



Investigación molecular de los virus más importantes que causan abortos en pequeños rumiantes: la importancia del virus akabane

Adurrahman Anil Cagirgan^{1*} ; Kemal Pekmez¹ ; Murat Kaplan¹ 
Fatih Arslan¹ ; Gulnur Kalayci¹ 

¹ Bornova Veterinary Control Institute, Department of Virology, Izmir, Turkey.

*Correspondencia: a.anilcagirgan@gmail.com

Recibido: Abril 2021; Aceptado: Octubre 2021; Publicado: Diciembre 2021.

RESUMEN

Objetivo. Este estudio pretende investigar la presencia de pestivirus, virus de Schmallenberg (SBV), virus akabane (AKAV) y determinó la distribución estacional en abortos de pequeños rumiantes. **Materiales y métodos.** Se investigó un total de 164 fetos abortados de pequeños rumiantes (39 cabras y 125 ovejas) en el oeste de Turquía entre 2015 y 2019. El SBV y el pestivirus se examinaron con RT-PCR en tiempo real y el AKAV se examinó con PCR anidada. **Resultados.** En este estudio, cuatro ovejas (2.3%) resultaron positivas para pestivirus y nueve ovejas y una cabra (5.9%) resultaron positivas para AKAV. No se detectó SBV en ningún animal. Como resultado, el AKAV, un virus transmitido por vectores, se detectó más que otros virus en abortos de ovejas y cabras en el oeste de Turquía. Se secuenció una muestra positiva de virus akabane detectada en fetos de ovejas basándose en el segmento S parcial. Esta muestra encontró una similitud del 99-100% con los aislados de Adana-15, Aksu-1 y Aksu-2 detectados anteriormente en el sur de Turquía. El análisis filogenético mostró que el aislado secuenciado en este estudio estaba agrupado dentro del genogrupo Ib. Además, se determinó la distribución estacional de los abortos de ovejas y cabras. Los casos de aborto que empezaron a aumentar en noviembre alcanzaron un pico en febrero y disminuyeron hasta agosto. **Conclusiones.** Este es el primer estudio en la región del Egeo (incluidas siete provincias) en el que se investigaron simultáneamente tres importantes agentes virales en pequeños fetos abortados de rumiantes.

Palabras clave: Aborto; enfermedad transmitida por vectores; pestivirus; virus akabane; virus de Schmallenberg (*Fuente: CAB*).

ABSTRACT

Objective. This study was aimed to investigate the presence of pestivirus, schmallenberg virus (SBV), akabane virus (AKAV), and determined the seasonal distribution in small ruminant abortion cases. **Materials and methods.** A total of 164 small ruminant aborted fetuses (39 goats and 125 sheep) were investigated in the West Turkey between the years of 2015 and 2019. While the SBV and

Como citar (Vancouver).

Cagirgan AA, Pekmez K, Kaplan M, Arslan F, Kalayci G. Investigación molecular de los virus más importantes que causan abortos en pequeños rumiantes: la importancia del virus akabane. Rev MVZ Córdoba. 2022; 27(1):e2356. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2356>



©El (los) autor (es) 2021. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

pestivirus were examined with real-time RT-PCR, the AKAV was examined with nested-PCR. **Results.** In this study, while four sheep (2.3%) were found to be pestivirus positive, nine sheep and one goat (5.9%) were found to be AKAV positive. SBV was detected in none of the animals. According to the results of the studies carried out, AKAV, a vector-borne virus, was detected more than other viruses in sheep and goat abortions in West Turkey. A positive sample of akabane virus detected in sheep fetuses was sequenced based on the partial S segment. This sample showed 99-100% similarity to the Adana-15, Aksu-1, and Aksu-2 isolates previously detected in Southern Turkey. Phylogenetic analysis showed that the sequenced isolate in this study was clustered within genogroup Ib. Another important piece of data revealed in this study was the determination of the seasonal distribution of sheep and goat abortions. Abortion cases which started to increase in November reached a peak in February and declined till August. **Conclusions.** This is the first study in the Aegean Region (including seven provinces) in which three important viral agents were simultaneously investigated in small ruminant aborted fetuses.

