

Kırklareli Yöresi Süt Sığırlarında Subklinik Paratüberkülozun Seroprevalansı[#]

Banu KARAKAŞ¹, Turan CİVELEK^{2*}

¹ Sekiz Kasım Mh. Şafak Sk. Park Sit., A Blk., Lüleburgaz/ Kırklareli

² Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Merkez/ Afyonkarahisar

*Corresponding author e-mail: tcivelek@aku.edu.tr

Bu çalışma Veteriner Hekim Banu Karakaş'ın yüksek lisans tezinden (AKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2017-019) derivate edilmiştir.

ÖZ

Paratüberküloz, *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*'in neden olduğu, başlıca sığırları etkileyen kronik seyirli, bulaşıcı ve ölümcül bir hastalıktır. Hastalık uzun dönem bir subklinik evreye sahiptir. Bu evrede etken hasta hayvanlar tarafından sağlıklı hayvanlara bulaştırılabilir. Hastalık süt sığırları işletmelerinde ciddi ekonomik kayıplara yol açar. Yanı sıra, paratüberküloz olası zoonotik karakterde bir hastalık olup, insanlarda gözlenen Crohn's hastalığının temelinde rol oynayabileceği bildirilmektedir. Türkiye de bu hastalığın varlığı uzun yıllardır bilinmektedir. Sunulan çalışmada ülkemiz süt sığırları yetiştiriciliği açısından önem arz eden Kırklareli yöresinde subklinik paratüberküloz prevalansının belirlenmesi hedeflendi. Antikor tespiti serum örneklerinde ELISA yöntemiyle yapıldı. Çalışma materyalini optimal süt verimine ve canlı ağırlığa sahip, klinik olarak sağlıklı, yaşları 3-4 arasında değişen, 400 multiparoz Holştayn süt sığırları oluşturdu. Çalışma kapsamında, Kırklareli merkez dahil olmak üzere, sekiz farklı ilçede toplam 23 işletmeden randomize örnekleme gerçekleştirildi. Araştırma sonucunda, Kırklareli yöresi süt sığırlarında subklinik paratüberkülozun seroprevalansı %1.5 pozitif, %1.5 şüpheli ve %97 negatif olarak tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Paratüberkülozis, Johne hastalığı, Tüberküloz, ELISA, Trakya bölgesi.

Seroprevalence of Subclinical Paratuberculosis in Dairy Cattle in Kırklareli Region

ABSTRACT

Paratuberculosis is a contagious, chronic and deadly disease affecting the primary cattle produced by *Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis*. It has a long-term subclinical phase. In this period, the disease can be transmitted to healthy animals by the patients. It raises important economical losses in dairy cattle farms. It is also reported that paratuberculosis is zoonotic and plays a key role in Crohn's disease observed in humans. The condition of the disease in Turkey has been known for many years. Purpose of this study was to define the prevalence of subclinical paratuberculosis in Kırklareli region which is important in terms of milk cattle breeding. Antibody detection was done by ELISA in serum samples. The research animal material consisted of 400 multiparous Holstein dairy cattle with optimal milk yield and live weight, clinically healthy, aged 3-4 years. Within the scope of the study, a total of 23 farms were randomly sampled in eight different districts, including the Kırklareli center. As a result of the present study, the seroprevalence of subclinical paratuberculosis was 1.5% positive, 1.5% suspected and 97% negative in Kırklareli region in dairy cattle.

Keywords: Paratuberculosis, Johne's disease, Tuberculosis, ELISA, Thrace region.

To cite this article: Karakaş B, Civelek T. Kırklareli Yöresi Süt Sığırlarında Subklinik Paratüberkülozun Seroprevalansı. *Kocatepe Vet J.* (2018) 11(2): 160-164.

