

İNFEKSİYÖZ BOVİNE PHİNOTRACHEİTİS - İNFEKSİYÖZ PUSTULAR VULVOVAGİNİTİS (IBR/ IPV): NÖTRALİZAN ANTİKORLARININ SAPTANMASI VE MDBK, PRİMER DANA BÖBREK HÜCRE KÜLTÜRLERİNDE VİRUS İZOLASYONU

INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS - INFECTIOUS
PUSTULAR VULVOVAGINITIS (IBR/IPV): DETECTION OF
NEUTRALIZATION ANTIBODIES AND ISOLATION OF THE
VIRUS IN MDBK AND PRIMARY CALF KIDNEY CELL CUL-
TURES. *

Özden KABAKLI **

K. Tayfun ÇARLI ***

ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden, sağlıklı görülen sığırlarından toplanan 670 adet kan serumu makronötralizasyon testi ile IBR/IPV virus antikorları yönünden test edildi. Ayrıca klinik semptom gösteren 5 adet hayvandan burun swab örnekleri alındı ve MDBK ve FDB hücre kültürlerinde virus izolasyonu amacıyla kullanıldı. Çalışılan bölgelerin tümünde infeksiyonun varlığı tespit edildi. Makro nötralizasyon testi ile kontrol edilen 670 adet kan serumundan 354 adedinin (%52.83) IBR/IPV virus nötralizan antikorları içerdiği belirlendi. Antikor taşıyıcılarının SN_{50} değerleri 1:1.41 - 1:251 arasında değişmekteydi. Virus izolasyon amacıyla toplanan örnekler içinde bir inekten alınan burun swabından primer FDB hücre kültüründe virus izole edildi.

Anahtar Kelimeler:

IBR/PV nötralizan antikorlar. IBR/IPV virus izolasyonu

SUMMARY

In this study 670 serum sampels obtained from cattle which seem to be healthy, in various regions of Turkey were tested for IBR/IPV virus antibodies using macroneutralization test. In addition, 5 nasal swab samples were used for

* Aynı başlık altındaki doktora tezinden özetlenmiştir.

** Etlik Vet. Kont. ve Arşt. Enstitüsü- Ankara/Türkiye

*** U.Ü. Veteriner Fakültesi - Bursa/Türkiye

virus isolation in MDBK and primary FDB cell cultures. It was found that IBR/IPV infection was present in all regions studied. Three hundred fifty four (354) (%52.83) of 670 serum samples were found to have IBR/IPV virus neutralizing antibodies. Neutralizing dose 50 (ND₅₀) values of the antibody carriers ranged between 1:1.41 - 1:251. The virus was isolated from the nasal swab collected from a cow in primary FCK cell culture

Key Words: IBR/IPV neutralization antibodies, IBR/IPV virus izolation.

GİRİŞ

Sığırların IBR/IPV enfeksiyonu bulaşıcı, latent ve akut seyirli olup, dünyanın bir çok yerinde ve Türkiye'deki varlığı çeşitli araştırmacılar tarafından (1,5,6,10,11) ortaya konmuştur. Hayvancılık işletmelerinde büyük ekonomik kayıplarının gerçek temelini, ağırlık kaybı ve süt veriminde azalma ile abortus, neonatal ve embriyonal ölüm, endometritis, döl tutamama gibi fertilitite bozuklukları meydana getirmektedir (28).

Türkiye'de sığırların IBR/IPV enfeksiyonu üzerine ilk çalışma Erhan ve arkadaşları (13) tarafından yapılmıştır. Sonraki yıllarda yapılan araştırmalarda hastalığın artış gösterdiği belirlenmiştir (5,6,7,18,25).

IBR/IPV virüsü Herpesviridae familyasının, alfa herpes virinae alt familyasına dahil olup, Bovine Herpes Virus Tip-1 olarak (BHV-1) isimlendirilmiştir (10,11,16). Doğal konakçısı dışında BHV-1 virüsü, hücre kültürlerinde üretilmektedir (11,27). Hücre kültürü olarak sığırların fetal böbrek, testis, deri, lenf bezleri, pankreas, timus, tiroid bezleri ve akciğer hücre kültürleri kullanılmaktadır (1,11). Bundan başka Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK), kanserli insan hücresi (Hela), Baby Hamster Kidney (BHK) devamlı hücre kültürlerinde ve at, domuz, keçi beyin ve böbrek hücre kültürlerinde üretilirler (1,11). Deneme hayvanları içinde tavşanlar ve kokarcalar (11,16) virusa karşı duyarlı olup, tavşanlar deneysel çalışmalarda başarıyla kullanılmaktadır.

