



RESEARCH ARTICLE

Doğu Akdeniz bölgesinde küçük ruminant lentivirus enfeksiyonlarının serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması

Fırat Doğan^{1*}, Veysel Soydal Ataseven¹, Seval Bilge Dağalp², Yaşar Ergün³

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

Geliş: 26.03.2021, Kabul: 01.06.2021

*firat9837@gmail.com

Investigation of small ruminant lentivirus infections by serological and molecular methods in Eastern Mediterranean region

Eurasian J Vet Sci, 2021, 37, 3, 193-201

DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2021.343

Öz

Amaç: Yapılan bu çalışma ile keçi ve koyun işletmelerinden alınan örneklerde küçük ruminant lentivirus enfeksiyonlarının varlığının araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada Doğu Akdeniz bölgesinden (Hatay, Kahramanmaraş ve Osmaniye) 2015-2017 yılları arasında toplanan halk elindeki keçi ve koyun işletmelerinden 6 ay ve üzeri yaştaki 260 koyun ve 440 keçi olmak üzere toplam 700 hayvandan alınmış lökosit ve kan serum örnekleri kullanıldı. Küçük ruminant lentivirus varlığının ortaya konulması için serolojik (ELISA) ve moleküler yöntem (PCR) testleri kullanıldı.

Bulgular: ELISA ve/veya PCR testleri sonuçlarına göre koyunlarda %9,62 (25/260), keçilerde %9,32 (41/440) ve tüm hayvanlarda %9,43 (66/700) oranında pozitiflik tespit edildi. Ayrıca gag gen bölgesinin kısmi dizin analizi sonucunda hem koyunlarda hem de keçilerde küçük ruminant lentiviruslarının B genotipinin varlığı tespit edildi.

Öneri: Sonuç olarak Doğu Akdeniz (Hatay, Kahramanmaraş, Osmaniye) bölgesinde küçük ruminant lentiviruslarının yakın geçmişteki bölgedeki durumu ortaya konulmuş oldu. Bu çalışmada küçük ruminant lentivirus enfeksiyonlarının teşhisi ve sürü bazlı tam eradikasyonu için ELISA ve PCR testlerinin birlikte kullanılması gerektiği kanısına varıldı. Ayrıca moleküler çalışmaların artırılması, farklı gen bölgelerine ve tam genom analizlerine yönelik detaylı araştırmaların da yapılarak farklı alt tiplerin ortaya konulması, böylece ülkede sirküle olan alt tiplerin belirlenmesi önemli olabilecektir.

Anahtar kelimeler: Küçük ruminant lentivirus, ELISA, PCR, koyun, keçi

Abstract

Aim: The aim of this study was to investigate the presence of small ruminant lentivirus infections in samples taken from goat and sheep farms.

Materials and Methods: In this study, leukocyte and blood serum samples were taken from a total of 700 animals, including 260 sheep and 440 goats aged 6 months and over, from public-owned goats and sheep farms collected from the Eastern Mediterranean region (Hatay, Kahramanmaraş and Osmaniye) between 2015-2017 year. Serologic (ELISA) and molecular method (PCR) tests were used to reveal the presence of small ruminant lentivirus.

Results: According to the results of ELISA and / or PCR tests, positivity was detected at a rate of 9.62% (25/260) in sheep, 9.32% (41/440) in goats and 9.43% (66/700) in all animals. In addition, as a result of the partial sequence analysis of the gag gene region, the presence of the B genotype of small ruminant lentivirus was detected in both sheep and goats.

Conclusion: As a result, the situation of small ruminant lentiviruses in the Eastern Mediterranean (Hatay, Kahramanmaraş, Osmaniye) region in the recent past has been revealed. In this study, it was concluded that ELISA and PCR tests should be used together for the diagnosis of small ruminant lentivirus infections and complete herd-based eradication. In addition, it may be important to increase molecular studies, to reveal different subtypes by conducting detailed researches on different gene regions and full genome analysis, thus determining the subtypes circulating in the country.

