

**KOYUN VE KEÇİLERDE KÜÇÜK RUMİNANLARIN  
VEBASI (PESTE DES PETİTİS RUMİNANTS) VE SİĞİR  
VEBASI ENFEKSİYONLARININ SEROLOJİK VE  
VİROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI\***

**SEROLOGICAL AND VIROLOGICAL INVESTIGATION  
OF RINDERPEST AND PESTE DES PETİTİS  
RUMİNANTS IN SHEEP AND GOATS**

Nigar TATAR\*\*

Feray ALKAN\*\*\*

Kabul Tarihi: 16.09.1999

**ÖZET:**

Bu çalışmada klinik ve otopsi bulgularına göre şüpheli olarak değerlendirilen 17 koyun ve 6 keçi sürüsü örneklenmiştir. Bunlardan 15 koyun ve 5 keçi sürüsüne ait 206 kan serum örneği RPV ve PPRV antikorları yönünden test edilmiş, 8 koyun ve 2 keçi sürüsüne ait 38 izolasyon materyalinde RPV ve PPRV izolasyonu çalışmaları yapılmıştır.

Kan serum örnekleri RP ve PPR C-ELISA testi ile test edilmiş ve RPV antikoruna saptanmamıştır. Koyun serumlarının %87,95'i keçi serumlarının %90,00'ü PPRV antikorları yönünden pozitif bulunmuş, bu oranlar aynı zamanda PPR için morbidite oranı olarak kabul edilmiştir. Virus izolasyon çalışmalarında PDB ve PKB hücreleri kullanılmış, izolasyon materyallerinin 3'ünde PKB hücrelerinde CPE oluşturan bir etken tespit edilmiştir. Türkiye'de ilk defa CPE pozitif izolatlar I-ELISA testi kullanılarak PPRV olarak tanımlanmıştır. İzolatların Vero-R hücrelerindeki CPE şekilleri, hücre yuvarlaklaşması, İS ve İn inklüzyon cisimcikleri ve sinsityal hücreler olarak belirlenmiştir.

Gerçekleştirilen serolojik ve virolojik çalışmalar sonucunda, koyun ve keçilerde görülen şüpheli vakaların PPR olduğu, örnekle-

\* Aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir.

\*\* Etlık Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü / ANKARA

\*\*\* A.Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı / ANKARA

nen şüpheli sürülerde RP enfeksiyonlarının bulunmadığı tespit edilmiştir.

**Anahtar sözcükler:** ELISA, koyun ve keçi, küçük ruminantların vebası virusu, sığır vebası, Türkiye

## SUMMARY

Serological and Virological Investigation of Rinderpest and Peste des Petits Ruminants in Sheep and Goats.

In this study 17 sheep and 6 goats suspected flocks were sampled. Sera sample were taken 15 sheep, 5 goats flocks, and tested for antibody, 38 specimens from 8 sheep and 2 goats flocks, were used for virus isolation.

Serum samples were tested using RP and PPR C-ELISA and all sera sample seronegative for RP antibodies, and %87,95 of sheep and %90,00 of goats sera sample were found seropositive for PPR antibodies. Virus isolation study was carried out in PCK and PLK cells and 3 specimens out of 38 formed CPE in PLK cells. All isolates were identified PPRV using I-ELISA. CPE of isolates characterised cell rounding, multinucleated syncytia formation, intracytoplasmic and intranuclear inclusion bodies in Vero-R cells monolayers.

As a result in this study, suspected RP and PPR cases in sheep and goats were PPR and RP infection was absent in sampled flocks.

**Key words:** ELISA, sheep and goats, peste des petits ruminants, rinderpest, Türkiye

## 1. GİRİŞ

Küçük ruminantların vebası (Peste des Petits Ruminants = PPR) koyun ve keçilerde, sığır vebası (Rinderpest = RP) ise, özellikle sığır ve mandalarda yüksek ateş, sindirim sistemi mukozasında hemoraji, erozyonlar, gastro-enteritis ve ishal ile karakterize, mortalite ve morbidite oranları yüksek viral hastalıklardır. PPR'de bu semptomlara ilave olarak bronkopnömoniye de oldukça sık rastlanır (19,63,74).

Koyun ve keçilerde doğal RP enfeksiyonlarının Afrika'da (7,23,61,80,81) Hindistan'da (46,56,62,66) ve İran'da (48) görüldüğü bildirilmektedir. Günümüzde PPR, subtropikal Afrika ülkeleri, Arap Yarımadası (43,73), Orta Doğu ülkeleri, Pakistan, Hindistan, Af-

ganistan, Bangladeş ve Nepal'de (22,39,68) görülmekte olup, ekonomik önemini korumakta ve hastalığın görülmediği ülkeler için potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır.

Sığır vebası virusu (RPV) ve peste des petits ruminants virusu (PPRV) Paramyxoviridae familyasının, morbillivirus grubu içinde yer alır ve her iki virus arasında antijenik yakınlık bulunmaktadır (14,15,31,44). RPV tek tip olup, farklı virülens özellik gösteren suşları mevcuttur (16,50,59,77). PPRV serolojik olarak tek tiptir ve değişik virülens özellik gösteren suşlarının olabileceği bildirilmektedir (68). RPV ve PPRV için mevcut izolatların filogenetik ağacı çıkarılmış ve filogenetik yakınlığın virülens ile direkt ilişkisinin olmadığı bildirilmiştir (16,68,77).

RPV ile doğal enfeksiyonlar sadece çift tırnaklı hayvanlarda görülür. Evcil çift tırnaklı hayvanlar özellikle sığır ve mandalar hastalığa çok duyarlıdır (51,63). Yabani hayvanlar içinde enfeksiyona duyarlı türler bulunmaktadır (5,24,51,54,73).

Koyun ve keçilerde RP ile ilgili çalışmalarda doğal şartlarda RP enfeksiyonunun şekillendiği, ancak virus saçılımının sığırlarla karşılaştırıldığında bu türlerde daha kısa sürdüğü saptanmıştır (7,80,81,82). Afrika'da yapılan çalışmalarda keçilerde tipik RP semptomları görülürken, koyunlarda klinik semptomların çok belirgin olmadığı (80,81), ancak Hindistan'da doğal RP enfeksiyonlarında klinik semptomların her iki türde de belirgin olduğu bildirilmektedir (55).

RP'nin koyun ve keçilerden sığırlara naklinin doğal şartlarda mümkün olduğu, ancak dış ortama saçılan virusun miktarının azlığı nedeniyle yakın temasın gerektiği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (12,26,27,55). Ancak Anderson ve ark. (6) tarafından 1987'de Sri Lanka'da sığırlarda görülen RP enfeksiyonlarının, Hindistan'dan subklinik enfekte keçi nakli sonucu şekillendiğini bildirilmiştir. Küçük ruminantların, hastalığın sığırlara bulaşmasında, RP salgınlarının özellikle ilk dönemlerinde, önemli rol alabileceği bildirilmiştir (6,56).

PPRV'un doğal konakçıları koyun ve keçilerdir. Her iki tür arasında duyarlılık açısından önemli farklılıklar mevcuttur (2,4,37,57). Fakat Taylor ve Abegunde (75) Nijerya'da görülen PPR olaylarında, her iki türünde benzer şiddette etkilendiklerini gözlemlemişlerdir. Hindistan'da PPR olaylarında çoğunlukla koyunların etkilendiği bildirmiş (46,67) ise de, Kulkarni ve ark. (36) Hindistan'da keçilerde PPR'nin yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olduğunu belirtmişler-



dir. Sığır ve domuzlar ise gerek doğal, gerekse deneysel PPRV enfeksiyonlarında son konakçıdırlar (18,75). Anderson (5) tarafından yabancı hayatta PPRV'un ekolojisi ile ilgili bilgilerin yeterli olmadığı ve özellikle Orta Doğu Ülkelerinde, ceylanların PPR'nin epidemiyolojisinde önemli olabileceği bildirilmiştir.

Koyun ve keçilerde RP, hayvanların direncine, alınan virus miktarı ve virülensine bağlı olarak akut veya subklinik bir seyir izler. Yüksek oranda ölümlerle sonuçlanan doğal enfeksiyonlar Hindistan'da görülmektedir (65). PPR'de ise klinik seyir hastalığın ekzotik veya endemik olmasına, hayvanın türüne, yaşına ve alınan virus miktarına bağlı olarak perakut, akut ve subakut seyre kadar değişen farklılıklar gösterir (11,19,37).