Konakçı sayısı az olmasına rağmen IBR/IPV enfeksiyonu dünyanın bir çok yerinde yaygındır (11,23,24). Vahşi türlerin çoğunda yapılan çalışmalarda seropozitiflik bulunmasına karşın yalnızca sığırlarda klinik belirtiler görülmektedir (11,23). Virusun bulaşmasında akut veya latent enfekte evcil ve yabani hayvanlar ile sperma, embriyo transferi ve keneler rol oynarlar. (11,16). Latent enfekte hayvanlardaki virus, doğum, nakil, D.viviparus enfestasyonu gibi doğal stres faktörleri ve oral yolla 3-methylinedale verilmesi ve glukokortikoid enjeksiyonu sonucu tekrar reaktif olur (8,20,23,26). Reaktif olan virus bulunduğu

bölgelerdeki mukozalarda etkisini göstermeye başlar. Canlı aşı uygulanan hayvanlarda da latentlik ve reaktivasyon ile ilgili problem ve prensiplerin hepsi geçerlidir (11,20,23,26). Bu nedenle latent enfekte hayvanların virus rezervuarı olarak tanımlandıkları bildirilmektedir (11,21,23,26).

BHV-1 virus infeksiyonunda klinik tablo, virus suşuna, virus dozuna, infeksiyon yoluna, hayvanların immun durumuna ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişir (11,23). Hastalık %100'e yakın bir morbidite ile %10'a kadar çıkan mortaliteye sahiptir (2). Infeksiyona her yaş grubundaki hayvanlar duyarlıdır (11,23). BHV-1 infeksiyonu sığırlarda klinik olarak solunum sistemi infeksiyonu olan IBR, genital sistem infeksiyonu olan IPV/IPB ile birlikte konjunktivitis, enteritis, ensefalitis, mastitis, endometritis, abortlar ve infertiliteye neden olan bozukluklar meydana getirmektedir (4,11,28). Solunum ve genital sisteme ait bozukluklar birbirinden ayrı olarak meydana gelebildiği gibi birliktede görülebilirler (4,11,16).

BHV-1 virus infeksiyonlarının teşhisinde direkt ve indirekt teşhis yöntemleri kullanılır (10,11,23). Direkt teşhis yöntemi, virus izolasyonu ve identifikasyonu (7,12,20), indirekt teşhis yöntemleri ise BHV-1'e karşı spesifik antikorların aranması prensibine dayanır (2,3,10,25). Direkt teşhis yöntemlerinde virus izolasyonuna ilaveten immunperoksidaz (IP), immunoflouresan (IF), Enzyme Linked İmmunosorbent Assay (ELISA), revers passive heamaglutination (RPHA), hibridizasyon teknikleri yer almaktadır (10,12,23). BHV-1'in indirekt teşhisinde kullanılan yöntemler kan serumları, süt serumları ve semendeki virusa spesifik antikorların tesbitidir. Bu amaçla serum nötralizasyon (SN), ELISA, agar gel presipitasyon (AGPT), elektroforezis, indirekt hemaglütinasyon (IHA), plak redüksüyon (1,2,3,6,10,11,14,25) testleri kullanılmaktadır.

IBR/IPV infeksiyonlarının hızla yayılışı, bütün dünyada yaygın oluşu ve derin dondurulmuş spermalar vasıtasıyla taşınabilirliği yönünden, hastalıkla mücadele ve kontrol zor olmaktadır. Hastalık kontrolünde başarılı olmak için, sürülerde hijyenik tedbirlerin alınması, bakım şartlarının iyileştirilmesi, eradikasyon ve izolasyon tedbirlerine başvurulması ve aşılama önemlidir (11,14,23, 24).

