



Sütçü İneklerin Kan ve Süt Serumlarında Bovine Leukosis Virus Enfeksiyonunun ELISA ile Araştırılması*

Oğuzhan AVCI¹, Oya BULUT¹, Orhan YAPICI², Kamil ATLI¹, Irmak DİK¹
¹ Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, 42003, Konya-TÜRKİYE
² Türkiye-Kırgızistan Manas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Bişkek-KIRGIZİSTAN

Özet: Bu çalışma kan ve süt serumlarında Bovine Leukosis Virus (BLV)'a karşı gelişen antikorların tespit edilmesi ve kan serumu yerine süt serumu örneklerinin kullanılıp kullanılmayacağına belirlenmesi amacıyla yapıldı. Mart-Eylül 2010 tarihleri arasında Isparta'nın ilçelerindeki (Keçiborlu, Gönen, Şarkikaraağaç, Aksu, Yalvaç, Sütçüler, Atabey, Eğirdir) özel işletmelerde bulunan klinik olarak sağlıklı görünümde 428 baş Holştayn ırkı (yaşları 2 ile 9 arasında) sağmal inekten serolojik incelemeler amacıyla kan ve süt örnekleri alındı. Aynı hayvanlardan elde edilen kan ve süt örnekleri BLV'ye spesifik antikor varlığını tespit etmek amacıyla indirekt Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile incelendi. Araştırma sonucu kan serumu örneklerinin 86 adedi (%20.09) ve süt serum örneklerinin 39 adedi (%9.11) BLV antikorları yönünden pozitif bulundu. İlçeler dikkate alındığında ELISA-kan serum testi ile en düşük seropozitiflik %4 olarak Şarkikaraağaç'da tespit edilirken, en yüksek seropozitiflik ise %59.02 ile Gönen'de tespit edildi. ELISA-süt testi bulguları değerlendirildiğinde en düşük seropozitiflik %1.92 ile Aksu'da, en yüksek seropozitiflik ise %34.55 ile Yalvaç'da tespit edildi. Sonuç olarak ELISA-kan ve ELISA-süt testleri arasında ortanın altında uyum tespit edildiği (K= 0.214) için BLV'nin serolojik teşhisinde kan serumu yerine süt serumu örneklerinin kullanılmayacağı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: BLV, ELISA, kan, seroprevalans, süt

Investigation of Bovine Leukosis Virus Infection in Blood and Milk Serum in Dairy Cattle by ELISA

Summary: The aim of this study was to determine of antibodies against Bovine Leukosis Virus (BLV) in blood and milk serum and whether using milk serum instead of blood serum in serological tests for BLV could be preferred. In this study, 428 (2 to 9 years old) clinically healthy Holstein breed dairy cows were examined from some private businesses in the districts of Isparta (Keçiborlu, Gönen, Şarkikaraağaç, Aksu, Yalvaç, Sütçüler, Atabey, Eğirdir) between March 2010 and September 2010. Both blood and milk serum samples were collected from the same animal for serological investigation and all samples were examined by Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for BLV antibodies. Results showed that a total of 86 (20.09%) blood and 39 (9.11%) milk samples were detected positive for BLV antibodies. According to the districts, the lowest prevalence was detected as 4% in Şarkikaraağaç and the highest prevalence was detected as 59.02% in Gönen by blood serum-ELISA. According to ELISA milk test results, the lowest prevalence was detected as 1.92% in Aksu and the highest prevalence was detected as 34.55% in Yalvaç. It was concluded that there was a fair similarity (K= 0.214) between serum-ELISA and milk-ELISA, therefore, using milk serum in serological tests for BLV can not be considered as an alternative to using blood serum.