Her iki hastalıkla mücadelede RPV ve PPRV'un antijenik yakınlıklarından dolayı Plowright ve Ferris (53) tarafından geliştirilen attenü RP doku kültürü aşısı kullanılmaktadır (19,37,72). Mariner ve ark. (41) tarafından geliştirilen ısıya dayanıklı Vero adapte RP aşısı, heterolog aşı olarak keçilerde PPRV'na karşı kullanılmış ve yeterli immun cevabın şekillendiği bildirilmiştir (42). RP rekombinant aşı üretim çalışmalarının henüz araştırma ve saha denemeleri aşamasında olduğu bildirilmektedir (47,58,79)

PPR karşı homolog aşı üretimi amacıyla PPRV'un Nijerya 75/1 patojen suşunun attenüasyon çalışmaları sonucunda PPRV Nijerya 75/1 suşu aşı tohum suş haline getirilmiş ve Vero hücre kültüründe aşı üretimine geçilmiştir (21,22) Cauacy- Hymann ve ark., (17) tarafından attenü PPR aşısının heterolog aşı olarak sığırlara uygulandığı ve sığırları RP enfeksiyonlarına karşı koruduğu bildirilmektedir

Türkiye'de son yıllarda koyun ve keçilerde RP ve PPR'den şüpheli klinik vakalar bildirilmiş olmasına rağmen, bu konu ile ilgili çalışmalar PPR enfeksiyonlarının patolojik bulguları ile sınırlı olup (3), RP ve PPR şüpheli vakaların etiyolojilerinin belirlendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma, klinik olarak koyun ve keçilerde görülen RP veya PPR şüpheli vakaların serolojik ve virolojik olarak araştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1 . Materyal

**2.1.1. Hücre Kültürü:** Virus izolasyon çalışmaları için primer dana böbrek (PDB) ve primer kuzu böbrek (PKB) hücreleri, virus



adaptasyonu ve titrasyonu için ise Vero-R hücreleri kullanıldı. Primer hücrelerde virus izolasyon çalışmalarında HANK'S vasatı, izolatların adaptasyonu ve referens virusun üretilmesinde ise Glasgow Minimal Essential Medium<sup>1</sup> (GMEM) kullanıldı.

**2.1.2. Virus:** İzolatların adaptasyon ve identifikasyonunda referens virus olarak Pirbright Hayvan Sağlığı Enstitüsü, İngiltere'den (Pirbright Institute Animal Health) temin edilen PPRV'un Nijerya 75/1 suşu kullanıldı.

**2.1.3. Dana Serumu:** Virus izolasyon, adaptasyon ve titrasyonu ile hücrelerin üretilmesinde ticari olarak temin edilen fetal dana serumu<sup>2</sup> (FDS) kullanıldı.

**2.1.4. Örneklenen Sürüler:** Bu çalışmada, 17 koyun ve 6 keçi sürüsü olmak üzere toplam 23 sürü serolojik ve virolojik çalışmalar için örnekledi. Örneklenen sürüler Çizelge 1'de gösterildi. Koyun ve keçilerde serolojik olarak RPV ve PPRV antikörlerinin saptanması amacıyla, 15 koyun ve 5 keçi olmak üzere toplam 20 sürü örnekledi. Hastalığı geçiren şüpheli sürülerde, kan alınacak hayvanların örneklenmesinde klinik semptomlar kriter olarak değerlendirilmedi. Ancak maternal antikörleri değerlendirme dışında tutabilmek için 6 aylıktan büyük hayvanlardan, tesadüfi örnekleme ile kan serumları alındı. Şüpheli sürülerde örnekleme oranı %3,6 olarak tespit edildi. Şüpheli klinik semptom gösteren ve seropozitif sürülerin saptandığı yerleşim birimlerindeki vakalar takip edilerek izolasyon materyalleri alınacak sürüler seçildi. 8 koyun ve 2 keçi sürüsü olmak üzere toplam 10 sürü virolojik yoklamalar için örnekledi. İzolasyon materyallerinin alınmasında şüpheli klinik semptom görülen sürülerde, ölen yada öldürülen hayvanlara otopsi yapıldı. Defibrine kan örnekleri ise beden ısısı yüksek hayvanlardan temin edildi.

**2.1.5. Serum Örnekleri :** Serolojik testlerde, 15 koyun sürüsüne ait 166 koyundan ve 5 keçi sürüsüne ait 40 adet keçiden sağlanan toplam 206 adet kan serum örneği kullanıldı. Serum örneklerinin dağılımı Çizelge 1'de gösterildi. Kan serum örneklerinin sağlandığı sürülerde tespit edilen bulgular; 3-10 gün arasında değişen inkubasyon süresi, durgunluk, iştahsızlık, 41-41,5°C'ye ulaşan yüksek ateş, konjunktivitis, seröz göz ve burun akıntısı, değişik şiddette eroziv stomatitis, ilerleyen vakalarda ülseratif stomatitis, ishal, öksürük

1) Sigma Cat. No. M-0268.

2) Biochorom. Cat. No. S0113.

ve ölüm olarak kaydedildi. Bunun yanısıra 14 nolu sürüde kuzular-  
da perakut ölümler yetişkin hayvanlarda ise herhangi bir semptom  
tespit edilmedi. 19, ve 20 nolu sürülerde ise etiyolojisi açıklanamayan  
abortların dışında herhangi bir bulguya rastlanmadı.

**Çizelge 1.** Örneklenen sürü, kan serum örneği ve izolasyon  
materyallerinin dağılımı

SÜRÜ NO	BÖLGE	KOYUN		KEÇİ	
		Kan Serum	İzolas. Örnek	Kan Serum	İzolas. Örnek
1	GD. Anadolu	5	-	-	-
2	İç Anadolu	5	-	-	-
3	Marmara	40	4	-	-
4	Ege	5	-	-	-
5	Ege	2	-	-	-
6	İç Anadolu	11	3	-	-
7	Ege	5	-	-	-
8	Ege	-	-	16	9
9	Ege	4	1	-	-
10	Ege	-	-	3	-
11	Ege	-	-	4	-
12	Akdeniz	-	-	7	-
13	Akdeniz	-	-	10	-
14	Akdeniz	5	4	-	-
15	Akdeniz	5	6	-	-
16	Doğu Anadolu	17	5	-	-
17	Marmara	6	-	-	-
18	Marmara	10	-	-	-
19	Ege	19	-	-	-
20	Marmara	27	-	-	-
21	GD. Anadolu	-	2	-	-
22	İç Anadolu	-	1	-	-
23	Ege	-	-	-	3
<b>TOPLAM</b>		<b>166</b>	<b>26</b>	<b>40</b>	<b>12</b>

**2.1.6. İzolasyon Materyalleri:** Klinik semptomlar ve otopsi bulgularına göre RP ve PPR'den şüphelenilen toplam 8 adet koyun sürüsüne ait 18 adet hayvandan sağlanan, 8 akciğer, 5 lenf yumrusu, 5 dalak ve 8 defibrine kan örneği, 2 keçi sürüsüne ait 6 adet hayvandan sağlanan, 3 akciğer, 3 lenf yumrusu, 3 dalak, 1 swap ve 2 defibrine kan örneği olmak üzere toplam 38 adet izolasyon materyali kullanıldı. İzolasyon materyallerinin dağılımı Çizelge1'de özetlendi.

**2.1.7. ELISA Kitleri:** RP eradikasyon çalışmaları için sağlanan RP ve PPR C-ELISA1 kitleri antikor tespiti, I-ELISA<sup>1</sup> kiti ise izolatların identifikasyonu amacıyla kullanıldı.

## 2.2. Metot

**2.2.1. PDB ve PKB Hücre Kültürlerinin Hazırlanması:** Bu amaçla Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde bulunan ve periyodik olarak sağlık kontrolleri yapılan hayvanlardan doğan günlük kuzu ve danalara ait böbrekler kullanıldı. Hücrelerin hazırlanması, muhafazası ve sterilite kontrollerinde Fresney (29) bildirdiği metotlar uygulandı.

**2.2.2. Kan Serum Örneklerinin Hazırlanması:** Kaolinli<sup>2</sup> tüplere alınan kan örnekleri pıhtılaştıktan sonra 10 dakika 1500 devirde santrifüje edilerek serumlar ayırt edildi. Stok tüplere aktarılarak test edilinceye kadar -20°C'de saklandı.

