

BOVİNE VİRAL DİARRHEA/MUCOSAL DİSEASE (BVD/MD)

Fatma UYANIK (*)

Bovine viral diarrhoea/mucosal disease (BVD/MD) infeksiyonu, bovine viral diarrhoea virusu (BVDV) tarafından oluşturulan ve sığırlarda görülen bir hastalıktır.

Bu hastalığı, ilk kez 1946 yılında Olafson ve arkadaşları, ABD'de akut, genellikle öldürücü, sindirim sistemi mukozasında ülserler ve diyare ile seyreden sığır vebasına benzer tablo gösteren bir sürüde saptamışlar ve "Virusi Diarrhoea" adını vermişlerdir. Ramsey ve Chivers de 1953 yılında benzer belirtiler gösteren bir hastalığı saptamışlar ve mukozal lezyonların çok şiddetli olması nedeni ile bu hastalığı "Mucosal Disease" olarak adlandırmışlardır. Bir süre bunlar iki ayrı hastalık olarak düşünülmüşse de daha sonraları bu iki sendromdan da aynı virusun sorumlu olduğuna karar verilmiş ve hastalığa "Bovine Viral Diarrhoea/Mucosal Disease" adı verilmiştir (2,12,18).

Bugün, BVD ve MD'in, aynı etyolojik ajan tarafından oluşturulduğu ve ayrı klinik tablolar gösterdiği kabul edilmektedir. Deneyesel olarak sitopatojen olmayan (CPE oluşturmayan) BVD virusu ile infeksiyondan sonra sitopatojen (CPE oluşturan) bir BVD virusu ile infekte edilen sığırlarda mucosal disease şekillenmektedir. Mukozal disease'in persiste infeksiyon oluşturan CPE oluşturmayan BVD virusunun, CPE oluşturan BVD virusuna mutasyonu ile de şekillenebileceği bildirilmiştir (2,7).

ETYOLOJİ

BVDV'u Togaviruslar familyasının Pestiviruslar alt grubu içinde yer alır. Pestiviruslar sığırlarda BVD/MD, koyunlarda border disease (BD) ve domuzlarda Avrupa domuz vebası'na neden olurlar. Border disease virusu (BDV)'nin, koyunlara adapte olmuş bir bovine viral diarrhoea virusu (BVDV) olduğu düşünülmektedir. Her iki virus, Avrupa domuz vebası virusu (HCV) ile antijenik olarak yakın ilişkilidir (3, 8, 18, 25, 26).

BVDV'u elektron mikroskopta zarlı, 40-58 µm çapında, yuvarlak partiküller tarzında görülür. Hemaglutinasyon ve hemadsorbsiyon özelliği yoktur.

(*) Etlik Hay. Hast. Araşt. Enst. Uzm. Vet. Hek.

Eter, kloroform gibi lipid solventlerle inaktive olması bir lipo virus olduğunu gösterir. BVDV'ü dış etkilere karşı çok dayanıksızdır. 37°C' da 96 saatte, 56°C' da 35 dakikada infektivitesini kaybeder. Tripsin süspansiyonları (0.5 mg/ml, 37°C, 60 dak) ile muamele edilirse infektivitesi düşer, pH 5.7-9.3 arasında kısmen stabil olmakla birlikte bu sınırların dışındaki pH'larda infektivitesi hızla azalır (3,5,9,12,18,25,28). BVDV'unun nükleik asidi 5-iodo-deoxyuridine kullanılarak incelenmiş ve DNA inhibitörü olan bu madde tarafından inhibe edilmemesi bu virusun bir RNA virusu olduğunu göstermiştir (18).

BVDV suşlarının identifiye edilmesi oldukça güçtür ve zaman gerektirir. Monoklonal antikorlar üzerindeki çalışmalar, tip veya suş spesifik viral proteinlerin identifikasyonunun yapılmasına olanak sağlamaktadır (23,25,27). Corapi ve arkadaşları (7) tarafından BVDV için spesifik olan 40 monoklonal antikor üretilmiştir. Bu monoklonal antikorlar viral protein spesifikliği, immunoglobulin alt sınıfları, virus nötralizasyon aktiviteleri ve BVDV izolatları ile reaktivitelerine göre gruplandırılmış ve çeşitli saha izolatları ile oldukça farklı reaktiviteler saptanmıştır. Bu çalışmaların sonuçları, virus suşları arasında antijenik farklılıkların olduğunu ve bu farklılıkların virusun neden olduğu infeksiyonun gelişiminde ve seyrinde önemli rol oynadığını göstermiştir.

