



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



KOYUN SÜRÜLERİNDE PPR VİRUS AŞILAMASI SONRASI SIVISAL BAĞIŞIK YANITIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hiba Hashim Mohamed ALİ

**VİROLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Aykut ÖZKUL**

**ANKARA
2019**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOYUN SÜRÜLERİNDE PPR VİRUS AŞILAMASI SONRASI
SIVISAL BAĞIŞIK YANITIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hiba Hashim Mohamed ALİ

**VİROLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Aykut ÖZKUL**

**ANKARA
2019**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Koyun sürülerinde PPR virus aşılması sonrası sıvısal bağışık yanıtın değerlendirilmesi” 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, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Hiba Hashim Mohamed Ali

Tarihi: 6/3/2019


İmza: 


KABUL ve ONAY

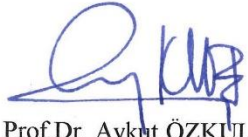
Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Viroloji Anabilim Dalında
Hiba Hashim MOHAMED ALİ tarafından hazırlanan
“Koyun Sürülerinde PPR Virus Aşılama Sonrası Sıvısal Bağışık Yanıtın Değerlendirilmesi”
adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak
OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile kabul / ~~red~~ edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06.03.2019

Prof.Dr. Yılmaz AKÇA
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı


Prof.Dr. Yakup YILDIRIM
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Raportör


Prof.Dr. Hakan YARDIMCI
Ankara Üniversitesi
Üye


Prof.Dr. Aykut ÖZKUL
Ankara Üniversitesi
Üye


Prof.Dr. V. Soydal ATASEVEN
Mustafa Kemal Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof.Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Tarihçe	1
1.2. Etken ve Sınıflandırma	3
1.3. PPRV Çoğaltma	10
1.4. Coğrafi Dağılımı	11
1.5. Patogenez	13
1.6. Klinik Semptomlar	14
1.7. Epidemiyoloji	15
1.7.1 Bulaşma	15
1.7.2. Konakçı Duyarlılığı	16
1.8. PPRV'ye Karşı Bağışıklık	17
1.8.1. Pasif Bağışıklık	17
1.8.2. Aktif Bağışıklık	18
1.8.3. PPRV'ye Karşı Hücresel Bağışıklık	18
1.8.4. PPRV'ye Karşı Humoral Bağışıklık	19
1.8.5. PPRV ile Uyarılan Apoptoz	20
1.8.6. PPRV'ye Karşı Sitokin Yanıtları	21
1.8.7. PPRV'ye Bağlı İmmünsüpresyon	22
1.9. Teşhis	23
1.9.1. Serolojik Teşhisi	24
1.9.2. Antijen Tespiti	26
1.9.3. Genom Tespiti	26
1.10. Koruma ve Kontrol	27
1.11. Antikor Aviditesi	29
1.12. PPRV'ye Ekonomiye Etkisi ve Yoksulluk	31
1.13. Araştırma Amaçı	33
2. GEREÇ VE YÖNTEM	34
2.1. Gereç	34
2.1.1. Hücre Kültürü	34
2.1.2. Viruslar	34
2.1.3. Araştırmada Kullanılan Hayvanlar	34
2.1.4. Konvansiyonel RT- PCR	37
2.1.5. ELISA Kiti	37
2.2 Yöntem	37

2.2.1. Virusların Üretilmesi	37
2.2.2. Enfeksiyözite Güç Tayini	38
2.2.3. Moleküler Viroloji Uygulamaları	39
2.2.3.1. PPRV RNA Ekstraksiyonu	39
2.2.3.2. RNA Kalitesi ve Konsantrasyonunun Tespiti	40
2.2.3.3. cDNA Sentezi	40
2.2.3.4. Konvansiyonel RT-PCR	41
2.2.4. Seroloji	42
2.2.4.1. Kan Serum Örneklerinin Hazırlanması	42
2.2.4.2. Virus Nötralizasyon Testi	42
2.2.4.3. Kompetitif ELISA	43
2.2.4.3.1. Test Prensipleri	43
2.2.4.3.2. Testin Yorumlanması	44
2.2.4.4. IgG-anti-PPR Antikor Aviditesinin Belirlenmesi	44
2.2.2.5. İstatistiksel Analizler	45
3. BULGULAR	46
3.1. Virusların Üretilmesi	46
3.2. Enfeksiyözite Güç Tayini	47
3.3. PCR Sonuçları	47
3.4. Virus Nötralizasyon Testi (VNT)	48
3.5. Kompetitif ELISA	48
3.6. Avidite Testleri Sonuçları	53
4. TARTIŞMA	57
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
ÖZET	70
SUMMARY	71
KAYNAKLAR	72
EKLER	95
Ek-1. Etik Kurulu Kararı	95
ÖZGEÇMİŞ	96

ÖNSÖZ

Peste des Petit Ruminants hastalığı 1942'de Fildişi Sahili'nde bildirildikten sonra, insanoğlunun yüzyıllardır geçim kaynağı olan küçük ruminantlar üzerinde önemli etkilere neden olmuştur. Bu durum hastalık üzerindeki ilginin artarak günümüze kadar ulaşmasına neden olmuştur. Özellikle son yıllarda bu hastalık daha fazla ilgi görmüştür. Bu ilgi odaklanmasının en önemli nedenlerinden bir tanesi, 2012 yılında Sığır Vebası'nın eradike edilmesiyle dünyadaki hayvan hastalıklarından kurtulma başarısının vermiş olduğu global özgüven olmuştur.

Hem Sığır Vebası hem de PPR, aynı cins *Morbillivirüs*'e ait virüslerden kaynaklanır. Sığır vebası ve PPR arasındaki bu ve diğer benzerlikler, PPR'ın mücadele edilebilecek iyi bir aday olduğunu göstermektedir. Sığır Vebası mücadelesi sırasında kazanılan ve PPR'ın kontrol ve/veya eradikasyonu sürecine uygulanabilecek birçok ders ve tecrübe edinilmiştir. Bunlar; toplulukların hastalık kontrolünde oynayabileceği roller, hastalıkların epidemiyolojisini anlamamanın önemi, etkili bir aşı yaptırmak ve doğru uygulanmasını sağlamak ve eradikasyonu sağlamak için ülkeler arasındaki işbirlikleridir.

Sunulan bu araştırma, Türkiye'de koyun sürülerindeki aşılama sonrası PPRV antikorlarının etkinleşme sürecini detaylı olarak ortaya koymak adına tamamlanan bir ön adım niteliğindedir. Attenüe canlı aşı ile tesis edilmeye çalışılan bağışıklamanın önemli bir bileşeni de şüphesiz hücrel bağışıklık yanıtı parametreleridir. Ancak Türkiye gibi endemik ülkelerde her yeni maruziyetin öncü savunucularının antikorlar olması nedeniyle, antikorun güçlenmesi hücrel mekanizmaların tetiklenmesi sürecinde hastalıktan korunma adına en önemli unsurlar olarak düşünülmektedir.

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince, her konuda yardım ve desteğini aldığım, bilgisi deneyimleri ve görüşleriyle bana yol gösteren, özveri ve sabrını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Aykut ÖZKUL'a, destek ve yardımlarını

hiçbir zaman esirgemeyen Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yılmaz AKÇA ve Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Feray ALKAN, Prof. Dr. Seval Bilge DAĞALP, Prof. Dr. M. Taner KARAOĞLU ve Prof. Dr. T. Çiğdem OĞUZOĞLU ile tez izleme komitesi üyesi Prof. Dr. Hakan YARDIMCI'ya teşekkürlerimi sunarım. Doktora tez çalışmam boyunca birlikte görev yaptığım ve tez çalışmam sırasında laboratuvar ortamında sonsuz desteklerini gördüğüm tüm araştırma görevlisi ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca Sudan'daki aileme çok teşekkür ederim. Annemin, eşimin ve çocuklarımla koşulsuz sevgileri olmadan, tüm bu zorluklara dayanabilmem imkansız olurdu.



SİMGELER VE KISALTMALAR

AGID	Agar Jel İmmundifüzyon
AI	Avidity İndeksi
Bp	Base Pair
C-ELISA	Competitive Enzyme Linked Immunosorbent Assay
CIEF	Counter - İmmun Electrophoresis
°C	Derece Santigrat
cDNA	Komplementer DNA
CP	Kompetasyon Yüzdesi
CPE	Sitopatolojik Etki
DIVA	Differentiating Infected From Vaccinated Animals
Dk	Dakika
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	Dimethylsulphoxide
F	Füzyon
FDS	Fötal Dana Serumu
H	Hemaglutinasyon
H ₂ SO ₄	Sülfürik Asit
IFN- γ	Interferon gama
IFN- β	Interferon Beta
IgG	İmmunoglobulin G
IL-4	İnterleukin 4
IL-10	İnterleukin 10
IFAT	İmmunfloresan Antikor testi
g	Gram
L	Polimeraz
M	Matriks
MAb	Monoklonal Antikor

mg	Miligram
μ g	Mikrogram
ml	Mililitre
μ l	Mikrolitre
moi	Multiplicity of Infection
NH ₄ SCN	Amonyum Tiyosiyanat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NP	Nükleoprotein
O.D.	Optik Dansite
OIE	Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi
P	Fosfoprotein
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PI	Inhibisyon Yüzdesi
RT-PCR	Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction
PPR	Peste des Petits Ruminants (Küçük ruminant vebası)
RNA	Ribonükleik Asit
RP	Rinderpest (Sığır vebası)
rpm	Revolutions Per Minute
rPPV N	Rekombinant Küçük Ruminant Vebası Virusu N Antijeni
SLAM	Signaling Lymphocyte Activation Molecule Reseptör
TNF- α	Tümör Nekroz Faktörü Alfa
Vero	Afrika Yeşil Maymun Böbrek Hücre Kültürü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. N proteinine dayalı morbilliviruslarda genetik ilişkiler	5
Şekil 1.2. Morbillivirus virionu ve genom yapısının şematik görüntüsü	9
Şekil 1.3. PPRV yaşam döngüsü	10
Şekil 1.4. PPRV enfeksiyonunun dünya haritasındaki dağılımı	11
Şekil 1.5. Ülkelere göre PPRV genetik hat haritası	12
Şekil 1.6. PPR virusun F proteini kodlayan gene dayalı filogenetik ilişkisi	13
Şekil 3.1. Vero Hücre Kültürü (kontrol)	46
Şekil 3.2. PPR'in Vero Hücre Kültüründe 8. günde oluşturduğu CPE	46
Şekil 3.3. PCR Ürününün Görüntülenmesi	47
Şekil 3.4. C-ELISA sonrasında test tabletinin görünümü	49
Şekil 3.5. Aşıdan sonraki 1., 6. ve 12. aylarda PPRV'ye özgü IgG aviditesinin bireysel dağılımı	54
Şekil 3.6. Örnekleme periyotlarında PPRV'ye karşı düşük, orta veya yüksek aviditeli antikorlara sahip hayvan sayısı	55
Şekil 3.7. G1 ve G3 hayvanlarında ortalama AI (%) karşılaştırması	56

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. PPRV antikorlarının tespiti için kullanılan serolojik testler	25
Çizelge 1.2. Dünyada küçük ruminant popülasyonları	32
Çizelge 2.1. Örneklemelerin yapıldığı tarihler ve hayvan sayıları	35
Çizelge 2.2. Araştırmada kullanılan takip hayvanlarının kulak numaraları	36
Çizelge 2.3. Konvansiyonel RT-PCR çalışmada kullanılan ticari kitler ve diğer maddeler	37
Çizelge 2.4. PPRV F genine dayalı RT-PCR da kullanılan primerler	41
Çizelge 2.5. Konvansiyonel RT-PCR tekniğinde kullanılan reaksiyon karışımı ve ısı 41 protokolü	41
Çizelge 2.6. PPRV c-ELISA değerlendirme tablosu	44
Çizelge 3.1. Çalışma gruplarındaki hayvanların serokonversiyon oranları.	49
Çizelge 3.2. Aşılamayı izleyen 1. 6. ve 12 Ayda bulunan serum örneklerinin kompetitif ELISA testi saptanan O.D. sonuçları	50
Çizelge 3.3. Aşılama sonrası 1., 6. ve 12. aylarda IgG avidite sonuçları	53
Çizelge 3.4. PPR doğal olarak enfekte koyunların avidite indeksi	55

1. GİRİŞ

Peste des Petits Ruminants (PPR) (Küçük ruminant vebası, koyun keçi vebası), keçi ve koyun gibi evcil ruminantların yanı sıra yabani ruminantlarda da görülen, sığır vebası (Rinderpest = RP) hastalığına benzerlik gösteren, çok bulaşıcı viral bir hastalıktır. Hayvanlarda iştahsızlık, solunum güçlüğü, yüksek ateş, kanlı- yeşil ishal, ağızda ve dilde eroziv lezyonlar, hiperemi nasal akıntı, stomatit, konjunktivit ve bronco-pneumoni semptomları ile ortaya çıkan, ekonomik açıdan önemli, yüksek morbidite ve mortaliteye sahiptir (Diallo, 1988; Kwiatek ve ark., 2007; Scott, 1990). Hastalık Kata, Yalancı Sığır Vebası, Keçilerin Enteritisi ve Erozyonlu Stomatitisi, Keçi Vebası veya Stomatit-Pnömoenterit Kompleks Sendromu gibi farklı isimleri ile adlandırılmıştır (Braide, 1981; Gargadenec ve Lalanne, 1942).

Günümüzde PPR virusu Ekvator ve Sahra arasında kalan Afrika ülkeleri, tüm Orta Doğu ülkeleri, Arap yarımadası, Türkiye, Güney-doğu Asya ve Hindistan'da görüldüğü bildirilmiştir (Abu Elzein ve ark., 1990; Al-Majali ve ark., 2008; El hag Ali ve Taylor, 1984; Kwiatek ve ark., 2007; Nanda ve ark., 1996; Özkul ve ark., 2002). Sınırlarda hayvan hareketlerinin kontrol edilememesi ve karantina tedbirlerinin yeterince uygulanmaması nedeniyle, PPRV enfeksiyonunun kontrol ve eradikasyonu birçok ülkede problem olmuştur.

PPR virusu koyun ve keçilerde çok bulaşıcı olması ve ekonomik kayıplara neden olması sebebiyle Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) ve Türkiye'de bildirim zorunlu bir hastalıklar arasındadır (Diallo ve ark., 2007).

1.1. Tarihçe

Hastalık Dünya'da ilk defa 1942 yılında batı Afrika'nın Fildişi sahillerindeki koyun ve keçilerde tanımlanmıştır (Gargadenec ve Lalanne, 1942). İlerleyen zamanlarda Küçük Ruminant Vebası virusunun, serolojik olarak sığır vebası virusu

ile yakınlığı olduğu, hastalığın klinik bulgular ve patolojik değişiklikler yönünden de sığır vebasına benzediği (Mornet ve ark., 1956), bu virusun aslında koyunlara, ara sıra da keçilere adapte sığır vebası virusu olduğu bildirilmiştir (Diallo ve ark., 1989a; Gibbs ve ark., 1979).

Hastalığın uzun yıllar sadece batı Afrika kıtasında sınırlı olduğu düşünülmüştür. 1972 yılında Sudan'da keçilerde görülen ve RP tanısı konulan enfeksiyonun PPR hastalığı olduğunun ortaya konulmasıyla, enfeksiyonun Afrika'nın batısından doğusuna yayılmıştır (Diallo, 1988; Taylor ve Abegunde, 1979). Asya'da ilk defa 1980'lerin sonunda tespit edilmiştir (Shaila ve ark., 1989). PPR virusu güney Asya'da ilk olarak Hindistan'da 1987 yılında tespit edilmesine rağmen virusun daha önceki yıllarda da güney Asya'da bulunduğu varsayılmaktadır (Taylor, 2002). PPR enfeksiyonunun Türkiye'nin de içinde bulunduğu Orta Doğu ülkeleri, Hindistan, Çin, Güneybatı Asya, Ekvator çizgisindeki Arap ülkelerinde (Arap yarımadası, Suriye, Ürdün ve Lübnan) varlığı tespit edilmiştir (Abdollahpour ve ark., 2006; Attieh, 2007; Furley ve ark., 1987; Lefevre ve ark., 1991; Özkul ve ark., 2002; Shaila ve ark., 1989; Taylor ve ark., 1990; Wang ve ark., 2009).

Türkiye'de ise PPR, ilk kez resmi olarak Eylül 1999 yılında rapor edilmiştir (OIE, 1999). Bu tarihten önce Alıcığır ve ark. (1996) tarafından, kuzularda immunohistolojik ve patomorfolojik olarak ortaya konmuştur, Tatar (1998), serolojik ve virolojik olarak enfeksiyonun varlığını göstermiştir. Gül ve ark. (1999) yılında Elazığ bölgesinde kuzu ve oğlaklarda hastalığın varlığını bildirmişlerdir. Son yıllarda hastalığın epidemiyolojisi saha çalışmalarıyla desteklenmiş ve Türkiye'nin bazı bölgelerinden bildirilen PPR salgınlarıyla, hastalığın endemik olduğu saptanmıştır (Çam ve ark., 2005; Kul ve ark., 2007; Özkul ve ark., 2002; Toplu, 2004; Yeşilbağ ve ark., 2005).

Küçük ruminant vebası, Sahra-altı Afrika'da, Orta Doğu ve Güney Asya'da 1993'ten beri dolaşımdadır. Ancak Fas gibi daha önce PPR içermeyen ülkelerde yeni salgınların ortaya çıkması, diğer komşu ülkeleri de bu enfeksiyon yönünden risk altına almaktadır. Cezayir'de yetiştirilen 19 milyon koyun ve 3 milyon keçi ülkenin

Fas'a yakınlığı sebebiyle PPR hastalığına etkilenmeye karşı oldukça savunmasızdır. Serolojik bulgular Cezayir'de hastalığın varlığını göstermiştir. Kuzey Afrika'daki bu durum Avrupa Birliği ülkelerinde (özellikle İspanya) açısından da ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (FAO, 2008). Hem koyun hem de keçi nüfusunun oldukça yüksek olduğu Fas ve İspanya arasında tarihte önemli hastalık nakilleri vardır. Küçük ruminant nüfustaki fazlalık sebebiyle, Kuzey Afrika genelinde PPRV'nin daha fazla ortaya çıkma riskini beraberinde getirebilmektedir. PPR salgınları Anadolu'da ve Trakya'da da meydana gelmiştir. Son zamanlarda Fas ve Türkiye'deki salgınların bildirilmesinden itibaren, Avrupa'da PPRV ile ilgili durum çarpıcı bir şekilde değişmiştir. Virüsün daha önce hastalısız bölgeye girmesi, immünolojik naif sürülere etki etmesi ve önemli ekonomik kayıplar yaratmasıdır. Bu nedenle, Avrupa'nın PPR hastalığı başarılı bir şekilde kontrol altına almak için hastalığın sürveyansını sürdürmesi şarttır.

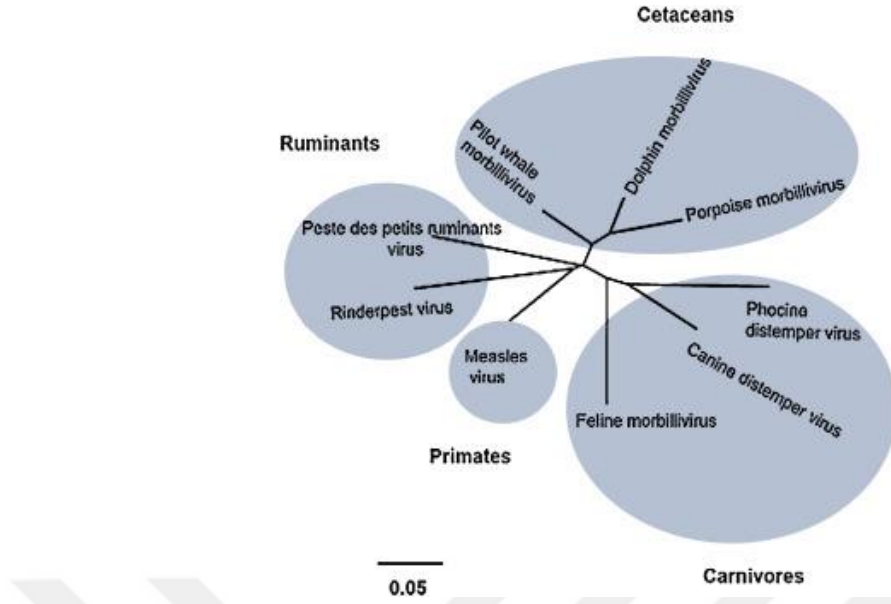
1.2. Etken ve Sınıflandırma

PPR virusu, Mononegavirales takımının paramyxoviridae familyasında morbillivirus genusunda klasifiye edilmiştir (Gibbs ve ark., 1979). Serolojik olarak tek tiptir ve değişik virülens özellik gösteren suşlarının olabileceği bildirilmektedir (Shaila ve ark., 1996). Aynı aile içinde yer alan kızamık (measles) virusu, sığır vebası (Rinderpest) virusu, köpek gençlik hastalığı virusu (Canine distemper virus), ayı balığı gençlik hastalığı (Phocine distemper) virusu, domuz balığı gençlik hastalığı (Porpoise distemper) virusu ve yunus gençlik hastalığı (Dolphin distemper) virusu ile beraber Morbillivirus genusunda yer almaktadır (Barrett ve ark., 1993; Barrett, 2001). Etkenin özellikle RP virusu ile yakınlığı belirtilmiştir (Hymann ve ark., 1995). PPRV linear, zarflı, negatif polariteli, tek iplikçikli, segmentsiz RNA içerir ve genom replikasyonu sitoplazmada gerçekleşir. Viral genom 15948 nt büyüklüğündedir (Bailey ve ark., 2005; Gibbs ve ark., 1979). Nükleokapsid helikal simetrik yapıdadır. Lipid yapıda olan virus zarı konakçı hücre membranından köken alır. Viruse pleomorfik bir şekil verir.

PPR virusu çevre koşullarına karşı dayanıksızdır. Güneş ışığı ve ultraviyole ışınlarına karşı oldukça duyarlı olan virüs 37°C’de iki saatte, 50°C’de 30 dakikada inaktive olurken, düşük ısıda ve nem oranı yüksek olan ortamda enfeksiyöz özelliklerini korur. Virus pH 4.0 ile 10 arasında stabildir. Virusun replikasyonu için en uygun pH aralığı 7,2-8,0 arasındır. Virus lipid yapıda bir zara sahip olduğu için, lipofilik özellikle olan dezenfektan ve yağ eriticilere karşı oldukça hassastır. Eter, Fenol, alkol gibi yağ çözücüler ve %2-5’lik sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi dezenfeksiyon işleminde kullanılabilir (Barrett ve ark., 1993; Gibbs ve ark., 1979; Lamb ve Kalakofsky, 2001; Scott, 1990). Hayvanın ölümünü takiben 40°C sıcaklıkta sekiz gün boyunca karkas üzerindeki lenf yumrularında enfeksiyözitesini koruyabilen virus, bu özelliğini enfekte karkaslarda laktik asit oluşumunu engelleyerek gösterir (Scott, 1990). PPRV primer kuzu böbrek hücre kültürlerinde üretilebilir (Abraham, 2005). Virus pasajında ise Afrika Yeşil Maymun Böbrek (Vero) hücre kültürlerinden yararlanılmaktadır (Abraham, 2005; Özkul ve ark., 2002; Saliki ve ark., 1994).

PPR virusu, duyarlı hücre kültürlerinde sitopatik etki (CPE) şekillendirerek üreme gösterir. Virüsün replikasyonu sırasında, F proteinin hücre zarlarını eriterek hücreleri kaynaştırması sonucu oluşan, intrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimcikleri de içerebilen çok çekirdekli sınırsız hücreler CPE olarak değerlendirilir. Hücre membranlarının kaynaşması, virusun serbest kalmadan enfekte hücreden sağlam hücreye geçişini kolaylaştırır. Duyarlı hücre kültürlerinde CPE’nin oluşumu hücreden hücreye farklılık gösterir. Bu sürenin 3 günden 19 güne kadar değişebileceği bildirilmektedir (Abu Elzein ve ark., 1990).

Virus altı yapısal ve iki yapısal olmayan, toplam sekiz protein içermektedir. Proteinler biyolojik fonksiyonları ve özelliklerine göre 2 gruba ayrılır. Birinci grupta viral yapı proteinlerini oluşturan (P, L ve N) internal polypeptid kompleks yer alır. Viral genom ile birlikte nükleokapsidi oluşturur. İkinci grupta virus zarf proteinleri (H, F ve M) yer alır. L, F, N ve M virusun en iyi korunmuş proteinleridir (Abraham, 2005; Rima,1983). Nükleokapsit proteini (N) kodlayan gen bölgesi dizinlerine dayanarak morbilliviruslarda genetik ilişkiler Şekil 1.1’de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. N proteinine dayalı morbilliviruslarda genetik ilişkiler (Abraham, 2005).

Viral yapısal proteinler

Nükleoprotein (N protein)

Viral nükleik asidi saran N proteini hem virion hem de enfekte hücrelerde en çok bulunan viral proteindir (Diallo ve ark., 1987). Nükleokapsid ve viral genomun şekillenmesinde etkilidir. N geni 3' ucunda ilk kodonun yukarısında kodlanmayan bir bölge ve 52-56 baz uzunluğunda lider diziyi içeren tek bir transkripsiyon promotoruna sahiptir (Billeter ve ark., 1984; Crowley ve ark., 1988; Ray ve ark., 1991). Lider dizin için replikasyonu başlatmak, pozitif iplikçikli RNA oluşumu ve konak hücre transkripsiyonunu azaltmak gibi çeşitli görevler düşünülmektedir (Norrby ve Oxman, 1990; Ray ve ark., 1991; Walpita, 2004). Morbilliviruslarda transkripsiyon ve replikasyon genomun 3' ve 5' ucundaki genom (GP) ve antigenom (AGP) promotorları olarak bilinen kodlanmayan bölgeler (UTRs) tarafından kontrol edilir (Lamb ve Kolakofsky, 2001). Hem GP hem de AGP'nin 3' ucunda 23-31 nükleotitten oluşan korunmuş bir bölgenin, promotor aktivite için gerekli domainler olduğu gösterilmiştir. PPR virusda GP (1-107 nt) ve AGP (15840-15948 nt) dizinleri

oldukça iyi korunmuştur (Mioulet ve ark., 2001). Korunmuş dizinler, GP ve N geninin başlangıcındaki birleşme noktasında aynı zamanda transkripsiyon için gerekli olan interjenik triplet içerir (Mioulet ve ark., 2001). Intergenik bölgeler bir yarı korunmuş polyadenilasyon sinyali, bir yüksek düzeyde korunmuş GAA dizini, bir sonraki gen için yarı korunmuş başlangıç sinyali ve değişken uzunlukta 5' ve 3' ucundaki kodlanmayan bölgeler (UTRs) olarak 4 birimden oluşur (Barrett ve ark., 1991).

Phosphoprotein (P Protein)

P protein, ikinci büyük yapısal protein olup polimeraz fonksiyonu ile yakından ilişkilidir (Kingsbury, 1990). Viral proteinler içerisinde en az korunmuş proteindir. PPR ve RPV arasında sadece %51,4 amino asit benzerlik saptanmıştır (Mahapatra ve ark., 2003). P protein, ribonükleoproteinin üç bileşeninden bir tanesidir ve RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RNA-dependent RNA polymerase, RdRp) için sentezlenmesinde yardımcı faktör benzeri görev üstlenir (Barrett ve ark., 2005). L ve N proteinleri ile birlikte viral replikasyonda görev alır (Kingsbury, 1990).

Multifonksiyonel bir proteindir N ve L proteinlerini birbirine bağlaması ile şaperon olarak görev alır. Bu sayede N proteini RNA'ya bağlanmak üzere çözünebilir formda tutulabilmektedir (Barrett ve ark., 2005). Fosfoprotein, PPR genomunun 1807 ile 3336 nükleotidleri arasında lokalize olmuştur: Bu bölge aynı zamanda yapısal olmayan C (1829 ile 2362 nt) ve V (1807 ile 2701nt) proteinlerinin kodlandığı nükleotid aralıklarını da içermektedir (EU267273). Paramyxovirinae alt ailesinde bulunan virüslerde mRNA'ya RNA ekleme (editing) bölgesine nükleotid eklenmesi sonucu yeni bir translasyonel açık okuma çerçevesi (Open reading Frame, ORF) oluşur ve yeni bir protein sentezlenir. Genomdaki 1807. nükleotid aynı zamanda V proteininin de ORF başlangıcıdır. Ekstra bir G (Guanin) eklenmesi, P geni içinde yeni bir ORF oluşmasını sağlar. Buradan N terminali, P protein ile aynı fakat sistein'den zengin farklı C terminaline sahip V proteinini kodlar (Bailey ve ark., 2005; Muthuchelvan ve ark., 2006). P geninin ikinci ORF'si 1829. nükleotidten

başlar ve 2362. nükleotidte biter ve burada C protein kodlanır (Muthuchelvan ve ark., 2006).

Polimeraz Proteini (Large - L Protein)

Polimeraz proteini (L protein) virus proteinleri içerisinde en büyük proteindir. RNA'ya bağımlı RNA polimeraz sentezinde görev alır (Rima, 1983). Bu protein viral replikasyon ve transkripsiyonda görevli bir enzim bileşenidir. L proteini polimerizasyon aktivitesinin yanı sıra, poliadenilasyon, metilasyon ve keş formasyonu (Capping) fonksiyonlarına da sahiptir (Lamb ve Kolakofsky, 2001). PPR virus genomunda 9288 ile 15839 nükleotidleri arasında yer alır ve 6551 adet nükleotid tarafından kodlanır (EU267273). Genom boyutu göz önüne alındığında Morbilliviruslar'da en korunmuş genidir. PPR ve RP viruslarının L proteinleri %70,7; PPRV L protein ve Canine Distemper Virus (CDV) L protein %57 oranında genetik benzerlik gösterir (Bailey ve ark., 2005). L proteini 2 adet menteşe bölge (hinge regions) ile ayrılmış üç adet korunmuş bölgeye sahiptir (McIlhatton ve ark., 1997). L protein sadece yardımcı faktör (co-factor) olan P proteini ile ilişkili olduğunda RdRp aktivasyonu oluşturabilir (Barrett ve ark., 2005; Horikami ve ark., 1994).

Matrix Proteini (M protein)

Temel membran proteini olan M proteini, lipid yapıdaki zarfın yüzey glikoproteinlerinin altında yer almaktadır. M proteini Paramyxoviridae ailesinde iyi korunmuş proteinlerden biridir. Virionun konak hücre membranından tomurcuklanması sırasında zarf oluşumunda rolü olduğu düşünülen bir non-glikozil proteindir (Kingsbury, 1990). M proteini hem N proteini hem de F ve H glikoproteinlerinin sitoplazmik uzantıları ile etkileşimdedir.