MATERYAL VE METOT

MATERYAL:

Hücre: İzolasyon, titrasyon, nötralizasyon testlerinde Pirbright, İngiltere'den getirilen Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK) devamlı hücre kültüründen yararlanıldı. Hücre üretmek için %10 dana serumlu Gibco MEM kullanıldı. Ayrıca

izolasyon çalışmalarında kullanılmak amacıyla primer fütal dana böbrek (FDB) hücre kültürü hazırlandı (15).

Virüs: Weybridge, İngiltere'den temin edilen BHV-1'in 0403/08 katalog numaralı ED1 suşu kullanıldı.

Serum: Hücre kültürü vasatında ve virus üretme vasatlarında Seromed-Biochrom KG (Cat.No.SO113) Fetal Calf Serumu kullanıldı. Şüpheli serum olarak çeşitli bölgelerden toplanan çeşitli yaş ve cins grubundan sığır serumları kullanıldı (Tablo 1)

Virüs İzolasyon Materyalleri: Çanakkale, Samsun, Adana ve Ankara İllerinden PBS içinde steril olarak burun akıntısından alınan swablar kullanıldı.

METOT:

Makro nötralizasyon test: Test, Cuningham (9)'ın bildirdiği yöntemle göre yapıldı. BHV 1 antikoruna içerdiği saptanan serum örneklerindeki antikor titrelerinin tesbitinde yine makro nötralizasyon testi ile yapıldı. Serumlar log₂ tabanına göre 1/512'ye kadar sulandırıldı. Sonuçlar Kaerber yöntemine göre hesaplandı (22).

Virüs İzolasyonu: Steril şartlarda alınan antibiyotikli PBS içindeki burun swabları 3000 devirde 30 dakika santrifüj edilerek süpernetant ayrıldı. Bu süpernetantlar 0.2 ml olarak MDBK ve FDB hücre kültürlerine inokule edilerek 37°C'de 1 saat adsorbsiyona bırakıldı. Adsorbsiyondan sonra 2 ml virus üretme vasatı ilave edildi. Hücre kültürleri 6 gün süre ile 37°C'de inkubasyona bırakıldı ve her gün doku kültürü mikroskopunda sitopatolojik değişiklikler yönünden kontrol edildi. Daha sonra -80°C'de dondurulan viruslu hücre kültürleri 37°C'de su banyosunda çözülerek 3000 devirde 30 dakika santrifüj edildi. Süpernetant bir sonraki pasaj için inokulum olarak kullanıldı. Her örnek için en az üç pasaj yapıldı ve 4 tüpte hücre kontrolü olarak bırakıldı.

Virüs İdentifikasyonu: İzolasyon çalışmaları sonucu 6. pasajdan sonra elde edilen şüpheli virusun titresi ve makro nötralizasyon testi Cuningham (9) tarafından bildirilen yöntemle göre yapıldı. Sonuçlar Kaerber yöntemine göre (22) hesaplanarak virusun titresi belirlendi.

Tablo 1: İller Bazında Yaş ve Cinsiyete Göre Şüpheli Serum Sayısı
(The Number of Sera According to Regions, Age and Sex)

İL	Dişi		Erkek	
	6 Ay-2 Yaş	2 Yaş Yukarısı	6 Ay-2 Yaş	2 Yaş Yukarısı
Adıyaman	3	6	2	4
Amasya	5	7	3	5
Ankara	6	7	2	5
Ardahan	6	7	1	6
Artvin	6	7	3	4
Aydın	4	8	2	6
Bartın	1	6	1	2
Balıkesir	6	8	-	6
Bilecik	5	15	-	5
Bingöl	3	10	2	5
Burdur	5	7	5	3
Bursa	4	10	2	4
Çanakkale	6	7	2	5
Denizli	5	7	3	5
Elazığ	4	9	2	5
Erzincan	-	12	-	8
Erzurum	1	10	1	8
İzmir	4	7	3	6
Kayseri	4	7	5	4
Kırıkkale	5	11	4	-
Kırklareli	1	10	3	6
Kırşehir	3	7	5	5
Konya	5	6	5	4
Kütahya	3	10	1	6
Manisa	5	6	5	4
Muğla	4	6	4	6
Rize	5	5	5	5
Samsun	6	6	2	6
Tekirdağ	4	7	4	5
Tokat	1	12	3	4
Trabzon	2	8	5	5
Uşak	2	8	4	6
Van	5	4	5	6
Zonguldak	4	10	3	3
Toplam	133	273	97	167

