

**ÇEŞİTLİ İLLERDEN TEMİN EDİLEN O₁ TİPİ
ŞAP VİRUSU, SUŞLARININ BHK-21 MONOLAYER VE
SUSPANSE HÜCRE KÜLTÜRLERİNE ADAPTASYONU VE
HALEN AŞI SUŞU OLARAK KULLANILAN
O₁ MANİSA İLE İMMUNOLOJİK YÖNDEN
KARŞILAŞTIRILMASI**

(Adaptation of FMD Virus Strains collected from different districts of Turkey to Monolayer and Suspension BHK-21 Cell Cultures and Immunological Comparison of Those Strains With Vaccine Virus Strain O₁ Manisa)

Burhan GÜRHAN (*) Gülhan DAKILIR (*)

GİRİŞ

Şap virusları, laboratuvar çalışmalarında üretildikleri ortama ve hücreye göre önemli biyolojik değişikliklere uğrarlar. Aynı alt tip viruslarda antijenik farklılıkların yanında plak variantları da görülebilir.

Normal şartlar altında bir tipe karşı hazırlanan aşı, homolog virusa karşı hayvanları 5-6 ay süre ile korur. Ancak, sahadan izole edilen viruslar ile laboratuvar suşu arasında da zaman içinde farklılıkların olabileceği tespit edilmiştir.

Bir alt tipin varlığı serolojik ve immunolojik testlerle meydana çıkarılır. Kros testler sonucunda iki virus arasındaki uzaklık % 70-100 arasında ise aynı tip, % 30-70 ise ayrı alt tip, % 30'un altında ise uzak alt tip olduğuna karar verilir (1-9).

Mevcut şap aşı suşu ile, sahada meydana gelen yeni subtiplerin karşılaştırmasında önceleri sadece CFT'den yararlanırken daha sonra SNT testin CFT'den daha duyarlı olduğu belirlenmiştir (8).

Bengelsdorff ve arkadaşları da farklı viruslar arasındaki immunolojik ilişkiyi belirtmek için en uygun testin SNT olduğunu tanımlamışlardır.

(*) Uzm. Vet. Hekim., Şap Enst. P.K. 714-06044-Ankara

Şap viruslarının immunolojik özellikleri ve plak karakterleri ile üretim metodları arasında bir ilişkinin varolduğu Cowan ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (3). İyi bir aşı suşunun seçiminde; üretildiği sisteme kolay adapte olması ve sahada seyreden suşlara immunolojik ve serolojik özellikleri yönünden homolog ve dominant olması gerekmektedir.

Enstitümüzde önceki yıllarda yapılan bir seri çalışma ile saha suşları ile aşı suşu arasındaki ilişki incelenmiştir (4,7,9). Ancak sahada seyreden virus suşlarının zaman içerisinde ve özellikle aşılama uygulanan ülkelerde değişime uğrayabileceği de bir gerçektir.

Lombard ve arkadaşları da son zamanlarda yakın ve orta doğudan izole edilen şap virus suşlarının serolojik ve biyokimyasal özelliklerini incelemiş ve bu virusları sınıflandırmışlardır (6).

Kitching ELISA ile aşı suşu ve sahadan izole edilen şap virusları arasındaki antijenik ilişkinin kısa sürede tespit edilebildiğini bildirmiştir (5).

Yurdumuzda halen seyretmekte olan O₁ tipi şap virusunun variable olmasından dolayı, sahadan izole edilecek O virusları ile aşı suşunun mukayeseli çalışılmasını gerektirmiştir. Bu nedenle yurdun değişik bölgelerinden (Malatya, Manisa, Erzurum ve Sakarya) izole edilen O tipi şap virusları ile aşı suşu olarak kullanılan O₁ Manisa 1969 SP/12 virusu BHK-21 C13 AN₃₀ monolayer ve süspanse hücre kültürlerine adapte edilerek virusların plak karakterleri üzerinde mukayeseli çalışmalar yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

MATERYAL

1 - Hücre : Virus adaptasyonunda ve serum nötralizasyon testlerinde; BHK-21 C13 AN₃₀ cell line monolayer ve süspanse hücre kültürleri kullanıldı.

2 - Virus : O₁ Manisa SP/12 1969 Laboratuvar suşu.

