

636.09(910)
SEM
P2

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL PETERNAKAN DAN VETERINER

CISARUA, BOGOR, 7-8 NOPEMBER 1995

JILID 2

Penyunting:

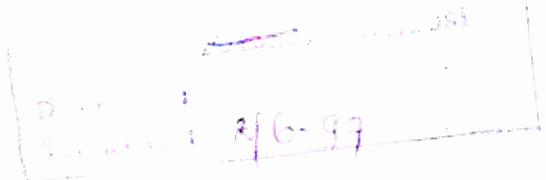
Sukardi Hastiono
Budi Haryanto
Arnold P. Sinurat
I-Ketut Utama
Tjeppy D. Soedjana
Subandriyo
Purnomo Ronohardjo
Sutijono Partoutomo
Sjamsul Bahri
Suprodjo Hardjoutomo
Supar



Redaksi Pelaksana:

Yusuf Halim
Aip Syarifuddin
Hadi Budiman

**PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PETERNAKAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
DEPARTEMEN PERTANIAN
BOGOR, 1996**



TEKNIK POLYMERASE CHAIN REACTION UNTUK MENDETEKSI VIRUS MALIGNANT CATARRHAL FEVER PADA SEDIAAN USAP MUKOSA DOMBA

AGUS WIYONO, MUHARAM SAEPULLOH, RINI DAMAYANTI dan SUDARISMAN

Balai Penelitian Veteriner
Jalan R.E. Martadinata 30, Bogor 16114, Indonesia

RINGKASAN

Pada bentuk *sheep-associated malignant catarrhal fever* (SA-MCF), domba sudah sejak lama diduga secara epidemiologik dan serologik berperan sebagai hewan reservoir. Teknik *polymerase chain reaction* (PCR) telah dimanfaatkan dalam mendiagnosis kasus SA-MCF pada sapi dan kerbau. Dengan menggunakan teknik PCR tersebut, telah dibuktikan bahwa domba membawa *Ovine herpesvirus-2* (OHV-2), agen penyebab SA-MCF, pada sel darah putihnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari potensi sekresi mata, hidung dan vagina domba dalam penyebaran OHV-2 pada sapi dan kerbau dengan memanfaatkan teknik PCR. Dalam penelitian ini disidik OHV-2 dengan uji PCR pada usap mukosa mata, hidung dan vagina induk dan anak domba. Tiga ekor induk dan empat ekor anak domba digunakan dalam penelitian ini. Koleksi sekresi dilakukan sekali seminggu menggunakan usap kapas steril. Dari swab mukosa tersebut, *deoxy ribonucleic acid* (DNA) diekstraksi menggunakan proteinase K dan fenol-kloroform sesuai prosedur standard. DNA dipergunakan sebagai sampel dalam uji PCR. Dari tiga induk domba masing-masing sebanyak 69 sampel swab mukosa mata, hidung dan vagina diuji PCR untuk deteksi OHV-2. Hasil menunjukkan sebanyak 4 (5,8%), 14 (20,3%) dan 16 (23,2%) dari sampel tersebut berturut-turut bereaksi terhadap PCR SA-MCF. Sedangkan dari anak domba, masing-masing sebanyak 80 sampel swab mukosa mata dan hidung yang diuji PCR, berhasil dideteksi OHV-2 sebanyak 1 (1,3%) dari swab mukosa mata dan 3 (3,8%) dari swab mukosa hidung. OHV-2 dideteksi pada dua dari empat anak domba masing-masing mulai umur empat dan lima bulan. Selama penelitian ini terdapat dua kasus MCF alami pada sapi Bali yang terletak satu kandang dengan domba penelitian. Kedua sapi Bali tersebut didiagnosis sebagai MCF berdasarkan gejala klinik, perubahan histopatologik dan pemeriksaan PCR. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa swab mukosa hidung, mata dan vagina induk domba dan swab mukosa hidung anak domba mengandung OHV-2. Sungguhpun mekanisme penyebaran OHV-2 yang pasti dari domba ke sapi dan kerbau belum jelas, akan tetapi virus SA-MCF dalam sekresi tersebut sangat potensial untuk menyebarkan penyakit.