Füzyon Proteini (F protein)

PPR virus F proteini de iyi korunan proteinlerden biridir. Paramyxoviruslar replikasyonları sırasında inaktif bir prekürsör (F0) oluştururlar. F0 konak hücre enzimleri ile parçalanarak aktif disülfid (F1-F2) proteinlerini oluşturmaktadır (Lamb ve Kolakofsky, 2001). F proteini peplomerler ve yüzey çıkıntılarını oluşturan glikozillenmiş iki zarf proteininden biridir. Bir öncü olarak sentezlenen F0, daha sonra hücre proteazlar tarafından F1 ve F2 olarak iki disülfid bağlı polipeptidlere parçalanır (Sato ve ark., 1988). F proteininin biyolojik aktivitesi için proteolitik parçalanmanın gerekli olduğuna inanılmaktadır.

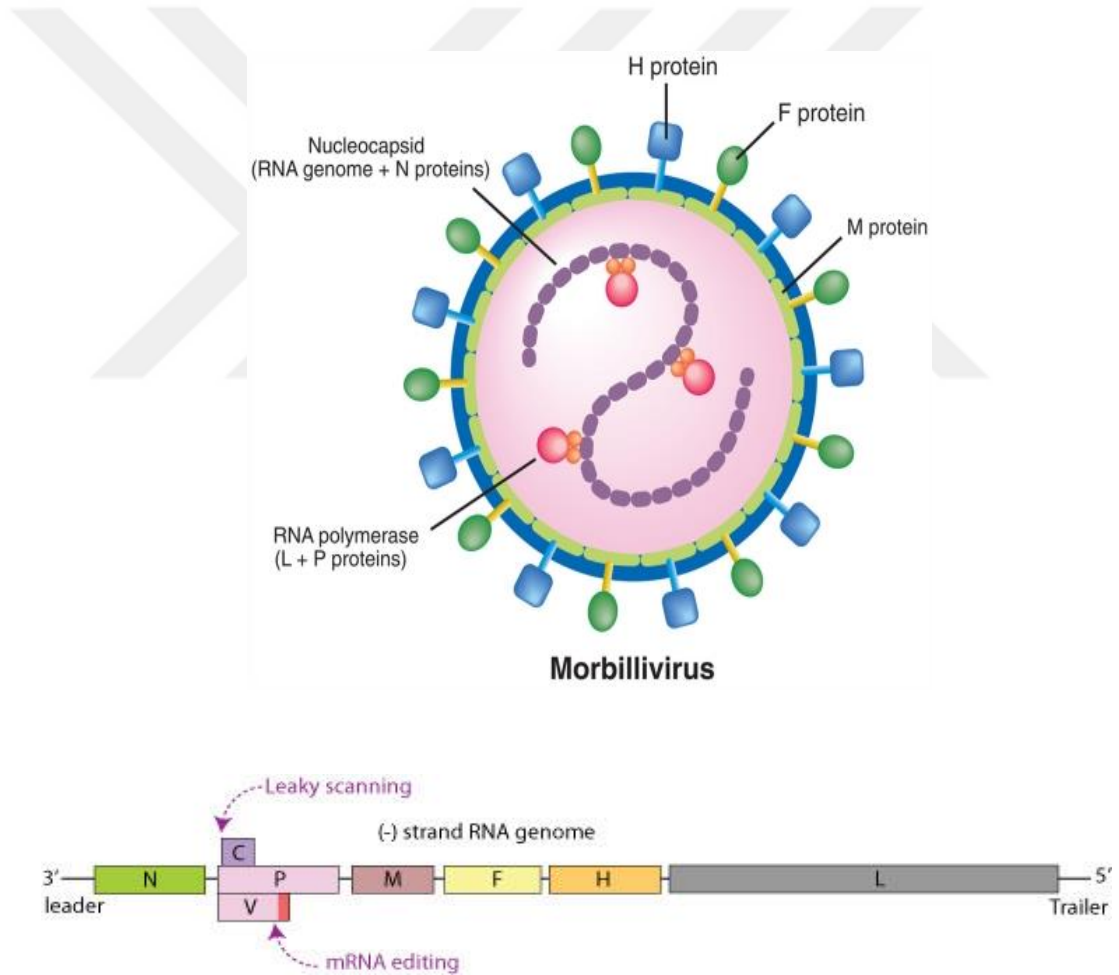
Hemagglütinin (H protein)

H proteini virusun konak hücreye bağlanmasından sorumludur (Choppin ve Scheid, 1980; Lamb ve Kolakofsky, 2001). H proteininin biyolojik aktivitesi Paramyxoviruslar için bir sınıflandırma kriteridir. Bu protein çok değişkendir (Blixenkron-Moller ve ark., 1996). Morbillivirüsler için P proteini ile birlikte en az korunmuş proteinlerdendir. Paramyxovirus genusuna ait virüslerde (örneğin NDV) H proteininin hem hemagglütinin hem de nöyroaminidaz özelliği olmasına karşın (Scheid ve Choppin, 1974), morbillivirus genusuna ait virüslerin sadece hemagglütinin özelliği bulunmaktadır. Pneumovirus genusuna ait virüslerin (RSV) ise ne hemagglütinin ne de nöyrominidaz aktiviteleri bulunmamaktadır (Kingsbury ve ark., 1990).

Yapısal Olmayan Proteinler

PPR virus altı adet yapısal proteine ek olarak iki adet yapısal olmayan proteine sahiptir. Bu proteinler P proteinin alternatif okuma bölgelerinden sentezlenir. C ve V proteinler yapısal olmamalarına karşın enfeksiyon oluşumunda önemli role sahiptirler (Maclachlan ve Dubovi, 2011). RPV ile yapılan çalışmada replikasyonda gerekli

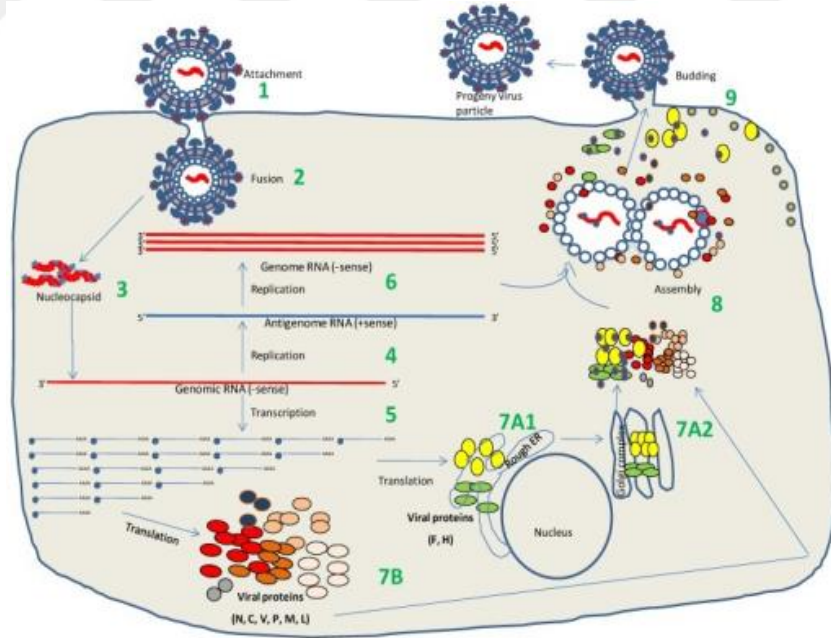
oldukları görülmüştür (Baron ve Barrett, 2000). Paramyxovirus C ve V proteinleri infeksiyon sırasında hücresel immün yanıtı değiştirerek interferon antagonisti benzeri görev yapabilirler (Gotoh ve ark., 2001; Horvath, 2004). Bunlardan ilki V protein, P proteinine ait 1807. nükleotid aynı zamanda V proteininde ORF başlangıcıdır. Ekstra bir G eklenmesi ile P geni içinde yeni bir ORF oluşmasını sağlar buradan N terminali, P protein ile aynı fakat sisteinden zengin farklı C terminaline sahip V proteinini kodlar (Bailey ve ark., 2005; Muthuchelvan ve ark., 2006). P geninin ikinci ORF'si 1829. nükleotidden başlar ve 2362. nükleotidde biter ve burada C proteini kodlanır (Muthuchelvan ve ark., 2006). Şekil 1.2'de morbillivirus virionu ve genomu gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Morbillivirus virionu ve genom yapısının şematik görüntüsü (Anonim, 2012).

1.3. PPRV Çoğaltma

Konakçı ve patojenin ilk etkileşimine reseptör bağlanması aracılık eder. PPRV'nin replikasyon döngüsü, HN proteini yoluyla virusun konak hücre reseptörlerine (SLAM/Nektin-4) tutunması ile başlamaktadır. F ve HN proteinleri yoluyla plazma zarı ile füzyon ve takiben viral genomun sitoplazmaya salınması gerçekleşir. Proteinlerin geri kalanı virus replikasyonunda rol oynar. Kısaca, P proteini, N proteininin nükleokapsitlere transkripsiyon ve replikasyonunu ve toparlanmayı düzenler. M proteinleri, projeni virionlarının birleştirilmesine aracılık eder. HN proteini, projeni virion membranlarının plazma zarındaki tomurcuklanmasını kolaylaştırır. C ve V proteinlerinin PPRV'deki rolü hala açık değildir. Bu proteinlerin hücresel interferon (IFN- γ / β) tepkilerini iptal etme kabiliyetine sahip oldukları ve dolayısıyla PPRV'nin virülansına katkı gösterdiklerine inanılmaktadır (Pawar ve ark., 2008). PPRV replikasyon döngüsü Şekil 1.3'de gösterilmiştir (Barrett ve ark., 2005).

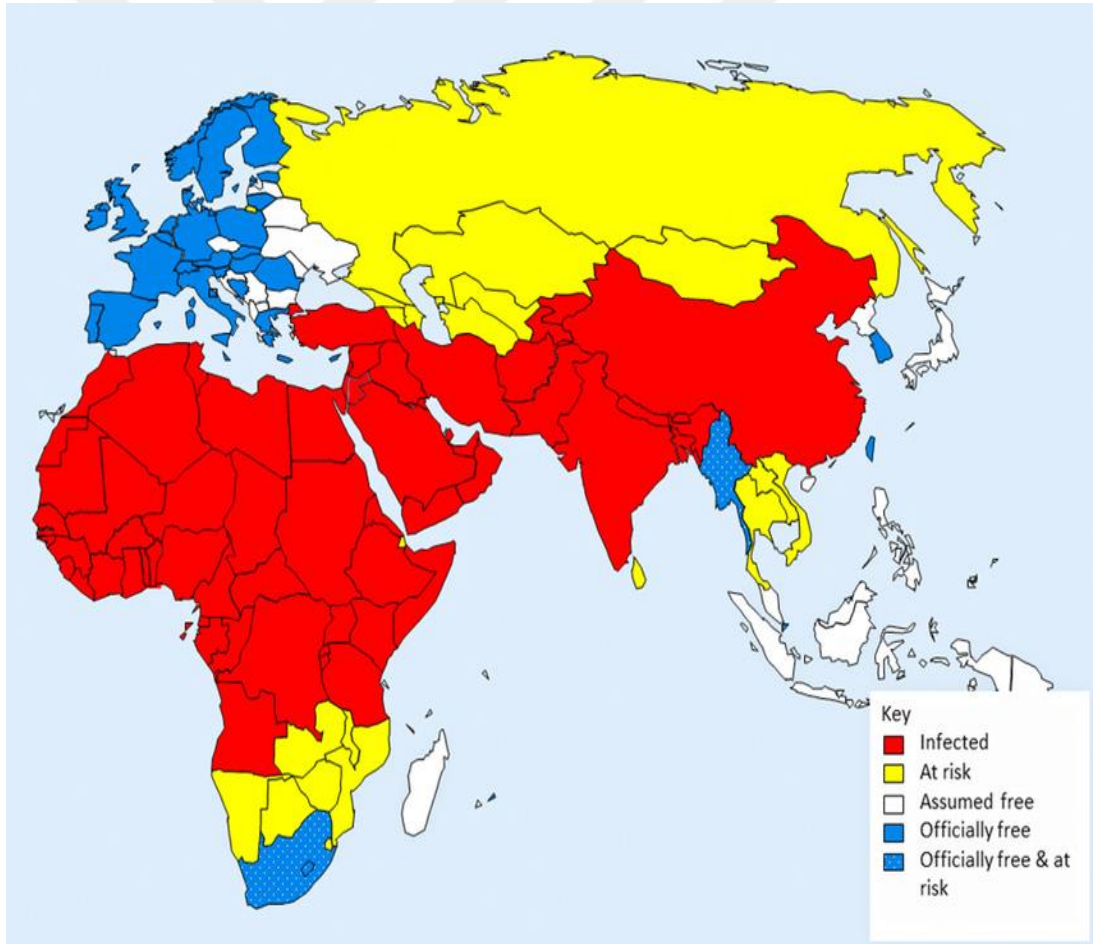


Şekil 1.3. PPRV yaşam döngüsü

(1) Virusun konakçı reseptörlerine eklenmesi. (2) Plazma zarı ile füzyon. (3) Viral genomun sitoplazmaya salınması. (4) Genom replikasyonu. (5) mRNA sentezi. (6) Tam uzunluklu pozitif duyu RNA'sının sentezi. (7) Viral proteinlerin sentezi (F, H, N, P, C, V, M, L). (8) Projeni virionlarının toplanması. (9) Projeni virionlarının plazma zarında tomurcuklanması (Barrett ve ark., 2005).

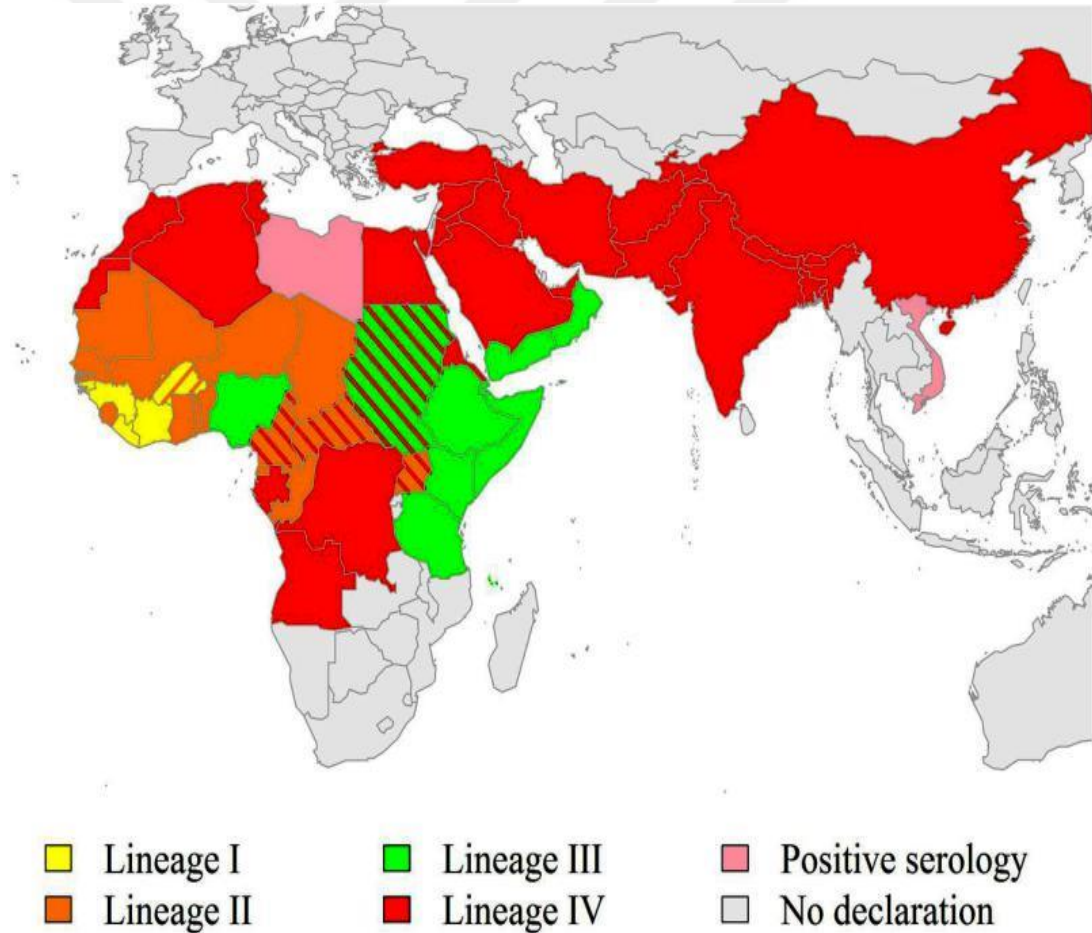
1.4. Coğrafi Dağılımı

Koyun keçi vebası hastalığı, büyük Sahra'nın güneyinde yer alan Batı Afrika ülkelerinde endemik seyrettiği vurgulanmışsa da (Bundza ve ark., 1988). PPR virusu Nijerya (Taylor ve Abegunde, 1979), Sudan (El Hag ve Taylor, 1984), son yıllarda Doğu Afrika ülkeleri (Wohlsein ve ark., 1995), Mısır (Ismail ve ark., 1990), Suudi Arabistan (Abu Elzein ve ark., 1990), Hindistan (Nanda ve ark., 1996; Shaila ve ark., 1989) ile Türkiye'de (Özkul ve ark., 2002) görülmektedir (Şekil 1.3). Suriye, Nijer, Etiyopya ve Ürdün'de (Abraham ve ark., 2005) serolojik olarak tespit edilirken, virusun varlığı Eritre'de de bildirilmiştir (Sumption ve ark., 1998). PPR enfeksiyonunun dünyadaki yayılımı Şekil 1.4'de gösterilmiştir (OIE, 2013).

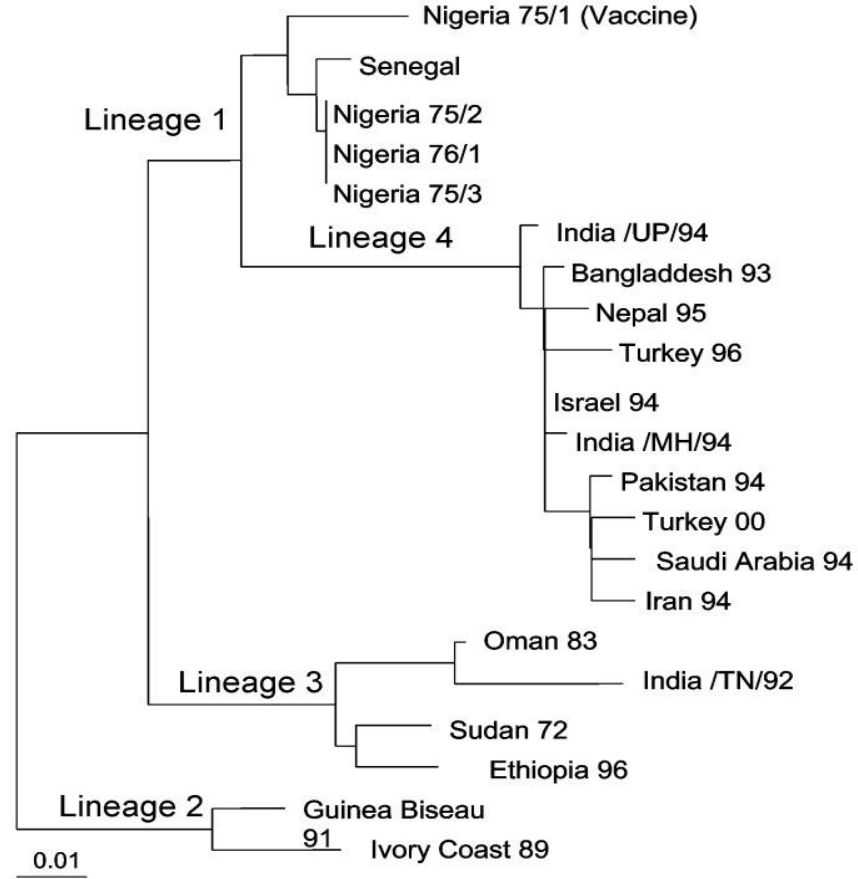


Şekil 1.4. PPRV enfeksiyonunun dünya haritasındaki dağılımı (OIE, 2013).

PPR virüsü serolojik olarak tek tip olmasına karşın farklı bölgelerden izole edilen F protein sekanslarının karşılaştırılması sonucunda dört genetik hatta (lineage) sınıflandırmıştır (Dhar ve ark., 2002; Shaila ve ark., 1996). Genetik hat I Afrika'da 1970'lerde izole edilen Nigeria/1975/1, Nigeria/1975/2, Nigeria/1975/3, Nigeria/1976/1 ve Senegal suşları içermektedir. Genetik hat II ise batı Afrika (Fildişi sahilleri ve Gine) da 1980'lerin sonunda izole edilen Asya ülkelerine geçmeyen tek Afrika genetik hattıdır. Genetik Hat III Sudan (Diallo, 1988) ve Etiyopya'dan (Roeder ve ark., 1994) izole edilen virüslerden oluşmaktadır. Genetik hat IV'de İran/1994, Nepal/1995, Bangladeş/1993, Hindistan (Shaila ve ark., 1996) ve Türkiye (Özkul ve ark., 2002) suşları bulunmaktadır. PPR virüsünün 4 farklı genetik hattının coğrafi dağılımı Şekil 1.5'de gösterilmiştir (Dhar ve ark., 2002).



Şekil 1.5. Ükelere göre PPRV genetik hat haritası (Dhar ve ark., 2002).



Şekil 1.6. PPR virusun F proteini kodlayan gene dayalı filogenetik ilişkisi (Özkul ve ark., 2002).

1.5. Patogenez

PPRV diğer morbilliviruslar gibi lenfoid dokular ve epitel dokusu için belirli bir afiniteye sahiptir. Solunum yoluyla alınan virüs ilk önce farengial, mandibular lenf yumruları ve tonsillere yerleşir, ortalama 3-6 günlük inkubasyon periyodundan sonra viremi oluşur, daha sonra virüs bütün lenf yumruları, dalak, kemik iliği, gastrointestinal mukoza ve solunum sistemine yerleşir (Haffar ve ark., 1999). Klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce nasal, konjunktival akıntı, idrar ve oral ile virus saçılımı olmaktadır. Aynı şekilde ishal semptomlu koyunlarda gaitadan virus saçılmaktadır (Abraham, 2005; Brown ve ark., 1991; Sumption ve ark., 1998).

1.6. Klinik Semptomlar

Peste des Petits Ruminants Virus organizmaya solunum ve sindirim yolu ile girmektedir. Kşasik olarak yüksek ateş, pnömoni, diyare ve solunum ve sindirim yollarının mukoza zarının iltihapları ile karakterizedir. Hastalığın perakut, akut ve subklinik (gizli) formları olmasına rağmen hastalığın en sıklıkla karşılaşılan formu akut formdur (Islam ve ark., 2003).

Perakut form

Genellikle genç hayvanlarda (4 aylık, maternal immünitenin kaybolmasını takiben) perakut hastalık formları görülür. Hastalık 2 günlük bir inkübasyon süresi sonrasında birkaç gün boyunca devam eden ve 40-42°C 'ye kadar çıkan ateş ile başlar. Ateş nedeniyle hayvan yem alamaz ve depresyona girer. Bu dönemde, mukozalarda kızarıklık ve erozyon görülebilir. Ayrıca okülo-nazal akıntı artışı dispneye neden olabilir. Genellikle hastalığın başlangıcından itibaren 4-5 günde ölüm meydana gelmektedir (Anonim, 2004; Kulkarni ve ark., 1996; Lefevre ve Diallo, 1990; Taylor, 1984; Scott, 1990).

Akut form

Bu form yüksek ateş, gözyaşı ve nazal akıntı artışıyla karakterizedir. Hastalık ilerledikçe, bu akıntılar mukoprulent bir hal alır. Konjunktivalarda konjesyon vardır (Brown ve ark., 1991; Bundza ve ark., 1988). Hastalığın 3-4 günlük inkübasyon süresine ishal, dehidrasyona ve dolayısıyla zayıflamaya yol açar. Hayvanlarda solunum güçlüğü, huzursuzluk, aksırma ve öksürük gibi belirtiler gösterir. Oral lezyonlar, kesici dişlerin altındaki bölgede kaba nekrozla başlar ve sert damak, yanağın iç kısmı, dilin dorsal kısmı ve ağzın yanlarına hızla ilerler. Hayvanlar, ağrılar nedeniyle ağızlarını açmakta ve dolayısıyla yem almakta isteksizdir (Braide, 1981).

Ayrıca, gebe hayvanlarda vulva ve vajinanın mukozalarında benzer değişiklikler gelişebilir ve hamile hayvanlarda abortlara neden olabilir (Wosu, 1994). Etkilenen hayvanlar daha sonra susuz kalır ve hayvanlar 10 ila 12 gün sonra ölür, ölüm oranı virüs suşuna bağlı olmak üzere %70-80 arasında değişkenlik gösterir. Hastalığı atlatan hayvanlar 2 hafta içinde tamamen iyileşmektedir (Abdollahpour ve ark., 2006; Islam ve ark., 2001; Sergany ve ark., 1992).

Subakut form

Hastalığın bu formu 10-15 gün sürmektedir. Hayvanlar ciddi şekilde etkilenmezler ve PPR'in yukarıda anlatılan karakteristik belirtileri yoktur. Subakut formda ölüm oranı çok düşüktür. Pnömoni ve düşük dereceli ateş (39-40°C) sonrasında, etkilenen hayvanlar genellikle 10-14 gün içinde iyileşirler (Gül ve ark., 2006).

Subklinik form

Sadece koyun ve keçiler değil, aynı zamanda bufalo gibi bazı büyük ruminantlarda meydana gelen doğal enfeksiyon subklinik olarak seyredebilir. Subklinik enfeksiyonlar sonrasında hayvanlarda PPRV'ye karşı antikolarlar test edilebilir (Lefevre ve Diallo, 1990).

1.7. Epidemiyoloji

1.7.1 Bulaşma

Enfekte hayvanlarda göz ve burun akıntıları, salya, idrar ve gaitası bol miktarda PPR virus içerir. Enfekte hayvan ile yakın temas virusun transferi için gerekmektedir. Hastalık hayvanlar arasında hava yolu ile kısa mesafelerde bulaşabilmektedir (Abegunde ve Adu, 1977; Bundza ve ark., 1988; Taylor, 1984). Bununla birlikte kontamine gıda ve suyun alınması ile de bulaşma

gerçekleşebilmektedir. Özellikle subklinik hasta hayvanların getirilmesi veya hastalığın görülmediği bölgelere inkubasyon dönemindeki en önemli enfeksiyon kaynağını oluşturur. PPR virusu dış ortamda dayanıklı bir virus değildir. Kuruma ve güneş ışını, ultraviole ışını, ısı ve yağ çözücülerle hızlıca inaktive olması sebebiyle, bulaşma için hayvanların yakın temasta olmaları gereklidir (Lefevre ve Diallo, 1990).

Mevsimsel bir insidens farklılığı olmamasına karşın, soğuk ve yağmurlu mevsimlerde, hayvan ticaretinde farklı bölgelerden gelen hayvanların birbirleriyle yakın temasta olduğu, doğum mevsiminde ve hayvan hareketlerinin yoğun olduğu dönemlerde PPR hastalık daha sık rastlanmıştır (Balamurugan ve ark., 2012).

1.7.2. Konakçı Duyarlılığı

PPR, keçilerin koyunlardan daha duyarlı olduğu kabul edilen küçükbaş hayvanların bir hastalığı olarak bildirilmiştir (Diop ve ark., 2005; El Hag Ali ve Taylor, 1984). Koyunlarda PPRV'ye karşı daha yüksek antikor titreleri olduğu ve bu nedenle keçilerden daha yüksek iyileşme oranı gösterdikleri bildirilmektedir (Diop ve ark., 2005). Morbidite ve mortalite oranları ağır vakalarda %100'e kadar çıkabilmektedir. Mortalite hayvanın türü, yaşı, kondisyonu, konağın doğuştan gelen bağışıklığı ve virusun virülansına bağlıdır (Anonim, 2004; Diallo, 1988). Ayrıca, eşzamanlı sekonder bakteriyel ve paraziter enfeksiyonlar hastalığı seyrini daha da kötüleşmektedir (Lefevre ve Diallo, 1990).

Sığırlar, develer ve domuzlar da virüse duyarlı olup subklinik PPRV enfeksiyonu gösterirler. Ancak epidemiyolojik olarak önem arzeden bir etkileri söz konusu değildir (Dardiri ve ark., 1976; Gibbs ve ark., 1979; Taylor ve Abegunde, 1979). Sığırlar, geçirilmiş bir PPRV enfeksiyonu sonrasında RPV'ye karşı da humoral immün yanıt geliştirebilmektedir. Ancak oluşan PPR spesifik bağışıklığın, RP aşısında zayıflatılmış virusun replikasyonunu önleyerek bağışıklama gücünü zayıflatması olasıdır (Anderson ve McKay, 1994). Develerde %4,2 oranında PPRV antikorlarının varlığı bildirilmiştir (Ismail ve ark., 1995). Khalafalla ve ark. (2010)

ise Sudan'da develerde %0-50 oranında mortalite ile seyreden PPR salgını bildirilmişlerdir.

Çiftlik hayvanları dışında yabani yaşam alanları ve hayvanat bahçelerindeki yabani hayvan türlerinde de PPRV'den etkilendiği bildirilmiştir. Yabani siyah koyun (*Ovis orientalis laristanica*), ceylan (*Gazella dorcas*), geyik, antilop, Güney Afrika ceylanı (*Oryx gazella*) ve Afrika dağ keçisi (*Capra inex Nubiana*) gibi yabani türlerde doğal PPRV enfeksiyonlarına rastlanmaktadır. Bu hayvan türlerinde PPRV enfeksiyonu yüksek mortalite ile seyretmektedir. Amerikan beyaz kuyruklu geyik (*Odocoileus virginianus*), deneysel enfeksiyonlarda PPR virusuna yüksek oranda duyarlı bulunmuştur (Hamdy ve ark., 1976; Lefevre ve Diallo, 1990; Ogunsanmi ve ark., 2003). Suudi Arabistan'da ceylan ve geyiklerde klinik ve serolojik olarak PPRV varlığı rapor edilmiştir (Kinne ve ark., 2010).

1.8. PPRV'ye Karşı Bağışıklık

1.8.1. Pasif Bağışıklık

Pasif bağışıklık, hazır bir antikorun bir bireyden diğerine aktarılmasıdır. Maternal bağışıklık böyle bir örnektir. PPRV enfeksiyonuna önceki maruziyet veya gebe koyunlardaki aşılamalara bağlı koruyucu bağışıklığın gelişmesi kolostrumdaki maternal antikorların seviyesine etki etmektedir. Kolostrum yolu ile alınan maternal antikorlar yavruya pasif immunité oluşturduğu ve yavruyu 3-4 ay arasında koruduğu bildirilmiştir. Bu maternal antikorların seviyesi, virus nötralizasyon testinde 4 aya kadar saptanabilir, ancak kompetitif ELISA'da sadece 3. aya kadar saptanabilmektedir (Libeau ve ark., 1992).

Balamurugan ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada yeni doğan oğlaklarda 3 aydan itibaren maternal antikor seviyesinin düşmeye başladığını, 4. aydan itibaren antikor varlığının koruyucu seviyenin altına düştüğünü fakat 6. aya kadar PPR virusuna karşı maternal antikor varlığını tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Bu

yüzden koruma kontrol açısından yeni doğanların 4. aydan itibaren PPR virusuna karşı aşılama gerektiğini bildirmiştir (Bodjo ve ark., 2006).