O Malatya	1989 saha suşu.
O Manisa	1989 saha suşu.
O Erzurum	1989 saha suşu.
O Sakarya	1989 saha suşu.

viruslarının monolayer hücre kültürlerinde adaptasyonu yapıldıktan sonra bu viruslar süspanse kültürlerine inokule edildi. Adapte viruslarla SNT yapıldı.

3 - Vasat : Monolayer hücre üretimi için % 10 serumlu Glasgow MEM, süspanse hücre kültürlerinde % 10 serumlu 6M vasatı, virus üretimi

için de serumsuz VM₃ ve serumsuz 6M vasatları kullanılmıştır. SNT de örtme vasatı olarak Gum tracaganth, plak karakterlerinin tespit edilmesinde de Taylose kullanılmıştır.

4 - Serum : Hücre üretiminde E.B.K. mezbahasından temin edilen sığır serumları kullanılmıştır.

Her virusa karşı kobay adaptasyonundan sonra 21 günlük post inokulasyon (PI) serumlar elde edilmiş ve 56°C'de inaktive edildikten sonra -20°C'de saklanmıştır. Testlerde bu serumların 1/50 dilusyonları kullanılmıştır.

METOT

1 - Hücre ve virus kültürlerinin hazırlanması :

Sıvı azot stoklarında mevcut BHK-21 C13 AN₃₀ hücresi kullanılarak 150 cm² yüzeyli kültür şişelerinde monolayer, 70 ml kapasiteli mini Belcopot'larda süspansen kültürler hazırlanmıştır. % 100 monolayer üreme gösteren şişelere çalışmalarda kullanılacak olan viruslar (O₁ Manisa SP/12 1969, O Malatya 1989, O Manisa 1989, O Erzurum 1989, O Sakarya 1989) usulüne uygun şekilde inokule edilerek seri pasajları yapılmıştır. Monolayer kültüre adapte olan bu viruslar süspansen hücre kültürlerini enfekte etmekte de kullanılmıştır. Süspansen virus kültürlerinin hazırlanmasında başlangıç hücre konsantrasyonu 2.0 x 10⁶ hücre/ml, virus miktarı ise 1 virus partikülü/20 hücre olacak şekilde hesap edilmiştir. Monolayer virus kültürleri % 70-80 CPE görüldüğü zaman, süspansen kültürler ise % 90 hücre ölümü görüldüğü zaman toplanmıştır.

2 - Virusların antijen titreleri :

Virusların antijenik titreleri Kolmer metoduna göre komplement fikzasyon testi (CFT) ile tespit edilmiştir.

3 - Enfektivite titresini ve plak karakterizasyonu :

Üretilen her virus numunesinin enfektivite titresini ve plak karakterleri 6 gözlü disposable plate'ler kullanılarak plak test metoduna göre tespit edilmiştir.

4 - Serum nötralizasyon testi (SNT) :

SNT serum sabit, virus dilue olarak 96 gözlü mikropate'ler de nötralizasyon indeksinin (NI) hesabı ile değerlendirilmiştir

BULGULAR

Değişik bölgelerden temin edilerek monolayer ve süspansiyon hücre kültürlerinde adaptasyon ve üretim çalışmaları yapılan O₁ Manisa (Lab. suşu), O Manisa, O Malatya, O Erzurum, O Sakarya saha viruslarının anti-jenite (CFT) ve enfektivite (IT) değerleri ve üreme süreleri ve doku kültüründe Taylose örtme vasatı ile yapılan çalışmada meydana getirdikleri plakların büyüklükleri Tablo 1,2,3,4,5'de gösterilmiştir.

Sığır virusunun monolayer hücre kültürüne adaptasyonu genellikle 3.,4.,5. pasajlarda olmaktadır. Bu durumda üreme süresinin kısalması (18-24 saat), birbirini takip eden pasajlarda enfektivite ve antijenite titresinin yükselmesi ile kendini gösterir.

Virusların monolayer hücre kültürüne adaptasyonu sırasında üreme süresi ilk 2.,3. pasajda 23-68. saat olmuş, sonraki pasajlarda üreme süreleri azalmıştır.

Çalıştığımız virusların hepsi monolayer hücre kültürüne adapte olmuştur (Tablo 1,2,3,4,5.). Ancak, enfektivite ve antijenite yönünden farklılıklar göstermişlerdir. Şöyle ki O₁ Manisa SP/12 virusu ile O Erzurum, saha virusunun 5 ve 6., O Manisa saha virusu ile O Sakarya saha virusunun 4 ve 5., O Malatya saha virusunun ise 3 ve 5. monolayer pasajları enfektif titre yönünden en yüksek olarak tespit edilmiştir (Tablo 1,2,3,4,5.).

