

## Kars Yöresi Sığırlarında Bovine Leukaemia Virus İnfeksiyonu Üzerinde Serolojik ve Hematolojik Araştırmalar\*

Salih OTLU, Fuat AYDIN, Oktay GENÇ, M.Ali GÜLER

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars - TÜRKİYE

Gürbüz GÖKÇE

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kars - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 20.01.2000

**Özet :** Araştırma Kars ve yöresinde yetiştirilen sığırlarda sığır löykemi virus enfeksiyonu prevalansını serolojik ve hematolojik olarak belirlemek üzere yapılmıştır. Bu amaçla Kars ve yöresinde yetiştirilen çeşitli ırk (Zavot, Holştayn, Esmer, Yerli), cinsiyet (383 dişi, 60 erkek) ve yaştaki (2-8 yaş) toplam 443 sığıra ait kan (antikoagulanlı ve antikoagulanlı) ve 383 süt örneği serolojik (Agar Gel Immunodiffusion - AGID ve Enzyme Linked Immunosorbent Assay - ELISA) ve hematolojik olarak (lenfosit sayısı ve oranı, total lökosit sayısı, hematokrit değeri) incelenmiştir. Serolojik olarak AGID ve ELISA testi ile incelenen 443 kan serumu ve 383 süt örneğinin tümü EBL açısından her iki test ile de negatif bulunmuştur. Antikoagulanlı olarak alınan 443 sığıra ait kan örneğinin yapılan hematolojik incelenmesi sonucu 402'si normal değerler içerisinde, 28'i şüpheli ve 13'ü pozitif olarak belirlenmiş, ancak bu durum serolojik bulgularla desteklenmediğinden anlamlı bulunmamıştır.

**Anahtar Sözcükler :** Sığır, löykemi, virus, enfeksiyon, seroloji, hematoloji

### Serological and Haematological Investigations on Bovine Leukaemia Virus Infections in Kars District

**Abstract :** This study was carried out in order to serologically and haematologically determine the prevalence of Bovine Leukaemia Virus infection in cattle raised in Kars and environs. For this purpose a total of 443 blood samples and 383 milk samples belonging to the various breeds (Zavot, Holstein, Brown-Swiss and Native), and sexes (383 female, 60 male) were examined serologically (Agar Gel Immunodiffusion (AGID) and Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)) and haematologically (lymphocyte counts, total leucocyte counts and haematocrit value). All of the 443 blood samples and 383 milk samples examined serologically by AGID and ELISA tests were found to be negative in EBL. As a result of the haematological examination of the blood samples taken from 443 cattle without coagulant, 402 were found to be within normal values, 28 to be obscure, and 13 to be positive. Since these findings were not supported by the serological data, the results were not considered as significant.

**Key Words:** Bovine, leukaemia, virus, infection, serology, haematology

### Giriş

Enzootik sığır löykozu (Enzootic Bovine Leucosis, EBL), çeşitli organ ve sistemlerin lenforetiküler dokularında neoplastik hücre infiltrasyonları ile karakterize ve malign nitelikte tümöral bir hastalıktır (1,2,3). İnfeksiyon etkeni Retroviridae familyası tip C grubunda ekzojenik bir retrovirus olan sığır löykemi virusu (Bovine Leukaemia Virus, BLV)dur (4,5,6). Virusun hedef hücreleri B lenfositlerdir. Virus esas olarak tek iplikcikli RNA, nükleoprotein p12, kapsid (kor) protein p24, trans-

membran glikoprotein gp30, zarf glikoprotein gp51 ve özellikle revers transkriptaz gibi çeşitli enzimlere sahiptir (4). Hastalık doğal olarak yalnızca sığırlarda gözlenmekte deneysel olarak koyun, keçi, domuz, tavşan, şempanze ve buffalolara nakledilebilmektedir (4,7). Hayvandan hayvana en yaygın bulaşma şekli esasen horizontal yolla ve infekte sığırlara ait lenfositlerin başka hayvanlara nakli ile olmaktadır (8,9,10,11,12).Hasta sığırlarda kilo kaybı, halsizlik ve süt veriminde düşüş gibi genel bulguların yanı sıra enfeksiyonun yerleştiği organa göre değişen klinik semptomlar gözlenir (2,11,13,14).

\* Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (VHAG-1304).

Sığır löykemi virusu ile infekte hayvanlarda virusun zarf glikoproteini gp 51 ve kor proteini p 24' e karşı antikorlar oluşmaktadır (15,16,17). BLV ile infekte hayvanların teşhis edilmesi amacıyla kullanılan serolojik metodlar agar gel immunodiffusion (AGID), radioimmunoassay (RIA) ve enzyime linked immunosorbent assay (ELISA) dır (18,19,20). EBL'nin kontrol ve eradikasyonunda en geçerli yöntem infekte hayvanların serolojik olarak belirlenmesi ve kesime sevk edilmesidir (21,22,23).

Sığır yetiştiriciliği yapılan çeşitli ülkelerde yürütülen serolojik araştırmalar sonucu EBL'nin prevalansı İsrail' de %25 (24), % 18 (23), ABD' de en az % 20, Kanada' da % 6-11, Fransa' da % 27, Venezuela' da % 37 (25), İsveç' de % 25-30 (7) gibi yüksek oranlarda belirlenmiştir. Ülkemizde infeksiyon üzerinde seroepidemiolojik çalışmalar 1980' li yılların sonlarına doğru çeşitli bölgelerde yürütülmüştür. Araştırmaların sonuçlarına göre EBL prevalansı Bursa Bölgesi' nde % 9,15 (26), % 3,06 (27), Elazığ yöresinde % 0,5 (14), ülkemizin değişik yörelerinde yetiştirilen sığırlarda AGID testi ile % 7,6 ELISA testi ile % 14,4 oranında EBL pozitif hayvan bulunmuştur (12).

Bu araştırmada Kars yöresi sığırlarında enzootik sığır löykozunun serolojik ve hematolojik yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

**Kan ve süt örnekleri :** Mayıs - Kasım 1997 tarihleri arasında Kars ve civarı yörelerine bağlı toplam 17 köye gidilerek klinik yoklamaları yapılan 2 yaş ve yukarısı çeşitli ırk (Zavot, Holştayn, Esmer ve Yerli) ve cinsiyette (383 dişi, 60 erkek) 443 sığırdan kan örneği (antikoagulanlı ve antikoagulansız) ve 383 sığırdan süt örneği toplanmıştır (Tablo 1). Serolojik yoklamalar (ELISA, AGID) amacıyla antikoagulansız olarak alınan kan örneklerinin pıhtılaşmasını takiben çizimleri yapılarak serumları çıkarılmış, sterilite kontrolleri yapılarak -20°C de derin dondurucuya kaldırılmıştır. Yine serolojik yoklamaya tabi tutulacak süt numuneleri santrifüje edildikten sonra sterilite kontrolleri yapılarak -20°C de saklanmıştır.

**Serolojik testler :** Kan serumları ve süt örneklerinde Bovine Leukaemia Virus'a (BLV) karşı oluşan spesifik antikorların serolojik olarak saptanması amacıyla ELISA ve AGID testinden yararlanılmıştır. ELISA ve AGID ticari test

Yer	Hayvan sayısı	Numune sayısı		Cinsiyet	
		Kan	Süt	Dişi	Erkek
Kümbetli / Merkez	32	32	27	27	5
Yalnızçam / Selim	28	28	25	25	3
Taşköprü / Çıldır	28	28	28	28	0
Gülyüzü / Çıldır	35	35	32	32	3
Yenidemirkapı / Göle	27	27	27	27	0
Mezra / Merkez	20	20	16	16	4
Taşbaşı / Çıldır	25	25	20	20	5
Aşağı Kotanlı / Merkez	27	27	21	21	6
Öncül / Çıldır	22	22	22	22	0
KAÜ. Çiftliği / Merkez	17	17	17	17	0
Akdere / Merkez	30	30	23	23	7
Tepeler / Ardahan	22	22	18	18	4
Baltalı / Çıldır	26	26	20	20	6
Dikme / Merkez	27	27	22	22	5
Çamurlu / Merkez	20	20	20	20	0
Göldalı / Çıldır	27	27	21	21	6
Yalınkaya / Merkez	30	30	24	24	6
<b>Toplam</b>	<b>443</b>	<b>443</b>	<b>383</b>	<b>383</b>	<b>60</b>

Tablo 1. Çalışma kapsamında numune alınan yerler, numune sayıları ve hayvanların cinsiyetleri.

kitleri Institut Pourquier firmasından (326, rue de la Galeria- 34090 Montpellier - FRANCE) temin edilmiş ve üretici firmanın öngördüğü şekilde kullanılmıştır.