Keywords: Abortion; akabane virus; arboviral diseases; pestivirus; schmallenberg virus (*Source: CAB*).

INTRODUCCIÓN

Los abortos son uno de los problemas más importantes que influyen en la ganadería al causar pérdidas económicas considerables (1). Las causas más importantes de aborto son agentes infecciosos como parásitos, bacterias y virus. Los virus son una de las causas más importantes de aborto en pequeños rumiantes (2,3,4,5).

AKAV y SBV, que son enfermedades transmitidas por vectores, pertenecen al género *Orthobunyavirus*, de la familia Peribunyaviridae. Están estrechamente asociados con los virus tinaroo, aino, shamonda y peaton. AKAV y SBV son virus de ARN con envoltura, tres segmentados (S, M, L) y de polaridad negativa (6,7). AKAV causa trastornos reproductivos (aborto, partos prematuros y mortinatos), anomalías congénitas como artrogriposis-hidranencepatía que también se denominan síndrome AH (7,8). El SBV provoca fiebre, disminución de la producción de leche en el ganado y mortinatos y anomalías en ovejas y cabras (9). AKAV y SBV son transmitidos por *Culicoides* ácaro mordedor (10, 11). El pestivirus es un virus de ARN monocatenario, envuelto, de polaridad negativa y puede causar infección en animales salvajes como rebecos, ciervos y antílopes, además de en animales domésticos como ganado vacuno, ovino, porcino y camello. Las infecciones por pestivirus se observan en un gran número de países del mundo y causan importantes pérdidas económicas debido a los abortos que provocan (12).

La región del Egeo es una de las siete regiones geográficas de Turquía y está ubicada en el oeste de Turquía. Existe una gran cantidad de comercio de ganado y muchos humedales y áreas agrícolas en esta región. Los viajes y la movilidad

humanos también son de gran importancia en la propagación de enfermedades en el área antes mencionada. Además, la incidencia de enfermedades transmitidas por vectores (AKAV) es alta debido a las características del clima cálido de la región del Egeo. Por esta razón, se ha vuelto importante investigar las enfermedades que causan abortos en animales.

El objetivo del presente estudio es investigar la presencia de pestivirus, SBV, AKAV, y determinar la distribución estacional en casos de aborto de pequeños rumiantes ocurridos en la Región del Egeo entre los años 2015-2019.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo. El estudio se realizó sobre abortos de ovejas y cabras recolectados para diagnóstico de rutina en la región del Egeo en el oeste de Turquía entre 2015 y 2019. En total, 164 fetos abortados de 39 cabras y 125 ovejas fueron examinados con RT-PCR en tiempo real para pestivirus y SBV, RT-PCR anidada para AKAV.

Durante la necropsia se obtuvieron asépticamente tejidos fetales que incluían cerebro, pulmón, bazo, nódulo linfático e hígado. Se combinó una cantidad igual de muestra de cada órgano de los fetos abortados y se homogeneizó con 5 ml de 1X PBS (solución salina tamponada con fosfato) (Sigma-Aldrich) y se centrifugó a 3500 rpm y 4°C durante 30 min. Las muestras se almacenaron en -80°C hasta la prueba.

Extracción de ARN. La extracción de ácido nucleico total se realizó utilizando el kit de aislamiento de ácido nucleico total MagNA

Pure LC (Roche, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los extractos de ARN se mantuvieron a -80°C hasta la prueba.

Ensayo de PCR en tiempo real. Se realizó RT-PCR en tiempo real para amplificaciones de pestivirus y ARN viral de SBV con Ready Virus Master en tiempo real (Roche, Alemania). Los cebadores y sondas utilizados para la amplificación de la región 5'-UTR de pestivirus y segmentos S parciales de SBV han sido publicados previamente por Hoffmann et al (13) y Bilk et al (14), respectivamente. La PCR anidada para amplificaciones de ARN viral de AKAV se realizó con un kit de RT-PCR de un solo paso (Roche, Alemania) utilizando cebadores publicados por Akashi et al (15).