BVDV'ü primer hücre kültürlerinde üretilebilir ve hücrelerde patolojik değişiklikler oluşturmadan (NCPE) yada patolojik değişiklikler (CPE) oluşturarak üreyebilirler (3,12,14,15,27).

EPİDEMİYOLOJİ

BVD virusu bütün dünyada yaygındır. Hastalığın latent seyirli olması ve kolay bulaşması BVD antikor prevalansının yüksek olmasına neden olmaktadır (1,10,25).

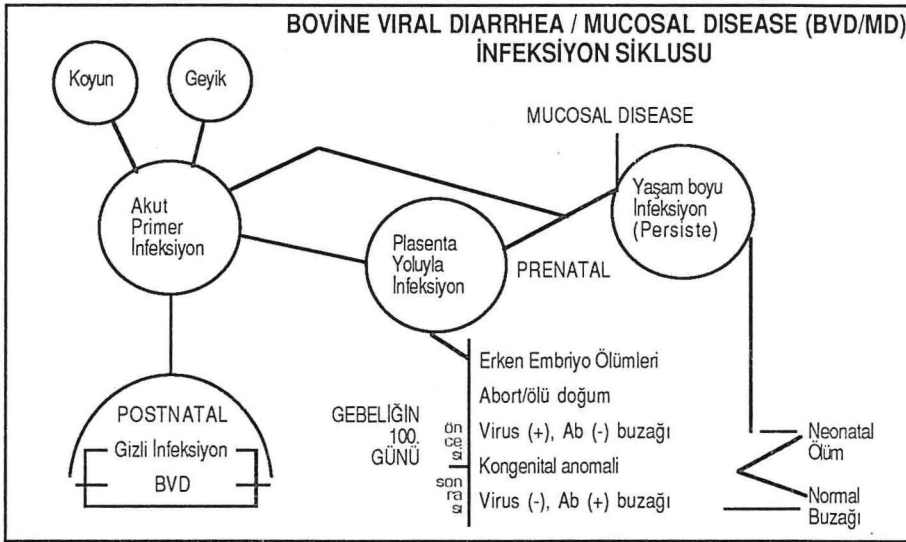
DeneySEL çalışmalarda infeksiyon belirtilerinin bir kaç gün içinde ortaya çıktığı gösterilmiştir. İlk olarak yüksek ateş ve lökopeni görülür. Etkenin alınmasından 3-8 gün sonra mukozal lezyonlar ve diyare meydana gelir. İnfekte hayvanlarla yakın temas halindeki hayvanlarda hastalığın ortaya çıkması bir kaç hafta ile bir kaç ay arasında değişebilir. İnkubasyon periyodundaki bu değişkenlik ile kronik ve latent seyirli infeksiyonların varlığı hastalığı daha komplike hale getirmektedir.

Sığırlar infeksiyonun doğal kaynağıdır. Klinik belirtiler gençlerde, özellikle 4-24 aylık hayvanlarda, daha yaygın olarak görülür. BVD virusu koyun ve domuzlarda da yaygındır. Geyik ve diğer ruminantlarda antikor saptanmış olmakla birlikte hastalığın yayılmasında yabani hayvanların önemli olmadığı bildirilmiştir. Klinik belirti göstermeyen sığır, koyun ve domuzlar, virusun rezervuarı olup, burun ve göz akıntıları, salya ve gaitaları ile sürekli virus saçarlar. Bu nedenle hayvanlar arasındaki direkt temas, infeksiyonun yayılmasında en önemli faktördür. Solunum yoluyla da virusun alınabileceği gösterilmişse de virusun organizmaya girişi genel olarak oral yolla olur (1,3). Genital yolla bulaşmalara az rastlanmakla birlikte suni tohumlanmanın yaygın olarak kul-

lanılması yayılmada önem taşır. Gebeliğin erken dönemlerinde plasenta yoluyla fötusun infekte olması persiste infekte yavru doğumlarına neden olur. Persiste infekte hayvanlar sağlıklı görünmelerine karşın sürekli viremiktir. Böyle persiste infekte boğalar, infeksiyon kaynağı olmakla birlikte spermaları da doğal ve suni tohumlama yoluyla infeksiyonun yayılmasında potansiyel vektördür. Virus seminal plazma ve semen epitel hücrelerinde bulunur fakat spermatozoalarda bulunmaz. Son zamanlarda yaygınlaşan embriyo transferleri de infeksiyonun yayılmasında önem kazanmıştır (20). Howard ve arkadaşları (20), ABD'de dört suni tohumlama merkezinde yaptıkları bir çalışmada, 12 boğadan BVD virusu izole etmişler ve bu 12 boğanın 10'nun embriyo transferi ile dünyaya geldiklerini bildirmişlerdir.