Süspansiyon kültürlerde tohum virus olarak enfektivitenin en yüksek olduğu bu monolayer pasajlar kullanılmıştır (Tablo 1,2,3,4,5).

BHK-21 C13 AN₃₀ monolayer ve süspansiyon hücre kültürlerinde üretilen O₁ Manisa SP/12, O Erzurum, O Malatya, O Manisa ve O Sakarya saha virusları küçük plak karakterindedir (0.1 mm çapında). Adaptasyon çalışmalarında kullanılan saha viruslarının ve aşı suşunun (Sığır orijinli viruslar) daha önce yapılan testlerde de küçük plak verdikleri gözlenmiştir.

Kobay hiperimmün serumları ile yapılan kros serum nötralizasyon testinde bütün virus nötralizasyon indeks değerleri 2.5'in üzerinde bulunmuştur (Tablo 6). Test sonucunda O₁ Manisa SP/12 virusuna göre elde edilen R değerleri de 85-90 arasındadır (Tablo 7). Bu değerlerin ışığında bu virusların yakınlık derecesi % 85-90'dır. Bu da bu virusların aynı alt tip (O₁) içinde ve immunolojikman da benzer olduklarını göstermektedir.

Tablo-1 : O₁ Manisa SP-12 virusunun BHK-21 C13 AN₃₀ monolayer ve süspanse hücre kültürlerindeki adaptasyon ve üreme değerleri.

Pasaj No:	Toplandığı Saat	CFT Kolmer Metodu	IT (PFU) log ₁₀ /1.0 ml	Plak Karakteri
Sığır dili epiteli		4444	6.20	K.P.
Monolayer P-1	49	4321	5.90	K.P.
" P-2	36	4432	6.37	K.P.
" P-3	23	4432	6.79	K.P.
" P-4	18	4443	7.13	K.P.
" P-5	16	444444	7.59	K.P.
" P-6	16	4444	7.78	K.P.
Süspanse P-5/S-1	20	4443	6.91	K.P.
" P-6/S-2	19	4444	6.47	K.P.
" P-5/S-1	18	44443	7.10	K.P.
" P-6/S-1	18	44444	7.17	K.P.
" P-5/S-1	18	44443	7.36	K.P.
" P-6/S-1	18	44443	7.36	K.P.

K.P. - Küçük Plak

S.P. - Sığır Pasajı

NOT : Yapılan tüm çalışmalarda her pasaj için bir adet hücre kültürü kontrol olarak kullanılmıştır.

Tablo-2 : O Erzurum saha virusunun BHK-21 C13 AN₃₀ monolayer ve süspanse hücre kültürlerindeki adaptasyon ve üreme değerleri.

Pasaj No:	Toplandığı Saat	CFT Kolmer Metodu	IT (PFU) log ₁₀ /1.0 ml	Plak Karakteri
Sığır dili epiteli		4432	5.53	K.P.
Monolayer P-1	57	A.C.	4.75	K.P.
" P-2	40	±	4.10	K.P.
" P-3	23	4321	5.34	K.P.
" P-4	21	4432	5.62	K.P.
" P-5	20	4444	6.73	K.P.
" P-6	20	4443	7.21	K.P.
Süspanse P-5/S-1	23	4432	5.13	K.P.
" P-6/S-1	20	4443	5.29	K.P.
" P-5/S-1	24	4432	5.77	K.P.
" P-6/S-1	20	4443	5.91	K.P.
" P-5/S-1	22	4432	5.69	K.P.
" P-6/S-1	21	4443	5.86	K.P.

K.P. - Küçük Plak

NOT : Yapılan tüm çalışmalarda her pasaj için bir adet hücre kültürü kontrol olarak kullanılmıştır.

Tablo-3 : O Malatya saha virusunun BHK-21 C13 AN₃₀ monolayer ve süspanse hücre kültürlerindeki adaptasyon ve üreme değerleri.