Kata kunci: *Malignant catarrhal fever, polymerase chain reaction*, swab mukosa mata, hidung dan vagina, domba

PENDAHULUAN

Malignant Catarrhal Fever (MCF) atau dikenal dengan penyakit ingusan adalah penyakit akut dan infeksius tetapi tidak kontagius, yang menyerang sapi, kerbau dan ruminansia liar lainnya. Gejala klinis yang sering terlihat adalah demam tinggi yang disertai depresi dan tidak nafsu makan serta keluarnya ingus dan air mata encer hingga kental. Terkadang terlihat konjungtivitis, kekeruhan kornea mata, pembesaran limfodoglandula superfisial dan nekrosis pada rongga hidung dan mulut. Disamping itu adakalanya ditemukan diare dan gejala syaraf (PLOWRIGHT, 1968). Pada bedah bangkai ditemukan inflamasi pada mukosa organ pernafasan, pencernaan maupun kantung kencing. Secara histopatologi,

pada beberapa organ, awalnya terlihat proliferasi limfosit yang selanjutnya merusak dinding pembuluh darah (LIGGIT dan De MARTINI. 1988).

Secara epidemiologi, terdapat dua macam MCF yang dibedakan berdasarkan hewan reservoirnya, yaitu pertama wildebeest-associated MCF (WA-MCF) atau MCF berkaitan dengan wildebeest (*Connochaetes sp*) yang daripadanya diisolasi agen penyebabnya yaitu *Alcelaphine herpesvirus-1* (AHV-1) (Plowright *et al.*, 1960). Bentuk kedua MCF adalah sheep-associated MCF (SA-MCF) yang berkaitan dengan domba dan dilaporkan terjadi di seluruh dunia dimana tidak terdapat wildebeest. Kedua macam MCF tersebut secara klinis dan histopatologis tidak bisa dibedakan.

Agen penyebab SA-MCF belum dapat diisolasi, akan tetapi biakan sel lestari limfoblastoid (lymphoblastoid cell line = LCL) yang bersifat infeksius berhasil diisolasi dari kasus SA-MCF (REID *et al.*, 1983). Sel LCL tersebut membawa informasi genetik virus penyebab SA-MCF, yang selanjutnya diidentifikasi sebagai *Ovine herpesvirus-2* (OHV-2) (BRIDGEN dan REID, 1992; Roizman *et al.*, 1992). Dengan memanfaatkan OHV-2, Baxter *et al.* (1993) berhasil mengembangkan uji *polymerase chain reaction* (PCR) untuk SA-MCF. Di Indonesia uji PCR tersebut sudah dimanfaatkan untuk mendiagnosis kasus MCF baik dari kasus alami maupun kasus asal penularan buatan (WIYONO *et al.*, 1994; WIYONO *et al.*, 1995). Disamping itu uji PCR tersebut juga telah dipergunakan untuk mendeteksi OHV-2 pada sel darah putih induk dan anak domba (BAXTER *et al.*, 1993; Wiyono *et al.*, 1994). Penelitian ini dilaksanakan untuk memanfaatkan uji PCR guna mendeteksi OHV-2, agen penyebab SA-MCF, pada swab mukosa asal anak dan induk domba.

MATERI DAN METODE

Domba

Dalam penelitian ini dipakai jenis domba ekor tipis, dalam keadaan bunting tua dan atau baru saja beranak.

Pengambilan dan pemrosesan sampel swab mukosa

Sampel diambil baik dari induk domba maupun anak domba. Sampel berupa swab mukosa mata, hidung dan vagina (untuk betina) diambil sekali setiap minggu.