BULGULAR

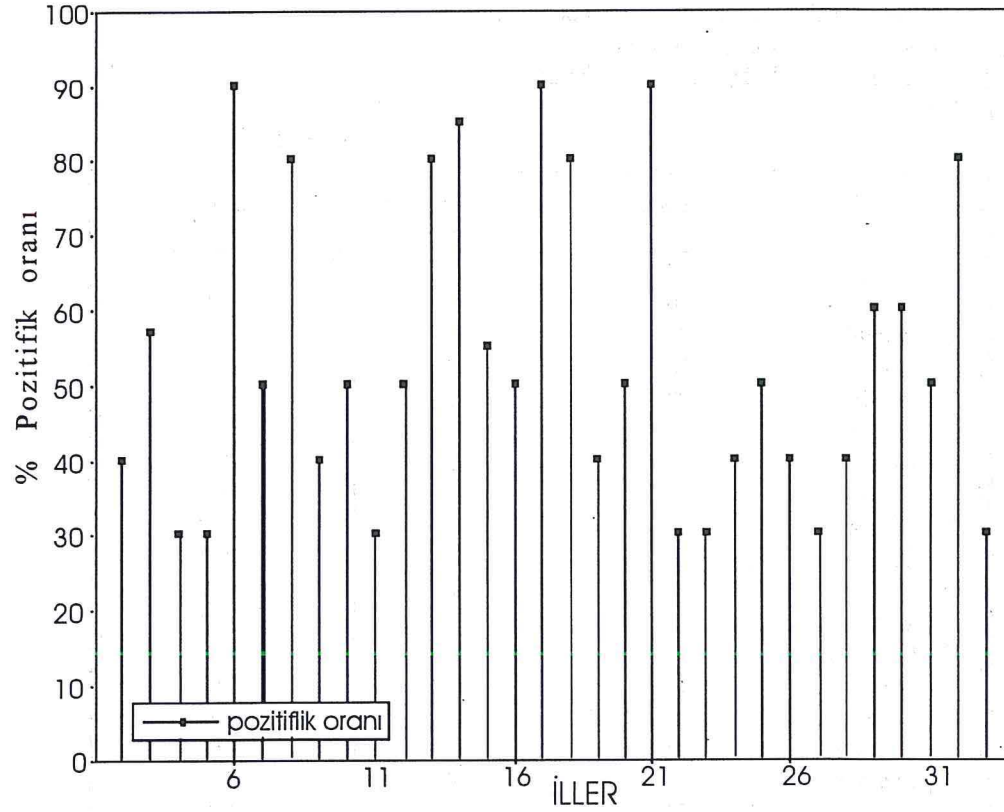
Makronötralizasyon testi ile BHV-1 antikorlu içeren serumların tesbiti: Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden değişik yaş ve cinsiyetteki sığırlardan 670 adet serum toplanmıştır. Bunlardan 354 tanesi (%52.83) IBR/IPV virusuna karşı makronötralizasyon testi ile pozitif sonuç vermiştir (Tablo 2, şekil 1). 6 ay-2 yaş arası 230 adet sığırdan 36 adedi pozitif (%15.65) iken, 2 yaş yukarısı 440 adet sığırın 318 adedi (%72.27) pozitif olarak bulunmuştur (Tablo 3).

Pozitif serumların serum nötralizasyon (SN_{50}) değerleri: Pozitif sonuç veren 354 adet serumun makronötralizasyon testi ile saptanan serum titreleri Tablo 4 ve Şekil 2'de görüldüğü gibi en düşük 1:1.41 ve en yüksek 1:251 olarak tesbit edilmiştir. Virus izole edilen sığırdan alınan serumun titresi 1:512 olarak bulundu.