Hastalığın yayılmasında rol oynayan diğer bir faktör ise sığır, koyun ve domuz orijinli doku kültürlerinde üretilen canlı aşılardan ve bunların üretiminde kullanılan besiyerlerine katılan serumların pestiviruslarla kontamine olmasıdır (22,29,30,32,39).

ABD, İngiltere ve Almanya'da yapılan çalışmalarda, boğalarda persiste infeksiyon insidansının %0.4-%1.8 arasında değiştiği ifade edilmektedir (20). Yapılan serolojik çalışmalar bu hastalığın bir çok ülkede yaygın olduğunu göstermektedir (13,25). Türkiye'de ise infeksiyonun varlığı ilk defa 1964 yılında Öncül ve arkadaşları tarafından Lalahan Zootehni Araştırma Enstitüsü'ndeki yabancı sığır ırklarında klinik bulgulara dayanılarak bildirilmiştir (12). Burgu ve arkadaşları (4) tarafından koyunlar üzerinde yapılan bir çalışmada da Türkiye'de koyunlarda BVD virusunun ilk kez izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Aynı çalışmada abort yapan koyunlardan alınan 541 serumdan 232'sinde, BVD virusuna karşı 1/5-1/160 nötralizasyon titresi saptanmış ve hastalığın Türkiye'de enzootik olduğu bildirilmiştir.



x, Duffel ve Harkness, 1987

KLİNİK BULGULAR, PATOLOJİ VE PATOGENEZ

BVD/MD klinik olarak, hafif, klinik belirtiler göstermeyen bir infeksiyondan şiddetli öldürücü bir infeksiyona kadar değişen bir tablo gösterir. İnfekte hayvanların %1'inden daha azında klinik belirtiler görülebilmeye karşın duyarlı populasyonların infekte olduğu durumlarda morbidite ve mortalite oranı yüksektir (25,35).

BVD/MD bir sürüde genellikle ateş, anorexia, sulu diyare ve eroziv ve ülseratif stomatitlerle kendini belli eder. Bazı hayvanlarda ise topallık ve pnömoni görülebilir.

BVD virüsü ilk olarak tonsil kript epitellerinde veya bronşiol epitellerinde çoğalır. Buradan virus veya virusla infekte hücreler, fagositik hücreler aracılığı ile dokulara taşınır (25). Floresan antikor çalışmaları, virusun üst sindirim sistemi ve ayakların interdigital bölgesinin skuamöz epitel hücreleri, alt sindirim sisteminin glandüler ve kript epitel hücreleri, solunum sisteminin epitel hücreleri ile bağırsak ve diğer birçok organlardaki submukozal damarların endotel hücreleri dahil birçok dokuları infekte ettiğini göstermiştir (21)

Patolojik-anatomik olarak sindirim kanalı mukozalarında erozyon ve ülserler, ağız boşluğunda özellikle sert damakta, diş etlerinde ve yanak mukozasının papillalarında erozyonlar meydana gelir. Dil ve farinkste erozyonlar seyrekler. Olguların çoğunda merme ve burun delikleri üzerinde de erozyon ve ülserler görülür. Özefagusta görülen uzunlamasına seyreden kirli kahverengindeki erozyonlar karakteristiktir. Rumen ve omasumda özellikle yaprakların kenarlarında nekrotik ve eroziv lezyonlar dikkati çeker. Abomasumda kanama ve ülserler görülür. Tüm bağırsak kanalında rastlanan ülserlerin üzerleri çoğu zaman difteroid membranlarla örtülüdür. Bağırsak lenf follikülleri özellikle Peyer plakları büyümüş, yüzeyleri nekrotik, kan pıhtısı veya difteroid-fibrinöz kitlerle örtülüdür. Bacakların iç yüzlerinde, perineum, meme ve prepisyumda fokal nekrozlar ve ülserler meydana gelebilir. Akut seyirli olaylarda baş ve boyun lenf düğümleri büyümüş, kesit yüzleri ödemli ve hemorajiktir (38).

Solunum sisteminde peteşi ve ekimotik kanamalardan oluşan diffuz lezyonlar bulunabilmesine karşın hayvanların çoğunda trakea ve akciğerler normal görünüşte olup, vakaların sadece %10'unda larinks ve trakeada ödem meydana gelir (25).