Keywords: Small ruminant lentivirus, ELISA, PCR, sheep, goat



Giriş

Küçük ruminant lentivirus'ları, (*Small ruminant lentivirus-SRLV*) koyunlarda *Maedi Visna Virus (MVV)* ve keçilerde *Caprine Arthritis Encephalitis Virus (CAEV)* olarak adlandırılmaktadır. Her iki virus da yavaş seyrederek (slow enfeksiyon) konakta ömür boyu persiste kalmaktadır (Narayan ve Clements 1989). SRLV enfeksiyonlarında genellikle herhangi bir klinik tablo görülmemekle birlikte, enfekte hayvanlar yaşamları boyunca persiste kaldıklarından kolostrum, süt ve solunum sekresyonları ile subklinik olarak virüsü sürekli saçarlar. Enfeksiyonun inkubasyon periyodu çok uzundur (Smith ve Sherman 1994, OIE 2017). Maedi ve Visna enfeksiyonunda; Maedi formu akciğerlere yerleşerek pnemoniye neden olurken, Visna formu ise merkezi sinir sistemini etkileyerek paralizise neden olmaktadır (Palsson 1976, Dawson 1987). Genelde Maedi ve Visna formları ayrı ayrı görülmektedir ancak nadir de olsa her iki form birlikte görülebilmektedir ve bu durumda ölüm oranı artmaktadır (Stamp 1980). CAEV enfeksiyonu ilk kez Amerika'da eklem bozuklukları olan keçilerde tespit edilmiştir (Cork ve ark 1974). CAEV özellikle 2-6 aylık yavrualarda paralizler ve ölümlere, erişkinlerde ise arthritisi, mastitisi ve pnömonilere neden olmaktadır (Adams ve ark 1983, Cork ve Narayan 1980, Crawford ve ark 1980).

Small ruminant lentivirus'lar Retroviridae familyasının Lentiviruslar alt grubunda yer almaktadır (Narayan ve Clements 1989, Kwang ve Torres 1994, Perk ve ark 1996.). Lentivirus grubunda kedilerde *Feline Immunodeficiency Virus (FIV)*, *Simian Immunodeficiency Virus (SIV)*, keçilerde *Caprine Arthritis Encephalitis Virus (CAEV)*, koyunlarda *Maedi-Visna Virus (VMV)*, sığırlarda *Bovine Immunodeficiency Virus (BIV)*, atlarda *Equine Infectious Anemia (EIA) Virus* bulunmaktadır (Clements ve ark 1988, Garey ve Dalziel 1993, Clements ve ark 1994). SRLV' lar pozitif polariteli, tek iplikçikli, zarlı RNA'lı bir virustur. Enfeksiyöz virüsler, *gag*, *pol* ve *env* genleri olmak üzere 3 ana gene sahiptir. Viral kapsid proteinlerinin oluşturulmasında *gag* geni rol oynarken, viral DNA'nın sentezlenmesinde ve virüsün konak hücre genomuna entegre olmasında *pol* geni rol oynar. Ayrıca *pol* geni revers transkriptaz (RT) ile integraz genlerini de kodlar (Ramírez ve ark 2013). *Env* geni ise virüsün konak hücreye bağlanmasında rol oynamaktadır (Sancez ve ark 2002).

Visna-Maedi Virus ve CAEV'in dizin analizleri karşılaştırıldığında yakın oldukları bildirilmiştir (Oliver ve ark 1984, Granoff ve Webster 1999). SRLV suşları moleküler olarak A, B, C, D ve E olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. A grubu 15 alt gruba, B grubu ise 3 alt gruba, C ve D gruplarında alt gruplar bulunmamasıyla birlikte E grubu ise 2 alt gruba ayrılmaktadır. A1, A3, A4, A5, A6, A9, A11, A12, A13 hem keçi hem de koyunlardan, A2 ve A15 sadece koyunlardan, A7, A8, A14 ise sadece keçilerden izole edilmiştir. B alt tipleri ile C ve D grupları her iki türden izole edilmiştir. E alt tipleri ise sadece keçilerden izole edilmiştir (Ramírez ve ark 2013, Minguijón

ve ark 2015).

Klinik olarak SRLV enfeksiyonlarının tespiti zor olmaktadır. Özellikle genç hayvanlardaki sinir sistemi semptomları, koyunlardaki geçmeyen solunum sistemi problemleri, keçilerdeki mastitis olguları, arthritisi tablolarında söz konusu enfeksiyonları düşündürse de çoğunlukla klinik belirtilerin geç ortaya çıkması dolayısıyla klinik olarak teşhis zor olmaktadır. Ancak serolojik ve virolojik olarak SRLV enfeksiyonları tespit edilebilmektedir (OIE 2017).

Dünyada CAEV enfeksiyonunun yaygınlığına ilişkin olarak yapılan çalışmalarda değişik sonuçlar ortaya çıkmaktadır (Zannoni 1998, Konishi ve ark 2004, Shah ve ark 2004). 1998 yılından itibaren birçok Avrupa ülkesinde de CAEV'e karşı eradikasyon programları düzenli olarak yapılmış ve enfeksiyonun oranı %1'lere kadar düşmüştür (Peterhans ve ark 2004). Türkiye'de daha çok (keçi ve koyun) tür bazlı çalışmalar yapılmıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda farklı serolojik tanı yöntemleri kullanılarak CAEV enfeksiyonu %1,03-12 arasında bulunmuştur (Aslantaş ve ark 2002, Karapınar 2010, Özkan 2012). Ayrıca Karapınar (2010) tarafından yapılan çalışmada seropozitif ve seronegatif kan ve süt örneklerinde PCR ile pozitiflikler tespit edilmiş ve CAEV' in moleküler karakterizasyonu yapılmıştır.