#### ELISA testi :

##### Kan serumu

Test, üretici firmanın belirttiği prosedüre göre yapılmıştır. Bu amaçla kit içeriğinde bulunan liyofilize pozitif ve negatif referans serumlar 0,5 ml distile su ile sulandırılarak hazırlanmıştır. Çift sayılı sütunları BLV antijeni ile kaplı, tek sayılı sütunları BLV antijeni ile kaplanmamış mikropleytlerin her çukuruna 190 µl buffer solüsyonu konuldu. Daha sonra pleytin B1 ve B2 çukuruna 10 µl pozitif referans serum A1 ve A2 çukuruna ise 10 µl miktarında negatif referans serum, diğer her bir çift çukura (C1 ve C2, D1 ve D2, E1 ve E2, ....) test edilecek serum örneklerinden 10'ar µl miktarında konularak (1/20) ELISA Shaker'da çalkalandıktan sonra alüminyum folyö ile örtülerek 37°C de 1 saat süreyle (Kısa inkübasyon periyodu) inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda mikropleytler 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkandıktan sonra her çukura 100 µl, buffer solüsyonla 1/100 oranında dilüe edilen anti-bovine IgG monoklonal konjugat konulup, mikropleytler alüminyum folyö ile örtülerek 37°C de 30 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Inkübasyon süresi sonunda mikropleytler yıkama solüsyonu ile yıkandıktan sonra, her çukura 100µl substrat (3,3',5,5' Tetrametilbenzidin, TMB) konularak karanlık odada 22°C de 20 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda pleytin her çukuruna 100 µl stop solüsyonu (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) konularak reaksiyon durdurulduktan sonra ELISA okuyucuda (Metertech Σ 960) 450 nm dalgaboyu filtrede okunarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

Her örnek için gerçek optik dansite değeri; antijen kaplı çukurun optik dansite değerinden antijen kaplanmamış çukurun optik dansite değerinin çıkarılması ile elde edilmiştir..

Sonuçların doğru kabul edilebilmesinde; pozitif referans serumun doğrulanmamış optik dansitesinin en az 0,350 ve pozitif referans serum OD'si ile negatif referans serum optik dansitesi arasında 3,5 kat ve daha fazla oran olması temel kriter olarak kabul edilmiştir. Test edilen serum örneğinin gerçek optik dansitesi pozitif referans serumun gerçek optik dansitesinden düşük ise BLV infeksiyonu yönünden negatif, yüksek ise pozitif olarak değerlendirilmiştir.

#### Süt örnekleri

Kit içeriğinde bulunan pozitif ve negatif liyofilize referans sütler 1'er ml distile su ile sulandırılarak hazırlanmıştır. Çift sayılı sütunları BLV antijeni ile kaplanmış tek sayılı sütunları BLV antijeni ile kaplanmamış mikropleytlerin her çukuruna 100 µl buffer solüsyonu konulduktan sonra B1 ve B2 çukuruna 100 µl pozitif referans süt, A1 ve A2 çukuruna ise negatif referans süt konulmuştur. Diğer her bir çift çukura (C1 ve C2, D1 ve D2, E1 ve E2, ....) test edilecek numune süt örneğinden 100 ml konulup mikropleytler alüminyum folyö ile örtülerek 37°C de 90 dakika (Kısa inkübasyon periyodu) inkübe edilmiştir. Mikropleytler yıkandıktan sonra her çukura 100 µl yıkama solüsyonu ile 1/100 oranında sulandırılan bovine-anti IgG monoklonal konjugattan konulup mikropleytler alüminyum folyö ile örtülerek 37°C de 30 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda yapılan yıkama işleminden sonra her çukura 100 µl substrat (TMB) konulup karanlıkta oda sıcaklığında 20 dakika süreyle bekletildi. Bu süre sonunda her çukura 100 µl stop solüsyonu (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5M) ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Mikropleytler ELISA okuyucuda (Metertech Σ 960) 450 nm dalgaboyu filtrede okunmuştur.

