmaları içeren multifaktöriyel bir hastalık oluşumudur. Bu hastalık kompleksinde *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* ve *Mycoplasma bovis* gibi bakteriler de önemli rol oynamaktadır. BRD kompleksinin viral ve bakteriyel patojenleri milyonlarca yıldır konakçılarıyla birlikte evrimleşmiştir. Bu patojenler, hem doğal hem de kazanılmış konakçı immün yanıtından korunmak için karmaşık mekanizmalar geliştirmişlerdir (Srikumaran ve ark. 2008).

BRSV; primer olarak siliyer hava yolu epitel hücrelerinde ve tip II pnömositlerde çoğalarak farklı proinflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri indükler, hücrel adezyon moleküllerinin ekspresyonunu yönlendirir, nötrofilleri ve lenfositleri akciğere yönlendirerek bronşiyolit ve interstisyel pnömoniye yol açar. BRSV ile enfekte olmuş buzağılardan alınan pnömonik lezyonlarda, IL-12, IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-18, IL-8, RANTES, MCP-1, MIP-1 α , IFN α ve IFN β 'nin artan ekspresyon seviyeleri tespit edilmiştir. Sığır NK hücreleri, NKp46⁺/CD3⁻ lenfositleri olarak karakterize edilmiştir (Guzman ve Taylor 2014).

Tip I IFN'ler, patojenlere yanıt olarak konak hücreler tarafından salınan özel sitokinlerdir. Tip I IFN'ler, sitokinlerin ve kemokinlerin yukarı regülasyonu yoluyla dolaylı olarak veya NK hücreleri, DH'ler ve lenfositler üzerinde direkt etkisiyle viral enfeksiyona karşı kazanılmış immün yanıtın düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Durbin ve ark. 2013). RSV, tip I IFN'lerin anti-viral etkilerine diğer paramiksoviruslerden daha dirençlidir ve hem HRSV hem de BRSV'nin NS proteinleri in vitro tip I IFN'lerin indüklenmesini baskıladığı gösterilmiştir (Guzman ve ark. 2014).

BPIV-3'ün doğal bağışıklığı, esas olarak, model tanıma reseptörleri (PRR) yani retinoik asit ile indüklenebilir gen I (RIG-I ve MDA5 dahil RLR) ve benzeri reseptörler (TLR) tarafından indüklenir (Elankumaran 2013). BPIV-3 enfeksiyonunda humoral immüniteden birincil olarak hemaglutinin-nörominidaz (HN) ve füzyon (F) yüzey glikoproteinlerine karşı oluşan nötralizan antikolar sorumludur. Korunmada HN antikoları

büyük rol oynamasına rağmen, yavrularda anti-HN antikörlerinin tek başına alt solunum yolu enfeksiyonlarına karşı tam korunma sağlamadığı bildirilmiştir. Bu nedenle buzağılardaki alt solunum yolu enfeksiyonlarına karşı korunmada anti-F antikörlerinin ve hücresel bağışıklığın da etkisinin olduğu ileri sürülmektedir. Tip I interferon, sitokinler ve protein kinaz R (PKR) ve 2', 5'-oligoadenilat sentaz gibi interferonla indüklenebilir genler enfeksiyonu takiben RLR ve TLR ile aktive edilir. RLR ve TLRler tarafından aktivasyonu, hücre tipine bağlı olarak tip I IFN ve sitokini indükler (Elankumaran 2013).

BPIV-3 ile enfeksiyondan sonra IgG ve IgM tipi ve mukozal (nazal) IgA tipi hem lokal hem de sistemik virüs nötralize edici antikörler üretilir (Elankumaran 2013). BPIV-3 enfeksiyonlarında sekretorik IgA'lar da önemli rol oynamaktadır. Kuzuların tükürük, gözyaşı, akciğer, trakeabronşiyal ve nazal sekresyonlarında IgA; kolostrum, süt , safra ve kan da ise IgG baskın immünglobulin tipleridir. Bunun dışında alt solunum yolları ve trakeabronşiyal çıkartılarda hemaglutinasyonu inhibe eden ve komplemanı bağlayan antikörler da gösterilmiştir (Ataseven 2021b). Reenfeksiyondan sonra yüksek titreye ulaşan serum antikörleri 5 ay varlığını devam ettirir ancak mukozal antikörler hızla azalır. Kompleman, nötrofiller ile lenfositlerin sitotoksik etkisini önemli ölçüde arttırmaktadır (Elankumaran 2013).

2.6.Korunma ve Kontrol Stratejileri

Genel önlemler kapsamında BRSV ve BPIV-3 hastalıklarına karşı korunmanın başında aşılama olduğu gibi uygun çevresel koşulların sağlanması ve stres faktörlerinin azaltılması da dahil olmak üzere BRD'nin gelişiminde rol oynayan risk faktörleri en aza indirilmelidir. BRSV ve BPIV-3 enfeksiyonlarında indirekt bulaşma çok yaygın görüldüğünden sürüler arası bulaşmaya dair risk faktörleri dikkatle değerlendirilmelidir. Sürüde enfeksiyonun dolaşımını en aza indirgeyecek temizlik, hijyen ve sanitasyon gibi biyogüvenlik uygulamaları hem hayati hem de ekonomik önem taşır. Her iki virus labil özellikte olması nedeniyle deterjanlarla hızlıca inaktive olabilirler. Çiftlikte çalışan personellerin çizme , bot vb giysilerinin daima temiz olması, dışarıdan gelen ziyaretçilerin de başka bir yerden etken taşımamalarını sağlamak için yedek giysiler temin edilmelidir (Makoschey ve ark. 2021).

BRD kontrolü ve önlenmesine yönelik doğal immünomodülasyon, hastalık direnci ve aşı yanıtındaki varyasyonların altında yatan genetik ilişkinin tanımlanması gibi yeni yaklaşımlar bulunmaktadır. Deneysel BRSV enfeksiyonunda hayvanların genetik

varyasyonunun analizi immünite ile ilgili genlerdeki belirli motiflerin yüksek veya düşük antikör ve T hücre yanıtı ile ilgili olduğunu düşündürmektedir. Sonuç olarak, bu araştırma, BRSV ve BPIV-3'ün neden olduğu hastalıklara karşı daha dirençli hayvanların seçilmesine yön verebilir ve aşı etkinliğini arttırmanın yeni yollarını açabilir (Glass ve ark. 2012; McGill ve Sacco 2020; Makoschey ve ark. 2021).

Hasta hayvanların tedavisinde destekleyici tedavi önemlidir. Sıvı sağaltımıyla elektrolit dengesinin korunması, enerji düzeyinin korunması gibi uygulamalar yapılabilir. Ancak iyileşme gözlenmezse ve sekonder enfeksiyonlar gelişirse hastalığa sebep olan bakterilerin duyarlı olduğu antibiyotikler belirlenip uygulanmalıdır. BRD ile ilişkili hastalıklarda kortikosteroidler immün sistemi baskıladığı için önerilmez ancak non-steroid antiinflamatuar ilaçlar (NSAID) kullanılabilir (Makoschey ve ark. 2021). Yakın zamanda bir BRSV enfeksiyonu modelinde antiviral ve non-steroid antiinflamatuar ilaçların kombinasyonu ile yapılan bir tedavide umut verici sonuçlar elde edilmiştir (Walsh ve ark. 2020)

Buzağı besleme döneminde kolostrum yönetimi iyi sağlanmalıdır. Kolostrumla birlikte anneden alınan düşük IgG düzeylerinin dahi BRSV enfeksiyonuna karşı az da olsa koruyucu olduğu bildirilmiştir (Pardon ve ark. 2015). Kolostrum, immünglobulinler, sitokinler, laktoferrin ve laktoperoksidaz gibi antimikrobialleri içerir. Bununla birlikte, maternal antikör ve aşılar arasındaki etkileşime ilişkin kapsamlı araştırmalar maternal antikör varlığının aşı etkinliğini ve dolayısıyla korumayı azalttığını göstermiştir. Ayrıca, Fulton ve ark. (2004) maternal antikörlerin sağladığı immünitinin süresinin yaşamın ilk 24 saatinde kolostrumla buzağı tarafından alınan antikör miktarına bağlı olduğunu ancak büyük ölçüde 16 ila 28 gün arasında yarı ömre sahip olduğunu bildirmişlerdir (Barry ve ark. 2022). Dolayısıyla, buzağılarda maternal antikörlerin değişken yarı ömre sahip olmaları nedeniyle aşılama programlarını belirli bir zaman noktasına standardize edilmesi zorlaşmaktadır (Kolb ve ark. 2019). Şiddetli BRSV hastalığının en yüksek insidansı 2 ila 6 ay arasında olduğundan, etkili bir BRSV aşısı, yaşamın ilk aylarında etkili bir immün yanıtı uyarabilmelidir. Maternal antikörler, RSV nötralizan serum antikörlerinin varlığı şu anda başarılı aşılamanın önünde büyük bir engel teşkil etmektedir (Valarcher ve Taylor 2007). Mevcut ticari aşılama stratejileri, BRSV'ye karşı koruma sağlamak için aşının uygulama yoluna (parenteral veya intranasal) ve tipine (Atenüe ya da modifiye canlı -MLV ve inaktif aşılar) göre değişir. Son araştırmalar, maternal antikör varlığında parenteral aşılamanın buzağılarda klinik hastalığı önleyemeyebileceğini göstermiştir (Kolb ve ark. 2019). Ruminantlar esas olarak nazal

mukoza plazma hücrelerinden yoksun olarak doğarlar (Ellis ve ark. 2018), bununla birlikte yenidoğan buzağılarda yaşamın erken dönemlerinde üst solunum yolları mukozasında yerleşik “Mukoza İlişkili Lenfoid Dokunun (MALT)” işlevsel hale gelmesiyle etkin şekilde uyarılabilen mukozal immün yanıt sayesinde buzağılarda intranazal yolla uygulanabilen atenüye/modifiye canlı BRSV ve BPIV-3 aşuları maternal antikolar varlığında bile koruyucu bağışıklık oluşturabilmektedir (Kimman ve ark. 1989; Chase ve ark. 2008; Ellis ve ark. 2013b). İntranazal aşılama, IgA üretimi yoluyla mukozal yüzeylerde lokal bağışıklık sağlamak için kullanılmaktadır. (Ellis ve ark. 2018) İntranazal aşılama yaklaşık 60 gün boyunca lokal koruma sağlamaktadır (Sherwin ve ark. 2018). Buna karşın, mukozal olarak iletilen antijenlerin, enfeksiyon oluşumunu azaltmaktan ziyade hastalığı önleme olasılığı daha yüksektir (Xue ve ark. 2010). Bir fare modelinde, intranazal yolla aşının uygulanması sonucu güçlü Th-1, Th-17 ve antikor yanıtları göstermiştir (Noor ve ark. 2018).

Canlı BRSV aşuları ilk olarak 1978'de Avrupa'da, kısa bir süre sonra Kuzey Amerika'da 1980'lerin başında kullanıma sunulurken canlı BRSV aşularının lenfokin (IL-2 ve IFN-gamma) ve nötralizan antikor yanıtlarını uyardığı bildirilmiştir (Ellis 2016). Canlı RSV aşuları doğal humoral ve hücrel bağışıklığın yanı sıra mukozal bağışıklığı da geniş ölçüde uyarabilmektedir (Noor ve ark. 2018).