CAEV ile yakın ilişkili olan Maedi-Visna Virus enfeksiyonu; Fransa, Avusturya, Finlandiya, Büyük Britanya, Kanada, Amerika gibi birçok ülkede bildirilmiştir (Suvages ve ark 1973, Cutlip ve ark 1977, Dukes ve ark 1979, Sihvonen ve ark 1980, Brodie ve ark 1998). CAEV enfeksiyonunda olduğu gibi MVV enfeksiyonu yönünden de birçok Avrupa ülkesi ortak eradikasyon programları düzenlemektedir. Ülkemizde ise MVV enfeksiyonunun varlığına yönelik yapılan çalışmalar daha çok serolojik yöntemlere dayanmaktadır. Yapılan çalışmalarda da koyunlardaki seropozitiflik bölgeden bölgeye ve toplanan örnek sayılarına göre değişmekle birlikte %1,2-53,1 arasında değiştiği görülmektedir (Tan ve Alkan 2002, Yılmaz ve ark 2002, Muz 2009, Muz ve ark 2013, Ameen 2016, Ün ve ark 2018). Ayrıca yapılan moleküler çalışmalarla da enfeksiyonun varlığı ortaya konulmuş A ve B (B3) genotipinin varlığı bildirilmiştir (Bertolotti ve ark 2011, Muz ve ark 2013).

Ülkemizde yapılan çalışmalar dikkate alındığında söz konusu SRLV enfeksiyonlarından olan CAEV ve MVV enfeksiyonları daha çok tür düzeyinde ve serolojik olarak araştırılmıştır. Söz konusu enfeksiyonlar farklı bölgelerde araştırılmış olmasına rağmen Doğu Akdeniz bölgesinde çok sınırlı sayıda çalışmalar yapılmıştır. Doğu Akdeniz bölgesinde özellikle koyun ve keçi yetiştiriciliği önemli yer tutmaktadır. Bu bölgede yetiştirilen koyun ve keçiler hem bölge hem de ülke ekonomisine önemli katkıda bulunmaktadır. Yapılan bu çalışma ile 2015-2017 yılları arasında Doğu Akdeniz bölgesinde (Hatay, Kahramanmaraş ve Osmaniye) halk elindeki keçi ve koyun iş-

letmelerinden alınan örneklerde ekonomik önemi olan SRLV enfeksiyonlarının varlığının serolojik ve moleküler yöntemler ile araştırılması amaçlandı. Bu çalışma retrospektif bir çalışma olup yakın geçmiş tarihte bu enfeksiyonların bölgedeki epidemiyolojik durumunun ortaya konulması, moleküler yöntemle pozitif tespit edilen örnekler dizin analizine alınması ve tespit edilen saha şuşlarının moleküler karakterizasyonu yapılarak genetik yakınlıklarının ortaya konulması, sahada sirküle olan genotiplerin belirlenmesi ve türler arası geçiş olup olmadığının da sorgulanması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Serolojik ve virolojik çalışmalarda kullanılan örnekler

Bu çalışmada, 2015-2017 yılları arasında Doğu Akdeniz bölgesinde (Hatay, Kahramanmaraş, Osmaniye) halk elindeki keçi ve koyun işletmelerinden 6 ay ve üzeri yaştaki 260 koyun ve 440 keçi olmak üzere toplam 700 hayvandan alınan lökosit ve kan serum örnekleri kullanıldı. Örnek alınan yerlere ve sayılara ait bilgiler Tablo 1 de verildi.

Tablo 1. Örneklenen illere göre serolojik ve virolojik kontrol amacıyla alınan örnekler ve hayvan türleri

Örnek alınan İl	Hayvan Türü	Serolojik Kontrol	Virolojik Kontrol
		(Serum)	(Lökosit)
Hatay	Koyun	140	140
	Keçi	130	130
	Ara Toplam	270	270
K.maraş	Koyun	55	55
	Keçi	270	270
	Ara Toplam	325	325
Osmaniye	Koyun	65	65
	Keçi	40	40
	Ara toplam	105	105
Toplam	Koyun	260	260
	Keçi	440	440
	Genel Toplam	700	700

Antikor ELISA

CAEV ve MVV spesifik olan antikorların tespiti amacıyla ticari olarak temin edilen ELISA (IDEXX Chekit MVV/ CAEV P28 Antibody Test Kit, Screening Version, Kat. No: P00303-08, İsviçre) kiti kullanıldı. ELISA testinin uygulanması ve so-

nuçların değerlendirilmesi üretici firmanın belirtmiş olduğu protokole göre yapıldı.

