

A.Ü.Veteriner Fakültesi Viroloji Kürsüsü
Prof. Dr. Selahattin Gürlürk

KOYUNLARDA ABORT YAPAN ORBİVİRUSLARA DAHİL BİR SEROTİPİN ÖZELLİKLERİ İLE TÜRKİYE'DEKİ DURU- MU ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR*

İbrahim Burgu**

**Untersuchungen über die Eigenschaften der Serotype eines
Orbivirus, das Abort bei Schafen hervorruft und seine Verbrei-
tung in der Türkei.**

Zusammenfassung: In dieser Arbeit wurden Eigenschaften und verursachende Krankheiten eines Virus (Ankara virus), das in der Virus-klassifikation noch nicht eingegliedert worden ist, beim Schaf in der Türkei untersucht.

1- In Infektiositätsversuchen wurde das Virus als pathogen erkannt wegen der Aborte bei Schaf, Kaninchen und Meerschweinchen nach der Infektion.

2- Bei der Nukleinsäure handelte es sich um die RNS. Das Virus war gegenüber Aether und Chloroform empfindlich. Im Wärmeempfindlichkeitstest mit 2M Mg Cl₂- Lösung erwies sich das Virus als sehr widerstandsfähig.

3- Das Virus vermehrt sich am besten in der MDBK-Zellkultur.

4- Wegen der morphologischen und der bereits beschriebenen Eigenschaften wurde das Virus in der Virusklassifikation als neuer Serotype in die Familie "Reovirus, Genus "Orbivirus" eingegliedert.

5- Insgesamt wurden 767 Seren, die in verschiedenen Gebieten gesammelt worden sind, mit dem Mikroneutralisationstest untersucht; 69 davon (8.9 %) reagierten positiv.

Özet: Klasifikasyondaki yeri belirtilmemiş olan virusun (Ankara Virusu) özelliklerini saptamak ve bu virustan ileri gelen hastalığın Türkiye'deki koyunlarda durumunu tesbit etmek amacı ile yapılan bu çalışmada;

*Doçentlik tezinden özetlenmiştir

**Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji Kürsüsü Ankara/Türkiye

1- *Virusun gebe koyun, tavşan ve kobaylar üzerinde yapılan enfeksiyözite denemelerinde abort meydana getirdiği ve patojen bir virus olduğu anlaşılmıştır.*

2- *Virusun nükleik asit olarak RNA kapsadığı, eter ve kloroform'a hassas olduğu ve 2M MgCl₂ ile muamele edildikten sonra ısıdan etkilenişinin çok azaldığı tesbit edilmiştir.*

3- *Virusun en iyi MDDBK doku kültüründe ürediği anlaşılmıştır.*

4- *Gerek bu özelliklerin ışığı altında ve gerekse virusun morfolojik özellikleri ile virus klasifikasyonunda, Reovirus familyasının, Orbivirus cinsi içinde yeni serotip olarak düşünülebileceği kanısına varılmıştır.*

5- *Çeşitli yerlerden toplanan 767 kan serumu ile yapılan mikronötralizasyon testi sonunda 69 adet serumda (% 8.9) bu virusa karşı antikorun varlığı saptanmıştır.*

Giriş

Uluslararası Viroloji Kongrelerinde virus gruplarının ayırımında kriterler şu şekilde saptanmıştır(23).

- 1- Nükleik asit tipi
- 2- Partikülün ultrastrüktürü
- 3- Zar veya zarfın mevcudiyeti
- 4- Büyüklüğü

Virusların taksonomisi ve nomenklatürü ile ilgili çalışmalarda Becker (2) dört özelliği kapsayan bir şema ortaya koymuştur.

- a) Nükleik asitin tipi (DNA veya RNA)
- b) Strüktürü (tek veya çift iplikçikli olduğu)
- c) Şekli
- d) Molekül ağırlığı

Kürsümüzde izole edilen ve Ankara Virusu (11) olarak adlandırılan virusun klasifikasyondaki yerini saptamak için gerekli araştırmalar Wilner'in (29) bildirdiği aşağıdaki taksonomik esaslar içinde yapılmıştır.

- 1- Nükleik asit tipi
- 2- Nükleik asit yapısı
- 3- Nükleik asitin diğer karakterleri
- 4- Virus partikülünün form ve strüktürü
- 5- Virus partikülünün büyüklüğü

- 6- Yağ eriticilere karşı duyarlılık
- 7- Yağ eriticilerin dışında diğer fiziksel ve kimyasal ajanlara duyarlılığı
- 8- Doku kültürlerine olan affinitesi
- 3- Antijenik özellikleri

Son yıllarda yayınlanan virus sınıflandırma listesine göre viruslar kapsadıkları nükleik asit türü yönünden iki ana grupta ve alfabetik sıra esasına göre klasifiye edilmişlerdir (26).

