

## BİR BOĞA SPERMASINDAN İLK DEFA İZOLE ve İDANTİFİYE EDİLEN «MİYAGAWAVENELLA BOVIS»

Dr. Salih YILMAZ (\*)

### GİRİŞ

Psittakosis lymphogranuloma venereum (PLV) grubu mikro-organizmleri gerek insanlarda ve gerekse hayvanlarda önemi küçümsenemeyecek derecede ağır enfeksiyonların meydana gelmesine sebep olurlar.

Bu gruptaki ajanlardan Miyagawanella psittaci ve ornithose ; birincisi papağanlarda, muhabbet kuşlarında ve güvercinlerde, ikincisi ördek ve hindilerde sırasıyla psittakosis ve ornithosis enfeksiyonlarının zuhuruna ve sonra hastalık; çeşitli yol ve tarzla insanlara geçmektedir.

Enfeksiyon insanlarda oldukça ağır seyretmekte, yüksek ateş, şiddetli baş ağrısı, photophobia, öksürük ve uyuyamama symptomlarıyla karakterize olmaktadır. Ağır vak'alarda ölüm oranı % 20 - 40 arasında değişmektedir.

Koyun ve keçilerde enzootic abortion ile bu hayvanların pnömopatiyelerinin zuhurunda büyük rol oynayan **Miyagawanella ovis** ve sığırlarda enzootic abortion yapan ve onların pnömopatiyelerine iştirak eden «**Miyagawanella bovis**» psittakosis lymphogranuloma grubundadırlar.

(\*) Virusi Abertuslar Laboratuvarı Şefi

Bu gruptan son iki ajan; intensiv sığır ve koyun yetiştiriciliğinin yapıldığı çiftliklerde enzootik karakterde yavru atımına sebebiyet vermelerinden ve adı geçen hayvanların pnömopatielerinin husulünde iştirakleri olduğundan büyük ekonomik kayıplara yol açmaktalar ve hayvan yetiştiriciliğini engellemektedirler. Dolayısıyla iyi vasıflı damızlık üretimi güçleşmektedir.

Bu mesaide; kan serumunda serolojikman Complement - fixasyon test'ile PLV grubu ajanlarına ait spesifik antikorların tesbit edilmiş olduğu bir boğadan taze ve soğuk şartlarda temin edilen Sperma mayiinden embryonlu tavuk yumurtası kültüründe izole ve idantifiye edilen «Miyagawanella bovis» ten söz edilecektir.

#### LİTERATÜR BİLGİSİ

York, c.f. (1951) araştırmacı İthaca eyaletinde danaların barsaklarından ve gaitalarından yeni bir virus izole ettiğini ve bu ajanın elementer cisimcikler hasıl ettiğini, morfolojik ve antijenik karakteri bakımından PLV grubu viruslarına benzediğini ve bu etkene «Miyagawanella bovis» adının verildiğini, aynı araştırmacı ve mesai arkadaşı Baker, J.A. (1951) müteakip çalışmalarında izole ettikleri virusun gerek kobaylarda ve gerekse embryonlu tavuk yumurtalarında elementary bodies'in teşekkülüne sebebiyet verdiklerini, ajanın gerek boya alma ve gerekse morfolojik özellikleri bakımından (PLV) grubu viruslarına benzediğini ve müşterek bir antijenik yapıya sahip olduğunun tesbit edildiğini, serolojik ve patojenik test yoklamalarında bu virusun PLV grubu ajanlarının yeni bir türü olduğunun kanısına vardıklarını ve klâsifikasyonda yer almadığından bu virusa geçici olarak «M. bovis» adının verilmiş olduğunu, İthaca eyaletindeki danaların % 60 mın bu etkenle bulaşık olduklarının tesbit edildiğini bildirmişlerdir.

Mengeş, R.W., Harshfield, G.S. ve Wenner, H.A. (1953) PLV grubu virusunun; sporadik sığır encephalomyelitisinin primer etkeni olmadığını fakat hastalığın meydana gelişinde etkili olduğunu ve hastalıklı doku filtratlarının inoküle edildiği embryonlu tavuk yumurtalarıyla kobaylarda PLV grubu virusunun izole edildiğini, ilgili hayvanların kan serumlarında bu ajanlara karşı spesifik antikorların varlığının isbatlandığını,

**Kawakami, Y., Omori, T., Fukuwara, S. ve Ishü, S. (1954)**

Amerikadan Japonyaya ithal edilen sığırların gaitalarından PLV grubu virusunun; sporadik sığır encephalomyelitisini primer etkelerinde teste tutulan bu ajanların sığırların Fencephalomyelitis etkeni olan «Shizuoka» virusu ile çok yakın benzerliği olduğunun isbatlandığını, **Genest, P. (1958)** son beş yıl içerisinde sığırlarda, koyunlarda, keçilerde, kedilerde ve köpeklerde PLV grubu viruslarının sebebiyet verdikleri hastalıkların müşahede olunduğunu, enfeksiyonun respiratorik, gastro - intestinal ve abortus şeklinde gözüktüğünü, **French, E.L. (1959)** sağlam danaların gaitalarından hazırladıkları suspensiyonları kobaylardan (intra - peritoneal yolla) geçirdikten sonra; deney hayvanlarının karaciğer ve dalaklarından elde ettikleri filtratları embriyonlu tavuk yumurtasına inoküle ettiklerini ve yumurta kültürlerinde PLV grubu viruslarının varlıklarının isbatlandığını, **Mckercher, D.G. and Wada, E.M. (1959)** Kaliforniyada sığırların gaitalarından izole etmiş oldukları bir virüsü «Miyagawanella bovis» olarak idanfiye ettiklerini, **French, E.L., Snowdan, W. and Egan, A.N. (1960)** Encephalomyelitis arazi gösteren bir dananın beyninden Miyagawanella mikroorganizminin izole edildiğini, enfeksiyonun epidemiyolojik karakteri ve klinik symptomları bakımından sığır sporadik encephalomyelitisine benzediğini, **Storz, J., Mckercher, D.G., Howarth, J.A. and Straub, O.C. (1960)** Araştırmacılar Californiyada bir sığır sürüsünde epidemik şekilde seyreden sıkıt vak'alarında atık ceninlerden Psittakosis lymphogranuloma grubu viruslarından 5 suş izole ettiklerini, bu ajanların embriyonlu tavuk yumurtalarıyla fare akciğerlerinde elementer cisimcikler (elementary bodies) hasil ettiklerini, izole edilen bu ajanların deneysel olarak inoküle edildiği gebe ineklerde ateş yükselmesine ve enfeksiyondan 126 gün sonra yavru atmalarına sebep oldukları, **Berberovic' M. (1961)** gebeliklerinin son devresine yakın bir zamanda sıkıt yapan bir inekte gerek serolojikman ve gerekse virolojikman PLV grubu viruslarının enfeksiyonda rol oynadığının isbatlandığını,