Viral nükleik asit izolasyonu

Virolojik kontrol amacıyla alınan toplam 700 örnekte (440 keçi lökosit, 260 koyun lökosit) küçük ruminant lentivirus viral nükleik asit varlığını araştırmak için; viral nükleik asit izolasyonu; ticari ekstraksiyon kiti kullanılarak (Vivantis GF-1 Viral Nucleic Acid Extraction Kit, Cat: GF-RD-100, Selangor Darul Ehsan, Malaysia) üretici firmanın belirtmiş olduğu protokole göre yapıldı. Elde edilen nükleik asit moleküler çalışmada kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

Nested PCR

Toplanan lökosit örneklerinde SRLV viral nükleik asit varlığını araştırmak için Cheblanue ve ark (1996)'nın belirtmiş olduğu gag gen bölgesine spesifik primerler kullanılarak nested PCR yapıldı. Nested PCR için Solis BioDyne 5X HOT FIREPOL Blend Master Mix (Cat: 04-25-00S25) kullanıldı. Nested PCR'da kullanılan miks bileşenleri (5X HOT FIREPOL Blend Master Mix 5 µl, primer F (10 pmol/µl) 0,5 µl, Primer R (10 pmol/µl) 0,5 µl, Nükleaz Free Su 13 µl, proviral DNA 2 µl olmak üzere 20 µl) olarak hazırlandı. PCR şartları ise 95 °C'de 15 dk ön denatürasyon, 95 °C'de 1dk denatürasyon, 58 °C'de 1 dk bağlanma, 72 °C'de 1 dk uzama basamaklarından 35 siklus, son uzama ısı ise 72 °C'de 10 dk olacak şekilde ayarlandı. İkinci tur için sadece bağlanma ısı 53 °C olarak değiştirildi, diğer reaksiyon şartları değiştirilmeden kullanıldı.

PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi

PCR sonucunda elde edilen ürünleri görüntülemek için, Safe-Red (Safe View™ Cat No: G108-R, Canada) içeren %1'lik agaroz jel (Prona, EU) hazırlandı. Agaroz jelin hazırlanmasında ve jelin yürütülmesine tampon solüsyon olarak Tris Asetat Ethylene Diamine Tetra Acetic acid (TAE) solüsyonu kullanıldı. Donan agaroz kuyucuklarına PCR örnekleri yüklendi. Daha sonra ürünler elektrik akımına tabi tutularak (8 volt/cm), yaklaşık 30 dk sonra jel görüntüleme sistemi ile PCR sonucu oluşan DNA bantları görüntüldü.

Dizin analizi

PCR ürünlerinin pürifikasyonu ve dizin analizi hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi. Analiz sonrası elde edilen ham veriler, National Center Biotechnology Information (NCBI) servisinin Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) web sayfasından sağlanan (BankIt: GenBank Submissions) hizmetten yararlanılarak tanımlandı. Dizinler, Aliview ve Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation (MUSCLE) yazılımı kullanılarak kendi aralarında karşılaştırıldı. Aynı programın

çoklu hizalama (multiple alignment) özelliğinden yararlanılarak Gen Bankasından elde edilen diğer virüslerle hizalandı.

Filogenetik analiz

Filogenetik analiz için MEGA versiyon 7.0 (Kumar ve ark 2016) programı kullanıldı. Bu amaçla FASTA formatına çevrilen tüm verilere Neighbour-Joining metoduna göre bootstrap analizi (1000 replicates) yapıldı. Analizde p-distance parametresi kullanıldı.

İstatistiksel analiz

ELISA ve PCR sonuçlarına göre hayvan türleri ve iller arasındaki prevalans farkı Pearson Ki-Kare Testi ile değerlendirildi.

İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler Stata/SE 15.1 paket programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular

SRLV spesifik antikor tespiti için yapılan ELISA sonucunda seropozitiflik oranı koyunlarda %7,69 (20/260), keçilerde %8,18 (36/440) ve toplam hayvan sayısı bazında %8,0 (56/700) olarak tespit edildi. ELISA sonuçları ile ilgili detaylı bilgiler Tablo 2' de verildi.