Her süt örneği için gerçek optik dansite değeri; antijen kaplı çukurun OD değerinden antijen kaplanmamış çukurun OD değerinin çıkarılmasıyla elde edildi.

Pozitif referansın hesaplanmamış optik dansitesinin 0,300 den büyük ve pozitif referans optik dansitesi ile negatif referansın optik dansitesi arasındaki oranın 3 kat veya daha fazla olması durumunda sonuçlar doğru olarak kabul edildi.

Test edilen süt örneklerinin optik dansite değeri, pozitif referansın optik dansite değerinin % 85'inden düşük olması halinde hayvan EBL negatif, %85'i ile %115'i arasında olması durumunda şüpheli, %115'inden yüksek olması halinde pozitif olarak değerlendirildi.

#### AGID testi :

##### Kan serumu ve süt örnekleri

Kan serumu ve süt örneklerinde BLV'ye karşı oluşan antikorların AGID testiyle belirlenmesi amacıyla kit içeriğinde bulunan liyofilize antijen 2 ml, referans serum 3 ml distile su ile hazırlanmıştır. Kit içeriğinde bulunan agar sıvılaştırmaya kadar kaynayan su içinde tutulup 60°C ye soğutulduktan sonra 8,5 mm çapındaki plastik petri kutularına 16 ml miktarında dökülmüştür. Agar

katılaştıktan sonra pleyt üzerine biri merkezde ve 4 mm çapında 6'sı buna 3 mm eşit uzaklıkta 6 mm çapında çukurlar açılmıştır. Orta çukura 32 µl antijen karşılıklı iki çukura 73 µl pozitif referans serum ,diğer çukurlara ise test edilecek serum veya süt örneklerinden 73 µl konularak petrilere oda ısı ve nemli atmosferde 3 gün süreyle gözlenerek presipitat bantı oluşumu açısından değerlendirilmiştir.

**Hematolojik yoklamalar :** Antikoagulanlı (EDTA) olarak alınan kan örneklerinin lenfosit sayısı ve oranı, total lökosit sayısı ve hematokrit değeri rutin yöntemlerle belirlenmiştir (28). Kan örneklerinin EBL açısından hematolojik yoklama sonuçlarının değerlendirilmesinde Aytuğ ve arkadaşlarının bildirdiği tablodan yararlanılmıştır (11).

### Bulgular

**Klinik bulgular :** Kars ve yöresinde yetiştirilen çeşitli ırk, yaş ve cinsiyette kan ve süt örnekleri alınan 443 sığırın enzootik sığır löykozu açısından yapılan klinik incelemelerinde (Lenf yumrularının büyümesi, exoptalmus, paresis vs.) herhangi bir bulguya rastlanılmamıştır.

**Hematolojik yoklama sonuçları :** 443 sığıra ait kan örneğinin EBL'nin hematolojik bulgularına ilişkin olarak lenfosit sayısı ve oranı, total lökosit sayısı ve hematokrit değeri açısından yapılan incelemesi sonucu 402 hayvan normal sınırlar içerisinde, 28 hayvan şüpheli, 13 hayvan ise pozitif bulunmuştur (Tablo 2).

**Serolojik yoklama sonuçları :** Proje kapsamında toplanan 443 sığıra ait kan serumu ve 383 süt örneğinin serolojik olarak ELISA ve AGID testi ile incelenmesi sonucu hiçbir örnekte BLV' ye karşı spesifik antikor belirlenmemiştir (Tablo 2).

### Tartışma ve Sonuç

Gerek yurt dışında gerekse Türkiye'de enzootik sığır löykozunun prevalansını belirlemek üzere yapılan seroepidemiolojik çalışmalarda elde edilen değerler geniş dağılım sınırları göstermektedir .Yurtdışında yapılan araştırmalar sonucu EBL prevalansı İsrail'de % 18.3 (23), başka bir araştırmada (24) %25, İsveç'te % 4-5 (1) ve %25-30 (7) olarak belirlenmiştir. Ülkemizin değişik yörelerinde yapılan seroepidemiolojik çalışmalar sonucu EBL prevalansı % 3.06 (27), % 9.15 (26), %14.4 (12), %0.5 (14), %33.08, %29.63 (29), %24.6 (30), %10.63 (31) gibi farklı oranlarda tesbit edilmiştir.