Orbivirüsler 1970 yılında yayınlanan listede Reovirüsler içinde düşünülmüşlerdir. Fakat sonra asit ve yağ eriticilerine olan duyarlılığı ve serolojik özellikleri ile gerçek Reovirüslardan ayrılıp Orbivirüsler olarak isimlendirilmişlerdir (3, 26).

Orbivirüsler gerçek Reovirüslardan temelde asite olan dayanıksızlıkları, yağ eriticilerine olan hassasiyetleri ve serolojik özelliklerinin farklılık göstermesi ile ayrılırlar (3, 26).

Fakat bir başka yayında da Orbivirüslerin etere dayanıklı arbovirüslerden oluştuğu bildirilmektedir. (13).

Orbivirüsler ikozahedral simetri gösterirler. Zarsızdırlar. Büyüklükleri 60-70 milimikron civarındadır.

Virusların sınıflandırılmasında gözönünde bulundurulmuş kriterlerin başında nükleik asit tipi gelmektedir.

Bunu saptayabilmek için de virusların doku kültürlerinde desoxyüridinli halojen preparatları ile muamele edilmeleri gerekir. Bu preparatlar desoxyribonükleik asit içinde bulunan thymidin'in sentezlenmesini inhibe ederek desoxyribonükleik asit kapsayan virusun çoğalmasını önlerler (18, 20, 21).

Yapılarında lipid kapsayan viruslar yağ eriticileri ile muamele edildiklerinde lipid zarlarının parçalanması nedeniyle enfeksiyözite güçlerini kaybederler. Çeşitli araştırmacılar yaptıkları araştırmalarda virusların bu özelliklerini ayrı ayrı saptamışlardır (1, 4, 8, 17, 22).

Farklı pH derecelerindeki ortamlarda virusların dayanıklılıkları da önemli kriterlerden biridir (12, 18).

Virusların sınıflandırılmalarında, fizikokimyasal özelliklerden tripsin ile muamelede enfeksiyözite gücünün değişip değişmediği (16, 27) ve çift değerli katyonik bileşiklerin ısı hassasiyeti üzerinde etkisinin araştırılması da önemli rol oynar.

Ayrıca bazı viruslarda (15, 18, 24) hemadsorbsiyon özelliği ve ve hemaglutinasyon özelliği (18) de sınıflandırmaya yardımcı faktörlerdendir.

Bazı viruslarla enfekte olan hücrelerde intranükleer veya intrastoplazmik inklüzyon cisimcikleri oluşur. Bu cisimcikler virusların idantifikasyonunda değer taşır. İtranükleer inklüzyon cisimciklerinin varlığı Cowdry (5) tarafından bildirilmiş ve virusların klasifikasyonunda bir kriter olarak kullanılmaya başlamıştır. Pereira (19) tarafından intranükleer inklüzyon cisimcikleri iki tip olarak ayırt edilmiştir.

Bu araştırma Ankara'nın Çankaya İlçesine bağlı Bezirhan Köyü koyunlarında 1972 yılı ilkbaharında yavru atma ve yeni doğan kuzularda ölümlere sebep olan salgın hastalık esnasında kürsümüze hasta olarak getirilen ve doğumdan üç gün sonra ölen bir kuzunun iç organlarından izole edilen virusun (11) özellikleri ile virus klasifikasyonundaki yerini araştırmak ve bu hastalığın Türkiye'de koyunlardaki yayılışını belirlemek amacı ile yapılmıştır.

Materyal ve Metod

Araştırmada virus olarak Ankara'nın Çankaya İlçesine bağlı Bezirhan Köyü'ne ait doğumdan 3 gün sonra ölen bir kuzunun iç organ süspansiyonundan dana testis hücrelerine yapılan ekimler sonunda kürsümüzde izole edilen virus ile kontrol viruslar olarak experimental enfeksiyon sonunda deneme hayvanlarından MDBK kültürlerinde izole edilen viruslar kullanıldı.

Nötralizasyon ve karşılıklı bağışıklık denemeleri için izole edilen virusa karşı tavşanlarda hazırlanan hiperimmün serum ile PIV-3 (SF₄) IBR (B₁) koyun adenovirus (tip 5) ve şap viruslarına karşı (Asia I, O₁, A-Ankara) hiperimmün ve pozitif serumlar kullanıldı.

Araştırmada hastalığın koyunlardaki yayılışını tesbit amacı ile toplam 767 adet şüpheli koyun kan serumu toplandı.

Doku kültürü denemelerinde dana ve kuzulardan hazırlanan primer ve sekonder testis ve böbrek doku kültürleri, civciv fibroblast kültürü ile MDBK, PK-15/ A, MS-21, He-la ve BHK devamlı doku kültürleri kullanıldı.