SRLV spesifik viral nükleik asit tespiti için SRLV' nin gag gen bölgesinde yönelik yapılan PCR testi sonucuna göre koyunların %8,46 (22/260)'a, keçilerin %7,27 (32/440)'inde ve

Tablo 2. Hayvan türleri ve illere göre ELISA ve PCR sonuçları

Hayvan Türü	İllere Göre ELISA Sonuçları				İllere Göre PCR Sonuçları			
	Hatay	K.maraş	Osmaniye	Toplam	Hatay	K.maraş	Osmaniye	Toplam
Koyun	7,85% (11/140)	7,27% (4/55)	7,69% (5/65)	7,69% (20/260)	5,71% (8/140)	12,72% (7/55)	10,76% (7/65)	8,46% (22/260)
Keçi	6,15% (8/130)	9,25% (25/270)	7,50% (3/40)	8,18% (36/440)	7,69% (10/130)	7,40% (20/270)	5,0% (2/40)	7,27% (32/440)
Toplam	7,03% (19/270)	8,92% (29/325)	7,61% (8/105)	8,0% (56/700)	6,66% (18/270)	8,30% (27/325)	8,55% (9/105)	7,71% (54/700)

Tablo 3. ELISA ve PCR sonuçlarının karşılaştırılması

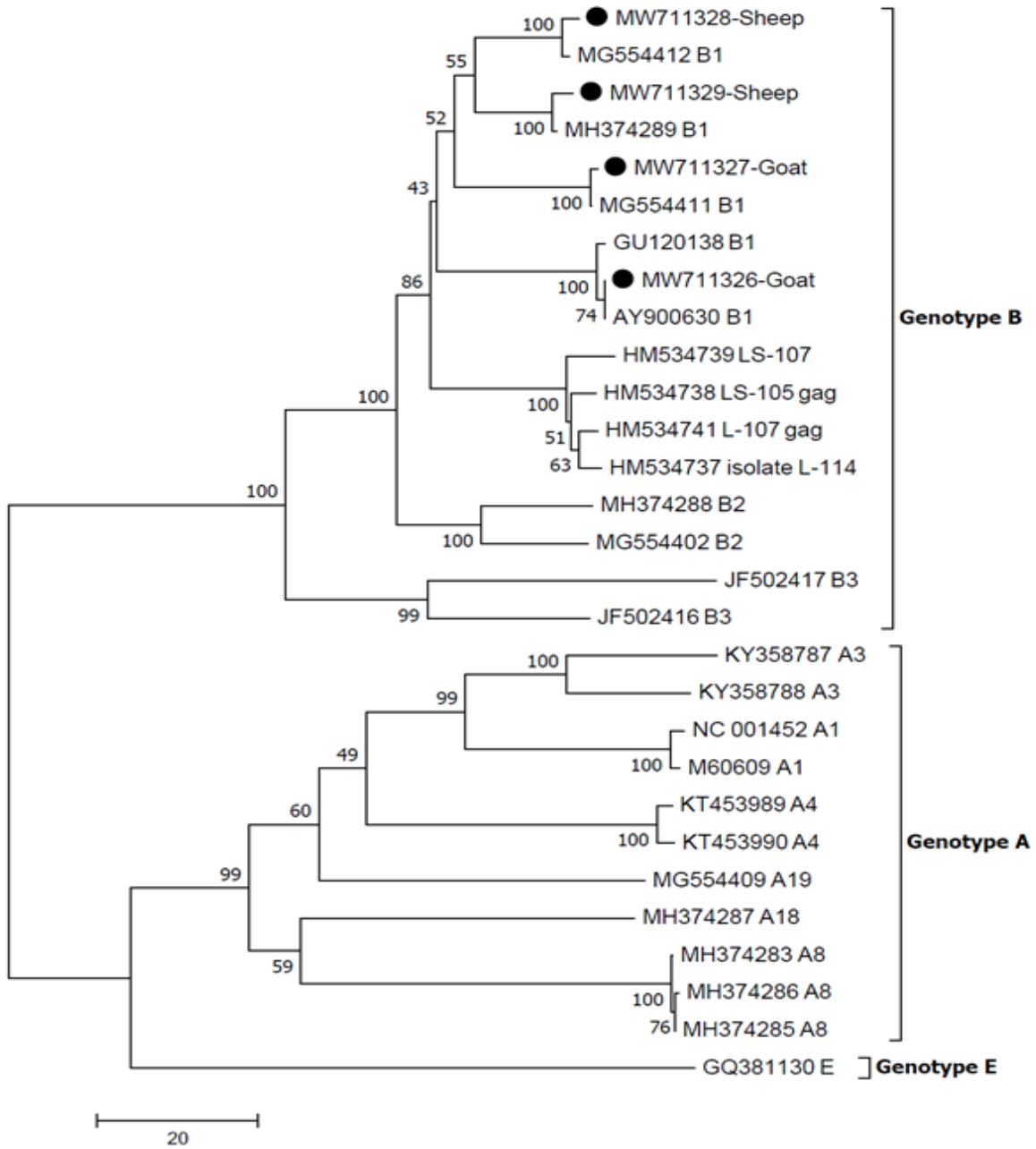
Hayvan türü	ELISA ve/veya PCR (+)	ELISA (+) PCR (+)	ELISA (+) PCR (-)	ELISA (-) PCR (+)	ELISA (-) PCR (-)
Koyun	9,62% (25/260)	6,54% (17/260)	1,15% (3/260)	1,92% (5/260)	90,38% (235/260)
Keçi	9,32% (41/440)	6,14% (27/440)	2,05% (9/440)	1,14% (5/440)	90,68% (399/440)
Toplam	9,43% (66/700)	6,29% (44/700)	1,71% (12/700)	1,43% (10/700)	90,57% (634/700)