**Rice, C.E. (1961)** Psittakosisi lymphogranuloma Venereum grubuna giren bütün virusların ısıya dayanıklı müşterek bir grup antijenine sahip olduklarını ve bunun kobay komplementi ile insanların, sığırların, koyunların, kedilerin, kobayların, papağan türü kuşlarla güvercinlerin kan serumlarındaki antikorlarla isbatlanabileceğini, ayrıca herbir virusun ısıya dayanıklı olmıyan tip spe-

sifik antijen ihtiva ettikleri fakat bunların mevcudiyetinin ancak absorpsiyona tabi tutulmuş antiserumlarla isbatlanabileceğini, **Storz, J. and Mckercher, D.G. (1962)** Kaliforniyada sıkıt yapan ineklerin atık fetüs organlarından dana böbreği hücre kültürlerinde ve embryonlu tavuk yumurtasında sıkıt ajanı 5 virus izole ettiklerini ve bunların PLV grubu virusları olarak idantifiye olunduklarını, ayırdıkları virusla i/v, İ/m, s/c veya intra - fetal yolla enfekte edilen gebe ineklerin vücut ısılarının arttığını, bunların bir kısmının ya sıkıt yaptıklarının veya 11 - 126 gün içerisinde zayıf yavrular doğurduklarının, fetal organlardan ve uterus materyallerinden sıkıt etkeni virusun tekrar izole edilmiş olduğunu, yalnız denemeye alınan ve sıkıt yapmış olan tek bir ineğe ait gerek fetal ve gerekse uterus materyalinden tekrar virusun izole edilemediğini, intra - uterin enfeksiyonun tek bir gebe inekte yapıldığını ve 84 gün sonra yavruda Miyagawanella bovis'in tesbit edildiğini, **Schoop, G. (1962)** bakteriyel herhangi bir etkenin izole veya tesbit edilemediği ve danaların ölümü, gebe ineklerin sıkıt yapmaları ile hayvanlarda kısırılığın hüküm sürdüğü Batı Almanyadaki 16 sürüde Psittakose antijeni ile Complement - fixasyon test'ile yapılan serolojik muayenelerde kan serumlarının 1 : 160 dilüsyona kadar değişen titrede müsbet reaksiyon verdiklerinin müşahede olduğu ve marazi maddelerden embryonlu tavuk yumurtalarında 4 virus süşunun izole edildiği fakat bunların ilk pasajdan öteye götürülemediğini,

**Giroud, P. (1963)** Fransa'da salgın sıkıtların vukubulduğu bir çiftlikte yavru atan ineklerin kan serumlarını serolojikman Q. Fieber ve PLV grubu antijenlerini kullanmak suretiyle complement-fixation test'ile muayeneye tabi tuttuğunu ; bunlardan 85 inin Q fieber, 62 sinin PLV grup antijenine ve 22 sininde her iki antijende müsbet reaksiyon verdiklerini, (1 : 40 ve daha yukarı titrelerde) ayrıca sıkıt yapan ineklerden birisinin vajen mukuzundan yapılan preparatlarda Psittacoid cisimciklerin tesbit edildiği, **Harbourne, J.F. and, D. (1963)** Yorkshire eyaletinde 5 çiftlikte öksürük veya pneumonie arazi gösteren genç danalarla sığırlara ait 14 kan serumunu standart psittakosis antijeni ile complement - fixasyon test'ile muayene ettiklerini ve bu serumların 1 : 16 ile 1 : 256 arasında değişen titrelerde müsbet reaksiyon verdiklerini,

**Fraser, C.E.O. and Berman, D.T. (1965)** sığır ve koyunlardan izole edilmiş olan 14 Miyagawanella süşundan deoxycholate ve try-

psinle muamele etmek suretiyle prüfiye antijenler hazırladıklarını ve bu antijenleri homolog ve heterolog antiserumlarla complement - fixasyon test'ile işlediklerini ve tip spesifik farklılıkların tesbit olduğunu bu 14 suş arasında 7 sub grubun tesbit olduğunu fakat bu durumun gerek immunolojide ve gerekse epidemiyolojik alanda henüz kat'iyetle kabul edilmediği ve tartışma konusu olduğu, Ognyanov, D., Semerdhiev, B ve mesai arkadaşları (1965) Bulgaristanda 141 çiftlikte 8131 hayvanın Psittakosis ve enzootik koyun abortüsü antijeni ile serolojikman c.f. test'ile kan serumlarının muayene edildiğini reaktör yüzdesinin % 1,5 - 13,4 arasında değiştiğini, hayvan ne'ileri üzerinden ise 887 danadan % 15,9 unun, 2682 koyundan % 10,5 uğunun, 1058 domuzdan % 3,7 sinin ve 1053 inekten % 2,4 nün müsbet reaksiyon verdikleri reaktör çıkan hayvanların bir kısmının pnömonili, bir kısmının yavru attığı belirtilmekte ve salim bir çiftlikteki hayvanlar arasında herhangi bir reaktör tesbit edilemediği,

Schoop, G., Krüger, H.U. and Wachendörfer, G. (1965) 4 sığır sürüsünde gebeliklerinin 4. ve 7. aylarında sıkıt yapan ineklerin atık cenin organlarından fare beyni pasajı yolu ile embryonlu tavuk yumurtalarında bir virus izole ettiklerini, fare pasajını ilkin kullanmalarında sebebin bakteriyel kontaminasyonlardan daha kolay olarak eliminasyonun sağlandığını, ilk izolasyonlarda hassas olmadıklarından kobayların elverişli olmadıkları, sürüdeki hayvanların serolojik kontrollerinin H 2838/63 numaralı antijenle c.f. test'ile yapıldığını ve hayvanların büyük bir ekseriyetinin enfeksiyona yakalandıklarının müşahede edildiğini, enfeksiyona nazaran abort vak'alarının % sinin oldukça düşük olduğunu anlaşıldığını, Bargai, U. Bassan, Y. (1966) sıkıt yapan bir ineğin fetüsünden kobaylarda ve embryonlu tavuk yumurtalarında bir virus izole ettiklerini, virusun morfolojik, serolojik karakterleri ve antibiotiklere karşı hassasiyeti duyarlığı bakımından PLV grubu ajanı olarak idantifiye edildiğini, deneysel olarak bu virusla gebe 5 kobay ve 5 farede yavru atımını isbatladıklarını, 1964 ve 1965 yıllarında 56 başlık bir sığır sürüsünde 28 sıkıt ile 11 ölü doğumun tesbit edildiğini, sıkıtların genellikle 4., 5. ve 7. aylarda ve gelişkin sığırlarda müşahede olduğu, abort etkeni olarak fetüslerde PLV grubu ajanlarının idantifiye edildiğini, intra - uterin veya intra - musküler yolla tetracyclin verilen sıkıt yapmış ineklerin yarısının abort tarihini takip eden ilk 5 ay içerisinde gebe kaldıklarını, Frit-