Histopatolojik olarak üst sindirim sisteminde kutan mukozadaki lezyonlar epitelyum nekrozu ile başlar. Epitelyumun derin kısımlarındaki hücre grupları eozinofilik karakter kazanır, şişer ve çekirdekleri piknotikleşir. Bu odaklar genişleyerek nekroz alanlarına dönüşür. Lamina propriada erken dönemde çok az nötrofil lökosit infiltrasyonu vardır. Nekrotik epitelyumun dökülmesi ile yerlerinde erozyon ve ülserasyonlar şekillenir. Bu dönemde lamina propriada yoğun hücre infiltrasyonu ve hiperemi görülür (21,37).

İnce bağırsaklardaki karakteristik lezyon, Liberkühn kript epitellerinin yıkımıdır. Sağlam kalan kriptlerde dilatasyonlar gözlenir. Bağırsakta görülen kript lezyonları hastalık için tipik olabilirse de benzer durum sığır vebasında da vardır. İnce bağırsaklarda submukozal ve mezenterik arteriollerde hiyalin dejenerasyonu ve fibrinoid nekrozis görülür. Damar duvarlarında ve perivasküler

bölgelerde hafif mononükleer hücre infiltrasyonları şekillenir. Bu durumu ile hastalık coryza gangrenosa bovum'a benzer ancak lezyonlar, bu hastalıkta görülenlerden çok daha az şiddetli ve lokalizedir. Lenf düğümlerinde mononükleer hücrelerde belirgin bir azalma vardır (21).

Renal glomerul ve tubullerde epitelyal hiyalin damlacıkları en yaygın bulgulardır. Sentral sinir sisteminde ensefalitis rapor edilmiştir. Derideki lezyonlar ise fokal proliferatif dermatitisten ibarettir (25).

İnfeksiyondaki klinik belirtiler ve patolojik değişiklikler bireylere, yaşa ve gebelik durumuna göre ortaya çıkar.

1) Gebe olmayan sığırlarda postnatal infeksiyon

Üç veya beş günlük bir inkubasyon periyodundan sonra ateş ve iştahsızlık görülen en önemli genel belirtilerdir. Bazen diyare, göz ve burun akıntısı ve oral ülserler görülebilir. Akut infeksiyonlarda viremi devresi 15 gün sürer, bu devre nadiren uzayabilir. İnfekte hayvanlar ekskret ve sekretleri ile virus saçarlar. Nötralizan antikorlar infeksiyondan 3-4 hafta sonra şekillenir (10,35).

Bu gizli ve hafif seyirli infeksiyona konakçının immun sisteminin baskılanmış olması yardım eder. Bu nedenle BVD/MD infeksiyonu özellikle optimal yetiştirme koşullarında olmayan hayvanlarda diğer hastalıklar için pre-dizpoze faktördür. Duyarlı hayvanların infekte sperma ile tohumlanması erken embriyo kayıplarına neden olur ve bu hayvanların yeniden tohumlanması gerekebilir (10,20).

2) Gebe ineklerde infeksiyon

Bu tip infeksiyonlara sıklıkla rastlanmaktadır. İnfeksiyon plasenta yoluyla fötusa geçer. Fötusta infeksiyonun görülmesini etkileyen bazı faktörler vardır. Bu faktörler, fötusun yaşı ve virus suşudur. Bunlara bağlı olarak infeksiyon, fötusun ölümü ve mumifikasyon, abort, kongenital anomaliler, erken doğum veya klinik olarak normal görünüşlü buzağı doğumu ile sonuçlanabilir (1,10,31).

Gebeliğin 100. gününden önceki infeksiyonlar, genellikle ölüm ve düşük doğum ağırlığına sahip yavru doğumu ve organlarda gelişme bozukluğu ile sonuçlanır. Gebeliğin 100-150. günleri arasındaki infeksiyonlarda gözlerde ve merkezi sinir sisteminde bozukluklar görülür. Bu dönemde serebellar hipoplazi, serebrumda kaviteler ve retina displazileri oluşabilir. Bağışıklık yeteneği gelişmeden önce intrauterin olarak infekte olan ve hayatta kalan yavrular yaşamları boyunca infeksiyon kaynağıdır. Bu hayvanlar serolojik olarak negatif olmalarına karşın ekskret ve sekretleri ile devamlı olarak virus saçarlar (1,10,25,35).

Yavrularda, immun yanıt verme yeteneğinin gelişmesi, gebeliğin yaklaşık 125. gününden sonrasına rastlar ve bu devreden sonra intrauterin yolla enfekte olan yavrularda nötralizan antikorlar şekillenir ve virus elimine edilir (1,10,25).