Key Words: BLV, ELISA, blood, milk, seroprevalence

Giriş

Bovine Leukosis (BL) enfeksiyonuna neden olan Bovine Leukemia Virus (BLV) tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. Virus sığırlarda Enzootik Bovine Leukosis (EBL) olarak kabul edilen mononükleer fagositik sistemde yaygın neoplastik lenfosit infiltrasyonları ile karakterize sistemik malign tabiatlı bir hastalığa yol açmaktadır (17). Enfeksiyon, lenfosarkoma ve lenfositosis formlarının belirli coğrafik bölgelerde ortaya çıkması nedeniyle "Enzootik Bovine Leukosis" olarak isimlendirilmiştir (13). Etken Retroviridae virus ailesinin Deltaretrovirus genusu içerisinde yer almaktadır. Virus 100 nm çapında,

9-12x106 dalton moleküler ağırlığında, pozitif polariteli tek segmentli linear yapıda RNA genomu taşımaktadır (24). Viral partiküllerin sentezinde 'gag, env ve pol' genleri yanında zar ile 3' LTR (long terminal repeat) arasında yer alan bölüm de görev almaktadır (10).

BLV enfeksiyonunun doğal konakçı spektrumunda sığırlar bulunmaktadır. Deneysel olarak koyun, keçi, domuz, geyik, fare, kanarya, bıldırcın, evcil ve yabani tavşan, kedi ve köpeklerin de enfekte edilebildiği bildirilmiştir (4, 22). Ancak sadece koyunda leukemia geliştiği tavşanda ise immun fonksiyon bozuklukları meydana geldiği rapor edilmiştir (10). BLV'nin bulaşmasında en önemli yol etkenin B lenfositlerde persiste kalmasından dolayı enfekte B lenfositlerinin horizontal olarak sağlıklı hayvanlara aktarılmasıdır. Bu noktada çeşitli amaçlarla yapılan

Geliş Tarihi / Submission Date : 11.03.2013
Kabul Tarihi / Accepted Date : 22.07.2013

*Sütçü İneklerin Kan ve Süt Serumlarında Bovine Leukosis Virus Enfeksiyonunun ELISA ile Araştırılması

uygulamalar (boynuz kesme, kulak küpeleme, kan alma) sırasında gerçekleşen iatrojenik bulaşma doğal enfeksiyonun bulaşmasında önem taşımaktadır. Ayrıca arthropodlar vasıtası ile de sağlıklı bireylere etken taşınabilmektedir (8). BLV'u enfekte anne sütünün alınması veya uterus enfeksiyonları sonucunda yavrulara aktarılabilmektedir (18). BLV ile enfekte hayvanlar büyük çoğunlukla klinik semptom göstermeden persiste enfekte olarak kalmaktadırlar. Bu durum enfeksiyonun sürü içerisinde yayılmasında büyük önem taşımaktadır (24).

BLV'nin direkt teşhisinde etkenin tespiti virus izolasyonu veya polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile gerçekleştirilmektedir (1). BLV'ye karşı gelişen antikorların varlığı ise serolojik olarak agar jel immüno difüzyon (AGID) (11), ELISA (14, 25) ve radioimmunoassay (RIA) testleri ile yapılabilmektedir (19). BLV ile enfekte sığırların erken dönemde belirlenebilmesi, çok sayıda numunenin daha kısa bir sürede incelenebilmesi açısından diğer testlere göre daha avantajlı olduğu ve ayrıca BLV enfeksiyonunun teşhisinde duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olmasından dolayı ELISA'nın kullanılabilmesi bildirilmiştir (6, 27, 28). BLV'ye karşı gelişen antikorların tespit edilmesi amacı ile kan numunesinin yanı sıra süt serumunun da kullanılabilmesi rapor edilmiştir (25).