sch, W (1966) sıkıt yapan ve sıkıt tarihinden 3 - 4 hafta sonra kan serumları PLV grubu virusları yönünden c.f. test'i ile serolojik muayeneye tabi tutulan 355 inekten % 4,0 ünün, ayrıca 59 sürüden 10391 baş sığırdan % 27'4 ünün reaktör bulunduğunu, **Blanco Loizeliler, A.** (1966) Kanadadan ithal edilen 100 baş gebe düğeden bir kısmının sıkıt yaptıkları, doğan buzağılardan bir kısmının 48 - 72 saat sonra öldükleri, buzağuların otopsilerinde : seröz zararlar da, akciğerlerde hemorajiler, karaciğerlerde konjesyon, subkutan dokularda serohemorajik infiltrasyon, pleura ve peritoneal boşluklarda kanlı transudat ile sıkıt yapan hayvanlarda plasentanın düşmediğini, hasta bir dananın akciğerinden bir mikroorganizma izole ettiklerini bu ajanın tavşanlar ve kobaylar için patojen olduğunun ve embryonlu tavuk yumurtasında inklusion cisimcikleri teşkil ettiklerini, sığır fötal böbrek hücre kültürlerinde «CPE» yaptığını, antijenik karakterinin PLV (Psittakosis Lymphogranuloma Venereum) grubu viruslarına benzediği ve sıkıt yapmış olan ineklere ait kan serumlarında Psittakosis antijeninin kullanıldığı c.f. test'ile PLV grubu ajanlarına ait spesifik antikorlar taşıdıklarının tesbit edildiğini ve izole edilen ajanın Miyagawanella bovis (M. bovis) olarak kabul edilebileceğini nitekim koyun ve keçilerde görülen «enzootik Abortion» etkeninin PLV grubu viruslarından M. ovis olduğunun daha önceleri tesbit ve neşredilmiş bulunduğunu,

**McKercher, D.G.? Wada, E.M., Robinson, E.A. and Howarth, J.A. (1966)**

Amerikada sığırlar arasında epizootik karakterde seyreden abortüslerin PLV grubunda bir virus tarafından meydana getirildiği, E.B.A. (Epizootic bovine abortion) ajanı ile hazırlanan aşının bu enfeksiyona karşı koruyucu bir etkisinin tesbit edilemediğini ve sıkıtların büyük bir ihtimalle PLV grubu viruslarından başka bir türün etkisiyle meydana gelmiş olabileceği kanısında bulduklarını, Studdert, M.J. (1966) Epizootik sığır abortion (EBA) etkeni ile enzootik koyun abortion (EAE) ajanı arasında yaptıkları kros patojenite denemelerinde bunların çok yakın akraba viruslar olduklarını isbatladıklarını, EBA ajanının parenteral, oral ve intra - nasal yollarla inoküle edildiği gebe koyunlarda sıkıtların meydana getirilebildiğini, buna mukabil gerek EBA ve gerekse EAE ajanlarının parenteral yolla verilmediği sığırlarda yavru atımını intaç etmedikleri hayvanlardaki abortüse bu ajanların toxinleri-

nin sebep olduklarının ve nihayet koyunların viral Pnömoopathie etkeni olarak izole edilen **Bedsonia ovis**'in deneysel araştırmalarda gebe koyunlarda sıkıt yaptığını fakat bunun hakiki EAE etkeninden farklılık gösterdiğinin tesbit edilmiş olduğunu, **Storz, J., Jones, R. ve mesai arkadaşları (1967)** araştırmacılar Utah eyaletinde sığırlarda ve süt ineklerinde, atık ceninlere ait fetal organlarda PLV grubu ajanlarının tesbit ve izole edildiğini ve bu suşların kaliforniyadan temin edilen spesifik antiserumlarla neutralize edildiklerini ve enfeksiyonun bir sığır sürüsünde % 20 orana kadar yükselmiş olduğunun müşahade edildiğini, **Kwapien, R.P. (1968)** gebeliklerinin 2. veya 3. devrelerinde PLV mikroorganizmleri ile enfekte edilen gebe ineklerin yavru atıkları, atık ceninlerle plazentalarda patolojik lezyonların tesbit edildiğini ve koiladon etrafındaki yangısel exudatlardan PLV organizmlerinin tesbit ve tekrar izole edilmiş olduklarını beyan etmişler, bildirmişler veya neşretmişlerdir.

#### M A T E R Y A L

1 — Sakarya İnekhanesi müdürlüğünün 24.1.1967 tarih, 75/62 ve 24.2.1967 gün, 190 sayılı yazılarıyla göndermiş olduğu ve Rickettsiya bakımından muayenesi istenilen adı geçen kuruma ait 9 baş sığır kan serumu,

2 — Kan serumu PLV grubu viruslarından Enzootik koyun abortüs etkeni antijeni ile komplement - fixasyon testinde müsbet reaksiyon veren 333/64 kulak numaralı Holstein ırkı bir boğaya ait Sperma,

3 — Kan serumunda aynı antijene c.f. serolojik test'te PLV mikroorganizmlerine karşı spesifik antikor tesbit edilen ve kurumca mecburi kesime tabi tutulan 45282 - 62 numaralı ineğe ait uterus kotiladonları,

#### M E T O D :

Bu araştırmada;

1 — PLV grubu mikroorganizmlerinin izolasyonunda embriyonlu tavuk yumurtası kültürü,

2 — Karasu İnekhanesi damızlık sığırları arasında PLV grubu viruslarının sebebiyet verdiği bir enfeksiyonun mevcut olup olma-

dığının ve hayvanların adı geçen hastalığa karşı spesifik antikor taşıyıp taşımadıklarının serolojikman tesbiti için **Mitscherlich, E 1955** tarafından geliştirilen ve Enzootik koyun abortüsünün teşhisinde uygulanan «Complement - fixasyon» test'i,

3 — Enfeksiyondan şüpheli marazi maddelerin (Kotiladon, sperma ve embryonlu tavuk yumurtası kültürü ile kobay ve fare gibi deney hayvanlarının karaciğer, dalak ve periton mayii) PLV mikroorganizmleri virusi elementer cisimcikleri (Elementary bodies) ihtiva edip etmediklerinin tesbiti için yapılan mikroskopik muayene,

4 — Anticen istihsalinde; Beer (1964) tarafından geliştirilen metod uygulanmak suretiyle embryonlu tavuk yumurtası kültürü kullanılmıştır.

