

SIĞIR ADENOVİRUSLARINDA (Tip 1- Tip 2- Tip 3) SEROLOJİK
REAKSİYONLARLA TİP AYRIMI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR*

Asuman Toker**

**Recherches sur la distinction de type par les réactions sérologiques (Type 1,
Type 2, Type 3) chez les adéno-virus bovins.**

Résumé: *L'objet de cette recherche est d'employer les techniques de micro-neutralisation et de fixation du complément et d'expérimenter la technique single radial haemolysis sur la distinction des types dans les sérums hyperimmuns contre l'adéno-virus bovin types : 1,2,et 3.*

1. *On ne peut pas employer la technique de micro-neutralisation dans la distinction de l'adéno-virus bovin types 2 et 3, par contre, cette technique peut être employée dans la distinction de type 1 d'adéno-virus bovin et entre les deux autres types d'adéno-virus.*

2. *Du fait que les types d'adéno-virus possèdent un antigène de fixation du complément dissoluble pareil, la technique de fixation du complément employé dans le diagnostic des infections adéno-virales ne peut pas être employé dans la distinction d'adéno-virus bovin types : 1,2 et 3.*

3. *On doit encore de faire des recherches approfondies sur la distinction des types et sur le diagnostic par la technique single radial haemolysis de l'adéno-virus bovin types : 1,2 et 3.*

Özet: *Siğır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3'e karşı hiperimmun serumlarda tip ayrımı üzerinde mikro-nötralizasyon ve komplement fikzasyon testlerinin kullanılması ve single radial hemolizis testinin denenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada :*

1. *Mikro-nötralizasyon testinin siğır adenovirus tip 2 ve tip 3'ün tip ayrımında kullanılamayacağı, buna karşılık bu testin adenovirus tip-1 ile diğer iki adenovirus tipi arasında tip ayrımında kullanılabileceği,*

* Doktora tezinden özetlenmiştir (1982).

** Dr.med.vet. A.Ü. Veteriner Fakültesi Viroloji Bilim Dalı, Ankara-Turkey.

2. *Adenovirus tipleri ortak eriyebilir bir komplement fikzasyon antijenine sahip oldukları için adenovirus enfeksiyonlarının teşhisinde kullanılan komplement fikzasyon testinin sığır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3'ün tip ayrımında kullanılmayacağı,*

3. *Single radial hemolizis testi ile sığır adenovirus tip -1, tip-2 ve tip-3'ün teşhis ve tip ayrımı üzerinde daha geniş araştırmaların yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.*

Giriş

Adenovirusların ilk defa 1953 yılında Rowe, Huebner, Gilmore, Parrott ve Ward tarafından spontan olarak dejenerasyona uğramış insan adenoid doku kültürlerinde ve 1954 yılında Hilleman ve Werner tarafından akut solunum yolu enfeksiyonu ile birlikte askeri topluluklarda saptandığı Pereira (24) tarafından bildirilmiştir.

Sığır adenovirus tip-1, 1959 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Klein ve arkadaşları (14) tarafından sağlıklı görünüşlü bir ineğin gaitasından dana böbrek hücre kültürüne yapılan ekimde izole edilmiştir. Sığır adenovirus tip-2'nin ilk izolasyonu da Klein ve arkadaşları (15) tarafından sağlıklı bir dananın gaitasından yapılmıştır.

Darbyshire ve arkadaşları (8), İngiltere'de sağlıklı görünüşte bir ineğin gözünden alınan materyalden dana böbrek hücre kültürüne yaptıkları ekimde sığır adenovirus tip-3'ü ilk olarak izole etmişlerdir.

Adenoviruslar 70-90 nm çapında olup, kapsid ikozahedral simetri gösterir ve 252 kapsomerlidir. Çift iplikçikli DNA (Desoksiribonükleik asit) kapsarlar ve zarsız viruslardır (23). Adenoviruslar lipid eriticilerle muamele edildiklerinde inaktive olmazlar (1,23).

Kanatlı adenovirusları dışındaki bütün adenoviruslar, A-antijeni olarak isimlendirilen bir ortak komplement fikzasyon ve presipitasyon antijenine sahiptirler (25).