1.8.2. Aktif Bağışıklık

Aktif bağışıklık, bir antijenin varlığına yanıt olarak bağışıklık sistemi tarafından antikorların üretilmesinden kaynaklanmaktadır. Aktif bağışıklık hem hücresel hem de humoral bağışıklığı içerir. Doğal enfeksiyonlar (örn., PPRV enfeksiyonu) veya aşılama (PPRV aşısı ile immünizasyon) aktif bağışıklığı harekete geçirmektedir. Hastalıktan iyileşen hayvanların ömür boyu hastalığa karşı bağışık kaldıkları saptanmıştır (Durojaiye, 1982).

1.8.3. PPRV'ye Karşı Hücresel Bağışıklık

Doğal PPRV enfeksiyon ve bu hastalığa karşı yapılan aşılama hem hücresel hem de humoral immünite oluşturur. RPV aşısı kullanarak heterolog aşılama yapılsa bile, PPRV'ye karşı yeterli koruma sağlamaktadır. Bunun tersi de aynı şekilde sonuçlanmaktadır. Ancak, RP virusuna ait yüzey hemaglutinin (H) ve füzyon (F) glikoproteinlerinin kullanıldığı bir çalışmada ve sonuç olarak bu proteinlerin PPR virusuna karşı koruma sağladığı ancak virus nötralize edici antikorların sadece RP virusuna karşı olduğu bildirilmiştir (Jones ve ark., 1993). Sinnathamby ve arkadaşlarının 2001 yılında yayınlanan çalışmalarında, PPRV'nin rekombinant HN proteinine bağışıklık yanıtını araştırmışlardır. Araştırmacı ekibin elde ettiği sonuçlar, bağışıklık kazanmış keçilerin hem humoral hem de hücre aracılı immün yanıtları geliştirdiğini gösterilmiştir. Ayrıca, gelişen antikorlar hem PPRV'yi hem de RPV'yi in vitro olarak nötralize edebilmiştir (Sinnathamby ve ark., 2001).

Diğer yandan, RPV'nin H veya F proteinini ifade eden rekombinant vaccinia virusu ile aşılama hayvanlar klinik hastalığa karşı korumakta ancak PPRV'ye spesifik nötralizan antikorlar geliştirememektedir (Romero ve ark., 1994). Bu

çalışmaların tümü, en önemli bağışıklık hücresel bağışıklık olduğunu ve aşılama stratejisine bağlı olarak nötralizan antikorların gelişemeyebileceğini göstermektedir.

Mitra-Kaushik ve ark. 2001 yılında yaptıkları çalışmada, RPV ve PPRV'nin rekombinant nükleokapsit proteinleri (N) ile aşılanan farelerde humoral ve hücresel bağışıklık yanıtını incelemiştir. Hücresel immün yanıtın hem antijen spesifik olduğunu hem de her virüs arasında çapraz reaktif olduğunu göstermiştir. Hem farelerde hem de doğal konakçıda yapılan çalışmalar, korunmuş bir T hücresi epitopuna sahip popülasyonun geliştiğini göstermiştir (Mitra-Kaushik ve ark., 2001). Bütün morbillivirusler arasında korunan bu epitop, RPV ve PPRV arasındaki çapraz korumanın açıklanmasında önemli katkı sağlamıştır. Diğer taraftan, RVP ve PPRV'nin H ve HN proteinleri oldukça korunmuş T hücresi epitoplarına sahip görünmüş, bunların ileri derecede korunmuş N-terminalinde (amino asitler 123-137) ve C-terminalinde (amino asitler 242-609) yerleştiği bildirilmiştir (Sinnathamby ve ark., 2001).

1.8.4. PPRV'ye Karşı Humoral Bağışıklık

Aşılama ve doğal enfeksiyon, yüksek kaliteli antikorların gelişmesine yol açmaktadır. Ancak, antikorlar tarafından korunma sadece homolog viruslar arasında mümkün gibi görünmektedir. Bu durum B hücre epitoplarının morbillivirusler arasında tamamen korunmadığı anlamına gelmektedir.

Morbilliviruslerdeki en büyük protein N proteindir, bunun yanında promotör bölgesine en yakın olan proteindir. Enfeksiyonun erken aşamalarında, N proteininin B hücresi reseptörlerine bağlandığı ve antikor üretimi N proteinine karşı başladığı düşünülmektedir (Laine ve ark., 2003). Bazı çalışmalar bu fenomeni incelemeye çalışmıştır. Choi ve ark. (2005) N proteininin ana B hücre epitoplarını haritalamışlar ve N proteininin A-I, A-II, C-I ve C-II olmak üzere dört ana antijenik alana bölünebileceğini bildirmişlerdir (Choi ve ark., 2005). HN ptoeininde de B hücresi epitopları tespit edilmiştir (Renukaradhya ve ark., 2002).

Monoklonal antikorlar ile yapılan çalışmada, antikorların ağırlıklı olarak HN proteininin iki bölgesine (263-368 ve 538-609 amino asitlerine) bağlandığı bildirilmiştir. Ayrıca, monoklonal antikorlar, nöraminidaz aktivitesini ve hemaglutinasyon aktivitesini inhibe edebilme yetenekleri açısından de test edilmiştir (Renukaradhya ve ark., 2002). PPR virüsü N proteini üzerinde tanımlanan dört bölgeye reaktif olan monoklonal antikordan, bir tanesi RPV ile kuvvetli bir şekilde (+++), bir tanesi orta derecede (++) , bir tanesi zayıf (+) bağlantı gösterirken bir antikor hiçbir reaktivite göstermemiştir. Bu durum, PPRV ve RPV arasında çapraz nötralizan antikorların oldukça zayıf olduğunu göstermektedir (Munir ve ark., 2012).

1.8.5. PPRV ile Uyarılan Apoptoz

Apoptoz indüksiyonu ve inhibisyonu viruslar için bir avantaj olarak tanımlanmaktadır. Apoptozun viruslar tarafından engellenmesi durumunda konak hücrelerin erken ölümü engellenmekte ve böylece virusun varlığını devam ettirme ve infekte hücrelerde oluşacak virus sayısının daha fazla olma olasılığını arttırmaktadır. Diğer taraftan, viruslar oluşan virus neslinin saçılması ve komşu hücrelere de yayılmanın sağlanması amacıyla apoptozu indükte de ederler. Aslında apoptozun indüksiyonu viral patojenitede önemli olan sitotoksitenin oluşması için de gereklidir (Roulston ve ark., 1999).

PPRV'de apoptoz inhibisyonunun doğası ya da mekanizması henüz tanımlanamamıştır. Ancak apoptoz indüksiyon mekanizmasının viral replikasyon ve infekte hücreleri öldürerek replikasyonu inhibe eden konak savunma mekanizmalarının invazyonu tanımlanmıştır (Mondal ve ark., 2001). Söz konusu çalışma keçilerde periferel kan mononükleer hücreleri üzerinde yapılmış olup, apoptoz indüksiyonunun PPRV replikasyonu ile doğru orantılı olduğunu göstermiştir.

1.8.6. PPRV'ye Karşı Sitokin Yanıtları

Tüm ökaryotlar, viral replikasyonu baskılamak için kendilerine özgü mekanizmalara sahiptirler. Bu mekanizmalar kompleman sistemi, nötralizan antikorlar ve sitokin üretiminden oluşmaktadır. Sitokinler arasında, interferonlar (IFN), antiviral tepkilerde yer alan temel sitokinler olarak kabul edilmektedir. Tip II IFN (IFN- γ) viral replikasyonunun doğrudan inhibisyonunda önemli rol oynayan güçlü bir sitokindir (Koyama ve ark., 2008). PPRV ile doğal olarak enfekte olmuş hayvanlarda oral mukoza, akciğer ve dilin epitel hücrelerinde güçlü IFN- γ indüksiyonunu gösterilmiştir (Atmaca ve Kul, 2012).

IFN- γ , antiviral rolünü IFN- β ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) yardımı ile oligoadenilat sentetaz enzimi üzerinden gösterir. TNF- α , viral enfeksiyona yanıt olarak akut faz reaksiyonlarını indükleyen önemli bir sitokindir. TNF- α , çeşitli immün hücrelerin uyarılmasını, ateş, yangı, apoptoz ve sepsisi uyararak viral replikasyonun inhibisyonunda sağlamaktadır (Van Riel ve ark., 2011). PPRV ile enfekte olmuş hayvanların interstisyel lenfositler, akciğer, alveolar makrofajlarında ve sinsityal hücrelerinde yüksek TNF- α ifadesi gösterilmiştir (Atmaca ve Kul, 2012).

TNF- α 'nın hücre aracılı immün yanıtların uyarılmasında aktif bir rol oynadığı bildirilmiştir (Opal ve DePalo, 2000). Ancak, Kızamık virusu ile enfekte olmuş çocuklarda yapılan karşılaştırmalı çalışmada, IFN- γ 'nın enfekte olmayan gruptan önemli ölçüde farklı olduğunu belirtilmektedir (Moussallem ve ark., 2007).

PRV ile enfekte olmuş hayvanlarda interleukin 4 (IL-4) ve IL-10 seviyesi bronşiyol, bronş ve interalveolar septumlarında nispeten yüksek olabilse de enfekte olmayan hayvanlardan daha yüksek olduğu görülmemiştir. IL-4, IFN- γ tarafından indüklenen monositlerin inhibisyonundan sorumludur. IL-10'un ise TNF- α ve IL-1 üretiminin baskılanmasında rol oynar. Yüksek TNF- α ve IFN- γ seviyelerinin IL-4 ve IL-10'un tek başına veya kombine etkisinden belirgin etkilemedikleri bildirilmiştir (Munir ve ark., 2012).

PPRV ile enfekte olan keçiler üzerinde yapılan bir çalışmada, Sinyal Lenfosit Aktivasyonu Molekül reseptörünün (Signaling Lymphocyte Activation Molecule reseptör-SLAM = CD150) T ve B hücrelerinin yüzeyinde eksprese edildiği belirtilmiş, aynı reseptör kızamık, köpek distemper ve sığır vebasası virüsü gibi çeşitli morbillivirüslerde var olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir araştırmada SLAM dağılım ve salınımının PPRV hücre tropizmi ile aynı olduğu ortaya konulmuştur. PPRV'nin immunosupresif doğası nedeniyle, SLAM mRNA seviyesi ana lenf düğümlerinde (hiler, mandibular, yüzeysel servikal ve mezenterik) yüksek olması, PPRV'nin bu lenf bezlerine yüksek affinitesinin olduğunu göstermektedir. PPRV enfeksiyonu ile yüksek oranda enfekte olan solunum ve sindirim sistemlerinde de farklı düzeyde SLAM ifadesi tespit edilmiştir (Meng ve ark., 2011).

1.8.7. PPRV'ye Bağlı İmmünosüpresyon

PPRV'unda immunosüpresyonun düzeyi ve mekanizması fazla bilinmemektedir. İmmünosüpresyon mekanizmasının diğer Morbillivirus'larda ve PPRV izolatları arasında da farklılık göstermesi muhtemeldir. Keçilerin deneysel olarak virülensi yüksek PPRV ile enfekte edilmesi sonucu immunosüpresyon saptanmıştır (Rajak ve ark., 2005). Adı geçen çalışmada PPRV'unun lökopeni, lenfopeni, spesifik ve nonspesifik antikor yanıtında azalma şeklinde immunosüpresyon olduğu saptanmıştır.

Bahsedilen immunosüpresyon göstergeleri çalışmada gözlenen klinik semptomların şiddetiyle uyumlu olarak enfeksiyonun 4-10 günleri arası akut faz dönemde en yüksek seviyededir. PPRV ve diğer Morbillivirüslerin lenfotropik özellikleri lenfopeni ve diğer immunosüpresyon belirteçleriyle birlikte seyrederek ve bu durum hem PPR (Raghavendra ve ark., 1997; Kumar ve ark., 2001; Rajak ve ark., 2005) ve hem de RP virusta gösterilmiştir (Scott, 1981).

PPRV'unun lenfoid organlara olan affinitesi, enfeksiyona bağlı oluşan hemorajiler ve ishal nedeniyle kan parametrelerinde bazı değişimler söz konusudur. PPRV ile doğal olarak enfekte oğlaklarda sindirim sistemi ve karaciğerde oluşan

kanamalara baėlı olarak eritrosit sayısı ve hematokrit deėerlerinde belirgin biçimde dūřtūėu bildirilmiřtir (Sahinduran ve ark., 2012). Hematokrit deėerlerinde meydana gelen bu deėiřim PPRV'unun neden olduėu řiddetli ishale de baėlı olabilmektedir. Stresin de katkısıyla nōtrofil sayısında azalma gōrūlmūřtur.

İmmunsupresyona bağlı olarak lōkopeni, lenfopeni ve monosit sayıları da azalmaktadır. Eozinofil sayılarında ise bir değişim saptanmamıştır. Enfeksiyonunun trombositopeniye neden olduğunu, oğlaklarda ise bunun yanısıra APLTT (activated partial thromboplastin time) ve protrombin zamanının arttığını gōsteren çalışmalar bulunmaktadır. Sağlıklı hayvanlarla kıyaslandığında PPRV ile infekte hayvanlarda globulin değerlerinde belirgin artış, buna bağlı olarak da total kan proteinlerinde ve albuminde belirgin bir dūřme gōzlendiėi bildirilmiştir (Sahinduran ve ark., 2012; Yarim ve ark., 2006).

1.9. Teşhis

PPRV'nin erken tespiti, veteriner hekimlerin ařı veya diėer semptomatik tedavi programlarını uygulamaları açısından önem arz eder. Endemik ūlkelerde, ūzellikle iyi veterinerlik hizmetlerinin bulunmadığı kırsal alanlarda, PPR genellikle benzer semptomlara sahip diėer birçok bakteri, viral ve beslenme hastalıkları ile karıřtırılabilmektedir. Hastalık ūzellikle řap, sığır vebası, keçi plōyropnōymonisi, iek, kolibasillois, pastōrollois, mavidil, ektima, zehirlenmeler, koksidiiosis, pestivirus, ve kriptosporodiosis gibi enfeksiyonlar ile benzer klinik semptomlara neden olabilmektedir. Bu nedenle, PPR için etkili kontrol ūnlemlerinin uygulanması, hastalığın teřhisinin mūmkūn olduėunca çabuk ve kesin teřhis yapılmasına būyūk ūlūde baėlıdır (Diallo, 1988; Scott, 1990).

Virolojik teřhis için canlı hayvanlardan viremi dōneminde kan, konjunktival, nazal, oral sūrūntū ve/veya kazıntı ūrnekleri ile lenf yumrusu biyopsi materyali, ūldūrūlen ve/veya ūlen hayvanlardan dalak, lenf yumrusu ve akciėerden alınan ūrneklere yaygın olarak kullanılmaktadır. Alınan ūrneklere, soėuk zincirde ve sūratle

laboratuvara ulaştırılmalıdır (Anonim, 2004; Diallo ve ark., 1995; Durajoiye ve Lefevre, 1996; Lefevre ve Diallo, 1990). Serolojik teşhis amacıyla; 2 hafta ara ile alınan serum örneklerinin, histopatolojik teşhis için %10 formol içinde dil, akciğer, dudak, lenf yumrusu ve dalak gibi dokuların gönderilmesi uygundur (Anonim, 2004; Diallo ve ark., 1995).

Son yıllarda endemik ülkelerde PPRV antikollarının tespiti amacıyla ELISA ile teknikleri yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Libeau ve ark., 1995). Bu ve benzeri diğer serolojik testler genellikle sürü taramaları için tercih edilen yöntemlerdir. Ancak, in vitro nükleik asit çoğalma yöntemleri (polimeraz zincir reaksiyonu gibi) daha yüksek hassasiyet sağlanmaktadır. Ancak bu ve benzeri tekniklerin özellikle gelişmekte olan ülkeler için rutin teşhis amacıyla kullanılmaları genellikle ekonomik açıdak yüksek bir maliyete neden olmaktadır (Forsyth ve Barrett, 1995). Antijen tespiti için Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) tarafından önerilen agar gel immunodiffusion (AGID) ise, saha örneklerinde PPRV'nin tespiti amacıyla birçok ülkede yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu test nispeten hızlı, ucuz ve basit olmasına karşın, diagnostik amaçlı hassasiyeti tatminkar değildir (Abraham ve Berhan, 2001; Durojaiye, 1982; Durojaiye ve ark., 1983; Obi ve Patrick, 1984).

1.9.1. Serolojik Teşhisi

Serolojik analizlerin çoğu, PPRV'nin nükleokapsid (N) ve hemaglutinin-neuraminidaz (HN) proteinlerine karşı yapılmaktadır (Anderson ve McKay, 1994; Saliki ve ark., 1993; Singh ve ark., 2004). Hem koyun hem de keçilerde, PPR'ye karşı antikolların spesifik olarak saptanması için HN ve N proteinlerini hedef alan ELISA sistemleri geliştirilmiştir (Libeau ve ark., 1995). N protein antijeni kullanan ELISA sistemlerinde, test edilen numune antikolları ile bu proteine karşı elde edilen monoklonal antikollar (MAb) spesifik bağlanma yarışına tabi tutulmaktadır (Raj ve ark., 2001). PPRV'nin HN proteinini kullanan ELISA'lar ise hem bloke edici hem de rekabetçi ELISA'ların geliştirilmesi için uygulanmıştır. Bu ELISA'ların her ikisi de serum antikolları ve MAb'ler arasındaki PPRV'nin HN proteinine karşı rekabete dayanmasına rağmen, test serumları antijen ile önceden inkübe edilmekte, ardından MAb ile inkübasyona bırakılmaktadır (Saliki ve ark., 1993). Blocking ELISA'nın

sensitivitesi %90,4, spesifitesi ise %98,9 olarak bildirmiştir (Ismail ve ark.,1995; Singh ve ark., 2004).

Virus nötralizasyon testi (VNT), antikor tespitinde oldukça hassas ve spesifik bir testtir. Özellikle morbillivirüs cinsinin herhangi bir üyesine karşı oluşmuş antikorların gösterilmesi amacıyla kullanılabilir en güvenilir test olarak bildirilmektedir (Chandran ve ark., 1995; Obi ve ark., 1984; Rossiter ve ark., 1985; Taylor, 1979). Ancak, zaman alıcı, pahalı ve emek isteyen bir uygulamadır (Rossiter, 1994). PPRV ve RPV arasında çapraz nötralizasyon olması, bu iki hastalığın serolojik ayrımında VNT'nin etkinliği konusunda dikkatli olmayı zorunlu kılmaktadır. Diğer taraftan, nötralizasyon düzeyinin, homolog viruslarda (PPRV'ye karşı antikorlar PPRV'ye karşı antikorlar), heterolog viruslardan (PPRV'ye karşı antikorlar RPV'ye göre) daha yüksek olduğu da bilinen bir gerçektir. PPRV antikorlarının tespiti için kullanılan serolojik testler Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. PPRV antikorlarının tespiti için kullanılan serolojik testler.

Kullanılan teknik	Antijen	Algılanan antikorlar	Özgüllük	Kaynaklar
VNT	Canlı virus	Anti-H, Anti-F	Yüksek özgüllük (PPRV tanısı için en spesifik serolojik araç)	OIE (2013)
IFA	Enfekte hücre kültürü	Total Ig	Düşük özgüllük	Libeau ve Lefevre (1990); Wang ve ark. (2013)
İndirekt ELISA	Tam rPPRV N	Anti -N	Morbillivirus genusunda yüksek çapraz reaktivite	Ismail ve ark. (1995)
İndirekt ELISA	Tam rPPRV N	Anti -N	Morbillivirus genusunda yüksek çapraz reaktivite	Zhang ve ark. (2012)
İndirekt ELISA	Tam rPPRV H	Anti -H	Morbillivirus genusunda yüksek çapraz reaktivite	Balamurugan ve ark. (2006)
b-ELISA	Tam PPRV	Anti -H	Yüksek özgüllük, RP antikoruna ile düşük çapraz reaksiyon	Saliki ve ark. (1993)
c-ELISA	Tam PPRV	Anti -H	Yüksek özgüllük, RP antikoruna ile düşük çapraz reaksiyon	Singh ve ark. (2004)
c-ELISA	Tam rPPRV N	Anti -N	Yüksek özgüllük, RP antikoruna ile düşük çapraz reaksiyon	Libeau ve ark. (1995); Choie ve ark. (2005)
c-ELISA	Tam rPPRV N	Anti -N	Yüksek özgüllük, RP antikoruna ile düşük çapraz reaksiyon	Yadav ve ark. (2009)
Peptid bazlı ELISA	N sentetik peptid	Anti -N	Yüksek özgüllük, RP antikoruna ile düşük çapraz reaksiyon	Dechamma ve ark. (2006)

1.9.2. Antijen Tespiti

PPRV ile enfekte olmuş hayvanların dokularındaki ve sekresyonlarındaki antijenleri etkili bir şekilde saptamak için immuncapture ELISA (I-ELISA) ve sandviç ELISA geliştirilmiş ve uygulanmıştır (Abraham ve Berhan, 2001; Libeau ve ark., 1994; Tatar ve Alkan, 1999). Her iki yöntemde de PPRV'nin N proteinine karşı yönlendirilmiş MAb'ler kullanılmıştır. Bu testler hızlı, basit, hassas ve spesifiktir. Bu iki ELISA tekniği ile enfekte hayvanlarda PPRV'yi RPV den ayırt etmek mümkün olabilmektedir (Libeau ve ark., 1994).

Agar-gel immunodiffusion (AGID) testi ve counter-immun electrophoresis (CIEF) testi hem antijen hem de antikorların tespiti için sürekli olarak uygulanmaktadır (Durojaiye ve ark., 1983; Majiyagbe ve ark., 1984; Obi ve ark., 1984). Bu testler, PPRV için çeşitli biyolojik numunelerin taranması için güvenilir, basit ve hızlıdır. Aynı zamanda pahalı ve yoğun emek isteyen tekniklere alternatif olarak kullanılmaktadırlar. PPRV antijenlerinin tespit amacıyla da indirekt floresan antikor test (IFAT) ve (Durojaiye, 1984; Libeau ve Lefevre, 1990; Raj ve ark., 2001) ve immunoperoxidase (IP) (Saliki ve ark., 1994) testleri da başarıyla uygulanmıştır.

1.9.3. Genom Tespiti

Polymerase chain reaction (PCR) bozulmaya yüz tutmuş veya düşük virus yoğunluğuna sahip örneklerin tanı materyali olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Paramyxoviridae familyasının tüm üyelerinin genomu tek iplikli RNA olduğundan, transkripsiyonun tamamlayıcı DNA'ya (cDNA) ters çevrilmesi işlemine ihtiyaç vardır (Muthuchelvan ve ark., 2006a; Muthuchelvan ve ark., 2006b).

Başlangıçta, Forsyth ve Barrett (1995), PPRV genomunun reverse transkripsiyonunu (RT) ve ardından F proteinini hedefleyen PCR'yi göstermiştir. Dönem itibarıyla, diğer virüs genleriyle ilgili doğrulanmış sekans mevcudiyetindeki sınırlamalar nedeniyle, F geninin en iyi hedef olabileceği düşünülmüştür. Ancak,

yaptıkları ileri çalışmalarda hem F hem de P genleri için tasarlanmış farklı primer gruplarının performansında tutarsızlık olduğunu gözlemlemişlerdir. Böylece PCR'ın her virüs suşu, varyantı veya izolatu için uygun olmadığı sonucuna varmışlardır (Diallo ve ark., 1995; Forsyth ve Barrett, 1995; Nanda ve ark., 1996; Shaila ve ark., 1996).

İlerleyen yıllarda yapılan çalışmalarda, PPRV'nin N veya L geninin, morbillivirüsler arasındaki diğer genlerden daha fazla olması nedeniyle PPRV genomunun tespiti için daha uygun olabileceğini ileri sürülmüştür (Abraham, 2005; Bailey ve ark., 2005; Couacy- Hymann ve ark., 2002; Gülyaz ve Özkul, 2005; Özkul ve ark., 2002). F genine dayalı RT-PCR'de yanlış negatif sonuçlardan kaçınmak için Balamurugan ve ark. (2006) N ve M genlerini hedef alan bir tek adımlı tek tüplü multipleks RT-PCR tekniğini bildirmişlerdir. M proteininin tüm morbillivirus proteinleri arasında en fazla korunan olduğu bildirilmektedir (Haffar ve ark., 1999).

1.10. Koruma ve Kontrol

PPR enfeksiyonunun kontrolünde, profilaktik tedbirlerin yanı sıra, aşı uygulamaları etkili yol olarak önerilmektedir. Ari ülkeler hastalık mücadelede, enfekte ülke/bölgelerden hayvan ithalatının/naklinin sınırlandırılması, zorunlu kesim, karantina tedbirleri, enfekte alanların dezenfeksiyonu gibi kullanılması ve uygun bir biçimde karkasların imha edilmesi çok önemlidir. PPR salgınlarının kontrolünde, özellikle yüksek risk taşıyan bölgelerde karantina uygulaması ve aşılama birlikte yürütülmesi gerekmektedir (Abubakar ve ark., 2011). Aşılama PPR enfeksiyonunun mücadelede en etkili yol olarak kabul edilir (Diallo, 2003).

PPR hastalığı, ömür boyu bağışıklık kazandıran canlı zayıflatılmış aşuların kullanımı ile kontrol edilir. Sahada kullanılmak üzere birkaç PPR aşısı mevcuttur, PPRV/Nijerya/75, PPRV/Arasur/87, PPRV/Sungri/96 ve PPRV/Coimbatore/97 kullanım için lisanslıdır. PPRV/Nijerya/75 ve PPRV/Sungri/96 suşlarından oluşan PPR aşuları ticari olarak temin edilebilmektedir. Son derece etkili olmasına rağmen,

bu aşıların bir dezavantajı, uygulama alanındaki aşı etkinliğini (titresini) korumak için soğuk zincirin gereklidir. Termostabil canlı-zayıflatılmış aşılar son zamanlarda tropikal ve subtropikal ülkelerde soğuk zincir sağlanması ile ilişkili problemleri azaltmak için geliştirilmiştir. Buna rağmen, koyun ve keçilerin yüksek riskli popülasyonlarında PPR için hedeflenmiş aşılama programları etkili bir kontrol stratejisi oluşturmaktadır.

Yakın zamanlara kadar PPR enfeksiyonuna karşı immunizasyonda RP virusunun hücre kültürüne adapte edilmiş PPR enfeksiyonuna karşı heterolog attenüe sığır vebası aşısı da (Tissue Culture Rinderpest Vaccine-TCRP) başarıyla kullanılmıştır. Araştırmacılar tarafından geliştirilen $10^{2.5}$ DKID₅₀ dozdaki attenüe RP doku kültürü aşısı, keçileri bir yıl boyunca PPRV enfeksiyonuna karşı korumuştur (Abraham, 2005; Taylor, 1979). Aşı keçiler (Barber ve De Boer, 1965), koyun, (Murty ve Sharma, 1974) ve gebe koyunlarda (Adu ve Nawath, 1981) güven ile kullanılmaktadır.

Ancak PPR virusun, fetal kuzu böbrek hücre kültürlerinde 32., 42. ve 65. pasajdan sonra bile virulens kazandığı bildirilmektedir (Taylor, 1979). Bu aşı PPRV enfeksiyonunun kontrolünde Batı Afrika'da yer alan birçok ülkede başarıyla kullanıldı (Lefevre ve Diallo, 1990) bu heterolog aşının (Tissue Culture Rinderpest Vaccine-TCRP), PPR'ye karşı korunması için kullanılması 1994 yılından itibaren durdurulmuştur (Anderson ve McKay, 1994). Bu eylemi takiben, hastalıkla mücadele etmek için homolog PPR aşısı üretimine geçilmiş ve PPRV Nijerya 75/1 patojen suşunun Vero hücre kültürlerinde 63. pasajdan sonra attenüasyon işlemi tamamlanmıştır (Diallo ve ark., 1989b; Diallo ve ark., 1995; Durajoiye ve Lefevre, 1996). Daha sonra, Hindistan'da lineage IV PPRV izolatları kullanılarak üç PPRV aşısı (PPRV/Arasur/87, PPRV/Sungri/96, PPRV/Coimbatore/97 isolates) daha geliştirilmiştir (Palaniswamy, 2005; Sreenivasa ve ark., 2000).

Homolog PPR aşısının saha denemelerinde oldukça güvenli olduğu, gebe hayvanlarda bile rahatlıkla kullanılabilir (Diallo ve ark., 1995). Homolog PPR aşısı ile RP virusuna karşı da sığırlarda oldukça etkili bir bağışıklık oluşmaktadır

(Couacy-Hymann ve ark., 1995). Virus konak dışında dört gün kadar canlılığını sürdürebilmektedir. Enfeksiyonun kontrolünde dezenfeksiyon ve virusun çevre şartlarında hızlı inaktivasyonu önemlidir. Çeşitli dezenfektanlar kullanılarak PPR virusun inaktivasyonu gerçekleştirilebilir. Bu dezenfektanlar halojenler (sodyum hipoklorit), alkaliler (sodyum hidroksit, sodyum karbonat), fenolik bileşikler, alkoller, iyodoforlar ve sitrik asit olarak sayılabilir (Gibbs ve ark.,1979; Scott, 1990). PPRV'ye karşı mevcut canlı zayıflatılmış aşı oldukça başarılıdır ve şu anda PPRV endemik ülkelerinin çoğunda kullanılmaktadır. Ancak, bu aşı uzun zaman kullanılamaz, çünkü Küçük ruminantlarda seropozitifliğin, doğal enfeksiyondan mı yoksa aşından mı kaynaklandığını tespit etmek mümkün değildir. PPR ile doğal olarak enfekte olmuş ve aşılanmış hayvanlar arasında farklılaşma (DIVA) özelliğine sahip bir aşı tasarlamak gerekmektedir.

Son yıllarda Türkiye’ de keçi, koyun yetiştiriciliğini tehdit eden ve bildirişi mecburi hastalıklar listesinde yer alan keçi ve koyun vebasası hastalığı ile mücadelede profilaktik uygulamalar hastalıkla mücadele yöntemlerinin başında yer almaktadır. Bu amaçla yaygın olarak Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) tarafından önerilen PPRV attenüe Nijerya 75/1 suşu ile üretilen PPR aşısı kullanılmıştır (Altuğ ve ark., 2013).

1.11. Antikor Aviditesi

Spesifik bir antijene hümmoral immün cevabın iki önemli özelliği mevcuttur. Bunlar; üretilen antikorun miktarı ve bu antikorun antijenine bağlanma gücüdür. Antikor affinitesi, antikorun tek bir antijen bağlanma bölgesi ile bir monovalent antijen arasındaki bağlanma kuvveti olarak tanımlanmaktadır (Aybay, 1999; Çolak, 2001). Antikor aviditesi ise bir antikorun bir antijene genel bağlanma gücü olarak tanımlanır (Owen ve Steward, 1996). Genel olarak antikorlar 2 (IgG) ile 10 (IgM) arasında antijen bağlanma bölgesi içeren multivalent yapılardır. Antijenler de genellikle çok multivalent ve/veya çözünmezdir. Antikor miktarı, hayvanların immünizasyonundan sonra zamanla aşamalı olarak artmaktadır (Rodkey ve ark.,

1970). Buna immün yanıtın olgunlaşması denilmektedir (Siskind ve ark., 1969). Bu fenomenin, virus enfeksiyonlarından sonra konakçıların bağışıklık tepkilerinde de olduğu düşünülmektedir. Affinite olgunlaşması, giderek daha yüksek affinitelere ve daha hızlı oranlara sahip antikorlar üreten hücrelerin sayıca artmasına neden olur (Rauer ve ark., 2001). Böylece, avidite olgunlaşması, yüksek affiniteli hafıza B hücrelerinin seçimi için bir yedek belirteç olarak görev yapabilmektedir (Korhonen ve ark., 1999). Diğer viral enfeksiyonlarda olduğu gibi PPRV, IgM ve IgG antikorlarının indüklenmesini uyarır. IgM tipi antikorların enfeksiyondan kısa bir süre sonra kaybolurken, IgG birkaç yıl boyunca stabil kalmakta daha sonra kaybolmadan düşebilmektedir (Liesenfeld ve ark., 2001).