Swab mukosa mata, hidung dan vagina domba diambil dengan cara menempelkan kapas steril bertangkai selama 1-2 menit pada mukosa mata, hidung atau vagina induk atau anak domba, dan menggosok perlahan pada mukosanya. Kapas segera dimasukkan pada *phosphate buffered saline* (PBS) steril pada tabung eppendorf, dikocok menggunakan vortex lalu kapas bertangkai dibuang. Tabung eppendorf disentrifuge pada microfuge selama 10 menit. Pelet dilarutkan dalam PBS yang mengandung 200 g/ml proteinase K dan sampel diinkubasikan selama 1 jam pada 45°C. Selanjutnya dikocok dengan vortex, dan *Proteinase K* dinaktifkan dengan cara diinkubasikan selama 10 menit pada 100°C. Setelah dipelet pada microfuge selama 10 menit, maka supernatan dipakai sebagai sampel pada ekstraksi asam deoksi ribo nukleat (DNA) (SAMBROOK *et al.*, 1989).

Ekstraksi asam deoksi ribo nukelat asal sampel

DNA asal sampel diekstraksi menggunakan fenol-kloroform dan dipresipitaskan menggunakan etanol absolut sesuai dengan prosedur standard, dan konsentrasi DNA dikuantifikasi menggunakan alat spektrofotometer (SAMBROOK *et al.*, 1989).

Uji polymerase chain reaction

Uji PCR untuk mendeteksi fragmen OHV-2 pada sampel DNA asal sekresi menggunakan sepasang *nested primer* 556/755 dan 556/555 (BAXTER *et al.*, 1993). Hasil perbanyakan DNA secara *in vitro* diekstraksi menggunakan khloroform dan isoamilalkohol sebelum dianalisis pada gel agaros 1,8%. Fragmen DNA yang spesifik untuk OHV-2 menggunakan primer tersebut menghasilkan 238 bp (pasangan basa) (BAXTER *et al.*, 1993; WIYONO *et al.*, 1994 dan 1995), sehingga setiap sampel yang mengandung fragmen tersebut berarti di dalam sampel swab mukosa tersebut mengandung OHV-2.

Pengamatan terhadap ruminansia besar di dekat kandang domba

Kandang domba dibangun di dalam satu ruangan dengan kandang ruminansia besar yang berisi sapi Bali dan sapi FH. Pada setiap kasus penyakit, gejala klinik diamati, disamping dilakukan bedah bangkai dan pemeriksaan histopatologik serta spesimen dikoleksi untuk didiagnosis dengan uji PCR (BAXTER *et al.*, 1993; WIYONO *et al.*, 1994 dan 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dipergunakan 3 ekor induk domba ekor tipis dalam keadaan bunting tua dan atau baru beranak, domba No.45, 35 dan 34. Dari ketiga induk domba tersebut diperoleh empat ekor anak yang semuanya jantan. Induk domba mulai diambil sampel swab mukosanya setelah 1 bulan di kandang, pada saat mana induk domba No.45 telah beranak (anak domba No.45A). Tiga anak domba No.35A (lahir 10/8/94), 34A-1 dan 34A-2 (lahir 14/8/94) mulai diambil sampel swab mukosanya pada tanggal 18/8/94, lebih kurang satu setengah bulan sejak pertama kali pengambilan sampel dilaksanakan. Ketiga induk domba dan anak domba No.45A diamati delapan bulan. Sedang anak domba No.35A, 34A-1 dan 34A-2 diamati selama 6 bulan.