Sığır adenovirusları primer dana böbrek, primer dana testis, primer dana tiroid, primer koyun böbrek, primer kuzu testis, sekonder koyun böbrek, primer sığır fetal böbrek, dana kornea ve MDBK (Madin Darby Bovine Kidney; Dana böbrek devamlı hücre kültürü) hücre kültürlerinde üretilmektedir (10,16,20,21). Adenoviruslar enfekte hücrelerde yuvarlaklaşma ve intra -nükleer inklüzyon cisimcikleri meydana getirirler (2,23).

Klein ve arkadaşları (15), sığır adenovirus tip-1'in rat eritrositlerini aglutine ettiğini saptamışlardır. Aynı araştırmacılar (15), sığır adenovirus tip-2'nin fare ve rat eritrositlerini; Darbyshire ve arkadaşları (8) sığır adenovirus tip-3'ün rat ve vervet maymunu eritrositlerini çok düşük titrede aglutine ettiğini bildirmişlerdir.

Sığır adenoviruslarının teşhis ve tip ayrımında nötralizasyon testinden (20,29), hemaglutinasyon-inhibisyon testinden (7,13) ve immuno-elektron mikroskopi yönteminden (17,22) yararlanılmaktadır. Sığır adenoviruslarının teşhisinde agar-jel presipitasyon testi (1,4) ve komplement fikzasyon testi (1,3) kullanılmaktadır.

Single radial hemolizis testi teşhis amacıyla ilk defa Russell ve arkadaşları (27), Schild ve arkadaşları (28) tarafından influenza virusu hemaglutininin antikorlarının ölçülmesinde kullanılmıştır.

Finci (11), rhinovirus equi antikorlarının saptanmasında bu testin komplement fikzasyon testi kadar duyarlı olduğunu ;testin yapılmasının kolay, hassas, kantitatif ve ayıraçların küçük miktarlarda kullanıldığını bildirmektedir.

Çetin ve arkadaşları (5), kızamıkçık virusu antikorlarının saptanmasında single radial hemolizis testinin basit oluşu ve çok sayıda serum taramaları için uygunluğu nedeniyle güvenle kullanılabilceğini belirtmişlerdir. Hemaglutinasyon-inhibisyon testinde ise özgül olmayan önleyicilerin etkisiyle düşük titrelerin değerlendirilmesinde güçlüklerle karşılaşıldığı, halbuki serumdaki özgül olmayan önleyicilere ve aglutininlere duyarlı olmayan single radial hemolizis testinde serumların 56°C. de 30 dakika inaktive edilmelerinin yeterli olduğu bildirilmiştir (5).

Single radial hemolizis testi ile sığır adenoviruslarının teşhisi ya da tip ayrımı üzerinde şimdiye kadar yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanılamamıştır.

Bu çalışma, sığır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3'e karşı hiperimmün tavşan serumlarıyla tip ayrımında serum nötralizasyon, komplement fikzasyon ve single radial hemolizis testlerinin uygulanabilme olanaklarının araştırılması amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

VİRUSLAR: Araştırmada virus olarak Viyana Veteriner Fakültesi Viroloji Enstitüsü'nden temin edilen sığır adenovirus tip-1

(11/66 suşu), sığır adenovirus tip-2 (12/66 suşu) ve sığır adenovirus tip-3 (13/66 suşu) kullanıldı.

HÜCRE KÜLTÜRÜ: MDBK hücre kültüründen, virus üretiminde, mikrotitrasyon ve mikro-nötralizasyon testlerinde yararlanıldı.

HİPERİMMUN SERUMLAR: Sığır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3 viruslarına ve virus kapsamayan doku kültürüne karşı hiperimmün serumlar tavşanlarda hazırlandı.

VİRUS TİTRASYONU: Frey ve Lies'in (12), bildirdikleri mikro-titrasyon yöntemi ile virusların titresini saptandı.