Pasaj No:	Toplandığı Saat	CFT Kolmer Metodu	IT (PFU) log ₁₀ /1.0 ml	Plak Karakteri
Sığır dili epiteli		4432	4.17	K.P.
Monolayer P-1	68	21	4.36	K.P.
" P-2	51	A.C.	4.70	K.P.
" P-3	32	4.32	4.83	K.P.
" P-4	28	4.32	4.57	K.P.
" P-5	26	4.43	4.92	K.P.
" P-6	23	432	4.81	K.P.
Süspanse P-3/S-1	33	432	3.93	K.P.
" P-5/S-1	36	432	4.23	K.P.
" P-3/S-1	32	443	4.27	K.P.
" P-5/S-1	34	432	4.58	K.P.
" P-3/S-1	30	443	4.87	K.P.
" P-5/S-1	32	432	4.48	K.P.

K.P. - Küçük Plak

NOT : Yapılan tüm çalışmalarda her pasaj için bir adet hücre kültürü kontrol olarak kullanılmıştır.

Tablo-4 : O Manisa saha virusunun BHK-21 C13 AN₃₀ monolayer ve süspanse hücre kültürlerindeki adaptasyon ve üreme değerleri.

Pasaj No:	Toplandığı Saat	CFT Kolmer Metodu	IT (PFU) log ₁₀ /1.0 ml	Plak Karakteri
Sığır dili epiteli		4443	5.15	K.P.
Monolayer P-1	53	A.C.	4.60	K.P.
" P-2	42	1 ±	5.32	K.P.
" P-3	26	432	5.17	K.P.
" P-4	23	443	5.70	K.P.
" P-5	20	443	5.83	K.P.
" P-6	20	444	5.62	K.P.
Süspanse P-4/S-1	26	432	4.71	K.P.
" P-5/S-1	24	443	4.92	K.P.
" P-4/S-1	25	443	4.76	K.P.
" P-5/S-1	22	432	5.10	K.P.
" P-4/S-1	23	432	4.83	K.P.
" P-5/S-1	26	443	5.00	K.P.

K.P. - Küçük Plak

NOT : Yapılan tüm çalışmalarda her pasaj için bir adet hücre kültürü kontrol olarak kullanılmıştır.

Tablo-5 : O Sakarya saha virusunun BHK-21 C13 AN₃₀ monolayer ve süspanse hücre kültürlerindeki adaptasyon ve üreme değerleri.

Pasaj No:	Toplandığı Saat	CFT Kolmer Metodu	IT (PFU) log ₁₀ /1.0 ml	Plak Karakteri
Sığır dili epiteli		443	4.89	K.P.
Monolayer P-1	62	A.C.	4.35	K.P.
" P-2	51	432	4.46	K.P.
" P-3	40	A.C.	4.71	K.P.
" P-4	32	443	4.81	K.P.
" P-5	24	444	4.75	K.P.
" P-6	23	443	4.67	K.P.
Süspanse P-4/S-1	34	±	4.60	K.P.
" P-5/S-1	30	432	4.53	K.P.
" P-4/S-1	30	432	4.77	K.P.
" P-5/S-1	28	432	4.62	K.P.
" P-4/S-1	32	321	4.70	K.P.
" P-5/S-1	29	432	4.49	K.P.

K.P. - Küçük Plak (1.0 mm)

NOT : Yapılan tüm çalışmalarda her pasaj için bir adet hücre kültürü kontrol olarak kullanılmıştır.

Tablo-6 : Nötralizasyon indeks değerleri

Virus / Serum	Manisa SP-12	Sakarya	Erzurum	Manisa	Malatya
Manisa SP/12	4.80	3.92	3.73	3.56	3.1
Sakarya	3.80	3.83	3.60	3.26	3.1
Erzurum	3.80	3.40	3.60	3.84	3.62
Manisa	3.60	3.70	3.15	3.56	3.30
Malatya	3.60	3.70	3.68	3.56	3.30

Tablo-7 : R değerleri

Virus / Serum	Manisa SP-12	Sakarya	Erzurum	Manisa	Malatya
Manisa SP/12	100	89.5	89.9	86.4	87.6

TARTIŞMA

Araştırmada amacımız sahada seyreden O tipi vak'alarından izole edilen virusları ile laboratuvar suşu olarak kullanılan O₁ Manisa SP/12'nin ilişkilerini tespit etmek olmuştur. Daha öncede bu konu üzerinde gerek Enstitümüzde (4,7,9) gerekse diğer ülke Şap Enstitülerinde (2,6,8) bu tür çalışmalar yapılmıştır. Ancak antijenik varyasyonların devamlılık arz etmesi nedeni ile bu tür saha taramalarının en az birkaç yılda bir yapılmasının hastalık ile mücadelede başarı sağlamak açısından yararı büyüktür.