Secuenciación y análisis filogenético. El análisis de secuencia se realizó hacia delante o hacia atrás. La secuencia de nucleótidos se evaluó utilizando el software DNADynamo. La secuencia de nucleótidos de consenso obtenida se confirmó utilizando la Herramienta básica de búsqueda de alineación local (BLAST) en el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI). La secuencia de nucleótidos en este estudio y otras secuencias tomadas de NCBI fueron analizadas y alineadas usando el programa MEGA versión X. El árbol filogenético fue construido con el método de unión de vecinos usando el modelo de 2 parámetros de Kimura, un valor de arranque de 1000 réplicas para todos los métodos y solo se informan valores superiores al 50%.

RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 164 fetos abortados de los casos de abortos de ovejas y cabras que ocurrieron en el oeste de Turquía entre enero de 2015 y junio de 2019. En el estudio, se examinó

la distribución anual de abortos; el número de casos de aborto fue el más alto en 2019 (47) y seguido por 2016 (46), 2018 (36), 2017 (25), 2015 (10). Según la distribución mensual de materiales de aborto de ovejas y cabras, los casos de abortos comienzan a aumentar en noviembre, alcanzan un pico en febrero y disminuyen hasta agosto (Figura 1).

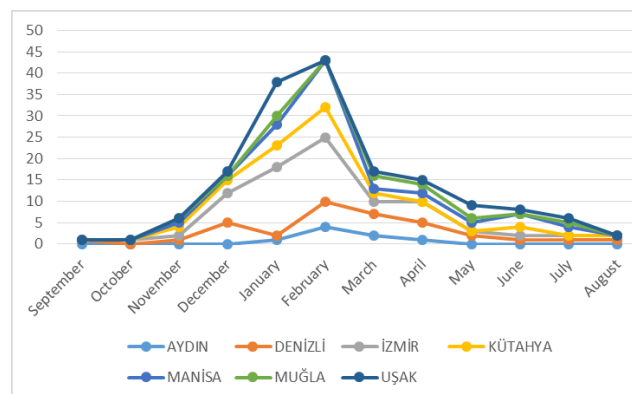


Figura 1. Las distribuciones mensuales de fetos abortados de oveja y cabra. El gráfico muestra resultados similares para cada provincia.

Los pestivirus y SBV se probaron mediante PCR en tiempo real, y el AKAV se probó mediante PCR anidada. Se encontraron pestivirus y AKAV en cuatro (2.3%) y 10 (nueve ovejas, una cabra) (5.9%) de los casos, respectivamente (Tabla 1). En la mayoría de las muestras examinadas en el estudio, se detectó más AKAV que pestivirus. No se detectó SBV en los 164 fetos abortados en este estudio.

Se determinó que la mayoría de los casos de aborto de ovejas y cabras en la región del Egeo estaban en la provincia de Izmir y seguidos por las provincias de Manisa, Denizli, Kutahya, Usak, Mugla, Aydin.

Tabla 1. Número de abortos según especie animal, ubicación geográfica y provincias.

Provincias	Posición geográfica	Oveja			Cabra			TOTAL		
		Núm. fetos	Positividad Aka	Pesti	Núm. fetos	Positividad Aka	Pesti	Núm. fetos	Positividad Aka	Pesti
AYDIN	37°49'51.1"N 27°51'47.0"E	7	-	-	1	-	-	8	-	-
DENIZLI	37°46'57.3"N 29°05'48.3"E	22	2	1	6	-	-	28	2	1
ESMIRNA	38°25'27.9"N 27°08'34.5"E	33	1	-	19	1	-	52	2	-
KUTAHYA	39°24'18.7"N 29°36'46.6"E	19	-	2	2	-	-	21	-	2
MANISA	38°36'53.4"N 27°25'45.7"E	25	1	1	4	-	-	29	1	1
MUGLA	37°14'49.5"N 28°21'25.5"E	6	3	-	4	-	-	10	3	-
USAK	38°40'27.4"N 29°24'18.6"E	13	2	-	3	-	-	16	2	-
TOTAL		125	9	4	39	1	-	164	10	4