İnaktif RSV aşularının tarihi, 1960'ların sonlarında, formalin ile inaktive edilmiş alum ile adjuvantlanmış tek bileşenli HRSV aşısını içeren bir başarısız çalışmayla başlamıştır (Ellis 2016). Formalin ile inaktive edilen BRSV (FI-BRSV) aşuları ile aşılanmış buzağılarda aşılamanın enfeksiyona karşı korumadığını (Gershwin ve ark. 1998), bazı araştırmalar da virus replikasyonuna karşı farklı düzeylerde koruma sağlamasına rağmen serum IgE düzeylerinde artış ve pulmoner eozinofili ile ilişkili klinik tablo gelişimi bildirmektedir (Antonis ve ark. 2003). İnaktivasyon sürecinin BRSV epitoplarında oluşturduğu değişimin sitotoksik T lenfosit aktivitesini ve fonksiyonel antikoların indüksiyonunu değiştirebildiği ileri sürülmüştür. Ayrıca, daha önce formalin ile inaktive edilmiş BRSV ile aşılanmış buzağılarda BRSV enfeksiyonunu takiben interferon gama üretiminin azaldığı da gözlemlenmiştir (Makoschey ve ark. 2021). Yapılan bir araştırmada, inaktif BRSV aşularının uygulanmasının genç buzağılarda maternal antikolar varlığında yalnızca saçılmanın azalmasını sağladığı, ancak klinik belirtilerde veya akciğer patolojisinde azalma olmadığı tespit edilmiştir (Valarcher ve ark. 2021). FI-HRSV'nin neden olduğu antikoların zayıf nötralizan yapıda olduğuna dair kanıtlar vardı. Bu nedenle, güçlü bir mukozal ve sistemik koruyucu immün yanıtın yokluğu, aşı olunmasına rağmen bireyleri doğal HRSV

enfeksiyonuna karşı duyarlı hale getirmiş ve viral antijenlerin ekspresyonu bir immünpatojen yanıtı yol açmıştır. Bu immünpatojenik yanıtın, akciğerlerde immün komplekslerin birikmesi ve kompleman aktivasyonunun ve diğer inflamatuvar hücrelerin yüksek derecede akciğerlere alınmasıyla sonuçlanan güçlü bir Th-2 immün yanıtın indüklenmesine aracılık ettiği öne sürülmüştür (Valarcher ve Taylor 2007).

Alum adjuvanlı FI-HRSV aşısı ile murin modelleri üzerinde yapılan çalışmalar immünolojik aşırı duyarlılık reaksiyonlarının anahtar araçları olduğu kanıtlanan Th2 hücrelerinin güçlü bir indükleyicisi olduğunu göstermiştir (Antonis ve ark. 2003).

BPIV-3'ün keşfinden kısa bir süre sonra, bu virusa karşı ilk inaktif aşılar geliştirildi ve bunu birkaç yıl sonra modifiye canlı virus (MLV) aşıları takip etti (Makoschey ve ark. 2021). BPIV-3 için modifiye canlı virus (MLV) aşılarının önce parenteral ve daha sonra intranazal olarak gelişimi 1960'larda başladı ve günümüzde halen araştırmalar devam etmektedir (Ellis 2010). Parenteral (subkutan veya intramusküler) ve intranazal olarak her iki aşı tipinin hem lokal hem de sistemik antikor yanıtlarını uyardığı gösterilmiş olmasına rağmen, bu durum aşılama sırasındaki lokal ve sistemik antikor konsantrasyonlarının durumuna bağlıdır (Ellis 2010; Xue ve ark. 2010). Maternal antikorların varlığında 7 haftalıkken canlı veya inaktif aşılar parenteral uygulandığında antikor titrelerinde artış olmaksızın canlı aşı grubunda hücresel bir yanıt şekillenmiştir (Chase 2008).

Parenteral formların dışında ticari bir canlı intranazal BPIV-3 aşısı da işletmelerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Bryson ve ark 1999). Maternal antikor varlığında en başarılı stratejilerden biri genç buzağılarda BHV-1, BRSV ve/veya BPIV-3 içeren intranazal (IN) aşılarda kullanılmasıdır (Chase 2008). IN canlı virüs aşısının buzağılarda üst solunum yolu hastalıklarının kontrolünde etkili olduğu gösterilmiştir (Bryson ve ark. 1999). Bir çalışmada genç buzağılarda bivalent canlı BPIV-3'ün de bulunduğu aşıyla intranazal aşılamadan 5 gün sonra immün yanıt şekillenmiştir (Nuijten ve ark. 2022). Başka bir çalışmada (Xue ve ark. 2010) multivalent (BVDV, IBR, BRSV, BPIV-3) MLV intranazal aşıyla aşılanmış buzağılarda viral saçılımın azaldığı ve daha az ciddi pulmoner lezyonların görüldüğü bildirilmiştir. Intranazal aşı, burun mukozasında çoğalabilme ve humoral antikor interferenzine maruz kalmaksızın mukozal bağışıklığı uyarabilme avantajına sahiptir. IN aşıları tarafından başlatılan mukozal bağışıklığın, sadece hastalığı azaltmaktan ziyade enfeksiyonu önleme olasılığı da daha yüksektir (Chase 2008). Yapılan bir çalışmada (Bryson ve ark. 1999) sıcaklığa duyarlı mutant BPIV-3 suşunu içeren canlı bir intranazal aşı virusunun neden olduğu pnömoniye karşı önemli bir koruma sağlamıştır.

3.i GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Gereç

3.1.1.Hayvan Materyali

Bu tezdeki çalışma protokolü Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (Tarih: 19.08.2021; Karar No. 2021-05-09) tarafından onaylanmıştır.

Araştırmada, Kasım 2020-Mart 2021 tarihleri arasında manda popülasyonunun en yoğun olduğu Hatay ilinin Kırıkhan ilçesinde halk elinde yetiştirilen BRSV ve BPIV-3 yönünden aşı uygulanmamış 3 ay-3 yaş aralığındaki sağlıklı görünüşlü toplam 150 adet mandadan antikoagulanlı ve jelli tüplere kan örnekleri tesadüfi örnekleme ile gerçekleştirildi. Örnekler, sadece manda (n:50) veya karma (manda ve sığır) (n:100) yetiştiriciliğinin yapıldığı 18 adet aile işletmesindeki 3-<6 ay yaş grubunda 35 adet ve ≥6 aylığın üzerinde 115 adet mandadan toplandı. Popülasyon $12,91 \pm 7,45$ ay yaş ortalamasına sahipti. Örneklemedeki işletme sayısı, işletmedeki manda sayısı, cinsiyet ve işletme tipine göre dağılımlar Çizelge 3.1.1’de gösterildi.

İşletme Sayısı	İşletmedeki Manda Sayısı	İşletme Tipi	Cinsiyet Dağılımı	
			Dişi	Erkek
1	8	Karma	6	2
2	10	Karma	9	1
3	6	Manda	3	3
4	5	Manda	3	2
5	7	Karma	3	4
6	11	Karma	6	5
7	2	Manda	-	2
8	19	Manda	9	10
9	15	Karma	7	8
10	5	Karma	4	1
11	10	Karma	7	3
12	6	Karma	3	3
13	1	Manda	1	-
14	2	Manda	-	2
15	7	Manda	2	5
16	1	Karma	-	1
17	8	Manda	5	3
18	27	Karma	13	14
Toplam	150		81	69

Çizelge 3.1.1.Manda örneklerinin işletme tipi, yaş ve cinsiyete göre dağılımları

3.2. Yöntem

3.2.1. Kan Örneklerinin Hazırlanması

3.2.1.1. Kan Serumu Örnekleri

Silikon jel içeren tüplere alınan kanlar laboratuvarında 3000xg devirde 5 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan serum 100-1000 µL hacimli mikropipet ucu yardımıyla eppendorf tüplerine aktarılarak test edilinceye kadar -20°C derin dondurucularda saklandı.

3.2.1.2. Antikoagulanlı Kan Örnekleri

Antikoagulan madde olarak EDTA içeren tüplere alınan kanlar laboratuvarında 800xg devirde 5 dakika santrifüj edildi. Tabakalanan kan örneğinin orta tabakasında yer alan bulutumsu (lökosit) tabaka 100-1000 µL hacimli mikropipet ucu yardımıyla içinde 2 mL PBS bulunan tüplere aktarıldı. Örnekler, test edilinceye kadar -20°C derin dondurucularda saklandı.

3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

3.2.2.1. Viral Nükleik Asit Ekstraksiyonu

Antikoagulanlı kan örneklerinden viral nükleik asit varlığının tespiti için ön aşama olan viral nükleik asidin izolasyonu ticari nükleik asit ekstraksiyon kiti (Roche HighPure Viral Nucleic Acid Extraction kit, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. 200'er µL olacak şekilde eppendorf tüplerine alınan şüpheli örneklerin üzerine 200 µL proteinaz K enzimi ve bağlanma solüsyonu içerisinde hazırlanan taşıyıcı (poly A) içeren çalışma solüsyonundan 200 µL eklenerek vortekslendikten sonra 72°C'de 10 dakika su banyosunda inkube edildi. İnkubasyondan sonra 100'er µL bağlanma solüsyonu eklenen tüpler tekrar vortekslenerek önceden örnek numaraları yazılmış olan spin kolon tüplerine aktarıldı. Spin kolon filtre içeren tüpler 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi ve alttaki tüpler atılarak spin kolon filtreler yeni boş tüplere yerleştirildi. Spin kolon filtreli tüplere 450µL inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklendi ve 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra yeni boş tüplere alınan spin kolon filtrelerin üzerine 500µL yıkama solüsyonu eklendikten sonra 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Bu işlemden sonra, spin kolon filtreler yeni boş tüplere alındıktan sonra son bir kez 13000xg'de 10 saniye santrifüj edilerek rezidüler uzaklaştırıldı. Son aşamada viral nükleik asidin aktarılacağı eppendorf tüplerine alınan spin kolon filtrelere 50'şer µL elüsyon tampon eklenerek 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Eppendorf tüpün içindeki spin kolon

filtreler atıldı ve ependorf tüplerin içinde kalan nükleik asid ekstraktı PCR amplifikasyonunda kullanılmak üzere test edilinceye kadar -20°C derin dondurucularda saklandı.

3.2.2.2. Reverz Transkripsiyon: Komplementer Deoksiribonükleik Asit (cDNA) Sentezi

Nükleik asit ekstraktları kullanımdan önce oda koşullarında çözdürüldükten sonra buz bloğu üzerine alındı. Ticari cDNA sentez kiti (OneScript Plus, Applied Biological Materials Inc., Kanada) kullanılarak viral RNA komplementer DNA (cDNA)'nın sentezi için buz bloğu üzerine alınan ependorf tüpleri içinde örnek başına 4µL 5xRT tamponu, 1µL dNTP, 1µL random hekzamer primerler, 1µL One Script Plus RTaz ve 11µL nükleaz içermeyen su olacak şekilde mastermiks hazırlandı. Örnek sayısı kadar buz bloğuna hazırlanan PCR mikrosantrifüj tüplerine 18µL mastermiks karışımı dağıtılarak üzerlerine 2µL örnek RNA'sı ilave edildi. Nazikçe karıştırılan karışım cDNA sentezi için 55°C'de thermal cyclus içinde 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 85°C'de 5 dakika tutularak durdurulan reaksiyon sonunda elde edilen cDNA'lar BRSV ve BPIV-3 nükleik asidlerine yönelik spesifik PCR amplifikasyonunda kullanıldı.

3.2.2.3. BRSV için Viral Nükleik Asit Amplifikasyonu

BRSV nükleik asitinin spesifik PCR amplifikasyonunda Vilcek ve ark. (1994)'nın bildirdiği PCR amplifikasyon protokolleri kullanılarak gerçekleştirildi. BRSV nükleik asidinin nested PCR ile spesifik amplifikasyonu füzyon (F) gen bölgesine yönelik 4 adet primer çifti (B1-AATCAACATGCAGTGCAGTTAG/B2A-TTTGGTCATTCGTTATAGGCAT; B3-GTGCAGTTAGTAGAGGTTATCTTAGT/B4ATAGTTCTTTAGATCAAGTACTTTGCT) kullanıldı (Çizelge 3.2). PCR amplifikasyonunda 12,5 mM MgCl₂ içeren ticari PCR mastermiksi (5xHot FIREPol, Solis BioDyne, Estonya) kullanıldı (Çizelge 3.3). Amplikonların görüntülenmesi amacıyla, 0,2µg/mL konsantrasyonunda (Safe View Fire Red, ABM, Kanada) nükleik asit boyası ilave edilerek 0,5XTBE (Tris Boric Acid-Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid) solüsyonu içinde %1,5'lük olarak hazırlanmış olan agarozda (Prona, Avrupa Birliği) elektroforez işlemi uygulandıktan sonra BRSV için 481 bp büyüklüğündeki spesifik ürün bantları jel görüntüleme sistemi (UVP EC3W Darkroom, Cambridge, Birleşik Krallık) yardımıyla 100-3000 bp'lik DNA standardı (100bp DNA Ladder Plus, Hibrigen Biyoteknoloji, Türkiye) ile karşılaştırmak suretiyle incelendi. Negatif kontrol

olarak DNase/RNase distile su, BRSV pozitif kontrolü olarak laboratuvarımızda önceden pozitif olduğu belirlenerek dizin analizi ile konfirme edilen BRSV suşu kullanıldı.