Uzun zaman önce geçirilmiş virus enfeksiyonlarını yakın geçmişli enfeksiyonlardan ayırt etmek için IgG aviditesinin kullanılabileceği ilk olarak 1980'lerde tanımlanmıştır (Hedman ve ark.,1993). IgG aviditesinin belirlenmesinin, viral serolojide akut ve geçmiş enfeksiyonların ayrıştırılması için uygun bir yol olduğu gösterilmiştir (Gutierrez ve ark., 1996). Düşük avidite IgG tipik olarak akut enfeksiyonlarda tespit edilebilirken, yüksek avidite IgG geçmiş enfeksiyonu göstermektedir. Primer enfeksiyondan sonraki ilk birkaç ay boyunca üretilen IgG antikorları düşük aviditeli (yani, antijene zayıf bir şekilde bağlanır), oysa enfeksiyondan 6 ay sonra üretilen antikorlar yüksek aviditeli (yani antijene sıkıca bağlanır) olarak kabul edilmektedir (Ward ve ark., 2001).

Antikor miktarı ve kalitesi, aşı etkinliğinin iyi serolojik belirteçleridir. Bebeklerde ve küçük çocuklarda aşı stratejilerini belirlemek için aşı etkinliği çalışmalarının avidasyon analizini içermesi gerektiği önerilmiştir. Antikor avidite tayini genellikle yüksek ve düşük avidite antikorları, guanidin hidroklorür (Inouye ve ark., 1984), tiyosiyanat (Weissbrich, 1998), dietilamin (Hamburger, 1998) veya üre (Hedman ve Seppala, 1988) gibi ayırıcı maddelerle ayırarak gerçekleştirilir. Spesifik IgG antikorların aviditesinin saptanması; aglütinasyon, radyo-immunassay, kompleman fiksasyon, ELISA, immunfloresans, elektroblotting ve elektroforez gibi çeşitli yöntemler kullanılarak yapılmaktadır (Gutierrez ve ark., 1996).

Antikor aviditesinin hesaplanmasında elüsyon ve dilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır (Çolak, 2001). Dilüsyon yönteminde, farklı konsantrasyonlarda antijen ile birlikte sabit bir konsantrasyonda protein denatüre edici madde serum sulandırmasına eklenmektedir. Sonra, katı faz bağlanmasını %50 oranında önleyen antijen miktarı belirlenir. Ne kadar az antijen gerekirse avidite o kadar güçlü olur. Elüsyon testlerinde ise antijen-antikor kompleksi oluşuktan sonra ortama denatüran madde eklenmektedir. Antikor/antijen etkileşimlerini bozmak için farklı konsantrasyonlarda bir denaturant ajan (örneğin izotiyosiyanat, üre veya dietilamin) eklenmekte ve ELISA ile dirençli antikor elüsyon miktarı burada belirlenmektedir. Avidite ne kadar yüksek olursa, belirli miktarda antikoru elimine etmek için o kadar denaturant ajan gerekmektedir. Her iki yöntemde de test tamamlanarak denatüre edici madde ile muamele edilmiş ve edilmemiş gözler arasındaki OD farkı yüzde olarak ifade edilmektedir (Guerineau ve ark., 1999). Bugün ticari olarak kullanıma sunulmuş enzim immünassay prensibi ile çalışan kitlerde ve sonuçta avidite indeksi (AI) aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır (Tuokka, 1995).

$$AI = \frac{OD_{\text{Üre}}}{OD_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

1.12. Peste des Petits Ruminant, Ekonomiye Etkisi ve Yoksulluk

Dünyada yaklaşık 1,84 milyar küçük ruminant vardır. Bir milyar koyun ve yaklaşık 900 milyon keçi (FAOSTAT, 2010). Asya, küresel küçükbaş hayvan nüfusunun yaklaşık yarısını oluşturuyor. Küçük ruminant popülasyonları Çizelge 1.2'de gösterilmiştir.

Çizelge1.2. Dünyada küçük ruminant popülasyonları.

	Küçük ruminant popülasyonu	Oran (%)
Afrika	497,178,619.30	27
Amerika	132,055,115.80	7
Asya	885,715,551.80	48
Avrupa	172,484,255.60	9
Okyanusya	153,190,195.20	8

Küçükbaş yetiştiriciliği hayvancılıkta önemli bir rol oynamaktadır. Temelde fakir tarım arazilerinde ve kaynak bakımından fakir alanlarda yaygın olarak yetiştiricilik yapılmaktadır. Yoksul topluluklar arasında keçiler ve kümes hayvanları genellikle temel hayvan varlığı olarak dikkat çekmektedir. Genel olarak kolay mobilize olmaları, satın alınma ve aynı zamanda satılmaları yatırım yapılmasını nispeten kolay kılar. Bir başka deyişle birçok farklı alanda benzer şekilde minimum yatırım ve yönetim gerektiren bir yetiştiricilik şeklidir. Et ve süt, küçük ruminant üretiminin en yaygın iki çıktısıdır.

Diğer hayvan hastalıkları gibi, PPR, küçük ruminantlar tarafından gerçekleştirilen işlevi ve bunların ürün ve hizmetlerini etkiler. PPR'nin küçük bir ruminant sahibi için en doğrudan etkisi, hayvanların ölümüdür. Diğer somut etkiler, morbidite kayıplarıdır. Hasta hayvanlar hem ev tüketimi hem de satış için ve kuzuların beslenmesi için daha az süt üretirler. Kuzular için daha az süt de hayatta kalma oranlarını azaltabilir ve bu nedenle sürü büyümesini ve değerini etkiler. Ticari sistemlerde, PPR ile ilişkili kilo kaybı, besleme maliyetlerini artırır veya sistemdeki hayvanları istenen ağırlığa ulaşmak için daha uzun süre tutar. Şiddetli salgınlarda, tüketici arz şoku kaynaklı ürünlerin tüketici fiyatlarındaki artıştan etkilenebilir (FAOSTAT, 2009).

1.13. Araştırmanın Amacı

PPR küçük ruminant yetiştiriciliğini etkileyen en önemli sınırlayıcı enfeksiyonlardan bir tanesidir. Hastalığın eradikasyonu hızlı ve güvenilir tanısal sistemler ile profilaktik tedbirlerin süratle uygulanmasına bağlıdır. PPR hastalığı ile etkin mücadelede yaygın olarak kullanılan attenüe canlı aşılamanın etkin bir koruma sağladıkları yönünde genel bir kanı oluşmuş olsa da aşılama sonrası oluşan sıvısal bağışıklığın süresini ve etkinliğini tespit etmeye yönelik çalışma sayısı oldukça azdır. Bu araştırmanın amacı, PPR aşılama sonrası yapıldığı seçilmiş koyun sürülerinde aşılama sonrası nötralizan antikor oluşum sürecini takip etmek ve tespit edilen PPRV- spesifik antikorların zamana bağlı olarak antijene bağlanma gücünü (avidite) analiz etmektir. Böylelikle aşılama sonrası edinilen humoral bağışıklığın zamana bağlı yorumlanması gerçekleştirilecektir. Tamamlanan bu çalışma, PPR aşılama sonrasında spesifik IgG'lerin aviditelerinin olgunlaşma sürecini değerlendirecek ilk çalışma olma özelliğindedir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Hücre Kültürü

Araştırmada PPR virusun üretilmesi, enfeksiyözitesinin tespiti ve nötralizasyon testlerinde, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı koleksiyonunda bulunan Vero (Afrika Yeşil Maymun Börek) hücre hattı kullanıldı. Hücre kültürlerinin üretilmesinde Dulbecco's Modified Essential Medium (DMEM) vasatı kullanıldı. Hücreler %5 ile %10 arasında değişen oranlarda fetal dana serumu (FDS), %1 konsantr Penisilin ve Streptomisin ile desteklenen DMEM (Sigma-Aldrich, ABD) içerisine kültüre edildi.

2.1.2. Viruslar

Çalışmada Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'nda mevcut olan PPR virus saha izolatu kullanıldı. Bu izolat (GenBank no AJ849636) 2000 yılında Sakarya ili sınırları içinde bulunan bir koyunculuk işletmesinde PPR hastalık tablosu gösteren bir koyundan izole edilmiştir.




2.1.3. Araştırmada Kullanılan Hayvanlar

Araştırmada Eskişehir ili Çifteler ilçesinde yerleşik koyun sürülerinde bulunan 150 adet Ramlic ırkı (Rambouillet ve Daglic koyun melez) koyun kullanıldı. Söz konusu çalışmanın yapılabilmesi için gerekli yasal izin dönemin Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğünden alındı (Ek-1).

Araştırmada kullanılan koyunlar 3 gruba ayrıldı, Birinci grupta (Gr1) 100 koyun yer aldı. Bu hayvanlar PPRV'ye karşı, Nig/75/1 PPR virusu suşu aşısı kullanılarak aşılandı. G1'de yer alan bu hayvanlardan, araştırma planı doğrultusunda, aşılama anında (0 gün), aşılamayı izleyen 1, 6 ve 12. aylarda olmak üzere toplam 4 kez kan alındı. Sürü ve bireysel IgG ve ilgili avidite sorgulamalarının yapılabilmesi için, doğal olarak, her örneklemede aynı 100 koyun kullanıldı.

İkinci grupta (Gr 2) iki yıl önce doğal PPR virus enfeksiyonu geçirdiği tespit edilen 25 koyun ve son grupta ise (Gr 3) PPR enfeksiyon aşılanmamış bir sürüden ayrılan 25 koyun (bu hayvanlardan 8 tanesinin örnekleme sırasında 3 aylık kuzu olduğu kaydedildi) kullanıldı. Gr 2 ve Gr3'de yer alan hayvanlar çalışma süresince sadece bir kez örneklendi. Çalışma kapsamında izlenen 3 işletmede yapılan örneklemler, tarih ve örneklenen hayvan sayıları itibariyle Çizelge 2.1'de gösterildi.

Çizelge 2.1. Örneklemlerin yapıldığı tarihler ve örneklenen hayvan sayıları.

		Hayvan Sayısı	Aşılama / 1. Örnekleme	2. Örnekleme	3. Örnekleme	4. Örnekleme
Gr 1		100	23.6.2017	28.7.2017	27.12.2017	26.6.2018
Gr 2		25		28.7.2017		
Gr 3		25		28.7.2017		

Çizelge 2.2. Araştırmada kullanılan takip hayvanlarının (Gr1) kulak numaraları

SERUM NO	KULAK NO	SERUM NO	KULAK NO	SERUM NO	KULAK NO	SERUM NO	KULAK NO
1	2565625	26	10813	51	3148833	76	660315
2	1458950	27	1544624	52	2150885	77	1462149
3	660325	28	3148837	53	660320	78	1544632
4	2150868	29	2150889	54	2285853	79	1372499
5	1458949	30	12035	55	2150878	80	12067
6	1451653	31	2150832	56	2564398	81	2150836
7	841447	32	660269	57	1458945	82	2150993
8	2150839	33	2818149	58	660318	83	3148825
9	3148836	34	1462157	59	2150931	84	4276185
10	660313	35	2107932	60	20350	85	4276293
11	1458917	36	2150938	61	2150983	86	2565605
12	2150903	37	2150829	62	2150944	87	660317
13	2565617	38	2150904	63	2285856	88	1451727
14	2150897	39	2565619	64	2107941	89	12085
15	743819	40	2150888	65	2565601	90	2564394
16	1458924	41	2150841	66	2565622	91	1458961
17	2565624	42	12043	67	1090175	92	1458929
18	3148832	43	2150847	68	884526	93	1090187
19	2564393	44	2107946	69	1451636	94	1544637
20	2107914	45	2150985	70	2107916	95	2150915
21	2150922	46	2285940	71	1458907	96	1458208
22	2818049	47	2565618	72	2107933	97	12080
23	1303616	48	2565623	73	12047	98	2285863
24	2150990	49	660288	74	2150859	99	1884491
25	228554	50	1462147	75	1462146	100	1458960

2.1.4. Konvansiyonel RT- PCR

Çalışmada kullanılan ticari kitler, Taq polimeraz enzimi ve 100-3000 bp DNA merdiveni Çizelge 2.3’de liste halinde verildi.

Çizelge 2.3. Konvansiyonel RT-PCR çalışmada kullanılan ticari kitler ve diğer maddeler.

Kullanılan Malzeme (Katalog no)	Üretici
Plasma/Serum-Cell Free Circulating and Viral Nucleic Acid Purification Mini Kit (Kat. No: 56300)	Norgen, Canada
RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Kat. No: 1622)	Thermo Scientific, Litvanya
Pfu Taq DNA Polymerase (Kat. No: EP0501)	Thermo Scientific, Litvanya
DNA Ladder, 100-3000 bp (Kat. No: SM0244)	Thermo Scientific, Litvanya

2.1.5. ELISA Kiti

Araştırmada PPR virusa N proteinine karşı gelişen spesifik antikorların tespiti amacıyla ticari olarak temin edilen Kompetatif ELISA kiti (ID Screen® PPR Competition, ID.VET Innovative Diagnostics, France) kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Virusların Üretilmesi

PPR virus izolatını çoğaltmak amacıyla ve takiben enfeksiyözite gücünü hesaplamak amacıyla Vero hücre kültürü kullanıldı. PPR virusun üretilmesi için klasik adsorbsiyonlu inokulasyon tekniği kullanıldı. İlk olarak Vero hücresi 25 cm² hücre kültürü flaskında üretildi. Tek tabakalı olarak kaplanmış olan yüzey Dulbecco’s

Modified Essential Medium (DMEM) ile yıkandı. Daha sonra flaskın hacminin %1'i oranında adsorbsiyonlu yöntem ile inokulasyon yapıldı. Bir saat süreyle yapılan inkübasyon işlemini takiben flaska hacminin %10'u oranında serumsuz DMEM'den eklendi. Kültür sistemi 4-5 gün süreyle %5 CO₂ içeren 37°C'lik etüvde inkübe edildi ve günlük mikroskop kontrolleri ile PPR virus-spesifik CPE oluşumu yönünden takip edildi. Hücrelerin yaklaşık %80-90 oranını enfekte ettiğinde, dondurma-çözme (3 defa) ve santrifüj (10 dk, 3000 devir/dk) işlemlerinden sonra virus süspansiyonu porsiyonlanarak -80°C'de saklandı. Dondurulan virusler üremesinin doğrulanması amacıyla Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) tekniği ile kontrol edildi. Doğrulama sürecini takiben enfeksiyözite gücünün tespiti amacıyla -80°C'de dondurulan örneklerden çözülerek titrasyon testine tabi tutuldu.

2.2.2. Enfeksiyözite Güç Tayini

Bu test 24 kuyucuklu platelerde gerçekleştirildi. Kısaca; virusler, Dulbecco's Modified Essential Medium (DMEM) ile içinde logaritma 10 tabanına göre sulandırıldı. Her sulandırmadan 24 göz tabletinin aynı sırada bulunan dört gözüne 100µl konuldu. Virus kontrol amacıyla dört göze 50µl saf virus ve 50µl serumsuz DMEM; hücre kontrol için ayrılan dört göze %10 oranında FDS içeren DMEM vasatından 100µl konuldu. 1 saat 37°C'lik etüvde inkübasyon, sonra tüm gözlere 150µl serumsuz DMEM ve 24 göz tabletleri 37°C'lik %5 CO₂'li etüvde inkübasyona bırakıldı. Tabletler doku kültürü mikroskobu ile 7-14 gün süresince kontrol edildi ve süre sonunda gelişen sitopatolojiler Kaerber' in (1964) bildirdiği şekilde hesaplanarak titre değeri belirlendi.

2.2.3. Moleküler Viroloji Uygulamaları

2.2.3.1. PPRV RNA Ekstraksiyonu

PPRV genomik RNA'sının ekstraksiyonu için ticari (Plasma/Serum-Cell Free Circulating and Viral Nucleic Acid Purification Mini Kiti (Norgen, Canada) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda elde edildi. Buna göre;

1. PPR virus ile enfekte hücreler %90 oranında CPE gösterdiğinde, 2 kez dondurulup çözüldü. Elde edilen virus süspansiyonunun 200 µl alınarak 1,5ml'lik ependorf tüpe konuldu. Üzerine 600 µl Lysis Buffer A eklendi ve vorteks yardımıyla 10 saniye karıştırıldı.
2. Karışım üzerine 800 µl etanol (96-100%) konuldu ve vorteks yardımıyla 10 saniye karıştırıldı.
3. Kit içindeki Micro Spin Kolon tüpler toplama tüplerine yerleştirilerek kullanıma hazır hale getirildi. Bir önce basamakta hazırlanan karışımından 650 µl bu tüplere aktararak 3300 g'de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda toplama tüplerine geçen sıvı kısım atıldı. Üstteki Micro Spin Kolon tüpler yeni toplama tüplerine tekrar yerleştirildi.
4. Üçüncü basamak iki kez daha tekrar edildi.
5. Üstteki Micro Spin Kolon tüplere üzerine 400 µl Wash Solution A eklendi ve 3300 g'de 30 saniye santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki sıvı boşaltıldı. Üstteki Micro Spin Kolon tüplere tekrar yerleştirildi.
6. Beşinci basamak iki kez daha tekrar edildi.
7. Micro Spin Kolon filtrede kalan sıvı tamamen uzaklaştırılması için 13000g'de 2 dakika boş olarak santrifüj edildi. Toplama tüpleri atıldı.
8. Daha sonra Micro Spin Kolon tüp yeni bir 1.7ml'lik elution tüp içine yerleştirildi ve üzerine Elution Buffer F 25 µl eklendi 2 dakika oda sıcaklığında. Daha sonra 400 g'de 1 dakika santrifüj edildi bunu takiben 5800 g'de 2 dakika tekrar santrifüj edildi.

9. Son olarak üstteki Micro Spin Kolon tüp atıldı ve elution tüp içindeki RNA ekstrakt, PCR testinde kullanılmak üzere -20°C 'de saklandı.

2.2.3.2. RNA Kalitesi ve Konsantrasyonunun Tespiti

Örneklerdeki RNA miktarları Nanodrop cihazında ölçüldü. Nanodrop cihazında ölçüm için RNA eldesi sırasında (son aşamada) kullanılan sulandırma solüsyonlarından alınan $2\ \mu\text{l}$ sıvı kör olarak kullanıldı. Daha sonra her örnekten $2\ \mu\text{l}$ alınarak ölçüm yapıldı ve örnekler cDNA aşamasına kadar -20°C 'de tutuldu.

2.2.3.3. cDNA Sentezi

Komplementer DNA (cDNA) elde edilmesi amaç için revertaid First Strand cDNA kiti (Fermentas, Litvanya) kullanıldı. Önce tüm reaksiyon bileşenleri çözüldü ve vorteks ile karıştırılarak buz aküsü içine üzerine alındı. PCR tüpü ($0,2\ \text{ml}$) içerisine $3\ \mu\text{l}$ steril deiyonize su, $0,5\ \mu\text{l}$ random hexamer primer ($0,2\ \mu\text{g}/\text{ml}$) ve $3\ \mu\text{l}$ ($6\ \mu\text{g}$) RNA konuldu. Karışım vorteksde karıştırıldı ve çok kısa bir süre santrifüj edildi. Tüpler ısı döngü cihazına yerleştirildi ve 70°C 'de 5 dakika inkubasyona bırakıldı. Inkubasyon sonunda, buz üzerine alınıp soğutulan örneklere kit içinde bulunan $2,0\ \mu\text{l}$ 5X reaksiyon buffer, $1\ \mu\text{l}$ 10mM dNTP mix ve $0,5\ \mu\text{l}$ M-MuLV (Moloney Murine Leukemie Virus) reverse transkriptazdan ($200\ \text{U}/\ \mu\text{l}$) oluşan karışımdan $3,5\ \mu\text{l}$ eklendi. Ardından tüpler ısı döngü cihazına yerleştirilerek 25°C 'de 10 dakika, 37°C de 1 saat ve 70°C de 5 dakikadan oluşan program süresince inkubasyona bırakıldı. Inkubasyon sonunda cDNA elde edildi.

2.2.3.4. Konvansiyonel RT-PCR

Konvansiyonel RT-PCR tekniği ile PPRV nükleik asit tespitinde, F genine yönelik olarak Forsyth ve Barrett (1995) tarafından bildirilen primer çiftleri kullanıldı. Primer dizinleri ve primerlere ait bilgiler izelge 2.4’de sunuldu.

Çizelge 2.4. PPRV F genine spesifik RT-PCR primerleri ve ürün büyüklüğü.

Primer Adı	Dizin 5’ → 3’	Primer uzunluğu (bp)	Lokalizasyon	rn Büyüklüğü (bp)	Kaynak
F1(F)	ATCACAGTGTTAAA GCCTGTAGAGG	25	777-801	371bp	Forsyth ve Barrett (1995)
F2(R)	GAGACTGAGTTTGT GACCTACAAGC	25	1124-1148		

Çizelge 2.5. Konvansiyonel RT-PCR tekniğinde kullanılan reaksiyon karışımı ve ısı protokolü.

Bileşen	Konsantrasyon	Kullanılan Program
De-iyonize su	18.9 µl	50°C’de 15 dk 95°C’de 2 dk
10x Reaksiyon Tamponu	3 µl	
25 mM MgCl ₂	2.4 µl	94°C’de 30 sn 50°C’de 45 sn 72°C’de 30 sn
10 mM dNTP mix	0.8 µl	
Primer F1 (10µM)	0.8 µl	
Primer F2 (10µM)	0.8 µl	72°C’de 5 dk
Taq DNA polimeraz	0.3 µl	
cDNA	3 µl	
Toplam	30 µl	

Çizelge 2.5’te detayları verilen reaksiyon karışımı, aynı tabloda sunulan ısı döngülerine tabi tutulmak suretiyle PCR işlemi tamamlandı. Süre sonunda genom spesifik DNA ürününün çoğaltılıp oğaltılmadığını anlamak amacıyla reaksiyon

karışımlarından 5 µl hacimde alındı, 1 µl 6x yükleme tamponu ile karıştırılarak %1,5 agaroz içinde elektrik akımı altında ve rehber DNA merdiveni paralelinde koşturuldu. Sonuç, jelin transilluminatörde kontrol edilmesi suretiyle değerlendirildi.

2.2.4. Seroloji

2.2.4.1. Kan Serum Örneklerinin Hazırlanması

Serolojik çalışma amacıyla Kaolinli tüplere alınmış olan kan örnekleri, pıhtılaşmalarını takiben 2000 devirde 10 dk santrifüj edildi. Ayrılan serumlar steril stok tüplerine aktarıldı ve daha sonra 56°C’de su banyosunda 30dk inaktive edildi. Serum örnekleri testlerde edilinceye kadar -20°C’de dondurularak saklandı.

2.2.4.2. Virus Nötralizasyon Testi (VNT)

VNT amacıyla Rossiter ve ark (1985) bildirilen metot uygulandı. İnaktive edilen serum örneklerinin 1/5 oranında sulandırılmaları hazırlandı. Steril 96 gözlü hücre kültürü tabletlerin tüm gözlerine 50 µl serumsuz vasat kondu. Her serum için 4 göz kullanılmak suretiyle 1. sıradaki gözlere 50 µl miktarda test edilecek serum ilave edildi. Bundan sonra çok kanallı pipet yardımı ile iki kat seri dilüsyonlar yapıldı. Üzerine 100DKID₅₀ oranında sulandırılan virus süspansiyonu ile eşit hacimde serum örnekleri ile birleştirildi. Her plaka için virus ve enfekte olmamış hücreler için kontrol kuyuları da dahil edildi. Kültür tabletleri %5 CO₂’li 37°C’ye ayarlı etüvde 1 saat süreyle nötralizasyona bırakıldı. Süre sonunda 300.000 hücre/ml olacak şekilde hücre süspansiyonu eklendi ve 96 göz tabletleri 37°C’lik %5 CO₂’li etüvde inkubasyona bırakıldı. Tabletler doku kültürü mikroskobu ile 5-7 gün süresince kontrol edildi.

2.2.4.3. Kompetitif ELISA

PPRV (NP) karşı gelişen spesifik antikorların tespiti amacıyla ticari c-ELISA kiti (ID Screen® PPR Competition, ID.VET innovative diagnostics, France) kullanıldı. Test, kit protokolünde bildirildiği şekilde aşağıdaki gibi uygulandı.

1. Kitin içerdiği tüm kimyasallar testte başlamadan önce oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi.
2. Tabletin tüm gözlerine 25 µl "Dilution Buffer 13" ilave edildi.
3. G11 ve G12 gözlerine 25 µl pozitif kontrol, H11 ve H12 gözlerine 25 µl negatif kontrol ve pleytin diğer gözlerine 25 µl test serumları (her serum için 2 gözüne) konuldu.
4. Pleyt 37°C'de 45 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. Her göze 300 µl yıkama solüsyonu ile pleyt 3 kere yıkadı.
6. "Dilution Buffer 4" ile 1/10 oranında sulandırılan 1X "konjugat" (Anti-NP-HRP Konjugat) her göze 100 µl eklendi.
7. ELISA tableti oda derecesinde (21-25°C) 30 dakika inkübe edildi.
8. Her göze 300 µl yıkama solüsyonu eklenerek pleyt 3 kere yıkadı.
9. Her göze 100 µl "Substrat" (Tetramethylbenzidine-TMB) solüsyonu ilave edildi.
10. ELISA tableti oda derecesinde (21-25°C) 15 dakika inkübe edildi.
11. Her göze 100 µl "stop solüsyonu" ilave edilerek tablet ELISA okuyucuda 450nm OD'de (Multiskan MKII, Titertek, Finlandiya) okundu.

2.2.4.3.1. Test Prensibi

Testin prensibi, test edildi olan örnek serumunda ve enzimle işaretli antikor (MAb) aynı anda kuyucuklara kaplanmış olan PPR virusunun nükleoprotein (NP) antijenine bağlanmada bir yarışma söz konusudur. Pozitif serum varlığında, monoklonal antikorların (MAb) bağlanmasının inhibisyonu meydana gelir ve

neticede reaksiyon, substrat eklendikten sonra renkte azalma ile sonuçlanır (Anderson ve ark., 1991).

2.2.4.3.2. Testin Yorumlanması

Testin doğru şekilde çalıştığının göstergesi, negatif kontrol OD değerinin 0.7'den büyük olması, pozitif kontrol OD değerinin negatif kontrol OD değerine bölümünün %30'dan küçük olmasıdır. Elde edilen absorbans değerleri, sözkonusu kitin protokolünde belirtilen şekilde değerlendirildi (Çizelge 2.6).

Çizelge 2.6. PPRV c-ELISA değerlendirme tablosu

Sonuç	Durum
Örnek / Negatif Kontrol \leq %50	Pozitif
%50 < Örnek / Negatif Kontrol \leq %60	Şüpheli
Örnek / Negatif Kontrol > %60	Negatif

2.2.4.4. IgG-anti-PPR Antikor Aviditesinin Belirlenmesi

Tespit edilen pozitif serum örneklerinde, PPR virus spesifik antikorların antijne bağlanma gücü ise Kompetatif ELISA tekniği ile kombine edilen Avidite testi ile sorgulanmıştır. Aynı ticari ELISA sistemi kullanıldı ancak protokole 8 M üre inkübasyon adımı eklendi. Kısaca, seropozitif serum örnekleri, 1:50 seyreltmede iki kopya halinde ELISA tabletlerine dağıtılmıştır. Pleyt 37°C'de 45 dakika dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra her göze 300 µl yıkama solüsyonu ile pleyt 3 kere yıkadı.

Daha sonra, tabletin ilk sıralarına (1,3,5,7...) 150 µl hacimde PBS, ikinci sıralarına (2,4,6,8...) PBS içerisinde hazırlanmış 8M Üre solüsyonundan 150 µl hacimde ilave edildi. 6-8 dakika süreyle 37°C'de inkübe edildikten sonra dökülüp

PBS ile 3 kez yıkama işlemi yapıldı. Testin kalan adımları üretici firma tarafından açıklandığı gibi gerçekleştirildi.

Avidite İndeksi (%A.I.) ise, PPRV antikor pozitif olduğu tespit edilen serum örnekleri için aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$\% \text{ A.I.} = \text{O.D. ÜRE} * / \text{O.D. PBS} * \times 100$	(Tuokko, 1995)
--	----------------

O.D. PBS *: Yıkama solüsyonu (PBS) ile yıkanan gözlerde tespit edilen optik dansite değeri.

O.D. ÜRE *: Ayrıştırıcı çözelti (8M ÜRE) ile yıkanan gözlerde tespit edilen optik dansite değeri.

2.2.2.5. İstatistiksel Analizler

Verilerin analizi SPSS 21 paket programında yapıldı (IBM SPSS Software, USA). Kategorik değişkenler arasındaki ilişkinin istatistiksel anlamlılığını değerlendirmek için Chi-square testleri kullanıldı. P-değerlerinin 0.05'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

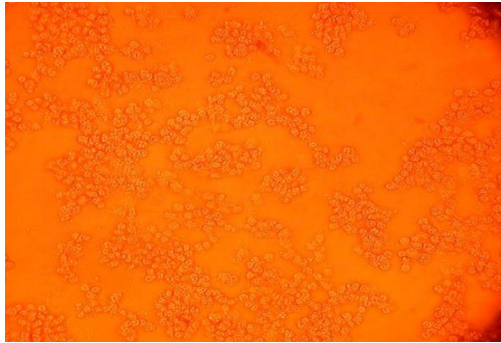
3. BULGULAR

3.1. Virusların Üretilmesi

Araştırmada PPR virusun üretilmesinde, titrasyon ve nötralizasyon testlerinde için Vero hücre hattı kullanıldı. Kültür sistemi 5-7 gün süreyle %5 CO₂ içeren 37°C'lik etüvde inkübe edildi. PPR virüs izolatını VERO hücre kültüründe 4. günden itibaren cpe oluşturduğu gözlemlendi.



Şekil 3.1. Vero Hücre Kültürü (kontrol) (x400).