Bu araştırmada Kars ve yöresinde yetiştirilen çeşitli ırk (Zavot, Holştayn, Esmer, Yerli), cinsiyet (383 dişi, 60 erkek) ve yaştaki (2-8 yaş) toplam 443 sığıra ait kan serumu ve 383 süt örneği Enzootik Sığır Löykozu açısından ELISA ve AGID testi ile incelenmiş ve sığırların tümü her iki test ile de negatif bulunmuştur. Bu sonuç incelenen sığır sayısı dikkate alındığında Kars ve yöresi sığır yetiştiriciliği açısından enzootik sığır löykozunun henüz bir sorun oluşturmadığını ortaya koymaktadır. Ancak ülkemizin değişik yörelerinde konuyla ilgili yapılan araştırmaların sonuçları gözönüne alındığında bu durumun muhafazası için yurtiçi hayvan nakillerinin kontrollü olmasının ne denli önemli olduğu açığa çıkmaktadır. Keza hastalığın ilk kez Karacabey Harası'nda ithal edilen sığırlarda tesbit edilmiş olması (12) ve ilerleyen yıllarda diğer yöre sığırlarında tesbit edilmiş bulunması (14,26,27) hastalığın ilgili yöre sığırlarına bu haradan alınan reaktör sığırlar vasıtasıyla bulaşmış olabileceği fikrini akla getirmektedir.

Enzootik sığır löykozunda kanda meydana gelen lenfosit artışı, total lökosit yüksekliği, hematokrit değerinde düşüş gibi değişikliklerin infeksiyonun teşhisinde ipucu

Metot	İncelenen örnek sayısı		SONUÇ					
			Kan			Süt		
	Kan	Süt	Şüpheli	Negatif	Pozitif	Şüpheli	Negatif	Pozitif
Hematolojik yoklama	443	-	28	402	13	-	-	-
ELISA testi	443	383	-	443	-	-	383	-
AGID testi	443	383	-	443	-	-	383	-

Tablo 2. Hematolojik ve serolojik yoklama sonuçları.

verebilir nitelikte bir yöntem olabileceği belirtilmekle birlikte yetersiz bulunduğu bildirilmektedir (7,12). Nitekim, Yılmaz ve ark. (14) Elazığ ve çevresinde yetiştirilen çoğu ithal çeşitli ırk, cinsiyet ve yaştaki 560 sığırdan bir ya da tekrarlayan zamanlarda aldıkları toplam 1300 kan örneğinin lenfosit sayısı, total lökosit ve hematokrit değer açısından yapılan hematolojik incelemelerinde sığırların %3,4'ünü bir kez, %1,2'sini iki kez ve %0,8'ini üç kez EBL kuşkulu, %0,4'ünü sadece bir kez pozitif bulmalarına rağmen bu sığırların hiçbirisinin BLV seropozitif olmadığını, dolayısıyla kan tablosundaki bu tür değişikliklerin EBL haricinde diğer bazı subakut ve kronik infeksiyonlar veya organ hastalıklarından şekillenebileceğini bildirmişlerdir. Aynı şekilde Batmaz ve ark. (26) Bursa Bölgesi'nde çeşitli ırk, cinsiyet ve yaşta 459 sığırdan aldıkları kan örneklerinin 42'sinin (%9,15) serolojik olarak ELISA ile EBL açısından seropozitif bulmalarına rağmen, seropozitif sığırlarla seronegatif sığırlar arasında

hematolojik açıdan total leukosit sayısı, lenfosit sayısı ve , hematokrit değer açısından önemli bir farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir.

Yapılan bu araştırmada Kars ve yöresinde yetiştirilen 443 sığıra ait kan örneği lenfosit sayısı ve oranı, total lökosit sayısı ve hematokrit değer açısından hematolojik incelemeye tabi tutulmuştur. İnceleme sonucu EBL açısından 402 hayvanın normal sınırlar içerisinde, 28 hayvanın şüpheli ve 13 hayvanın pozitif bulunmuş olması , serolojik yoklamalarla desteklenmediğinden anlamlı bulunmamıştır. Keza hematolojik açıdan EBL şüpheli ya da pozitif bulunan bu hayvanların kan tablosundaki değişikliklerin geçirilmiş veya geçirilmekte olan diğer bir infeksiyonun sonucu olabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak Kars ve yöresinde yetiştirilen çeşitli ırk, cinsiyet ve yaşta 443 sığır üzerinde yürütülen serolojik ve hematolojik araştırmalar sonucunda enzootik sığır lökkozuna rastlanılmamıştır.