Los abortos de ovejas y cabras que resultaron positivos de AKAV se detectaron en enero (2), febrero (2), abril (4), mayo (1) y julio (1). Así, la mayoría de los casos positivos de AKAV ocurrieron en abril. Aunque AKAV es una enfermedad transmitida por vectores, también se encontró que ocurre en los meses de invierno. No se encontraron anomalías (hidranencefalia y artrogriposis) en los abortos de nueve ovejas y una cabra que resultaron ser positivas de AKAV.

Los aislados turcos obtenidos de estudios anteriores (AKSU-1, AKSU-2 y Adana-15) mostraron la mayor homología de ácidos nucleotídicos (100%) con el aislado KMAF-SA en este estudio. El árbol filogenético generado basado en la secuenciación del segmento S mostró que KMAF-SA está en el genogrupo Ib, agrupando con Adana-15, AKSU-1 y AKSU-2 (Figura 2).

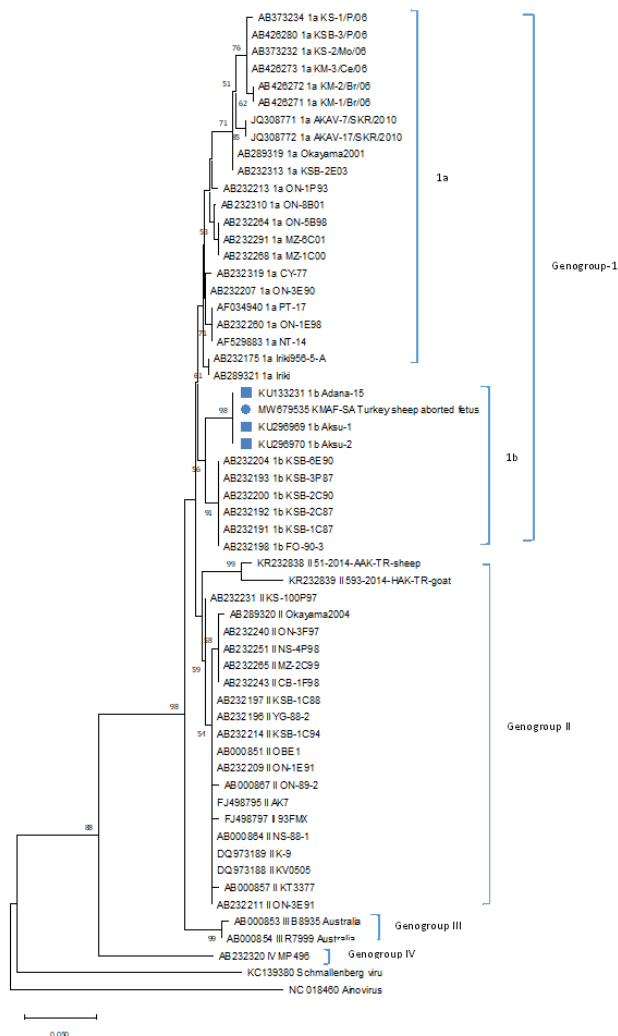


Figura 2. Árbol filogenético de aislados de AKAV de Turquía y otros países.

DISCUSIÓN

En este estudio, usando PCR, se examinaron pestivirus, SBV y AKAV, que son tres agentes cruciales que causan abortos en pequeños rumiantes. Este es el primer estudio en la región del Egeo (incluidas siete provincias) que investiga simultáneamente tres agentes virales importantes en fetos abortados. Se encontraron pestivirus y AKAV en el 2.3 y el 5.9% de los casos, respectivamente. No se encontró SBV en ninguno de los casos de aborto de ovejas y cabras. AKAV se encontró en más casos de aborto de pestivirus. Como en el estudio realizado por Sevik (16) en el sur de Turquía, el AKAV se encontró con una mayor incidencia en los abortos de ovejas en comparación con los pestivirus y el SBV no se detectó en ninguna muestra.