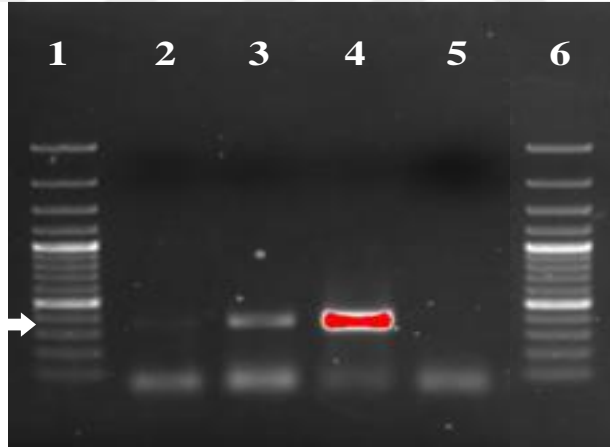
Şekil 3.2. PPR'in Vero Hücre Kültüründe 8. günde oluşturduğu CPE (x400).

3.2. Enfeksiyözite Güç Tayini

Bu çalışmada kullanılan PPR virus 2000 yılı Sakarya ili izolatının enfektivitesi $DKID_{50}=10^3/0,1ml$ olarak tespit edildi.

3.3. RT-PCR Sonuçları

PPRV izolatının inokulasyon sonrası günlerde virus üremesinin doğrulanması amacıyla RT-PCR tekniği ile kontrol edildi. En yüksek düzeyde virüs ürünü inokulasyon sonrası 7. günden itibaren tespit edildi. Inokulasyon sonrası ikinci güne kadar olan süreçte herhangi bir spesifik ürün elde edilemeyen çalışmada, en yüksek genomik RNA ise inokulasyon sonrası 168. saatte elde edildi.



Şekil 3.3. PCR Ürününün Görüntülenmesi.

Hat-1 ve -6, DNA merdiveni; Hat-2, PPR virus inokulasyon sonrası 48 saat; Hat-3, PPR virus inokulasyon sonrası 120 saat; Hat-4, PPR virus inokulasyon sonrası 168 saat; Hat-5, Vero hücre kültürü ekstraktı (Negatif kontrol). Ok, 371 bp uzunlukta DNA ürünü.

3.4. Virus Nötralizasyon Testi (VNT)

Tüm çalışma grupları için örneklenen serumlara virus nötralizasyon (VNT) ve c-ELISA testleri uygulandı. VNT titresi $\leq 1:2$ olan serum örnekleri negatif olarak değerlendirilirken, $\geq 1:8$ titresi ise olan serum örnekleri PPR virusu için pozitif ve koruyucu olarak kabul edildi (Saravanan ve ark., 2010).

İlk örneklemenin ve takibinde aşılamanın yapıldığı günde, Grup 1 (Gr1) hayvanları PPRV antikoları yönünden seronegatif olarak saptandı. Aşılama sonrası izleme periyodu sırasında PPR virusuna karşı nötralize edici antikoları olan hayvanların sayısı zamana bağlı olarak arttığı gözlemlendi. VNT ile kontrolü sonucunda, aşılama izleyen 1. ayda, toplam 100 serum örneğinin 71'i seropozitif, aşılama sonrası 6. ayda 8 koyun daha serokonverte oldu ve aşılama sonrası 1 yıl sonra toplam 100 hayvanın 86'sı seropozitif olduğu tespit edildi (Çizelge 3.1).

Aşılama sonrası takip eden birinci ayda, PPRV'ye özgü nötralize edici antikor titerleri $1/20$ 'nin üzerine çıkmıştır. İmmünizasyondan 6 ve 12 ay sonra, antikor titerlerinin ortalama seviyesinin $1/80$ ile $1/320$ arasında değiştiği gözlemlendi.

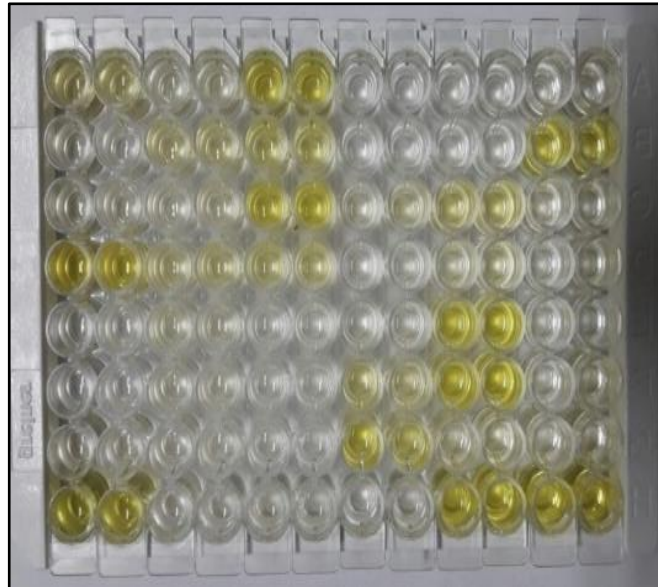
3.5. Kompetitif ELISA (c-ELISA)

Birinci grupta yer alan koyunlardan 67'si (%67) aşılama sonrası takip eden ilk ayın sonunda cELISA ile serokonversiyon gösterdi. Aşımı takip eden altıncı ayda, 15 koyun daha serokonversiyona uğradı (%82) ve aşılama sonrası 12 ay sonra 100 hayvanın 91'i seropozitif (%91) olarak tespit edildi. Aşı sonrası 1., 6. ve 12. aylarda koyunlarda ortalama kompetasyon yüzdesi (CP) değerleri sırasıyla %39, 45 ve %47 olarak kaydedildi. Çalışma sonunda, 8 koyun seronegatif olarak kaldı ve 1 serum örneği şüpheli olarak tespit edildi. Serokonversiyon gösteren hayvanların aşılama sonrası aylara göre dağılımı Çizelge 3.1'de sunuldu.

İkinci grupta bulunan hayvanların (daha önce PPR ile doğal olarak enfekte olan 25 koyun), cELISA ile testi sonrasında bu hayvanların tamamı seropozitif bulundu. Diğer taraftan, üçüncü grupta (aşısız oldukları bilinen 25 koyun), 17 koyundan 13'ü seropozitif olarak tespit edilirken ve 8 kuzunun tamamının seronegatif olduğu saptandı (Çizelge 3.1). Araştırma kapsamında test edilen serumların c-ELISA testi değerlendirmesi Şekil 3.4'te gösterildi.

Çizelge 3.1. Çalışma gruplarındaki hayvanların serokonversiyon oranları.

Gruplar	Hayvan Sayısı	Örnekleme	Serokonversiyon Oranları (%)	
			VNT	c-ELISA(şüpheli)
Grup1 (Gr1)	100	Aşılama anında	0	0
		Aşılama sonrası 1 ay	71	67(6)
		Aşılama sonrası 6 ay	79	82(2)
		Aşılama sonrası 12 ay	86	91(1)
Grup 2 (Gr2)	25	Doğal PPRV enfekte	100	100
Grup 3 (Gr3)	25	Aşılanmamış	13	13



Şekil 3.4. c-ELISA sonrasında test tabletinin görünümü

Araştırma kapsamında Grup 1 içinde yer alan koyunların aşılama sonrasındaki 1., 6. ve 12 ay sonundaki c-ELISA test değerlendirmesi sonrasında elde edilen optik dansite (OD) değerleri ve test yönergesi tarafından verilen formülasyon kullanılarak yapılan hesaplama sonrasındaki serolojik durumlarını gösteren sonuçlar Çizelge 3.2’de sunuldu.

Çizelge 3.2. Aşılamaı izleyen 1. 6. ve 12 Ayda bulunan serum örneklerinin kompetitif ELISA testi saptanan O.D. sonuçları.

Sıra No	Kulak No.	1 Ay		6 Ay		12 Ay	
		ELISA O.D.	ELISA Sonuç	ELISA O.D.	ELISA Sonuç	ELISA O.D.	ELISA Sonuç
1	2565625	0.077	+	0.067	+	0.442	+
2	1458950	0.644	-	0.768	Şüpheli	0.118	+
3	660325	0.047	+	0.142	+	0.478	+
4	2150868	0.096	+	0.131	+	0.490	+
5	1458949	0.130	+	0.126	+	0.553	+
6	1451653	0.069	+	0.716	+	0.063	+
7	841447	0.154	+	0.533	+	0.593	+
8	2150839	0.134	+	0.563	+	0.311	+
9	3148836	1.050	-	1.492	-	0.542	+
10	660313	0.065	+	0.479	+	0.123	+
11	1458917	0.074	+	0.494	+	0.086	+
12	2150903	0.331	+	0.417	+	0.301	+
13	2565617	0.363	+	0.207	+	0.136	+
14	2150897	0.878	-	0.970	-	0.889	-
15	743819	0.103	+	0.447	+	0.094	+
16	1458924	0.997	-	1.121	-	0.0993	-
17	2565624	0.183	+	0.559	+	0.125	+
18	3148832	0.962	-	0.986	-	0.498	+
19	2564393	0.042	+	0.674	+	0.083	+
20	2107914	0.055	+	0.081	+	0.687	+
21	2150922	0.234	+	0.403	+	0.700	+
22	2818049	1.153	-	1.214	-	0.967	-
23	1303616	0.082	+	0.113	+	0.645	+
24	2150990	0.088	+	0.161	+	0.564	+
25	228554	0.277	+	0.610	+	0.158	+
26	10813	0.594	+	0.586	+	0.251	+
27	1544624	0.073	+	0.161	+	0.731	+

Çizelge 3.2. (devam)

Sıra No	Kulak No.	1 Ay		6 Ay		12 Ay	
		ELISA O.D.	ELISA Sonuç	ELISA O.D.	ELISA Sonuç	ELISA O.D.	ELISA Sonuç
28	3148837	1.048	-	1.024	-	1.007	-
29	2150889	0.467	+	0.602	+	0.362	+
30	12035	1.004	-	0.994	-	0.675	+
31	2150832	0.779	-	0.362	+	0.360	+
32	660269	0.085	+	0.520	+	0.137	+
33	2818149	0.802	-	0.825	-	0.832	-
34	1462157	0.084	+	0.506	+	0.119	+
35	2107932	0.075	+	0.621	+	0.131	+
36	2150938	0.100	+	0.624	+	0.099	+
37	2150829	0.157	+	0.359	+	0.178	+
38	2150904	0.328	+	0.525	+	0.334	+
39	2565619	0.854	-	0.202	+	0.213	+
40	2150888	0.864	-	0.353	+	0.194	+
41	2150841	0.147	+	0.667	+	0.287	+
42	12043	0.134	+	0.614	+	0.356	+
43	2150847	0.115	+	0.654	+	0.135	+
44	2107946	0.084	+	0.580	+	0.138	+
45	2150985	0.851	-	0.408	+	0.241	+
46	2285940	0.091	+	0.665	+	0.094	+
47	2565618	1.127	-	0.153	+	0.142	+
48	2565623	1.226	-	1.127	-	0.162	+
49	660288	0.563	Şüpheli	0.912	-	0.278	+
50	1462147	0.824	-	0.680	-	0.199	+
51	3148833	0.563	Şüpheli	0.494	+	0.102	+
52	2150885	0.493	+	0.394	+	0.253	+
53	660320	0.270	+	0.412	+	0.267	+
54	2285853	0.268	+	0.204	+	0.145	+
55	2150878	0.384	+	0.247	+	0.130	+
56	2564398	0.388	+	0.226	+	0.145	+
57	1458945	0.703	-	0.143	+	0.168	+
58	660318	0.581	Şüpheli	0.763	Şüpheli	0.776	Şüpheli
59	2150931	0.167	+	0.396	+	0.453	+
60	20350	0.728	-	0.346	+	0.132	+
61	2150983	0.079	+	0.441	+	0.219	+
62	2150944	0.897	-	0.840	-	1.023	-
63	2285856	0.083	+	0.298	+	0.341	+

Çizelge 3.2. (devam)

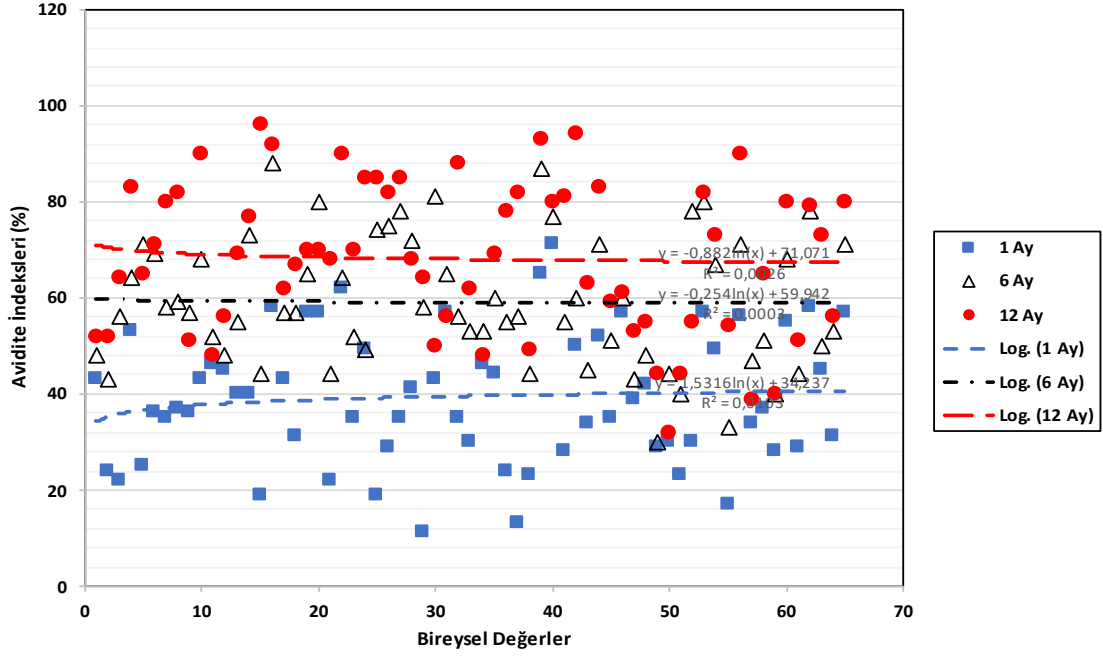
Sıra No	Kulak No.	1 Ay		6 Ay		12 Ay	
		ELISA O.D.	ELISA Sonuç	ELISA O.D.	ELISA Sonuç	ELISA O.D.	ELISA Sonuç
64	2107941	0.390	+	0.111	+	0.210	+
65	2565601	0.523	+	0.306	+	0.219	+
66	2565622	0.116	+	0.493	+	0.217	+
67	1090175	0.767	-	0.088	+	0.194	+
68	884526	0.731	-	0.087	+	0.324	+
69	1451636	0.280	+	0.459	+	0.584	+
70	2107916	0.554	Şüpheli	0.089	+	0.206	+
71	1458907	0.066	+	0.388	+	0.187	+
72	2107933	0.670	-	0.215	+	0.066	+
73	12047	0.300	+	0.532	+	0.336	+
74	2150859	0.692	-	0.170	+	0.069	+
75	1462146	0.555	Şüpheli	0.136	+	0.129	+
76	660315	0.707	-	0.644	-	0.209	+
77	1462149	0.613	Şüpheli	0.175	+	0.430	+
78	1544632	0.082	+	0.479	+	0.077	+
79	1372499	0.494	+	0.299	+	0.129	+
80	12067	0.821	-	0.707	-	0.415	+
81	2150836	0.410	+	0.331	+	0.083	+
82	2150993	1.098	-	1.083	-	0.942	-
83	3148825	0.891	-	0.804	-	1.075	-
84	4276185	0.119	+	0.447	+	0.223	+
85	4276293	0.308	+	0.388	+	0.068	+
86	2565605	0.268	+	0.225	+	0.094	+
87	660317	0.493	+	0.485	+	0.290	+
88	1451727	0.270	+	0.191	+	0.068	+
89	12085	0.340	+	0.396	+	0.128	+
90	2564394	0.245	+	0.441	+	0.578	+
91	1458961	0.062	+	0.298	+	0.142	+
92	1458929	0.057	+	0.124	+	0.390	+
93	1090187	0.048	+	0.493	+	0.147	+
94	1544637	0.554	+	0.287	+	0.249	+
95	2150915	0.388	+	0.481	+	0.323	+
96	1458208	0.110	+	0.065	+	0.248	+
97	12080	0.331	+	0.209	+	0.232	+
98	2285863	0.494	+	0.339	+	0.124	+
99	1884491	0.359	+	0.346	+	0.132	+
100	1458960	0.042	+	0.298	+	0.087	+

3.6. Avidite Testleri Sonuçları

Anti-PPR IgG antikorlarının aviditesi, aşılardan sonraki 1, 6 ve 12. ayda belirlendi (gösterilen sonuçlar sadece ilk aydan itibaren pozitif bulunan 67 koyun içindir). Aşıdan 6 ay sonra IgG avidite indeksinde (AI) belirgin bir artış görüldü. Aşılamayı takip eden birinci yılda koyunların 56/67'sinde (%83) AI'da artış ve 11/67'de (%16) AI'de düşüş eğilimi tespit edildi. PPRV IgG'lerin avidite indeksinin 11 bireyde aşılardan 6-12 ay sonra azaldığı gözlemlendi. Takip sürüsünün IgG aviditesi, aşı sonrası 1., 6. ve 12. aylarda sonuçları Çizelge 3.3'de sunuldu. Çalışmada kullanılan hayvanlara ait bireysel AI değerlerinin dağılımının lineer olduğu tespit edildi (Şekil 3.5).

Çizelge 3.3. Aşılama sonrası 1., 6. ve 12. aylarda IgG avidite sonuçları.

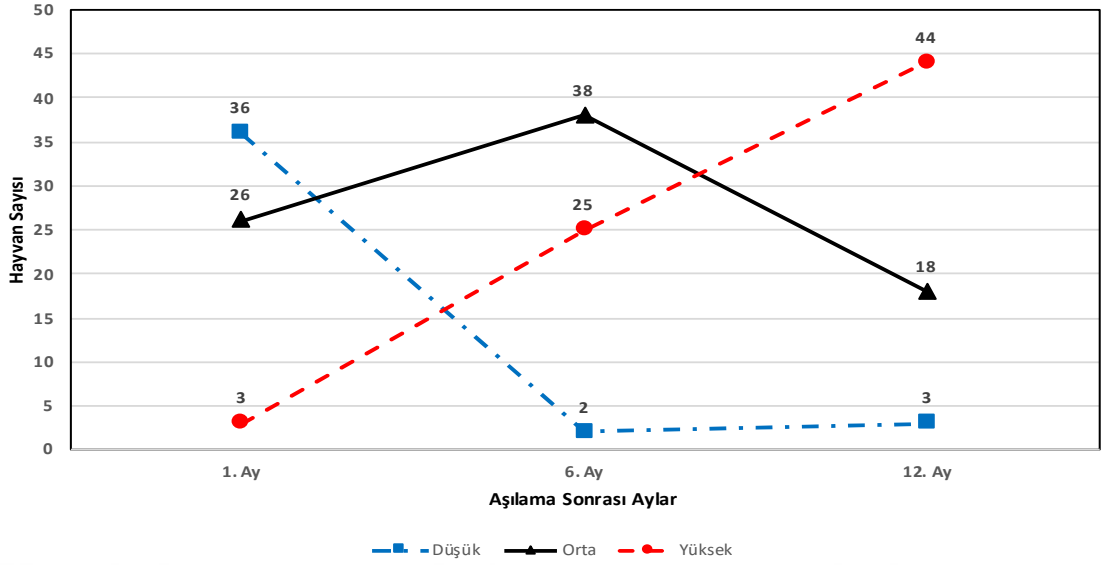
AVIDİTE İNDEKSLERİ (%AI)											
NO.	Aşılama sonrası			NO.	Aşılama sonrası			NO.	Aşılama sonrası		
	1. ay	6. ay	12. ay		1. ay	6. ay	12. ay		1. ay	6. ay	12. ay
1.	43	48	52	23.	35	52	70	47.	35	51	59
2.	24	43	52	24.	49	49	85	48.	57	60	61
3.	22	56	64	25.	19	74	85	49.	39	43	53
4.	53	64	83	28.	29	75	82	50.	42	48	55
5.	25	71	65	29.	35	78	85	51.	29	30	44
6.	36	69	71	30.	41	72	68	52.	30	44	32
7.	35	58	80	31.	11	58	64	53.	23	40	44
8.	37	59	82	32.	43	81	50	54.	30	78	55
9.	36	57	51	33.	57	65	56	55.	57	80	82
10.	43	68	90	34.	35	56	88	56.	49	67	73
11.	46	52	48	35.	30	53	62	57.	17	33	54
12.	45	48	56	36.	46	53	48	58.	56	71	90
13.	40	55	69	37.	44	60	69	59.	34	47	39
14.	40	73	77	38.	24	55	78	60.	37	51	65
15.	19	44	96	39.	13	56	82	61.	28	40	40
16.	58	88	92	40.	23	44	49	62.	55	68	80
17.	43	57	62	41.	65	87	93	63.	29	44	51
18.	31	57	67	42.	71	77	80	64.	58	78	79
19.	57	65	70	43.	28	55	81	65.	45	50	73
20.	57	80	70	44.	50	60	94	66.	31	53	56
21.	22	44	68	45.	34	45	63	67.	57	71	80
22.	62	64	90	46.	52	71	83				



Şekil 3.5. Aşıdan sonraki 1., 6. ve 12. aylarda PPRV'ye özgü IgG aviditesinin bireysel dağılımı.

Grafikte; Mavi renkli kare, 1 ayda AI (%) değerlerini, Boş siyah üçgen 6 ayda AI (%) değerlerini ve Kırmızı daire ise 12 ayda AI (%) değerlerini temsil etmektedir. Mavi, siyah ve kırmızı kesikli çizgiler ise örnekleme dönemlerindeki linearityi göstermektedir.

Avidite indeksi (%) verileri genel olarak değerlendirildiğinde, araştırma kapsamındaki hayvanlarda yapılan PPRV aşılmasından sonra oluşan antikorların zaman perspektifinde güçlendiğini gösterdi. Bu durum örnekleme periyoduna göre düşük (<%40), orta (%41-60) ve yüksek (>%61) afiniteli antikorlar olarak ifade edildi. PPRV'ye özgü güçlü antikorlara sahip hayvanların sayısı her örnekleme periyodundan sonra artış gösterirken düşük aviditeli antikora sahip hayvanların sayısı örnekleme periyodu artıkça önemli ölçüde azalma eğilimi gösterdi (Şekil 3.6).



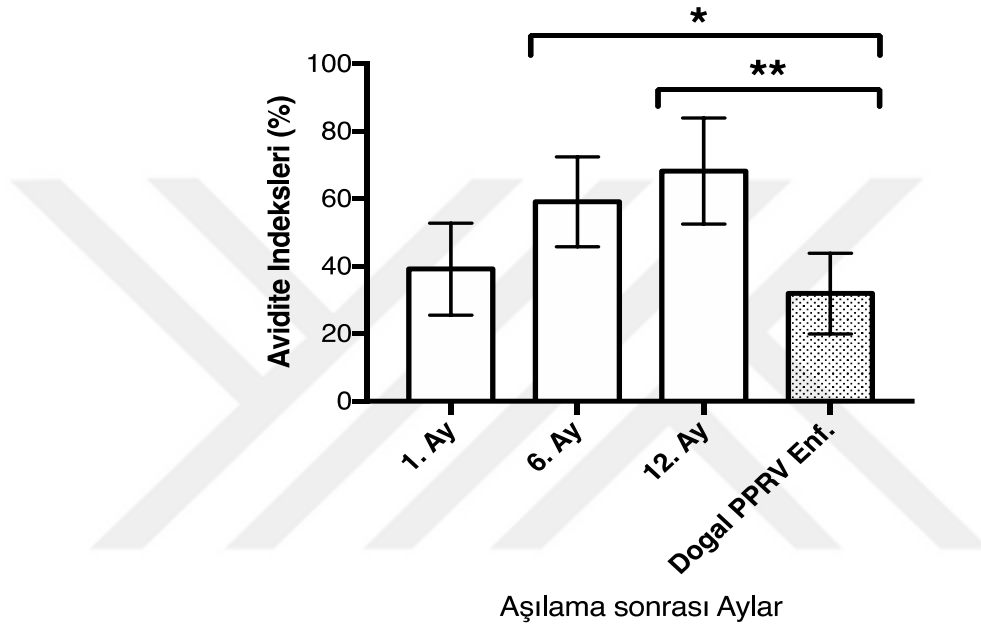
Şekil 3.6. Örneklem periyotlarında PPRV'ye karşı düşük, orta veya yüksek aviditeli antikörlere sahip hayvan sayısı.

Araştırma kapsamında ayrıca 25 serum örneğinde PPR enfeksiyonu sonrası IgG aviditesini inceledik. PPR doğal olarak enfekte koyunların Avidite indeksinin aşılama sonrası hayvanların Avidite indeksinden daha düşük olduğunu bildirilmiştir (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. PPR doğal olarak enfekte koyunların avidite indeksi.

NO.	O.D. Üre	O.D. PBS	A.I %	NO.	O.D. Üre	O.D. PBS	A.I%	NO.	O.D. Üre	O.D. PBS	A.I%
1.	0.064	0.189	34	10.	0.091	0.210	43	19.	0.124	0.610	20
2.	0.074	0.269	28	11.	0.072	0.699	10	20.	0.075	0.255	29
3.	0.089	0.334	27	12.	0.049	0.212	23	21.	0.066	0.273	24
4.	0.062	0.275	23	13.	0.061	0.152	40	22.	0.0094	0.247	38
5.	0.082	0.212	39	14.	0.063	0.189	33	23.	0.054	0.207	26
6.	0.056	0.279	20	15.	0.097	0.374	26	24.	0.130	0.254	51
7.	0.112	0.200	56	16.	0.060	0.254	24	25.	0.074	0.269	28
8.	0.063	0.198	32	17.	0.086	0.269	32				
9.	0.058	0.210	28	18.	0.351	0.549	64				

Yapılan değerlendirmelerde, aşılanmış ve doğal olarak enfekte olmuş hayvanlarda oluşan antikorların aviditeleri karşılaştırıldığında; aşılamayı takip eden altıncı ayda oluşan antikor aviditesinin doğal enfeksiyondan sonra oluşan aviditeden daha yüksek olduğu ($p<0.05$), aynı şekilde aşılamayı izleyen 12. aydaki aviditenin de doğal enfeksiyonlara bağlı antikor aviditesinden daha yüksek olduğu ($p<0.001$) ortaya konuldu (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Gr1 ve Gr3 hayvanlarında ortalama AI (%) karşılaştırması.

Asteriks (*), aşılamadan 6 ay sonra tespit edilen AI ile doğal olarak enfekte olmuş hayvanlar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğunu ($p < 0.05$) göstermektedir. (**), 12 aylık aşılama sonrası aşılama ve doğal olarak enfekte olmuş hayvanlar arasında AI önemli ölçüde (< 0.001) varyasyon olduğunu göstermektedir.

4. TARTIŞMA

Sınır ötesi hayvan hastalıkları (SÖH), “çok sayıda ülke için önemli ekonomik, ticaret ve gıda güvenliği açısından önemli olan hastalıklar” olarak tanımlanmıştır. Bu hastalıklar, diğer ülkelere kolaylıkla yayılabilmekte ve salgınlara neden olabilmektedir (FAO, 1996). Bunlar esas olarak Office International des Epizooties (OIE) hastalıklarının A Listesi'nde yer almaktadır.

Peste des Petits Ruminants küçük ruminantların en önemli bulaşıcı hastalıklarından birisidir. Şiddetli hastalık tablosu ve hayvan ve/veya hayvansal ürünlere ilgili sınırlamalar sebebiyle PPR ekonomik olarak da önemli bir hastalıktır ve Dünya Hayvan Sağlığı Örgütüne (OIE) bildirim zorunludur. Sığır vebasının 2011 yılında başarılı bir şekilde global eradikasyonu gerçekleştirildikten sonra, dikkatler PPR eradikasyonu üzerine odaklanmıştır (FAO, 2010). Endemik ülkelerde PPR'a karşı en basit ve en ekonomik korunma uygulaması aşılama değildir. Nijerya 75/1 ve Sungri 96 gibi zayıflatılmış canlı aşı suşları halen başarıyla kullanılmaktadır (Sen ve ark., 2010). Ancak zaman zaman aşı hataları da kaydedilmiştir (Das ve ark., 2007).

Türkiye'de, PPR ilk olarak 1992 yılında Mardin/Kızıltepe'de serolojik tekniklerle tespit edilmiştir (Güler ve ark., 2014). Daha sonra 1995-1996 yılında, klinik ve otopsi bulguları temelinde PPR'dan şüphelenilmiş, bu bölgede bulunan 17 koyun ve 6 keçi sürüsü serolojik ve virolojik testlerle araştırılarak, PPR tanısını doğrulanmıştır (Alciğir ve ark., 1996; Tatar ve Alkan, 1999). Türkiye'de izole edilen suşların Afrika suşlarına göre daha farklı genotipik yapıya sahip olduğu belirlenmiş ve filogenetik analizleri sonucunda ülkede sirküle olan virusun Hat IV'e ait olduğu bildirilmiştir (Abraham, 2005; Couacy-Hymann ve ark., 2005; Dhar ve ark., 2002; Özkul ve ark., 2002). Türkiye'de PPR'nin ilk tespitinden sonra, hastalığın kontrolü amacıyla başlangıçta Sığır Vebası aşısı kullanılmaya başlanmış, 2002 yılından itibaren ise Nijerya 75/1 suşu ile hazırlanan zayıflatılmış canlı homolog PPRV aşısı kullanıma girmiştir.

Bu araştırmanın amacı, PPR aşılmasının yapıldığı seçilmiş koyun sürülerinde aşılama sonrası nötralizan antikor oluşum sürecini ve bu antikorların zamana bağlı olarak gücünün tespit edilmesidir. Ayrıca antikor seviyeleri; doğal olarak enfekte olmuş, aşılanmış koyunlarda ve aşılanmamış hayvanlarda karşılaştırılmıştır.

PPR'nin tanısında ELISA ve VNT gibi birçok serolojik test yöntemi kullanılmıştır (Gür ve Albayrak, 2010). Virusun hücre kültüründe izolasyonu teknik olarak zor ve zaman alıcı olduğundan virus izolasyonu rutin tanı için uygun değildir. Bu yüzden hızlı, spesifik ve duyarlı testlere PPRV enfeksiyonunun tanısında ihtiyaç vardır (Diallo ve ark., 1995). Kompetitif ELISA, Morbilliviruslara karşı oluşan antikorların belirlenmesinde tercih edilen testlerden bir tanesidir (Libeau ve ark., 1995, OIE, 2013). Antikor tespit teknikleri PPRV'nin nükleoprotein (N) veya hemaglutinin (H) proteinlerine karşı geliştirilen monoklonal antikor (MAb) kullanılarak geliştirilmiştir (Libeau ve ark., 1994; 1995).