toplam hayvan sayısının %7,71 (54/700)'ünde viral nükleik asit varlığı tespit edildi. PCR sonuçları ile ilgili detaylı bilgiler Tablo 2' de verildi.

Ayrıca ELISA ve PCR sonuçları karşılaştırıldığında toplam koyun örneklerinin %9,62 (25/260)'si, toplam keçi örneklerinin %9,32 (41/440)' si ve tüm hayvanların %9,43 (66/700)' ü ELISA ve/veya PCR ile pozitif olarak tespit edildi. Toplam örneklerin %6,29 (44/700)'u hem ELISA hem de PCR ile pozitif bulunurken %1,71 (12/700)'i sadece ELISA ile pozitif

%1,43 (10/700)'ü sadece PCR ile pozitif olarak tespit edildi. Toplanan örneklerin %90,57 (634/700)'si her iki yöntemle de negatif olarak tespit edildi (Tablo 3).

PCR ile pozitif olarak tespit edilen örneklerin *gag* geni yönünden kısmi dizin analizi yapılarak dizin analizi sonucu iyi okunan 4 örneğin Genbank veri sistemine girişi yapılarak erişim numarası alındı (MW711326 (keçi), MW711327 (keçi), MW711328 (koyun), MW711329 (koyun)). Elde edilen dizinlerin Genbank veri sisteminde yer alan daha önce ül-



Şekil 1. Bu çalışmada elde edilen SRLV' in kısmi *gag* gen bölgesine yönelik yapılan filogenetik ağaç



kemizde ve dünyada tespit edilmiş SRLV'ler ile karşılaştırılması ile yapılan filogenetik ağaçta B genotipi içinde yer aldığı tespit edildi (Şekil 1).

Tablo 2. Hayvan türleri ve illere göre ELISA ve PCR sonuçları
Tablo 3. ELISA ve PCR sonuçlarının karşılaştırılması
Şekil 1. Bu çalışmada elde edilen SRLV' in kısmi gag gen bölgesine yönelik yapılan filogenetik ağaç.

ELISA sonuçlarına göre SRLV prevalansının türler arasında ($p:0,950$) ve iller arasında ($p:0,692$) istatistiksel olarak benzer olduğu görüldü. PCR sonuçlarına göre SRLV prevalansının türler arasında ($p:0,569$) ve iller arasında ($p:0,710$) istatistiksel olarak benzer olduğu görüldü.

Tartışma

Küçük ruminant lentivirusları, yavaş seyrederek (slow enfeksiyon) konakta ömür boyu persiste kalmaktadır (Narayan ve Clements 1989). SRLV enfeksiyonlarında genellikle herhangi bir klinik tablo görülmemektedir. Bu yüzden klinik olarak SRLV enfeksiyonlarının tespiti zor olmaktadır. Ancak serolojik ve virolojik olarak SRLV enfeksiyonları tespit edilebilmektedir.

Dünyada enfeksiyonun yaygınlığına ilişkin olarak yapılan çalışmalarda değişik sonuçlar ortaya çıkmaktadır (Adams ve ark 1984). Söz konusu enfeksiyon Japonya'da 2002 yılında ortaya çıkmış ve yapılan bir çalışmada %19,5 pozitiflik tespit edilmiştir. Japonya'da da eradikasyon programı uygulanarak enfeksiyonun oranı önemli ölçüde azaltılmıştır (Konishi ve ark 2004). Türkiye'de SRLV enfeksiyonları çoğunlukla tür düzeyinde CAEV (keçi) ve MVV (koyun) enfeksiyonları şeklinde çalışılmış olup farklı tanı yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Burgu ve ark (1994) tarafından yapılan çalışmada, İç Anadolu, Ege, Doğu Anadolu ve Batı Karadeniz Bölgelerinde CAEV enfeksiyonuna karşı AGID testi ile %1,9 oranında pozitiflik tespit edilmiştir. Yavru ve ark (2001) yaptıkları çalışmada AGID ile %1.57, ELISA ile %3.68 oranında pozitiflik saptanmıştır. Çimtay ve ark (2004) Şanlıurfa yöresindeki keçilerde %6 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir. Aslantaş ve ark (2002); Hatay ilinde yaptıkları bir çalışmada ELISA ile %1,03 oranında pozitiflik tespit etmişlerdir. Karapınar (2010) 2007-2010 yılları arasında İç Anadolu, Akdeniz, Ege ve Marmara bölgelerinden alınan 435 keçi kan ve 285 keçi süt örneğinde CAEV antikor ve viral nükleik asit varlığı araştırmıştır. Çalışma sonucunda kan örneklerinde % 8,5, süt örneklerinde ise %4,9 oranında seropozitiflik bulunmuştur. Ayrıca seropozitif ve seronegatif kan ve süt örneklerinde PCR ile pozitiflikler tespit edilmiş ve CAEV' in moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Özkan (2012) Afyonkarahisar bölgesindeki kronik solunum sistemi problemi olan keçi sürülerinden 422 kan örneği üzerinde yaptığı çalışmada %4,2 oranında pozitiflik tespit etmiş ve problemlili sürülerde bu oranın %12'lere ulaştığını bildirmiştir. CAEV