3) Persiste infekte Sığırlarda infeksiyon

Persiste infekte doğan yavrularda mortalite oranı ilk iki yıl içinde %50'lere ulaşır. En önemli ölüm nedeni sadece sitopatojen olmayan virusla persiste infekte hayvanlarda şekillenen MD'dir. Bu hayvanlarda kronik ateş, anoreksi,

sulu diyare, nazal akıntılar, erozyonlu veya ülseratif stomatitis dikkati çeker. Dehidrasyon ve kusma vardır ve 1-3 hafta içerisinde ölüm görülür.

Patolojik olarak midede yangısal lezyonlar, erozyonlar ve Peyer plaklarında lenfoid kanamalar görülür. Genellikle, ölümler buzağı döneminde sık sık görülen pnömoni ile ilişkilidir. Persiste infekte ineklerden doğan yavrular da genellikle persiste infektedir (10).

TANI

Klinik olarak hasta görünen hayvanların çoğunda oral lezyonlar görülmeyebilir. Buna karşın sağlıklı görünen hayvanlarda da oral lezyonların bulunabileceği dikkate alınarak oral boşluğun erozyonlar yönünden muayenesine özen gösterilmelidir.

BVD/MD klinik olarak sığır vebasına çok benzer. Bu nedenle sürüye yeni hayvan katılıp katılmadığı veya hayvanların sığır vebalı hayvanlarla temas edip etmediği konusu göz önünde tutulmalıdır. Aşırı burun ve göz akıntısı, mermede kabuklar veya oral mukozada ülser ya da erozyonlar görüldüğünde sığır vebası, mavi dil, veziküler stomatitis, coryza gangrenosa bovum, IBR gibi hastalıklardan ayırımının yapılması gereklidir.

Hastalığın kesin teşhisi için laboratuvar muayeneleri gereklidir. Hastalardan göz ve burun akıntısı, kan yada otopside dalak, karaciğer, lenf düğümleri, akciğer veya diğer dokular taze olarak alınır ve steril koşullarda laboratuvara ulaştırılır. Şüpheli hayvanlardan serum örnekleri mümkün olduğu kadar erken ve aseptik koşullarda alınmalı ve şüphelilerle temasta olan sağlıklı görünüşteki hayvanlardan da kan serumu alınmalıdır. Serokonversiyon yönünden 2-3 hafta sonra yeniden kan serumu alınmalıdır. Virus izolasyonu için boğalardan ayrıca sperma örnekleri alınır.

Serum nötralizasyon, komplement fiksasyon ve agar gel difüzyon gibi serolojik testlerle antikorlar saptanabilmekle birlikte (16,17,34) bu testlerin bazı dezavantajlarının olması nedeni ile son zamanlarda çeşitli enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) teknikleri geliştirilmiştir. (11,33). Viral antijenlerin saptanmasında da ELISA, Floresan antikor ve İmmun Peroksidaz (IPX) tekniklerinden yararlanılmaktadır (19,22,24,27,36).

Antikor ve Virus İzolasyon Sonuçlarının Değerlendirilmesi (*)

| | Antior negatif | Antikor pozitif |
|---------------|---|---|
| Virus negatif | Hassas | İmmun |
| Virus pozitif | Persiste infekte (kısa süreli akut infeksiyonlar görülebilir) | Persiste infekte (Nadiren düşük antikor titresi mevcut) |

*, Duffel ve Harkens, 1987

BVD / MD'in Laboratuvar Teşhisinde Uygulanan Testler

| Amaç | Örnek | Laboratuvar Testleri | Yorum |
|---|--|---|--|
| BVD Teşhisi | Kan serumu (3 hafta ara ile iki kez) | SN/E | Tek serumun değeri yok |
| MD teşhisi | | | |
| Canlı hayvandan | Kan serumu | Virus izolasyonu | Pozitiflerin teyidi için 3 hafta içinde testin tekrarı |
| Ölü hayvandan | Doku örnekleri (troid, böbrek, dalak, tükrük bezi, lenf nodülleri, sind. sist. lezyonları). | Antijen saptama testleri (FA) Virus izolasyonu | Sindirim sisteminde mikroskopik lezyonlar bulunan bölgeler seçilir |
| Persiste Enfeksiyonun saptanması | Kan serumu | Virus izolasyonu | Pozitiflerin teyidi için 3 hafta içinde testin tekrarı |
| Abort durumlarında | | | |
| Fötüs | Doku örnekleri (troid, dalak, tükrük bezleri fötal sıvılar) | Antijen saptama testleri (FA) Virus izolasyonu | |
| Düvelerden | Kan serumu | SN / E | Abort oluşana kadar antikor şekillenir. |
| Kongenital anomalilerin incelenmesi | Kan serumu | SN / E Virus izolasyonu | Kan serumu kolostrum verilmeden önce alınmalıdır. |