Virüs izolasyon çalışması sonuçları: Virüs izolasyon amacıyla üzerinde çalışma yapılan burun swablarının Ankara bölgesinden alınan 1 adedinde hücre kültürlerinde yapılan pasajlarında FDB hücre kültürlerinde IBR/IPV virüsü izole edildi ve virüsün identifikasyonu yapıldı.

Tablo 2: Makronötralizasyon Testi Sonuçları
(Results of Macroneutralisation Test)

No	Serum alınan iller	Serum sayısı	BHV-1 Virusu nötralizasyon antikorları	
			Pozitif serum sayısı	Pozitiflik oranı (%)
1	Adıyaman	15	5	33.3
2	Amasya	20	8	40.0
3	Ankara	20	11	55.0
4	Ardahan	20	6	30.0
5	Artvin	20	6	30.0
6	Aydın	20	17	85.0
7	Bartın	10	5	50.0
8	Balıkesir	20	15	75.0
9	Bilecik	25	10	40.0
10	Bingöl	20	10	50.0
11	Burdur	20	6	30.0
12	Bursa	20	10	50.0
13	Çanakkale	20	15	75.0
14	Denizli	20	16	80.0
15	Elazığ	20	11	55.0
16	Erzincan	20	10	50.0
17	Erzurum	20	18	90.0
18	İzmir	20	16	80.0
19	Kayseri	20	8	40.0
20	Kırıkkale	20	10	50.0
21	Kırklareli	20	18	90.0
22	Kırşehir	20	6	30.0
23	Konya	20	6	30.0
24	Kütahya	20	8	40.0
25	Manisa	20	10	50.0
26	Muğla	20	8	40.0
27	Rize	20	6	30.0
28	Samsun	20	8	40.0
29	Tekirdağ	20	12	60.0
30	Tokat	20	12	60.0
31	Trabzon	20	10	50.0
32	Uşak	20	16	80.0
33	Van	20	6	30.0
34	Zonguldak	20	5	25.0
	Toplam	670	354	52.83



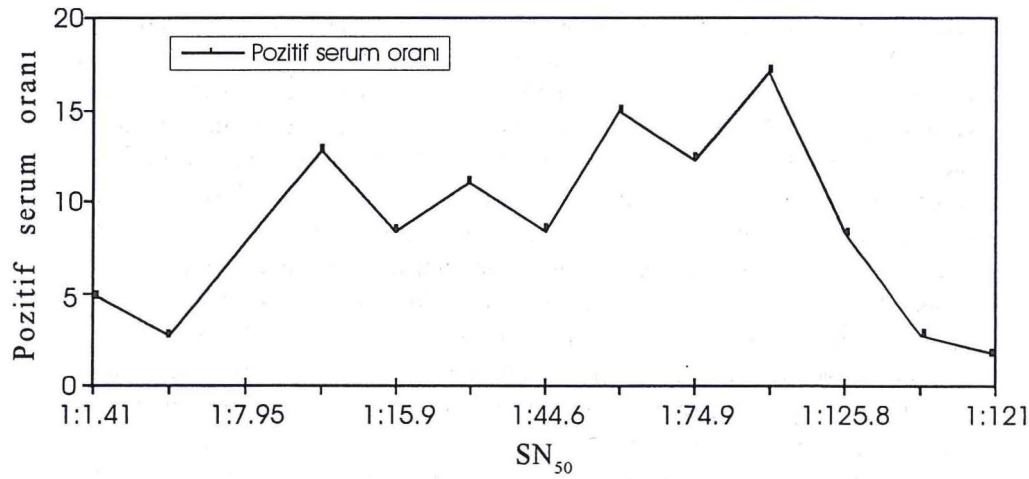
Şekil 1: BHV-1 Virusuna Karşı Oluşan Nötralizan Antikorların iller Bazında Dağılımı
(Distribution of BHV-1 Virus Neutralising antibodies for Regions)

Tablo 3: Yaş Gruplarına Göre Pozitif Serum Oranları
(The Ratio of Positive Sera According to Age Groups)

	6 Ay - 2 Yaş			2 Yaş Yukarısı		
	Toplam	Pozitif	%	Toplam	Pozitif	%
Erkek	97	11	11.34	167	158	94.6
Dişi	133	25	19.0	273	160	58.6
Toplam	230	36	15.65	440	318	72.27