üzerine Ülkemizdeki yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde bölgeden bölgeye değişmekle birlikte farklı oranlarda pozitiflikler tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma Doğu Akdeniz bölgesinde yer alan Hatay, Kahramanmaraş ve Osmaniye illerini kapsamaktadır. Bu çalışmada keçilerde %9,32 (41/440) oranında ELISA ve/veya PCR ile pozitiflik tespit edilmiştir (Tablo 3). Keçilerde ELISA ile yapılan sonuçlara göre %8,18 (36/440), PCR sonuçlarına göre %7,27 (32/440) oranında pozitiflik tespit edildi (Tablo 2). Bu çalışmanın sonuçları ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında Karapınar (2010)'ın yaptığı çalışmaya benzer oranda pozitiflik tespit edilirken diğerlerine göre ise yüksek pozitiflik tespit edilmiştir. Bu yüksek pozitifliğin muhtemel sebepleri örnekleme zamanı, örnekleme sayısı, örneklenen hayvanların yaşı, bölgelere göre iklim farklılıkları ve iklim farklılıklarına bağlı bakım ve besleme koşulları olabileceği düşünülmektedir.

CAEV ile yakın ilişkili olan Maedi-Visna Virus enfeksiyonu Fransa, Avusturya, Finlandiya, Büyük Britanya, Kanada, Amerika gibi birçok ülkede bildirilmiştir (Suvages ve ark 1973, Cutlip ve ark 1977, Dukes ve ark 1979, Sihvonen ve ark 1980, Brodie ve ark 1998). Ülkemizde ise MVV enfeksiyonunun varlığına yönelik yapılan çalışmalar daha çok serolojik yöntemlere dayanmaktadır. Burgu ve ark (1990) Türkiye'nin değişik bölgelerinden alınan örneklerde %23,97 oranında pozitiflik tespit ederken Yavru ve ark (2002) Konya yöresinde %2,9 pozitiflik tespit etmiştir. Tan ve Alkan (2002) kamuya ait işletmelerde AGID testi ile %26,7 oranında pozitiflik tespit etmişlerdir. Yılmaz ve ark (2002) mezbahalarda kesilen koyunlardan alınan kan örneklerinde %1,2 pozitiflik tespit etmişler. Karaoğlu ve ark (2003) aile tipi koyun işletmelerinden alınan örneklerde %2,6 oranında, Çimtay ve ark (2004) Şanlıurfa'dan alınan koyun örneklerinde %10 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir. Yine Şanlıurfa ilinde yapılan diğer çalışmalarda MVV' a karşı Gürçay ve Parmaksız (2013) %9,8, Ün ve ark (2018) %5,29 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir. Akkan ve ark (2009) Van ilinden alınan koyun kan örneklerinde ELISA ile %6,45 oranında, Van'da yapılan başka bir çalışmada %10,5 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (Ameen 2016). Albayrak ve ark (2012) Karadeniz bölgesinde koyunlarda ELISA ile %23,5 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir. Arık (2013) Afyonkarahisar ilinde kronik solunum sistemi problemi olan koyun sürülerinden 294 kan örneğinde %5,4 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir. Muz (2009) kamu ve halk elindeki 19 farklı işletmeden 2-6 yaş arasındaki 821 koyun kan örneği üzerinde yaptıkları çalışmada %53,1 oranında ve örneklenen işletmelerin %94,7 sinde seropozitiflik tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada moleküler olarak %54,3 oranında PCR ile pozitiflik tespit edilmiştir. Muz ve ark (2013) ELISA ve PCR yöntemlerinin karşılaştırılması sonucunda ELISA ve/veya PCR ile %67,8 sadece ELISA ile %51 sadece PCR ile %54,7 oranında pozitiflik tespit etmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada koyunlarda ELISA ile %7,69 (20/260),