Tabel 1 menunjukkan hasil uji PCR terhadap sampel swab mukosa mata, hidung dan vagina induk dan anak domba selama periode penelitian. Secara umum, agen penyebab SA-MCF berhasil dideteksi menggunakan PCR pada swab mukosa mata dan hidung induk dan anak domba, dan dari swab mukosa vagina induk domba. Apabila diamati maka terlihat bahwa pada swab mukosa vagina induk domba No.45, OHV-2 dideteksi cenderung lebih tersebar dibandingkan dengan mukosa hidung ditinjau dari saat terdeteksinya OHV-2. Demikian pula halnya dengan swab mukosa dua induk domba No.34 dan 35. Pada mukosa mata ketiga induk domba, OHV-2 hanya dideteksi dua dan satu kali berturut-turut dari induk domba No.45 dan No.35, dan tidak dideteksi dari induk domba No.34 selama 23 pengambilan sampel. Hasil penelitian di atas membuktikan bahwa sekresi domba dan anak domba mengandung virus penyebab SA-MCF. Selama ini peran domba pada kejadian MCF baru berdasarkan data epidemiologi (MUSHI dan RURANGIRWA, 1981a; REID dan BUXTON, 1985; DANIELS *et al.*, 1988), sehingga dalam kaitannya dengan pembahasan agen penyebab MCF, selalu mengacu pada hasil penelitian WA-MCF dimana isolasi AHV-1 sudah dilakukan oleh Plowright *et al.* sejak 1960 dari sel

darah putih hewan wildebeest (*Connochaetes taurinus*), hewan reservoir WA-MCF. Berkaitan dengan isolasi AHV-1 dari sekresi wildebeest, maka AHV-1 berhasil diisolasi dari sekresi hidung (RWEYEMAMU *et al.*, 1974) dan mata anak wildebeest (MUSHI *et al.*, 1980; MUSHI dan WAFULA, 1983).

Tabel 1. Studi longitudinal deteksi fragmen OHV-2 pada sekresi domba menggunakan uji PCR

Tanggal	45			45A (6/6/94)			35			35A (10/8/94)			34			34A-1 (14/8/94)			34A-2 (14/8/94)		
	Mata	Hid	Vag	Mata	Hid	Vag	Mata	Hid	Vag	Mata	Hid	Vag	Mata	Hid	Vag	Mata	Hid	Vag	Mata	Hid	Vag
27/06/94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
06/07/94	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
21/07/94	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
28/07/94	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
18/08/94	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
08/09/94	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14/09/94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
21/09/94	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
28/09/94	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
07/10/94	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14/10/94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21/10/94	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
27/10/94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
08/11/94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18/11/94	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25/11/94	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
08/12/94	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
14/12/94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21/12/94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
02/01/95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
09/01/95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19/01/95	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17/02/95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Catatan
Mata = swab mukosa mata; Hid = swab mukosa hidung; Vag = swab mukosa vagina

Selain itu pada Tabel 1 terlihat bahwa dua dari empat anak domba (No.45A dan 34A-1) selama periode penelitian tidak pernah dideteksi OHV-2 dari swab mukosa mata dan hidungnya. Hasil penelitian serupa dilaporkan pada WA-MCF, yaitu bahwa AHV-1 tidak selalu berhasil diisolasi dari sekresi hidung (RWEYEMAMU *et al.*, 1974) dan dari sekresi mata (MUSHI *et al.*, 1980; Mushi dan WAFULA, 1983). Disamping itu hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa dari suatu kelompok domba yang secara konsisten mengeluarkan OHV-2 dari sekresinya, ternyata tidak semuanya berpotensi menularkan virus MCF pada hewan peka. Akan tetapi hal ini memerlukan penelitian lebih seksama di masa yang akan datang, dan yang perlu dicatat dari hasil di atas adalah bahwa semua anak domba berkelamin jantan.