GİRİŞ

Paratüberküloz (pTB), *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*'in (MAP) yol açtığı kronik bir hastalıktır. Ciddi ekonomik kayıplara neden olan MAP son derece bulaşıcıdır. Neonatal dönemden itibaren hayvanlar enfekte olabilmekle birlikte, klinik olgulara daha çok 2-6 yaş arasında rastlanır (Alibaşoğlu ve ark. 1969, Çetinkaya ve ark. 1997, Osterstock ve ark. 2010). Enfekte hayvanların ortalama %1'i ölümler, %50'si subklinik hasta olarak hayatına devam eder. Bu hayvanlarda dikkati çeken tek bulgu ise verim kaybıdır (Andrews 1992). Enfeksiyonun erken döneminde enfekte hayvanlar sürüdeki gençlere ve sağlıklı bireylere etkeni bulaştırırlar (Baumgartner ve Khol 2006). Hasta hayvanların sütleri ve dışkılarıyla yaydıkları etkenler dış ortamda uzun süre canlılığını koruyabilir. MAP'in enfekte hayvanlardan insanlara bulaşık su, et ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle bulaşabileceği de rapor edilmiştir. MAP'in insanlardaki Crohn's hastalığının etiolojisinde rol aldığı araştırmacılar tarafından da önemle ifade edilmektedir (Pickup ve ark. 2004, Nakase ve ark. 2006). Etkenin pastörizasyon prosesine dirençli olması nedeniyle, süt ve süt ürünleriyle insana bulaş riski hastalıkta subklinik evreyi bilhassa önemli kılmakta ve bu dönemde teşhisin önemini arttırmaktadır (Çetinkaya ve ark. 1997, Çetinkaya ve ark. 2000, Yıldırım ve Civelek 2013).

Paratüberküloz olgularına her kıtada rastlanılmakta ve prevalansı bölgesel ve ülkesel olarak farklılık gösterebilmektedir. Avustralya'nın bazı bölgelerinin ari ve İsveç'te ise yaygınlığın nadir olduğu bildirilmiştir. Bazı araştırmalarda pTB prevalansı Almanya'da %84.7, ABD'de %50, Danimarka'da %47, Kanada'da %43 olarak rapor edilmiştir (Collins ve ark. 1994, Jakobsen ve ark. 2000, Van Leeuwen ve ark. 2001, Hacker ve ark. 2004, Holmström ve Stenlund 2005). Ülkemiz açısından ise; Orta Anadolu'daki sığırlarda paratüberkülozun seroprevalansı sırasıyla %2.3 ve %2.7 olarak ortaya konmuştur (Vural ve Atala 1988). ELISA yöntemiyle ülke genelinde yapılan diğer bir çalışmada ise hastalığın yaygınlığı %4.6 olarak rapor edilmiştir (Atala ve Akçay 2001). Kars ilinde sığırlar üzerinde yürütülen bir araştırmanın sonuçları prevalansı; %3.5 ve çiftlik bazında ise %41.6 olduğunu göstermiştir (Makav ve Gökçe 2013). Bir diğer araştırmada ise Uşak da süt sığırlarında dışkı ve süt örneklerinde, PCR tekniği ile elde edilen prevalans değerleri sırasıyla %20 ve %17.5 olarak bildirilmiştir (Yıldırım ve Civelek 2013). Manisa yöresi süt sığırlarında yapılan bir çalışmada ise subklinik paratüberkülozun seroprevalansı %4.6 olarak rapor edilmiştir (Berberoğlu ve Civelek 2016). ELISA; MAP'a karşı gelişen özel antikörlerin belirlenmesi ile paratüberküloz

tanısında en yaygın ve etkili olarak kullanılan yöntemdir (Kalis ve ark. 1999). Bu metotla, sahada yapılan çalışmalarda enfekte hayvanların %80'inin daha klinik semptom göstermeden teşhis edildiği ettiği rapor edilmektedir. Yöntem, henüz dışkılarıyla etkeni saçmayan hayvanların ise %65'ini tespit etmiştir (Jubb ve ark. 2004).

Sunulan bu çalışmada Kırklareli yöresinde ELISA metodu kullanılarak subklinik paratüberkülozun prevalansının ortaya konması hedeflenmiştir. Araştırmamızın ilgili bölge ve ülke genelinde hastalığa karşı etkili kontrol stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmekle birlikte, subklinik pTB'nin teşhisi ile bu hastalığa bağlı uzun dönemde gelişebilecek olası verim kayıplarının önüne geçilmesi de sağlanacaktır. Bu durumun ekonomik açıdan ülkemiz için oldukça önem arz ettiği düşünülmektedir.