Yurdumuzda genelde şap hastalığının doğu illerinden batıya doğru yayıldığı gözönüne alınarak marazi maddeler bu bölgelerden seçilen illerden temin edilmiştir.

Monolayer kültürüne adaptasyon sırasında 4 saha virusu ve laboratuvar suşu değişik sürelerde üremiş ve sonuçta antijenite titreleri arasında farklılık gözlenmiştir. Ancak, O Erzurum virusunun enfektivite titreleri monolayer 4. pasajdan itibaren 10^{-6} nın üzerinde değerler vermiş, O Malatya, O Sakarya ve O Manisa virusları 6. monolayer pasajlarda istenilen bu değere yükselmemişlerdir. Benzer durum Sütçü ve arkadaşları ile Okay ve arkadaşlarının 1979'da yapmış oldukları çalışmalarda gözlenmiştir.

Süspansiyon kültürü çalışmalarında, monolayer kültürlerde enfektivite yönünden en yüksek değeri veren adapte viruslar kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda süspansiyon kültürlerinde sadece S-1 olacak şekilde virus inokulasyonları denenmiştir. Çünkü süspansiyon kültürlerinde yapılacak devamlı virus pasajları hem virusun plak karakterini değiştirecek ve hem de enfektif gücünü azaltacaktır ki bu da virus üretiminde istenmeyen bir durumdur. Tercihan tohum viruslarının orijine yakın olması gerekmektedir.

Yapılan çalışmalarda O₁ Manisa SP/12 laboratuvar ve O Erzurum saha suşları süspansiyon kültürlerinde enfektivite ve antijeniteleri yönünden istenilen düzeye ulaşmıştır (Tablo-1,2). O Malatya, O Manisa ve O Sakarya saha virusları enfektivite ve antijeniteleri yönünden variabilite göstermekle birlikte istenilen düzeye de ulaşamamışlardır (Tablo 3,4,5).

Bengelsdorf ve Kitching farklı viruslar arasındaki ilişkiyi belirlemek için nötralizasyon indeks değerlerinin karşılaştırılması gerektiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan saha viruslarının kendi aralarında ve laboratuvar suşu olan O₁ Manisa SP/12 karşısındaki nötralizasyon indeks değerleri Tablo-6'da gösterilmiştir.

İyi bir aşı suşunun üretildiği sisteme kolay adapte olması, iyi antijenite ve enfektivite gücünde olması, üreme sırasında; orijin virus ile serolojik, immunolojik ve plak karakterleri yönünden dominant ve homolog bir yapıda bulunması gerekmektedir. Bu noktadan hareket ederek O Erzurum saha vi-

rusunun ileriki aşamada çoğaltılarak aşısının hazırlanması ve kros bağı-
şiklık testleri ile aşı suşu O₁ Manisa SP/12'nin karşılaştırılmasında yarar
görülmektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmanın sonunda, yurdun değişik bölgelerinden izole edilen
O Manisa, O Sakarya, O Malatya ve O Erzurum saha viruslarının aşı suşu
olarak kullandığımız O₁ Manisa SP/12 virusu ile mukayeseli çalışmalarında
aynı alt tipte olmalarına rağmen bu virusların immunité yönünden daha
sağlıklı değerlendirilebilmeleri için, aralarından en iyi enfektif ve antijenik
değer veren virusla aşı hazırlanarak kendi aşı suşumuz ile karşılaştırıl-
masında yarar vardır.

Ayrıca bu tür çalışmaların değişik zamanlarda tekrarlanmasında sa-
ha virusları ile aşı suşunun mukayesesi yönünden büyük yarar sağlayacağı
kanısındayız.

ÖZET

Türkiye'nin değişik bölgelerineden sağlanan virüsü epitellerden izole
edilen şap virusları aşı suşu O₁ Manisa SP/12 ile hücre kültürlerine adap-
tasyonlarını takiben karşılaştırıldı.

Saha viruslarının değişik sürelerde fakat birbirine yakın pasajlarda
doku kültürüne adapte olduğu ancak infektivite ve antijenitelerinde farklılık
gösterdiği saptandı. Virusların plak karakterleri üzerinde yapılan çalışma-
larda örtme vasatı olarak Taylose kullanıldı. Bütün virusların küçük plak
(K.P.-1.0 mm) karakterinde olduğu görüldü. Ayrıca bu virusların kros nötra-
lizasyon test ile birbirlerine olan yakınlıkları araştırıldı.