Sementara itu, pada anak domba No.35A, OHV-2 dideteksi pada swab mukosa hidung dan tidak pada mukosa mata, OHV-2 tersebut dideteksi pada saat anak domba tersebut berumur 5 bulan. Sedang pada anak domba No.34-2, OHV-2 dideteksi baik pada swab mukosa hidung maupun mukosa mata pada saat anak domba tersebut berumur 4 bulan. Pada penelitian WA-MCF, AHV-1 berhasil diisolasi dari sekresi hidung anak wildebeest yang berumur empat hari (Mushi *et al.*, 1980) dan dari fetus serta darah anak wildebeest berumur tujuh hari (PLOWRIGHT, 1965), dan virus tersebut masih terus dikeluarkan melalui sekresi mata dan hidung anak wildebeest sampai berumur 3 bulan (MUSHI dan RURANGIRWA, 1981a). Oleh karena itu diduga bahwa anak wildebeest mendapatkan AHV-1 secara *in utero* dari induk dan secara horisontal dari sesama anak wildebeest (PLOWRIGHT, 1981). Sehingga secara epidemiologik dilaporkan bahwa semua wildebeest telah terinfeksi AHV-1 pada saat berumur 9 bulan (REID dan BUXTON, 1985). Wildebeest ini dalam kondisi stress seperti setelah melahirkan atau penangkaran, maka virus latent tersebut akan disekresikan (RWEYEMAMU *et al.*, 1974).

Pada WA-MCF, AHV-1 dilaporkan hanya disekresikan dari hidung (Rweyemamu *et al.*, 1974) dan mata (Mushi *et al.*, 1980; Mushi dan Wafula, 1983) tetapi tidak dari urin dan saliva (Mushi *et al.*, 1980). Sedangkan pada SA-MCF, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa baik sekresi mata, hidung maupun vagina semuanya mengandung agen penyebab SA-MCF (Tabel 1 dan 2). Bahkan pada Tabel 2 ditunjukkan bahwa dari 367 sampel swab yang diuji PCR dan 38 (10,4%) diantaranya mengandung OHV-2, maka swab mukosa vagina yang tertinggi persentasenya yaitu 16 dari 69 (23,3%), disusul dengan swab hidung sebesar 17 dari 149 (11,4%) dan swab mata sebesar 5 dari 149 (3,4%).

Pada Tabel 2 juga ditunjukkan bahwa dari 38 swab mukosa yang mengandung OHV-2 tersebut, 34 dari 207 (16,4%) berasal dari induk domba dan sisanya 4 dari 160 (2,5%) dari anak domba. Diantara induk domba maka terlihat bahwa OHV-2 paling banyak dideteksi pada induk domba No.45.

Table 2. Hasil uji polymerase chain reaction terhadap swab mukosa mata, hidung dan vagina induk dan anak domba

Domba	Sediaan usap mukosa mata		Sediaan usap mukosa hidung		Sediaan usap mukosa vagina		Total per total
	+	Diuji	+	Diuji	+	Diuji	
Induk No. 45	2	23	8	23	7	23	17/69
Induk No. 35	2	23	4	23	3	23	9/69
Induk No. 34	0	23	2	23	6	23	8/69
Sub-total	4 5,8%	69	14 20,3%	69	16 23,3%	69	34/207 16,4%
Anak No. 45A	0	23	0	23	TA	TA	0/46
Anak No. 35A	0	19	1	19	TA	TA	1,38 2,6%
Anak No. 34A-2	0	19	0	19	TA	TA	0/38
Su-total	1 1,3%	80	3 3,8%	80	TA	TA	4/160 2,5%
Total	5 3,4%	149	17 11,4	TA	TA	TA	38/367 10,4%

Catatan: TA = tidak ada sampel karena anak domba berkelamin jantan

Sementara itu, enam hari dan sepuluh hari setelah induk domba No.45 melahirkan, dua sapi Bali (*Bos javanicus*) yaitu sapi Bali NNI (nomor patologi 94-727) dan Sapi Bali No.02 (nomor patologi 94-754) sakit terserang MCF. Gejala klinis, gambaran pasca mati dan perubahan histopatologi sesuai dengan gambaran MCF, serta pengujian PCR menunjukkan bahwa kedua sapi Bali tersebut terinfeksi OHV-2. Besar kemungkinan bahwa virus SA-MCF yang menginfeksi kedua sapi Bali tersebut berasal dari domba-domba di atas, terutama induk domba No.45 yang baru saja melahirkan dan terbukti bahwa