Bu çalışma BLV'ye karşı gelişen antikorların indirekt ELISA ile tespit edilmesi ve BLV'nin serolojik teşhisinde kan serumu yerine süt serumu örneklerinin kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek amacıyla yapıldı.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada Mart-Eylül 2010 tarihleri arasında Isparta'nın ilçelerinde (Keçiborlu, Gönen, Şarkikaraağaç, Aksu, Yalvaç, Sütçüler, Atabey, Eğirdir) 8 özel işletmeden sağlıklı görünüme sahip Holştayn ırkı sağmal ineklerden kan ve süt serum

Tablo 1. Kan ve süt örnekleme yapılan hayvanların ilçelere göre dağılımları

İlçeler	Örnek sayısı
Keçiborlu	50
Gönen	61
Şarkikaraağaç	50
Aksu	52
Yalvaç	55
Sütçüler	60
Atabey	48
Eğirdir	52
Toplam	428

örnekleri toplandı. Bu amaçla 2 ile 9 yaş arası toplam 428 baş hayvan örneklendi. Araştırmada kullanılan hayvan sayıları ve işletmelere göre dağılımları Tablo 1'de özetlendi.

İndirekt ELISA

Kan serum örneklerinde BLV'nin gp51'e spesifik oluşan antikor varlığını belirlemek amacı ile ticari olarak temin edilen indirekt ELISA (Institut Pourquier, Fransa), süt serum örneklerinde de indirekt ELISA (Institut Pourquier, P02210/12, Fransa) kitleri kullanıldı.

Kan ve süt serum örneklerinin hazırlanması Kan Serum

Kan numuneleri ineklerin V.jugularis'lerinden 10 ml olacak şekilde serum separator jel içeren steril vakumlu tüplere (BD, Vacutainer®, ABD) alındı. Tüpler soğuk zincir altında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı laboratuvarlarına getirilerek 3000 devirde 10 dk santrifüj edildikten sonra serumlar eppendorf tüplere aktarıldı. Serum örnekleri 56°C'de 30 dk bekletilerek inaktive edildi ve test edilinceye kadar -20°C'de muhafaza edildi.

Süt Serum

Steril cam tüplere 10 ml alınan süt örneklerinin üzerine 0.2 ml rennin ve 0.1 ml sature edilmiş (doymuş) CaCl₂ ilave edildikten sonra 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon süresi sonunda 3000 devirde 20 dk santrifüj edildikten sonra krema tabakası uzaklaştırıldı. Serum elde edildikten sonra 56°C'de 30 dk benmaride inkübe edilerek inaktivasyonu sağlandı. Süt serum örnekleri test edilinceye kadar -20°C'de muhafaza edildi.

Kan serumları için indirekt ELISA'nın uygulanması ve değerlendirilmesi

Test, kit içerisinde bildirilen test prosedürüne uygun olarak yapıldı. Mikropleytlar optik dansite (OD) değeri 450 nm'de ELISA okuyucu (Rayto RT-2100C) ile okundu. Her örnek için S/P oranı aşağıda belirtilen formüle göre hesaplandı.

$S/P \% = 100 \times [(OD \text{ örnek} - OD450 \text{ negatif kontrol (NK)}) / (OD450 \text{ pozitif kontrol (PK)} - OD450 \text{ kontrol (PK)})]$
Test edilen örneklerin S/P% oranı %85'e eşit ya da düşük ise negatif; %85-%115 arasında ise şüpheli; %115'e eşit veya büyük ise pozitif kabul edildi.

Test sonuçlarının değerlendirmeye alınabilmesi için PK (OD) değerinin minimal 0.350'ye, PK (OD) değeri ile NK (OD) değeri arasındaki farkın 3'e eşit veya büyük olması gerekmektedir.

Süt serumları için indirekt ELISA'nın uygulanması ve değerlendirilmesi

Test, kit içerisinde bildirilen test prosedürüne uygun olarak yapıldı. Mikropleyter OD değeri 450 nm'ye ayarlanmış ELISA okuyucu ile okundu. Belirlenen absorbans değerleri her bir süt serumu için antikor inhibisyon yüzdesi aşağıda belirtilen formüle göre hesaplandı.

$$S/P\% = 100 \times (\text{OD örnek} - \text{OD NK} / \text{OD PK} - \text{OD NK})$$

Test edilen örnekleri S/P oranı %60'dan küçük ise negatif; %60-%70 arasında ise şüpheli; %70 'den büyük ise pozitif kabul edildi.