La infección por AKAV se observa generalmente en Australia, los países de Oriente Medio, el sudeste de Asia y algunos países africanos (10). También, la presencia de AKAV en pequeños rumiantes en Turquía se ha informado en estudios previos (16,17,18). Además de los factores relacionados con el ecosistema, como el calentamiento global, los cambios estacionales y la presencia de áreas húmedas, el transporte de animales, los cambios en la estructura demográfica y el aumento de los viajes humanos desempeñan un papel importante en la aparición de enfermedades transmitidas por vectores, tales como AKAV (19,20,21). La región del Egeo, que está ubicada en la zona occidental de Turquía, es una región subtropical que se caracteriza por veranos calientes y húmedos e inviernos lluviosos y tibios. La gran cantidad de fuentes de agua y áreas agrícolas en la región crea importantes hábitats para los vectores. Además, debido al hecho de que la región del Egeo es una zona industrial, agrícola y turística, la intensa movilidad humana y animal la convierte en un lugar potencial para enfermedades transmitidas por vectores.

Los factores climáticos y la ubicación geográfica de la región del Egeo son adecuados para la circulación durante todo el año de *Culicoides*, por lo que desempeñan un papel destacado en la propagación de enfermedades transmitidas por vectores. El AKAV reaparece en rumiantes en Turquía con intervalos irregulares de 4 a 6 años (17,21). En este estudio, la detección molecular de AKAV ocurrió entre 2016 y 2017. AKAV no se detectó en 2015, 2018 y 2019. Los resultados obtenidos en el estudio pueden explicar el hecho de que la enfermedad se considere endémica durante un período de 4 a 6 años y que los

animales adultos en las regiones donde ocurre son inmunes a la enfermedad. Por lo tanto, AKAV no se detectó en 2018 y 2019. AKAV se detectó en la región occidental de Turquía en marzo en un estudio realizado por Oguzoglu et al (17). En el presente estudio, se detectó AKAV en enero, febrero, abril, mayo y julio. El hecho de que el agente se haya detectado principalmente en los meses de invierno fue un indicador de que los ácaros moradores circulan durante cada estación en la región del Egeo de Turquía.

En este estudio, no se observaron anomalías (hidranencefalia y artrogriposis) en los casos de aborto de ovejas y cabras en los que encontramos AKAV. En los pequeños rumiantes, el período de gestación en el que los animales son más sensibles al agente varía entre los días 28 y 56. En el último período de gestación, la incidencia de anomalías es muy baja (10). En este estudio, no hubo información definitiva sobre en qué período de gestación ocurrieron los abortos.

En los estudios previos en Turquía, los aislamientos de AKAV obtenidos en ovejas se determinaron como genogrupo Ib y II (16). El árbol filogenético generado basado en la secuenciación del segmento S mostró que KMAF-SA está en el genogrupo Ib.

En los estudios previos realizados en el campo, la infección por SBV se ha informado en Alemania, Países Bajos, Dinamarca, Noruega, Bélgica, Francia, Luxemburgo, Inglaterra, Italia, España, Suiza, Suecia, Austria, Finlandia, Polonia, Irlanda, República Checa, Estonia, Hungría, Eslovenia, Croacia, Lituania, Grecia, Rusia, Serbia y Rumanía (3). No se encontró SBV en ninguno de los casos de aborto de ovejas y cabras. Esto está en conformidad con el estudio previo realizado en la región mediterránea de Turquía (16). No obstante, un estudio previo realizado en la región de Mármara (norte de Turquía) informó que se encontró SBV en dos abortos de ovejas (22). En otro estudio realizado en el sur de Turquía, el SBV se encontró en el 13.11% de las muestras de sangre de oveja y en el 13.33% de las muestras de sangre de cabra. Se tomaron muestras de sangre de los animales entre uno y seis días después del aborto (18). En este contexto, se sugiere que las muestras de sangre tomadas de la madre en lugar de las muestras de aborto para SBV pueden ser más útiles para detectar el ácido nucleico del SBV.