## 2.2.3. İzolasyon materyallerinin hazırlanması

**2.2.3.1 Doku ve Swap Örnekleri:** Virus izolasyonu amacıyla alınan örnekler 1/10 oranında 1000 IU penisilin/ml ve 10 mg streptomisin/ml antibiyotik içeren HANK'S vasatı içinde homojenize edildikten sonra 30 dakika +4°C de tutuldu ve süspansiyon 3000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Daha sonra süpernatantdan sterilite kontrolü için örnekler alındı ve hücre kültürlerine ekimleri yapılmaya kadar -20°C de muhafaza edildi.

**2.2.3.2. Defibrine Kan Örneklerinin Hazırlanması:** Antikoagülan<sup>3</sup> madde içeren (etilendiamin tetra acetic acid) tüplere alınan defibrine kan örnekleri 1500 devirde 10 dakika santrifüje edildi. Üstteki plazma atılarak lökosit tabakası alındı ve 3 defa HANK'S vasatı

1) *Biological Diagnostic Supplies Ltd., UK*

2) *BD Vacutainer. Cat. No. 0152-15*

3) *LDM, Cat. No. KE<sub>3</sub> 10*



ile yıkandı. Sterilite kontrolü için örnek alındıktan sonra, %10 FDS ve %10 DMSO ilave edilerek 2 ml hacimlerde -20°C de muhafaza edildi.

**2.2.4. İzolasyon Materyallerinin Hücre Kültürlerine İnokulasyonu:** Daha önce kontrolleri tamamlanmış ve -80°C de tutulan PDB ve PKB hücrelerinden usulüne uygun olarak hücre kültürü tüplerine pasajları yapıldı. Hücreler %40 monolayer olduğunda, adsorbsiyona bağlı metotla izolasyon materyallerinin ekimi yapıldı. Hücreler her gün CPE yönünden doku kültürü mikroskopunda<sup>1</sup> kontrol edildi. CPE oranı %80 oranına ulaşan hücre kültürü tüpleri -20°C'ye alındı. CPE göstermeyen hücre kültürleri ise her iki günde bir %2 FDS içeren HANK'S vasatı ile vasatı değiştirilerek 14 gün bekletildikten sonra dondurulup çözdürülerek 3000 devirde santrifüje edildi ve süpernatant bir sonraki pasaj için inokulum olarak kullanıldı. Materyallerin üç kör pasajı yapıldı. İüncü pasajda CPE saptanmayan materyaller negatif olarak kabul edildi.

**2.2.5. I-ELISA Testi:** I-ELISA testi izolasyon çalışmalarında hücre kültürlerinde CPE saptanan materyallere ait izolatların identifikasyonu için kullanıldı (40). I-ELISA testinde, CPE pozitif hücre kültürü süpernatantları şüpheli örnek, PPRV Nijerya 75/1 attenüe suş pozitif örnek, hücre kontrol ve CPE (-) materyallerden birine ait süpernatantlar ise negatif örnek olarak kullanıldı.

**2.2.6. PPRV Pozitif İzolatların Vero-R Hücrelerine Adaptasyonu:** I-ELISA testinde PPRV antijeni yönünden pozitif bulunan izolatların, Vero hücre kültürüne adapte attenüe PPRV Nijerya 75/1 suşu ile CPE şekillerinin karşılaştırılması ve daha sonraki çalışmalarda kullanılması amacıyla Vero-R hücre kültürüne adaptasyonu yapıldı (70). İzolatların PKB hücrelerinde 3. pasajlarını takiben Vero-R hücrelerinde 5 pasajı daha yapılarak 8. pasajda enfekte hücreler H&E ile boyanarak CPE şekilleri saptandı.

**2.2.7. İzolatların Enfeksiyözite Güçleri:** İzolatların infektivite güçlerinin saptanması amacıyla Vero-R hücreleri kullanılarak mikro virus titrasyon metodu uygulandı (60).

**2.2.8. RP ve PPR C-ELISA Testi:** Toplanan kan serum örneklerinde RPV ve PPRV antikorlarının saptanması için C-ELISA testinden yararlanıldı (10).

---

1) Olympus CK

### 3.BULGULAR

**3.1. Hücre Kültürleri:** Virus izolasyon çalışmalarında kullanılan PDB ve PKB hücre kültürlerinde sterilite kontrol testlerinde viral, mikoplazmal ve bakteriyel kontaminasyon saptanmadı.

**3.2. Virus İzolasyon ve Adaptasyonu:** İzolasyon çalışmalarında toplam 38 adet izolasyon materyalinin PDB ve PKB hücre kültürlerine ekimleri yapıldı. Doku kültürü mikroskopunda yapılan kontrollerde 1 toklu akciğer, 1 oğlak akciğer ve 1 kuzu dalak ve lenf yumrusu olmak üzere toplam 3 hayvana ait materyallerde, hücre kültürlerinde CPE oluşturan viral bir etken tespit edildi. İzolasyon sonuçları ve materyaller Çizelge 3.2.'de gösterildi. İlk pasajlarda PKB hücre kültürlerinde 7-9. günde başlayan hücre yuvarlaklaşmasını daha sonra sinsityal hücrelerin oluşması takip etti. Toklu akciğer materyalinde PKB hücrelerinde olduğu kadar belirgin olmamakla beraber 8-10. günlerde PDB hücrelerinde, hücre yuvarlaklaşması ile başlayan CPE saptandı. İzolatların Vero-R hücrelerine adaptasyon çalışmaları sırasında ise CPE oluşum süresinin pasaj sayısına paralel olarak 2 ve 3 nolu izolatlarda 3. güne kadar düştüğü ancak bu sürenin 1 nolu toklu izolatında en az 5 gün olduğu saptandı.

**Çizelge 3.2.** Virus izolasyon bulguları

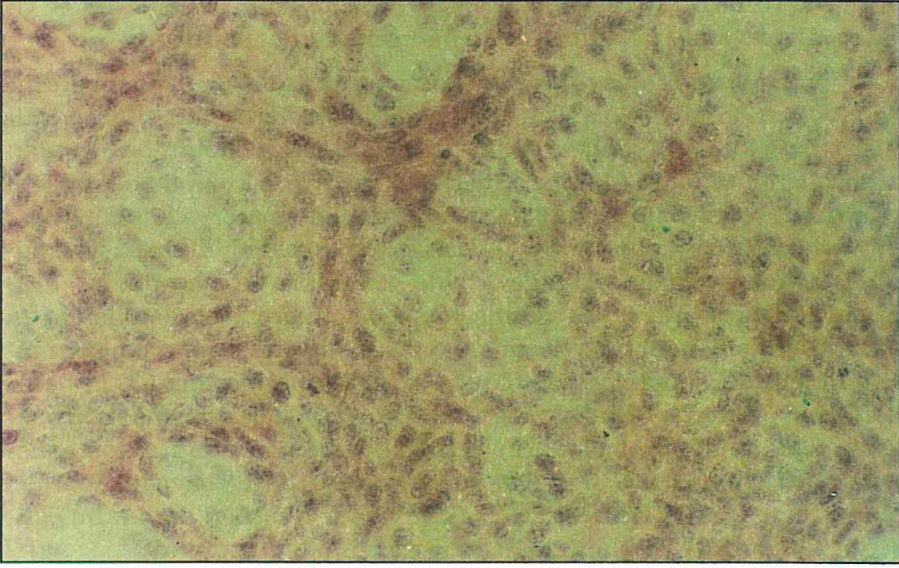
İzolat No	Sürü No	İzolasyon materyali	CPE		
			FKB	FDB	Vero-R
1	22	Toklu/akciğer	+	+	+
2	8	Oğlak/akciğer	+	-	+
3	14	Kuzu/dalak+lenf yumrusu	+	-	+

İzolatların Vero-R hücrelerine adaptasyonu süresinde hücre kültürü lamalarında<sup>1</sup> yapılan H&E boyamalar neticesinde, 3. günde İs inklüzyon cisimciklerinin, 5. günde 2-3 çekirdekli sinsityal hücrelerin, 7. günden sonra ise çok çekirdekli ve İs inklüzyon cisimciği içeren sinsityal hücrelerinin oluşmaya başladığı saptandı. İs inklüzyon cisimciklerinin İn inklüzyon cisimciklerinden daha fazla olduğu görüldü. Sinsityal hücrelerin izolat 3'de izolat 1 ve 2'ye oranla sayı olarak daha az olduğu, ancak sinsityal hücre çekirdek sayısının daha fazla olduğu tespit edildi. Vero-R hücreleri ile izolatların Vero-R hü-