MATERYAL VE METOT

Sunulan araştırmanın hayvan materyali; Kırklareli il merkezi ve ilçelerinde (Kırklareli Merkez; 3, Babaeski; 3, Lüleburgaz; 3, Vize; 4, Demirköy; 2, Pehlivan köyü; 4, Kofçaz; 1, Pınarhisar; 3) süt sığırı yetiştiriciliği yapılan 23 işletmeden rastgele örnekleme yöntemiyle seçildi. Örnek dağılımı; Kırklareli Merkez, n=84; Lüleburgaz, n=50; Babaeski, n=60; Vize, n=45; Pehlivan köyü, n=43; Pınarhisar, n=50; Kofçaz, n=40; Demirköy, n=28'dir. Çalışma materyalini; siklik faaliyetleri devam eden, önceki laktasyon dönemlerinde periparturient hastalık (deplasman, ketosis, retentio, hipokalsemi vb.) geçirmemiş, paratüberküloz yönünden aşılınmamış, klinik olarak sağlıklı, yaş, canlı ağırlık ve günlük süt verim ortalamaları sırasıyla; 3.65±0.48 yıl, 600.53±34.88 kg ve 27.55±2.75 lt. olan 400 multiparoz Holştayn ırkı süt sığırı oluşturdu. Materyali oluşturan her bir sığırdan biyokimya tüpüne kan örnekleri alındı ve santrifüj edilerek kan serumları çıkarıldı. Elde edilen örnekler analiz zamanına kadar -20 °C de saklandı. Seroprevalans tayini ELISA [Idexx Paratuberculosis Screening Ab Test, RefPO7130-5] metodu kullanılarak gerçekleştirildi. Örneklerde ölçümler, BIOTEK ELX800, USA marka ELISA okuyucu cihazda 450 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. Pozitif (P) ve negatif (N) kontrol serumlarına ait optik dansite (OD) değerlerinin aritmetik ortalaması (ortalama P, ortalama N) hesaplandı. Her bir serum örneği için S/P değeri; $S/P = (OD - \text{ortalama N}) / (\text{ortalama P} - \text{ortalama N})$ formülü ile değerlendirildi. $S/P \leq 0.60$ ise örnek negatif, $S/P \geq 0.70$ ise örnek pozitif ve $S/P = 0.6 - 0.7$ arasında ise örnek şüpheli olarak kabul edildi. Yaş, canlı ağırlık ve bir önceki laktasyon süt verimi değerlerinin istatistik hesaplanmasında non-parametrik 1 Sample (K-S) testi (SPSS 16.0 for

Windows) kullanıldı. Bu araştırma AKÜHADYEK 14.06.2016 tarih ve 49533702/107 sayılı onayı çerçevesinde gerçekleştirilmiştir. Sunulan araştırma Vet. Hekim Banu Karakaş'ın yüksek lisans tezinden (AKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2017-019) derivate edilmiştir.

BULGULAR

Çalışma kapsamında; totalde 6 sığır pozitif, 6 sığır şüpheli ve 388 sığır ise negatif olarak belirlendi. Pozitif ve şüpheli hayvan oranları %1.5 ve negatif hayvan oranı ise %97 olarak hesaplandı. Sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Kırklareli yöresi subklinik pTB seroprevalansı

Table 1. Kırklareli regional subclinical pTB seroprevalence

İlçe	(n) sayısı	(+)	(?)	(-)
Pehlivanköy	43	-	-	43
Pınarhisar	50	2	1	47
Merkez	84	1	1	82
Vize	45	1	2	42
Babaeski	60	-	-	60
Lüleburgaz	50	-	1	49
Kofçaz	40	1	1	38
Demirköy	28	1	-	27
TOTAL	400	6 (%1.5)	6 (%1.5)	388 (%97)

n; Hayvan sayısı, (+); pozitif olgu sayısı, (-); negatif olgu sayısı, (?); şüpheli olgu sayısı

n; Number of animals, (+); positive cases, (-); negative number of cases, (?); number of suspicious cases

TARTIŞMA VE SONUÇ

Paratüberküloz ve neden olduğu verim kayıpları ve yanı sıra sağlık açısından bu hastalığın sahip olduğu zoonotik potansiyel bilinmesine rağmen ülkemizde bu hastalığın yaygınlığı üzerine yürütülmüş genel ve bölgesel bilimsel araştırma sayıları sınırlıdır (Vural ve Atala 1988, Çetinkaya ve ark. 1999, İkiz ve ark. 2005, Civelek ve ark. 2009, Öztürk ve ark. 2010, Makav ve Gökçe 2013, Yıldırım ve Civelek 2013).