sekresi domba tersebut secara konsisten mengandung OHV-2. Sungguhpun demikian mekanisme penularan virus dari hewan reservoir ke hewan peka belum diketahui dengan pasti (DANIELS *et al.*, 1988). Pada kasus WA-MCF, cara penularannya diduga berasal dari sekresi mata dan hidung anak wildebeest (RWEYEMAMU *et al.*, 1974). Hal ini terbukti dengan diisolasinya virus WA-MCF dari sekresi mata dan hidung anak wildebeest yang merupakan virus *cell-free* (bebas dari sel) (MUSHI *et al.*, 1980; MUSHI dan WAFULA, 1983). Sebaliknya virus *cell-associated* (berkaitan dengan sel) yang diisolasi dari sekresi mata dan hidung sapi yang terserang WA-MCF tidak menyebabkan penyebaran penyakit (MUSHI dan RURANGIRWA, 1981b). Sejauh ini pada SA-MCF karena belum dapat diisolasi virusnya, maka tidak bisa diketahui apakah virus SA-MCF yang dideteksi dengan PCR pada sekresi di atas merupakan virus *cell-free* atau *cell-associated*. Sungguhpun demikian, dengan memperhatikan data hasil penelitian di atas, maka diduga virus SA-MCF pada domba dan anak domba di atas merupakan virus *cell-free*, oleh karena secara epidemiologik terbukti bahwa virus ini ternyata infeksiif terhadap dua sapi Bali yang berdekatan dengan induk dan anak domba tersebut.

Pada kandang yang sama dengan dua ekor sapi Bali di atas terdapat satu sapi Bali lain beserta empat sapi FH (*Bos taurus*) yang tidak terserang MCF. Satu minggu setelah 2 sapi Bali di atas terserang MCF, maka kelima sapi di atas sel darah putihnya diuji dengan PCR, akan tetapi semuanya tidak mengandung virus SA-MCF yang membuktikan bahwa sapi tersebut tidak terinfeksi MCF. Hasil ini menguatkan pengamatan sebelumnya bahwa dalam suatu kelompok hewan peka (sapi dan kerbau) yang bercampur dengan domba, hanya beberapa yang terserang MCF (DANIELS *et al.*, 1988)

KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian ini membuktikan bahwa virus SA-MCF dapat dideteksi pada swab mukosa mata, hidung dan vagina induk dan anak domba. Virus OHV-2 pada swab mukosa ini berpotensi untuk menularkannya pada hewan peka.

Selama penelitian ini dua ekor sapi Bali (*Bos javanicus*) sakit terserang MCF. Besar kemungkinan virus SA-MCF yang dideteksi pada swab mukosa di atas yang menyebarkan virus OHV-2 tersebut. Akan rute yang pasti belum diketahui. Hal ini memerlukan penelitian lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- BAXTER, S.I.F., I. POW, A. BRIDGEN and H.W. REID HW. 1993. Polymerase chain reaction detection of the sheep-associated agent of malignant catarrhal fever. *Archives of Virology* 132:145-159
- BRIDGEN, A and H.W. REID. 1991. Derivation of a DNA clone corresponding to the viral agent of sheep-associated malignant catarrhal fever. *Research Veterinary Science* 50:38-44.
- DANIELS, P.W., SUDARISMAN, A. WIYONO, and P. RONOHARDJO. 1988. Epidemiological aspects of malignant catarrhal fever in Indonesia. In: *Malignant Catarrhal Fever in Asian Livestock*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. p.20-31.
- MUSHI, E.Z., P.B. ROSSITER, L. KARSTAD and D.M. JESSET. 1980. The demonstration of cell-free malignant catarrhal fever herpesvirus in wildebeest nasal secretions. *Journal of Hygiene* 85:175-179
- MUSHI, E.Z. and J.S. WAFULA. 1983. Infectivity of cell-free malignant catarrhal fever virus in rabbits and cattle. *Veterinary Research Communications* 6:153-155
- MUSHI, E.Z. and F.R. RURANGIRWA. 1981a. Epidemiology of malignant catarrhal fever: a review. *Veterinary Research Communication* 5:127-142
- MUSHI, E.Z. and F.R. RURANGIRWA. 1981b. Malignant catarrhal fever virus shedding by infected cattle. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa* 29:111-112