Tablo 4: IBR/IPV Virusuna Karşı Pozitif Serumların SN₅₀ Değerleri
(SN₅₀ Values of Positive Sera Against IBR/IPV Virus)

Serum sulandırmaları	Pozitif seruma dedi	Pozitif serum oranı (%)
1:1.41	17	4.80
1:3.98	10	2.82
1:7.95	25	7.06
1:11.2	40	11.29
1:15.9	27	7.62
1:26.6	36	10.17
1:44.6	28	7.91
1:63.1	45	12.70
1:74.9	38	10.73
1:89.2	52	14.68
1:125.8	23	6.49
1:149.6	8	2.26
1:251	5	1.41



Şekil 2: IBR/IPV Virusuna Karşı Pozitif Serumların SN₅₀ Değerleri
(SN₅₀ Values of Positive Sera Against IBR/IPV Virus)

TARTIŞMA VE SONUÇ

IBR/IPV enfeksiyonu sığırlarda süt veriminde azalma, kilo kaybı, abortlar ve infertiliteye neden olarak yurt ekonomisine büyük zararlar veren bir hastalıktır. Özellikle virusun sığırlarda kalışı ve çeşitli faktörlerin etkisiyle latent durumdan aktif duruma geçişi hastalığın epizootiyolojisine yeni bir bakış açısı getirmiş (21, 26) ve araştırmacıları IBR/IPV enfeksiyonunun insidansını araştırmaya yönlendirmiştir (6,14,25,30). Bu çalışmada da aynı amaçla Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan 670 adet kan serumu IBR/IPV nötralizan antikorları yönünden test edilerek %52.83 oranında seropozitiflik bulunması daha önce aynı yönde çalışmış olan çeşitli araştırmacıların (18,19,25) bulmuş oldukları sonuçlarla paralellik göstermektedir. Forschner (14) Federal Almanya'daki sürülerin %70'inde %20 oranında seropozitiflik tesbit etmiştir. Seropozitif sürülerde yaş gruplarına göre 1 yaşından küçüklerde %5.7, yetişkinlerde gittikçe artan oranlarda 8 yaşa kadar %18.6 seropozitiflik tesbit etmiştir. Hassan ve Karar (19) Sudan'da yapmış oldukları araştırmada virus nötralizasyon testleri ile test ettikleri 452 serum örneğinin %21'ini seropozitif bulmuşlardır. Türkiye'de ilk çalışma Erhan ve arkadaşları tarafından yapılmış (13) iki farklı işletmede bulunan sığırlarda %20 ve %29 oranında seropozitiflik belirlenmiştir. Burgu ve Akça (5) Gelemen devlet üretme çiftliğindeki 61 adet sığır serumunun 31 adedini (%55.73) IBR/IPV yönünden antikor taşıyıcısı olarak seropozitif bulmuşlardır. Öztürk ve ark. (25) Konya Merkez Hayvancılık Araştırma Enstitüsü sığırlarında mikronötralizasyon test ile yapmış oldukları çalışmada 238 adet sığır kan serumunun %56.3'ünü seropozitif olarak bulmuşlardır. Sığırların 6-15 aylık olanlarında %11.7 ve 25 aylıktan büyüklerinde %85.7 oranında seropozitiflik tesbit etmişlerdir. Bu araştırmada özellikle 2 yaş üzeri ineklerde %72.27, boğalarda %94.6 gibi yüksek bir oran olması, bu boğaların bir kısmının aşılabileceği düşünülse bile bunların bir bölümünün damızlık amaçla kullanılması nedeniyle, latent hayvanlarda virusun çeşitli faktörler etkisi ile zaman zaman reaktif olarak yeniden primer enfeksiyona dönüşebilme ve etrafa saçılabilmesi yönünden önemli olmaktadır. Bu nedenle bu konuda önlemlerin alınmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır (24). İki yaş üzerindeki pozitiflik oranının daha yüksek oluşunun yalnızca boğalara özgü olmadığı, ineklerde de bu durumun söz konusu olduğu dolayısı ile enfeksiyonun ilerleyen yaşla arttığı çeşitli araştırmacılar tarafından da belirtilmiştir (6,25,30). Grunnert ve ark. (17) ve daha yukarı yaşlardaki hayvanlarda antikor saptama olasılığının yüksekliğini IBR/IPV enfeksiyonlarının genital formlarında viremi devrinin oluşmadığına, nötralizan antikorların çok geç meydana geldiğine bağlamaktadırlar.