Sunulan çalışmada yoğun olarak süt sığırları bakım ve beslemesi yapılan Kırklareli yöresinde subklinik paratüberkülozun prevalansı araştırılmış ve çalışmamızda, hedef popülasyon olarak iki yaş üstü süt sığırları seçilmiştir. MAP güçlü bir hücre içi patojen olup, makrofaj hücreleri içerisinde uzun süre canlı kalabilmektedir. Enfeksiyonun gelişmesiyle birlikte kandaki antikör seviyesi artar. Enfeksiyonun ilerlemesi uzun zaman aldığından dolayı iki yaşın altındaki sığırlarda etken teşhisi zordur. Bu sebeple teşhis için özellikle kan

serumunun kullanıldığı çalışmalarda, iki yaştan daha küçük sığırlar materyal olarak tercih edilmemektedir. Yapılan bazı çalışmalarda bu yaştaki hayvanlarda ELISA testinin spesifitesi ve sensitivitesinin düşük olduğu ortaya konmuştur. İki yaşın altındaki sığırlarda pTB seroprevalansının değerlendirildiği bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar bu durumu desteklemektedir (Çetinkaya ve ark. 2000, Nielsen ve Toft 2009, Diequez ve ark. 2009, Öztürk ve ark. 2010).

Başlıca dışkı ve süt ile yayılım gösteren MAP subklinik dönemdeki hayvanlardan sağlıklı hayvanlara bulaşma eğilimindedir (Moghadam ve ark. 2010). Yanı sıra enfeksiyon doğumdan hemen sonra ve neonatal dönemde de bulaşabilir. Bu dönem buzağuların enfeksiyona karşı en duyarlı oldukları zaman dilimidir. Kontamine meme başı, süt ve kolostrum etkenin bulaşmasında başlıca rol oynar (Çetinkaya ve ark. 1997, Çetinkaya ve ark. 2000). Bu nedenle paratüberkülozun seroprevalansının subklinik dönemde belirlenmesi sürü yönetimi ve sağlığı açısından son derece önemlidir (Nielsen ve Toft 2009, Öztürk ve ark. 2010, Yıldırım ve Civelek 2013).

Trakya bölgesinde pTB prevalansı ile ilişkili bugüne kadar yürütülmüş iki farklı araştırma raporuna rastlanmıştır. İkiz ve ark. (2005) iki yaş ve üzeri sığırlardan rastgele örnekleme yöntemi ile seçilmiş 96 dışkı örneğini Outher PCR yöntemi ile taramış ve Trakya bölgesinde paratüberküloz etkenine rastlanmadığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada dışkı örneklerinin Trakya bölgesindeki farklı çiftliklerden toplandığı rapor edilmiş olmakla birlikte, kesin coğrafi bildirim (il, ilçe vb.) yapılmamıştır. Özpınar ve ark. (2015) ise araştırmalarını Edirne ili Keşan ilçesi köylerinde yürütmüşler ve çalışmalarında, 30 süt işletmesinde iki yaş ve üzeri sığırlardan elde edilen 270 dışkı örneğini ve bu köylerdeki süt tanklarından toplanan 45 süt örneğini değerlendirmişlerdir. İlgili çalışmada alınan örneklerde MAP genomuna rastlanmadığını araştırmacılar tarafından bildirmektedir. Tarafımızca sunulan bu çalışmada ise; Kırklareli Merkez ilçe dahil olmak üzere, sekiz farklı ilçede 23 farklı çiftlikten randomize olarak seçilmiş 400 süt sığırlarından serum örnekleri toplanmış ve ELISA yöntemi ile subklinik pTB varlığı yönünden analiz edilmiştir. Sunulan bu çalışmada, Kırklareli yöresi süt sığırlarında subklinik paratüberkülozun seroprevalansı %1.5 olarak belirlendi. Bu sonuca ilaveten; total değerlendirmede altı hayvan şüpheli (%1.5) ve 388 hayvan ise negatif (%97) olarak değerlendirildi.

Yapılan çalışmalarda çiftlik prevalansına yeterli kadar önem verilmediği görülmektedir. Bir işletmede tek bir hayvanda bile etkenin tespit

KAYNAKLAR

edilmiş olması bulaş riskini oldukça arttırmaktadır. Bu çerçevede Öztürk ve ark. (2010) Burdur yöresinde yaptıkları bir çalışmada hastalığın çiftlik prevalansını %58 olarak rapor etmişlerdir. Makav ve Gökçe (2013) ise Kars yöresinde yürüttükleri araştırmada çiftlik prevalansını %41.6 olarak ortaya koymuşlardır. Bu verilere göre bir genelleme yapılırsa, değerlendirilme yapılan bireysel işletmelerin yaklaşık yarısında paratüberkülozun tespit edildiği rahatlıkla söylenebilir. Avrupa ülkelerinde yapılan araştırmalarda ise bu hastalığın çiftlik yaygınlığı %0 ila 75 arasında bildirilmektedir (Diequez ve ark. 2009, Nielsen ve Toft 2009, Pozzato ve ark. 2011). Paratüberkülozun prevalans artışının çiftlikteki hayvan sayısı ile doğru orantılı olduğu da bazı araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir (Nielsen 2008, Öztürk ve ark. 2010, Pozzato ve ark. 2011). Sunulan bu araştırmada toplam 23 farklı çiftlikten örnekleme yapılmış olup, 4 çiftlikte birer hayvanda ve bir çiftlikte ise iki hayvanda etken tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu veriler sonucunda, sadece pozitif sonuç veren hayvanlar bazında, Kırklareli bölgesi için çiftlik prevalansı %21.74 olarak ortaya konmuştur.