Bu çalışmada hem VNT hem de c-ELISA, PPR virusuna karşı antikorların tespiti ve titrasyonu için kullanılmış ve her iki serolojik testin sonuçları arasındaki nispi farklılıklar elde edilmiştir. Singh ve ark. (2004) koyun ve keçilerden elde edilen 1668 serum örneğinde ve sığırlardan 32 serumda VNT ve c-ELISA'nın etkinliğini karşılaştırılmış ve elde ettikleri sonuçlar, c-ELISA'nın VNT'den daha yüksek özgüllüğe (%98,4) ve duyarlılığa (%92,4) sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, hedef hayvan popülasyonu aşılanmamışsa, c-ELISA duyarlılığının %95,4'e yükselebildiğini bildirmişlerdir. Çalışma kapsamında aşıladıkları 4 keçide 1 yıl boyunca PPRV antikorlarını tespit etmişlerdir. Ayrıca c-ELISA testini VNT ile 64 serum örneğinde karşılaştırmışlar, c-ELISA'nın VNT'ine göre antikor belirleyebilen son nokta değerlerini ($1-3 \log_2$) daha düşük olarak bulmuşlardır. Sonuç olarak serum örneklerinde PPRV antikorlarının tespiti ve serosurvey çalışmalarında VNT yerine c-ELISA testinin rahatlıkla kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Sonuçlarımız, çalışılan koyun sürüsünde PPR aşısının, aşılama sonrası antikor yanıtı oluşturmada oldukça etkili olduğunu göstermiştir. Aşılamadan sonraki ilk ayda PPR antikorları için örneklenen çok sayıda koyun pozitif olarak (%67) tespit

edilmiştir. Ayrıca, PPR aşılmasını takip eden 12. ayın sonunda araştırmada kullanılan koyunların %91'inde PPRV-antikorları tespit edilebilmiştir. Aşılamadan sonraki ilk ay ile 6 ve 12 aylar arasında meydana gelen serokonversiyonların tespiti, bu hayvanlar arasında aşılama sonrası bir PPR virus dolaşımının varlığının göstergesi olarak kabul edilmektedir. Nitekim, bu yaklaşım, aşılanmamış hayvan grubunda tespit edilen %52 oranındaki seropozitiflik ile desteklenmektedir. Bu durum muhtemelen bir saha virusu teması sonucunda meydana gelmiştir. Çünkü yapılan araştırmalarda PPR ile aşılanan hayvanların yakın temastaki diğer hayvanlara aşı virusunu bulaştıramadığını açıklıkla ifade edilmiştir (Diallo ve ark., 1989b; Kumar ve ark., 2014).

Bu çalışmada, aşılamadan sonraki ilk ayda ortalama kompetasyon yüzdesi (CP) değeri 39 olarak hesaplanmıştır. Diğer taraftan aşılamadan sonraki 1 yılın sonunda ortalama CP değerinin arttığı gözlenmiştir. Rashid ve ark. (2010), tarafından yapılan bir diğer araştırmada ise 50 koyun ve 50 keçilerde lokal olarak üretilen bir aşığı değerleri c-ELISA ile tespit edildi. Aşı güvenli bulunmuştur ve tüm hayvanların ortalama yüzdesi inhibisyon (PI) değerleri aşıdan 45 gün sonra zirveye ulaşmıştır ve bu yüksek antikör düzeyinin bir yıl boyunca devam ettiğini bildirmişlerdir. Bu bulguya dayanarak araştırmamızda aşılama sonundaki birinci yılın sonunda tespit edilen CP oranı artışının, süreç içinde tekrarlayan PPR virus/antijen uyarımına bağlı olabileceği öngörülmektedir.

Khan ve ark. (2009) koyun ve keçilerde PPR aşısı üzerine yaptıkları bir çalışmada; örnekler aşılamadan 10, 30 ve 45 gün sonra toplanmıştır. Koyundaki aşılamadan 10, 30 ve 45 gün sonra ortalama PI değerleri sırasıyla 37, 65 ve 91 ve keçilerde ise bu değerler sırasıyla 43, 78 ve 86 olarak kaydedilmiştir. Chaudhary ve ark. (2009) yaptığı çalışmada aşılanmış koyunlarda 21-37 gün arası antikör miktarı en yüksek seviyeye ulaştığını rapor etmiştir. Madhusudan ve ark. (2006) ise keçilerde PPR aşısı ile aşılandıktan 20 gün sonra PI değerleri 80'e ulaşmıştır. Ata ve ark. (1989) 3-4 ay sonra en yüksek serolojik titreleri bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda aşılama sonrası antikor titrelerinin diğerlerine göre değişmesi; muhtemelen araştırılan koyun sürülerinin diğer hayvanlarla temasta olması ve başka enfeksiyonlara maruz kalarak bağışıklığı en aza indirmesi ve böylece antikor titrelerini azaltması sebebiyle meydana gelmiştir. Diğer yandan, çalışmada kullanılan hayvanların melez bir ırk olması da tespit edilen durumun bir sebebi olabilir. Bu, bağışıklık kazandırma işleminden sonra yeterli antikor üretimini engelleyebilir ve bu nedenle, yerel ırklara göre daha düşük antikor titresi tespit edilmiş olabilir. Begum ve ark. (2016), tarafından yapılan bir diğer araştırmada 3 farklı keçi ırkında (yerel Assam tepe keçisi, melez ve Beetal keçileri) liyofilize PPR aşısına karşı bağışıklık cevabı değerlendirmiştir. Genel ortalama serum antikor titreleri verilen ırklar için sırasıyla $40,50 \pm 3,74$, $37,58 \pm 37,58$ ve $35,90 \pm 3,29$ olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç açıkça, yerel cinslerde daha yüksek serum antikor titrelerinin olduğunu ve bunun hastalığa karşı nispeten yüksek dirençleri ve çevresel koşullara daha iyi adapte olmalarından kaynaklanabileceğini gösterilmiştir. Stresin, antijene (örneğin, aşıya verilen cevap) karşı lenfosit cevabının gelişimini engelleyebileceği kaydedilmiştir (Merlot, 2004).

Türkiye'de daha önce yapılan başka bir araştırmadan da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Söz konusu çalışmada ticari olarak üç PPRV aşısının etkinliği araştırılmıştır. Bu amaçla koyun sürüleri 3 gruba ayrılmış ve 3 aşı ile aşılanmışlardır. Birinci gruptaki 28 koyundan 6 tanesi; ikinci grupta 22 koyundan sadece 4 tanesi ve üçüncü gruptaki 23 koyundan 10 tanesinde PPRV'ye karşı antikor varlığı bildirmiştir (Turan ve ark., 2012).

Intizar ve ark. (2009)'nın gerçekleştirdikleri bir araştırmada hem koyun hem de keçiler aşıya karşı %100 antikor yanıtı vermiştir. Hindistan'daki başka bir araştırmaya göre; PPR aşısı, oda sıcaklığında tutulmasına rağmen 14 gün boyunca bağışıklama gücünü koruyabilmiş ve keçilerde antikor yanıtı oluşturabilmiştir (Siddique ve ark., 2006). Yapılan araştırmalarda; aşıya verilen cevabın popülasyonlar arasında değişkenlik gösterdiğini ve aşıya verilen cevabın çevresel ve/veya genetik bileşenlerden etkilenebildiği bildirilmiştir (Leach ve ark., 2010). Ayrıca, seroprevalans çalışmalarının sonucunu örneklenmiş hayvan sayısı, aşılanan

hayvanların yaşı, mevsim, bakım ve besleme koşulları gibi birçok faktör de etkilemiştir (Gowane ve ark., 2016).

Türkiye'de gerçekleştirilen bir başka araştırma, PPR aşısının bağışıklık süresini belirlemek için yapılmıştır. Çalışma kapsamında Manisa, Antalya ve Mardin illerindeki koyun ve keçiden alınan 972 örnek kullanılmıştır. Aşılamadan 1 yıl sonra hayvanların %78'inin c-ELISA ile seropozitif olduğunu bildirilmiştir (Tatar ve Kabaklı, 2006).

Gümüşova ve Memiş (2014) aşılama sonrası bazı keçi ırklarında PPR antikor dağılımının belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, 102 Saanen, 124 Malta ve 142 Kıl keçisinin serolojik durumunu c-ELISA ile incelenmişlerdir. Sonuçlar, hayvanlardaki serokonversiyon oranının %72,55 olduğunu (267/368) göstermiştir. Saanen, Malta ve Kıl keçi ırklarının seropozitiflik dağılımları sırasıyla %69,60, %72,58 ve %72,53 olarak kaydedilmiştir. Aşılanan hayvanlarda seropozitiflik oranları keçi ırklarına göre değerlendirilmiş ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

PPRV ile enfekte veya aşılanmış hayvanlar uzun süreli bağışıklık kazanırlar. Küresel PPR kontrol stratejisine göre endemik ve yüksek riskli alanlarda sürekli yıllık PPR kitle aşılması, uygulamadan sonraki üç yıl içinde tavsiye edilmiştir (OIE, 2013). Bu koruma, hayvanlar doğal enfeksiyon veya aşılama yoluyla sürekli olarak virusa maruz kaldıkça, endemik ve yüksek riskli bölgelerde virus dolaşımını önlemek için gerekmektedir.

Benzer şekilde bu çalışmada, 8 kuzudan toplanan serum örneklerinde herhangi bir PPRV'ye özgü pasif antikor bulunmadığı saptanmıştır. Bu sonuçlara göre muhtemelen 8 kuzunun tamamı aşılanmamış koyunlardan doğmuştur. Küçük ruminantların homolog PPR aşısı ile (Nijerya 75/1) aşılanması, PPR'ye özgü antikorların yüksek titrelerini üretir (Awa ve ark., 2002; Martrenchar ve ark., 1999). PPR aşısının hamile hayvanlarda uygulanmasının güvenli olduğu bildirilmiştir (Diallo ve ark., 2003).

Balamurugan ve ark. (2012) aşıllı, aşısız ve enfekte keçilerden doğan kuzuların maternal PPR antikor seviyelerini VNT ve c-ELISA ile sorgulamıştır. Elde ettikleri sonuçlar, PPRV ile enfekte olmuş veya aşılansmış hayvanlardan doğan kuzuların PPR'ye karşı maternal antikorlara sahip olduğunu göstermiş ve bu antikorlar 5-6 aya kadar tespit edilebilmiştir. Ancak aşısız koyunlardan doğan kuzularda hiçbir maternal antikor tespiti yapılamamıştır.

PPR kontrolünde genç hayvanların aşılama zamanı önemli bir konudur. Bodjo ve ark. (2006) aşılansmış koyunlardan doğan 112 kuzuda maternal antikorların süresini incelemişlerdir. Çalışmalarında serum örnekleri doğumdan sonraki 15. günden 150 güne kadar kuzulardan toplanmış ve PPRV antikorları c-ELISA kullanılarak analiz edilmiştir. Elde ettikleri sonuçlar doğumdan sonraki 75 ve 90. günde, bu kuzuların sırasıyla %70 ve %95'inin negatif olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuç, 4 aya kadar olan kuzularda yüksek mortalitenin nedeni olarak bildirilmiştir. Bu nedenle çalışmanın sonucu olarak, doğumdan sonra 75 ila 90 gün arasında PPR'ye karşı kuzuları aşılamaı tavsiye etmişlerdir.

Balamurugan ve ark. (2012) farklı zamanlarda aşılansmış, aşılansmamış ve doğal olarak enfekte olmuş keçilerden doğan oğlaklarda yaptıkları çalışmada, serum örneklerini SNT ve c-ELISA ile test etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlar, PPRV ile enfekte olmuş veya aşılansmış hayvanlardan doğan oğlakların, PPR'ye karşı antikorları olduğunu ve antikorların doğum sonrası 5-6 aya kadar tespit edilebildiğini göstermiştir. Ayrıca, yavrulardaki pasif bağışıklığın, 4 aylıktan itibaren koruma düzeyinin düştüğünü de bildirmişlerdir. Diğer taraftan, aşılansmamış keçilerden doğan oğlaklarda herhangi bir maternal antikor varlığı gösterilememiştir.

Önceden enfekte olmuş hayvanlardan toplanan 25 serum örneğinin tamamı seropozitif ve ortalama CP değerleri %31,7 olarak tespit edilmiştir. Ancak tespit edilen bu değer (31,7), aşılama sonrası 1., 6. ve 12. aylarda koyunlardaki ortalama CP değerleri (39, 45 ve 47%) ile karşılaştırdığımızda düşük olduğu görülmektedir. Bu nedenle, sonuçlar aşıllı koyunlarda oldukça yüksek seviyede antikor titreleri ve önceden enfekte olmuş hayvanlarda nispeten zayıf sürü

bağışıklığını göstermiştir. Abubakar ve ark. (2011) Pakistan'da bir PPR salgını sonrası hastalığı atlatan keçilerde serolojik çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda, popülasyondaki serokonversiyon oranının sadece %48,7 olduğu bildirilmiştir. İyileşen hayvanlarda tespit edilen bu düşük seroprevalans değerinin ana nedeni olarak, sürünün iyi bakım ve beslenme koşullarına sahip olmasına veya PPR virusunun düşük patojenik yapıya sahip olmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir.

Zayıflatılmış Morbillivirus aşılı, korunma için önemli olan hücre aracılı immüniteyi de uyamaktadır (Lund, 2000). Hangi immün efektörlerin (sistemik nötralizan antikorlar, sitotoksik T hücresi veya mukozal bağışıklık), PPRV aşısı ile aşılama sonrasında koruma ile korele edilebildiği henüz açık değildir. Ancak antikorların dahil olma olasılığı daha yüksektir. Çünkü kolostrum yoluyla sağlanan pasif immün transferin koruma sağlayabildiği bildirilmiştir (Gans, 2013).

Hayvanların hastaliksız bölgeden ithal edilmesinin yanı sıra, ticari olarak temin edilebilir zayıflatılmış aşı ile aşılama, hastalıkların önlenmesi için en iyi önlemlerden biridir. Dondurularak kurutulmuş formda, rekombinant alt birim aşı, DNA aşısı, vb. bazı zayıflatılmış aşılar, hayvanları PPR'ye karşı aşılamak için günümüzde ticari olarak temin edilebilmektedir. Mevcut aşılama programları, duyarlı hayvanların, en azından her 3 yılda bir aşılanmasını gerekli kılmaktadır (Saravanan, 2010). Ayrıca aşılanan hayvanlar, H, F ve N proteinlerine karşı yüksek miktarda nötralize edici antikorlar üretir (Sinnathamby, 2001).

Spesifik bir antijene karşı humoral immün yanıt iki bileşenden oluşur. Bunlar antikor üretiminin miktarı ve bir antikorun antijenine bağlanma mukavemeti (antikorun afinitesi) olarak tanımlanmaktadır. Antikor aviditesi, antikor ve antijen kompleksi arasındaki etkileşimin genel gücünü yansıtmaktadır. PPRV enfeksiyonu sonrasında, IgM ve IgG antikor cevapları uyarılır. IgM enfeksiyondan kısa bir süre sonra yok olurken, IgG virus enfeksiyonlarından sonra uzun süreler devam eder (Liesenfeld ve ark., 1997). Yakın zamanda, bazı hastalıkların serolojik tanısı için ve spesifik aşuların etkinliği ile ilişkili olan bazı çalışmalarda spesifik IgG'nin aviditesini ölçen bir teknik geliştirilmiştir (Pichichero ve ark., 1999; 2006). Antikor avidite

belirlemesi genellikle guanidin hidroklorür, tiyosiyanat, diethylamine ve üre gibi ayrışma ajanları ile yüksek ve düşük avidite antikorlarının ayrılmasıyla gerçekleştirilir (Hedman ve Seppala, 1988).

Bu çalışmada, PPR aşısı ve enfeksiyonundan sonra üretilen PPRV'ye (IgG-anti-PPR) karşı uygulanan IgG antikorlarının kuvvetini değerlendirmek için avidite testi kullanılmıştır. Araştırmamızın bulguları, üre kullanılarak yapılan avidite testlerinin PPR'ye karşı sentezlenen IgG antikorlarının antijene bağlanma güçlerinin değerlendirilmesinde başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir. Ayrıca, yapılan diğer çalışmalarda da üre diğer enfeksiyöz ajanların antijenlerine karşı oluşan IgG antikorlarının aviditelerini değerlendirirken başarılı bir şekilde kullanılabileceği gösterilmiştir (Hedman ve ark., 2010; Kneitz ve ark., 2004; Özkul ve ark., 2008; Zachou ve ark., 2006; Zlamy ve ark., 2010).

Ancak, Almanzar ve ark. (2013) yaptığı çalışmada pertussis aşısı sonrası üretilen pertussis toksin (IgG-anti-PT) ve filamentöz hemaglutinin (IgG-anti-FHA) karşı IgG antikorlarının aviditelerini değerlendirmede üre tedavisinin çalışmadığını ve sonuçlar sadece amonyum tiyosiyanat (NH₄SCN) kullanıldığında elde edilebildiğini bildirmişlerdir. Bu ayrıştırma maddelerinin Ab-Ag kompleksini ayırmadaki başarısı, muhtemelen incelenen antijenin türüne ve spesifik antikorlarına dayanmaktadır.

Aşıdan altı ay sonra, AI önemli ölçüde artmıştır, bu IgG antikorlarının afinite olgunlaşmasını göstermektedir. Antikoru (Ab) afinitesinin veya aviditesinin hayvanların immünizasyonundan sonra zamanla aşamalı olarak arttığı bilinmektedir (Rodkey ve ark., 1970). Buna bağışıklık cevabının olgunlaşması da denilmektedir (Siskind ve ark., 1969). Bu fenomenin, virus enfeksiyonlarından sonra konakçılarının immün yanıtlarında da meydana geldiği düşünülmektedir.

Pichichero ve ark. (1999) diphtheria-tetanus–acellular pertussis (DTaP) ile aşılanmış çocuklarda antikor aviditesini araştırmak için bir çalışma gerçekleştirmişler

ve sonuçta bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, aşından sonraki 3-7 ayda aviditenin önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir.

Bundan başka, PPR ile enfekte koyunlardan toplanan 25 serum örneğinde IgG aviditesi araştırıldı ve sonuçlar; enfekte hayvanların, aşılanmış hayvanlardan daha düşük serum Ig avidite indekslerine (AI) sahip olduklarını göstermiştir. AI'deki düşüş muhtemelen Ab ayrışabilirliğine bağlı olarak enfeksiyondan sonra geçen süre ile açıklanabilecektir. Inouye ve ark. (1984), Japon ensefaliti (JE) virusu inokülasyonundan 2 hafta sonra serum örnekleri alındığında, Ag-Ab bağlanmasının kuvvetinin daha büyük olduğunu bildirmiş ve sonra 4 aylık enfeksiyon sonrası kademeli olarak azaldığı bildirilmiştir.

Akut kızamıkçık enfeksiyonundan sonra kızamıkçık IgG aviditesinin olgunlaşması daha önce farklı zaman noktalarında eşleştirilmiş numunelerin (Hedman ve Seppälä, 1988) ya da farklı hastalardan gelen serumların olduğu büyük hasta gruplarında tanımlanmıştır (Enders ve Knotek, 1989). Hedman ve Seppälä (1988) kızamıkçık semptomlarının başlamasından sonraki 33 gün içinde alınan tüm numunelerin avidite indekslerinin ≤ 33 olduğunu göstermiştir.

Bir başka çalışmada Enders ve Knotek (1989) kızamıkçıktan 4 hafta sonrasına kadar alınan tüm örneklerin avidite indekslerinin %40'ın altında olduğunu göstermiştir. Thomas ve ark. (1992) yaptıkları çalışmada akut kızamıkçıktan 3-4 ay sonra alınan örneklerin, dietilamin (DEA) içeren bir elusyon metodu kullanarak düşük aviditeli IgG1 antikorlarını bulmuşlardır.

Diğer viral hastalıklar için avidite olgunlaşması enfeksiyonu izleyen birkaç ay içinde ortaya çıkmaktadır. Toukko (1995), tarafından yapılan bir çalışmada, düşük aviditeli kızamık antikorları, akut enfeksiyondan 7 hafta sonrasına kadar tespit edilebilmiş ve kızamık IgG antikorları, ilk tepkilerin 17-20 haftası içinde yüksek aviditeye olgunlaşmıştır. İnsan herpes virusu-6 enfeksiyonu antikorları için, ilk enfeksiyonun ardından 5 ay içinde yüksek aviditeye olgunlaşmıştır (Ward ve ark., 1993).

IgG antikor aviditesinin değerlendirilmesi için test, immünolojik olarak yetersiz hastalarda (primer immün yanıt) ortaya çıkan immün yanıt ile önceden mevcut bir B hücre hafızası (sekonder immün yanıt) olan hastalarda oluşan immün yanıt arasında ayırım yapmak için güvenilir bir araçtır (Hedman ve ark., 1993). Birincil enfeksiyonda, spesifik IgG antikor yanıtı, antijenlerle zayıf şekilde bağlanan IgG antikorları ile başlar (düşük avidite), bu yavaş yavaş yüksek avidite antikorlar haline gelir. Sekonder enfeksiyonda hızlı antikor yanıtı, yüksek avidite antikorların üretimi ile karakterize edilir (Nossal, 1992).

Kızamıkçık IgG antikoru aviditesi ölçümü, son enfeksiyon ve uzak kızamıkçık enfeksiyonunu ayırt etmek için kullanılmıştır (Hedman ve Seppälä, 1988). Akut kızamıkçık tanısı, kızamıkçık-spesifik IgG antikorlarının serokonversiyonu ile birlikte kızamıkçık IgM antikorlarının tespitine veya eşleştirilmiş numunelerde kızamıkçık IgG antikor titresinde belirgin bir artışın gösterilmesine dayanmaktadır. Bununla birlikte, kızamıkçık IgM antikorları, yeniden enfeksiyon durumunda da tespit edilebilmektedir (Morgan-Capner ve ark., 1985).

IgG antikoru avidite testinin, primer kızamıkçık (Condorelli ve ark., 1997), toksoplazmoz (Montoya ve ark., 2002) ve sitomegalovirus (Baccard-Longere ve ark., 2001) enfeksiyonları tanısında çok faydalı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, primer hepatit C virusu enfeksiyonunu, kronik veya geçmiş hepatit C virusu enfeksiyonundan ayırmak için de kullanılmaktadır (Kano ve Kazuyama, 2002). Diğer birçok akut viral hastalığın serodiagnozu için IgG antikoru avidite testi kullanılmıştır (Akingbade ve ark., 2003; Robertson ve ark., 2003).

Avidity testinin önemli kullanım amaçlarından bir tanesi de aşı başarısının ölçülmesidir (Paunio ve ark., 2003). Kızamık enfeksiyonu ile ilgili olarak, IgG avidite testi kızamık aşlarının etkinliğini belirlemek için ve ikincil aşı yetmezliğinin belirlenmesi için de kullanılmıştır (Paunio, 2000; Souza ve ark., 1997).

Geleneksel olarak, kızamık IgG avidite analizleri primer ve sekonder aşı başarısızlıklarını sınıflandırmak için kullanılmıştır (Paunio, 2003). Primer aşı

yetersizliği, aşıya hiç cevap vermeyen ve kızamık virusu enfeksiyonu üzerine klasik kızamıkla gelen aşılanmış bireylerdir. İkincil aşı yetmezliği, antikorları zaman içinde azalan aşılamaya karşı dokümente edilmiş IgG antikor yanıtları olan ve kızamık virusu enfeksiyonuna duyarlı hale gelen bireylerdir. Aşı başarısızlık oranları ülkeden ülkeye değişebilir. Aşılama yaşı, alınan dozların sayısı ve aşı suşunun immünojenikliği gibi birçok faktör, farklı primer ve sekonder aşı yetersizliği oranları ile ilişkilendirilebilir.

Diğer yandan, antikorların yüksek aviditesi, düşük antikor konsantrasyonunu bir dereceye kadar telafi edebilmektedir ve bunun tersi de geçerlidir (Bachmann ve ark., 1997). Bir varsayıma göre, yüksek düzeyde antikor ve yüksek avidite indeksi olan kızamık olguları da olmuştur (Hamkar ve ark., 2006). Yüksek konsantrasyonlu yüksek avidite antikorların enfeksiyona karşı savaşmasındaki yetersizliğinin bir nedeni, tüm virus genotiplerini nötralize edememeleri olabilmektedir (Atrasheuskaya ve ark., 2008).

Sonuç olarak, PPR aşısının iyi bir antikor tepkisi ortaya çıkarmasında etkili olduğu görölmektedir. Antikor miktarına ek olarak, bu antikorların aviditesi hastalığa karşı korunmada önemli bir parametredir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmanın amacı; seçilen koyun sürülerinde PPR aşılmasını takiben nötralizan antikor oluşum sürecini takip etmek ve tespit edilen PPRV- spesifik antikorların zamana bağlı olarak antijene bağlanma gücünün (avidite) gelişiminin izlenmesidir. Antikorların bağlanma gücü, Ticari ELISA tekniği ile kombine edilerek avidite testi ile sorgulandı. Bunun sonucunda aşılama sonrası edinilen sıvısal bağışıklığın zamana bağlı gelişim kinetiği incelendi. Yapılan araştırma sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde,

- Hem VNT hem de c-ELISA, antikorların PPR virusüne tespitinde ve titrasyonunda kullanılmıştır. İki serolojik testin sonuçları arasındaki nispi farklılık tespit edilirken, c-ELISA'nın, VNT'den daha yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip olduğunu gösterilmiştir.
- Aşılamadan sonraki ilk ayda hayvanların %67'sinde PPR antikorları tespit edilmiştir.
- PPR aşılmasını takip eden 12. ayın sonunda araştırmada kullanılan koyunların %91'inde PPRV-antikorları tespit edilebilmiştir.
- Çalışmamızın sonuna kadar, kullanılan PPR aşısının 100 başlık koyun sürüsünde tam koruma düzeyi vermediği açıktır.
- Üç-ay yaşında oldukları tespit edilen 8 kuzudan alınan serum örneklerinin, yapılan testler sonunda PPRV'ye özgü pasif antikor taşımadığı gösterilmiştir.
- Daha önce enfekte olmuş koyunlardan elde edilen ortalama CP, aşılanan hayvanların ortalama CP'sine kıyasla daha düşük bulunmuştur.

- Aşılamayı takip eden 1 yıl içinde, Avidite İndeksinin kademeli olarak arttığı ve nötralizan IgG antikorlarının afinite olgunlaşmasının tamamlandığı görülmüştür.
- Sonuçlar, enfekte olmuş koyunların serum IgG avidite indeksinin, immünize edilmiş hayvanın AI'sinden düşük olduğunu gösterdiyse de enfeksiyonun ne zaman meydana geldiği konusunda kesin bir bilgi olmaması sebebiyle kesin değerlendirmelerin kontrollü çalışmalar ile yapılması gerekliliği sonucuna varılmıştır.
- PPRV IgG'lerin avidite indeksinin 11 koyunda aşılama sonrası 6-12 ay arasında azalma eğiliminde olduğu bulundu. Bu durum istatistik olarak anlamlı olmasa da antikor avidite ve Ab seviyesi konsantrasyonunu takip etmek için daha uzun süreli gözlemlere dayalı araştırmalara ihtiyaç olduğunu düşündürmüştür.

ÖZET

Koyun Sürülerinde PPR Virus Aşılması Sonrası Sıvısal Bağışık Yanıtın Değerlendirilmesi

Küçük ruminant vebası (PPR), koyun ve keçiler arasında yüksek morbidite ve mortalite oranında seyreden önemli bir viral hastalıktır. Bu çalışmada, PPR virusuna karşı nötrleştirici antikorların oluşumu, virus nötralizasyon testi (VNT) ve kompetitif ELISA (c-ELISA) ile tespit edilmiştir.

Araştırmada; Eskişehir ili Çifteler ilçesinde yerleşik koyun sürülerinde bulunan 150 adet hayvan kullanıldı ve 3 grupta ayrıldı. Birinci grupta (G1) 100 serum örneği, PPRV'ye karşı, Nig / 75/1 PPR virusu suşu aşısı kullanılarak aşılanmış olan koyunlardan elde edildi. PPR aşılması yapıldığı anda, bunu izleyen 1.ayda bunu takip eden 6. ve 12. aylarda olmak üzere toplam 4 kez örneklenen koyunlardan serumları ayrılmak üzere kan örnekleri alındı. Numuneler, her örneklemede aynı seçilmiş 100 koyundan toplanmıştır. İkinci grupta (Gr 2) iki yıl önce doğal yolla PPR enfeksiyonu geçirdiği tespit edilen 25 adet koyun ve son grupta ise (Gr 3) PPR enfeksiyona maruz kalmamış bir adet sürüden ayrıldı (25 adet).

Kompetitif ELISA ile aşılama sonrası 1., 6. ve 12. ayda pozitif bulunan koyun sayısı sırasıyla 67/100 (%67), 82/100 (%82) ve 91/100 (%91) tespit edildi. Ayrıca, seroprevalansın sırasıyla 25/25 (%100) ve 13/25 (%52) olduğu ikinci ve üçüncü grupta antikor oluşumu tespit edildi.

Çalışma kapsamında ayrıca, ticari ELISA ve 8 M üre kullanılarak, PPR aşılması ve enfeksiyonundan sonra PPRV'ye karşı oluşan IgG antikorlarının, virusa bağlanma kuvvetlerinin değerlendirilmesi için avidite testi yapıldı. Aşılamadan 6 ay sonra IgG avidite indeksinde (AI) önemli bir artış görülmüştür. 1 yıllık aşılamadan sonra, koyun sürülerinin 56 /67'sinde (%83) AI'de artış eğilimi gözlenirken, AI'de düşüş eğilimi 11/67'de (%16) görülmüştür. Avidite indeksi doğal olarak enfekte olmuş ve aşılanmış koyunlarda da karşılaştırıldı ve sonuçlar enfekte hayvanların AI'sinin aşılama sonrası AI'den düşük olduğunu gösterdi. PPR aşısının etkili olduğu ve çalışılan hayvanlarda yüksek antikor yanıtı ürettiği bulundu.

Anahtar Sözcükler: c-ELISA, IgG Avidite, Koyun, Küçük Ruminant Vebası, VNT.

SUMMARY

Evaluation of Humoral Immune Response in Sheep Flocks After Vaccination with PPR Virus

Peste des petitis ruminant (PPR) is an important viral disease which causes high morbidity and mortality rate among sheep and goats. In this study the formation of neutralizing antibodies to PPR virus has been detected by means of virus neutralization test (VNT) and competitive ELISA (cELISA).

A total of 150 sheep from Eskisehir province were involved and divided into 3 groups. In the first group, 100 serum samples were obtained from sheep that have been vaccinated against PPRV using Nig/75/1 PPR virus strain vaccine. Animals' blood samples were taken 4 times e.g. on time of vaccination, 1 month, 6 months and 1-year post - vaccination. The samples were collected from the same selected 100 sheep at each sampling. The second group (Gr 2) 25 sheep that have been naturally infected with PPR two years ago. The last group (Gr 3) was composed of 25 unvaccinated animals.

With c-ELISA, the number of sheep found positive at 1st, 6th, and 12th months post-vaccination was 67/100 (67%), 82/100(82%) and 91/100(91%), respectively. Also, the formation of antibodies was detected in the second and the third group where the seroprevalance was 25/25(100%) and 13/25 (52%), respectively.

Moreover, by using commercial ELISA and 8 M urea, avidity test was performed to assess the strength of the IgG antibodies directed against PPRV, produced after PPR vaccination and infection. A considerable increase in the IgG avidity index (AI) was seen at 6 months' post vaccination. After 1 year of vaccination an upward trend in the AI was observed in 56/67 (83%) of the sheep flocks whereas a downward trend in the AI was seen in 11/67 (16%). Avidity index was also compared in naturally infected and vaccinated sheep and the results showed that AI of infected animals was lower than AI post vaccination. We found that PPR vaccine was effective and generate high antibody response in the studied animals.