Sonuçta O₁ Manisa SP/12 aşı suşunun bu virüslara karşı dominant
ve homolog yapıda olduğu saptandı. Ancak, diğer saha viruslarından infek-
tif ve antijenik yönden daha yüksek titre veren O Erzurum saha virüsü ile
aşı hazırlanarak O₁ Manisa SP/12 aşı suşu ile karşılaştırılmasının yararlı
olacağı kanısına varıldı.

SUMMARY

Foot and Mouth Disease viruses, isolated from epithelium samples
collected from different regions of Turkey, were compared with our vaccine
strain O₁ Manisa SP/12 after their adaptations to cell cultures.

It was determined that adaptation periods of field viruses to cell cultu-
res were different but their passage levels were close each other, however

they showed different infectivity and antigenity. Taylose was used a overlay in plaque characterization studies of viruses. It was found out that all of the viruse have small plaque character (0.1-1.5 mm). The relationship of these viruses to each other were also studied with cross neutralisation test. As a result it was determined that O₁ Manisa SP/12 vaccine strain was homologous and dominant than other viruses. Nevertheless, it was decided that it will be useful to prepare a vaccine with O₁ Erzurum field virus which gave results than other field viruses and to compare it with O₁ Manisa SP/12 vaccine.

TEŞEKKÜR

Bu projenin gerçekleşmesinde katkılarından dolayı, Tarım ve Köyışleri Bakanlığı Araştırma Dairesi Başkanlığı'na, Şap Enstitüsü Müdürlüğü'ne, Seroloji Laboratuvarına teşekkürü bir borç biliriz.

LİTERATÜR

- 1 - ANONİM. : A new type A virus variant of foot and mouth disease in the middle east. Foot and Mouth Disease Bull. 25, 2, 2-7. 1987.
- 2 - BENGELSDORFF. H.J., et al. : Immunological relations between the foot and mouth disease virus isolates A₅ Westerwald 1951 and A₅ Bernbeuren 1984. Berl. Munch. Tierarztl. Wschr. 100, 1264-1268. 1987.
- 3 - COVAN, K.M., EROL, N., WHITELAND, A.P. : Heterogeneity of type Asia-1 foot and mouth disease virus and BHK-21 cells and the relationship to vaccine preparation. Bull. Off. Int. Epiz., 81 (11-12), 1271-1298. 1974.
- 4 - EROL, N., ŞEHEL, E., GÜRSOY, Ç. : Sahadan temin edilerek çeşitli kültür metodları ile üretilen "O" tipi şap virus suşlarının kalitatif ve kantitatif immunojenik değerlendirilmeleri üzerinde çalışmalar. Şap. Enst. Cilt. I, 279-305. 1987.
- 5 - KITCHING, R.P., RENDLE, R. and FERRIS, N.P. : Rapid correlation between field isolates and vaccine strains of foot and mouth disease virus. Vaccine. Vol. 6. 403-408. 1988.
- 6 - LOMBARD, M., DUBOURGET, P., RETRAZ, N. and GAROON, P. : Serological and biochemical properties of FMD strains recently isolated in near and middle east. Uluslararası Şap Sempozyumu, Türkiye. 1988.
- 7 - OKAY, G., KIVILCIM, Y., CERİTLİOĞLU, T. : O₁ tipi şap virusunun sahadaki hasta hayvanlardan elde edilecek suşunun BHK süspanse hücre kültürlerinde üretilmesi ve kültür karakterleri üzerinde çalışmalar. Şap Enst. Cilt I, 229-252. 1987.
- 8 - PAY, T.W.F. +: The comparison of the antigenic relationship of a vaccine strain with a new field isolate of foot and disease. Foot and Mouth Disease Bull. 23, 7, 3-8. 1985.
- 9 - SÜTÇÜ, M., ERDEM, H., GÜRHAN, S.I. : Sahadan hasta hayvanlardan elde edilecek O₁ tipi şap virus suşlarının BHK monolayer doku kültürüne adaptasyonu, bu kültürlerde üretilmesi ve virusların karakterleri üzerinde çalışmalar. Şap. Enst. Cilt I, 204-228. 1987.