5 — Komplement - fixasyon ve Neutralisasyon testlerinde kullanılan antiserumlar tavşan ve koyun inokulasyonlarıyla elde edilmiştir.

6 — Marazi madde suspensiyon ve dilüsyonlarında «Tyrode» eriyiği kullanılmıştır.

Mesainin materyal bölümünde bildirilen ve Sakarya inekhanesi damızlıklarından 333/64 kulak numaralı Holstein ırkı genç bir boğaya ait kan serumunun komplement - fixasyon test'inde «Enzootik koyun abortus» antijeni ile müsbet reaksiyon vermesi üzerine ilgili boğadan steril, taze ve dondurulmuş olarak getirtilen Sperma mayii; virus izolasyon çalışmaları için aşağıda kısaca yazılı olan ön işleme tabi tutulmuştur :

1) Sperma mayii; önce % 10 luk Streptomycin suspensiyonu ile 1/10 oranda dilüe edilerek bakteriyel contaminasyonlardan önlemek gayesiyle oda derecesinde 30 dakika bekletilmiş ve bu arada suspensiyon sık sık çalkalanmıştır.

2) 1/2 saat sonra sperma suspensiyonu % 0,5 streptomycin ihtiva eden «Tyrode» eriyiği ile 1/10, 1/100, 1/1000 ve 1/10.000 oranda dilüe edilerek beher dilüsyondan 10 ar adet altı günlük embryonlu tavuk yumurtaları yumurta sarısı kesesi içerisine 0,5 ml miktarında inoküle edilmiştir.

3) İnokulasyonu takip eden ilk 4 gün içerisinde ölen yumurtalar ekarte edilerek 5. ve daha sonraki günlerde ölen yumurtalar



alınarak PLV grubu virusları elementer cisimcikleri yönünden mikroskopik muayeneye tabi tutulmuşlardır. PLV enfeksiyonu bakımından şüphe edilen yumurtalara ait yumurta sarısı zarları müteakip kör pasajlar için toplanarak steril şartlarda -20°C, -26°C de dondurulmuş halde saklanmışlardır.

PLV enfeksiyonundan şüphe edilerek -20°C dondurulan yumurta sarısı zarları steril şartlarda cam boncuklu şişelerde parçalanarak ve Tyrode eriyiği ile dilüe edilmek suretiyle embryonlu tavuk yumurtalarında 5. pasaja kadar idame ettirilmişler ve 5. pasajda inokulasyon tarihinden 8.,9. ve 10. günlerde ölen yumurtaların yumurta sarısı zarlarından yapılan preparatlar modifiye Stamp boyama tekniğine göre boyanmışlar ve yapılan mikroskopik muayenede bol miktarda «viral elementer cisimcikler» (Elementary bodies) tesbit ve müşahede edilmiştir. Aynı pasajda bulunan ve ekimden 12 gün sonra ölmüş olan iki yumurta sarısı zarlarında da PLV grubu viruslarına has Viral elementer cisimcikler mikroskopikman müşahede olunmuştur.

Yukarıda izah edilen tekniğe göre yumurta kültürlerinde boğa spermasından izole edilen PLV grubu virusu; Tyrode eriyiği ile yapılan suspensiyonlarından 2.,3.,4. ve nihayet 11. pasaja kadar idame ettirilmiş ve 11. pasajda bırakılmıştır.

#### **İZOLE EDİLEN PLV GRUBUNA AİT VİRUSUN İDANTİFİKASYONU İÇİN YAPILAN ÇALIŞMALAR**

- 1 — Virusun embryonlu tavuk yumurtalarında titrasyonu,
- 2 — Laboratuvar hayvanlarında yapılan patojenite denemeleri;
  - a) Farelerde,
  - b) Gebe kobaylarda
- 3 — Serolojik ve immunolojik denemeler

1 — 2. pasajda dondurulmuş olarak saklanan virus alınarak steril boncuklu şişede çalkalamak suretiyle iyice ezildi ve sonra 0,5 % lık streptomycinli Tyrode eriyiği ile 1:10 oranında bir suspensiyon hazırlandı ve bu ana suspensiyondan 1:100, 1:1000, 1:10.000, 1:100.000 ve 1:1000.000 müteakip dilüsyonlar yapılarak virusun titrasyonunun tesbiti için embryonlu tavuk yumurtalarına ekim yapıldı (**Cetvel : 1**).

Beher virus dilüsyonundan; 6 günlük embryonlu 5 er adet tavuk yumurtası sarısı kesesine 0,5 ml. inokülo edilmiştir. Daha önce bahsedildiği gibi inokulasyon takip eden ilk 4 gün içerisinde ölen yumurtalar değerlendirilmemiştir.

CETVEL : 1

Virus dilüsyonu	Ekim yapılan yumurta adedi	Titirasyon tarihi	Ölüm tarihi	Mikroskopik muayene sonucu
1. Grup $10^{-1}$ (1 : 10)	1. Yumurta	29.9.1967	2.10.67	menfi
	2. «	«	6.10.67	müsbet
	3. «	«	«	«
	4. «	«	10.10.67	«
	5. «	«	«	«
2. Grup $10^{-2}$	1. «	«	3.10.67	menfi
	2. «	«	6.10.67	müsbet
	3. «	«	«	«
	4. «	«	«	«
	5. «	«	«	«
3. Grup $10^{-3}$	1. «	«	30. 9.67	menfi
	2. «	«	7.10.67	müsbet
	3. «	«	«	«
	4. «	«	10.10.67	«
	5. «	«	«	«
4. Grup $10^{-4}$	1. «	«	30. 9.67	menfi
	2. «	«	10.10.67	müsbet
	3. «	«	«	«
	4. «	«	«	«
	5. «	«	«	«
5. Grup $10^{-5}$	1. «	«	30. 9.67	menfi
	2. «	«	«	«
	3. «	«	«	«
	4. «	«	10.10.67	müsbet
	5. «	«	«	«
6. Grup $10^{-6}$	1. «	«	2.10.67	menfi
	2. «	«	«	«
	3. «	«	«	«
	4. «	«	7.10.67	müsbet
	5. «	«	8.10.67	«

$$\text{Virus'un LD}_{50} = 10^{-4,5}$$

Virusun  $\text{LD}_{50}$  si Kärber metoduna göre hesaplanmıştır.