Araştırmada kullanılmak üzere üretilen ve -60°C da saklanan virusların enfeksiyözite güçlerinin saptanmasında Frey ve Liess'in (9) bildirdikleri teknikten yararlanıldı. Sonuçlar Karber (14) e göre hesaplandı.

Araştırmada kullanılan virusa karşı hiperimmün serum elde etmek için iki adet yeni Zelanda ırkı tavşan kullanıldı. Her iki tavşandan elde edilen hiperimmün serumların serum nötralizasyon değerleri (SN_{50}) mikronötralizasyon yöntemi ile saptandı.

Hastalığın koyunlardaki yayılışını saptamak amacı ile toplanan kan serumlarında virusa karşı antikor taramaları ve bu taramalar sonunda 1/4 sulandırmada pozitif çıkan serum numunelerindeki antikor titreleri için mikronötralizasyon tekniği uygulandı.

Araştırmada kullanılan virus ile bu virusa karşı tavşanlarda hazırlanan hiperimmün serumunun ve PIV -3, RPV, IBR ve şap virüslerine karşı hiperimmün ve pozitif serumların kontrolleri de yine aynı mikronötralizasyon yöntemi ile yapıldı.

İzole edilen virusun nükleik asit türü 5-Iodo-desoxyüridin ile tayin edildi. Yine virusun plak meydana getirme ve plak karakterinin tayininde Dulbecco'nun (7) bildirdiği yöntemden yararlandı.

İzole edilen virusun inklüzyon cisimciği oluşturup oluşturmadığı, hemaglutinasyon ve hemadsorbsiyon özelliği kapsayıp kapsamadığı yönünden de kontrolleri yapıldı. Ayrıca virusun fiziksel ve kimyasal özelliklerini saptamak amacı ile eter ve kloroform hassasiyet testi, tripsin duyarlılık testi, pH testi, ısı duyarlılık testi uygulandı ve iki değerli katyonların ısı hassasiyeti üzerinde olan etkisi (25) araştırıldı.

Virusun morfolojik yapısı elektronmikroskopla kontrol edilerek saptandı.

Virusun experimental olarak enfeksiyon meydana getirebilme yeteneği ise, gebe koyun, tavşan, kobay ve fareler üzerinde yapılan denemelerle araştırıldı. Experimental enfeksiyon denemeleri sonunda pozitif sonuç alınan olaylardan aynı virusun tekrar izolasyonu çalışmaları yapıldı.

Sonuçlar

Virusun çeşitli doku kültürlerinde üretilme denemelerinde primer ve sekonder doku kültürlerinin hepsinde 48-72 saat arasında değişen sürelerde tam sitopatolojik efekt meydana getirerek ürettiği halde civciv fibroblast kültürlerinde üremediği görüldü. Devamlı doku kültürlerinde virus yalnızca MDBK doku kültüründe tam sitopatolojik değişikliklerle karakteristik üreme gösterdi.

Virusun üreme gösterdiği doku kültürlerinde mikrotitrasyon yöntemi ile yapılan enfeksiyözite gücü tespitinde en yüksek titre MDBK

doku kültüründe ($DKID_{50} = 10^{6.6} / 1.0$ ml) ve en düşük titrede sekonder kuzu böbrek doku kültüründe ($DKID_{50} = 10^{5.0} / 1.0$ ml) saptandı.

Tavşanlarda hazırlanan hiperimmün serumun serum nötralizasyon değeri de $SN_{50} = 1 / 74$ olarak tesbit edildi.

Araştırmada kullanılan virusun neden olduğu enfeksiyonun Türkiye'deki koyunlarda yayılışını saptamak amacı ile toplanan 767 kan serumu üzerinde yapılan serum nötralizasyon denemelerinde toplam 69 adet (% 8.9) koyun serumunda virusa karşı $1 / 3,98$ ve daha yüksek titrelerde antikor olduğu saptandı.

Pozitif sonuç veren toplam 69 adet serum numunesi $1 / 3,98$ ile $1 / 251$ değerleri arasında antikor dağılımı gösterirken, en yüksek antikor düzeyine Ankara'nın Çubuk İlçesi'nin Kargın Köyünde rastlandı.

Araştırmamızda kullanılan virusa karşı çeşitli viral hastalıkların pozitif veya hiperimmün serumları ile yapılan serum nötralizasyon denemelerinde nötralizasyonun oluşmadığı görüldü.

Virusun diğer biyolojik özelliklerini saptamak amacı ile uygulanan yöntemlerde alınan sonuçlar ise şu şekilde tesbit edildi.

Virusun nükleik asit tipi 5 Iodo-2-desoxyüridin ile yapılan deneme sonunda ribonükleik asit olarak belirlendi.