Bu araştırmanın diğer bölümünde virus izolasyon çalışmaları sonucu hasta bir inekten alınan burun swabından FDB hücre kültüründe IBR/IPV virusu izole ve identifiye edilmiştir. Türkiye’de ilk kez Burgu ve Akça (7) burun akıntısından FDB hücre kültüründe virusu izole etmişlerdir. Bu çalışmada FDB hücre kültüründe virus izole edilirken MDBK hücre kültüründe izole edilememiştir. FDB hücre kültürlerinin MDBK hücre kültürlerine göre virus izolasyonları için daha duyarlı oldukları Sing ve ark. (29) tarafından bildirilmiştir.

Sonuç olarak sığırlarda viral hastalıklar içerisinde önemli bir yeri olan IBR/IPV infeksiyonunun latent özellikte olduğu (20, 26) unutulmamalıdır. Latent inefekte bir yabancı hayvanın kontrolsüz bir şekilde sürüye katılması hastalığın yayılarak problem haline gelmesine neden olur. Bu nedenle ithal edilen damızlık hayvanların, tabi tohumlamada kullanılan boğaların (23,24) ve suni tohumlama için kullanılan spermanın (11,24) hastalığın yayılmasını önlemek açısından virolojik kontrollerinin yapılması gerekmekte ve damızlık olarak seronegatif hayvanların seçilmesi, diğer hayvanlar için ise koruyucu olarak aşı uygulamasına geçilmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. **AKÇA, Y.** (1981): Türkiye’de sığır ve koyunlarda infeksiyöz bovine rhinotracheitis/infeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) üzerinde serolojik araştırmalar. Ankara Üniv. Vet.Fak.Doktora Tezi.
2. **BITSCH,V.**(1973): The IBR-IPV Virus serum neutralization test. Studies on the influence of the virus - serum incubation prior to inoculation. Acta Vet.Scand., 14:767-769.
3. **BITSCH,V.**(1978): Investigation into the basic virus-antibody neutralization reaction, with special regard to the reaction in the constant-virus/varying-serum neutralization test. Acta Vet.Scand., 19:110-128.
4. **BURGU, I.** (1980): Infeksiyöz bovine rhinotracheitis/Infeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV), Koital exanthem / Infeksiyöz bovine nekrotik rhinotracheitis. Vet. Hek. Der. Derg., 50(1-2) 33-40.
5. **BURGU, I. AKÇA,Y.**(1982): Gelemen Devlet Üretme Çiftliği sığırlarında bazı viral infeksiyonlara karşı serolojik araştırmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 29(3-4): 506-512.
6. **BURGU,I., AKÇA,Y.** (1986): Türkiye’de suni tohumlamada kullanılan bazı damızlık boğalarda IBR/IPV infeksiyonu. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 33(1): 113-121.
7. **BURGU,I., AKÇA,Y.** (1987): First isolation of IBR virus in Turkey. Trop. Anim. Health Prot., 19:56.
8. **CUMMINS, M.J., ROSENQUIST, B.D.** (1979): Leucocyte changes and interferon production in calves injected with hydrocortisone and infected with infectious bovine rhinotracheitis virus. Am. J.Vet.Res., 40 (2).
9. **CUNNINGHAM,H.C.** (1956): A Laboratory Guide in Virology. Burgess Publishing.
10. **DINTER, Z.** (1989): Diagnostic Virology Ed. LOPEZ, J.M., Sweden, p.95-110.
11. **DINTER,Z., MOREIN, B.** (1990): Virus infectious of Ruminants. Elsevier Science Publishers B.V. Newyork, p.71-108.
12. **EDWARDS,S., GITAO,G.C.** (1987): Highly sensitive antigen detection procedures for the diagnosis of Infectious Bovine Rhinotracheitis. Vet. Microbiol., 13:135-141.