Test sonuçlarının değerlendirmeye alınabilmesi için OD PK değerini 0.3'den büyük ve OD PK değeri ile OD NK değeri arasındaki farkın 2'den büyük olması gerekmektedir.

İstatistik analiz

ELISA kan ile ELISA süt testleri sonuçları arasındaki uyum Cohen's Kappa testi ile değerlendirildi.

Bulgular

Yapılan incelemeler sonucunda örneklemin yapıldığı 8 işletmeden alınan 428 kan serumunun 86'sında (%20.09), süt serumunun ise 39'unda (%9.11) BLV enfeksiyonuna karşı antikor varlığı

Tablo 2. BLV antikor pozitif bulunan örneklerin ilçelere göre dağılımı

İlçeler	Örnek sayısı	Pozitif kan serumu		Pozitif süt serumu	
		n	%	n	%
Keçiborlu	50	10	20	5	10
Gönen	61	36	59	3	4
Şarkikaraağaç	50	2	4	2	4
Aksu	52	10	19	1	1
Yalvaç	55	8	14	19	34
Sütçüler	60	9	15	3	5
Atabey	48	4	8	3	6
Eğirdir	52	7	13	3	5
Toplam	428	86	20	39	9

Tablo 3. ELISA kan ve süt testleri arasındaki Cohen's Kappa testi

		ELISA (KAN)		
		Pozitif (%)	Negatif (%)	Toplam
ELISA (SÜT)	Pozitif	31 (%36)	55 (%63)	86
	Negatif	73 (%21)	269 (%78)	342
Toplam		104	324	428

(K = 0.214)

indirekt ELISA ile tespit edildi (Tablo 2). İlçeler dikkate alındığında ELISA-kan testi ile en düşük seropozitiflik oranı Şarkikaraağaç'da (%4) tespit edilirken en yüksek seropozitiflik ise Gönen'de (%59.02) gözlemlendi. ELISA-süt testi bulguları esas alındığında; en düşük seropozitiflik Aksu'da (%1.92) iken en yüksek seropozitiflik Yalvaç'da (%34.55) tespit edildi. İşletmelerde BLV antikor varlığının tespiti amacıyla kan veya süt örneklerinin kullanılması arasında ortanın altında uyum tespit edildi (K= 0.214) (Tablo 3).

Tartışma ve Sonuç

Enzootik Bovine Löykozis tüm dünyada önemli ekonomik kayıplara yol açan sütçü ve etçi sığırların önemli viral bir enfeksiyonudur (9). Enfeksiyona neden olan BLV'u enfekte ettiği sığırlarda üreme ve verim kapasitesini önemli derecede düşürmektedir (8). BLV enfeksiyonunun teşhisi için genellikle serolojik testlerin kullanıldığı belirtilmiştir (5). Kolostrumdaki antikor varlığı sonucu meydana gelen pasif immünite enfekte olan buzağuların serolojik testlerle ayrımını

zorlaştırması nedeniyle 6 aylıktan küçük buzağların test edilmesinin uygun olmayacağı bildirilmiştir (16). BLV enfeksiyonunun prevalansı yaş ile artış eğiliminde olduğu için enfeksiyonun tespit edilmesinde sürüdeki hayvanların yaş gruplarına göre sınıflandırılmasının uygun olacağı belirtilmiştir (27, 28). Bu çalışmada 428 kan serumunun 86'sında (%20.09), süt serumlarının ise 39'unda (%9.11) seropozitiflik tespit edildi (Tablo 2). Örnekleme yapılan ilçelerin hepsinde BLV enfeksiyon varlığı belirlendi. BLV seropozitif işletmelerdeki hayvanların yaşa göre pozitiflik dağılımları incelendiğinde en yüksek seropozitifliğin 7-9 yaş arası hayvanlarda olduğu belirlendi. Yaş artışı ile birlikte enfeksiyonun görülme sıklığında artışlar olduğu birçok araştırmacı tarafından da bildirilmiştir (2, 20, 28).