Virusun plak meydana getirme ve plak karakterleri yönünden yapılan denemede, özellikle 10^{-4} ve 10^{-5} sulandırma basamaklarında gayet belirgin intermedier karakterde ve oldukça homojen yapıda plaklar oluşturduğu saptandı.

Virus MDBK doku kültürlerinde intranükleer veya intrasitoplazmik karakterde inklüzyon cisimciği oluşturmadı.

Hemaglutinasyon denemesi sonunda virusun kobay, tavşan, at sığır, koyun, fare, insan O grubu ve 1 günlük civciv eritrositlerini 60 dakika süre ile oda sıcaklığında ve 1 gece buz dolabında bekletmeden sonra hemaglutine etmediği görüldü.

Benzer negatif sonuç hemadsorbsiyon testi sonunda da alındı.

Virusun fizikokimyasal özellikleri ile ilgili olarak yapılan denemelerde eter ve kloroforma karşı dayanıksız olduğu, tripsin ile muamele sonunda virusun titresinin $DKID_{50} = 10^{6.5} / 1.0$ ml. den $DKID_{50} = 10^{4.6} / 1.0$ ml ye düştüğü yani tripsinin virusun enfeksiyozite gücünü tamamen ortadan kaldırmadığı yalnızca zayıflattığı tesbit edildi.

Virusun 3.0 ve 4.0 pH değerlerinde enfeksiyözite gücünü tamamen kaybettiği, pH 6.0 da enfeksiyözite gücünde azalma olduğu, en iyi aktivite gücünün pH 7.0-8.0 değerleri arasında olduğu saptandı.

İki ayrı seri halinde yapılan ısı hassasiyet testi sonucunda farklı ısı derecelerinde 30 dakika süre ile beklemede en yüksek titrenin -60°C da ($\text{DKID}_{50}=10^{6.2}/1.0\text{ml}$) en düşük titrenin $+4^{\circ}\text{C}$ da ($\text{DKID}_{50}=10^{4.0}/1.0\text{ml}$), 120 dakikalık bekleme sonunda en yüksek titrenin -20°C de ($\text{DKID}_{50}=10^{6.0}/1.0\text{ml}$) ve en düşük titrenin 22°C ve 37°C larda olduğu ($\text{DKID}_{50}=10^{5.5}/0.1\text{ml}$) olduğu tesbit edildi.

İki değerli katyonların ısı hassasiyeti üzerine olan etkisini saptamak amacı ile 2 M MgCl_2 ile yapılan denemede virusun 50°C da 1 saat tutulmakla enfeksiyözite gücünü kaybetmediği saptandı. ($\text{DKID}_{50}=10^{2.5}/1.0\text{ml}$).

Virusun morfolojik yönden yapılan elektron mikroskop kontrolünde yuvarlak yapıda ve oldukça kalın bir zar tabakası ile çevrili olduğu görüldü. 27.000 büyütmede yapılan ölçümlere göre virusun zarlı olarak büyüklüğü 200 milimikron, zar kalınlığı 40 milimikron ve zarsız büyüklüğü 80 milimikron olarak ölçüldü. (Resim 1).

Experimental enfeksiyon denemelerinde ise şu sonuçlar alındı.

Gebe koyunlarla yapılan enfeksiyon denemeleri sonunda, ilk yılda gebeliğin yaklaşık üçüncü ayında subkutan ve intravenöz yollardan ayrı ayrı enfekte edilen 5 koyundan yalnızca 2827 kulak nolu koyunda son inokulasyondan 15 gün sonra abort olayı görüldü. İkinci yıldaki denemede ise intravenöz yolla inokule edilen yaklaşık ikibuçuk aylık gebe 346-6 nolu koyunda inokulasyondan 5 gün sonra abort meydana geldi. (Resim 2). Bu koyun daha sonra kesilerek histopatolojik kontrole tabi tutuldu. Bu kontrol sonunda uterus, plasentada ve vaginada patolojik bozuklukların olduğu ve patolojik anatomik tanının metritis ve plasentitis nekrotikans olduğu saptandı. (Patolojik Anatomi Kürsüsünün 5.1.1977 gün ve 12 sayılı raporu).

Her iki yıldaki denemelerde de koyunlarda enfeksiyondan sonra belirli zamanlarda alınan kan serumlarında, inokule edilen virusa karşı $1/3.98$ ile $1/22.4$ değerleri arasında değişen antikor varlığı saptandı. Yine her iki yıldaki denemede normal doğum sonucu doğan kuzuların belirli zamanlarda alınan kan serumlarında virusa karşı $1/3.98-1/26.3$ değerleri arasında antikor varlığı tesbit edildi.