3.2.2.4.BPIV-3 için Viral Nükleik Asit Amplifikasyonu

BPIV-3 nükleik asiti için PCR amplifikasyonunda Maidana ve ark. (2012)'nın bildirdiği PCR amplifikasyon protokolleri kullanıldı. BPIV-3 nükleik asidinin spesifik amplifikasyonu ise virusun matriks (M) gen bölgesine yönelik 2 adet primer çifti (M1-AGTGATCTAGATGATGATCCA/M2-GTTATTGATCCAATTGCTGT) kullanılarak gerçekleştirildi. PCR amplifikasyonunda 12,5 mM MgCl₂ içeren ticari PCR mastermiksi (5xHot FIREPol, Solis BioDyne, Estonya) kullanıldı. Amplikonların görüntülenmesi amacıyla, 0,2µg/mL konsantrasyonunda (Safe View Fire Red, ABM, Kanada) nükleik asit boyası ilave edilerek 0,5XTBE (Tris Boric Acid-Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid) solüsyonu içinde %1,5'luk olarak hazırlanmış olan agarozda (Prona, Avrupa Birliği) elektroforez işlemi uygulandıktan sonra BPIV-3 için 328 bp büyüklüğündeki spesifik ürün bantları jel görüntüleme sistemi (UVP EC3W Darkroom, Cambridge, Birleşik Krallık) yardımıyla 100-3000 bp'lik DNA standardı (100bp DNA Ladder Plus, Hibrigen Biyoteknoloji, Türkiye) ile karşılaştırmak suretiyle incelendi. Negatif kontrol olarak DNase/RNase distile su kullanıldı.

3.2.3. Serolojik Analizler

3.2.3.1.BPIV-3 Spesifik Antikor Tespiti için İndirekt ELISA

Manda serumlarında BPIV-3 spesifik antikor varlığı ticari bir indirekt ELISA kiti (Monoscreen Ab ELISA, double wells, Bio-X Diagnostics, Belçika) kullanılarak üretici firmanın kit kılavuzunda belirttiği şekilde test edildi. ELISA pleytlerinde tek rakamlı gözler (1,3,5,7,9,11) PI3 viral antijenle kaplıyken, çift rakamlı gözler (2,4,6,8,10,12) kontrol olarak değerlendirildi. Her serum örneği tek ve çift rakamlı gözlerde test edildi. ELISA pleytinin G11 ve G12 gözleri pozitif, H11 ve H12 gözleri negatif kontroller için ayrıldı. Öncelikle kontroller ve tüm serum örneklerinin ayrı bir pleytte 1/10 ön sulandırması hazırlandı. Önceden 90 µL sulandırma tamponu eklenen kit gözlerine her serumun 1:10'luk sulandırmalarından 10µL alınarak 1:100 sulandırmaları hazırlandı. Tüm serum örnekleri ve kontroller 21°C±3°C'de 1 saat inkubasyona bırakıldı. Süre sonunda 3 kez yıkama tamponu ile yıkandı ve pleyt gözleri dikkatli bir şekilde kurutuldu. Tüm gözlere, sulandırma tamponu içerisinde 1:50 oranında hazırlanan konjugat solüsyonundan 100µL eklenerek 21°C±3'de 1

saat inkubasyona bırakıldı. Süre sonunda 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı ve pleyt gözleri dikkatli bir şekilde kurutuldu. Tüm gözlere 100µL kromojen solüsyonu eklendi ve karanlık ortamda 21°C±3°C’de 10 dakika beklendikten sonra tüm gözlere 50µL “Reaksiyon durdurma (Stop)” solüsyonu eklenerek 450nm dalga boyunda ELISA okuyucuda optik dansite değerleri okutuldu. Sonuçlar kit kılavuzunda belirtilen matematiksel yöntem kullanılarak aşağıda belirtilen formülasyonla hesaplandı (Çizelge 3.2.3.2).

(+) kontrol: PK OD ₄₅₀ >0,8 (-) kontrol: NK OD ₄₅₀ <0,3		$\% \text{ Değer} = \frac{\text{Serum OD}_{450}}{\text{Pozitif Kontrol OD}_{450}} \times 100$
Değerlendirme	Seropozitivite Dereceleri	
≤20%	Negatif	
>20 - ≤40%	+	
>40 - ≤60%	++	
>60 - ≤80%	+++	
>80 - ≤100%	++++	
100%<	+++++	

Çizelge 3.2.3.1.BPIV-3 indirekt ELISA sonuçlarının değerlendirme ve seropozitivite formülü.

3.2.3.2.BRSV Spesifik Antikor Tespiti için İndirekt ELISA

Manda serumlarında BRSV spesifik antikorlarının varlığı BRSV antijeni kaplı ticari bir indirekt ELISA kiti (CIVTEST Bovis BRSV ELISA, Hipra Laboratories, İspanya) kullanılarak üretici firmanın kit kılavuzunda belirttiği şekilde test edildi. Başlangıçta boş bir ELISA pleytinde sulandırma solüsyonu yardımıyla serum örneklerinin 1:20’lik sulandırmaları hazırlandı. ELISA pleytinin kontroller hariç tüm gözlerine 40 µL sulandırma solüsyonu eklendikten sonra 1:20’lik serum sulandırmalarından multikanal mikropipet yardımı ile kendilerine ait gözlere 10µL aktarılan serum örneklerinin 50µL hacim içindeki 1:100 sulandırmaları hazırlandı. Pozitif ve negatif kontroller sulandırılmadan ayrılan pleyt

gözlerine yerleştirildi. Serum örnekleri ve kontrolleri içeren ELISA test pleytleri 37°C’de 1 saat inkubatörde inkubasyona bırakıldı. Bu süre sonunda 3 kez yıkama tamponu ile yıkayıp kurutulan pleytlere 50µL konjugat solüsyonu eklendikten sonra 37°C’de 1 saat inkübe edildi. İnkubasyon sonunda yıkama ve pleyt gözlerinin kurutma aşamaları tekrar edilerek tüm gözlere 50µL substrat solüsyonu eklendi ve karanlık ortamda oda ısısında (18-25°C) 15 dakika bekletildi. İnkubasyondan sonra tüm gözlere 50µL “Reaksiyon durdurma (Stop)” solüsyonu eklenerek 450nm dalga boyunda ELISA okuyucuda optik dansite değerleri okutuldu. Sonuçlar, kit kılavuzunda belirtilen matematiksel yöntem kullanılarak aşağıda gösterilen formülasyon göre hesaplandı (Çizelge 3.2.3.1).

Pozitif Kontrol (PK) OD ₄₅₀ >0,9	
Pozitif Kontrol OD ₄₅₀ / Negatif Kontrol (NK) OD ₄₅₀ >5	
$\% \text{ IRPC} = \frac{\text{Serum OD}_{450} - \text{NK OD}_{450}}{\text{PK OD}_{450} - \text{NK OD}_{450}} \times 100$	$\leq 20\%$ Negatif
	$> 20\%$ Pozitif

Çizelge 3.2.3.2.BRSV indirekt ELISA sonuçlarının değerlendirme formülü

3.2.4. İstatistiksel Analizler

BPIV-3 ve BRSV seroprevalansları üzerine işletme tipi (karma/manda), yaş ve cinsiyet etkisinin belirlenmesinde Ki-kare ve Fisher’in kesin testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler frekans-yüzde olarak gösterildi. İstatistik olarak anlamlı fark sınırı P<0,05 olarak belirlendi. İstatistiksel analizlerde IBM SPSS 23.0 istatistik paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. PCR Bulguları

Mandalardan toplanan kan örneklerinin hiçbirinde BRSV ve BPIV-3 nükleik asitleri tespit edilmedi.

4.2.Serolojik Bulgular

4.2.1.BPIV-3 Antikor Varlığı

Bu tez çalışmasında örneklenen 150 manda serumundan 132 adedinde (%88) ve tüm sürülerde (%100) seropozitiflik belirlendi. BPIV-3 için işletme düzeyindeki seropozitiflik oranları %33,3-100 arasındaydı. Yetiştirme tiplerine göre, karma yetiştiricilik yapan işletmelerde BPIV-3'e ait seropozitiflik oranlarının %75-100 ve sadece manda yetiştiriciliği yapan işletmelerde ise %33,3-100 arasında olduğu saptandı (Çizelge 4.2.1a). Örneklenen hayvanlardan 59 erkek (39,3) ve 73 dişi (48,6) hayvanda BPIV-3 virusuna spesifik antikor varlığı belirlendi. Yaş gruplarına göre ise 3-6 aylık yaşlı gruplarda 33 (%22), 6 aylıktan büyük gruplarda ise 99 (%66) adedinde BIPV-3'e ait seropozitiflik tespit edildi (Çizelge 4.2.1b). BPIV-3 spesifik antikor düzeyleri üretici firmanın bildirdiği şekilde +1'den +5'e göre sıralandığında 3-6 aylık grupta +2, ≥6 aylık grupta +5 pozitivite değerinin yüksek olduğu belirlendi (Çizelge 4.2.1c).

4.2.2.BRSV Antikor Varlığı

Bu tez çalışmasında, 18 işletmeden 4 adedinde (%22,2) ve örneklenen 150 manda serumundan 6 adedinde (%4) BRSV spesifik antikor varlığı belirlendi (Çizelge 4.2.1a). BRSV için işletme düzeyindeki seropozitiflik oranları %0-30 arasındaydı. Yetiştirme tiplerine göre; karma yetiştiricilik yapan işletmelerde % 3,7-30 arasında gözlenirken, sadece manda yetiştiriciliği yapan 1 adet işletmede %16,7 BRSV spesifik antikor varlığı belirlendi. Cinsiyete göre; 2 erkek (% 1,3) ve 4 dişi hayvanda (%2,6) BRSV virus spesifik antikorlar tespit edilirken, 3-6 aylık yaşlı gruplarda 2 (%1,3), 6 aylıktan büyük gruplarda 4 (%2,6) adedinde BRSV seropozitifliği tespit edildi (Çizelge 4.2.1b).

İşletme No.	İşletmedeki Manda No.	İşletme Tipi	Seropozitif Hayvan Sayısı	
			BPIV-3 n (%)	BRSV n (%)
1	8	Karma	6 (75)	1 (12,5)
2	10	Karma	9 (90)	3 (30)
3	6	Manda	2 (33,3)	1 (16,7)
4	5	Manda	4 (80)	-
5	7	Karma	6 (85,7)	-
6	11	Karma	9 (81,8)	-
7	2	Manda	2 (100)	-
8	19	Manda	18 (94,7)	-
9	15	Karma	12 (80)	-
10	5	Karma	5 (100)	-
11	10	Karma	9 (90)	-
12	6	Karma	6 (100)	-
13	1	Manda	1 (100)	-
14	2	Manda	2 (100)	-
15	7	Manda	7 (100)	-
16	1	Karma	1 (100)	-
17	8	Manda	7 (87,5)	-
18	27	Karma	26 (96,3)	1 (3,7)
Toplam n (%)			132 (88,0)	6 (4,0)

Çizelge 4.2.1a.BRSV ve BPIV-3 spesifik antikorları yönünden seropozitif hayvan sayısı.