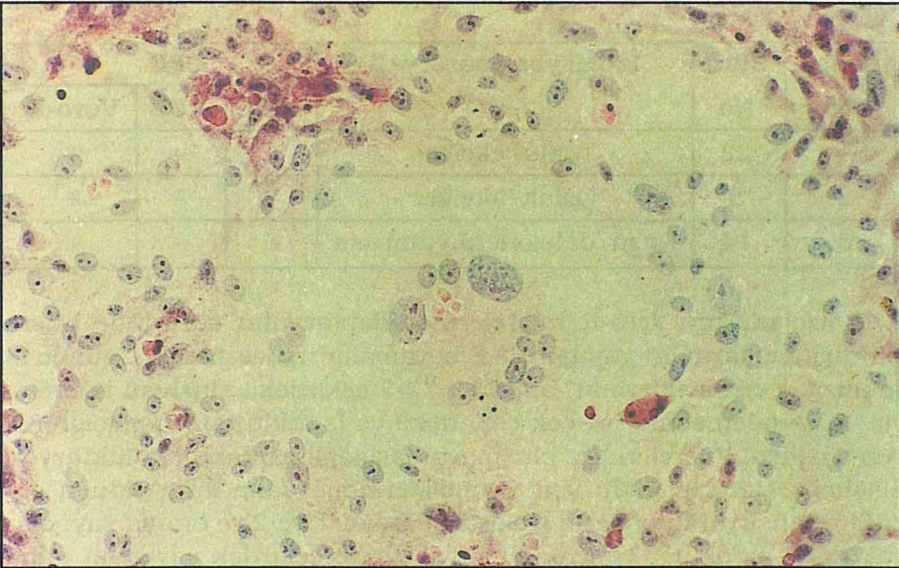
1) NUNC, Lab-Tek Chamber Slide. Cat No. 177402



relerinde oluşturdukları ve H&E boyama ile saptanan CPE şekilleri Resim 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3, 3.2.4'de gösterildi.



**Resim 3.2.1.** Vero-R hücre kontrol x200 H&E

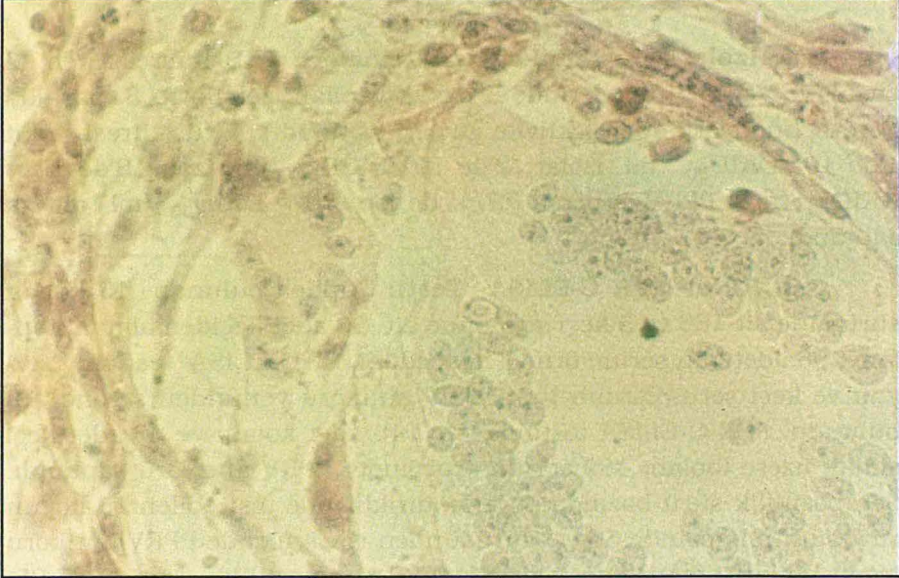


**Resim 3.2.2.** Vero-R hücrelerinde İzolat 2'de oluşan sinsityal hücre (oklar) ve İs inklüzyon cisimcikleri (Is) x200 H&E





**Resim 3.2.3.** Vero-R hücrelerinde İzolat 2'de oluşan sinsityal hücre (oklar) ve İs inklüzyon cisimcikleri (Is) x 200 H&E



**Resim 3.2.4.** Vero-R hücrelerinde izolat 3'de sinsityal hücre (oklar) ve İn inklüzyon cisimciği x200 H&E Inx400 H&E

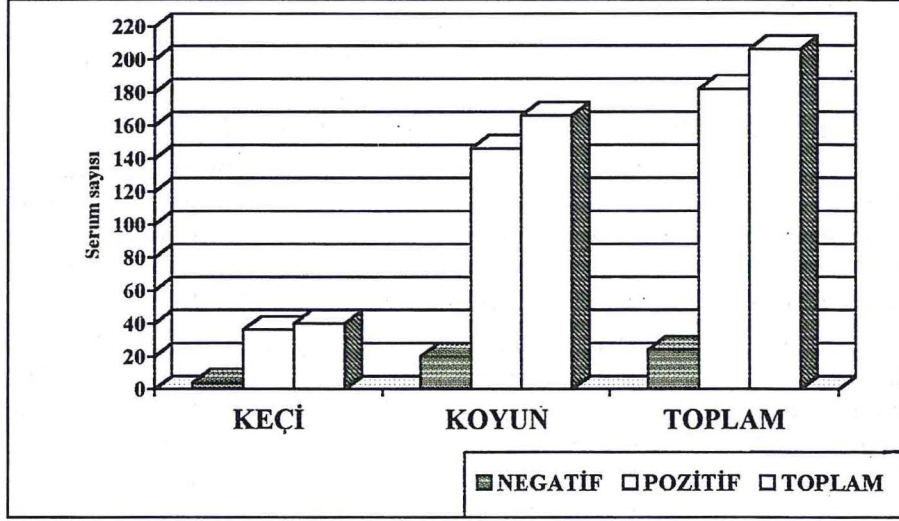
**3.3. I-ELISA Testi:** İzolat süpernatantları ile yapılan I-ELISA testinde her üç izolat da PPRV olarak tanımlanmıştır. Testin değerlendirilmesinde kit protokolü esas alındı ve test sonuçları OD değerleri üzerinden Çizelge 3.3'de gösterildi.

**Çizelge 3.3.** İzolatların I-ELISA testi OD değerleri

	PPR /OD		RP/ OD	
Konj. Kontrol	0.09		0.11	
Ref. Antijen	2.57	2.32	1.07	1.09
PPRV 75/1	2.35	2.35	0.02	0.02
İzolat 1	2.42	2.40	0.02	0.02
İzolat 2	2.89	2.78	0.03	0.03
İzolat 3	2.71	2.58	0.06	0.06
Hücre kontrol	0.04	0.03	0.03	0.03
CPE (-) Örnek	0.03	0.03	0.02	0.02

**3.4. İzolatların Enfeksiyözite Güçleri:** PKB hücrelerinde 3 pasajı ve Vero-R hücrelerinde 5 pasajı yapılan izolatların 8. pasajda Vero-R hücrelerinde enfektivite güçleri saptandı. Virus titresi izolat 1'de  $10^4$  DKID<sub>50</sub> /ml, izolat 2'de  $10^5$  DKID<sub>50</sub> /ml, İzolat 3'de  $10^{4.8}$  DKID<sub>50</sub> /ml, PPRV Nijerya 75/1' de ise  $10^{5.5}$  DKID<sub>50</sub> /ml olarak saptandı.

**3.5. RP ve PPR C-ELISA Testi:** Şüpheli bulunan 15 koyun sürüsüne ait 166 ve 5 keçi sürüsüne ait 40 adet keçiden alınan toplam 206 adet kan serum örneği test edildi. RP C-ELISA testinde koyun ve keçi serumlarının tümü RPV antikoru yönünden seronegatif bulundu. PPR C-ELISA testinde ise, 146 adet koyun ve 36 adet keçi olmak üzere toplam 182 serum örneğinde PPRV antikoru saptandı. Seropozitiflik sürü bazında değerlendirildiğinde test edilen 15 koyun sürüsünün hepsinde 5 keçi sürüsünden ise 4 sürüde PPRV antikoru tespit edildi. Koyun serumlarında PPR seropozitiflik oranı %87,95, keçi serumlarında %90,00 olarak hesaplandı. PPR C-ELISA sonuçları ise Şekil 3.5'de özetlendi.