Gebe tavşanlarla yapılan enfeksiyon denemeleri sonunda intraperitoneal yolla enfekte edilen 4 tavşandan yaklaşık olarak on günlük gebe olanlardan bir adedi, enfeksiyondan 8 gün sonra abort yaptı. Yaklaşık 20 günlük gebe olanların her ikisi de abort meydana getirdi. Bunlardan biri inokulasyondan 4 gün, diğeri de 6 gün sonra abort yaptılar (resim 3). Yaklaşık 10 günlük gebe olan ve inokulasyondan 8 gün sonra abort meydana getiren tavşan kesilerek histopatolojik kontrole tabi tutuldu. Patolojik-anatomik teşhis olarak endometritis hemorrhagica saptandı. (Patolojik Anatomi Kürsüsünün 25. 4. 1977 gün ve 189 sayılı raporu).

Enfeksiyondan sonra tavşanların kan serumlarından virusa karşı yapılan antikor taramalarında yalnızca bir tavşanda 1 / 3.98 değerinde antikor varlığı tesbit edildi. Diğer bütün tavşanlarda ise doğum yapanlarda doğumdan sonra, abort yapanlarda abortu takiben alınan kan serumlarında antikora rastlanmadı.

Gebe kobaylarla yapılan enfeksiyon denemesi sonunda, toplam 5 kobaydan 3 ünde abort olayı görüldü. Denemede kullanılan bütün kobaylar (kontrol dahil) öldüler.

Ölen kontrol kobaylar ile subkutan olarak enfekte edilen ve inokulasyonu takibeden 20. günde abort meydana getiren III nolu kobayın yapılan histopatolojik incelemelerinde, kontrol kobayda önemli bozukluklar görülmedi. III nolu enfekte kobayda ise patolojik anatomik tanı olarak endometritis hemorrhagica tesbit edildi (Patolojik Anatomi Kürsüsünün 9.5.1977 gün ve 229 sayılı raporu).

Gebe farelerle yapılan enfeksiyon denemesi sonunda toplam 5 adet gebe farede abort olayına rastlanmadı.

Experimental enfeksiyonla abort meydana getirilen deneme hayvanlarından virus izolasyonu sonuçlarına göre, 346-6 nolu abort yapan koyunun iç organlarından, amnion sıvısından ve kotiledonlardan hazırlanan süspansiyonlardan MDBK doku kültürlerine yapılan ekimlerde yalnızca kotiledonlardan hazırlanan süspansiyondan üçüncü pasajda tam sitopatolojik efekt meydana getiren bir virus izole edildi.

Abort yapan tavşanlardan 10 günlük gebe tavşanın fütüslerinin iç organlarından toplu halde hazırlanan süspansiyondan MDBK doku kültürlerine yapılan ekimlerde üçüncü pasajda tam sitopatolojik efektle karakterize virus izolasyonu mümkün oldu. Ayrıca yine bu

tavşana ait fütuslardan birinin yavru zarlarından hazırlanan süspan-siyondan da MDBK doku kültürlerinde virus izole edildi.

Gebe kobaylardan ise 11 nolu kobayın fütuslarından, III nolu ana kobaydan ve IV nolu kobayın fütuslarından hazırlanan iç organ süspan-siyonlarından MDBK doku kültürlerinde virus izole edildi. Deneme hayvanlarından izole edilen virusların, araştırmamızda kullanılan virusa karşı tavşanda hazırlanan hiperimmün serumla MDBK doku kültürlerinde yapılan nötralizasyon testi uygulamaları-nın hepsinden pozitif sonuç alındı.

Tartışma

Klasifikasyonda yeri belirtilmemiş olan virusun özelliklerini saptamak ve bu virustan ileri gelen hastalığın Türkiye'deki koyunlarda durumunu tesbit etmek amacı ile yapılan bu araştırmada; kullanılan virusun klasifikasyondaki yerini saptamak amacı ile yapılan enfeksi-yözite denemelerinde virusun gebe koyunlarda, kobaylarda ve tavşanlarda abort yapan bir enfeksiyon meydana getirmesi patojen olduğunu ortaya koymuştur.

Nükleik asit tip tayini üzerinde yapılan araştırmalar bu virusun RNA kapsadığını göstermiştir. RNA kapsayan viruslardan hangi gruba dahil olduğunu saptamak amacıyla yapılan çalışmalarda bu virusun eter ve kloroforma dayanıksız olduğu saptanmakla RNA kapsayan viruslardan Orthomyxovirus, Paramyxovirus, Rhabdovirus, Togavirus, Leukovirus, Coronavirus ve Arenaviruslar (6) ile Orbi-viruslar (3, 26) grubundan olabileceği düşünülmüştür. Virusların klasifikasyonunda eter ve kloroform gibi yağ eriticileri dışında diğer fiziksel ve kimyasal özelliklerinin de gözönünde tutulması gerektiği hakkında çeşitli literatürler mevcuttur (12, 18). Özellikle yukarıda yağ eriticilerine karşı hassas oldukları belirtilen RNA kapsayan virus grup-larından Reovirus familyası dışında diğer bütün gruplar 2 M MgCl₂ ile muamele edildiklerinde 50°C da 60 dakika tutulmakla inaktive olmak-tadırlar (13). Fakat Reovirus familyası literatürlerde genellikle yağ eriticilerine dayanıklı viruslar olarak gösterilmektedir (10, 12, 28). Yalnız Reoviruslar içinde aside ve yağ eriticilerine olan hassasiyetleri ve serolojik özelliklerinin değişik olması ile Orbivirus cinsi adı altında bir grup viruslara virus klasifikasyonu içinde ayrı bir yer verilmiştir (3, 26).