Parametreler	BPIV-3 Seropozitif n (%)	BPIV-3 P değeri	BRSV Seropozitif n (%)	BRSV P değeri
İşletme Tipi				
Manda (n:50)	43(86,0)	0,602	1 (2,0)	0,664
Karma (n:100)	89 (89,0)		5 (5,0)	
Yaş				
3-6 ay (n:35)	33 (94,3)	0,246	2 (5,7)	0,624
≥6 ay (n:115)	99 (86,1)		4 (3,5)	
Cinsiyet				
Dişi (n:81)	73 (90,1)	0,454	4 (4,9)	0,687
Erkek (n:69)	59 (85,5)		2 (2,9)	
Toplam n (%)	132 (88,0)		6 (4,0)	

Çizelge 4.2.1b. Her iki virus için seropozitifliğin işletme tipi, yaş ve cinsiyet gruplarının istatistiksel değerlendirmesi (p<0,05).

Seropozitivite Düzeyi	3-6 ay n:35 (%)	>6 ay n:115 (%)
+1	5 (14,3)	22 (19,1)
+2	10 (28,6)	17 (14,8)
+3	6 (17,1)	19 (16,5)
+4	5 (14,3)	14 (12,2)
+5	7 (20,0)	27 (23,5)
Toplam n (%)	33 (94,3)	99 (86,1)

Çizelge 4.2.1c.Yaş gruplarına göre BPIV-3 seropozitivite düzeylerinin dağılımı.

4.3.İstatistiksel Bulgular

İşletme tipi, yaş ve cinsiyetin BRSV ve BPIV-3 seroprevalansları üzerinde etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P<0,05$) (Çizelge 4.2.1b)

5.TARTIŞMA

Sığırlarda üst solunum yollarının hafif enfeksiyonlarından, yaşamı tehdit eden pnömoni gibi şiddetli alt solunum yolu enfeksiyonlarına kadar uzanan solunum sistemi enfeksiyonlarının başlıca nedeni viruslardır. Sığır solunum hastalığı kompleksi (BRD), sığırlarda solunum yolu hastalıklarını tanımlayan yaygın bir terimdir. BRD, besi ve süt sığırlarında morbidite ve mortalitenin başlıca nedeni olarak kabul edilir. BRD'nin yol açtığı yüksek ekonomik maliyetler sadece ölüm ile ilişkin kayıplardan kaynaklanmaz, aynı zamanda tedavi maliyetlerini, yem verimindeki azalmayı, üreme performansını ve süt üretimini de içerir (Kirchhoff 2014). BRD'nin çok faktörlü etiyojisi, viral/bakteriyel/mikoplazmal patojenlerin, stres faktörlerinin ve immün duyarlı hayvanların varlığı gibi çok sayıda risk faktörünün bir kombinasyonunu içerir. BRD'de BRSV ve BPIV-3 ana risk faktörleridir (Saa ve ark. 2012; Zhou ve ark. 2023). Her iki virusta dünya çapında süt ve besi popülasyonlarında, özellikle süten yeni kesilmiş ve bir yerden başka bir yere nakledilen buzağılarda önemli bir hastalık ve ölüm nedeni olarak ciddi ekonomik kayıplardan sorumludur (Zhou ve ark. 2023). Bununla birlikte, enfekte hayvan hareketleri, hayvanların kalabalık ortamlarda barındırılması, sert hava koşulları ve yetersiz havalandırma gibi kötü işletme yönetimi, bakım ve besleme koşulları, konağın bağışıklık durumu, hayvanların yaşı ve sürü büyüklüğü de risk faktörlerinin temelini oluşturur (İnce ve ark. 2022).

BRSV ve BPIV-3 içeren aşuların uygulandığı annelerin kolostrumlarında buzağının yaşamının ilk 35 günü boyunca yüksek bir seviyede devam eden spesifik antikor konsantrasyonu bugünden itibaren kademeli olarak düşmeye başlar. Kolostral antikorların fizyolojik katabolizması ile ilişkili olarak 63. günden itibaren buzağılarda seronegatifliğin gelişmeye başladığı ve buna bağlı olarak buzağuların bu viral patojenlere karşı duyarlı hale geldiği bildirilmiştir (Masiuk ve ark. 2019).

Dünyada ve ülkemizde sığırlarda BPIV-3 (Alkan ve ark. 1997; Yeşilbağ ve Güngör 2008; Solis-Calderon ve ark. 2007; Mahmoud ve ark. 2013; Katoch ve ark. 2017; Kadiroğlu ve ark. 2020) enfeksiyonuna yönelik çok sayıda epidemiyolojik araştırma bulunmaktadır. Hindistan'ın Punjab şehrinde 82 süt sığırcılığı işletmesindeki serolojik çalışmada %27,8 (Goswami ve ark. 2017); 2013-2015 yılları arasında Predesh şehrinde 132 süt sığırcılığı işletmesinde gerçekleştirilen başka bir seroprevalans çalışmasında %57,5 oranlarında BPIV-3 seropozitifliği bildirilmiştir (Katoch ve ark. 2017). Suudi Arabistan'da süt sığırcılığı işletmelerinde %67,6 BPIV-3 seroprevalansı saptanmıştır (Mahmoud ve ark. 2013). Meksika'da 33 sürüden toplam 176 serum örneğinin %60,8'nda BPIV-3 antikorları

belirlenmiştir (Chavez ve ark. 2012). Meksika'nın Yucatan şehrinde 54 sürüdeki 2 yaş altındaki 728 sığırdan örneklenen kan serumlarında ELISA testi ile %85,6 BPIV-3 seroprevalansı tespit edilmiştir. Çiftlikte doğan hayvanların, satın alınan hayvanlara göre daha düşük BPIV3 seropozitifliğe sahip olduğu vurgulanmıştır. Sığırların yaş grubu ile BPIV-3 seroprevalansı arasındaki ilişkinin muhtemelen yaşlı hayvanların genç hayvanlara göre etkene maruziyet ihtimalinin daha fazla olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Solis-Calderon ve ark. 2007). Kęstaitienė ve ark. (2009), Litvanya'da sığırlarda gerçekleştirdikleri araştırmada 2006 yılında %72,8; 2008 yılında %56,8 oranlarında BPIV-3 spesifik antikor varlığı bildirmişlerdir. Gulliksen ve ark. (2009), 2004 ve 2007 yılları arasında 135 Norveç süt sığırı sürüsünden 5 ila 12 ay arasındaki 1348 buzağının %52,2'sinde BPIV-3'nin seropozitifliği tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, büyük sürülerdeki duyarlı hayvan sayısının küçük sürülere nazaran daha yüksek olması nedeniyle enfeksiyonların sürü içinde uzun süre dolaşımına katkıda bulunabileceği bildirilmiştir. Ülkemizde BPIV-3 seroprevalansı bölgesel farklılıklar göstermektedir. Coğrafi olarak en geniş ölçekli araştırmada Alkan ve ark. (1997) Türkiye'nin farklı illerinde yer alan kamu işletmelerinde yetiştirilen 480 sığırdan aldıkları kan serumu örneklerinde BPIV-3 için %52,7 oranında seropozitiflik saptamıştır. Ertürk ve ark. (2006) 2002-2005 yıllarında Türkiye genelinden Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Virolojik Teşhis laboratuvarına gönderilen serum örneklerinin %77,9'unda BPIV-3 spesifik antikor varlığı belirlemişlerdir. Yıldırım ve ark. (2009) Kuzeydoğu Anadolu bölgesindeki üç sınır ilinde küçük aile işletmelerinde yetiştirilen daha önceden aşı uygulaması yapılmamış 265 sığırdan örnekleedikleri kan serumlarında %55,84 BPIV-3 seropozitivitesi bildirmişlerdir. Kadiroğlu ve ark. (2020) Diyarbakır'da 8 farklı ilçeden örneklenen sığır kan örneklerinde BPIV-3 için %40,2 seropozitiflik belirlemiş ve yüksek seroprevalans değerlerinin virusun bölgede geniş ölçekte sirküle olmasına bağlamışlardır. Seroprevalans oranlarındaki farklılıkların, barınma koşulları, beslenme şekli, stres faktörleri ve hayvan giriş-çıkışı gibi faktörlere bağlı olduğu bildirilmiştir (Kadiroğlu ve ark. 2020). Yeşilbağ ve Güngör (2008) tarafından Türkiye'nin kuzeybatı bölgesinde 7 ilden 39 noktadaki süt sığırcılığı işletmelerinde gerçekleştirilen seroprevalans çalışmasında BPIV-3 seroprevalansının %43 olduğu rapor edilmiştir. Alpay ve ark. (2014) Gökçeada'da sığırlarda %29,3 BPIV-3 spesifik antikor varlığı tespit etmişlerdir. Akpınar ve ark. (2022) tarafından Samsun ilinde besi ve süt sığırcılığı işletmelerinde yapılan seroprevalans çalışmasında 200 klinik bulgulu ve 204 sağlıklı görünüşlü toplam 404 sığırdan alınan serum örneklerinde %88,7 BPIV-3 seropozitifliği bildirmişlerdir. Gür ve ark. (2020) bir süt sığırcılığı

işletmesinde prekolostal buzağular ve annelerinden örnekledikleri kan serumlarında serum nötralizasyon testi kullanılarak BPIV-3 varlığını araştırmışlar ve annelerin %96,7; buzağuların %25,2'sinde spesifik antikor varlığını göstermişlerdir.

Serolojik verileri ilk kez 1968 yılında Dogget tarafından ortaya konulan BRSV enfeksiyonuna yönelik sonraki araştırmalar enfeksiyonun dünyada tüm evcil ruminant türlerinde oldukça yüksek bir prevalansa sahip olduğunu göstermiştir (Rossi ve ark. 1974; Lamontagne ve ark. 1985; Alkan ve ark. 1997; Motha ve Hansen 1997; Ataseven 2002; Yeşilbağ ve Güngör 2008; Yeşilbağ ve Gögör 2009; Klem ve ark. 2013; Alpay ve ark. 2014; Goswami ve ark. 2016; Kadiroğlu ve ark. 2020). Brezilya'da Sao Paulo eyaletindeki 26 işletmeden örneklenen 1243 süt sığıru serumunda virus nötralizasyon testi ile BRSV seroprevalansı %79,5 oranında bulunmuş ve sürü bazında %40-100 arasında değiştii gösterilmiştir. Ayrıca 1 yaşın üzerindeki yetişkin hayvanların sürülerde BRSV'nin yüksek seroprevalansı için önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Hoppe ve ark. 2018). Roshtkhari ve ark. (2012) İran'da Horasan Razavi ilinde 2008-2009 yılları arasında pnömoni bulguları gösteren buzağularda viral patojenlerin etiyolojik varlığını araştırmış ve en yüksek seropozitifliğin BPIV-3 (%90) ve BRSV (%64,2) olduğunu saptamışlardır. Sürü büyüklüğü ile seropozitiflik arasında önemli bir ilişki bulunmadığını ifade etmişlerdir. Zewde ve ark. (2023) Etiyopya'da BRSV prevalansı hayvan düzeyinde %36,4, sürü düzeyinde %93,9 bildirmişler, küçük, orta ve büyük ölçekli sürülerde sırasıyla %29; %31 ve %34,2 olarak tespit ederek sürü boyutuna göre seropozitifliğin arttığını ortaya koymuşlardır. İstatistiksel bir önemi olmayan cinsiyet ve vücut skorunun aksine 2 yaşın üzerindeki gruplarda seropozitifliğin daha yüksek olduğu ve yaş ile sürü boyutunun istatistiksel olarak önemli olduğu rapor edilmiştir. Zhou ve ark. (2023) Kuzeydoğu Çin'de 2016-2021 yılları arasındaki 5 yıllık süreçte BRD patojenlerini araştırmak amacıyla 81 sığıru çiftliğinden örnekledikleri 160 sığırdan akciğer örneğinin %5,5'inde BRSV, %4,28'inde BPIV-3 tespit etmişlerdir. Araştırmada, BoHV-1 ve *H. somni*; BVDV ve *M. bovis*, *P. multocida*, *T. pyogenes* veya *Mann. haemolytica*; BPIV-3 ve *M. bovis*; BRSV ve *M. bovis*, *P. multocida* veya *T. pyogenes*; *P. multocida* ve *T. pyogenes*; ve *M. bovis* ve *T. pyogenes* veya *H. somni* enfeksiyöz ajanlarının ko-enfeksiyon eğilimi gösterdiği ve besi sığırlarının suppuratif veya kazeöz nekrotizan pnömoniyeye süt sığırlarından daha duyarlı olduğu rapor edilmiştir. Espana ve Casallas (2000) Bogota'da BRSV seroprevalansını %69 olarak bildirmişlerdir. Keştaitiené ve ark. (2009), Litvanya'da sığırlarda hayvan bazında %56,8; çiftlik bazında %7,7-100 arasında değişen seroprevalans oranları rapor etmişlerdir. Sharma ve ark.