Se encontró pestivirus en el 52.3% de los abortos de ovejas en la región de Mármara, que fronteriza con Europa (23), y en 98 de 396 (24.74%) abortos de ovejas en un estudio que incluyó la

región de Mármara y algunas ciudades del este (24). En un estudio realizado en la región del Mar Negro, que también se encuentra en el norte, se encontró pestivirus en el 91.9% de los abortos de ovejas y en el 100% de los abortos de cabras (25). Por el contrario, el pestivirus se detectó en solo el 10.4% de los abortos de ovejas y tampoco se encontró en ningún aborto de cabras en un estudio realizado en el sur (26). Gur (27) informó que, en la provincia occidental de Afyonkarahisar, se detectó pestivirus en 2 de 568 abortos de ovejas. Los resultados de pestivirus en el presente estudio difirieron de los reportados en varios estudios previos (23,25,28), pero coincidieron con otros donde se reportaron incidencias bajas (26,27,29,30). Se pueden proponer algunas ideas para explicar posiblemente los diferentes resultados. Una razón es que el método de prueba ELISA es más sensible para los pestivirus (31) y que este método ha sido usado por Tuncer-Goktuna et al (23) en su estudio. La segunda razón podría ser los diferentes métodos de muestreo utilizados en los estudios. En tercer lugar, aunque la región del gen UTR 5' es una región conservada en todos los pestivirus, es posible que no haya detectado nuevos genotipos de pestivirus, tales como cambios similares a HoBi o de una sola base, que pueden haber afectado la hibridación del cebador (31,32).

Los estudios serológicos realizados en las regiones de Mármara y el Mar Negro de Turquía mostraron que las infecciones por pestivirus en cabras no eran frecuentes (33,34). Tampoco se encontró pestivirus en cabras en otros estudios realizados en Turquía utilizando ELISA de antígeno (23,26). En el presente estudio, no se encontró ARN de pestivirus en cabras.

Como consecuencia, se han examinado molecularmente los agentes virales que causan abortos en ovejas y cabras en la región del Egeo, que está ubicada en el oeste de Turquía y tiene un clima subtropical. Este es el primer estudio en la región del Egeo (incluidas siete provincias) en el que se investigaron simultáneamente tres importantes agentes virales en pequeños fetos abortados de rumiantes. Según este estudio, el virus akabane causó abortos en ovejas y cabras en esta región y fue seguido por pestivirus. No obstante, no se encontró SBV en el estudio. Por lo tanto, la detección de virus transmitidos por vectores debe realizarse a largo plazo, en particular para el virus akabane, y deben aplicarse programas de control de vectores a gran escala basados en insecticidas cuando se detecten aumentos de virus. Los hallazgos de

que el virus akabane transmitido por vectores fue el agente viral más frecuente en ovejas y cabras en la región del Egeo y que el SBV se detectó en otras regiones del país, mientras que no se encontró en la región del Egeo, donde las condiciones climáticas son más cálidas y la posibilidad de que la incidencia de enfermedades