Araştırmada özellikleri saptanan virusun aside dayanıksız oluşu, yağ eriticilerine hassasiyeti ve iki değerli katyonlarla muamelede ısıya

dayanıklı oluşu Reoviruslardan Orbivirus cinsi içinde yer alabileceği kanısını uyandırmıştır. Araştırmada kullanılan virusun bu biyolojik ve fizikoşimik özelliklerinden başka elektromikroskopta tesbit edilen morfolojik özellikleride bu virusun Reovirus grubu içinde yer alabileceğini kanıtlamaktadır.

Araştırmada kullanılan virusun yapmış olduğumuz incelemelere göre doku kültüründe inklüzyon cisimciği meydana getirmemesi ve aynı zamanda çeşitli orijinli eritrosit türleriyle yapılan hemagglütinasyon deneylerinde menfi sonuç vermesi ile yukarıda belirtilen özellikler bu virusun Reovirus grubunda Orbivirus olarak yer alan cins içinde yeni bir serotip olarak düşünülmesi gerektiği kanısını vermiştir.

Virusun ilk izole edildiği zaman yapılan çalışmalarda primer doku kültürü olarak dana ve kuzu böbrek ve testis hücrelerinde üretildiği belirtilmiş, fakat bu doku kültürlerindeki karşılıklı titre değerleri saptanmamıştır (11). Bundan başka virusun üreyebileceği bir devamlı doku kültürü de bu çalışmada kullanılmamıştır.

Virusun doku kültürlerinde enfeksiyözitesi üzerinde yaptığımız çalışmada, virus koyun orijinli olmasına rağmen en yüksek enfeksiyözite titresine MDBK hücresinde rastlanmış ve yüksek titreyi kuzu testis doku kültüründe yapılan üretmeler izlenmiştir.

Bundan başka bizden önceki araştırmacıların (11) belirttiğine göre tavşanlarda yapılan enfeksiyözite denemelerinde müsbet bir sonuç alınmadığı halde biz tavşanlarda yapmış olduğumuz enfeksiyon denemelerinde yaklaşık 10 günlük ve 20 günlük gebe tavşanlarda abort ile sonuçlanan müsbet sonuçlar almış bulunuyoruz. İki araştırma sonucu arasındaki bu fark virusun değişik doku kültürlerinde üretilmesi ve belki de inoküle edilen virusun enfeksiyözite titresininin değişik olmasından ileri gelebilir. Ancak bizim çalışmamızda tavşanlara inoküle edilen virus titresini belirli olduğu halde önceki araştırmacıların (11) inoküle ettikleri virus titresini saptamamış olmaları farkın nedenini aydınlatma olanağı vermemektedir.

Aynı şekilde koyunlar üzerinde yapılan enfeksiyon denemelerinde de daha önce yapılan çalışmada (11) sadece bir derece yükselmesi görüldüğü ve fakat gebe koyunların normal doğum yaptığı belirtilmediği halde biz araştırmalarımızda koyunlarda yaptığımız enfeksiyon denemelerinde abort yapan enfeksiyonları oluşturduğumuz gibi enfekte koyunların kan serumlarında inoküle edilen virusa karşı özel antikor meydana geldiğini de saptamış bulunuyoruz.

Koyunlarda yapılan enfeksiyon denemelerinde enfekte koyunların kotiledonlarından virus tekrar izole edilmiş ve izole edilen bu virusun tavşanlarda orijinal virusa karşı hazırlanmış olan hiperimmün serumla nötralize olduğu böylece enfeksiyon etkeninin hasta koyunlardan tekrar izole edildiği ortaya konulmuştur.

Tavşan ve kobaylarda yapılan enfeksiyon denemelerinde de aynı şekilde enfekte hayvanlardan virus izole edilmiştir.

İlk çalışmada (11) yapılmamış olan elektronmikroskopi çalışmaları ilk defa tarafımızdan yapılmıştır.