Trakya aşı tampon bölgesi olması nedeniyle ülkemiz hayvancılığı açısından stratejik bir öneme sahiptir. Türkiye genelinde daha önce rapor edilmiş prevalans araştırmaları ile karşılaştırıldığında, bu çalışmada elde edilen sonuçlar; Kırklareli yöresinde seropozitif hayvan sayısının (%1.5) oldukça düşük olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte; hastalığın yaygınlığının düşük olması paratüberkülozun bu yörede hayvancılık açısından olası bir tehdit oluşturduğu gerçeğini değiştirmemektedir. Hastalıktan arı çıkan ilçelerin korunması ve seropozitif bölgelerin hastalıktan elimine edilmesi adına çalışmaların yapılması insan sağlığı, ülke ekonomisi ve süt sığırcılığının kalitesi açısından önem arz eder.

Subklinik hasta hayvanların tespiti, hastalığı sağlıklı hayvanlara bulaştırma eğiliminden dolayı önemlidir. Etkenin pastörizasyona karşı direnci ve zoonotik potansiyeli göz önünde bulundurulduğunda (Chiodini ve Her-Taylor 1993, Grant ve ark. 1996) subklinik paratüberkülozun halk sağlığı açısından da önem arz ettiği söylenebilir. Sunulan bu çalışma sonuçları, subklinik paratüberkülozun ülke ekonomisi ve insan sağlığı açısından neden olabileceği zararların ortaya konmasına yönelik ulusal düzeyde, çok fazla işletme ve hayvan materyalinin değerlendirileceği, kapsamlı bir çalışmanın gerekliliğine vurgu yapmaktadır.

- Alibaşoğlu M, Demirer F, Yücel N.** Paratüberkülozda Alerjik Reaksiyonların Patolojik Bulgularla Uygunluk Derecesi Üzerine Araştırma. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 1969; 16:236-256.
- Andrews AH.** Bovine Medicine: Blackwell Scientific Publication London. 1992.
- Atala N, Akcay E.** Türkiye genelinde sığır paratüberkülozu prevalansının ELISA ile araştırılması, *Etilik Vet Mikrobiyol Derg.* 2001; 12:39-48.
- Baumgartner W, Khol JL.** Paratuberculosis (johne disease) in Ruminants ongoing story. *Slow vet res.* 2006; 43:5-10.
- Berberoğlu M, Civelek T.** Seroprevalence of Subclinical Paratuberculosis in Dairy Cattle in Manisa Region of Turkey. *Kocatepe Vet J.* 2016; 9(3):194-196.
- Chiodini RJ, Hermon-Taylor J.** The thermal resistance of Mycobacterium paratuberculosis in raw milk under conditions simulating pasteurization. *J Vet Diagn Invest.* 1993; 5:629-631.
- Civelek T, Celik HA, Ozenc E, Avcı G, Kav K, Cıngı CC, Yılmaz O.** Effects of PCR-confirmed subclinical paratuberculosis on retinol and β -carotene levels in dairy cattle. *Arch Med Vet.* 2009; 41:281-284.
- Collins MT, Socket DC, Goodger WJ.** Herd prevalence and geographic distribution of, and risk factors for bovine paratuberculosis in Wisconsin. *J Am VetMed Assoc.* 1994; 204:636-41.
- Çetinkaya B, Erdogan HM, Morgan KL.** Risk factors for Bovine Paratuberculosis. II. The multiple analysis of risk factors for Bovine Paratuberculosis. *Turk J Vet Anim Sci.* 1997; 21:303-306.
- Çetinkaya B, Ergen K, Harbour DA, Morgan KL.** An abattoir-based study of the prevalence of subclinical Johnes disease in adult cattle in south west England. *Epidemiol. Infect.* 1999; 116:373-379.
- Çetinkaya B, Muz A, Eertas HB, Ongor H, Sezen İY, Gulcu HB.** Süt ineklerinde Paratüberküloz prevalansının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile saptanması. *Turk J Vet Anim Sci,* 2000; 24:371-379.
- Diequez FJ, Gonzales AM, Menendez S, Vilar MJ, Sanjuan ML, Yus E, Arnaiz I.** Evaluation of four commercial serum ELISA for detection of Mycobacterium