Not : Müsbetler virüsü elementer cisimciklerin tesbit olduğunu göstermektedir.

Cetvelde menfi olarak işaretlenen yumurtalardan yapılan preparatlarda PLV grubu virusu elementer cisimciklerinin tesbit edilemediği, müsbet kaydedilenlerde ise adı geçen cisimciklerin mikroskopikman isbatlandığı belirtilmektedir. 1 numaralı cetvel tetkik edildiğinde 2. pasajda -20°C de saklanmakta olan virusun LD<sub>50</sub> sinin 10<sup>-4.75</sup> olduğu görülür.

2 — Laboratuvar hayvanlarındaki patojenite denemesi için 4 adet beyaz fare 3 gebe kobay kullanılmıştır.

a) Farelerin beherine intra-peritoneal yolla virus'un Tyrode eriyiğindeki 1:10 dilüsyonundan 0,5 ml. verilmiş olup deney hayvanları enjeksiyon tarihinden iki hafta sonra eterle öldürülerek farelerin periton mayiinden ve karaciğerlerinden sürtme preparatları yapılmış ve modifiye «Stamp» boyama tekniğine göre boyanmıştır. Hazırlanan bütün preparatlarda mikroskopikman viral elementer cisimcikler isbatlanmıştır. Farelerin otopsilerinde; karaciğerlerin istisnasız oldukça büyüdüğü ve bir fareye ait karaciğerde kapsula altında yer almış gri-sarı renkte birkaç adet nekrotik odak tesbit ve müşahede edilmiştir. Diğer organlarda kayda değer bir lezyon görülmemiştir.

b) Aynı dilüsyondaki virus suspensiyonundan 3 adet gebe kobaya intra-peritoneal yolla beherine 1. Oml enjekte edilmiştir. Denemeye alınan kobaylardan biri inokulasyondan 12 gün sonra 2 yavru ölü olarak, diğer birisi 18 gün sonra ikisi ölü biri yarı canlı olmak üzere 3 yavru atmışlar 3. kobay ise enjeksiyondan kısa bir müddet sonra ölmüştür.

Kobaylara ait atık ceninlerin (karaciğer ve periton mayilerinden yapılan preparatlarda viral elementer cisimciklerin varlığı mikroskopikman isbatlanmıştır.

3 — Spermadan izole edilen ajan üzerinde yapılan serolojik ve immunolojik denemeler :

a) Komplement - Fixasyon test'i için antijen istihali;

Titresi tayin edilmiş olan virus Tyrode eriyiği ile 1:1000 oranında dilüe edildikten sonra 6 günlük embryonlu tavuk yumurtası sarısı kesesi içine beherine 0,5 ml miktarında olmak üzere 100 yumurta inokülo edilmiştir. İnokulasyon tarihini takip eden 6. ve daha sonraki günlerde ölen yumurtaların yumurta sarısı keseleri

toplanarak Beer, (1964) metoduna göre antijen hazırlanmış ve müsbet, menfi serumlarla titresi tayin edilmiştir. Elde edilen antijenin kullanma titresi 1:40 bulunmuştur.

b) Antijenin titresinde müsbet serum olarak laboratuvarımızda mevcut ve titresi belli olan Enzootik koyun abortüsü müsbet ve menfi serumları kullanılmıştır. Zira Miyagawanelle grubu virusları ısıya dayanıklı müşterek Familien antijen karakterlerine sahiptirler Yılmaz, S. (1968).

c) Ajandan dişi koyunda elde edilen «spesifik antiserum»;

Bu maksatla dağlıç iki adet dişi koyun kullanılmıştır. Bunlardan birisi kontrol olarak tutulmuştur. Denemeye alınan koyunlardan önce kan serumları alınmış ve c.f. test, ile PLV grubu viruslarına karşı antikor taşımadıkları tesbit olunduktan sonra inokulasyona geçilmiştir.

Koyuna koltuk altında subkutan (s/c) yolla virusun Tyrode eriyiğindeki 1:1000 lik suspensiyonundan 2 ml. oml. enjekte edilmiş ve her onbeş günde bir olmak üzere 5 aylık bir sürece hayvandan kan serumu alınarak Complement-fixasyon (c.f.) ve Neutralisasyon testleriyle işlenmiştir. 2 numaralı cetvel c.f., 3 numaralı cetvel ise N.T. sonuçlarını göstermektedir.

**Cetvel No: 2;** burada Boğa spermasından izole edilen virusla enfekte edilmiş olan koyun kan serumunda; inokulasyondan önce ve sonraki günlerde tesbit edilen komplementi-fixe edici antikor seviyesi şematize edilmiştir.

CETVEL : 2

Koyun No :	1	Kontrol
İnokulasyondan önce	menfi	—
« 15 gün sonra	1 : 16 da	müsbet
« 30 « «	1 : 8 de	şüpheli
« 45 « «	1 : 4 de	menfi
« 60 « «	1 : 2 de	«
« 75 « «	—	—
« 90 « «	—	—
« 120 « «	—	—
« 135 « «	—	—

Cetvelin tetkikinden sun'i olarak enfekte edilen koyunlarda komplemanı fixe edici antikorların pek yükselmediği ve kısa bir zaman sonra menfi sahaya düştüğü anlaşılmaktadır.

**Cetvel No: 3** Enzootik koyun abortüsü virusu ile yapılan «Virus neutralisasyon test'i»: Bu test'te; virusun 100 ID<sub>50</sub> alınmış ve serumlar (Normal ve immun) 1:2 oranda sulandırılarak 56°C de 1/2 saat inaktive edildikten sonra işleme tabi tutulmuşlardır.