Reovirus familyasının Orbivirus grubu içinde yeni bir serotip olarak nitelendirebildiğimiz bu virusun meydana getirdiği hastalığın Türkiye'de koyunlardaki durumunu saptamak amacıyla Ankara'ya bağlı çeşitli ilçelerin, koyunlarında yavru atma ihbar edilen 6 köyü ile, Ankara mezbahası ve koyunlarında yavru atma olmadığı kesin olarak bilinen 3 kamu kuruluşundan toplam 767 serum üzerinde endirekt teşhis yöntemleri uygulanmıştır.

Ankara mezbahasından sağlanan 255 serumun mikronötralizasyon testi ile yapılan antikor taramasında sadece 4 tanesinde pozitif sonuç alınmıştır. Bu durum bize Türkiye'de hastalıklı, ya da hastaliksız olduğu belirli olmayan çeşitli bölgelerdeki koyunlarda yaklaşık olarak % 1,5 oranında bu hastalığa karşı antikor bulunduğunu göstermektedir.

Koyunlarda yavru atma ihbarı yapılan köylerdeki abort yapmış 53 koyuna ait kan serumlarından nötralizasyon testi ile 35 (% 66) adet serumda pozitif sonuç alınmıştır. Aynı köylerden normal doğum yapmış veya gebe olan koyunlardan toplanan kan serumunda ise nötralizasyon testi 27 (% 16) serumda pozitif çalışmıştır.

Genel olarak hastalığın Türkiye'deki durumunu saptamak için sadece birkaç bölgeden toplanan kan serumları ile araştırmanın yapılması kesin kanaat edinme bakımından yetersiz sayılabilir. Ancak araştırmada kullanılan 767 kan serumuna ait hayvanların hastalık yönünden bir kısmı belirsiz, bir kısmı kesin olarak hastaliksız ve üçüncü kısmı da yavru atma ihbarı ile bilinen bölgelere ait olduğu için koyunlardaki yavru atma vakalarında bu hastalığın önemi hakkında yapılan endirekt teşhis yöntemi bize az veya çok yeterli bir bilgi vermiştir.

Hastalığın Türkiye'deki genel durumunu, diğer bir deyimle koyunlarda abort yapan hastalıklar içerisinde Türkiye'de bu enfeksi-

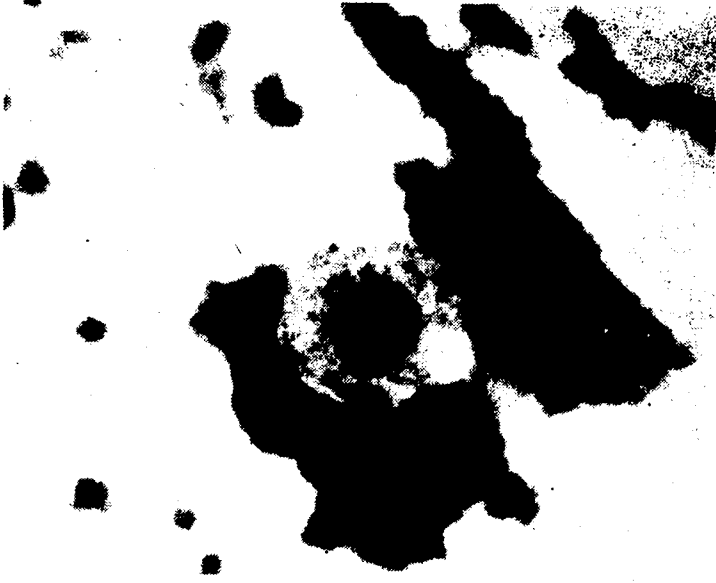
yonun yerini daha kesin olarak saptayabilmek için geniş ve bölgesel bir tarama araştırmasının yapılması gerektiğini önerebiliriz.