- avium subsp. paratuberculosis infection in dairy cows. *Vet J.* 2009; 180:231-235.
- Grant IR, Ball HJ, Negl SD, Rowe MT.** Inactivation of *Mycobacterium paratuberculosis* in cows milk at pasteurization temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996; 62:631- 636.
- Hacker U, Huttner K, Konoe M.** Untersuchungen zur serologischen Prävalenz und zu Risikofaktoren der Paratuberkulose in Milchviehbetrieben in Mecklenburg Vorpommern. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr.* 2004; 117:140-144.
- Jakobsen MB, Alban L, Nielsen SS.** A cross-sectional study of paratuberculosis in 1155 Danish dairy cows. *Prev Vet Med.* 2000; 46:15-27.
- Jubb TF, Sergeant ES, Callinan AP, Galvin J.** Estimate of the sensitivity of an ELISA used to detect johnes's disease in Victorian dairy cattle herds. *Aust Vet j.* 2004; 82:569-573.
- Kalis CHJ, Hesselink JW, Barkema HW.** Comparison of culture of individual and strategically pooled bovine faecal samples for *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis. In: Manning EJB, Collins MT, eds. Proceedings of the 6th International Colloquium on Paratuberculosis. pp 344-8. Madison, Wisconsin. 1999.
- Makav M, Gökçe E.** Kars Yöresi Sığırlarında Subklinik Paratüberkülozun Seroprevalansı. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2013; 19(5):913-916.
- Moghadam MT, Sarv S, Moosakhani F, Badue A.** Detection of *Mycobacterium avium* Subspecies paratuberculosis in Milk and faecal Samples in Dairy Cattle by PCR and Nested-PCR. *Journal of Animal Veterinary Avances.* 2010; 9(24):3055-3061.
- Nakase H, Nishio A, Tamaki H.** Specific antibodies against recominant protein of insertion element 900 of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in Japanese patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2006; 12:62-69.
- Nielsen SS.** Transitions in diagnostic tests used for detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis. *Vet Microbiol.* 2008; 132:274-282.
- Nielsen SS, Toft NA.** Reivew of prevalence of paratuberculosis in farmed animals in Europe. *Prev. Vet Med.* 2009; 88:1.14.
- Osterstock JB, Sinha S, Seabury CM, Cohen ND.** Effect of classifying disease states in genetic association studies for paratuberculosis. *Prev Vet Med.* 2010; 95:41-49.
- Öztürk D, Pehlivanoglu F, Tok AA, Gunlu S, Guldali Y, Turutoglu H.** Seroprevalence of paratuberculosis in the Burdur province (Turkey), in dairy cattle using the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Israel J Vet Med,* 2010; 65:53-57.
- Özpinar H, Tekiner İH, Karaman O, Kurt Y.** Investigation of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis (MAP) in Fecal and Bulk Milk Samples from Dairy Farms in Thrace Region of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2015; 21(2):247-252.
- Pickup RW, Rhodes G, Arnott S.** *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in the catchment aera and water of the river Taff in 11. South Wales, United Kingdom, and its potential relationship to clustering of Crohn's disease in the city of Cardiff. *Appl Environ Microbiol.* 2004; 71:2130-2139.
- Pozzato N, Capello K, Comin A, Toft N, Nielsen SS, Vicenzoni G, Arrigoni N.** Prevalence of paratuberculosis infection in dairy cattle in Northern Italy. *Prev Vet Med.* 2011; 102:83-86.
- Van Leeuwen, JA, Keefe GP, Tremblay R.** Seroprevalence of infection with *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis, bovine leukemia virus and bovine viral diarrhoea virus in Maritime Canada dairy cattle. *Can Vet J.* 2001; 42:193-8.
- Vural B, Atala N.** Serological study on bovine paratuberculosis in central Anatolia using the microcomplement fixation and tube complement fixation tests. *Etlik Vet. Microbiol Derg.* 1988; 6:87-97.
- Yıldırım, D, Civelek T.** Prevalence of subclinical paratuberculosis in dairy cattle in Uşak Region. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2013; 19(1):121-126.