NÖTRALİZASYON TESTİ: Mikro-nötralizasyon testi hiperimmün serumların serum nötralizasyon (SN_{50}) değerlerinin tesbitinde ve sığır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3 virusları arasında tip ayrımı amacıyla kullanıldı.

VİRUS KONSANTRASYONU: Metanol ile çöktürme metodu (18) ile virus konsantrasyonu yapılarak konsantre edilen virus komplemant fikzasyon testinde ve single radial hemolizis testinde kullanıldı.

KOMPLEMENT FİKZASYON TESTİ: Yılmaz (30) tarafından bildirilen ve modifiye edilerek uygulanan komplemant fikzasyon testi ile hiperimmün serumların komplemant fikzasyon titreleri ve sığır adenoviruslarının bir tipine karşı hiperimmün serumda, diğer tiplere karşı antikor mevcut olup olmadığı saptandı.

SINGLE RADIAL HEMOLİZİS TESTİ: Single radial hemolizis testi sığır adenovirus tip-1, tip -2 ve tip-3'e karşı tavşan hiperimmün serumlarında, bu viruslara karşı antikorların titresini saptamak ve tip tayini amacıyla kullanıldı.

Single radial hemolizis testinde kontrol serumlar olarak IBR-IPV'ye (enfeksiyöz bovine rhinotracheitis-enfeksiyöz pustular vulvovaginitis) karşı hiperimmün serum, doku kültürüne karşı hiperimmün serum ve negatif tavşan serumundan yararlanıldı. Sığır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3'e karşı hiperimmün serumlar ile IBR-IPV'ye karşı hiperimmün serum ve negatif tavşan serumu sığır ve koyun eritrositleri ile ön adsorbsiyona (19) tâbi tutulduktan sonra testte kullanıldı. Aynı test her üç tipe karşı hiperimmün serumlar ile IBR-IPV'ye karşı hiperimmün serum, doku kültürüne karşı serum ve negatif tavşan serumu sığır ve koyun eritrositleri ile ön adsorbsiyona tâbi tutulmadan kullanılarak tekrarlandı. Hiperimmün serumlar ve negatif

tavşan serumu kobay eritrositi ile ön adsorbsiyona tâbi tutulmadan testte kullanıldı.

Single radial hemolizis testinde kullanılmak üzere sensibilize eritrosit hazırlanmasında sığır, koyun ve kobay eritrositleri kullanıldı. Gerek sensibilizasyonda ve gerekse testin yapılışında Russell ve arkadaşları (27) tarafından bildirilen metottan modifiye edilip yararlanıldı. Bu amaçla Agarose %1 oranında hazırlanarak 100°C.de eritildi ve 45°C.de soğutuldu. Konsantre virus ile hazırlanan sensibilize eritrosit ile saf komplement 45°C.de birkaç dakika bekletildi. Üzerinde 6 adet 3.5 cm. çapında gözler bulunan plastikden yapılmış tablanın bir gözüne 2.8 ml. Agarose, 0.1 ml. komplement ve 0.1 ml. sensibilize eritrosit karıştırılarak döküldü. Tablanın kapağı kapatılarak 1 saat +4°C.de bekletildi. Sonra 0.5 cm. çapında çift katlı olarak kesilmiş filtre kağıtlarına ayrı ayrı hiperimmün serumlardan ve kontrol serumlarından 0.01 ml. olmak üzere damlatıldı. Bir pens yardımıyla serum damlatılmış filtre kağıtları Agarose, sensibilize eritrosit ve komplementten meydana gelen donmuş karışım üzerine yerleştirildi. Kontrol olarak dökülen sensibilize edilmemiş eritrosit, komplement ve Agarose karışımı üzerine de, aynı şekilde, hiperimmün serumlardan ve kontrol serumlarından damlatılmış filtre kağıtları konuldu. Tablanın kapağı kapatılarak +4°C.de 18 saat süreyle diffüzyona bırakıldı. Bu süre sonunda plastik tabla 37°C.lik etüve konarak üç saat sonra serumlar etrafında hemoliz meydana gelip gelmediği saptandı.