(2017) Batı Hint adalarında sığır, koyun ve keçilerde BRSV seroprevalansını sırasıyla %5, %15 ve %3,3 bulmuşlardır. Türkiye’de BRSV enfeksiyonunun ilk serolojik verileri küçük aile işletmelerinde ve kamu işletmelerindeki sığırlarda serum nötralizasyon testi ile Burgu ve ark. (1990) tarafından ortaya konulmuştur. Burgu ve ark. (1990) %46,12 oranında BRSV spesifik nötralizan antikor varlığı tespit etmişlerdir. Sonraki yıllarda ülkemizde farklı coğrafi alanlardaki sığır populasyonlarında enfeksiyonun prevalansının %44,6-98,6 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Alkan ve ark. 1997; Çabalar ve Can-Şahna 2000; Yeşilbağ ve Güngör 2008; Güdek 2016). Son yıllarda gerçekleştirilen araştırmalarda; Güdek (2016) Aydın ili ve çevresindeki 5 süt sığırı işletmesinden örnekledikleri kan serumlarında BRSV seropozitifliğini işletme bazında %97,1-100; hayvan bazında %98,6; Öner ve Yeşilbağ (2018) Adıyaman’daki bir besi işletmesinde gerçekleştirdikleri serolojik çalışmada BRSV ve BPIV-3 seroprevalansını sırasıyla %97,1 ve %98,3; Karaotçu ve Yıldırım (2019) Denizli ve Burdur illerinde sığırlarda BRSV enfeksiyonunun seroprevalansı sırasıyla %68,38 ve %84,44 olarak tespit etmişlerdir.

Mandalarda BPIV-3 seroprevalansı, ülkemizde %11-26 (Akça ve ark. 2004; Müftüoğlu ve ark. 2021), dünyada %27,8-73,6 arasında bildirilmiştir (Lotfi ve ark. 2016; Goswami ve ark. 2017; Pastrana ve ark. 2022). Goswami ve ark. (2017) Hindistan’ın Punjab şehrinde süt sığırı ve manda karma yetiştiriciliğinin yapıldığı 40 adet işletmede mandalarda %27,8 oranında BPIV-3 spesifik antikor varlığı bildirmiştir. Lotfi ve ark. (2016) İran’ın Huzistan eyaletinin dokuz bölgesindeki manda popülasyonunda BPIV-3 için %45,2’lik seroprevalans saptamıştır. Pastrana ve ark. (2022), Kolombiya’da 37 çiftlikten 861 mandada gerçekleştirdikleri bir serolojik bir çalışmada toplam popülasyonda %73,6; çiftlik düzeyinde ise %100 seroprevalans oranları rapor etmiştir. Lotfi ve ark. (2016) İran’da yaptıkları araştırmada; ruminantlarda endemik olan enfeksiyonun yüksek prevalansa sahip olmasında canlı sığır ithalatının bir rolü olabileceğini ifade etmişlerdir. Müftüoğlu ve ark. (2021) bölgesel faktörler ve karma yetiştiricilik yapan işletmelerde BPIV-3 içeren ticari aşuların yaygın kullanımı nedeniyle virus popülasyonunda dinamik bir kaymanın olabileceğini rapor etmiştir.

Bununla birlikte, dünyada ve ülkemizde mandalarda BRSV (Akça ve ark. 2004; Goswami ve ark. 2017; Pastrana ve ark. 2022) enfeksiyonunun epidemiyolojisine yönelik çalışmalar ise sınırlı sayıdadır. Goswami ve ark. (2016)’nın Hindistan’ın Punjab şehrindeki süt sığırcılığı ve manda işletmelerinde gerçekleştirdikleri araştırmada sığırlarda %45,12; mandalarda %48,57 oranlarında BRSV seropozitifliği tespit edilmiştir. Örneklem alanları

istatistiksel olarak da önemli olduğu ifade edilen %27,27 ila %76,19 arasında değişen seropozitivite varyasyonları saptanmıştır. Bazı araştırmalar (Hazari ve ark. 2002; Goswami ve ark. 2016) mandalardaki yüksek BRSV prevalansını, bölgedeki yoğun manda popülasyonu, bölgeler arasındaki yoğun hayvan hareketleri, ırk duyarlılığı, yaş, ticaret hacmi, sürü boyutu, biyogüvenlik önlemleri, ortak mera kullanımı, ziyaretçi tipi ve sayısı gibi faktörlere bağlamaktadır (Solis-Calderon ve ark. 2007; Beaudeau ve ark. 2010; Goswami ve ark. 2017). Özellikle sürü yoğunluğunun fazla, canlı hayvan ticaretinin yoğun olduğu bölgeler ile organik sürülerle karşılaştırıldığında konvansiyonel sürülerde BRSV prevalansı daha yüksek bildirilmiştir (Beaudeau ve ark. 2010; Sarmiento-Silva ve ark. 2012). Ahmed ve ark. (2001) Mısır'da 1997-1999 yılları arasında örnekledikleri 205 nazal sıvap ve 408 manda serumunda gerçekleştirdikleri prevalans çalışmasında 3 manda buzağısı ve 1 ergin mandanın nazal sıvap örneğinden virüsü izole etmişler ve BRSV seroprevalansını %37,5 olarak bildirmişlerdir. Zhou ve ark. (2023) <3 aylıktan küçük sütçü buzağuların >3 aylıktan büyük besi buzağularına göre solunum sistemi enfeksiyonlarına daha duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. Ülkemizde Akça ve ark. (2004) mandalarda BRSV seropozitifliğini %28 oranında bildirmişlerdir.

Bu tez çalışmasında, BPIV-3 seroprevalansı hayvan bazında %88; işletme düzeyinde ise %33,3-100 arasında belirlendi. Karma yetiştiricilik yapılan işletmeler, dişi ve 3-<6 aylık yaş gruplarında seropozitiflik oranları yüksek olmasına karşın sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P<0,05$). Seropozitivite düzeyi için en yüksek (+5) oranlar ≥ 6 aylık yaş grubunda saptandı. Bu çalışmadaki BRSV seroprevalansı ise hayvan bazında %4; işletme düzeyinde ise %3,7-30 arasındaydı. BRSV seropozitiflik oranları da karma yetiştiricilik yapılan işletmeler, dişi ve 3-<6 aylık yaş gruplarında yüksek olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P<0,05$). Önceki araştırmalarda, her iki enfeksiyonda da yaşın önemli bir risk faktörü olduğu bildirilmektedir (İnce ve ark. 2022; Zhou ve ark. 2023; Zewde ve ark. 2023). Zhou ve ark. (2023) sığırların solunum sistemi hastalıkları kompleksinde yer alan ajanlara sütçü buzağılardan 3 aylıktan küçüklerin, besi buzağularının ise 3 aylıktan büyüklerin daha duyarlı olduğunu belirtmiştir. İnce ve ark. (2022) Afyonkarahisar ve Uşak illerindeki sığır sürülerinde yaptıkları araştırmada yaş, sürü tipi (süt/besi) ve sürü boyutunun BRSV seropozitifliğinde önemli risk parametreleri olduğunu belirtmişlerdir. Masiuk ve ark. (2019) kolostral antikoların fizyolojik katabolizma ile 63. günden itibaren buzağılarda seronegatifliğe döndüğünü, Fulton ve ark. (2004) ise aşı uygulanmayan sığırların buzağılarında PIV-3 ve BRSV maternal antikolarının seronegatiflik süresini sırasıyla $190,06\pm 58,3$ ve $186,7\pm 33,0$ olarak bildirilmektedirler. Her iki enfeksiyonda da hayvanlar

yaşamları boyunca reenfekte olabilmektedirler (Zewde ve ark. 2023). Bu çalışmada BPIV-3 ve düşük seropozitiviteye sahip BRSV değerlerinde yaş grupları yönünden oransal ve istatistiksel olarak büyük bir farklılık saptanmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada örneklenen manda popülasyonunda BPIV-3 sirkülasyonunun BRSV'na göre daha yoğun olduğu; 3-6 aylık grupta bazı hayvanlardaki antikörlerin maternal kaynaklı olabileceği ve 6 aylıktan büyük grupta saptanan antikörlerin ise maruziyetten kaynaklandığı düşünülmektedir.

Birçok araştırmada (Houe ve ark. 1995, Beaudeau ve ark. 2010; Sarmiento-Silva ve ark. 2012; Goswami ve ark. 2016; Goswami ve ark. 2017; Demil ve ark. 2021, İnce ve ark. 2022; Zewde ve ark. 2023) viral enfeksiyonların bölgesel ve ülkesel bazda epidemiyolojisini etkileyen başlıca faktörler arasında sürü yönetimi uygulamaları, ortak mera kullanımı, sürü büyüklüğü, hayvan panayırları, işletmeye yeni hayvan girişi, yaş grubu ve zayıf yönetim uygulamaları tanımlanmış, yaş ile yüksek seroprevalans ilişkisinin maruz kalma süresinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Yeşilbağ ve Güngör (2008) büyük kapasiteli süt sığırları işletmelerinde BRSV enfeksiyonunun küçük kapasiteli işletmelere nazaran çok daha yüksek oranlarda bulunduğu ve sürü kapasitesinin solunum yolu viral enfeksiyonlarında önemli bir risk oluşturduğunu açıklamışlardır. Zewde ve ark. (2023) dişilerde (%38,3) erkek sığırlara (%13,8) nazaran BRSV seroprevalansını daha yüksek buldukları çalışmalarında bu farklılığın dişilerin daha sık stresörlerle karşılaşmasının neden olduğu yatkınlıktan kaynaklanmış olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu çalışmada, BPIV-3 enfeksiyonunun seroprevalansının BRSV enfeksiyonunun seroprevalansından yüksek olmasına ve mandalarda gerçekleştirilen önceki araştırmalarla uyum göstermesine karşın enfeksiyonların epidemiyolojilerinin değerlendirilmesinde her örnekleme alanının sığırlarda aşılama program uygulamaları, mera rejimi, sürü büyüklüğü ve yoğunluğu ile hayvan ticaretinin ekonomik boyutu gibi değişken unsurları bünyesinde barındıran farklı epidemiyolojik dinamikleri olduğu da değerlendirilmelidir.