## Kaynaklar

1. 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. *Journal of Virological Methods*. 1991; 33, 319-333.
2. Fenner, F., Bachmann, P.A., Gibbs, E.P.J., Murphy, F.A., Studdert, M.J., White, D.O.: *Veterinary Virology*. 2nd. Ed. Academic press, New York. 563-564. 1993
3. Brenner, J., Trainin, L.: Enzootic and Sporadic Farms of Bovine Leucosis and Lymphosarcoma-Leukaemia in Cattle. *Isr. J. Vet. Med.*, 1995 ;50 (3+4) 105-108.
4. Anon.: Office International des Epizooties (OIE) Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. 3rd. Ed., 276-280. 1996
5. Cowley, J.A., Molloy, J.B., Dimmock, C.K., Walker, P.J., Bruyars, A.G., Ward, W.H.: Infectivity of Bovine Leukaemia Virus Infected Cattle. An Elisa for Detecting Antigens Expressed In Vitro Cultured Lymphocytes. *Veterinary Microbiology*. 1992; 30, 137-150.
6. Molloy, B.J., Walker, P.J., Baldock, F.C., Rodwell, B.J., Cowley, J.A.: An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Bovine Leukaemia Virus p 24 Antibody in Cattle. *Journal of Virological Methods*. 1990; 28, 47-58.
7. Klintevall, K.: Bovine Leukaemia Virus: Course of Infection and Means of Detection. *Uppsala*. 2-57, 1995.
8. Thompson, K.G., Johnstone, A.C., Hilbink, F.: Enzootic Bovine Leukosis in New Zealand. A Case Report and Update. *New Zealand Veterinary Journal*. 1993; 41, 190-194.
9. Sargeant, J.M., Kelton, D.F., Martin, S.W., Mann, E.D.: Evaluation of A Bulk Milk Elisa Test for the Classification of Herd -level Bovine Leukaemia Virus Status. *Preventive Veterinary Medicine*. 1997; 31, 223-230.
10. Sargeant, J.M., Kelton, D.F., Martin, S.W., Mann, E.D.: Associations Between Farm Management Practices, Productivity and Bovine Leukaemia Virus Infection in Ontario Dairy Herds. *Preventive Veterinary Medicine*. 1997; 31, 211-221.
11. Aytuğ, C.N., Görgül, S., Tuncer, D.S., Alaçam, E., Gökçen, H., Yılmaz, K.: Sığır Hastalıkları. *Teknografik Matb..İstanbul*, 338-343, 1990.
12. Akça, Y., Alkan, F., Bilge, S., Karaoğlu, T., Özkul, A., Burgu, İ., Kaaden, O.R.: Süt Sığırlarının Süt ve Kan Serumlarında Enzootik Sığır Löykozuna Karşı Antikor Varlığının Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve Agar Jel Immunodiffusion (AGID) Testi ile Araştırılması. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 1996; 43, 1.
13. Hakiöğlu, F.: Uterusta Lokalize Olan Kısırlık ve Abortusa Sebebiyet Veren Sığır Leucosis'i Vakaları. *Pendik Vet. Kont. ve Araş. Enst. Derg.*, 1968; 1 (2) 137-143. Alınmıştır. Yılmaz, K., Gül, Y., Özdemir, H., Bolat, Y. Elazığ ve Çevresindeki Sığırlarda Enzootik Sığır Lökozunun Araştırılması. *Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 1997; 21 (2) 115-123.
14. Yılmaz, K., Gül, Y., Özdemir, H., Bolat, Y.: Elazığ ve Çevresindeki Sığırlarda Enzootik Sığır Lökozunun Araştırılması. *Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 1997; 21(2) 115-123.