Bulgular

Sığır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3'ün mikro-titrasyon metodu ile yapılan titrasyonları sonucu, titreleri sırasıyla $DKID_{50} 10^{-6.25}/1.ml.$, $DKID_{50} 10^{-6.0}/1.ml.$, $DKID_{50} 10^{-7.0}/1. ml.$ olarak saptandı.

Sığır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3'e karşı hiperimmün tavşan serumlarının serum nötralizasyon değerleri sırasıyla $SN_{50}=1/5630$, $SN_{50}=1/4680$ ve $SN_{50}=1/2820$ olarak saptandı. Araştırmamızda tavşanlardan elde edilen hiperimmün serumlar, mikronötralizasyon testinde düşük sulandırılmalarda toksik etki gösterdi.

Mikro-nötralizasyon testi ile sığır adenovirus tip-2 ve tip-3'e karşı hiperimmün serumlarda, tip-1 virusuna karşı antikor saptanmadı. Sığır adenovirus tip-1'e karşı hiperimmün serumda, tip-2 virusuna karşı nötralizan antikor bulunmadığı; buna karşılık tip-3'e karşı hiperimmün serumda, tip-2 virusuna karşı nötralizan antikor titresi

1/2350 olarak tesbit edildi. Sığır adenovirus tip-1'e karşı hiperimmün serumda, tip-3 virusuna karşı nötralizan antikor bulunmadığı; buna karşılık tip-2'ye karşı hiperimmün serumda tip-3 virusuna karşı nötralizan antikor titresini 1/1180 olarak saptandı.

Sığır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3'e karşı hiperimmün tavşan serumlarının komplement fikzasyon titreleri sırasıyla 1/2, 1/2 ve 1/5 olarak bulundu.

Komplement fikzasyon testi sığır adenovirus tip-2 ve tip-3'e karşı hiperimmün serumlar ile tip-1 virusu arasında ayrı ayrı uygulandığında, bu serumlarda adenovirusların ortak grup antijenine karşı 1/2 düzeyinde bir antikor saptandı. Sığır adenovirus tip-1 ve tip-3'e karşı hiperimmün serumlar ile tip-2 virusu arasında uygulanan komplement fikzasyon testinde, tip-1'e karşı hiperimmün serumda adenovirusların ortak grup antijenine karşı antikor titresini 1/2 olarak, tip-3'e karşı hiperimmün serumda ise 1/5 olarak bulundu. Sığır adenovirus tip-1 ve tip-2'ye karşı hiperimmün serumlar ile tip-3 virusu arasında yapılan komplement fikzasyon testinde ise, bu serumlarda adenovirusların ortak grup antijenine karşı antikor titresini 1/2 olarak saptandı.

Single radial hemolizis testi sığır adenovirus tip-1 ile sensibilize edilmiş sığır eritrositi kullanılarak ve serumlar ön adsorbsiyona tâbi tutulmadan uygulandığında negatif tavşan serumu hariç, diğer serumlar etrafında hemoliz halkası meydana geldi. Kontrolde da aynı sonuç elde edildi. Serumlar sığır eritrositleri ile ön adsorbsiyona tâbi tutulduktan sonra tekrarlanan testte ve kontrolünde sadece IBR-IPV'ye karşı hiperimmün serum etrafında hemoliz halkası meydana geldi. Doku kültürüne karşı serum bu testte kullanılmadı (Tablo-1) (Şekil-1).

Sığır adenovirus tip-1 ile sensibilize edilmiş koyun eritrositi kullanılarak ve serumlar ön adsorbsiyona tâbi tutulmadan yapılan single radial hemolizis testinde, negatif tavşan serumu hariç, diğer serumlar etrafında hemoliz halkası oluştu. Kontrolde da aynı sonuç elde edildi. Serumlar koyun eritrositleri ile ön adsorbsiyona tâbi tutulduktan sonra tekrarlanan testte ve kontrolünde sadece IBR-IPV'ye karşı hiperimmün serum etrafında hemoliz halkası meydana geldi. Doku kültürüne karşı serum testte kullanılmadı (Tablo-1).