Bu araştırmada, manda kan örneklerinde BPIV-3 ve BRSV nükleik asitleri saptanamamıştır. Gencay ve Akça (2004) klinik ve/veya patolojik olarak solunum sistemi enfeksiyonu bulgularına sahip 141 adet koyunun 15 adedinde (%10,63) PIV-3 spesifik antikör varlığını göstermiş, nazal sıvap ve akciğer dokularında virus varlığını saptamalarına karşın mediastinal lenf dokuları ve lökosit örneklerinden virus tespiti gerçekleştirememişlerdir. Virus izolasyonu için enfeksiyonu takibeden 6 gün içinde üst solunum yolları sıvapları, sıvıları ve akciğer dokularından örnekleme yapılması gerektiğine dikkat çekmişlerdir. Sobhy ve ark. (2017) Mısır'da buzağı pnömonilerinde nazal sıvaplardan, Maidana ve ark. (2012)

mandalarda nazal ve vajinal sıvaplardan BPIV-3 izolasyonu ve karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. de Oliviera ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada aborte olmuş pulmoner lezyonlu sığır fötüslerin pnömonik akciğer dokularında BPIV-3 (%2,7) ve BRSV (%16,2) nükleik asitlerini tespit etmişlerdir. Socha ve ark. (2009) Polonya’da alt solunum sistemi enfeksiyonu bulguları gösteren 1 yaşlı hayvanlardan örneklenen 89 nazal sıvap ve 6 akciğer doku örneğinde virus izole edememiş ancak PCR ile sadece 3 nazal sıvapta BRSV saptamışlardır. Enfekte bir hayvanın kanında BRSV'nin varlığı ve virüsün solunum yollarıyla yayılma süresi çok kısa olduğundan tespit edilmesi zordur. Önceki çalışmalarda bu sürenin enfeksiyondan sonra 2 ila 5 gün arasında olduğu bildirilmiştir (West ve ark. 1998; Viuff ve ark 2002). Ayrıca, labil karakterde RNA virusları olan BPIV-3 ve BRSV örnekleme sonrası taşıma koşulları, dondurma-çözmeye oldukça duyarlı oldukları için virolojik teşhis olumsuz yönde etkilenebilmektedir (West ve ark. 1998; Ataseven 2002). Klinik bulgulu hayvanlardan virus tespitinin gerçekleştirildiği önceki araştırmaların aksine (Gencay ve Akça 2004; Maidana ve ark. 2012; Sobhy ve ark. 2017; de Oliviera ve ark. 2022), bu araştırmada virus tespiti yapılamamasının nedeninin sağlıklı görünümlü hayvanların örneklenmesi nedeniyle örnekleme zamanında subklinik akut enfeksiyon olmaması veya enfeksiyonunun geç döneminde örnekleme ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- ✓ Bu araştırmada, Hatay ilinde halk elinde yetiştirilen manda popülasyonunda sığırların solunum sistemi hastalıkları kompleksinde yer alan iki önemli viral ajan olan BPIV-3 ve BRSV seroprevalanslarının belirlenmesi ile örneklenen manda popülasyonunda BPIV-3 enfeksiyonun yüksek, BRSV enfeksiyonunun ise düşük seroprevalansa sahip olduğu anlaşılmıştır. Bu araştırmadaki sonuçlar doğrultusunda manda popülasyonunda BPIV-3 ve BRSV enfeksiyonlarının kontrol ve mücadelesinde;
- ✓ Örneklenen manda popülasyonunda belirli aralıklarla her iki enfeksiyona yönelik epidemiyolojik taramalarının yapılması,
- ✓ Rutin taramalarda risk faktörlerinin araştırılarak her iki enfeksiyonun mandalardaki epidemiyolojisinin aydınlatılması,
- ✓ Sığır yetiştiriciliğindeki biyogüvenlik tedbirlerinin ve uygulanan aşılamaların manda yetiştiriciliğinde de korunma protokollerine eklenmesi önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. **Ahmed AAS, Shalaby MA, Baki MEA.** Detection and isolation of bovine respiratory syncytial virus in buffaloes. *Doktora Tezi, Cairo Univ, Mısır*, **2001**
2. **Akça Y, Burgu I, Gür S , Dağalp SB.** A study on investigation of occurrence of some virus infection in Buffaloes in Turkey. *Revue de médecine vétérinaire*, **2004**, s.156: 268-271
3. **Akpınar RK, Çitil M.** Samsun Yöresindeki Viral Solunum Sistemi Hastalıkları Kompleksinin Klinik, Hematolojik ve Akut Faz Proteinleri Yönünden Araştırılması Sağlık Bilimleri Dergisi, *Journal of Health Sciences* , **2022** , s. 31: 36-44
4. **Albayrak H, Yazici Z, Ozan E, Tamer C, Abd El Wahed A, Wehner S, Ulrich K, Weidmann M.** Characterisation of the First Bovine Parainfluenza Virus 3 Isolate Detected in Cattle in Turkey. *Veterinary Sciences* , **2019**, s.6: 56
5. **Alkan F, Özkul A, Karaoğlu MT, Bilge S, Akça Y.** Sığırlarda viral nedenli solunum sistemi enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **1997** , s.44: 1-8
6. **Almeida RS, Spilkib FR, Roehb PM, Arns CW.** Detection of Brazilian bovine respiratory syncytial virus strain by a reverse transcriptase-nested-polymerase chain reaction in experimentally infected calves. *Veterinary Microbiology*, **2005**, s.105: 131–135
7. **Alpay G, Tuncer P, Yeşilbağ K.** Bir ada ekosistemindeki sığır, koyun ve keçilerde bazı viral enfeksiyonların serolojik olarak araştırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2014**, s.61: 43-48
8. **Altun S, Özdemir S, Sağlam YS.** The Presence and Prevalence of Bovine Parainfluenza 3 (BPIV-3), Bovine Papillomaviruses (BPV), Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) in Subclinical Mastitis in Cattle. *Kocatepe Veterinary Journal*, **2019**, 12(2): 135-143
9. **Antonis AFG, Schrijver RS, Daus F, Steverink PJGM, Stockhofe N, Hensen EJ, Langedijk JPM, van der Most RG.** Vaccine-Induced Immunopathology during Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection: Exploring the Parameters of Pathogenesis. *Journal of Virology* , **2003**, s.77: 12067–12073
10. **Ataseven VS.** Koyunlarda respiratory syncytial virus (RSV) enfeksiyonunun direkt floresan antikor ve mikronötralizasyon testleri ile araştırılması. *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, **2002**, Doktora Tezi, Ankara.
11. **Ataseven VS, Başaran Z, Yılmaz V, Dağalp SB.** Van Bölgesi Keçilerinde Parainfluenza Virus-3 (PIV-3) ve Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) Enfeksiyonlarının Seroprevalansı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2010** , s.21: 7 – 9
12. **Ataseven VS.** Bölüm Pneumoviridae Ailesi Bovine Respiratory Syncytial Virus, Veteriner Viroloji Hayvanların Viral Hastalıkları. **2021a**
13. **Ataseven, VS.** Bölüm Paramyxoviridae Ailesi Bovine Parainfluenza Virus Enfeksiyonu. İç. Veteriner Viroloji Hayvanların Viral Hastalıkları., **2021b**.
14. **Baker JC, Ames TR, Markham RJ.** Serologic studies of bovine respiratory syncytial virus in Minnesota cattle. *American Journal of Veterinary Research*, **1985**, s. 46, 891-892
15. **Barry J, Bokkers EAM, Sayers R, Murphy JP, Boer IJM, Kennedy E.** Effect of feeding single-dam or pooled colostrum on maternally derived immunity in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, **2022**, s.105: 560–571
16. **Beaudeau F, Björkman C, Alenius S, Frössling J.** Research Spatial patterns of Bovine Corona Virus and Bovine Respiratory Syncytial Virus in the Swedish beef cattle population. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **2010**, s. 52:33
17. **Berg M, Moreno-López J.** Mononegaviruses in Veterinary Importance Volume I. Bovine Parainfluenza Virus 3, Chapter 9, **2013**, s.160- 171
18. **Burgu I , Toker A , Akca Y , Alkan F.** A seroepidemiologic study of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) in Turkey. *DTW. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **1990**, s.97 (2): 88-89
19. **Bryson G, Adair BM , McNulty MS, McAliskey M , Bradford HEL, Allan GM, Evans RT , Forster F.** Studies on the efficacy of intranasal vaccination for the prevention of experimentally induced parainfluenza type 3 virus pneumonia in calves. *Veterinary Record*, **1999**, s.145: 33-39
20. **Chase CCL, Hurley DJ, Reber AJ.** Neonatal Immune Development in the Calf and Its Impact on Vaccine Response. *Clinics of North America: Food Animal Practice*, **2008** , s.24: 87–104
21. **Chávez DF, Correa JCS, García-Márquez LJ, Rubio AP, Flores AGV.** Detection of antibodies and risk factors for infection with bovine respiratory syncytial virus and parainfluenza virus 3 in dual-purpose farms in Colima, Mexico. *Tropical Animal Health and Production* , **2012** , s.44: 1417–1421

22. **Contreras España AD, Parra Casallas JC.** Detección indirecta del Virus Respiratorio Sincitial Bovino VRSB en sueros provenientes de la sabana de Bogotá y zonas aledañas. 2000, https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/745 (Erişim: 14.12.2023)
23. **Costa M, Garcia L, Yunus AS, Rockemann DD, Samal SK, Cristina J.** Bovine respiratory syncytial virus: first serological evidence in Uruguay. *Veterinary Research*, **2000**, s. 31, 241–246
24. **Çabalar M, Ataseven VS.** Van yöresinde koyunlarda parainfluenza virus 3 (PI-3), bovine herpesvirus 1 (BHV-1) ve respiratory syncytial virus (RSV) enfeksiyonlarının serolojik olarak araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **1999**, s.5, 73-78
25. **Çabalar M, Can-Şahna K.** Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Süt Sığırlarında Parainfluenza Virus-3, Bovine Herpes Virus-1 ve Respiratory Syncytial Virus Enfeksiyonlarının Seroepidemiolojisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2000**, s.11: 101- 105
26. **Demil E, Fentie T, Vidal G, Jackson W, Lane J, Mekonnen SA, Smith W.** Prevalence of bovine viral diarrhoea virus antibodies and risk factors in dairy cattle in Gondar city, Northwest Ethiopia. *Preventive Veterinary Medicine*, **2021**, s. 191:105363
27. **Durbin RK, Kotenko SV, Durbin JE.** Interferon induction and function at the mucosal surface. *Immunological Reviews*, **2013**, s. 255: 25–39
28. **Elankumaran S.** Bovine Parainfluenza Virus 3. Mononegaviruses Of Veterinary Importance, **2013**
29. **Ellis JA, Gow S, West K., Waldner C, Rhodes C, Mutwiri G, Rosenberg HF.** Response of calves to challenge exposure with virulent bovine respiratory syncytial virus following intranasal administration of vaccines formulated for parenteral administration. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2007**. s.230:233–243
30. **Ellis JA.** Bovine Parainfluenza - 3 Virus. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, **2010**, s.26: 575–593
31. **Ellis JA.** Bovine Respiratory Syncytial Virus. İç. Mononegaviruses in Veterinary Importance Volume I. **2013a**
32. **Ellis JA, Gow SP, Mahan S, Leyh R.** Duration of immunity to experimental infection with bovine respiratory syncytial virus following intranasal vaccination of young passively immune calves. *Journal of The American Veterinary Medical Association*, **2013b**, s. 243: 1602-1608
33. **Ellis JA.** How efficacious are vaccines against bovine respiratory syncytial virus in cattle? *Veterinary Microbiology*, **2016**, s. 206: 59–68
34. **Ellis JA, Chamorro MF, Lacoste S, Gow, S.P., Haines, D.M.** Bovine respiratory syncytial virus-specific IgG-1 in nasal secretions of colostrum-fed neonatal calves . *The Canadian Veterinary Journal*, **2018**, s.59: 505–508
35. **Ertürk A, Çizmeçi ŞG, Barut MF.** Sığır Solunum Sistemi Enfeksiyonlarının Viral Etiyolojisi (2002-2005). *Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 2006, 17, s: 29-42.
36. **Ferella A, Aguirreburualde MSP, Margineda C, Aznar N, Sammarruco A, Santos MJD., Mozgovoj, M.** Bovine respiratory syncytial virus seroprevalence and risk factors in feedlot cattle from Córdoba and Santa Fe, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, **2018**, s.50: 275-279
37. **Frank GH.** Parainfluenza Type 3. İç. Veterinary Diagnostic Virology, **1993**
38. **Fulton RW, Briggs RE, Payton ME.** Maternally derived humoral immunity to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) 1a, BVDV1b, BVDV2, bovine herpesvirus-1, parainfluenza-3 virus bovine respiratory syncytial virus, Mannheimia haemolytica and Pasteurella multocida in beef calves, antibody decline by half-life studies and effect on response to vaccination. *Vaccine*, **2004**, s.22: 643–649
39. **Gencay A, Akça Y.** Direkt İmmunofloresan ve Mikronötralizasyon Testleri ile Koyunlarda Parainfluenza-3 (PI-3) Virus Enfeksiyonunun Araştırılması. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2004**, 1 (2):91-96
40. **Gershwin LJ, Schelegle ES, Gunther RA, Anderson ML, Woolums AR, Larochelle DR, Boyle GA, Friebertshausen KE, Singer RS.** A bovine model of vaccine enhanced respiratory syncytial virus pathophysiology. *Vaccine*, **1998**, s. 16:1225–1236
41. **Glass EJ, Baxter R, Leach RJ, Jann OC.** Genes controlling vaccine responses and disease resistance to respiratory viral pathogens in cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **2012**, s. 148: 90–99.
42. **Goswami P, Banga S, Deshmukh ND, Singh V, Mahajan V, Brar RS.** Sero-prevalance of Bovine Respiratory Syncytial Virus in Bovine in Punjab, North India. *Journal Of Animal Research*. **2016**. s.6:67-73
43. **Goswami P, Banga HS, Mahajan V, Singh ND, Deshmukh S, Brar RS.** Detection of Multiple Antibodies and Risk Factor Association of Common Respiratory Viruses in the State of Punjab, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **2017**, s. 6: 567-577
44. **Gulliksen SM, Jor E, Lie KI, Løken T, Åkerstedt J, Østerås O.** Respiratory infections in Norwegian dairy calves. *Journal of Dairy Science*, **2009**, s. 92: 5139–5146
45. **Guzman E, Taylor G.** Immunology of bovine respiratory syncytial virus in calves. *Molecular Immunology*, **2014**, s. 66: 48–56