**Şekil 3.5.** Koyun ve keçi kan serum örneklerinin C-ELISA sonuçları

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Klinik semptomlar ve otopsi bulgularına göre RP ve PPR şüpheli olarak değerlendirilen 15 koyun ve 5 keçi sürüsüne ait, 166 koyun ve 40 keçi olmak üzere toplam 206 kan serum örneği RP C-ELISA ve PPR C-ELISA ile teste tabii tutulmuştur. RP ve PPR C-ELISA testin % 98 duyarlı olduğu bildirilmekle beraber, PPR C-ELISA testinin, RPV antikorları ile çapraz reaksiyon verebileceği belirtilmiştir (9,10). Ancak RP C-ELISA testinin hiç bir şekilde PPRV antikorları ile çapraz reaksiyon vermediği yine aynı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Nijerya'da koyun ve Gambiya'da sığır kan serum örnekleri ile yapılan bir çalışmada her iki testte pozitif bulunan örneklerin gerçekte RPV antikorları yönünden pozitif olduğu saha çalışmaları ile kanıtlanmıştır (9). Bu çalışma süresince yapılan C-ELISA testlerinde herhangi bir çapraz reaksiyon görülmemiştir.

Test edilen toplam 206 serum örneğinin hiçbirinde RP antikoruna saptanmamıştır. 146 koyun ve 36 keçi olmak üzere toplam 182 serum örneğinde ise PPR antikorları tespit edilmiştir. PPR seropozitiflik oranı koyun serumlarında %87,95, keçi serumlarında ise %90 olarak saptanmıştır.

RPV antikorlarının prevalansının belirlenmesi amacıyla Nijerya'da gerçekleştirilen çalışmada klinik semptomlar görülmezsizin se-



ropozitiflik oranı koyunlarda %18,8, keçilerde ise %15,2 olarak bildirilmektedir (49,82). Kenya'da koyunlar için seropozitiflik oranı %24 olarak saptanmıştır (61). Anderson ve ark. (7) Kuzey Tanzanya'da yapmış oldukları prevelans çalışmasında, koyun ve keçilerdeki seropozitiflik oranının %1,6-12,5 arasında farklılık gösterdiğini, yabani hayvanlarda ise bu oranın %2,7 olduğunu bildirmişlerdir.

RP enfeksiyonlarında, özellikle koyunlarda, RPV'un replikasyon hızının düşük olduğu ve klinik semptomların belirgin olmadığı ancak immün cevabın şekillendiği bildirilmiştir. (7,35,55,80,81). Bu nedenle aşısız hayvanlarda RPV antikörlerinin varlığı, subklinik RP enfeksiyonlarının göstergesi olarak kabul edilmiştir. (7,61,82).

Hindistan'da, RPV antikör prevelansı koyunlarda %37, keçilerde ise %29,5 olarak bulunmuş olup, Hindistan'da Afrika ve Arap Yarımadası'ndan farklı olarak subklinik RPV enfeksiyonlarının yanı sıra koyunlarda akut klinik seyrin de görüldüğü bildirilmiştir (56).

Bu çalışma süresince klinik muayeneler ve otopsi bulgularına dayanılarak şüpheli kabul edilen koyun ve keçi sürülerine ait 206 serum örneğinde RPV antikörleri saptanmamıştır. Bununla beraber örneklenen sürü ve serum sayısı göz önüne alındığında bu çalışmadan elde edilen verilere dayanılarak Türkiye'de koyun ve keçilerde akut veya subklinik RPV enfeksiyonlarının bulunmadığını söylemek güçtür. Bu nedenle daha geniş bir populasyon örneklenerek yapılacak seroprevelans çalışmalarının bu konuda daha sağlıklı verileri ortaya koyacağına inanılmaktadır.

Taylor (71) tarafından klinik olarak sağlıklı görünen koyun ve keçilere ait kan serum örnekleri ile yapılan çapraz SNT'te PPRV antikör oranı koyunlarda %57,3, keçilerde ise %43,7 olarak bildirilmektedir. Umman'da ise örneklenen sağlıklı koyunlarda PPRV antikör prevelansı %23,7, keçilerde %24,8 bulunmuştur (76). Lefevre ve ark. (38) Ürdün'de yapmış oldukları çalışmada 6 aylıktan büyük sağlıklı koyun ve keçilerden sağlanan toplam 548 kan serum örneğinin 32'sinde PPRV antikörü tespit etmişler, 8 kan serum örneğinde ise 1/32 titrede RPV antikörü, aynı serumlarda 1/8 titrede PPRV antikörü saptamışlardır. Bu 8 adet serum örneği, RPV antikörleri titrelerinin daha yüksek olması nedeniyle RPV antikörleri yönünden pozitif olarak değerlendirilmiştir. Klinik olarak hastalık görülmesizin antikörlerin tespit edilmesinin nedeni, lokal ırkların direnci şeklinde izah edilmiştir. İran'da yapılan çalışmada ise klinik semptom görülmeyen koyun ve keçilere ait kan serumlarının 1/10 dilüsyonunda, %13 oranında PPRV antikörü tespit edilmiştir (33).

Bu araştırmada, şüpheli değerlendirilen sűrülerde ve 6 aylık-tan büyük hayvanlarda örnekleme yapıldığı için, PPR seropozitiflik oranını morbidite olarak değerlendirmenin daha uygun olacağı kanaatine varılmıştır. Literatür bilgilerde bildirilen PPR morbidite oranları ile koyunlarda %87,95, keçilerde ise %90 olarak tespit edilen oranlar arasında benzerlik saptanmıştır. Sürü olarak değerlendirildiğinde seropozitiflik oranı koyunlarda %90,9 keçilerde ise %77,14 olarak belirlenmiştir.

Kulkarni ve ark., (36) tarafından morbidite oranı genç keçilerde %63,2, yetişkin keçilerde ise %64,7 olarak bildirilmesine karşın, Roeder ve ark., (57) ile Amjad ve ark., (4) tarafından bu oran keçilerde %100 olarak belirtilmiş, başka bir çalışmada ise, morbidite %90 olarak saptanmıştır (2). Yine aynı araştırmacılar tarafından mortalitenin %13-90 arasında farklılık gösterdiği bildirilmektedir. Nanda ve ark. (45) koyunlar için mortalitenin genç hayvanlarda %40-60, yetişkin hayvanlarda ise %10-20, Ramesh Babu ve Rajasekhar, (1988) Hindistan'da koyun ve keçiler için mortalitenin % 44,5-67,8 arasında olduğunu bildirmektedirler. Genel literatür bilgilerde ise duyarlı türlerde PPR için morbidite %90, mortalite ise %50-80 olarak ifade edilmektedir (11).

Bu çalışmada incelenen sűrülerde morbidite, 22 nolu koyun sürüsündeki 8-10 aylık toklularda %20, 8 nolu ve 13 nolu keçi sűrülerinde %100, toplam sürü bazında değerlendirildiğinde ise koyunlar için % 87,95, keçiler için %90 olarak saptanmıştır. Mortalite oranları ise hayvanların türü ve yaşına bağlı olarak geniş sınırlar içinde bulunmuştur. Mortalite 22 nolu sürüde %6 olarak belirlenmiş, 14 nolu sürüde ise yetişkin koyunlarda ölüm görülmez iken, 2 aylık kuzularda mortalite %30 olarak saptanmıştır. 13 nolu keçi sürüsünde bu oranın %9, 8 nolu keçi sürüsündeki 1-2 aylık oğlaklarda %80, yetişkinlerde %32,6 olduğu gözlemlenmiştir. Alçığır ve ark. da (3) mortaliteyi 6-7 aylık kuzular için %30 olarak bildirmektedirler.