Neutralisasyon Test  
CETVEL : 3

Virus x Normalserum	ID <sub>50</sub>	Virus x antiserum	LD <sub>50</sub>	NTİ
Inokulasyondan önce	10 <sup>-7</sup>	Inokulasyondan önce	10 <sup>-5</sup>	
« 15 gün sonra	«	« 15 gün sonra	10 <sup>-3</sup>	100
« 30 « «	«	« 30 « «	10 <sup>-2,5</sup>	103,2
« 45 « «	«	« 45 « «	10 <sup>-2,5</sup>	103,2
« 75 « «	«	« 75 « «	10 <sup>-2,5</sup>	103,2
« 105 « «	«	« 105 « «	10 <sup>-2,5</sup>	103,2
« 135 « «	«	« 135 « «	10 <sup>-3</sup>	100,0

NTİ : Neutralisasyon index'dir.

**Cetvel No : 4**

Bu cetvelde; boğa spermasından izole edilen virusa karşı koyunda hazırlanan anti serumla, aynı virusla yapılan neutralisasyon test sonuçları gösterilmiştir.

CETVEL : 4

Test virusu	Virus x normalserum	Virus x antiserum	ID <sub>50</sub>	NTİ
LD <sub>50</sub> = 10 <sup>-5,5</sup>	LD <sub>50</sub> = 10 <sup>-5,5</sup>	Inokulasyondan önce	10 <sup>-5,5</sup>	
		« 15 gün sonra	10 <sup>-4</sup>	103,2
		« 30 « «	10 <sup>-3,5</sup>	100,0
		« 45 « «	10 <sup>-3,5</sup>	100,0
		« 75 « «	10 <sup>-2,5</sup>	100,0
		« 105 « «	10 <sup>-2,5</sup>	100,0
		« 135 « «	10 <sup>-2,5</sup>	100,0

3 ve 4 numaralı cetvellerde gösterilen neutralisasyon testler embryonlu tavuk yumurtalarında yapılmış ve yumurta sarısı kese-

lerinden yapılan preparatların mikroskopik sonuçlarına göre değerlendirilmiştir.

3 — Materyal bölümünde bahsi geçen ve Sakarya inekhanesi damızlıklarından olup kan serumu serolojikman PLV bakımından şüpheli reaksiyon veren 45282-62 kulak numaralı ineğe ait uterus kotiladonlarından yapılan yumurta inokulasyonlarında PLV grubu mikroorganizmelerinin izolesine muvaffak olunamamıştır. Marazi maddeden ekim yapılan yumurta kültürleri 5. kör pasaja kadar devam ettirilmesine rağmen ekim yumurta sarısı zarlarından yapılan preparatlarda PLV mikroorganizmelerine delâlet edecek elementer cisimciklerin varlığı isbatlanamamıştır.

2 — Spermasından PLV grubu virusu izole edilen 333/64 kulak numaralı boğadan 11.2.1967 tarihinden 9.8.1967 gününe kadar geçen 7 aylık devre içerisinde muhtelif zamanlarda getirtilen kan serumları «Enzootik koyun abortüsü» antijeni ile PLV enfeksiyonu yönünden komplement-fixation test, ile muayene edilmiş olup reaksiyon sonuçları aşağıya çıkarılmıştır.

Cetvelin tetkikinden hayvanın akut bir enfeksiyon safhasında bulunduğu kolayca anlaşılmaktadır.

#### Komplement - fixation test'i

Hayvanın numarası	kan alma tarihi	Kan serumu diliasyonları					Kont.
		1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	
333/64	11.2.1967	H	H	H	L	L	L
«	3.3.1967	H	H	H	L	L	L
«	24.5.1967	H	H	H	HL	L	L
«	22.6.1967	H	H	H	HL	L	L
«	1.7.1967	H	H	H	H	L	L
«	9.8.1967	H	H	H	HL	L	L
«	12.9.1967	H	H	HL	L	L	L

İşaretler : H = Hemmung, L = Lisis

Bu tabloya göre hayvanın kanında PLV mikroorganizmalarına karşı teşekkül etmiş olan komplementi bağlayıcı antikor seviyesinin tedrici olarak yükseldiği ve zamanla düşmeye başladığı anlaşılıyor.

Komplementi bağlayıcı antikor seviyesinin kanda muayyen bir süre sonra menfi sahaya doğru bir düşüş göstermesine karşılık, nötralizan antikorların uzun bir zaman kandaki seviyesini koruduğu yapılan deneyler isbatlanmış bulunmaktadır. Cetvel No: 4

#### Tyrode eriyiği terkibi ve hazırlanışı

	(bir litre için)
Rp Natrium Chloride (NaCl)	8.00 gr.
Potassium Chloride (KCl)	0,20 »
Calcium Chloride (CaCl <sub>2</sub> )	0,20 »
Magnesium Chloride (MgCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O)	0.10 »
Natriumphosphat (Prim.) NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0.05 »
Natriumbicarbonote (NaHCO <sub>3</sub> )	1.00 »
Glucose	1.00 »

Bir litre distile suya tamamlanır. Tuzlar sırasına göre teker teker eritirler ve sonra litreye 5 gram hesabıyla Streptomycin ilâve edilerek eritilir ve sonra Seitz' filtresinden süzülerek 4°C de soğukta muhafaza edilir.

Virus dilüsyonları ve marazi madde suspensiyonları bu eriyikle yapıldığı takdirde bakteriyel kontaminasyonlar büyük ölçüde önlenmiş olur.

#### Modifiye «Stamp» boyama tekniği

- 1 — Preparatlar havada kurutulur,
- 2 — » alevde fixe edilir,
- 3 — » 0,25 % lik Fuchsin ile 30 dakika boyanır,
- 4 — » distile su veya çeşme suyu ile yıkanır.
- 5 — Kontrast olarak 1% lik Malaşit Grün ile 20 dakika boyanır,
- 6 — Preparatlar tekrar yıkanır ve havada kurutularak immersionla mikroskopta virüsü elementer cisimcikler yönünden muayene edilirler. Elementer cisimcikler mavi zemin üzerinde kırmızı noktacıklar halinde gözükürler.

## TARTIŞMA

Bu mesaidaki gaye; kan serumunda PLV grubu mikroorganizmlerine has antikorların tesbit edildiği ve Karasu İnekhanesi damızlıklarından 333/64 kulak numaralı genç boğanın adı geçen enfeksiyon ajanını taşıyıp taşımadığının tesbiti ve bu ajanın izole çarelerinin araştırılmasıydı.

1 — Bu maksatla ilgili boğadan steril şartlarda temin edilen Sperema mayii dondurulmuş halde Enstitümüze getirilerek usulüne göre embriyonlu tavuk yumurtası kültürlerine ekim yapılmış ve 5. kör pasajda PLV (Psittakosis Lymphogranuloma Venereum) grubu mikroorganizmalarından bir virus izole edilmiştir.