Hastalığa neden olan virus süt, tümör kitleleri, lenfositler ve kolostrum ile bulaşmaktadır (7). EBL enfeksiyonunun sütçü sığırlarda varlığını ortaya koymak ve prevalansını belirlemek amacıyla tesadüfi örnekleme ile alınan kan ve süt serumları indirekt ELISA tekniği ile incelendi. Rastgele örnekleme metodu kullanılmasına rağmen bütün ilçelerde enfeksiyon varlığının tespit edilmesi örnekleme yapılan işletmelerin BLV enfeksiyonu yönünden periyodik olarak kontrol edilmesi gerekliliğini ortaya koydu. Çalışmada ELISA-kan ve ELISA-süt testleri arasında ortanın altında uyum tespit edildi ($K=0.214$, Tablo 3). İşletmelerde %1.92-59.02 arasında değişen oranlarda seropozitiflik belirlenmesi örnekleme metoduna bağlanmıştır. Ayrıca yüksek seropozitiflik oranları BLV ile enfekte hayvanların klinik olarak herhangi bir belirti göstermeden sürülerde uzun süre kalmasına, enfeksiyonun inkubasyon süresinin uzun sürmesine ve sürüde bulunan enfekte hayvanlardan sağlıklı hayvanlara çeşitli yollarla enfeksiyonun aktarılmasına bağlanabilir. Çalışmanın yapıldığı işletmelerde verim özellikleri açısından yüksek performanslı ileri yaşlardaki hayvanların sürüden çıkartılmadıkları kaydedilmiştir. Bu durum ilçelerin hepsinde seropozitifliğin belirlenmesini açıklamaktadır. Ayrıca bu faktör BLV enfeksiyonunun görülme sıklığı ve yayılmasını da arttırmaktadır.

ELISA-kan testi ile yapılan incelemede 86 (%20.09) kan serum örneğinde seropozitiflik tespit edildi. Bu sonuç Batmaz ve ark.'ları (3) ile Akça ve ark.'nın (28) tespit ettikleri seropozitiflik oranları ile uyumlu bulunurken Schoepf ve ark. (25) ile Trono ve ark.'nın (26) belirledikleri oranlardan daha düşük bulundu. ELISA-süt testi ile 39 (%9.11) süt serum örneğinde seropozitiflik saptandı. Bu sonuç Klintevall ve ark.'nın (15) sonuçları ile (%11.56) paralellik göstermektedir. ELISA ile süt serumunda antikor tespitine dayanan çalışmalarda %5.91-43 oranında seropozitiflik (3, 21, 23, 25) bildirilmiştir. Söz konusu çalışmalarda bazı sürülerde BLV seropozitifliğinin yüksek olması araştırılan sürü popülasyonunun geniş tutulmasına, incelenen sürülerin enfeksiyon oranının yüksek

düzeyde seyrettiği Avrupa ülkelerinden getirilmiş olmasına (25), incelenen sürülerdeki hayvanların ELISA testi uygulanmadan önce klinik tanı ve AGID testine tabi tutularak şüpheli, negatif ve pozitif olarak sınıflandırılmış (21) olmasına bağlanmıştır. Düşük seropozitifliğin görüldüğü çalışmalarda ise ortak emzirme, aşılama ve tedavi uygulamalarının az miktarda yapılması (3), sürüdeki hayvanların bireysel özelliği ve enfeksiyon durumunun etkili olduğu açıklanmıştır (15). Bu çalışmada kan serumunda EBL'ye karşı oluşan antikor varlığı belirlenirken aynı hayvanların süt serumlarında antikor tespit edilememesi örneklenen hayvanların laktasyon periyodunun farklı olmasına bağlanmıştır.