Seropozitif bulunan sűrülerden 17 sürüde (1-13, 15-18 nolu sűrülerde) literatür bilgilerde (4,19,36,37) bildirilen, klinik semptomlardan, yüksek ateş, burun ve göz yaşı akıntısı, eroziv ve ülseratif stomatit, ishal, öksürük ve ölümler saptanmıştır. 14 nolu sürüde ise hastalığın kuzularda belirgin semptom oluşmadan genel düşkünlüğü takiben %30 mortalite ile perakut seyir izlediği görülmüştür. PPRV seropozitiflik oranı ortalama %84,7 olarak bulunan, 19 ve 20 nolu sűrülerde ise etiyolojisi tespit edilemeyen abortların dışında her-



hangi bir klinik semptom saptanmamıştır. Literatür bilgilerinde PPR'nin özellikle keçilerde görülen akut klinik seyrinde abortların görülebileceği, fakat tipik bir klinik semptom olmadığı bildirilmesine (2,36) karşın, koyunlar için böyle bir bilgiye rastlanmamıştır. Wosu (78) tarafından abortlar, sinirsel semptomlar ve vulvovaginitisin görüldüğü atipik PPR olgularının görüldüğü bildirilmekle beraber, Barrett (13) tarafından, RP ve PPR vakalarında sinirsel semptomların ve ya meningitisin görülmediği belirtilmiştir.

RPV ve PPRV izolasyon çalışmalarında, beden ısısı yüksek hayvanlardan alınan defibrine kan ve swap örnekleri, açık klinik semptom gösteren hayvanlardan öldürülen veya hastalıktan ölen hayvanlardan sağlanan dalak, akciğer ve lenf yumruları kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda (2,25,69,75) ve OIE standart teşhis metotlarında da bu materyallerin izolasyon çalışmaları için uygun olduğu bildirilmektedir. PPR olaylarında RP'den farklı olarak hastalığın akut döneminde enfekte akciğer dokusunda virus yoğunluğunun  $10^{5.5}$  DKID<sub>50</sub>/ml veya daha yüksek olabileceği bildirilmektedir (1,40). Bu çalışmada toplam 38 izolasyon materyalinden, 2 adedi akciğer olmak üzere 3 adedinde PPRV izole ve identifiye edilmiştir. İzole edilen virusların titresi sırasıyla  $10^4$  DKID<sub>50</sub>/ml ve  $10^5$  DKID<sub>50</sub>/ml  $10^{4.8}$  DKID<sub>50</sub>/ml olarak saptanmıştır. Gerek izolasyonun gerçekleştirildiği dokular gerekse etkenin enfeksiyözitesi dikkate alındığında elde edilen veriler Abegunde ve Adu (1) ve Libeau ve ark. (40)'nın bulgularını destekler niteliktedir. İzolat 3 ise dalak+lenf yumrusu materyalinden izole edilmiştir. İzolasyon gerçekleştirilen (izolat 1 ve izolat 2) 8 ve 14 nolu sürülerden hastalıktan 14 gün sonra alınan kan serum örneklerinde PPR seropozitiflik oranı %100 olarak saptanmış olup serolojik veriler ile virolojik teşhis arasında da paralellik tespit edilmiştir. İzolat 1'in sağlandığı 22 nolu sürüden ise enfeksiyon sonrası oluşan antikorları saptamak amacıyla kan serum örneği sağlanamamıştır.

PPRV izolasyonunda Taylor ve Abegunde (1) FKB hücrelerinde izolasyonu takiben izolatların FDB hücrelerine adaptasyonunun yapılabileceğini, ancak FDB hücrelerinde CPE'nin belirgin olmadığını tespit etmişlerse de, El Hag Ali ve Taylor (25) Sudan'da PPR vakalarında virus izolasyonunun FDB hücrelerinde yapıldığını bildirmişlerdir. Bunun nedeni olarak da izolasyon çalışmalarında kullanılan FDB hücrelerinin duyarlılığının farklı olabileceği iddia edilmiştir. Umman'da PPRV izolasyon çalışmalarında, hem FKB hem de FDB hücrelerinin başarıyla kullanıldığı saptanmıştır. Ancak bu izolatların Ve-



ro hücrelerine adaptasyonunun sağlanmasına rağmen çapraz testler için yeterli titrede virus elde edilememiştir (76). Abu Elzein ve ark. (2) tarafından PPRV izolasyonunda fütal oğlak böbrek hücrelerinin kullanıldığı bildirilmiştir. Hindistan'da ise Shaila ve ark. (69) ve Nanda ve ark. (45) tarafından virus izolasyon çalışmaları fütal hücreler kullanılmadan Vero hücrelerinde gerçekleştirilmiştir.

Şüpheli materyallerden PDB ve PKB hücreleri kullanılarak virus izolasyon çalışmaları tamamlanmış ve virus adaptasyon çalışmalarında ise Vero-R hücreleri kullanılmış olup literatür bilgilerinde bu hücrelerin izolasyon ve adaptasyon çalışmaları için uygun olduğu bildirilmektedir (8,22,31,51,70,74).

Bu çalışmada PPRV izolasyon çalışmalarında PKB hücreleri PDB hücrelerinden daha duyarlı bulunmuştur. İzolat 2 ve 3'de PDB hücrelerinde belirgin bir CPE saptanamazken, izolat 1'de PKB hücrelerinde olduğu kadar belirgin olmamakla beraber 8-10. günlerde PDB hücrelerinde hücre yuvarlaklaşması ile başlayan CPE tespit edilmiştir. Vero-R hücrelerine adaptasyonları sırasında, izolatlar arasında önemli bir fark görülmemiştir. PKB hücrelerinde ilk pasajlarda 7-9. günlerde ilk CPE değişiklikleri tespit edilirken, adaptasyon çalışmalarında bu süre 3-5 gün olarak belirlenmiştir. Bu bulgular Gilbert ve Monnier (32), Gibbs ve ark. (31), Taylor ve Abegunde (75) ve Abu Elzein ve ark. (2) bulguları ile benzerdir.

Gilbert ve Monnier (32) FKB hücrelerinde 6-9. günde CPE saptandığını bildirmişlerdir. Gibbs ve ark. (31) tarafından FDB, FKB ve Vero hücrelerinde 6-15. günde belirgin CPE oluştuğu saptanmıştır. Taylor ve Abegunde (75) ise CPE oluşma süresini 6-12 gün olarak tespit etmişlerdir. Abu Elzein ve ark. (2) tarafından bu sürenin izolasyon çalışmalarında 19. güne kadar çıkabileceği bildirilmiştir. Adaptasyon çalışmaları esnasında Vero hücrelerinde 3-5 gün içinde PPRV'na özgü CPE'lerin oluştuğu bildirilmektedir (2,34).

PPRV'un hücre kültürlerindeki CPE şekli, hücre yuvarlaklaşması İs ve İn inklüzyon cisimcikleri, vakuol ve sinsityal hücrele olarak bildirilmiştir (2,32,34). İzolatların Vero-R hücrelerinde yapılan adaptasyon çalışmalarında H&E boyamalarda tespit edilen CPE şekilleri literatürde bildirilen CPE şekillerine benzer bulunmuştur. Referens virus ile karşılaştırıldığında, izolatlarda inklüzyon cisimcikleri ve sinsityal hücrelerin daha geç oluştuğu görülmüştür. Lefevre ve Diallo (37) tarafından PPRV'un Vero hücrelerinde oluşturduğu sinsit-

yal hücrelerin sayı olarak daha az ve daha küçük olduğu bildirilmektedir.

PPRV izolasyon ve izolatların identifikasyonlarında geçmişte koyun, keçi ve sığırlara deneysel inokulasyonlar ve çapraz nötralizasyon testi başarıyla kullanılmıştır (20). Ancak bu testlerin yerini, uygulamaların uzun zaman alması ve ekonomik olmamaları nedeniyle I-ELISA ve biyomoleküler testler almıştır (22,40). İzolatların identifikasyonunda I-ELISA kullanılmış ve her üç izolat PPRV olarak identifiye edilmiştir. Bu çalışmada izolat identifikasyonu amacıyla kullanılan I-ELISA, OIE standart teşhis metodlarında izolatların identifikasyonu için (8,22) yeterli kabul edilmiştir.

Bu araştırmada gerçekleştirilen klinik, serolojik, virus izolasyon ve identifikasyon çalışmaları sonucu elde edilen bulgular değerlendirilerek Türkiye'de koyun ve keçilerde PPR enfeksiyonlarının yaygın olarak varlığı saptanmıştır. Hastalığın Asya'da yayılmasına paralel olarak Hindistan'dan batıya yayılması esnasında kontrolsüz hayvan hareketleri ile Türkiye'ye geçtiği tahmin edilmektedir. Yapılan moleküler filyasyon çalışmaları da bu görüşü doğrular niteliktedir. Ancak PPR'nin klinik olarak, genç hayvanlarda görülen yüksek oranda ölümlerin dışında dikkat çekmediği ve benzer semptomlarla seyreden hastalıklarla karıştırıldığı ve şüphe edilen bu hastalıklara yönelik tedavi denemelerinin yapıldığı gözlemlenmiştir. Özellikle yetişkin koyunlarda görülen subklinik olayların sahada hiç dikkat çekmediği ve Türkiye'de hastalığın yayılmasının en önemli nedenlerinden birisinin, kontrolsüz subklinik hasta hayvan hareketleri olduğu kanısına varılmıştır.