Sığır adenovirus tip-1 ile sensibilize edilmiş kobay eritrositi ve ve ön adsorbsiyona tâbi tutulmamış serumlar kullanılarak single radial hemolizis testi yapıldığında testte ve kontrolünde hiçbir serum

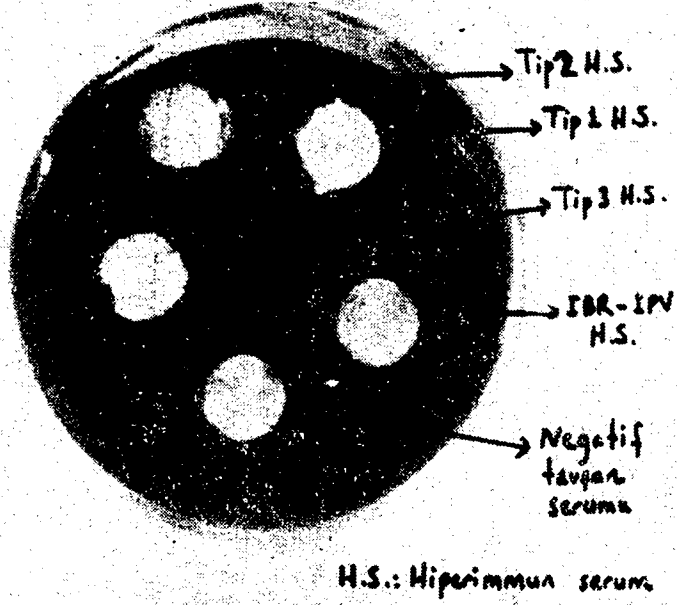
Tablo 1. Single radial hemolizis testi sonuçları.

Sensibilizasyonda kullanılan eritrosit türü	Sensibilizasyonda kullanılan virus	Hiperimmün serum	Hiperimmün serum (Eritrosit ile ön adsorbsiyona tabi tutulmuş)	Hemoliz	
					Kontrol*
Sığır eritrositi	Sığır adenovirus tip-1	Tip 1		+	+
		Tip 2		+	+
		Tip 3		+	+
		IBR-IPV		+	+
		Doku kültürüne karşı serum		+	+
		Negatif tavşan serumu		-	-
Sığır eritrositi	Sığır adenovirus tip-1		Tip 1	-	-
			Tip 2	-	-
			Tip 3	-	-
			IBR-IPV	+	+
			Negatif tavşan serumu	-	-
Kobay eritrositi	Sığır adenovirus tip-1	Tip 1		-	-
		Tip 2		-	-
		Tip 3		-	-
		IBR-IPV		-	-
		Negatif tavşan serumu		-	-
Koyun eritrositi	Sığır adenovirus tip-1	Tip 1		+	+
		Tip 2		+	+
		Tip 3		+	+
		IBR-IPV		+	+
		Doku kültürüne karşı serum		+	+
		Negatif tavşan serumu		-	-
Koyun eritrositi	Sığır adenovirus tip-1		Tip 1	-	-
			Tip 2	-	-
			Tip 3	-	-
			IBR-IPV	+	+
			Negatif tavşan serumu	-	-

+ Hemoliz pozitif

- Hemoliz negatif

× Kontrol. Sensibilize edilmemiş eritrosit kullanılmıştır.



Şekil 1. Sensibilize sığır eritrositleri ile yapılan single radial hemolizis testi. Serumlar sığır eritrositleriyle ön adsorbsiyona tâbi tutulmuştur. (La technique Single radial haemolysis effectu  par les  rythrocytes bovins sensibles. Les s rums ont subi une pr -adsorption par les  rythrocytes bovins).

etrafında hemoliz halkası oluşmadı. Doku kültürüne karşı serum teste kullanılmadı (Tablo-1).

Tartışma ve Sonuç

Sığır adenoviruslarının tip ayırımında nötralizasyon testinden çok yararlanılmaktadır (20,29). Tanaka ve arkadaşları (29), sığır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3'e karşı hiperimmün serumlarda, araştırmamızda elde ettiğimiz şekilde, yüksek serum nötralizasyon değerleri saptamışlardır.