SN : Serum nötralizasyon testi

E : EILISA testi

FA : Floresan antikor testi

* : Duffel ve Harnkess, 1987

IMMUNİTE

BVD'nin patogenezi ve kontrolünde önem taşıyan problemlerin çözümü amacıyla BVD virusuna karşı oluşan immunité konusunda pek çok çalışma yapılmıştır. BVD virusu ile infeksiyon sonucu oluşan humoral immuniteden nötralizan, presipitan ve komplementi bağlayan antikorlar sorumludur. Bunların içinde en önemli olanı nötralizan antikorlardır. Bu antikorlar BVD'nin sürü içinde yayılmasını önlemede aktif rol oynarlar. Nötralizan antikorlar 6-17. günlerde görülmeye başlarlar ve infeksiyondan 4-5 hafta sonra en yüksek titreye ulaşırlar (3).

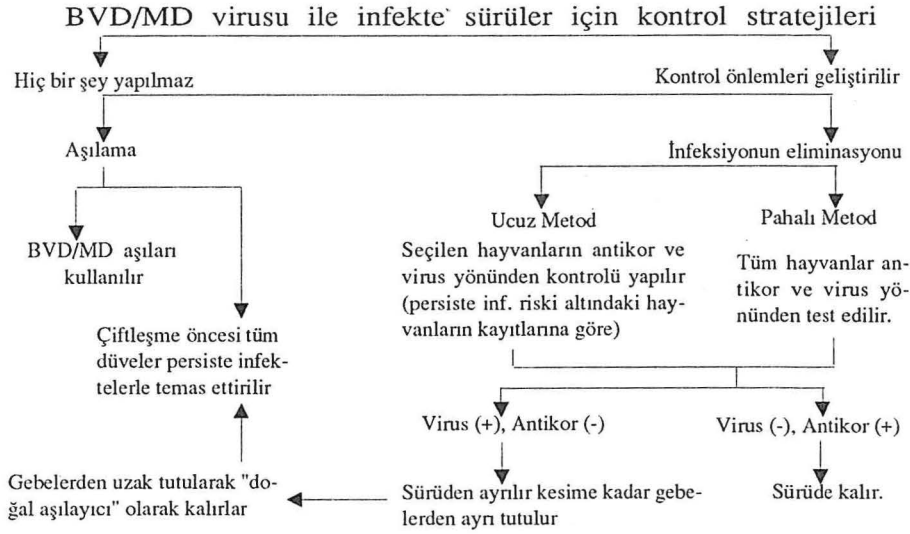
Yapılan serolojik çalışmalarda, kolostrumla geçen antikorların bireysel titreye bağlı olarak 2-11 ay etkili olduğu saptanmışsa da buzağuların çoğunda bu antikorlar altı ayda kaybolur (25).

BVD virusu lenfosit blastogenezini inhibe etmek sureti ile sirkulasyondaki B ve T hücrelerinin sayısını azaltır. BVD virusu, B hücrelerinin yanıtını, plazma hücrelerinin gelişimini ve buna bağlı olarak da IgG ve IgM'lerin sentezini bozar. Persiste infekte hayvanlarda antikor üretimindeki başarısızlık immun toleransa bağlanmıştır. Persiste infekte sığırlarda, böbrekte glomerüllerin mesangial ve endotelial hücrelerinde BVD virus antijeni saptanmıştır. Bu da immunité ile ilgili reaksiyonda renal glomerüllerdeki antijen ile az miktardaki antikorların kompleksler (incomplete immun tolerans) oluşturduğunu göstermektedir. Immun tolerans ve BVD virusunun immunosupressif özelliği, hayvanların bakteriyel ve diğer viral infeksiyonlara karşı duyarlılığını artırır (1,25).

KONTROL

Hastalığın spesifik bir sağıtımı yoktur. Sekunder bakteriyel infeksiyonlara karşı antibiyotikler kullanılabilir(3). Sık görülen ve eradikasyon olanağı olmayan bu hastalıkta kontrol önlemlerinin amacı, transplasental yolla şekillenen infeksiyon oranını düşürmek, böylece infeksiyon sonucu meydana gelebilecek kayıpları asgariye indirmektir. Kar-zarar hesapları, en uygun kontrol programının seçilmesine yardımcı olur.