Schoepf ve ark. (25) etçi sığırlarda sütçü sığırlara göre daha yüksek seropozitiflik belirlediklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, etçi sığırlarda BLV enfeksiyonunun yüksek prevalansta seyretmesinin nedenini böcek ısırıklarına ve ithal edilmiş BLV ile enfekte süt sığırlarıyla bir arada otlatılmalarına bağlanmıştır. Bu çalışmada kullanılan bütün sığırlar sütçü olduğu için BLV enfeksiyonunun etçi ve sütçü sığırlarda görülme oranları hakkında karşılaştırma yapılamamıştır.

İyisan ve ark. (12) EBL seroprevalansını Holştayn ırkında %3.91-4.01, Jersey ırkında %0.1 ve saf Alman ırkında %0.1 tespit etmişlerdir. Bu çalışmada örneklenen hayvanların tamamı Holştayn olduğu için farklı ırklara göre değerlendirme yapılamamıştır.

Bu çalışma ile Isparta'nın ilçelerinde BLV enfeksiyon varlığı ELISA ile ortaya konuldu. Enfeksiyon varlığı saptanan işletmelerde buzağlarda karışık ve ortak emzirme yapıldığı tespit edildi. İnek sütünün buzağı beslenmesinde kullanıldığı enfekte işletmelerde sütün başlıca bulaşma aracı olduğu belirtilmiştir (7). Süt sığırcılığının yoğun olarak yapıldığı Isparta ve ilçelerinde BLV enfeksiyonunun yüksek bulunduğu, bunun nedeninin sürülerde ortak emzirme, aşılama, sık tedavi uygulamaları, kontamine eldiven ve enjeksiyon iğneleri olduğu düşünüldü. Bundan dolayı BLV enfeksiyonunun tespit edildiği Isparta'nın ilçelerinde bulunan işletmelerde bulaşmada etkili olan bakım ve yetiştirme koşulları gözden geçirilmeli, enfekte sığırlar sürülerden çıkartılmalı, süt sığırı yetiştiriciliğinde kullanılan "süt havuzu" sistemleri periyodik aralıklarla serolojik testlerle incelenmelidir. Ayrıca daha fazla sayıda süt sığırı üzerinde araştırma yapılmasının gerekli olduğu kanaatine varıldı. Yapılacak bu uygulamalar bölgede BLV enfeksiyonunun devamlı olarak kontrol altında tutulmasını sağlayacaktır.

Seropozitif hayvanlardan elde edilen kolostrumla buzağların beslenmesinin ilk 3 ay buzağları enfeksiyona karşı koruyabildiği bildirilmiştir (8). Ancak enfeksiyondan korunmada yeni doğan buzağların seronegatif hayvanlardan elde edilen kolostrumla beslenmesi yaygın olarak kabul gören bir görüştür.

Ayrıca 6 aylık ve daha büyük hayvanların 6 ayda bir sürü taraması yapılarak enfekte hayvanların sürüden uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu araştırma sonucunda BLV enfeksiyonunun teşhisinde ELISA-kan testinin duyarlılığının, ELISA-süt testinden daha yüksek olduğu belirlendi. Ayrıca kan ve süt serumu sonuçları arasında ortanın altında uyum tespit edildi ($K = 0.214$, Tablo 3). BLV enfeksiyonunun serolojik teşhisinde ELISA-kan testlerinin ELISA-süt testlerinden daha öncelikle tercih edilmesi gerekliliği ortaya konuldu.