13. **ERHAN,M., ONAR,B., CSONTOS,L., HOPKINS,I.G.**(1971): Serological survey on some virus and Bedsonia diseases of cattle, sheep and horse. *Pendik Vet.Kont.Arař. Ens.Derg.*, 4(2):55-58.
14. **FORSCHNER,E.**(1988): IBR/IPV Infection: Disease control among infected herds in Federal Republic of Germany. *Vet.Med.Rev.*, 59:139-151.
15. **FRESHNEY,I.R.** (1983): *Cultures of Animal Cells. 2. Edition.* Alan, R. Liss. Inc., Newyork.
16. **GILLESPIE, J.H., TIMONEY, J.F.:** HAGAN and BRINER'S Infectious Disease of Domestic Animals. 7. Edition, Cornell Univ. Press, London, 551559.
17. **GRUNNERT,Z., JAMRICOVA, O. und SKODA,R.** (1967): Serologischer nachweisder infektiösen Rhinotracheitis des Rindes in der Slowakei. *Arch. Exper. Vet. Med.*, 21:1183-1190.
18. **GÜRTÜRK,S., FİNCİ,E., BURGU, İ.** (1975): Yurdumuz sığırlarında enfeksiyöz rhinotracheitis (IBR) üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniv. Vet.Fak.Derg.*, 22(34):104-111.
19. **HASSAN, A.K.M., KARRAR,A.E.** (1988): Point prevalance of bovine herpes virus 1 antibodies in Sudan. *Trop. Anim. Health Produc.*, 20(3):183-184.
20. **HOMAN,E.J.** (1981): Furter studies of naturally occurring latent Bovine herpes virus infection. *Am.Vet.J.Res.*, 42(10): 1811-1813.
22. **KAERBER,G.** (1964): In diagnostic procedures for virus and rickettsial disease. *Public Health Ass. (Newyork)*, 3:48-50.
23. **KAHRS,R.F** (1981): *Viral Disease of Cattle. 1. Edition,* The Iowa State Univ. Press. IOWA, P.135-151.
24. **LUTWIG,H.,GREGERSEN,J.P.** (1986): Infectious bovine rhinotracheitis/ Infectious pustular vulvovaginitis; BHV-1 infections.*Rev. Sci. Tech. Off.Int. Epiz.* 5(4): 869-878.
25. **ÖZTÜRK,F., TOKER,A., YAVRU,S.** (1988): Konya Merkez Havancılık Araştırma Enstitüsü sığırlarında enfeksiyöz bovine rhinotracheitis/ enfeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) üzerinde araştırmalar. *Selçuk Üniv.Vet.Fak.Derg.*,4(1):53-64.
26. **PASTORET,P.P., THIRY,E.** (1985): Diagnosis and Prophylaxis of Infectious Bovine Rhinotracheitis; the rol of virus latency. *Comp. Immun. Microbiol. Infec.Dis.*, 8(1): 35-42.

27. PETERSON, R.B., GOYAL, S.M.(1988): Propagation and quantitation of animal herpes viruses in eight cell cultures systems. *Comp. Immun. Microbiol. Inf.Dis.*, 11(2): 93-98.

28. PODRIQUEZ, L.L., FERNANDEZ, S. (1987): Isolation of bovine herpes virus 1 associated with cases of vulvovaginitis, conjunctivitis and rhinitis in dairy cattle herds in Costa Rica. *Ciencias Veterinarias*, 9 (2-3): 267-271.

29. SINGH, B.K., SREENIVASAN, M.A., TONAGAONKAR, S.S., KANT, R., CHOUDHURY, P.N. R.(1986): Isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from semen and aborted materials of dairy cattle. *Indian J. Anim. Sci.*, 56(8):823-826.

30. YILMAZ, F. (1992): Elazığ ve çevresindeki infeksiyöz bovine rhinotracheitis -infeksiyöz pustular vulvovaginitis (IBR/IPV)'nin serolojik araştırılması. *Tar.Köy.İşl.Bak.Uzmanlık Tezi, Elazığ.*