2 — İzole edilen ajan embriyonlu tavuk yumurtası kültürlerinde 11. pasaja kadar idame ettirilmiştir.

3 — Bu virusla laboratuvar deney hayvanlarından fare ve gebe kobaylar üzerinde yapılan patojenite denemelerinde, birincilerinin karaciğerlerinde etken mikroskopikman tesbit edilmiş, ikincilerinde ise yavru atımı meydana getirilmiştir.

4 — Boğa spermasından elde edilen ajana karşı koyunda hazırlanan antiserum; ajanı kesif dilüsyonlara kadar, enzootik koyun abortüs etkenini ise buna yakın dilüsyonlarda nötralize etmiştir.

5 — Gerek ilgili boğaya ait ve gerekse Spermadan izole edilen ajana karşı koyunda hazırlanan kan serumları «Enzootik koyun abortüsü» antijeni ile Complement - fixation test'inde, aynı serumlar ajanın bizzat kendisinden elde edilen antijenle daha yukarı dilüsyonlarda müsbet reaksiyon vermişlerdir. Bu durum boğanın spermasından izole edilen virusun PLV grubundan olup sığırlara adapte olduğu kanısını uyandırmaktadır.

Literatür kayıtlarında sıkıt yapan ineklerin atık cenin organlarıyla, pnömonili sığırlardan izole edilen PLV grubu ajanına Miyagawanella bovis (M. Bovis) adının verildiği belirtilmektedir.

Mesai içerisinde detaylı bir şekilde yapılan denemeler ve sonuçları açıklanan ve ilk defa yurdumuzda boğa spermasından embriyonlu tavuk yumurta kültürlerinde izolesine muvaffak olunan ve



laboratuvar çalışmalarında Psittakosis lymphogranuloma venereum (PLV) grubundan bir virus olduğu isbatlanan mikroorganizmanın «Miyagawanella bovis (M. bovis) olduğu kanısına varılmıştır.

#### Ö Z E T

Bu araştırmada; kan serumu «Enzootik koyun abortüsü» antijeni ile komplement -fixation test'inde müsbet reaksiyon veren Karasu İnekhanesi damızlıklarından Holstein (Siyah-beyaz alaca) ırkından 333/64 kulak numaralı genç bir boğanın enfeksiyon etkenini taşıyıp taşımadığı hususu araştırılmış olup taze dondurulmuş halde getirilen boğaya ait sperma mayiinden embryonlu tavuk yumurta kültürlerinde PLV grubundan bir virus izolesine muvaffak olunmuştur.

1 — Laboratuvar deney hayvanlarından fare ve gebe kobaylarda patojenite testleri yapılmış, enfeksiyondan iki hafta sonra farelerin karaciğerlerinden yapılan preparatlarda ajan tesbit edilmiş, kobaylarda yavru atımı sağlanmış ve atık kobay cenin organlarında viral elementer cisimciklerin varlığı isbatlanmıştır.

2 — Enfekte boğadan çeşitli zamanlarda alınan kan serumları ile ajana karşı koyunda hazırlanan kan serumu Enzootik koyun abortüsü antijeninin kullanıldığı komplement - fixation test'inde müsbet reaksiyon vermişlerdir.

3 — Enzootik koyun abortüsü antiserumu, boğa spermasından izole edilen virusu, bu ajana karşı koyundan elde edilen antiserumda enzootik koyun abortüs etkenini nötralize etmişlerdir. Bu husus kros neutralisasyon test'leriyle saptanmıştır.

4 — İdentifikasyon çalışmaları sonucu; ilk defa yurdumuzda boğa Sperma mayiinden embryonlu tavuk yumurta kültürlerinde izolesine muvaffak olunan Psittakosis lymphogranuloma venereum (PLV) grubuna ait virusun «Miyagawanella bovis «(M. bovis) olduğu kanısını vermiştir.

**The First Isolation And Identification Of Miyagawanella Bovis  
From A Bull Semen**

Dr. Salih YILMAZ (\*)

**S U M M A R Y**

In this research work it has been succeeded to isolate a virus from PLV group on the embrioned egg culture of the fresh and frozen semen which belonged to one of the Holstein breeding young bulls with 333/64 ear-tag number raised on Karasu Cattle Breeding Station, the blood serum of which had been found positive in the Complement Fixation Test with the antigen of Enzootic Sheep Abortion that was conducted to see whether the bull in question carried or not the infecting agent of the abovementioned disease.

1 — Further, the pathogeny tests were carried out on rats and pregnant guinea pigs resulting in that the infecting agent has been fixed on slides made from the liver of rats two weeks after the infection; abortions have been observed in the infected guinea pigs, and viral elementary bodies have been fixed in the aborted foetuses.

2 — Positive reactions have been observed from the complement fixation tests with the blood sera that obtained from the said bull in differant intervals using the antigen of Enzootic Sheep Abortion produced from the blood serum of the sheep which had been prepared against the agent in question.

3 — The antiserum of Enzootic Sheep Abortion has neutralized the virus that had been produced from the semen of the bull in question; and, the antiserum against this agent that had been produced from the sheep in question has neutralized the agent of Enzootic Sheep Abortion. This fact has been proved by cross-neutralization test.

4 — Results of identification tests have led us in a belief that the virus isolated successfully from the embrioned egg culture made by the bull semen first time in Turkey which belongs to the Psittakosis Lymphogranuloma Venerum (PLV) group, is found to be as «Miyagawanella Bovis» (M. Bovis).

---

(\*) Chief of the Enzootic abortion Laboratory.