transmitidas por vectores sea mayor debería ser objeto de estudios futuros.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Adu-Addai B, Koney EB, Addo P, Kaneene J, Mackenzie C, Agnew DW. Importance of infectious bovine reproductive diseases: an example from Ghana. *Vet Rec.* 2012; 17:47-48. <https://dx.doi.org/10.1136/vr.100789>
2. Borel N, Frey CF, Gottstein B, Hilbe M, Pospischil A, Franzoso FD, et al. Laboratory diagnosis of ruminant abortion in Europe. *Vet J.* 2014; 200(2):218-29. <https://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.03.015>.
3. Lievaart-Peterson K, Lutikholt S, Peperkamp K, Van den Brom R, Vellema P. Schmallenberg disease in sheep or goats: Past, present and future. *Vet Microbiol.* 2015; 181:147-153. <https://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.08.005>
4. Sozzi E, Lavazza A, Gaffuri A, Bencetti FC, Prospero A, Lelli D, et al. Isolation and Full-Length Sequence Analysis of a Pestivirus from Aborted Lamb Fetuses in Italy. *Viruses.* 2019; 13:11(8):744. <https://dx.doi.org/10.3390/v11080744>
5. Sevik M. Genomic characterization of pestiviruses isolated from bovine, ovine and caprine foetuses in Turkey: A potentially new genotype of Pestivirus I species. *Transbound Emerg Dis.* 2020; <https://dx.doi.org/10.1111/tbed.13691>
6. Hoffmann B, Scheuch M, Hoper D, Jungblut R, Holsteg M, Schirrmeyer H, et al. Novel Orthobunyavirus in cattle, Europe, 2011. *Emerg Infect Dis.* 2016; 18:469-472. <https://dx.doi.org/10.3201/eid1803.111905>
7. Maclachlan NJ, Dubovi EJ. Bunyaviridae. In: Fenner's Veterinary Virology. Maclachlan NJ, Dubovi EJ. (editors) 5th edition. San Diego: Elsevier; 2016.
8. Brenner J, Rotenberg D, Jaakobi S, Stram Y, Guini-Rubinstein M, Menasherov S, et al. What can Akabane disease teach us about other arboviral diseases. *Vet Ital.* 2016; 52(3-4):353-362. <https://dx.doi.org/10.12834/VetIt.547.2587.2>
9. Tarlinton R, Daly J, Dunham S, Kydd J. The challenge of Schmallenberg virus emergence in Europe. *Vet J.* 2012; 194:10-1811. <https://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.08.017>
10. Kirkland PD. Akabane virus infection. *Rev Sci Tech.* 2015; 34:403-410. <https://dx.doi.org/10.20506/rst.34.2.2366/>
11. Esteves F, Mesquita JR, Nóbrega C, Santos C, Monteiro A, Cruz R, et al. Epidemiology and Emergence of Schmallenberg Virus Part 1: Origin, Transmission and Differential Diagnosis. [Online]. London: IntechOpen; 2016. <https://dx.doi.org/10.5772/64741>
12. Schweizer M, Peterhans E. Pestiviruses. *Annu Rev Anim Biosci.* 2012; 2:141-163. <https://dx.doi.org/10.1146/annurev-animal-022513-114209>
13. Hofmann B, Depner K, Schirrmeyer H, Beer M. A universal heterologous internal control system for duplex real-time RT-PCR assays used in a detection system for pestiviruses. *J Virol Methods.* 2006; 136:200-209. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.05.020>
14. Bilk S, Schulze C, Fischer M, Beer M, Hlinak A, Hoffmann B. Organ distribution of Schmallenberg virus RNA in malformed newborns. *Vet Microbiol.* 2012; 14:159(1-2):236-238. <https://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.03.035>
15. Akashi H, Onuma S, Nagano H, Ohta M, Fukutomi T. Detection and differentiation of Aino and Akabane Simbu serogroup bunyaviruses by nested polymerase chain reaction. *Arch Virol.* 1999; 144:2101-2109. <https://dx.doi.org/10.1007/s007050050625>