- LIGGITT, H.D. and J.C. DE MARTINI. 1980. The pathomorphology of malignant catarrhal fever. I. Generalized lymphoid vasculitis. *Veterinary Pathology* 17:58-73.
- PLOWRIGHT, W. 1965. Malignant catarrhal fever in East Africa. I. Behaviour of the virus in free-living populations of blue wildebeest (*Gorgon taurinus taurinus*, Burchell). *Research in Veterinary Science* 6:69-83
- PLOWRIGHT, W. 1968. Malignant catarrhal fever. *Journal of American Veterinary Medicine Association* 152:795-804
- PLOWRIGHT, W. 1981. Herpesvirus of wild ungulates, including malignant catarrhal fever virus. In *Infectious Diseases of Wild Mammals, 2nd Edition*. (Eds. Davis JW, Karstad LH and Trainer DO), Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, pp126-146
- PLOWRIGHT, W., R.D. FERRIS and G.R. SCOTT. 1960. Blue wildebeest and the aetiological agent of bovine malignant catarrhal fever. *Nature* 188:1167-1169
- REID, H.W., D. BUXTON, I. POW, J. FINLAYSON, and E.L. BERRIE. 1983. A cytotoxic T-lymphocyte line propagated from a rabbit infected with sheep-associated malignant catarrhal fever. *Research in Veterinary Science*. 34:109-113.
- REID, H.W. and D. BUXTON. 1985. Immunity and pathogenesis of malignant catarrhal fever. In *Immunity to herpesvirus infections of domestic animals*. Ed. PP Pastoret, E Thiry and J Saliki. Commission of the European Communities. Brussels, Belgium. pp117-130
- ROIZMAN, B., R.C. DESROSIERS, B. FLECKENSTEIN, C. LOPEZ, A.C. MINSON and M.J. STUDDERT. 1992. The family Herpesviridae-an update. *Archives of Virology* 123:425-449
- RWEYEMAMU, M.M., L. KARSTAD, E.Z. MUSHI, J.C. OTEMA, D.M. JESSETT, L.W. ROWE, S. DREVEMO and J.G. GROOTENHUIS. 1974. Malignant catarrhal fever virus in nasal secretions of wildebeest: a probable mechanism for virus transmission. *Journal of Wildlife Diseases* 10:478-487
- SAMBROOK, J., E.F. FRITSCH and T. MANIATIS. 1989. *Molecular Cloning- A Laboratory Manual*. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- WIYONO, A., S.I.F. BAXTER, M. SAEPULLOH, R. DAMAYANTI, P. DANIELS and H.W. REID. 1994. PCR detection of ovine herpesvirus-2 DNA in Indonesian ruminants - normal sheep and clinical cases of malignant catarrhal fever. *Veterinary Microbiology*. 42(1): 45-52
- WIYONO, A., S.I.F. BAXTER, M. SAEPULLOH, SUDARISMAN, R. DAMAYANTI, P.W. DANIELS dan H.W. REID HW. 1994. Diagnosis malignant catarrhal fever di Indonesia dengan menggunakan teknik reaksi berantai polimerase (PCR). Dalam. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Veteriner Untuk Meningkatkan Kesehatan Hewan Dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak. Bogor 22-24 Maret 1994. Balitvet. Bogor. p.112-120