Sütçü işletmelerde BLV enfeksiyonunun varlığı konusunda süt serum örneklerinin incelenmesi ön fikir edinilmesine yardımcı olabilmektedir. Ancak süt numuneleri ile yapılacak kontroller esnasında örneklenecek hayvanların laktasyon periyodunun doğru ve uygun zamanda seçilmesi BLV enfeksiyonunun varlığının belirlenmesi açısından oldukça önemlidir. Bu çalışmada kan ve süt ELISA değerleri arasında ortanın altında uyum tespit edilmesi, BLV'nin serolojik teşhisinde kan serumu yerine süt serumu örneklerinin kullanılmayacağını ortaya koydu.

Kaynaklar

1. Alkan F, Oguzoglu TC, Timurkan MO, Karapinar Z. Characterisation of env and gag gene fragments of bovine leukemia viruses (BLVs) from cattle in Turkey. *Arch Virol* 2011; 156: 1891-6.
2. Angelos JA, Thurmond MC. Bovine Lymphoma. Smith BP. ed. In: *Large Animal Internal Medicine, Fourth Edition*. USA: Mosby Elsevier, 2009; pp. 1173-6.
3. Batmaz H, Çarlı KT, Şen A, Kennerman E, Minbay A, Yılmaz Z, Caner V, Baklacı C. Güney Marmara Bölgesi'nde enzootik bovine leukosis'in prevalansı ve bazı bakım-yetiştirme koşullarının incelenmesi. *Tr J Vet Anim Sci* 1999; 23: 261-8.
4. Baumgartener LE, Olson C. Host range of bovine leukosis: Preliminary report. Straub OC. ed. In: *Current topics in veterinary medicine and animal science*. Boston: Martinus Nijhoff Publishing, 1982; pp. 338-46.
5. Burny A, Bruck C, Chantrenne H, Cleuter Y, Dekegel D, Ghysdael J, Kettmann R, Ledercq M, Leunen J, Mammerickx M, Portetelle D. Bovine leukemia virus: Molecular biology and epidemiology. Klein G. ed. In: *Viral Oncology*. New York: Raven Press, 1980; pp. 231-89.
6. Camargos MF, Feliziani F, De Giuseppe A, Lessa LM, Reis JKP, Leite RC. Evaluation of diagnostic tests to bovine leukemia virus. *RPCVAR* 2007; 102: 169-73.
7. Chung YS, Prior HC, Duffy PF, Rogers RJ, Mackenzie AR. The effect of pasteurisation on bovine leukosis virus-infected milk. *Australian Vet J* 1986; 63(11): 379-80.
8. Evermann JF, DiGiacomo RF, Hopkins SG. Bovine leukosis virus: understanding viral transmission and the methods of control. *Vet Med* 1987; 82: 1051-8.
9. Garazi S, Hoida G, Trainin Z, Ungar-Waron H, Brenner J. De novo-infection of a large accredited BLV-free dairy herd. *Israel Vet J* 2001; 56(4): 12-8.
10. Gillet N, Florins A, Boxus M, Burtreau C, Nigro A, Vandermeers F, Balon H, Bouzar AB, Defoiche J, Burny A, Reichert M, Kettmann R, Willems L. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology* 2007; 16: 4-18.
11. Hafez SM, Sharif M, Al-Sukaryan A, DeLa-Cruz D. Preliminary studies on enzootic bovine leukosis in Saudi dairy farms. *Dtsch Tierarztl Wschr* 1990; 97(2): 61-3.
12. İyisan AS, Bitgel A, Özyörük F. İstanbul ilindeki süt sığırlarında enzootik bovine leukosis'in seroepidemiolojisi. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg* 1996; 2(27): 223-45.
13. Johnson R, Kaneene JB. Bovine leukemia virus and enzootic bovine leukosis. *Vet Bull* 1992; 62(4): 287-312.
14. Kale M, Özmen Ö, Şahinduran Ş, Yavru S. Üç sütçü inekte enzootik bovine lökozis (EBL) enfeksiyonunun klinik, serolojik, hematolojik ve patolojik olarak incelenmesi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2007; 13: 93-7.
15. Klintevall K, Naslund K, Svedlund G, Hajdu L, Linde N, Klingeborn B. Evaluation of an indirect ELISA for the detection of antibodies to bovine leukaemia virus in milk and serum. *J Virol Methods* 1991; 33: 319-33.
16. Lassauzet MLG, Johnson WO, Thurmond MC, Stevens F. Protection of colostral antibodies against Bovine Leukemia Virus infection in calves on a California dairy. *Can J Vet Res* 1989; 53: 424-30.
17. Lorenz RJ, Straub OC. The epidemiology of enzootic bovine leukosis. Burny A, Dordrecht MM. eds. In: *Developments in veterinary virology 2, enzootic bovine leukosis and bovine leukemia virus*. Netherlands: Martinus Nijhoff, 1987; pp.51-70.