Araştırmamızda sığır adenovirus tip-1'e karşı hiperimmün serumda, tip-2 ve tip-3 viruslarına karşı nötralizan antikor saptamadık. Bu sonuç diğer araştırmacılar (15,20,29) tarafından elde edilen sonuçlarla uyum sağlamaktadır. Ancak, bu araştırmacıların (15,20,29), aksine sığır adenovirus tip-2 ve tip-3 virusları arasında serum nötralizasyon testiyle tip ayırımı yapılamamıştır. Sığır adenoviruslarına karşı

tavşanlardan elde edilen hiperimmün serumlarla mikro-nötralizasyon testi yapılırken serumun yoğun olduğu gözlerde, serumdan ileri gelen toksik etkinin gözönünde tutulması gerekmektedir.

Sığır adenovirus tip-1, tip-2 ve tip-3 virusları arasında komplement fikzasyon reaksiyonunda 1/2 oranında pozitif çalışan ortak grup antijeninin varlığını saptamış bulunuyoruz. Bu sonuç diğer araştırmacılar tarafından elde edilen sonuçlarla uygunluk göstermektedir (8,20). Ancak sığır adenovirus tip-2 virusuna karşı hiperimmün tavşan serumu, tip-3 virusu ile 1/5 titrede bir pozitif reaksiyon vermektedir. Bu durum, sığır adenovirus tip-3 virusunun heterolog antijen gücünün yüksek olması ile açıklanabileceği gibi tip-2 ve tip-3 arasında eriyebilir ortak komplement fikzasyon antijenlerinin daha yüksek olmasından ileri gelebilir.

Single radial hemolizis testinde kullanılan hiperimmün serumlar sığır ve koyun eritrositleriyle ön adsorbsiyona tâbi tutulmadan kullanıldığında testte ve kontrolunda hiperimmün serumlar etrafında hemoliz halkası meydana gelmiştir. Ön adsorbsiyona tâbi tutulmuş hiperimmün serumlarla yapılan testlerde ise, gerek sensibilize eritrositler ve gerekse sensibilize edilmemiş eritrositler sadece IBR-IPV hiperimmün serumu ile hemoliz olmuştur. Adenovirus hiperimmün serumlarında eritrositler ile yapılan ön adsorbsiyonda aspesifik antikorlar yanında, spesifik antikorların da kaybolduğu ve hiperimmün serum içindeki spesifik hemolizin antikorları az olduğundan sensibilize eritrositler ile yapılan reaksiyonda da negatif sonuç verdiği görülmektedir. Aynı şekilde, Finci (11) rhinovirus equi ile yaptığı single radial hemolizis testinde eritrositler ile yapılan ön adsorbsiyon esnasında serumda bulunan spesifik antikorların kısmen de olsa kaybolduğunu bildirmektedir. IBR-IPV hiperimmün serumunun ön adsorbsiyondan sonra dahi pozitif sonuç vermesi bu serum içindeki aspesifik izohemaglutininlerin yoğun olmasından ileri gelmektedir.

Single radial hemolizis testinde elde edilen sonuçlar hiperimmün tavşan serumlarında sığır ve koyun eritrositlerine karşı aspesifik hemolizin antikorunun bulunduğunu göstermektedir. Tavşanlar virusla enfekte doku kültürleriyle hiperimmunize edildiği için doku kültürlerinde bulunan hücrelere karşı serumda hemolizin antikoru az da olsa meydana gelmektedir. Bu durumu açıklığa kavuşturmak için bir grup tavşana da virus kapsamayan doku kültürü vererek elde ettiğimiz tavşan serumlarında da aynen hiperimmün tavşan serumlarının

nda olduğu gibi komplement önünde sığır ve koyun eritrositlerini eriten amboseptör antikorunun bulunduğunu saptadık. Bu durumun antijen olarak kullanılan doku kültürü içerisinde bulunan hücre ve serumdan ileri gelebileceği zannedilmektedir. Nitekim komplement fikzasyonda kullanılan amboseptörün hazırlanması esnasında Ruge (26), tavşanlara koyun eritrositleri dışında belirli süreler içinde koyun serumu da şırınga etmektedir.