Keywords: c-ELISA, IgG Avidity, Peste des petitis Ruminants, Sheep, VNT.

KAYNAKLAR

- ABDOLLAHPOUR G, RAOOFI A, NAJAFI J, SASANI F, SAKHAIE E (2006). Clinical and Para-clinical Findings of a Recent Outbreaks of Peste des Petits Ruminants in Iran. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, **1**:14-6.
- ABEGUNDE AA, ADU FD (1977). Excretion of the virus of peste des petits ruminants by goats. *Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr*, **25**: 307-311.
- ABRAHAM G, SINTAYEHU A, LIBEAU G, ALBINA E, ROGER F, LAEKEMARIAM Y, ABAYNEH A, WOKE KM (2005). Antibody seroprevalences against peste des petits ruminants (PPR) virus in camels, cattle, goats and sheep in Ethiopia. *Prev Vet Med*, **70**: 51-57.
- ABRAHAM G (2005). Epidemiology of Peste des Petits Ruminants Virus in Ethiopia and Molecular Studies on Virulence. Le Titre de Docteur de L'Institut National Polytechnique de Toulouse, Phd Thesis.
- ABRAHAM G, BERHAN A (2001). The use of Antigen-capture Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the Diagnosis of Rinderpest and Peste des Petits Ruminants in Ethiopia. *Trop. Anim. Hlth. Prod*, **33**: 423-430.
- ABU ELZEIN EME, HASSANIEN MM, AL-AFALEQ AI, ABD ELHADI MA, HOUSAWI FMT (1990). Isolation of peste des petits ruminants from goats in Saudi Arabia. *Vet. Record*, **127**: 309-310.
- ABU ELZEIN EME, HOUSAWI FMT, BASHAREEK Y, GAMEEL AA, AL-AFALEQ AI, ANDERSON E (2004). Severe PPR infection in gazelles kept under semi-free range conditions. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, **51**: 68-71.
- ABUBAKAR M, ASHIQ S, BIN ZAHOOR A, ARSHED M J, BANYARD A C (2011). Diagnosis and control strategies for peste des petits ruminants virus: global and Pakistan perspectives. *Pak. Vet. J*, **31**: 267-274.
- ADU FD, NAWATHE DR (1981). Safety of tissue culture rinderpest vaccine in pregnant goats. *Trop. Anim. Hlth. Prod*, **13**: 166.
- AKINGBADE D, COHEN BJ, BROWN DW (2003). Detection of low-avidity immunoglobulin G in oral fluid samples: a new approach for rubella diagnosis and surveillance. *Clin. Diagn. Lab. Immunol*, **10**: 189-190.

- ALCIĞIR G, VURAL S, TOPLU N (1996). Türkiye'de kuzularda Peste des petits ruminants virus enfeksiyonunun patomorfolojik ve immunhistolojik ilk tanımı. *Vet J Ankara Univ*, **43**: 181-189.
- ALTUĞ N, ÖZDEMİR R, CANTEKİN Z (2013). Ruminantlarda Koruyucu Hekimlik: I. Aşı Uygulamaları. Erciyes Üniv. *Vet. Fak. Derg*, **10(1)**: 33-44.
- AL-MAJALI AM, HUSSAIN NO, AMARIN NM, MAJOK AA (2008). Seroprevalence of, and risk factors for, peste des petits ruminants in sheep and goats in Northern Jordan. *Preventive Veterinary Medicine*, **85**: Issues 1-2, 1-8.
- ALMANZAR G, OTTENSMEIER B, LIESE J, PRELOG M (2013). Assessment of IgG avidity against pertussis toxin and filamentous hemagglutinin via an adapted enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using ammonium thiocyanate. *J Immunol Methods*, **387(1-2)**: 36-42.
- ANDERSON J, Mc CAYJ A, BUTCHER R N (1991). The use of monoclonal antibodies in competitive ELISA for the detection of antibodies to rinderpest and peste des petits ruminants viruses. In: The sero-monitoring of Rinderpest Throughout Africa Phase One IAEA-TECDOC, **623**: 43-53.
- ANDERSON J, Mc CAYJ A (1994). The detection of antibodies against peste de petits ruminants virus in cattle, sheep and goats and the possible implications to rinderpest control programmes. *Epidemiol. Infect*, **112**: 225-231.
- ANONİM (2004). Peste des petits ruminants. OIE Technical Shett Draft.
- ANONİM (2012). Morbillivirus virionu ve genom yapısının şematik görüntüsü. Erişim Adresi: (<http://www.frontiersin.org/Virology/10.3389/fmicb.2012.00075/full>). Erişim Tarihi: 30/3/2018.
- ARUNI AW, LALITHAB, PS, MOHANB, AC, CHITRAVELUC P, ANBUMANID SP (1998). Histopathological study of a natural outbreak of Peste des petits ruminants in goats of Tamilnadu. *Small Ruminant Research*, **3**: 233-240.
- ATA FA, AL SUMRY YHS, KING GJ, ISMAILI SI, ATA AA (1989). Duration of maternal immunity to peste des petits ruminants. *Veterinary Record*, **3**: 590-591.
- ATMACA HT, KUL O (2012). Examination of epithelial tissue cytokine response to natural peste des petits ruminants virus (PPRV) infection in sheep and goats by immunohistochemistry. *Histol Histopathol*, **27(1)**: 69-78.

- ATRASHEUSKAYA AV, KULAK MV, NEVEROV AA, RUBIN S, IGNATYEV GM (2008). Measles cases in highly vaccinated population of Novosibirsk, Russia, 2000-2005. *Vaccine*, **26**: 2111-8.
- ATTIEH E (2007). Enquête séro-épidémiologique sur les principales maladies caprines au Liban. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT.
- AWA DN, NGANGNOU A, TEFIANG F, YAYA D, NJOYA A (2002). Post vaccination and colostral peste des petits ruminants antibody dynamics in research flocks of Kirdi goats and Foulbe sheep of north Cameroon. *Preventive Veterinary Medicine*, **55**: 265-271.
- AYBAY C (1999). Antijen tanınması, salgısal ve hücrel immun yanıt. Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 177-85.
- BACCARD-LONGERE M, FREYMUTH F, COINTE D, SEIGNEURIN JM, GRANGEOT-KEROS L (2001). Multicenter evaluation of a rapid and convenient method for determination of cytomegalovirus immunoglobulin G avidity. *Clin. Diagn. Lab. Immunol*, **8**: 429-431.
- BACHMANN MF, KALINKE U, ALTHAGE A, FREER G, BURKHART C, ROOST HP, AGUET M, HENGARTNER H, ZINKERNAGEL RM (1997). The role of antibody concentration and avidity in antiviral protection. *Science*, **276**: 2024-7.
- BAILEY D, BANYARD A, DASH P, OZKUL A, BARRETT T (2005). Full genome sequence of peste des petits ruminants virus, a member of the Morbillivirus genus. *Virus Research*, **110**: 119-124.
- BALAMURUGAN V, SEN A, SARAVANAN P, RASOOL TJ, YADAV MP, BANDYOPADHYA SK, SINGH RK (2006). Development and characterization of a stable vero cell line constitutively expressing Peste des petits ruminants virus (PPRV) hemagglutinin protein and its potential use as antigen in enzyme-linked immunosorbent assay for serosurveillance of PPRV. *Clin Vaccine Immunol*, **13**: 1367-1372.
- BALAMURUGAN V, SEN A, VENKATESAN G, YADAV V, BHANUPRAKASH V, SINGH RK (2010). Isolation and identification of virulent peste des petits ruminants viruses from PPR outbreaks in India. *Tropical animal health and production*, **42(6)**: 1043-6.
- BALAMURUGAN V, KRISHNAMOORTHY P, VEEREGOWDA BM, SEN A, RAJAK KK, BHANUPRAKASH V, GAJENDRAGAD MR, PRABHUDAS K (2012). Seroprevalence of peste des petits ruminants in cattle and buffaloes from Southern Peninsular India. *Trop Anim Health Pro*, **44**: 301-306.

- BAO J, WANG Z, LI L, WU X, SANG P, WU G, DING G, SUO L, LIU C, WANG J, ZHAO, W, LI J, QI L (2011). Detection and genetic characterization of peste des petits ruminants virus in free-living bharals (*Pseudois nayaur*) in Tibet, China. *Res Vet Sci*, **90(2)**: 238-240.
- BARBER TC, De BOER CS (1965). Response of calves sheep and pigs to a cell culture modified rinderpest virus. *Cornell Vet*, **55**: 590-598.
- BARON MD, BARRETT T (1995). Sequencing and analysis of the nucleocapsid (N) and polymerase (L) genes and the extragenic domains of the vaccine strain of rinderpest virus. *Journal of General Virology*, **76**: 593-603.
- BARON MD, BARRETT T (2000). Rinderpest virus lacking the C and V proteins show specific defects in growth and transcription of viral RNAs. *J. Virol*, **74**: 2603-11.
- BARRETT T, SUBBARAO SM, BELSHAM GJ, MAHY BWJ (1991). The molecular biology of the morbilliviruses. In D.W. Kingsbury (ed.) *The paramyxoviruses*, 83-102.
- BARRETT T, VGSSER IK, MAMAEV L, GOATLEY, L, VAN, OSTERHAUS A D. (1993). Dolphin and porpoise morbilliviruses are genetically distinct from phocine distemper virus. *Virology*, **193**: 1010 -1012.
- BARRETT T (2001). Morbilliviruses: dangers old and new. In: Smith GL, Mc Cauley JW, Rowlands DJ (editors.), *New Challenges to Health: The Threat of Virus Infection: Society for General Microbiology*, 155-178.
- BARRETT T, BANYARD AC, DIALLO A (2005). Molecular biology of the morbilliviruses. In: Taylor WP, Barrett T, Pastoret PP(editors). *Rinderpest and peste des petits ruminants. Virus plagues of large and small ruminants*. Amsterdam: Academic Press, Elsevier. 31-67.
- BEGUM SS, MAHATO G, SHARMA P, HUSSAIN M, SALEQUE A (2016). Assessment of immune response to a lyophilized peste-des-petits-ruminants virus vaccine in three different breeds of goats. *Veterinary World*, **9(6)**: 568-571.
- BILLETER MA, BACZKO K, SCHMID A, TER MEULEN V (1984). Cloning of DNA corresponding to four different measles virus genomic regions. *Virology*, **132**: 147-159.
- BLIXENKRONE-MOLLER, BOLT G, JENSEN TD, HARDER T, SVANSSON V (1996). Comparative analysis of the attachment protein (H) of dolphin morbillivirus. *Virus Research*, **40**: 47-55.

- BODJO SC, COUACHY-HYMAN E, KOFFI MY, DANHO T (2006). Assessment of the duration of maternal antibodies specific to the homologous peste des petits ruminant vaccine Nigeria 75/1” in Djallonke lambs. *Biokemistri*, **18(2)**: 99-103.
- BONNIWELL M A (1980). The use of tissue culture rinderpest vaccine (TCRV) to protect sheep and goats against peste des petits ruminants in the Ashanti region of Gana. *Bull. Off. Int. Epiz*, **92**: 1233-1238.
- BRAIDE VB (1981). Peste des petits ruminants. *World anim. Review*, **39**: 25-28.
- BRINDHA K, RAJ GD, GANESAN PI, THIAGARAJAN V, NAINAR AM, NACHIMUTHU K (2001). Comparison of virus isolation and polymerase chain reaction for diagnosis of peste des petits ruminants. *Acta Virologica*, **45**: 169-172.
- BROWN CC, MARINER JA, OLENDER HS (1991). An immunohistochemical study of the pneumonia caused by peste des petis ruminants virus. *Vet. Pathol*, **28**: 166-170.
- BUNDZA A, AFSHAR A, DUKES WD, MYERS DJ, DULAC GC, BECKER S (1988). Experimental petse des petits ruminants (goat plaque) in goat and sheep, *Canadian Journal of Veterinary Research*, **52(1)**: 46-52.
- ÇAM Y, GENÇAY A, BEYAZ L, ATALAY O, ATASEVER A, OZKUL A, KDBAR M (2005). Peste des petits ruminants in a sheep and goat flock in Kayseri province. Turkey. *Vet Rec*, **22**: 523-524.
- CHANDRAN NDC, KUMANAN K, VENKATESAN RA (1995). Differentiation of peste des petits ruminants and rinderpest viruses by neutralisation indices using hyperimmune rinderpest antiserum. *Trop. Anim. Hlth. Prod*, **27**: 89-92.
- CHAUDHARYSS, PANDEY KD, SINGH RP, VERMA PC, GUPTA PK (2009). A vero cell derived combined vaccine against sheep pox and Peste des Petits ruminants for sheep. *Vaccine*, **27**: 2548-2553.
- CHOI KS, NAH JJ, CHOI CU, KO YJ, SOHN HJ, LIBEAU G, KANG SY, JOO YS (2003). Monoclonal antibody-based competitive ELISA for simultaneous detection of rinderpest virus and peste des petits ruminants virus antibodies. *Vet. Microbiol*, **96**: 1-16.
- CHOI KS, NAH JJ, KO YJ, KANG SY, JO NI (2005). Rapid competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to peste des petits ruminants virus. *Clin. Diagn. Lab. Immunol*, **12**: 542-547.

- CHOPPIN P, SCHEID A (1980). The role of viral glycoproteins in adsorption, penetration and pathogenicity of viruses. *Rev. Infect. Dis*, **2**: 40-61.
- CONDORELLI F, STIVALA A, GALLO R, MUSUMECIE, SCATA MC, STRANO L, PENNISI M, RUSSO G, CASTRO A, SCALI A G (1997). Improvement in establishing the period of rubella virus primary infection using a mild protein denaturant. *J. Virol. Methods*, **66**: 109-112.
- COUACY-HYMANN E, BIDJEH K, ANGBA A, DOMENECH J, DIALLO A (1995). Protection of goats against rinderpest by vaccination with attenuates peste des petits ruminants virus. *Res. Vet. Sci*, **59**: 106-109.
- COUACY-HYMANN E, ROGER F, HURARD C, GUILLOU JP, LIBEAU G, DIALLO A (2002). Rapid and sensitive detection of peste des petits ruminants virus by a polymerase chain reaction assay. *Journal of Virological Methods*, **100**: 17-25.
- COUACY-HYMANN E, BODJO C, DANHO T, LIBEAU G, DIALLO A (2005). Surveillance of wildlife as a tool for monitoring rinderpest and peste des petits ruminants in West Africa. *Rev Sci Tech*, **24**: 869-877.
- CROWLEY JC, DOWLING PC, MENONNA J, SILVERMAN JI, SCHUBACK D, COOK SD, BLUMBERG BM (1988). Sequence variability and function of measles 3' and 5' ends and intercistronic regions. *Virology*, **164**: 498-506.
- ÇOLAK D (2001). Infeksiyon hastalıklarının tanısında immünglobulin G avidite testleri. *ANKEM Derg*, **15**: 621-4.
- DARDIRI AH, De BOER CJ, HAMDY FM (1976). Response of American goats and cattle to peste des petits ruminants. *Proc.19 th Ann. Met. Am. Assoc. Vet. Lab. Diag*, 377-344.
- DAS KK, SHIL NK, ISLAM MR (2007). Sero-Epidemiological Investigation on Peste Des Petits Ruminants in Black Bengal Goats. *Bangladesh J. Microbiol*, **24**: 143-145.
- DECHAMMA HJ, DIGHE V, KUMAR CA, SINGH RP, JAGADISH M, KUMAR S (2006). Identification of T-helper and linear B epitope in the hypervariable region of nucleocapsid protein of PPRV and its use in the development of specific antibodies to detect viral antigen. *Vet Microbiol*, **118**: 201-211
- DHAR P, SREENIVASA BP, BARRETT T, CORTEYN M, SINGH RP, BANDYOPADHYAY SK (2002). Recent epidemiology of peste des petits ruminants virus (PPRV). *Vet Microbiol*, **88**: 153- 159.

- DHINAKAR RG, NACHIMUTHU K, MAHALINGA NA (2000). A simplified objective method for quantification of peste des petits ruminants virus or neutralizing antibody. *J. Virol Methods*, **89**: 89-95.
- DIALLO A, BARRETT T, LEFEVRE PC, TAYLOR WP (1987). Comparison of proteins induced in cells infected with RP and PPR viruses. *J.Gen. Virol*, **68**: 2033-2038.
- DIALLO A(1988). Rinderpest and peste des petits ruminants; constant threats to animal farming in many developing countries. *Impact Sci. Society*, **150**: 179-192.
- DIALLO A, BARRETT T, BARBRON M, SHAILA MS, TAYLOR WP (1989a). Differentiation of rinderpest and peste des petits ruminants viruses using specific cDNA clones. *J.Virol. Meth*, **23**: 127-136.
- DIALLO A, TAYLOR WP, LEFEVRE P C, PROVOST A (1989b). Attenuation d'une souche de virus de la peste des petits ruminants candidat pour un vaccin homologue vivant. *Rev. Med. Vet. Pays. Trop*, **42(3)**: 311-319.
- DIALLO A, LIBEAU G, COUACY-HYMANN E, BARBRON M (1995). Recent developments in the diagnosis of rinderpest and peste des petits ruminants. *Vet. Microbiol*, **44**: 307-317.
- DIALLO A (2003). Control of peste des petits ruminants: classical and new generation vaccines. *Dev Biol*, **114**: 113-119.
- DIALLO A, MINET C, LE GOFF C, BERHE G, ALBINA E, LIBEAU G, BARRETT T (2007). The threat of peste des petits ruminants: progress in vaccine development for disease control. *Vaccine*, **25**: 5591-5597.
- DIOP M, SARR J, LIBEAU G (2005). Evaluation of novel diagnostic tools for peste des petits ruminants virus in naturally infected goat herds. *Epidemiol. Infect*, **133**: 711-717.
- DUROJAIYE OA (1982). Precipitating antibody in sera of goats naturally affected with peste des petits ruminants. *Trop. Anim. Hlth Prod*, **14**: 98-100.
- DUROJAIYE OA, OBI TU, OJO O (1983). Virological and serological diagnosis of peste des petits ruminants. *Trop. Vet*, **1**: 13-17.
- DUROJAIYE OA (1984). Detection of the antigen of peste des petits ruminants virus in tissues by indirect immunofluorescence technique. *Niger. Vet. J*, **13**: 77-80.

- DURAJOIYE VA LEFEVRE PC (1996). Peste des petits ruminants. In: OIE Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines. Third Edd. Chapter 2.1.5.p: 77-84.
- EL HAG ALI B, TAYLOR WP (1984). Isolation of peste des petits ruminants virus from the Sudan. *Res. Vet. Sci*, **36**: 1-4.
- ENDERS G, KNOTEK F (1989). Rubella IgG total antibody avidity and IgG subclass-specific antibody avidity assay and their role in the differentiation between primary rubella and rubella reinfection. *Infection*, **17**: 218-226.
- EZEIBE MCO, WOSU LO, ERUMAKA IG (2004). Standardisation of the haemagglutination test for peste des petits ruminants (PPR). *Small Rum. Res*, **51**: 269272.
- FAO (2008). Outbreak of 'peste des petits ruminants' in Morocco. FAO Newsroom (FAO), Italy.
- FAO (1996). Prevention and control of transboundary animal diseases. Report of the FAO Expert Consultation on the Emergency Prevention System (EMPRES) for Transboundary Animal and Plant Pests and Diseases (Livestock Diseases Programme) including the blueprint for global rinderpest eradication. 22–29 July 1996, Rome, Italy. Food and Agriculture Organization: Rome, Italy.
- FAO (2010). Deadly animal virus Peste des Petits Ruminants threatens to spread to southern Africa. Erişim Adresi: (<http://www.animal-virus-peste-des-petitsruminants-threatens-to-spread-to-southern-africa/8302/>). Erişim Tarihi: 08/11/2013.
- FAOSTAT (2009, 2010). Statistical Database. Food and Agriculture Organization. Erişim Adresi: (<http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>). Erişim Tarihi: 10/12/2012.
- FERMENTAS (2004). RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit #K1622. (Erişim: <http://www.fermentas.com/profiles/kits/pdf/revertaid1622.pdf>). Erişim Tarihi: 15/05/2004.
- FORSYTH M A, BARRETT T (1995). Evaluation of polymerase chain reaction for the detection on characterisation of rinderpest and peste des petits ruminants viruses for epidemiological studies. *Virus Res*, **39**: 151-163.
- FROLICH K, HAMBLIN C, JUNG S, OSTROWSKI S, MWANZIA J, STREICH WJ, ANDERSON J, ARMSTRONG RM, ANAJARIYAH S (2005). Serologic surveillance for selected viral agents in captive and free ranging populations of Arabian oryx (*Oryx leucoryx*) from Saudi Arabia and the United Arab Emirates. *J. Wild Dis*, **41**:67-79.

- FURLEY CW, TAYLOR TW, OBI TU (1987). An outbreak of PPR in a zoological collection. *Vet. Rec*, **121**: 443-447.
- GANS HA, MALDONADO YA (2013). Loss of passively acquired maternal antibodies in highly vaccinated populations: An emerging need to define the ontogeny of infant immune responses. *J. Infect. Dis*, **208**: 1-3.
- GARGADENNEC L, LALANNE A (1942). La peste des petits ruminants. Bulletin des Services Zoo Technique et des Epizootie de l'Afrique Occidentale Française. **5**: 16-21.
- GIBBS E P J, TAYLOR W P, LAWMAN M J P, BRYANT J (1979). Classification of peste des petits ruminants virus as the fourth member of the genus morbillivirus. *Intervirology*, **11**: 268-274.
- GILBERT Y, MONNIER J (1962). Adaptation of peste des petits virus to cell cultures. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop*, **15**: 321-335.
- GOTOH B, KOMATSU T, TAKEUCHI K, YOKOO J (2001). Paramyxovirus accessory proteins as interferon antagonists. *Microbiol. Immunol*, **45**: 787- 800.
- GOVINDARAJAN R, KOTEESWARAN A, VENUGOPALAN AT, SHYAM G, SHAOUNA, S, SHAILA MS, RAMACHANDRAN S (1997). Isolation of pestes des petits ruminants virus from an outbreak in Indian buffalo (*Bubalus bubalis*). *Vet Rec*, **141(22)**: 573-574.
- GUERINEAU ALB, DHOTE R, CHRISTIANN F, RAYET P, ASSOUS MV (1999). Differentiation between early and late complicated Lyme borreliosis by specific IgG avidity. *Lancet*, **354**: 1096-7.
- GUTIERREZ J, MAROTO C (1996). Are IgG antibody avidity assays useful in the diagnosis of infectious diseases? A review. *Microbios*, **87**: 113-21.
- GÜL Y, DABAK M, ISSIM (2001). Elazığ'da 1999 Yılında Koyun ve Keçilerde Gözlenen Peste Des petits Ruminants (PPR) Olguları. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **15 (1)**: 31-38.
- GÜL Y, KIZIL Ö, ISSI M (2006). Bir kuzuda saptanan subklinik küçük ruminant vebası (peste des petits ruminants, PPR) olgusu. *F. Ü. Sağlık Bil. Derg*, **20 (3)**: 245-247.
- GÜLERİ L, ŞEVIK M, HASÖKSÜZ M (2014). Phylogenetic analysis of peste des petits ruminants virus from outbreaks in Turkey during 2008-2012. *Turk J Biol*, **38**: 671-678.

- GÜLYAZV, ÖZKUL A (2005). Pathogenicity of a Local Peste des Petits Ruminants Virus Isolate in Sheep in Turkey. *Trop. Anim. Hlth. Prod*, **37**: 541-547.
- GÜMÜŞOVA S, MEMİŞ YS (2014). Bazı keçi Irklarında küçük ruminant Vebası Aşısı Sonrası Antikor Dağılımı. *Kocatepe Vet J*, **7(1)**: 53-55.
- GÜR S, ALBAYRAK H (2010). Seroprevalance of peste des petits ruminants (PPR) in goitered gazelle (*Gazella subgutturosa subgutturosa*) in Turkey. *J. Wildlife Dis*, **466**: 73-677.
- GOWANE GR, AKRAM NAJIF, MISRA SS ARUN KUMAR VP (2016). Assessment of the antibody response to Peste des petits ruminants (PPR) disease vaccination in a flock of Sirohi goat kids. *Small Rumin. Res*, **1382**: 0-24.
- HAFFAR A, LIBEAU G, MOUSSA A, CECILE M, DIALLO A (1999). The matrix protein gene sequence analysis reveals close relationship between peste des petits ruminants virus (PPRV) and dolphin morbillivirus. *Virus Res*, **64**: 69-75.
- HAMBURGER HA (1998). Methods in laboratory immunology. *In*: Middleton EJ, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NFJ, Yunginger JW, Busse WW, eds. Allergy: Principles and Practice. 5th ed. St. Louis: Mosby. 417-29.
- HAMDY F M, DARDIRI A H, NDUAKA O, BREESE S S A, IHEMELANDU E C (1976). Etiology of the stomatitis pneumoenteritis complex in Nigerian dwarf goats. *Can. J. Comp. Med*, **40**: 276-284.
- HAMKAR R, MAHMOODI M, NATEGH R, JELYANI KN, ESLAMI MB, MOHKTARI-AZAD T (2006). Distinguishing between primary measles infection and vaccine failure reinfection by IgG avidity assay. *East Mediterr Health J*, **12**: 775-82.
- HEDMAN K, SEPPÄLÄ I (1988). Recent rubella virus infection indicated by a low avidity of specific IgG. *J. Clin. Immunol*, **8**: 214.
- HEDMAN K, LAPPALAINEN M, SODERLUND M, HEDMAN L (1993). Avidity of IgG in serodiagnosis of infectious diseases. *Rev. Med. Microbiol*, **4**: 123-129.
- HEDMAN L, SODERLUND-VENERMO M, JARTTI T, RUUSKANEN O, HEDMAN K, (2010). Dating of human bocavirus infection with protein-denaturing IgG-avidity assays-secondary immune activations are ubiquitous in immunocompetent adults. *J. Clin. Virol*, **48**: 44.

- HORIKAMI SM, SMALLWOOD S, BANKAMP B, MOYER, SA (1994). An aminoproximal domain of the L protein binds to the P protein in the measles virus RNA polymerase complex. *Virology*, **205**: 540-5.
- HORVATH CM (2004). Silencing STATs: lessons from paramyxovirus interferon evasion. *Cytokine Growth Factor Rev*, **15**: 117-127.
- HYMANN CE, BIDJEH K, DOMENECH I, DIALLO A (1995). Protection of goats against rinderpest by vaccination with attenuated peste des petits ruminants virus. *Res. Vet. Sci*, **59**: 106-109.
- INOUE S, HASEGAWA A, MATSUNO S, KATOWS (1984). Changes in antibody avidity after virus infections: detection by an immunosorbent assay in which a mild protein-denaturing agent is employed. *J. Clin. Microbiol*, **20**: 525.
- INTIZAR M, AHMAD MD, ANJUM AA, HANIF A (2009). Comparative efficacy of peste des petits ruminants (PPR) vaccines available in Pakistan in sheep and goats. *Pak. Vet. J*, **29**: 202-205.
- ISLAM MR, SHAMSUDDIN M, DAS PM, DEWAN ML (2001). An outbreak of peste des petits ruminants in Black Bengal goats in Mymensingh, Bangladesh. *Bangl. Vet*, **18**: 14-19.
- ISMAIL T, YAMANAKA M K, SALIKI JT, EI-KHOLY A, MEBUS C, YILMA T (1995). Cloning and expression of the nucleoprotein of peste des petits ruminants virus in baculovirus for use in serological diagnosis. *Virology*, **208**: 276-278.
- ISMAIL FM, HOUSE J (1990). Evidence and identification of peste des petits ruminants from goats in Egypt. *Archive Experimental Veterinary Medicine*, **44(3)**: 471-474.
- JONES L, GIAVEDONI L, SALIKI JT, BROWN C, MEBUS C, YILMA T (1993). Protection of goats against peste des petits ruminants virus with a vaccinia double recombinant expressing the F and H genes of rinderpest virus. *Vaccine*, **11**: 961-4.
- KAERBER G (1964). In diagnostic procedures for viral and rickettsial Disease. *Public Health. Ass*, **3**: 48-50.
- KANO A, KAZUYAMA Y (2002). Immunoglobulin G antibody avidity assays for serodiagnosis of hepatitis C virus infection. *J. Med. Virol*, **68**: 229-233.
- KHALAFALLA AI, SAEEDI K, ALI Y H, ABDURRAHMAN M B, KWIA TEK O, IIBEAU G, OBEIDA AA, ABBAS Z (2010). An outbreak of peste des petits ruminants (PPR) in camels in the Sudan. *Acta Tropica*, **116**: 161-165.

- KHAN HA, SIDDIQUE M, ARSHAD M, ABUBAKAR M, AKHTAR M, ARSHAD MJ, ASHRAF M (2009). Post-vaccination antibodies profile against Peste des petits ruminants (PPR) virus in sheep and goats of Punjab, Pakistan. *Tropical Animal Health & Production*, **41**: 427-430.
- KINNE J, KREUTZER R, KREUTZER M, WERNERY U, WOHLSEIN P (2010). Peste des petits ruminants in Arabian wildlife. *Epidemiol Infect*, **138**: 1211-1214.
- KINGSBURY DW (1990). Paramyxoviridae and their replication. In: Fields BN, Knipe DM (eds) *Virology*, 954-962.
- KINNE J, KREUTZER R, KREUTZER M, WERNERY U, WOHLSEIN P (2010). Peste des petits ruminants in Arabian wildlife. *Epidemiol Infect*, **138(8)**: 1211-1214.
- KNEITZ RH, SCHUBERT J, TOLLMANN F, ZENS W, HEDMAN K, WEISSBRICH B (2004). A new method for determination of varicella-zoster virus immunoglobulin G avidity in serum and cerebrospinal fluid. *BMC Infect. Dis*, **4**: 33.
- KORHONEN MH, BRUNSTEIN J, HAARIO H, KATNIKOV A, RESCALDANI R, HEDMAN K (1999). A new method with general diagnostic utility for the calculation of immunoglobulin G avidity. *Clin Diag Lab Immunol*, **6**: 725-8.
- KOYAMA S, ISHII KJ, COBAN C, AKIRA S (2008). Innate immune response to viral infection. *Cytokine*, **43(3)**: 336-341.
- KUL O, KABAKCI N, ATMACA HT, OZKUL, A (2007). Natural peste des petits ruminants virus infection: novel pathologic findings resembling other morbillivirus infections. *Vet Pathol*, **44**: 479-86.
- KULKARNI D D, BHIKANE A U, SHAILA M S, VARALAKSHMI P, APTE M P, NARLADKAR B W (1996). Peste des petits ruminants in goats in India. *Vet. Record*, **138**: 187-188.
- KUMAR A, SINGH SV, RANA R, VAID RK, MISRI J, VS V (2001). PPR outbreak in goats: Epidemiological and therapeutic studies. *Indian J. Animal Sci*, **71**: 815-818.
- KUMAR N, MAHERCHANDANI S, KASHYAP SK, SINGH SV, SHARMA S, CHAUBEY KK, LY H (2014). Peste des petits ruminants virus infection of small ruminants: A comprehensive review. *Viruses*, **6**: 2287-2327.
- KWIATEK O, MINET C, GRILLET C, HURARD C, CARLSSON E, KARIMOV B, ALBINA E, DIALLOA, LIBEAU G (2007). Peste des petits ruminants (PPR) outbreak in Tajikistan. *J Comp Path*, **136**: 111-119.