18. Meas S, Usui T, Ohashi K, Sugimoto C, Onuma M. Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. *Vet Microbiol* 2002; 84(3): 275-82.
19. Miller J, Schmerr MJF: Detection of bovine leukemia virus infection by immunodiffusion and radioimmunoassay. Burny A, Mammerickx M. eds. In: *Developments in veterinary virology 2, enzootic bovine leukosis and bovine leukemia virus*. Netherlands: Martinus Nijhoff Publishing, Dordrecht, 1987; pp.187-93.
20. Mohammadi V, Atyabi N, Gh Nikbakht B, Lotfollahzadeh S, Mostafavi E. Seroprevalence of bovine leukemia virus in some dairy farms in Iran. *Global Veterinaria* 2011; 7(3): 305-9.
21. Nguyen VK, Maes RF. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection antibodies to bovine leukemia virus in serum and milk. *J Clin Microbiol* 1993; 31(4): 979-81.
22. Onuma M, Hodatsu T, Yamamoto S, Higashihara M, Masu S, Mikami T, Izawa H. Protection by vaccination against bovine leukemia virus infection in Sheep. *Am J Vet Res* 1984; 45: 1212-5.
23. Prevost P, Eloit M, Toma B. Despitage de la leucose bovine enzootique par le test elisa applique au lactoserum concentre de tank. *J Biol Stand* 1988; 16(2): 91-7.
24. Rodríguez SM, Florins A, Gillet N, de Brogniez A, Sánchez-Alcaraz MT, Boxus M, Boulanger F, Gutiérrez G, Trono K, Alvarez I, Vagnoni L, Willems L. Preventive and therapeutic strategies for bovine leukemia virus: Lessons for HTLV. *Viruses* 2011; 3: 1210-48.
25. Schoepf KC, Kapaga AM, Msami HM, Hyera JMK. Serological evidence of the occurrence of enzootic bovine leukosis (EBL) virus infection in cattle in Tanzania. *Trop Anim Hlth Prod* 1997; 29: 15-9.
26. Trono KG, Perez-Filgueira DM, Duffy S, Borca MV, Carrillo C. Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: comparison of sensitivity and specificity of different detection methods. *Vet Microbiol* 2001; 83: 235-48.
27. Van Der Maaten MJ, Miller JM. Bovine leukosis virus. Dinter Z. Morein B. eds. In: *Virus infections of vertebrates*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV, 1990; pp. 419-29.
28. Akça Y, Alkan F, Bilge S, Karaoğlu T, Özkul A, Burgu İ, Kaaden OR. Süt sığırlarının süt ve kan serumlarında enzootik sığır lökozyozuna (EBL) karşı antikor varlığının enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ve agar jel immunodiffuzyon (AGID) testi ile araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1996; 43: 53-9.

Yazışma Adresi:

Araş. Gör. Dr. Oğuzhan AVCI
Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Viroloji Anabilim Dalı, Konya/TÜRKİYE

E-posta: oavci@selcuk.edu.tr

Tel: 0332 223 27 19

Faks: 0332 241 0063