Kobay eritrositleriyle yapılan denemelerde sonucun menfi olması iki şekilde açıklanabilir. Birincisi kobay eritrositlerinin sığır adenoviruslarına karşı affinitesi düşük olduğu için eritrositler sensibilize edilememiştir. İkincisi tavşanlarda hazırlanan adenovirus hiperimmün serumlarının sensibilize kobay eritrositini komplement önünde hemoliz edebilecek miktarda hemolizin antikoruna sahip olmadığı kanısını vermiştir. Bu durum sensibilize kobay eritrositleri ile yapılacak single radial hemolizis testi için tavşanlarda hazırlanacak hiperimmün serumların daha yoğun virus suşları ile ya da hiperimmün serumların tavşandan başka tür hayvanlarda hazırlanması gerektiğini ortaya oymuştur.

Sonuç olarak, araştırmamızda mikro-nötralizasyon testinde elde ettiğimiz sonuçlar bu testin sığır adenovirus tip-1'in tip ayırımında kullanılabileceği, ancak tip-2 ve tip-3'ün tip ayırımında güvenle kullanılamayacağı kanısını vermiştir.

Komplement fikzasyon testinin sığır adenoviruslarının tip ayırımında kullanılamayacağı tekrarlanmıştır. Single radial hemolizis testi ile sığır adenoviruslarının teşhisi ve tip ayırımı için daha geniş araştırmalar yapılması gerekmektedir.

Literatür

- 1- **Aldasy, P., Csontos, L. and Bartha, A.** (1964): *Pneumo-enteritis in calves caused by adenoviruses.* Acta Vet.Hung., 15: 167-175.
- 2- **Bartha, A. and Csontos, L.** (1969): *Isolation of bovine adenovirus from tissue cultures of calf testicles.* Acta Vet. Hung., 19: 323-325.
- 3- **Cole, A.M.** (1970): *The isolation of adenoviruses from calves with pneumonia.* Aust. Vet.J., 46:569-575.
- 4- **Coria, M.F., McClurkin, A.W., Cutlip, R.C. and Richie, A.E.** (1975): *Isolation and characterization of bovine adenovirus type 5 associated with "Weak Calf Syndrome".* Arch.Virol., 47: 309-317.
- 5- **Çetin, E.T., Gökoğlu, M. ve Badur, S.** (1980): *Kızamıkçık antikorların saptanmasında tek yönlü hemoliz yöntemi.* Türk Virol. Derg., 1:71-77.