Bu çalışmada koyun ve keçilerde RPV spesifik antikorlar saptanmamıştır. Bu bulgular örneklenen sürülerde RPV enfeksiyonlarının olmadığı şeklinde değerlendirilmiştir.

### **Teşekkür**

*Bu çalışmanın her aşamasında yapıcı eleştirilerinden dolayı, A.Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, saha ve laboratuvar çalışmalarının yürütülmesini sağlayan Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne teşekkürlerimi sunarken, çalışmalarında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm Etlik Merkez Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Müdürü merhum Uzm.Vet. Hek. Metin KERMAN'ı minnet ve rahmetle anıyorum.*



## KAYNAKLAR

1. **ABEGUNDE AA, ADU FD** (1977). Excretion of the virus of peste des petits ruminants by goats. Bull Anim Hlth Prod Afr 25: 307-311.
2. **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.
3. **ALÇIĞIR G, VURAL SA, TOPLU N** (1996). Türkiye'de kuzularda Peste des petits ruminants virus enfeksiyonunun patomorfolojik ve immunohistolojik ilk tanımı. Ankara Üniv Vet Fak Der 43: 181-189.
4. **AMJAD H, ISLAM Q, FORSYTH M, BARRETT T, ROSSITER PB** (1996). Peste des petits ruminants in goats in Pakistan. Vet Record 139: 118-119.
5. **ANDERSON EC** (1995). Morbillivirus infections in wildlife (in relations to their population biology and disease control in domestic animals. Vet Microbiol 44: 319-332.
6. **ANDERSON EC, HASSAN A, BARRETT T, ANDERSON J** (1990a). Observations on the pathogenicity for sheep and goats and transmissibility of the strain of virus isolated during the rinderpest outbreak in Sri Lanka in 1987. Vet Microbiol 21: 309-318.
7. **ANDERSON EC, JAGO M, MLENGEYA T, TIMMS C, PAYNE A, HIRSI K** (1990b). A serological survey of rinderpest antibody in wildlife and sheep and goats in Northern Tanzania. Epidemiol Infect 105: 203-214.
8. **ANDERSON J, BARRETT T, SCOTT C** (1996). Manual on Diagnosis of Rinderpest. FAO Animal Health Manual, No.1, FAO, Rome
9. **ANDERSON J, Mc CAY JA** (1994). The detection of antibodies against peste des petits ruminants virus in cattle, sheep and goats and the possible implications to rinderpest control programmes. Epidemiol Infect 112: 225-231.
10. **ANDERSON J, Mc CAY JA, BUTCHER RN** (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 p.: 43-53

**11. ANONİM** (1996). Rinderpest. Peste des petits ruminants. OIE Technical Shett Draft

**12. ATA F A, SING KV** (1967). Experimental infection of sheep and goats with attenuated and virulent strains of rinderpest virus. Bull Epizoot Dis Afr 15: 213-220

**13. BARRETT T** (1994). Rinderpest and distemper viruses. In: Encyclopedia of Virology. Academic Press Ltd. p.: 1260-1268.

**14. BARRETT T, BLIXENKRONE-MOLLER M, DI GUARDO G, DOMINGO M, DUIGNAN P, HALL A, MAMAEV L, OSTERHAUS ADME** (1995). Morbilliviruses in aquatic mammals: report on round table discussion. Vet Microbiol 44: 261-265.

**15. BARRETT T, ROMERO CH, BARON MD, YAMANOUCHI K, DIALLO A, BOSTOCK CS, BLACK D** (1993b). The molecular biology of rinderpest and peste des petits ruminants. Ann Med Vet 137: 77-85.

**16. CHAMBERLAIN RW, WAMVAYI HM, HOCKLEY E, SHAILA MS, GOATLEY L, KNOWLES NJ, BARRETT T** (1993). Evidence for different lineages of rinderpest virus reflecting their geographic isolation. J Gen Virol 74: 2775-2780.

**17. COUACY-HYMANN E, BIDJEH K, ANGBA A, DOME-NECH J, DIALLO A** (1995). Protection of goats against rinderpest by vaccination with attenuated peste des petits ruminants virus. Res. Vet. Sci 59: 106-109.

**18. DARDIRI AH, De BOER CJ, HAMDY FM** (1976). Response of American goats and cattle to peste des petits ruminants. Proc 19th Ann Met Am Assoc Vet Lab Diag 377-344.

**19. DIALLO A** (1988). Rinderpest and peste des petits ruminants; constant threats to animal farming in many developing countries. Impact Sci Society 150: 179-192.

**20. 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.

**21. DIALLO A, TAYLOR WP, LEFEVRE PC, 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



**22. 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

**23. EL HAG ALI B** (1973). A natural outbreak of rinderpest involving sheep, goats and cattle in Sudan. Bull Epiz Dis Afr 21: 421-428.

**24. EL HAG ALI B** (1974). The isolation of rinderpest virus from an oribi and red buck in an outbreak involving wild animals. Sudan J Vet Sci Anim Husb 15: 1-10

**25. EL HAG ALI B, TAYLOR WP** (1984). Isolation of peste des petits ruminants virus from the Sudan. Res Vet Sci 36: 1-4.

**26. EL HAG ALI B, TAYLOR WP** (1988). An investigation on rinderpest virus transmission and maintenance by sheep, goats and cattle. Bull Anim Hlth Prod Afr 36: 290-294.

**27. ELENKUMARAN S, GNANABARANAM NF, PALANISWAMI KS, CHANDRAN NDS** (1992). Natural contact transmission of rinderpest from cattle to goats. Indian Vet J 69(11): 1055-1056.

**28. ERK, N, AKKERMAN NC** (1969). Türkiye'de Sığır Vebası Salgınları ve Eradikasyon Tarihi. AÜ Vet Fak Yay. No.242.

**29. FRESNEY RI** (1987). Culture of Animal Cells. Chapter 9,17, 109-126, 207-214, Alan R Liss Inc, New York

**30. FURLEY C W, TAYLOR WP, OBI TU** (1987). An outbreak of peste des petits ruminants in a zoological collection. Vet Record 121: 443-447.

**31. GIBBS EPJ, TAYLOR WP, LAWMAN MJP, BRYANT J** (1979). Classification of peste des petits ruminants virus as the fourth member of the genus morbillivirus. Intervirology. 11: 268-274.

**32. GILBERT Y, MONNIER J** (1962). Adaptation of peste des petits virus to cell cultures. Rev Elev Med Vet Pays Trop 15: 321-335.

**33. HESSAMI M, MOAKHAR RK, KHEDMATI K, SARMAST R** (1994). Seroepidemiology of rinderpest and peste des petits ruminants in sheep and goats in Iran. Arch Inst Razi 44-45: 19-23

**34. JOHNSON RH, RITCHIE SS** (1968). A virus associated with pseudorinderpest in Nigerian dwarf goats. Bull Epizoot Dis Afr 16: 411-417.

**35. KRISHNAN R, RANGA RAO DV** (1972). Experimental rinderpest in sheep. *Cheiron*, 1: 1-7.

**36. KULKARNI D D, BHIKANE AU, SHAILA MS, VARALAKSHMI P, APTE MP, NARLADKAR BW** (1996). Peste des petits ruminants in goats in India. *Vet Record* 138: 187-188.

**37. LEFEVRE PJ, DIALLO A** (1990). Peste des petits ruminants. *Rev sci tech Off int Epiz* 9 (4): 951-965.

**38. LEFEVRE PJ, DIALLO A, SCHENKEL F, HUSSEIN S, STAAK G** (1991). Serological evidence of peste des petits ruminants in Jordan. *Vet Record* 128: 110.

**39. LIBEAU G** (1997). Antigen capture ELISA for differential diagnosis of rinderpest and peste des petits ruminants. Report on the Third Meeting of TC Regional Coordination Project RAW/5/004, Amman, Jordan, June 22-26, 1997.

**40. 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.

**41. MARINER JC, HOUSE JA, MEBUS CA, SOLLOD A, STEM C** (1991). Production of a thermostable vero-cell adapted rinderpest vaccine. *J Tiss Cult Meth* 13: 253-256.