15. Florent, G.: An Elisa for the Diagnosis of Bovine Leukaemia Virus Infection. *Vet. Rec.*, 1988;123, 570-571.
16. Nguyen, N.K., Maes, R.F.: Evaluation of An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Antibodies to Bovine Leukaemia Virus in Serum and Milk. *Journal of Clinical Microbiology*.1993; 31 (4) 979-981.
17. Portetelle, D., Mammerickx, M., Burny, A.: Use of Two Monoclonal Antibodies in An ELISA Test for Envelop Protein gp 51. *Journal of Virological Methods*. 1989; 23, 211-222.
18. Brenner, J., Sharon, M., Moalem, U.: A Comparative Study of the ELISA and AGID Techniques for the Detection of Bovine Leucosis Virus Antibodies in Bovine Serum and Milk. *Isr. J. Vet. Med.*,1994; 49 (4) 165-167.
19. Shettigara, P.T., Samagh, B.S., Lobinowich, E.M.: Control of Bovine Leukaemia Virus infection in Dairy Herds by Agar Gel Immunodiffusion Test and Segregation of Reactors. *Can. J. Vet. Res.*1989; 53, 108-110.
20. Wawrzkiwicz, J., Dzidzic, B., Koziol, T.: Sensitivity and Specificity of A Modified Agar Gel Precipitation Test and Its Application to the Diagnosis of Enzootic Bovine Leukosis. *Acta Virol.* 1988; 32, 143-150.
21. Wang, C.T.: Bovine Leukemia Virus Infection in Taiwan. Evaluation of the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Agar Gel Immunodiffusion Test. *Jpn. J. Vet. Res.*, 1991; 39, 107-115.
22. Brenner, J., Meiom, R., Avraham, R., Savir, D., Trainin, Z.: Trial of Two Methods for the Eradication of Bovine Leucosis Virus Infection From Two Large Dairy Herds in Israel. *Isr. J. Vet. Med.*,1988; 44, 3, 168-175.
23. Savir, D., Brenner, J., Meiom, R., Trainin, Z.: A Serological Survey of Slaughtered Dairy Cattle in Israel for the Presence of Antibodies to Bovine Leukaemia Virus. *Isr.J.Vet.Med.*, 1987; 43 (3) 212-214.
24. Brenner, J., Meiom, R., Avraham, R., Trainin, Z., Savir, D.: Prevalance of Bovine Leukemia Virus (BLV) Infectivity in Some Israel Dairy Herds. *Isr. J. Vet. Med.*,1986; 42 (1) 11-15.
25. Blood, D.C., Radostitis, O.M.: *Veterinary Medicine*. Bailliere Tindal. London. 816-824. 1990.
26. Batmaz, H., Çarlı, T.K., Kahraman, M., Çetin, C., Kennerman, E.: Serological and Haematological Diagnosis of Enzootic Bovine Leucosis in Cattle in Turkey. *Vet. Rec.*, 1995; 136, 42-44.
27. Şen, A., Ülgen, M., Çarlı, K.T., Batmaz, H.: Seroprevalance of Bovine Leukemia Virus Infection in Cattle Slaughtered at Bursa Abattoir. *Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 1995; 19, 5, 325-327.
28. Yılmaz, K ve Otlu, A.: *Veteriner Hematoloji El Kitabı*. ISBN-975-7527-9, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 31-63, 1989.
29. Burgu, İ., Urman, K.H., Kaaden, R.O., Akça, Y., Alçıgır, G., Berkin, Ş., Alkan, F., Atasever, A.: Türkiye'de Enzootik Sığır Lökozunun Seroepidemiolojisi ve Patolojisi. *A.Ü.Vet. Fak. Derg.*, 1990; 37 (1) 32-45.
30. Kandil, M., Metin, N., Aksakal, M.: Güney ve Güneydoğu Anadolu'da Sığır Lökozu: Serolojik ve Hematolojik Araştırmalar. *Fırat Üniv. Derg. (Sağlık Bilimleri)* 1989; 3 (1) 15-25.
31. Uysal, A., Bilal, T., Yılmaz, H., Tan, H., Bakirel, U., Zerrin, M., Arslan, M.: Trakya Bölgesinde Halk Elindeki Sığırlarda Enzootik Sığır Lökozunun Teşhisinde Hematolojik ve Serolojik Bulgular Üzerine Karşılaştırmalı Araştırmalar. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 1995; 21 (2) 301-312.