- 6- **Darbyshire, J.H.** (1966): *Oncogenicity of bovine adenovirus type 3 in hamster.* Nature, 211:102.
- 7- **Darbyshire, J.H.** (1968): *Bovine adenoviruses.* J.A.V.M.A., 152: 786-794.
- 8- **Darbyshire, J.H., Dawson, P.S., Lamont, P.H., Ostler, D.C. and Pereira, H.G.** (1965): *A new adenovirus serotype of bovine origin.* J.Comp.Path., 75:327-330.
- 9- **Darbyshire, J.H., Berman, L.D., Chesterman, F.C. and Pereira, H.G.** (1968): *Studies on the oncogenicity of bovine adenovirus type 3.* Int. J.Cancer., 3: 546-557.
- 10- **Eisa, M.** (1972): *Isolation of bovine adenovirus type 1 in the Sudan.* Bull.Epizoot.Dis.Afr., 21:411-416.
- 11- **Finci, E.** (1978): *A passive haemolysis in gel test for the detection of antibodies of rhinovirus equi.* A.Ü. Vet.Fak.Derg., 25: 720-730.
- 12- **Frey, H.P. und Liess, B.** (1971): *Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit einer stark zytopathogenen VD-MD Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikroliter-Methode.* Zbl.Vet.Med., 18: 61-71.
- 13- **Inaba, Y., Tanaka, Y., Sato, K., Ito, H., Omori, T. and Matumoto, M.** (1968): *Bovine adenovirus. II.A serotype, Fukuroi, recovered from Japanese cattle.* Japan.J. Microbiol., 12: 219-229.
- 14- **Klein, M., Early, E. and Zellat, J.** (1959): *Isolation from cattle of a virus related to human adenovirus.* Proc.Soc.Exp.Biol. and Med., 102: 1-4.
- 15- **Klein, M., Zeliat, J. and Michaelson, C.** (1960): *A new bovine adenovirus related to human adenovirus.* Proc.Soc.Exp.Biol. and Med., 105: 340-342.
- 16- **Lehmkuhl, H.D., Smith, M.H. and Dierks, R.E.** (1975): *A bovine adenovirus type 3: Isolation, characterization and experimental infection in calves.* Arch.Virol., 48: 39-46.
- 17- **Luton, P.** (1973): *Rapid adenovirus typing by immunoelectron microscopy.* J. Clin.Path., 26: 914-917.
- 18- **Mayr, A., Bachmann, P.A., Bibrack, B. and Wittmann, G.** (1977): *Virusreinigungungsverfahren mit gleichzeitiger Antigenanreicherung.* Virologische Arbeitsmethoden Band II Gustav Fischer Verlag-Stuttgart. 111-122.
- 19- **Mayr, A., Bachmann, P.A., Bibrack, B. and Wittmann, G.** (1977): *Passive (indirekte) Hamäggglutination (PHA)* Virologische Arbeitsmethoden Band II Gustav Fischer Verlag-Stuttgart, 301.
- 20- **Mohanty, S.B.** (1971): *Comparative study of bovine adenoviruses.* Am.J.Vet.Res., 32: 1899-1905.
- 21- **Mohanty, S.B. and Lillie, M.G.** (1970): *Type 2 bovine adenovirus as an adventitious contaminant in primary bovine embryonic kidney cell cultures.* Appl.Microbiol., 19: 381-382.
- 22- **Myrup, A.C., Mohanty, S.B. and Hetrick, F.M.** (1976): *Isolation and characterization of adeno-associated viruses from bovine adenovirus type 1 and 2.* Am.J.Vet.Rec., 37: 907-910.
- 23- **Norrby, E., Bartha, A. Boulanger, P., Dreizin, R.S., Gindsberg, H.S., Kalter, S.S., Kawamura, H., Rowe, W.P., Russell, W.C., Schlesinger, W. and Wigand, R.** (1976): *Adenoviridae.* Intervirology 7: 117-125.

- 24- **Pereira, H.G.** (1959): *Adenoviruses*. Brit. Med. Bull., 15: 225-230.
- 25- **Pereira, H.G., Huebner, R.J., Ginsberg, H.S. and Var Der Keen, J.** (1963): *A short description of the adenovirus group*. Virology, 20: 613-620.
- 26- **Ruge, H.** (1960): *Ein Beitrag zur Gewinnung von hochwertigem hämolytischen Ambozeptor*. Zbl.Bakt., I. Orig. 177: 95.
- 27- **Russell, S.M., Mc Cahon, D. and Beare, A.S.** (1975): *A single radial haemolysis technique for the measurement of influenza antibody*. J.Gen.Virol., 27: 1-10.
- 28- **Schild, G.C., Pereira, M.S. and Chakraverty, P.** (1975): *Single radial haemolysis: A new method for the assay of antibody to influenza haemagglutinin. Applications for diagnosis and seroepidemiologic surveillance of influenza*. Bull.W.H.O., 52: 43-50.
- 29- **Tanaka, Y., Inaba, Y., Ito, Y., Omori, T. and Matumoto, M.** (1968): *Bovine adenovirus. I. Recovery of a serotype, Nagano, from Japanese cattle*. Japan, J. Microbiol., 12: 77-95.
- 30- **Yılmaz, S.** (1962): *Bandırma merinos çiftliği ile Tahirova Türk-Alman örnek çiftlikleri koyunlarında tesbit edilen virüsü-abort vak'aları*. Etlik Vet.Bak.Enst.Derg., 1: 460-470.
Yazı 20.4.1983 günü alınmıştır.