**42. MARINER JC, HOUSE JA, MEBUS CA, VAN DEN ENDE MC** (1993). The use of thermostable vero-cell adapted rinderpest vaccine as a heterologous vaccine against peste des petits ruminants. *Res Vet Sci* 54: 212-216.

**43. MOUSTAFA T** (1993). Rinderpest and peste des petits ruminants ñ like disease in the Al ñ Ain region of the United Arab Emirates. *Rev sci tech Off int Epiz* 12 (3): 857-863.

**44. MURPHY FA, FAUQUET CM, BISHOP DHL, GHABRIAL SA, JARVIS AW, MAETELLI GP, MAYO MA, SUMMERS MD** (1995). Paramyxoviridae. In: *Virus Taxonomy Classification and Nomenclature*. Springer Verlag, Wien, Newyork, p. 268-274.

**45. NANDA YP, CHATTERJEE A, PUROHIT AK, DIALLO A, INUI K, SHARMA RN, LIBEAU G, THEVASAGAYAM J, BRÜNING 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.



**46. NARAYANASWAMY M, RAMANI K** (1973). Preliminary studies on rinderpest virus isolated from outbreak in sheep in Mysore State. *Ind Vet J* 50: 829-832.

**47. NGICHABE CK, WAMWAYI HM, BARRETT T, NDUNGU EK, BLACK ND, BOSTOCK CS** (1997). Trial of a capripoxvirus-rinderpest recombinant vaccine in African cattle. *Epidemiol Infect* 118: 63-70.

**48. NOURI M, MEAKHAR RK, MAHRAMI M** (1997). An outbreak of rinderpest in sheep and goats in west of Iran. *Indian Vet J* 74: 5-7.

**49. 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.

**50. PLOWRIGHT W** (1963). Some properties of strains of rinderpest virus recently isolated in East Africa. *Res Vet Sci* 4: 96-108.

**51. PLOWRIGHT W** (1968). Rinderpest virus. In: Monograph in Virology 3. Springer Verlag, Wien, New York, p.: 25-110.

**52. PLOWRIGHT W, FERRIS RD** (1962a). Studies with rinderpest virus in tissue culture. A technique for the detection and titration of virulent virus in cattle tissues. *Res Vet Sci* 3: 94-103.

**53. PLOWRIGHT W, FERRIS RD** (1962b). Studies with rinderpest virus in tissue culture. The use of attenuated culture virus as a vaccine for cattle. *Res Vet Sci* 3: 172-182.

**54. PROVOST A** (1980). Queries about rinderpest in African wild animals. In: *Wildlife Disease Research and Economic Development*. Eds. L. Kerstad, B. Nestel, G. Graham. Proc. Workshop, Kabette, Kenya, September, 1980, p.: 19-20.

**55. RAMANI K, CHARLES YS, RAMACHANDRAN S** (1974). Further studies on rinderpest virus of sheep origin. *Indian Vet J* 51: 129-138.

**56. RAMESH BABU NG, RAJASEKHAR M** (1988). Prevalence of rinderpest antibodies in sheep and goats in Southern India *Vet Record* 123: 595-597.

**57. ROEDER P L, ABRAHAM G, KENFE G, BARRETT T** (1994). Peste des petits ruminants in Ethiopian goats. *Trop Anim Hlth Prod* 26: 69-73.

**58. ROMERO CH, BARRETT T, KITCHING RP, BOSTOCK C, BLACK DN** (1995). Protection of goats against peste des petits ruminants with recombinant capripoxviruses expressing the fusion and haemagglutinin protein genes of rinderpest virus. *Vaccine* 13(1): 36-40. (Abstract)

**59. ROSSITER PB, JAMES AD** (1989). An epidemiological model of rinderpest. II. Simulations of the behaviour of rinderpest virus in populations. *Trop Anim Hlth Prod* 21: 69-84.

**60. ROSSITER PB, JESSET DM, TAYLOR WP** (1985). Micro-neutralisation systems for use with different strains of peste des petits ruminants virus and rinderpest virus. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 17: 75-81.

**61. ROSSITER PB, JESSET DM, TAYLOR WP** (1982). Neutralising antibodies to rinderpest virus in sheep and goats Western Kenya. *Vet Record* 111: 504-505.

**62. SARMA BJR, GOPALAKRISHNA MURTY K, VENKATA REDDY TV, SAMBA MURTI B** (1973). Rinderpest in cattle and sheep. *Indian J Anim Hlth* 18: 19-22.

**63. SCOTT GR** (1990). Rinderpest. Peste des petits ruminants (Goat plaque). In: *Virus Infections of Ruminants*. Edd: Z. Dinter, B. Morein, Elsevier Science Publisher, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, chapter, 32-33 p.: 341-361.

**64. SCOTT GR, PROVOST A** (1992). Global eradication of rinderpest . In: *Expert consultation on strategy for global rinderpest eradication programme*. FOA, 27-29 October, 1992, Rome

**65. SCOTT GR, TAYLOR WP, ROSSITER PB** (1986). *Manual on the Diagnosis of Rinderpest*. FAO Anim Prod and Health Series. No: 23, Rome.

**66. SHAILA MS, BHAVSAR DA, GOPAL T, RAMESH BABU NG, SRIPAD K** (1990a). Preliminary observations on the isolation and identification of rinderpest virus from an ovine outbreak in Karnataka state. *Indian Vet J* 67: 383-384.

**67. SHAILA MS, PURUSHOTHAMAN V, BHAVSAR DA, VENU-GOPAL K, VENKATESAN RA** (1989). Peste des petits ruminants of sheep in India. *Vet Record* 125: 602



**68. SHAILA MS, SHAMAKI D, FORSYTH M, DIALLO A, GOATLEY L, KITCHING P, BARRETT T** (1996). Geographic distribution and epidemiology of peste des petits ruminants. *Virus Res* 43: 149-153.

**69. SHAILA MS, VENUGOPAL K, PURUSHOTHAMAN V, VENKATESAN RA** (1990b). Isolation and characterization of peste des petits ruminants virus from an outbreak in Tamilnadu sheep. *Indian Vet J* 67: 385-386.

**70. SING RK, BHAT PN, BHAT PP** (1996). Methods for adaptation of rinderpest virus to in vitro growth in vero cells. *Int J Anim Sci* 11: 71-74.

**71. TAYLOR WP** (1979a). Serological studies with the virus of peste des petits ruminants in Nigeria. *Res Vet Sci* 26: 236-242.

**72. TAYLOR WP** (1979b). Protection of goats against peste des petits ruminants with attenuated rinderpest virus. *Res Vet Sci* 27: 321-324.

**73. TAYLOR WP** (1984). The distribution and epidemiology of peste des petits ruminants. In: *Impact of Diseases on Livestock Production in the Tropics*. Ed: H P Riemann, M J Burr ridge, Elsevier, p.: 157-166.

**74. TAYLOR WP** (1996). Rinderpest. In: *OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines*. Chapter, 2.1.4. p.: 69-76.

**75. TAYLOR WP, ABEGUNDE A** (1979). The isolation of peste des petits ruminants virus from Nigerian sheep and goats. *Res Vet Sci* 26: 94-96.

**76. TAYLOR WP, AL BUSAIDY S, BARRETT T** (1990). The epidemiology of peste des petits ruminants in the Sultanate of Oman. *Vet Microbiol* 22: 341-352.

**77. WAMWAYI HM, FLEMING M, BARRETT T** (1995a). Characterisation of African isolates of rinderpest virus. *Vet Microbiol* 44: 151-163.

**78. 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.

**79. YILMA T, GIAVEDONI L, SALIKI J, BROWN C, MEBUS C, JONES C** (1992). Protection of goats against peste des petits rumi-

nants by a vaccinia virus double recombinant expressing the F and H genes of rinderpest virus. Procc. 96th Ann. Meet.US Anim Hlth Assoc Kentucky, October 31-November 6-1992.

**80. ZWART D, MACADAM I** (1967a). Transmission of rinderpest by contact from cattle to sheep and goats. Res Vet Sci 8: 37-47.

**81. ZWART D, MACADAM I** (1967b). Observations on rinderpest in sheep and goats and transmission to cattle Res Vet Sci 8: 53-57

**82. ZWART D, ROWE LW** (1966). The occurrence of rinderpest antibodies in the sera of sheep and goats in Northern Nigeria. Res Vet Sci 7: 504-511