46. **Güdek, M.** Aydın ili ve çevresindeki süt sığırcılığı işletmelerinde bovine respiratory syncytial virus (BRSV) enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, **2016**, Yüksek Lisans Tezi, Aydın
47. **Gür S, Gencay A, Birdane FM.** Serological evaluation of precolostral Bovine Parainfluenza 3 Virus infection in an organised dairy herd. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, **2020**, 31 (1): 1-6
48. **Hacıoğlu İH, Coşkun N, Duran Yelken S, Sevinç S, Alkan F.** Phylogenetic Analysis of Bovine Respiratory Syncytial Virus from Calves with Respiratory Disorders. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2019**, s. 25 : 251-256
49. **Hazari S, Panda HK, Kar BC, Das BR.** Comparative evaluation of indirect and sandwich ELISA for the detection of antibodies to bovine respiratory syncytial virus (BRSV) in dairy cattle, *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, **2002**, 25, s: 59-68
50. **Hoppe IBAL, Ramos de Medeiros AS, Arns CW, Samara SI.** Bovine respiratory syncytial virus seroprevalence and risk factors in nonvaccinated dairy cattle herds in Brazil. *BMC Veterinary Research*, **2018** , s. 14: 208
51. **Horwood PF, Gravel JL ve Mahony TJ** .Identification of two distinct bovine parainfluenza virus type 3 genotypes. *Journal of General Virology*, **2008**, s.89:1643–1648
52. **Houe H, Baker JC, Maes AK, Lloyd JW ve Enevoldsen C.** Comparison of the prevalence and incidence of infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in Denmark and Michigan and association with possible risk factors. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **1995**, s. 36; 521-531
53. **International Committee of Virus Taxonomy (ICTV) Reports.** Pneumoviridae. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/negative-sense-rna-viruses/w/pneumoviridae , **2017**
54. **International Committee of Virus Taxonomy (ICTV) Reports.** Paramyxoviridae. https://talk.ictvonline.org/ictvreports/ictv_online_report/negative-sense-rna-viruses/w/paramyxoviridae . **2019**
55. **İnce ÖB, Şevik M, Özgür EG, Sait A.** Risk factors and genetic characterization of bovine respiratory syncytial virus in the inner Aegean Region, Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, **2022** , 54 s: 4
56. **Kadiroğlu B, Aytoğu G, Yeşilbağ K.** Diyarbakır İlinde Yetiştirilen Ruminantlarda Solunum Sistemi Viruslarının Seroprevalansı ve Pestivirus Varlığının Araştırılması. *Journal of Research in Veterinary Medicine*, **2020** , s. 39: 26-33
57. **Kamdi B, Singh R, Singh V, Singh S, Kumar P, Singh KP, George N, Dhama K.** Immunofluorescence and molecular diagnosis of bovine respiratory syncytial virus and bovine parainfluenza virus in the naturally infected young cattle and buffaloes from India. *Microbial Pathogenesis*, **2020** , s.145 104165
58. **Karaoğlu A, Yıldırım Y.** Denizli ve Burdur Yöresindeki Sığırlarda Bovine Respiratory Syncytial Virus Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması. *MAKU Journal of Health Science Institute*, **2019**, 7, 114-123
59. **Katoch S, Dohru S, Sharma M, Vashist V, Chahota R, Dhar P, Thakur A, Verma S.** Seroprevalence of viral and bacterial diseases among the bovines in Himachal Pradesh, India. *Veterinary World*, **2017**, s. 10: 1421-1426
60. **Kęstaitienė K, Šalomskas A, Jacevičius E, Petkevičius S, Lelešius R, Mockeliūnas R, Liutkevičienė V.** Prevalence Of Bovine Parainfluenza 3 and Respiratory Syncytial Virus in Lithuanian Cattle. *Veterinarija ir Zootechnika*, **2009**, s. 47: 32-36
61. **Kimman TG, Westenbrink F, Straver PJ.** 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*, **1989**, s.22: 145–160
62. **King T, Jenkins T, Chaiwatpongsakorn S, Peeples M.E.** Respiratory Syncytial Virus (Pneumoviridae) İç. *Encyclopedia Of Virology*, 4.ed, **2021**
63. **Kirkpatrick J, Fulton RW, Burge LJ, Dubois WR, Payton M.** Passively Transferred Immunity i~ Newborn Calves, Rate of Antibody Decay, and Effect on Subsequent Vaccination with Modified Live Virus Vaccine. *The Bovine Practitioner*, **2001**, s. 35: 47-55
64. **Kirchhoff J.** Infection of differentiated epithelial cells by viruses of the bovine respiratory disease complex. University of Veterinary Medicine Hannover Institute of Virology, Doktora Tezi, **2014**, elib.tiho-hannover.de
65. **Klem TB, Gulliksen SM, Lie KI, Loken T, Østerås O, Stokstad M.** Bovine respiratory syncytial virus: infection dynamics within and between herds. *Veterinary Record* , **2013**, 16,Sy: 1-6
66. **Kolb EA, Buterbaugh RE, Rinehart CL, Ensley D, Perry GA, Abdelsalam KW, Chase CCL.** Protection against bovine respiratory syncytial virus in calves vaccinated with adjuvanted modified live vaccine administered in the face of maternal antibody. *Vaccine*, **2019**, s. 38: 298-308

67. **Konishi M, Ohkura T, Shimizu M, Akiyama M, Kameyama K, Takeuchi K.** Complete Genome Sequence of the First Isolate of Genotype C Bovine Parainfluenza Virus Type 3 in Japan. *Genome Announc.* **2014**, s.2(6):e01215-14
68. **Küçük A, Yıldırım Y.** Antigenic and histopathologic evaluation, with molecular characterization and identification of BPIV3 in cattle with respiratory system infections. *Large Animal Review*, **2022**, s. 28: 123-130
69. **Lamontagne L, Descoteaux JP, Roy R.** 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* **1985**; 49: 424-428
70. **Larsen LE.** Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV): A review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **2000**, s. 41: 1-24
71. **Lefverman C.** Evaluation of the Economic Impact and Description of a BRSV-outbreak in a Dairy Herd.
72. *Degree Project in Veterinary Medicine*, Uppsala, İsveç, **2018**
73. **Lotfi MA, Morteza KB, Navidpour SC.** Seroepidemiological assay of water buffalo (*Bubalus Bubalis*) enzootic pneumonia agents (BVDV, BHV-1, bPI3V) in Khuzestan province of Iran. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*, **2016**, s. 3: 213-216
74. **Maidana SS, Lomonaco PM, Combessies G, Craig MI, Diodati J, Rodriguez D, Parreño V, Zabal O, Konrad JL, Crudelli G, Mauroy A, Thiry E, Romera SA.** Isolation and characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Argentina. *BMC Veterinary Research*, **2012**, s. 8:83
75. **Mahmoud MA, Allam AM.** Seroprevalence of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), Bovine Herpes Virus Type 1 (BHV-1), Parainfluenza Type 3 Virus (PI-3V) and Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) among non Vaccinated Cattle. *Global Veterinaria*, **2013**, s. 10: 348-353
76. **Makoschey B, Berge AC.** Review on bovine respiratory syncytial virus and bovine parainfluenza – usual suspects in bovine respiratory disease – a narrative review. *BMC Veterinary Research*, **2021**, s.17:261
77. **Masiuk DM, Kokariev AV, Vasilenko TO, Krutii KO.** The formation of colostral immunity and its duration in calves during the first months of life. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, **2019**, s. 2: 3-5
78. **McGill JL, Sacco RE.** The immunology of bovine respiratory disease:Recent Advancements. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal*, **2020**, s.36: 333–348
79. **Michel JE, Lorek M, Baxmann D, Grunwald T, Keil GM, Zimmer G.** The fusion protein of respiratory syncytial virus triggers p53-dependent apoptosis. *Journal of Virology*, **2008**, s. 82: 3236 -3249
80. **Moore SJ, Mark A, O’Dea, Nigel Perkins, O’Hara AJ.** Estimation of nasal shedding and seroprevalence of organisms known to be associated with bovine respiratory disease in Australian live export cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **2015**, s.27: 6–17
81. **Motha J, Hansen M,** Serological survey for bovine respiratory syncytial virus in New Zealand. *Surveillance*, **1997**, s. 24: 28
82. **Murphy FA, Paul E, Gibbs J, Horzinek MC, Studdert MJ.** Paramyxoviridae. İç. *Veterinary Virology*, **1999**, 3rd ed, New York: Academic Press
83. **Müftüoğlu B, Kurucay HN, Elhag AE, Yildirim S, Cicek-Yildiz Y, Tamer C, Ozan E, Sahna KC, Yıldırım Y, Albayrak H, Okur-Gumusova S, Yazici Z.** A serosurvey for bovine respirovirus 3 in Turkish domestic ruminants: The first comparison study of A and C genotypes. *Veterinary Medicine and Science*, **2021**, s. 7: 1625–1632
84. **Neill JD, Ridpath JF ve Valayudhan BT.** Identification and genome characterization of genotype B and genotype C bovine parainfluenza type 3 viruses isolated in the United States. *BMC Veterinary Research*, **2015**, s.11:112
85. **Noor A, Krilov LR.** Respiratory syncytial virus vaccine: where are we now and what comes next? *Expert Opinion on Biological Therapy*, **2018**, s. 18: 1247-1256
86. **Nuijten P, Cleton N, van der Loop J, Makoschey B, Pulskens W ve Vertenten G.** Early activation of the innate immunity and specific cellular immune pathways after vaccination with a live intranasal viral vaccine and challenge with bovine parainfluenza type 3 virus. *Vaccines*, **2022**, s. 10: 104
87. **Obando RC, Hidalgo M, Merza M.** Seroprevalence to bovine virus diarrhoea virus and other viruses of the bovine respiratory complex in Venezuela (Apure State). *Preventive Veterinary Medicine*, **1999**, s. 41: 271-278
88. **Oem JK, Lee EY, Lee KK, Kim SH, Lee MH, Hyun BH.** Molecular characterization of a Korean bovine parainfluenza virus type 3 isolate. *Veterinary Microbiology*, **2013**, s.162:224–227
89. **Okur-Gümüşova S, Yazıcı Z, Albayrak H, Çakiroğlu D.** Seroprevalence of bovine viral respiratory diseases. *Acta Veterinaria (Beograd)*, **2007**, 57, s.11-16