- LAINE D, TRESOL-BIEMONT MC, LONGHI S, LIBEAU G, MARIE JC, VIDALAIN PO, AZOCAR O, DIALLO A, CANARD B, RABOURDIN-COMBE C, VALENTIN H (2003). Measles virus (MV) nucleoprotein binds to a novel cell surface receptor distinct from FcγRII via its C-terminal domain: role in MV-induced immunosuppression. *J. Virol*, **77**: 11332-46.
- LAMB RA, KOLAKOSKY D (2001). Paramyxoviridae: The Viruses and Their Replication. In: *Fundamental Virology*. 4th Edition. Ed.: D. M. Knipe, P. M. Howley. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. 689-724.
- LAURENT A (1968). Aspects biologiques de la multiplication du virus de la peste des petits ruminants sur les cultures cellulaires. *Rev. Elev. Med. Vet. PaysTrop*, **21**: 297-308.
- LEACH RJ CRAIGMILE SC, KNOTT SA, WILLIAMS JL, GLASS EJ, (2010). Quantitative trait loci for variation in immune response to a Foot-and-Mouth Disease virus peptide. *BMC Genet*, **11**: 107.
- LEFEVRE P C (1987). Peste des petits ruminants et infection bovine des ovins et caprins (Synthese bibliographique), Institute d'Elevage et de Medecine veterinaire des pays tropicaux. Maison-Alfort, France, p.99.
- LEFEVRE PJ, DIALLO A (1990). Peste des petits ruminants. *Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz*, **9(4)**: 951-965.
- LEFEVRE PC, DIALLO A, SCHENKEL F, HUSSEIN S, STAAK G (1991). Serological evidence of peste des petits ruminants in Jordan. *Vet Rec*, **128(5)**: 110.
- LIBEAU G, LEFEVRE P C (1990). Comparison of rinderpest and peste des petits ruminants viruses using anti-nucleoprotein monoclonal antibodies. *Vet. Microbiol*, **25**: 116.
- LIBEAU G, DIALLO A, CALVEZ D, LEFEVRE PC (1992). A competitive ELISA using anti-N monoclonal antibodies for specific detection of rinderpest antibodies in cattle and small ruminants. *Vet microbiol*, **31**: 147-160.
- LIBEAU G, DIALLO A, COLAS F, GUERRE L (1994). Rapid differential diagnosis of rinderpest and peste des petits ruminants using immunocapture ELISA. *Vet. Record*, **134**: 300-304.
- LIBEAU G, PREHAUD C, LANCELOT R, COLAS F, BISHOP DHL, DIALLO A (1995). Development of a competitive ELISA for detecting antibodies to the peste des petits ruminants virus using a recombinant nucleoprotein. *Res. Vet. Sci*, **58**: 50-55.

- LIESENFELD O, PRESS C, MONTOYA JG, GILL R, ISAAC-RENTON JL, HEDMAN K (1997). False-positive results in immunoglobulin M (IgM) toxoplasma antibody tests and importance of confirmatory testing: the Platelia Toxo IgM test. *J Clin Microbiol*, **35**(1): 174-178.
- LIESENFELD O, MONTOYA JG, KINNEY S, PRESS C, REMINGTON JS (2001). Effect of testing for IgG avidity in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women: experience in a US reference laboratory. *J Infect Dis*, **183**: 1248-53.
- LUND BT, TIWARI A, GALBRAITH S, BARON MD, MORRISON WI BARRETT T (2000). Vaccination of cattle with attenuated rinderpest virus stimulates CD4 (+) T cell responses with broad viral antigen specificity. *J. Gen. Virol*, **81**: 2137-2146.
- MACLACHLA NJ, DUBOVI EJ (2011). *Fenner's Veterinary Virology*, 299-325
- MADHUSUDAN H, SINGH SK, MONDAL B, SEN A, BHANUPRAKASH V, BANDYOPADHYAY SK, YADAV MP, SINGH RK (2006). A bivalent vaccine against goat pox and peste des petits ruminants induces protective immune response in goats. *Vaccine*, **24**: 6058-6064.
- MAJIYAGBE KA, NAWATHE DR, ABEGUNDE A (1984). Rapid diagnosis of PPR infection, application of immuno-electro-osmophoresis (IEOP) technique. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop*, **37**: 11-15.
- MANOHARAN S, JAYAKUMAR R, GOVINDARAJAN R, KOTEESWARAN A (2005). Haemagglutination as a confirmatory test for Peste des petits ruminants diagnosis. *Small Rum. Res*, **59**: 75-78.
- MARTRENCAR A, ZOYEM N, NJOYA A, NGO TAMA AC, BOUCHEL D, DIALLO A (1999). Field study of a homologous vaccine against peste des petits ruminants in northern Cameroon. *Small Rumin. Res*, **31**: 277-280.
- MCILHATTON MA, CURRAN MD, RIMA BK (1997). Nucleotide sequence analysis of the large (L) genes of phocine distemper virus and canine distemper virus (corrected sequence). *J. Gen. Virol*, **78**: 571-576.
- MENG X, DOU Y, ZHAI J, ZHANG H, YAN F, SHI X, LUO X, LI H, CAI X (2011). Tissue distribution and expression of signaling lymphocyte activation molecule receptor to peste des petits ruminant virus in goats detected by real-time RT-PCR. *J Mol Histol*, **42**(5): 467-72.
- MERLOT E (2004). Conséquences du stress sur la fonction immunitaire chez les animaux d'élevage. *INRA Prod. Anim*, **17**(4): 255-264.

- MIOULET V, BARRETT T, BARON MD (2001). Scanning mutagenesis identifies critical residues in the rinderpest virus genome promoter. *J. Gen. Virol*, **82**: 2905-2911.
- MITRA-KAUSHIK S, NAYAK R, SHAILA MS (2001). Identification of a cytotoxic T-cell epitope on the recombinant nucleocapsid proteins of Rinderpest and Peste des petits ruminants viruses presented as assembled nucleocapsids. *Virology*, **279(1)**: 210-220.
- MONDAL B, SREENIVASA BP, DHAR P, SINGH RP, BANDYOPADHYAY SK (2001). Apoptosis induced by peste des petits ruminants virus in goat peripheral blood mononuclear cells. *Virus Res*, **73(2)**: 113-9.
- MONTOYA JG, LIESENFELD O, KINNEY S, PRESS C, REMINGTON JS (2002). Vidas test for avidity of toxoplasma-specific immunoglobulin G for confirmatory testing of pregnant women. *J. Clin. Microbiol*, **40**: 2504-2508.
- MORGAN-CAPNER P, HAMBLING MH, COLEMAN TJ, WATKINS RP, STERN H, HODGSON J, DULAKE C, BOSWELL PA, BOOTH J, BEST J, BANATVALA JE (1985). Detection of rubella-specific IgM in subclinical rubella reinfection in pregnancy. *Lancet*, **1**: 244-246.
- MORNET P, ORUE J, GILBERT Y, THIERY G, SOW M (1956). La peste des petits ruminants en Afrique occidentale française ses rapports avec la peste bovine. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop*, **9**: 313-342.
- MUNIR M, ZOHARI S, BERG M (2012). Molecular Biology and Pathogenesis of Peste des Petits Ruminants Virus book. Springer, 20 Aug 2012.
- MURTY D K, SHARMA S K (1974). Studies on reactogenicity and immunogenicity of cell culture rinderpest vaccine in different species of ruminants. *Indian J. Anim. Sci*, **44(6)**: 359-365.
- MUTHUCHELVAN D, SANYAL A, SARKAR J, SREENIVASA BP, BANDYOPADHYAY, S K (2006a). Comparative nucleotide sequence analysis of the phosphoprotein gene of peste des petits ruminants vaccine virus of Indian origin. *Research in Veterinary Science*, **81**: 158-164.
- MUTHUCHELVAN D, SANYAL A, SREENIVASA BP, SARAVANAN P, DHAR P, SINGH R P, SINGH R K, BANDYOPADHYAY SK (2006b). Analysis of the matrix protein gene sequence of the Asian lineage of peste-des-petits ruminants vaccine virus. *Vet. Microbiol*, **113**: 83-87.
- NANDA YP, CHATTERJEE A, PUROHIT AK, DIALLO A, INUI K, SHARMA RN, LIBEAU G, THEVASAGAYAM J, BRUNING A, KITCHING RP, ANDERSON J,

- BARRETT T, TAYLOR WP (1996). The isolation of peste des petits ruminants virus from Northern India. *Vet. Microbiol*, **51**: 207-216.
- NAWTHANE DR, TAYLER WP (1979). Experimental infection of domestic pigs with the virus of Peste des petits ruminants. *Trop Anim Health Pro*, **11**: 120-122.
- NORRBY E, OXMAN MN (1990). Measles virus, PP; 1013-1044. In B.N. In: Fields BN, KnipeDM (eds) *Virology*, **1**: 1013 -1044.
- NOSSAL GJV (1992). The molecular and cellular basis of affinity maturation in antibody response. *Cell*, **68**:1-2.
- OBI TU, PATRICK D (1984). The detection peste des petits ruminants (PPR) virus antigen by agar gel precipitation test and counter-immunoelectrophoresis. *J. Hyg*, **93**: 579-586.
- OBI TU, ROWE LW, TAYLOR WP (1984). Serological studies with peste des petits ruminants and rinderpest viruses in Nigeria. *Trop. Anim. Hlth. Prod*, **16**: 115-118.
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE) (1999). OIE disease information. **12**:137.
- OIE (2004). Peste des petits ruminants. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Part 2, Section 2.1., Chapter 2.1.5.
- OIE (2013). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.7.11. Erişim Adresi: (http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.07.11_PPR.pdf). Erişim Tarihi: 10.07.2013.
- OGUNSANMI A O, AWE EO, OBI TU, TAIWO VO (2003). Peste des petits ruminants (PPR) virus antibodies in African Grey Duiker (*Sylvicapra grimmia*). *African J. of Biomedical Res*, **6 (1)**: 59-61.
- OPAL SM, DEPALO VA (2000) Anti-inflammatory cytokines. *Chest*, **117(4)**: 1162-1172.
- OWEN M, STEWARD M (1996). Antigen recognition. In: Roitt I, Brostoff J, Male D, eds. *Immunology*. 4th ed. London: Mosby-Year Book, 7.1-7.13.
- ÖZKUL A, AKCA Y, ALKAN F, BARRETT T, KARAOĞLU T, DAGALP SB, ANDERSON J, YESILBAG K, COKCALISKAN C, GENÇAY A, BURGU I (2002). Prevalance, Distribution and Host Range of Peste des petits ruminants virus, Turkey. *Emerg. Infect Dis*, **8 (7)**: 708-712.

- ÖZKUL, A, DEMIR B, KARAOGLU T, ALKAN F, DINCER E, ONCEL T, BURGU I (2008). Maturation of immunoglobulin G avidity after inactive gE deleted bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) marker vaccination. *Viral Immunol*, **21**, 3.
- PALANISWAMI KS (2005). Peste des petits ruminants: strategies for control and eradication. Presented at: national seminar on pesticide, antibiotic residues and other toxins in feed, livestock and poultry products and strategies for control and eradication of peste des petits ruminants. Bangalore, India, 10-11 december 2005.
- PANDEY KD, BARON MD, BARRETT T (1992). Differential diagnosis of rinderpest and PPR using biotinylated cDNA probes. *Vet. Rec*, **131**: 199-200.
- PAUNIO M, HEDMAN K, DAVIDKIN I, VALLE M, HEINONEN OP, LEINIKKI P, SALMI A, PELTOLA H (2000). Secondary measles vaccine failures identified by measurement of IgG avidity: high occurrence among teenagers vaccinated at a young age. *Epidemiol. Infect*, **124**: 263-271.
- PAUNIO M, HEDMAN K, DAVIDKIN I, PELTOLA H (2003). IgG avidity to distinguish secondary from primary measles vaccination failures: prospects for a more effective global measles elimination strategy. *Expert Opin. Pharmacother*, **4**: 1215-1225.
- PAWAR RM, RAJ GD, KUMAR TM, RAJA A, BALACHANDRAN C (2008). Effect of siRNA mediated suppression of signaling lymphocyte activation molecule on replication of peste des petits ruminants virus in vitro. *Virus Res*, **136(1-2)**: 118-123.
- PICHICHERO ME, VOLOSHEN T, ZAJAC D, PASSADOR S (1999). Avidity maturation of antibody to Haemophilus influenzae type b (Hib) after immunization with diphtheria-tetanus-acellular pertussis-hib-hepatitis B combined vaccine in infants. *J. Infect. Dis*, **180**: 1390.
- PICHICHERO M, PAPA T, BLATTER M, MITCHELL D, KRATZ R, SNEED J, BASSILY E, CASEY J, GILMET G (2006). Immune memory in children previously vaccinated with an experimental quadrivalent meningococcal polysaccharide diphtheria toxoid conjugate vaccine. *Pediatr. Infect. Dis. J*, **25**: 995.
- RAGHAVENDRA L, SETTY DRL, RAGHAVAN R (1997). Haematological changes in sheep and goats experimentally infected with Vero cell adapted PPR virus. *Indian J Anim Sci*, **20**: 249
- RAJ GD, THIAGARAJAN V, CHANDRASEKHAR M, NAGARAJAN T, NACHIMUTHU K (2001). Production and characterisation of monoclonal antibodies to a Indian isolate of peste des petits ruminants virus. *Small Rum. Res*, **40**: 223-231.

- RAJ G D, KUMAR ASS, SHAILA M S, NACHIMUTHU K, PALANISWAMI KS (2003). Molecular epidemiology of peste des petits ruminants viruses from southern India. *Vet. Record*, **152**: 264-266.
- RAJAK K K, SREENIVASA BP, HOSAMANI M, SINGH RP, SINGH SK, SINGH R K, BANDYOPADHYAY SK (2005). Experimental studies on immunosuppressive effects of peste des petits ruminants (PPR) virus in goats. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis*, **28**: 287-296.
- RASHID A, HUSSAIN A, ASIM M (2010). Evaluation of peste des petits ruminants cell culture vaccine in sheep and goats in Pakistan. *Vet Ital*, **46(3)**: 315-318.
- RAUER S, BEITLICH P, NEUBERT U, RASIAH C, KAISER R (2001). Avidity determination of Borrelia burgdorferi-specific IgG antibodies in Lyme disease. *Scand J Infect Dis*, **33**: 809.
- RAY J, WHITTON L, FUJINAMI RS (1991). Rapid accumulation of measles virus leader RNA in the nucleus of infected HeLa cells and human lymphoid cells. *J. Virol*, **65**: 7041-7045.
- RENUKARADHYA GJ, SINNATHAMBY G, SETH S, RAJASEKHAR M, SHAILA MS (2002). Mapping of B-cell epitopic sites and delineation of functional domains on the hemagglutinin-neuraminidase protein of peste-des-petits ruminants virus. *Virus Res*, **90**: 171-185.
- RIMA BK (1983). The proteins of morbilliviruses. *J.Gen. Virol*, **64**: 1205-1219.
- ROBERTSON P, BEYNON S, WHYBIN R, BRENNAN C, VOLLMER-CONNA U, HICHIE I, LLOYD A (2003). Measurement of EBV-IgG anti-VCA avidity aids the early and reliable diagnosis of primary EBV infection. *J. Med. Virol*, **70**: 617-623.
- ROEDER PL, ABRAHAM G, KENFE G, BARRETT T (1994). Peste des petits ruminants in Ethiopian goats. *Tropical Animal Health and Production*, **26**: 69-73.
- RODKEY LS, FREEMAN M J (1970). Variations in the properties of rabbit antibodies during prolonged immunization by various routes with serum albumin in Freund's complete adjuvant. *Immunology*, **19**: 219-224.
- ROMERO CH, BARRETT T, CHAMBERLAIN RW, KITCHING RP, FLEMING M, BLACK DN (1994). Recombinant capripoxvirus expressing the haemagglutinin protein gene of rinderpest virus: protection of cattle against rinderpest and lumpy skin disease. *Virology*, **204**: 425-9.

- ROSSITER PB, JESSET DM, TAYLOR W P (1985). Microneutralisation system for use with different strains of peste des petits ruminants virus and rinderpest virus. *Trop. Anim. Hlth. Prod*, **17**: 75-81.
- ROSSITER P B (1994). Rinderpest. In: Infectious Diseases of Livestock with Special Reference to South Africa. J. A. W. Coetzer, G. R. Thompson, R. C. Tustin, N. P. Kriek. Oxford University Press, Cape Town. **2**: 735-757.
- ROULSTON A, MARCELLUS RC, BRANTON PE (1999). Viruses and apoptosis. *Annu Rev Microbiol*, **53**: 577-628.
- SAHINDURAN S, ALBAY MK, SEZER K, OZMEN O, MAMAK N, HALIGUR M, KARAKURUM C, YILDIZ R (2012). Coagulation profile, haematological and biochemical changes in kids naturally infected with peste des petits ruminants. *Trop Anim Health Prod*, **44(3)**: 453-7.
- SALIKI JT, LIBEAU G, HOUSE A, MEBUUS C A, DUBOVI E J (1993). Monoclonal antibody based blocking ELISA for specific detection and titration of PPR virus antibody in caprine and ovine sera. *J. Clin. Microb*, **31(5)**: 1075-1082.
- SALIKI JT, BROWN CC, HOUSE JA, DUBOVI EJ (1994). Differential immunohistochemical staining of peste des petits and rinderpest antigen in formalin-fixed, parafin embedded tissue using monoclonal and polyclonal antibodies. *J. Vet. Diagn. Invest*, **6**: 96-98.
- SARAVANAN P, SEN A, BALAMURUGAN V, RAJAK KK, BHANUPRAKASH V, PALANISWAMI KS, NACHIMUTHU K, THANGAVELU A, DHNAKARRAJ G, HEGDE R, SNGH RK (2010). Comparative efficacy of peste des petits ruminants (PPR) vaccines. *Biologicals*, **38(4)**: 479-485.
- SATO TA, KOHAMA T, SUGIURA A (1988). Intracellular processing of measles virus fusion protein. *Arch. Virol*, **98**: 39-50.
- SCHEID A, CHOPPIN PW (1974). Identification of biological activities of paramyxovirus glycoproteins. Activation of cell fusion, hemolysis, and infectivity by proteolytic cleavage of an inactive precursor protein of Sendai virus. *Virology*, **57**: 475-490.
- SCOTT GR (1981). Rinderpest. In: Infectious Diseases of Wild Animals. Davis J.W., Karstad L.H. and Trainer D.O. (eds). *Infectious Diseases of Wild Animals*, **2**: 18-30.
- SCOTT GR (1990). Peste des petits ruminants (Goat plaque) virus. In: Virus Infections of Ruminants. Edd: Z. Dinter, B. Morein, Elsevier Science Publisher, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, chapter, **33**: 355-361.

- SEN A, SARAVANAN P, BALAMURUGAN V, RAJAK KK, SUDHAKAR SB, BHANUPRAKASH V, PARIDA S, SINGH RKB (2010). Vaccines against peste des petits ruminants virus. *Expert Rev Vaccines*, **7**: 785-9.
- SIDDIQUE MP, RAHMAN MB, CHOWDHURY SMZH, KAFI MA, ALAM MS (2006). Determination of efficacy of thermostable ppr live homologous vaccine incubated at room temperature for 14 days. *Bangladesh J. Vet. Med*, **4**: 43-46.
- SINNATHAMBY G, NAIK S, RENUKARADHYA GJ, RAJASEKHAR M, NAYAK R, SHAILA MS (2001). Recombinant hemagglutinin protein of rinderpest virus expressed in insect cells induces humoral and cell mediated immune responses in cattle. *Vaccine*, **19**: 3870-3876.
- SISKIND GW, BENACERRAF B (1969). Cell selection by antigen in the immune response. *Adv. Immunol*, **10**:1-50.
- SREENIVASA BP, DHAR P, SINGH RP, BANDYOPADHYAY SK (2000). Evaluation of an indigenously developed homologous live attenuated cell culture vaccine against peste des petits ruminants infection of small ruminants. Abstract in the proceedings of "XX Annual Conference of Indian Association of Veterinary Microbiologists, Immunologists and Specialists in Infectious Diseases", p 84, Pantnagar, India, 14-16 october 2000.
- SERGENY MA, REDA IM, SARKER EE, ABOUROWASH AA (1992). Pathology of PPR in sheep in Egypt. *J. Comp. Pathol*, **5**: 25-39.
- SHAILA MS, PURUSHOTHAMAN V, BHAVASAR D, VENUGOPAL K, VENKATESAN RA (1989). Peste des petits ruminants of sheep in India. *Vet. Record*, **125**: 602.
- SHAILA MS, DAVID S, FORYTH MA, DIALLO A, GOATLEY L, KITCHING RP, BARRET T (1996). Geographical distribution and epidemiology of PPR viruses. *Virus Research*, **43**: 149-153.
- SINGH RP, SREENIVASA BP, DHAR P, SHAH LC, BANDYOPADHYA Y (2004). Development of a monoclonal antibody based competitive-ELISA for detection and titration of antibodies to peste des petits ruminants (PPR) virus. *Vet. Microbiol*, **98 (1)**: 3-15.
- SINNATHAMBY G, RENUKARADHYA GJ, RAJASEKHAR M, NAYAK R, SHAILA MS (2001). Immune responses in goats to recombinant hemagglutinin-neuraminidase glycoprotein of Peste des petits ruminants virus: identification of a T cell determinant. *Vaccine*, **19(32)**: 4816-4823.

- SOUZA VA, PANNUTI CS, SUMITA LM, ANDRADE HF (1997). Enzyme-linked immunosorbent assay-IgG antibody avidity test for single sample serologic evaluation of measles vaccines. *J. Med. Virol*, **52**: 275-279.
- STRASEK K, MARIN J (2001). Epstein-Barr Virus infections–avidity test for IgG antibodies. *Zdrav Vestn*, **70**: 321-3.
- SUMPTION K J, ARADOM G, LIBEAU G, WILSMORE AJ (1998). Detection of peste des petits ruminants virus antigen in conjunctival smears of goats by indirect immunofluorescence. *Vet. Rec*, **142(16)**: 421-424.
- TATAR N (1998). Koyun ve keçilerde küçük ruminantların vebasi ve sigir vebasi enfeksiyonlarının serolojik ve virolojik olarak araştırılması. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- TATAR N, ALKAN F (1999). Koyun ve keçilerde küçük ruminantların vebasi (peste des petits ruminants) ve sığır vebasi enfeksiyonlarının serolojik ve virolojik olarak araştırılması. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, **10**: 35-60.
- TATAR N, KABAKLI Ö (2006). Türkiye'de Üretilen PPR Aşısının Bağışıklık Süresinin Tespiti. *Etlik Vet Mikrob Derg*, **17**:13-22.
- TAYLOR WP (1984). The distribution and epidemiology of peste des petits ruminants. *Prev. Vet. Med*, **2**: 157-166.
- TAYLOR WP, ABUSAIDY S, BARRET T (1990). The epidemiology of PPR in the Sultanate of Oman. *Vet. Micro*, **22**: 341-352.
- TAYLOR WP, DIALLO A, GOPALAKRISHNA S, SREERAMALU P, WILSMORE AJ, NANDA YP, LIBEAU G, RAJASEKHAR M, MUKHOPADHYAY AK (2002). Peste des petits ruminants has been widely present in southern India since, if not before, the late 1980s. *Prev Vet Med*, **52(3-4)**: 305-12.
- THOMAS HIJ, MORGAN-CAPNER P, ENDERS G, CALDICOTT D, BEST JM (1992). Persistence of specific IgM and low avidity specific IgG₁ following primary rubella. *J Virol Methods*, **39**: 149-155.
- TOPLU N (2004). Characteristic and non-characteristic pathological findings in peste des petits ruminants (PPR) of sheep in the Ege district of Turkey. *J Comp Pathol*, **131**: 135-141.

- TOUKKO H (1995). Detection of acute measles infections by indirect and u-capture enzyme immunoassays for immunoglobulin M antibodies and measles immunoglobulin G antibody avidity enzyme immunoassay. *J Med Virol*, **45**: 306-311.
- TURAN HM, OZAN E, ALBAYRAK H, CAVUNT A, MEMİŞ YS (2012). Efficiency of three PPRV vaccines commercially available in Turkey. *Atatürk Üniv Vet Bil Derg*, **7(1)**: 1-6.
- VAN RIEL D, LEIJTEN LM, VAN DER EERDEN M, HOOGSTEDEN HC, BOVEN LA, LAMBRECHT BN, OSTERHAUS AD, KUIKEN T (2011). Highly pathogenic avian influenza virus H5N1 infects alveolar macrophages without virus production or excessive TNF-alpha induction. *PLoS Pathog*, **7(6)**:e1002099
- WALPITA P (2004). An internal element of the measles virus antigenome promoter modulates replication efficiency. *Virus Res*, **100**: 199 -211.
- WANG Z, BAO J, WU X, LIU Y, LI L, LIU C, SUO L, XIE Z, ZHAO W, ZHANG W, YANG N, LI J, WANG S, WANG J (2009). Peste des petits ruminants virus in Tibet, China. *Emerg Infect Dis*, **15**: 299-301.
- WANG Q, DOU Y, YANG X, MENG X, ZHAI J, ZHU X, LUO X, CHEN L, CAI X (2013). Prokaryotic expression of F protein from PPRV and characterization of its polyclonal antibody. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*, **32**: 26-31.
- WARD KN, GRAY JJ, FOTHERINGHAM MV, SHELDON MJ (1993). IgG antibodies to human herpesvirus-6 in young children: Changes in avidity of antibody correlate with time after infection. *J Med Virol*, **39**: 131-138.
- WARD KN, TURNER DJ, PRADA XC, THIRU, CHELVAM AD (2001). Use of IgG antibody avidity for differentiation of primary Human Herpesvirus 6 and 7 infections. *J Clin Microbiol*, **39**: 959-63.
- WEISSBRICH B (1998). The use of semi-automated EBV IgG avidity determination for the diagnosis of infectious mononucleosis. *J Med Virol*, **54**: 145-53.
- WOHLSEIN P, WAMWAYI HM, TRAUTWEIN G, POHLENZ J, LIESS B, BARRETT T (1995). Pathomorphological and immunohistological findings in cattle experimentally infected with rinderpest virus isolates of different pathogenicity. *Veterinary Microbiology*, **44**: 141-147.
- WOSU LO (1994). Current status of peste des petits ruminants (PPR) disease in small ruminants-a review article *Stud. Res. Vet. Med*, **2**: 83-90.

- YADAV V, BALAMURUGAN V, BHANUPRAKASH V, SEN A, BHANOT V, VENKATESAN G, RIYESH T, SINGH RK (2009). Expression of Peste des petits ruminants virus nucleocapsid protein in prokaryotic system and its potential use as a diagnostic antigen or immunogen. *J Virol Methods*, **162(1-2)**: 56-63.
- YARIM GF, NISBET C, YAZICI Z, GUMUSOVA SO (2006). Elevated serum total sialic acid concentration in shepp with peste des petits ruminants. *Medycyna Weterynaryjna*, **62**: 1375-1377
- YENER Z, SAĞLAM YS, TEMUR A, KELEŞ H (2004). Immunohistochemical detection of peste des petits ruminants viral antigens in tissues from cases of naturally occurring pneumonia in goats. *Small Rum. Res*, **51**: 273-277.
- YEŞİLBAĞ K, YILMAZ Z, GÖLCÜ E, ÖZKUL A (2005). Peste des petits ruminants outbreak in Western Turkey. *Vet Rec*, **27**: 260-261.
- ZACHOU K, LIASKOS C, RIGOPOULOU E, GABETA S, PAPAMICHALIS P, GATSELIS N, GEORGIADOU S, DALEKOS GN (2006). Presence of high avidity anticardiolipin antibodies in patients with autoimmune cholestatic liver diseases. *Clin. Immunol*, **119**: 203.
- ZLAMY M, WÜRZNER R, HOLZMANN H, BRANDSTÄTTER A, JELLER V, ZMMERHACKL LB, PRELOG M (2010). Antibody dynamics after tick-borne encephalitis and measles-mumps-rubella vaccination in children post early thymectomy. *Vaccine*, **28**: 8053.
- ZHANG GR, ZENG JY, ZHU YM, DONG SJ, ZHU S, YU RS, DUOJI C, LEI ZH, LI Z (2012). Development of an indirect ELISA with artificially synthesized N protein of PPR virus. *Intervirology*, **55**: 12-20.

EKLER

Ek-1. Etik Kurulu Kararı

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ

TOPLANTI TARİHİ : 03/08/2016
TOPLANTI NO : 2016-16
DOSYA NO : 2016-111
KARAR NO : 2016-16-152

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Aykut Özkul'un yaptığı, araştırmacı olarak Vet.Hek.Hiba Hashim Mohammad Ali'nin katıldığı "Koyun Sürülerinde PPR Virus Aşılması Sonrası Sıvısal Bağışık Yanıtın Değerlendirilmesi" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiş olup, söz konusu çalışmanın Üniversite Senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi"nin 7. maddesinin (h) fıkrası kapsamında ele alınmış olup, çalışmanın Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu iznine tabi olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

ASLININ AYNIDIR

03/08/2016



Prof.Dr.M.Taner KARAOĞLU
A.Ü. HADYEK Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Ad : HIBA HASHIM MOHAMED
Soyadı : ALI
Doğum Yeri ve Tarihi : Sudan, 20/09/1978
Uyruğu : Sudan
Medeni Durumu : Evli ve 3 çocuk annesiyim
İletişim Adresi : Ankara Üniversitesi Keçiören Yerleşkesi,
Tepebaşı Mah. Fatih cd. NO: 197A
E-posta : hibaziada18@gmail.com
GSM : +90 505 004 19 78

II. Eğitimi

Lisansüstü : Khartoum Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji
Anabilim dalı
Lisans : Khartoum Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Sudan
Ana Dili : Arapça
Yabancı Diller : İngilizce, Türkçe

III. Meslek Deneyimi

Bilimsel Araştırmacı-Veteriner Araştırma Enstitüsü/ Viroloji bölümü /Sudan (2007-2012).

Veteriner Hekim - Elkadaro İhracat Kesimhanesi/Sudan (2005-2007).

Yayınları

- Farzani T A, Hanifehnezhad A, Foldes K, Ergunay K, Yilmaz E, **Ali H H M**, Ozkul A (2019). Co-delivery Effect of CD24 on Immunogenicity and Lethal Challenge Protection of a DNA vector Expressing Nucleocapsid Protein of Crimean Congo Hemorrhagic Fever Virus. *Viruses*, 11, 75; doi:10.3390/v11010075.
- Hacıoğlu S, **Ali H H M**, Akyol A, Yilmaz E, Ergunay K, Ozkul A (2015). Perinatal West Nile Virus Infection in a Foal in Turkey. Xth International Congress for Veterinary Virology, 9th Annual Meeting of EPIZONE. August 31th - September 3rd 2015, Le Corum, Montpellier, France.
- Raouf Y A, Ali B H, El Amin M A, Shallalie A M, **Ali H H M**, Habiela M (2010). Laboratory Investigation of Three Outbreaks of Foot-And-Mouth Disease At Central Sudan And The Disease Type Situation. *Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr.*, **58**: 308-314.