BVD virus izolatları arasında serolojik heterojenlik bulunmakla birlikte yapılan kros immunité testleri ile BVD virus suşları arasındaki serolojik farklılıkların, suşların immunolojik özelliklerini etkilemediği gösterilmiştir (6). Castrucci ve arkadaşları (6) tarafından çeşitli BVD virus suşlarından hazırlanan aşuların saha suşlarının hemen hemen hepsine karşı yeterli korumayı sağladığı bildirilmekle birlikte polivalan aşuların kullanılması daha yararlıdır (35). Abort veya fötal anomalileri önlemek için aşının sağlıklı ve stres altında olmayan hayvanlara yapılması gerekmektedir. Yetiştirme sürülerinde hayvanlar altı aylık olduktan sonra, ilk çiftleştirme yapılmadan üç hafta önce aşılanırlar (3,35). Aşılama öncesinde kortikosteroidlerin uygulanması, aşılama sonrasında mucosal disease oluşma olasılığını arttırmaktadır. Bu nedenle aşılama yapılırken bu durum dikkate alınmalıdır.



KAYNAKLAR

- 1- Ames, T.R. (1986) : The causative agent of BVD : Its epidemiology and pathogenesis. Vet. Med., 81:848-869.
- 2- Brownlie, J. (1990): Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhoea virus. Vet. Microbiol., 23:371-382.
- 3- Burgu, İ. (1987) : Özel Viroloji. Ankara Üniv. Vet. Fak. Teksir No. 87/88-2. s.30-33.
- 4- Burgu, İ., Öztürk, F., Akça, Y., Toker, A., Frey, R. ve Liess, B. (1990) : Türkiye'de koyunlarda bovine viral diarrhoea (BVD) enfeksiyonlarının varlığı ve önemi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 37: 121-127.
- 5- Castrucci, G., Cilli, V. and Gagliardi, G. (1968): Bovine virus diarrhoea in Italy. Archiv. für die gesamte Virusforschung, 24:48-64.
- 6- Castrucci, G., Avelinni, G., Cilli, V., Pedini, B., McKercher, D.G. and Valente, C. (1975): A study of immunologic relationships among serologically heterologous strains of bovine viral diarrhoea virus by cross immunity tests. Cornell Vet., 65:65-72.
- 7- Corapi, W.V., Donis, R.O. and Dubovi, E.J. (1990): Characterization of a panel of monoclonal antibodies and their use in the study of the antigenic diversity of bovine viral diarrhoea virus. Am. J. Vet. Res., 51:1388-1393.
- 8- Darbyshire, J.H. (1962): Agar gel diffusion studies with a mucosal disease of cattle. II.

A serological relationship between a mucosal disease and swine fever. *Res. Vet. Sci.*, 3:125-128.

9- Diderholm, H. and Dinter, Z. (1966): Infectious RNA derived from bovine virus diarrhoea virus. *Zentralblatt Bacteriol. Parasit. Infektions. Hygi.*, 201:270-272.

10- Dufel, S.J. and Harkness, J.W. (1987): The bovine virus diarrhoea-mucosal disease complex. *Vet. Annual.*, 91-97.

11- Durham P.J.K. and Hassard, L.E. (1990): An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies to bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Microbiol.*, 22:1-10.

12- Finci, E. (1973): Türkiye'de mucosal disease (-virüsü diyare) üzerinde araştırmalar. IV. Bilim kongresi, Ankara.

13- George, T.D., Snowdon, W.A., Parsonson, I.M. and French, E.L. (1967): A serological survey of mucosal disease and infectious bovine rhinotracheitis in cattle in Australia and New Guinea. *Aust. Vet. J.*, 43:549-557.

14- Gillespie, J.H., Madin, S.H. and Darby, N.B. (1962): Cellular resistance in tissue culture, induced by noncytopathogenic strains, to a cytopathogenic strain of virus diarrhoea virus of cattle. *Exp. Biol. Med.*, 110:248-250.

15- Gillespie, J. H., Baker, J. A. and McEntee, K. (1960): A cytopathogenic strain of virus diarrhoea virus. *Cornell Vet.*, 50:73-79.

16- Gutekunst, D.E. and Malmquist, W.A. (1963): Separation of a soluble antigen and infectious particles of bovine viral diarrhoea to hog cholera. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.*, 27:121-123.

17- Gutekunst, D.E. and Malmquist, W.A. (1964): Complement-fixing and neutralizing antibody response to bovine viral diarrhoea and hog cholera antigens. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.*, 28:19-23.

18- Hermodson, S. and Dinter, Z. (1962): Properties of bovine virus diarrhoea virus. *Nature*, 485:893-894.

19- Hewicker, M., Wöhrmann, T., Fernandez, A., Trautwein, G., Liess, B. and Moening, V. (1990): Immunohistological detection of bovine viral diarrhoea virus antigen in the central nervous system of persistently infected cattle using monoclonal antibodies. *Vet. Microbiol.*, 23:203-210.