90. **de Oliveira TES, Scuisato GS, Fritzen JTT, Silva DC, Massi RP, Pelaquim IF, Silva LE, Flores EF, Lima Santos R, Pretto-Giordano LG, Lisbôa JAN, Alfieri AA, Headley SA.** Infectious Disease Agents Associated with Pulmonary Alterations in Aborted Bovine Fetuses. *Animals*, **2022**, 12(13):1596
91. **Öner EB, Yeşilbağ K.** Besi sığırlarında solunum sistemi virüslerinin seroprevalansı ve persiste BVD virüs enfeksiyonu tespiti. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2018**; 65, s: 1-7
92. **Paccaud MF, Jacquier C.** A Respiratory Syncytial Virus of Bovine Origin. *Archiv für die gesamte Virusforschung*, **1970**,s. 30: 327-342
93. **Pardon B, De Bleecker K, Dewulf J, Callens J, Boyen F, Cattray B, Deprez P.** Prevalence of respiratory pathogens in diseased, non-vaccinated, routinely medicated veal calves. *Veterinary Record*, **2011**. s. 169: 278
94. **Pardon B, Alliet J, Boone R, Roelandt S, Valgaeren B, Depreza P.** Prediction of respiratory disease and diarrhea in veal calves based on immunoglobulin levels and the serostatus for respiratory pathogens measured at arrival. *Preventive Veterinary Medicine*, **2015**, s.120: 169–176
95. **Pastrana MEO, Carrascal-Triana E, Ramos MD, Ortega DO.** Seroprevalence and associated factors of viral agents of the bovine respiratory disease complex in buffaloes of Colombia. *Ciência Rural, Santa Maria*, **2022**, v.52:8, e20210215
96. **Roshtkhari F, Mohammadi G, Mayameei A.** Serological evaluation of relationship between viral pathogens (BHV-1, BVDV, BRSV, PI-3V, and Adeno3) and dairy calf pneumonia by indirect ELISA. *Tropical Animal Health and Production*, **2012**, s. 44: 1105-1110
97. **Rossi CR, Kiesel GK.** Serological Evidence for the Association of Bovine Respiratory Syncytial Virus with Respiratory Tract Disease in Alabama Cattle. *Infection and Immunity*, **1974**, s. 10 : 293-298
98. **Saa LR, Perea A, Jara DV, Arenas AJ, Garcia-Bocanegra I, Borge C, Carboner A.** Prevalence of and risk factors for bovine respiratory syncytial virus (BRSV) infection in non-vaccinated dairy and dual-purpose cattle herds in Ecuador. *Tropical Animal Health and Production*, **2012**, s. 44: 1423–1427
99. **Sarmiento-Silva RE, Nakamura-Lopez Y, Vaughan G.** Epidemiology, Molecular Epidemiology and Evolution of Bovine Respiratory Syncytial Virus. *Viruses*, **2012**, s. 4: 3452-3467
100. **Sharma RN, Tiwari K, Williams S, Valdez MD, Wing CT, DeAllie C.** Detection of antibodies against bovine respiratory syncytial virus in ruminants of Grenada, West Indies. *Journal of Animal Research*, **2017**, s. 7: 223-226
101. **Sherwin G, Down P.** Calf immunology and the role of vaccinations in dairy calves. *In Practice*, **2018**, s.40: 102-114
102. **Sihvonen TT.** Implementation of biosecurity measures and association with herd-level prevalence of selected endemic infectious diseases in Estonian dairy cattle herds. Estonian University Of Life Sciences, Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Final Tezi, **2021**
103. **Sobhy NM, Mor SK, Bastawcy IM, Fakhry HM, Youssef CRB, Goya SM.** Surveillance, isolation and complete genome sequence of bovine parainfluenza virus type 3 in Egyptian cattle. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, **2017**, s.5:8–13
104. **Socha W, Larska M, Rola J.** Molecular Characterisation of The First Polish Isolates of Bovine Respiratory Syncytial Virus. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, **2009**, 53, 569-574
105. **Solis-Calderon JJ, Segura-Correa JC, Aguilar-Romero F, Segura-Correa VM.** Detection of antibodies and risk factors for infection with bovine respiratory syncytial virus and parainfluenza virus-3 in beef cattle of Yucatan, Mexico. *Preventive Veterinary Medicine*, **2007**, s. 82: 102–110
106. **Srikumaran S, Clayton L, Kelling and Aruna Ambagala.** Immune evasion by pathogens of bovine respiratory disease complex. *Animal Health Research Reviews*, **2007**, s. 8: 215–229
107. **TC Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Teşhiste Metot Birliği** Bovine Respiratory Syncytial Virus Enfeksiyonunun Serolojik Tanısı. İç., **2014**, 140-155a
108. **TC Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Teşhiste Metot Birliği**, Parainfluenza-3 Virus (PI-3) Enfeksiyonunun Etken İzolasyonu ve İdentifikasyonu (IFAT). İç. **2014**, 195-204b
109. **Timurkan MO, Aydın H, Sait A.** Identification and molecular characterisation of bovine parainfluenza virus-3 and bovine respiratory syncytial virus - first report from Turkey. *Journal of Veterinary Research*, **2019**, s. 63: 167-173
110. **Toftaker I.** Epidemiologic studies of bovine respiratory syncytial virus and bovine coronavirus in Norway. *Norwegian University of Life Sciences Faculty of Veterinary Medicine*, Doktora Tezi, **2019**
111. **Toker EB.** Klinik ve Nekropsi Örneklerinde Sığır Solunum Sistemi Virüslerinin Moleküler Teşhisi Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi. Doktora Tezi, **2019**
112. **Valarcher JF, Bourhy H, Lavenu A, Bourges-Abella N, Roth M, Andreoletti O, Ave P, Schelcher F.** Persistent Infection of B Lymphocytes by Bovine Respiratory Syncytial Virus. *Virology*, **2001**, s. 291: 55–67
113. **Valarcher JF, Taylor G.** Bovine respiratory syncytial virus infection. *Vet. Res.*, **2007**, 38, Sy:153–180

114. Valarcher JF, Hägglund S, Näslund K, Jouneau L, Malmström E, Boulesteix O, Pinard A, Leguéré D, Deslis A, Gauthier D, Dubuquoy C, Pietralunga V, Rémot A, Falk A, Shevchenko G, Bergström Lind S, Von Brömssen C, Vargmar K, Zhang B, Kwong PD, Rodriguez MJ, Duran MG, Schwartz-Cornil I, Taylor G, Riffault S. Single-Shot Vaccines against Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV): Comparative Evaluation of Long-Term Protection after Immunization in the Presence of BRSV-Specific Maternal Antibodies, *Vaccines*, **2021**, 9, s.236
115. Vilcek S., Elvander M., Ballagi-Pordány A., Belák S. Development of nested PCR assays for detection of bovine respiratory syncytial virus in clinical samples. *J Clin Microbiol*, **1994**, 32, 2225--2231
116. Viuff B, Tjørnehøj K, Larsen LE, Røntved CM, Uttenthal A, Rønsholt 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. *American Journal of Pathology*, **2002**, 161, s: 2195–2207
117. Walsh P, Lebedev M, McEligot H, Mutua V, Bang H, Gershwin LJ. A randomized controlled trial of a combination of antiviral and nonsteroidal anti-inflammatory treatment in a bovine model of respiratory syncytial virus infection. *PLoS One*, **2020**, s. 15: e0230245
118. West K, Bogdan J, Hamel A, Nayar G, Morley PS, Haines DM, Ellis JA. A comparison of diagnostic methods for the detection of bovine respiratory syncytial virus in experimental clinical specimens. *Canadian Journal of Veterinary Research*, **1998**, 62, s: 245-250
119. Xue W, Ellis J, Mattick D, Smith L, Brady R, Trigo E. Immunogenicity of a modified-live virus vaccine against bovine viral diarrhoea virus types 1 and 2, infectious bovine rhinotracheitis virus, bovine parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus when administered intranasally in young calves. *Vaccine*, **2010**, s. 28: 3784–3792
120. Yıldırım Y, Yılmaz V, Faraji Majarhashin AR. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Sınır İllerinde Bulunan Sığırlarda Viral Solunum Sistemi Enfeksiyonlarının Seroprevalansı. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2009**, s. 15: 601-606
121. Yeşilbağ K, Güngör B. Seroprevalence of bovine respiratory viruses in North-Western Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, **2008**, s. 40: 55–60
122. Yeşilbağ K, Güngör B. Antibody prevalence against respiratory viruses in sheep and goats in North-Western Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, **2009**, s. 41, 421-425
123. Zewde D, Gameda G, Mokonen GA, Guyassa C, Assefa L. Sero-Prevalence and Assessment of Presumed Risk Factors for Bovine Respiratory Syncytial Virus in and Around Sebeta Town, Ethiopia. *Open Access Journal of Veterinary Science & Research*, **2023**, 8 (1), s: 000236
124. Zhou Y, Shao Z, Dai G, Li X, Xiang Y, Jiang S, Zhang Z, Ren Y, Zhu Z, Fan C, Zhang G. Pathogenic infection characteristics and risk factors for bovine respiratory disease complex based on the detection of lung pathogens in dead cattle in northeast China. *Journal of Dairy Science*, **2023**, s. 106: 589-606
125. Zhu YM, Shi HF, Gao YR, Xin JQ, Liu NH, Xiang WH, Ren XG, Feng JK, Zhao LP, Xue F. Isolation and genetic characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from cattle in China. *Veterinary Microbiology*, **2011**, s.149:446–451

ÖZGEÇMİŞ

İlk ve ortaöğrenimini İskenderun'da tamamladı. 2018 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden mezun oldu. 2020 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı.





T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-40595970-604.01.01-70355
Konu : Prof. Dr. Veysel Soydal ATASEVEN

19/08/2021

**SAYIN PROF.DR. VEYSEL SOYDAL ATASEVEN
ÖĞRETİM ÜYESİ**

İlgi : 10/08/2021 tarihli 14783637-604.01.01-67733 sayılı yazı.

Kurulumuzun 18/08/2021 tarihli toplantısında almış olduğu 2021/05-09 numaralı karar aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

KARAR 2021/05-09 Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Veysel Soydal ATASEVEN'in (Viroloji AD) yürütücüsü olduğu ve Veteriner Hekim Alpay DEMİRAL'ın ortak çalışmaları "*Hatay İlinde Halk Elinde Yetiştirilen Mandalarda Sığırların Respiratorik Sinsityal Virus (BRSV) ve Parainfluenza Virus Tip 3 (BPIV-3) Enfeksiyonlarının Prevalansı*" adlı proje Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına oybirliğiyle karar verilmiştir.

Doç.Dr. Altuğ KÜÇÜKGÜL
Kurul Başkanı V.

Mevcut Elektronik İmzalar

ALTUĞ KÜÇÜKGÜL - Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (Kurul Başkanı V.) - 19/08/2021

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu :BSN6J0ATAF Pin Kodu :48862

Keşif Adresi:mku@hs01.kep.tr

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/hmku-ebys>

Bilgi için: Hükümet Ardılı
Unvanı: Veri Hazırlama ve Kontrol
İşletmeni
Tel No: 3262455845



Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ETİK BEYAN

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Hatay İlinde Halk Elinde Yetiştirilen Mandalarda Sığırların Respiratorik Sinsityal Virus (BRSV) ve Parainfluenza Virus Tip 3 (BPIV-3) Enfeksiyonlarının Prevalansı” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler ve yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim. 18/01/2024

Veteriner Hekim Mehmet Alpay DEMİRAL
Yüksek Lisans Öğrencisi