## L I T E R A T Ü R F I H R I S T I

- 1 — **Bargai, U. and Bassan, Y. (1966) :**  
A virus of the psittakosislymphogranuloma Venereum (Bedsonia) group as cause of abortions in dairy herd.  
I. isolation of the virus and infection of experimental animals.  
Íbid. 118 - 120 (E) 82 - 84 (He), Hahaklait, Tsora Israel.
- 2 — **Beer, J. (1964) :**  
Die Diagnostik der Ornithose unter besonderer Berücksichtigung der Serologie. Arch. Exper. Vet. Med. 18 ,101 - 113
- 3 — **Berberovic, M. (1961) :**  
Miyagawanella as the cause of abortion in cattle in Yugoslavia. (Preliminary note). Vet. Clasn. 15,755 - 756.
- 4 — **Blanco Loizelier, A. (1966) :**  
Studies on pneumo - enteritis of cattle.  
IV. Infections by agents of the psittakosis lymphogranuloma group Miyagawanella bovis. Revta patron. Biol. anim. 10, No : 4, pp. 5 - 22.
- 5 — **Fraser, C.E.O. and Berman, D.T. (1965) :**  
Type - specific antigens in the psittakosis - lymphogranuloma venereum group of organism. J. Bact, 89,943 - 948.
- 6 — **French, E.L. (1959) :**  
The isolation of Miyagawanella bovis from calves in Victoria. Aust. Vet. J. 35,262 - 268.
- 7 — **French, E.L., Snowden, w. and Egan, A.N. (1960) :**  
The occurrence of sporadic bovine encephalomyelitis in Australi Aus. Vet. J. 36,444 - 445.
- 8 — **Fritsch, W. (1966) :**  
Miyagawanella antibodies in cows that had aborted Mh. Vet. Med. 21,817 - 825.
- 9 — **Genest, P. (1958) :**  
Disease of animals caused by the psittakosis - lymphogranuloma group of viruses. Canad. J. Comp. Med. 22,386 - 391.
- 10 — **Giroud, P. (1957) :**  
Abortion in man and animals caused by infection with rickettsia organisme, toxoplasms and by viruses of the psittakosis - lymphogranuloma group.  
Arch. Inst. Pasteurx Tunis 34,187 - 206.
- 11 — **Giroud, P. (1963) :**  
Observations on animals, particularly cattle, with arrested pregnancy.  
- C.R.A cad. Sci. Paris 257, 1648 - 1650.

- 12 — **Harbourne, J.F. and Hunter, D. (1963) :**  
Complement fixing antibody in cattle sera to the antigens of psittakosis-lymphogranuloma venereum group of viruses. *Vet. Rec.* 75,208-209.
- 13 — **Kawakami, Y., Omori, T., Fukuwara, S. and Ishii, S. (1954) :**  
Isolation of a virus resembling Miyagawanella bovis (Psittakosis-lymphogranuloma group) from the faeces of cattle imported from the U.S.A. *Jap. J. Vet. Sci.* 16, Suppl. pp. 33 - 34.
- 14 — **Kwapien, R.P. (1968) :**  
Placental pathology of experimental epizootic bovine abortion. *Dis. Abstr.* 29 B, 2100 (State Univ., Fort Collins, Colorado 80521)
- 15 — **Menges, R.W., Harshfield, G.S. and Wenner, H.A. (1953) :**  
Sporadic bovine encephalomyelitis. I. The natural history of the disease in cattle, *Amer. J. Hyg.* 57,1 - 14.
- 16 — **Mckercher, D.G. and Wada, E.M. (1959) :**  
Studies of the distribution and host range of miyagawanella bovis. *Cornell vet.* 49, 233 - 241.
- 17 — **Mckercher, D.G., Wada, E.M., Robinson, E.A. and Howarth, J.A. (1966) :**  
Epizootiologic and immunologic studies of epizootic bovine abortion. (EBA) *Cornell vet.* 56,433 - 450.
- 18 — **Mitscherlich, E. (1955) :**  
Beiträge zum Virusabort des Schafes *Vet. Med. Nachrichten Behringwk.* 1 - 15, 129 - 145.
- 19 — **Ognyanov, D., Semredhiev, B. ve mesai arkadaşları (1965) :**  
The complement fixation antibodies against neorickettsia in various farm animals. *Vet. Med. Nauki, Sof.* 2, 275 - 281.
- 20 — **Rice, C.E. (1961 : Part VII.)**  
The psittakosis - lymphogranuloma venereum group. *Canad. J. Comp. Med.* 25, 74 - 79
- 21 — **Schoop, G. (1962) :**  
Verbreitung und Bedeutung der Infektion mit einem Virus der Psittakosis-lymphogranuloma-Gruppe bei Rindern. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 69, 121 - 123
- 22 — **Schoop, G., Krüger, H.U. and Wachendörfer, G. (1965) :**  
Isolation of Miyagawanella virus from aborted bovine fetuses. *Zentbl. Vet. Med.* 12 B, 25 - 32
- 23 — **Storz, J., Mckercher, D.G., Howarth, J.A. and Straub, O.C. (1960) :**  
The isolation of a viral agent from epizootic bovine abortion. *J. Amer. Path.* 73, 277 - 284  
*Vet. med. Ass.* 137, 509 - 514

- 24 — **Storz, J. and Mckercher, D.G. (1962) :**  
 Etiological studies on epizootic bovine abortioni Zbl. Vet. Med. 9, 411 .  
 427, 520 - 541
- 25 — **Storz, J., Gall, J.W., Jones, R.W. and Miner, M.L. (1967) :**  
 Epizootic bovine abortion in the intermountain region. Some recent cli.  
 nical, epidemiologic and pathologic findings.  
 — Cornell Vet. 57,21 - 37
- 26 — **Studdert, M.J. (1966) :**  
 Bedsoniae associated with abortion in sheep and cattle. Diss. Abstr. 26,  
 6276 (Univ. California, Davis 95616)
- 27 — **Yılmaz, S. (1968) :**  
 Koyun Virusi Abortu ve Mücadelesi. (Enzootic abortion of sheep and  
 control of the disease)  
 Etlik Vet. Bakteriyooloji Enstitüsü Dergisi, 1968, Cilt : 3, Sayı : 5 - 6
- 28 — **York, C.J. (1951) :**  
 A new member of the psittakosis .lymhogranulomata group of viruses  
 (Miyagawanella bovis) that causes in apparent in fection in calves.  
 Thesis. Cornell. pp. 34
- 29 — **York, C.J. and Baker, J.A. (1951) :** ... ..  
 A new member of the psittakosis .lymphogranuloma group of viruses  
 that csuses infection in calves.  
 J. Exp. med. 93, 587 - 603
- 30 — **Young, S., Parker, H. and Firehammer, B.D. (1958) :**  
 Abortion in sheep due to a virus of the psittakosis .lymphogranuloma  
 group..  
 J. Amer. Ved. Med. Ass. 133, 374 - 379
- 31 — **Wenner, H.A., Harsfield, G.S., Chang, T.W. and Menges, R.W. (1953) :**  
 I. Sporadic bovine encephalomyelitis. Studies on the etiologi of the di.  
 sease. Isolation of nine strains of on infectious agent from naturally  
 infected cattle. I bid. 15 - 29
- 32 — **Wilson, M.R. and Dungworth, D.L. (1963) :**  
 Psittakosis .lymphogranuloma venereum group viruses in sheep. Com.  
 parison between a faecal and on enzootic abortion strain.. J. Comp.  
 path. 73, 277 - 284.