Literatür

- 1- **Andrewes, C. H. and Horstmann, D. M.** (1949): *The susceptibility of viruses to ethyl ether.* J. Gen. Microbiol., 3, 290-297.
- 2- **Becker, Y.** (1966): *An approach to the organization and classification of vertebrate viruses.* Nature, 210, 1019-1021.
- 3- **Borden, E. C., Shope, R. E. and Murphy, F. A.** (1971): *Physicochemical and morphological relationships of some Arthropod Borne viruses to Bluetongue Virus-A new taxonomic group. Physicochemical and serological studies.* J. Gen. Virol., 13, 261-271.
- 4- **Cooper, P. D.** (1961): *A chemical basis for classification of animal viruses.* Nature, 190, 302-305.
- 5- **Cowdry, E. V.** (1934): *The problem of intranuclear inclusions in virus diseases.* Arch. Pathol., 18, 527-542.
- 6- **Cruickshank, R., Duguid, J. P., Marmion, B. P. and Swain, R. H. A.** (1975): *Medical Microbiology.* Vol. one-Microbial Infection 12. Edition. Churchill Livingstone, Edinburg and London, 176-233; 407-512.
- 7- **Dulbecco, R.** (1952): *Production of plaques in monolayer tissue culture by single particles of an animal viruses.* Proc. Nat. Acad. Sci., 38, 747-752.
- 8- **Feldman, H. A. and Wang, S. S.** (1961): *Sensitivity of various viruses to chloroform.* Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 106, 736-740.
- 9- **Frey, H. R. und Liess, B.** (1971): *Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit einer stark zytopathogenen VD-MD-Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotiter-Methode.* Zbl, Vet. Med., 18, 61-71.
- 10- **Gomates, P. J., Tamm, Z., Dales, S. and Franklin, R. M.** (1962): *Reovirus type 3: Physical characteristics and interaction with L. cells.* Virology, 17, 441-454.
- 11- **Gürtürk, S. ve Finci, E.** (1973): *Abort olmuş bir kuzudan izole edilmiş bir virus (Ankara Virusu) üzerinde araştırmalar.* IV. Bilim Kongresi, 5-8 kısım, Ankara.

- 12- **Hamparian, V. V., Hilleman, M. R. and Ketler, A.** (1963): *Contributions to characterization and classification of animal viruses.* Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 112, 1040-1050.
- 13- **Jawetz, E., Melnick, J. and Adelberg, E. A.** (1976): *Review of Medical Microbiology*, 12. Edition. Lange Medical Publications, U.S.A., 289-491.
- 14- **Kaerber, G.** (1964): *In diagnostic procedures for virus and rickettsial disease.* Public Health Assn. (New-York) 3, 48-50.
- 15- **Malik, H. A.** (1975): *Türkiye'de sığırlarda Parainfluenza-3 hastalığı üzerinde araştırmalar.* Doktora tezi. A.Ü. Veteriner Fakültesi, Ankara.
- 16- **Matheka, H. D., Mayr, A. and Bögel, K.** (1962): *Die Trypsin Resistenzprüfung zur differenzierung kleiner Chloroform stabiler Virusarten.* Zbl. Bakt. I. Org., 187, 137-143.
- 17- **Mayr, A. und Bögel, K.** (1961): *Der chloroform-Resistenztest zur Isolierung und Charakterisierung von Enteroviren.* Zbl. Bakt. I. Org., 182, 564-570.
- 18- **Mayr, A., Bachman, P. A., Bibrack, B. und Wittmann, G.** (1974): *Virologische Arbeitsmethoden Bd. I.* Gustav Fischer Verlag-Stuttgart, Seite, 666.
- 19- **Pereira, H. G.** (1961): *The cytopathic effect of animal viruses.* Adv. Virus Res., 8, 245-285.
- 20- **Plowright, W., Brown, F. and Parker, J.** (1966): *Evidence for the type of nucleic acid in African swine fever virus.* Arch. ges. Virusforsch., 19, 289-304.
- 21- **Tamm, I. and Eggers, H. J.** (1963): *Specific inhibition of replication of animal viruses.* Science, 142, 24-33.
- 22- **Theiler, M.** (1957): *Action of sodium desoxycholate on arthropodborne viruses.* Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 96, 380-382.
- 23- **Virus Subcommittee of International Nomenclature Committee** (1963): *Recommendation on virus nomenclature.* Virology, 21, 516-517.
- 24- **Vogel, J. and Shelokov, A.** (1957): *Adsorption hemagglutination test for influenza virus in monkey kidney tissue culture.* Science, 126, 358-359.

- 25- **Wallis, C. and Melnick, J. L.** (1962): *Cationic stabilization-A new property of enteroviruses.* Virology, 16, 504-506.
- 26- **Western Hemisphere Committee on Animal Virus Characterization** (1975): *An updated listing of animal reference virus recommendations.* Amer. J. Vet. Res., 36, 861-872.
- 27- **Wild, T. F. and Brown, F.** (1967): *Nature of inactivating action of trypsin on foot and mouth disease virus.* J. Gen. Virol., I, 247-250.
- 28- **Wildy, P.** (1971): *Monographs in Virology. Vol. 5. Classification and nomenclature of viruses.* S. Karger, AG, Basel, pp. VIII-81.
- 29- **Wilner, I. B.** (1969): *A classification of the major groups of human and ether animal viruses.* 1-94. Burgess Publish. Comp., U.S.A.



Resim 1. Virusun Zeiss EM-9S elektronmikroskopi ile görünümü.
(Phosphor Wolfram asidi ile boyama X 135.000)



Resim 2. 346.6 no'lu koyundan abort olan fötüs.



Resim 3. Yaklaşık 10 günlük gebe tavşandan inokulasyondan 8 gün sonra abort olan fötüs.

Yazı 8.11.1979 günü alınmıştır.