20- Howard, T.H., Bean, B., Hillman, R. and Monke, D.R. (1990): Surveillance for persistent bovine viral diarrhoea virus infection in four artificial insemination centers. *JAVMA*, 196:1951-1955.

- 21- Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. and Palmer, N. (1985): Pathology of Domestic Animals. 3rd Ed., Orlando Academic Press.
- 22- Katz, J.B., Ludemann, L., Pemberton, J. and Schmerr, M.J. (1987): Detection of bovine virus diarrhoea virus in cell culture using an immunoperoxidase technique. *Vet. Microbiol.*, 13: 153-157.
- 23- Lecomte, C., Pin, J.J., De Moerloose, L., Vandenberg, D., Lampert, A.F., Pastoret, P.P. and Chappuis, G. (1990): ELISA detection of bovine viral diarrhoea virus specific antibodies using recombinant antigen and monoclonal antibodies. *Vet. Microbiol.*, 23: 193-201.
- 24- Leforban, Y., Edwards, S., Ibata, G. and Vannier, P. (1990): A blocking ELISA to differentiate hog cholera virus antibodies in pig sera from those due to other pestiviruses. *Ann. Rech. Vet.*, 21: 119 - 129.
- 25- Liess, B. (1990): Bovine viral diarrhoea virus. In: Dinter, Z. and Morein, B.: Virus Infections of Ruminants. Elsevier Sci. Publishing Co. Inc. pp. 247-266.
- 26- Malmquist, W.A., Fercilus, A.L. and Gutekunst, D.E. (1965): Interference of bovine viral diarrhoea virus by hog cholera virus in swine kidney cell cultures. *Am. J. Vet. Res.*, 26: 1316-132.
- 27- Mignon, B., Dubuisson, J., Baranowski, E., Koromyslov, I., Ernst, E., Boulanger, D., Waxweiler, S. and Pastoret, P.P. (1991): A monoclonal ELISA for bovine viral diarrhoea virus antigen detection in persistently infected cattle. *J. Virol. Methods*, 35: 177-188.
- 28- Moenning, V., Frey, H.R., Liebler, E., Pohlenz, J. and Liess, B. (1990): Reproduction of mucosal disease with cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus selected in vitro. *Vet. Rec.*, 127: 200-203.
- 29- Nettleton, P.F., Rweyemamu, M.M. and Sylla, D. (1992): Pestivirus contamination of veterinary vaccines. *PANVAC Vaccine Bull.*, 2: 24-33.
- 30- Nuttall, P.A., Luther, P.D. and Stott, E.J. (1977): Viral contamination of bovine foetal serum and cell cultures. *Nature*, 266: 835-837.
- 31- Ohmann, H.B. (1988): BVD virus antigens in tissues of persistently viraemic, clinically normal cattle: Implications for the pathogenesis of clinically fatal disease. *Acta Vet. Scand.*, 29: 77-84.
- 32- Ohmann, H.B. and Babuik, L.A. (1988): Influence of interferons α 11 and α 2 and of tumour necrosis factor on persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in vitro. *J. Gen. Virol.*, 69: 1399-1403.

- 33- Paton, D.J., Ibate, G., Edwards, S. and Wendvoort, G. (1991) : An ELISA detecting antibody to conserved pestivirus epitops. *J. Virol. Methods*, 31: 315-324.
- 34- Robson, D.S. Gillespie, J.H. and Baker, J.A. (1960) : The neutralization test as an indicator of immunity to virus diarrhoea. *Cornel Vet.*, 50: 503-509.
- 35- Rodostits, O.M. and Littlejohns, I.R. (1988) : New concepts in the pathogenesis, diagnosis and control of diseases caused by the bovine viral diarrhoea virus. *Can. Vet. J.*, 29 : 513-528.
- 36- Shannon, A.D., Richards, S.G., Kirkland, P.D. and Moyle, A. (1991) : An antigen-capture ELISA detects pestivirus antigen in blood and tissues of immunotolerant carrier cattle. *J. Virol Methods*, 34: 1-12.
- 37- Singh, K.V. (1969) : Intranuclear inclusions in bovine embryo cell cultures infected with bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus. *Vet. Rec.*, 230-232.
- 38- Urman, H.K. (1983) : Evcil Hayvanların Özel Patolojik Anatomisi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay. No. 391. S. 24-27.
- 39- Wellemans, G. et Van Opdenbosh, E. (1987) Mise en evidence du virus BVD (bovine viral diarrhoea virus) dans plusieurs ligness cellulaires. *Ann. Rech. Vet.*, 18: 99-102.