16. Sevik M. A molecular and serological survey on akabane virus infection in small ruminants in the Mediterranean Region of Turkey. *Small Rumin Res.* 2017; 156:1-156. <https://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.07.012>
17. Oguzoglu TC, Toplu N, Koc BT, Dogan F, Epikmen ET, Ipek E, et al. First molecular detection and characterization of Akabane virus in small ruminants in Turkey. *Arch Virol.* 2015; 160:2623-2627. <https://dx.doi.org/10.1007/s00705-015-2536-6>
18. Dogan F. Epidemiologic investigation and possible vector identification of ruminant some arboviral infections (Akabane, Bluetongue and Schmallenberg) in Hatay province. [Ph.D Thesis]. Ankara University Institute of Health Sciences: Ankara, Turkey;. 2018. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>
19. Brand SPC, Keeling MJ. The impact of temperature changes on vector-borne disease transmission: Culicoides midges and bluetongue virus. *J R Soc Interface.* 2017; 14:20160481. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2016.0481>
20. Van Rijn F, Bulte E, Adekunle A. Social capital and agricultural innovation in SubSaharan Africa. *Agric Syst.* 2012; 108:112-122. <https://dx.doi.org/10.1016/j.agsy.2011.12.003>
21. Oguzoglu TC. Akabane virus infection in ruminants. *Animal Health Prod and Hyg.* 2018; 7:592-595. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/1473870>
22. Yilmaz H, Hoffman B, Turan N, Cizmecigil UY, Richt JA, Van der Poel WH. Detection and partial sequencing of Schmallenberg virus in cattle and sheep in Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014; 14:233-235. <https://dx.doi.org/10.1089/vbz.2013.1451>
23. Tuncer-Goktuna P, Alpay G, Oner EB, Yesilbag K. The role of herpesviruses (BoHV-1 and BoHV-4) and pestiviruses (BVDV and BDV) in ruminant abortion cases in western Turkey. *Trop Anim Health Prod.* 2016; 48:1021-1027. <https://dx.doi.org/10.1007/s11250-016-1050-5>
24. Bulut H, Sozduymaz I, Pestil Z, Abayli H, Sait A, Cevik A. High prevalence of bovine viral diarrhoea virus-1 in sheep abortion samples with pestivirus infection in Turkey. *Pak Vet J.* 2018; 38:71-75. <https://dx.doi.org/10.229261/pvj/2018.014>
25. Albayrak H, Ozan E. The investigation of pestivirus and rift valley fever virus infections in aborted ruminant fetuses in the Blacksea Region in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2012; 18:457-461. <https://dx.doi.org/10.9775/kvfd.2011.5648>
26. Hasircioglu S, Kale M, Acar A. Investigation of pestivirus infections in aborted sheep and goats in Burdur region. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2009; 15:163-167. <http://vetdergikafkas.org/abstract.php?id=450>
27. Gur S. A investigation of border disease virus in sheep in Western Turkey. *Trop Anim Health Prod.* 2009; 41:1409-1412. <https://dx.doi.org/10.1007/s11250-009-9328-5>
28. Albayrak H, Gumusova S, Ozan E, Yazici Z. Molecular detection of pestiviruses in aborted fetuses from provinces in northern Turkey. *Trop Anim Health Prod.* 2012; 44:677-680. <https://dx.doi.org/10.1007/s11250-011-9955-5>
29. Yang N, Cui X, Qian W, Yu S, Liu Q. Survey of nine abortifacient infectious agents in aborted bovine fetuses from dairy farms in Beijing, China by PCR. *Acta Vet Hung.* 2012; 60:83-92. <https://dx.doi.org/10.1556/AVet.2012.007>
30. Morrell EL, Campero CM, Cantón GJ, Odeón AC, Moore DP, Odriozola E, et al. Current trends in bovine abortion in Argentina. *Pesqui Vet Bras.* 2019; 39:12-19. <https://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5668>
31. Tuncer-Goktuna P, Yesilbag K. Evaluation of diagnostic methods for the detection of pestiviruses in clinical samples. *Turkish J Vet Anim Sci.* 2017; 41:175-179. <https://dx.doi.org/10.3906/vet-1602-8>
32. Sevik M. The role of pestiviruses (BDV and BVDV) in ruminant abortion cases in the Afyonkarahisar province. *Kocatepe Veteriner Dergisi.* 2018; 11:238-244. <https://dx.doi.org/10.30607/kvj.418451>
33. Albayrak H, Ozan E, Kadi H, Cavunt A, Tamer C. Seroprevalence of pestiviruses in some goat breeds in Samsun Province. *Atatürk University J Vet Sci.* 2016; 11:1-5. <https://dx.doi.org/10.17094/avbd.21258>
34. Alpay G, Oner EB, Yesilbag K. Seroepidemiology and molecular investigation of pestiviruses among sheep and goats in Northwest Anatolia. *Turkish J Vet Anim Sci.* 2018; 42:205-210. <https://dx.doi.org/10.3906/vet-1711-83>