PCR ile %8,46 (22/260) (Tablo 2) ELISA ve/veya PCR ile %9,62 (25/260) oranında pozitiflik tespit edildi (Tablo 3). Yapılan bu çalışma ile ülkemizde yapılan diğer çalışmalar da karşılaştırıldığında farklı tanı yöntemlerine göre değişik oranlarda pozitiflikler tespit edildi. Özellikle geçmiş yıllarda yapılan çalışmalar (Tan ve Alkan 2002, Muz 2009, Albayrak ve ark 2012, Arslan ve ark 2012, Muz ve ark 2013) değerlendirildiğinde yüksek pozitiflikler gözlemlenirken son yıllarda yapılan çalışmalarda (Ameen 2016, Ün ve ark 2018) seropozitiflik oranları düşük bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmada da geçmiş yıllara göre düşük pozitiflik (%9,62) tespit edildi (Tablo 3). Elde edilen sonuçlar örnekleme zamanı, örnek sayısı, örneklenen hayvanların yaşı gibi faktörlere bağlı olabileceği gibi muhtemelen son yıllarda entansif yetiştiriciliğin artması ve buna bağlı olarak sürülerin diğer sürülerle temasının az olması, bilinçli ve modern hayvan yetiştiriciliğinin artmış olması nedeniyle de düşük çıkmış olabileceği düşünüldü. Ancak her ne kadar geçmiş yıllara oranla seropozitiflik oranı düşmüş olsa da %9,62 gibi oran söz konusu bu hastalık için yüksek bir orandır. Yapılan eradikasyon çalışmaları ile bu oranlarında azaltılması ve sürü bazlı bu SRLV enfeksiyonlarının eliminasyonunun gerçekleştirilmesi sağlanmalıdır. Ülkemizde yapılan moleküler çalışmalarda SRLV'nin A ve B (B3) genotiplerinin sahada sirküle olduğu görülmektedir (Bertolotti ve ark 2011, Muz ve ark 2013). Yapılan bu çalışmada da gag gen bölgesinin kısmi dizin analizinin yapılması sonrasında hem koyunlarda hem de keçilerde SRLV'nin B genotipinin varlığı tespit edildi (Şekil 1). SRLV'nin türler arası (koyun-keçi, keçi-koyun) geçişi bildirmektedir (Shah ve ark 2004, Minguijón 2015). Ancak yapılan bu çalışmada hem koyunlarda hem de keçilerde enfeksiyona neden olabilen B genotipinin tespit edilmesinden dolayı türler arası geçiş olup olmadığı tam olarak ortaya konulamadı. Bu durumun sorgulanabilmesi için daha fazla örnek ve SRLV'nin farklı gen bölgelerine veya tam genom analizlerine yönelik detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca ileriki yıllarda türler arası geçiş esnasında oluşabilecek bir takım mutasyonlar sonucu yeni alt tiplerin de çıkabileceği de dikkate alınmalıdır.

Söz konusu bu enfeksiyonların tanısında serolojik ve moleküler tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Serolojik araştırmaların bir takım avantajları olabildiği gibi enfeksiyonların erken safhalarında veya hayvanlardaki düşük antikor seviyelerinin tespit edilememesi, kullanılan testlerin sensitivite ve spesifite farklarından kaynaklı hatalı teşhisler gibi dezavantajları da bulunmaktadır (Leginagokoa ve ark 2006). SRLV'nin farklı alt tiplerinin olmasından kaynaklı da yanlış sonuçlar elde edilebilmektedir (Glaría ve ark 2011). Yapılan bu çalışmada alınan örneklerin ELISA ve PCR sonuçları karşılaştırıldığında örneklerin %1,43 (10/700)'ü ELISA (-)/PCR(+); %1,71 (12/700)'i ise ELISA (+)/PCR (-) olarak tespit edildi. (Tablo 3). Elde edilen bu sonuçlara göre SRLV'nin teşhisinde sadece ELISA veya sadece PCR testinin tek başına kullanımının yeterli olmayacağı görülmektedir. ELISA sürü bazlı taramalarda önemli fikir verse de enfeksiyonun başlangıç

safhasında veya farklı alt tiplere karşı oluşabilecek antikorları tespit etmede yeterli olamayacağı düşünüldü. Aynı şekilde tek başına PCR testi ile yapılacak teşhis metodunun da ELISA gibi yeterli olamayacağı anlaşılmaktadır. Oluşan bu farklılıklarının muhtemel nedenleri ELISA (-)/PCR (+) durumunda enfeksiyonun erken safhasında yapılan örneklemeden, düşük seviyedeki antikorlardan veya farklı alt tiplere karşı oluşan antikorlardan kaynaklı olabileceği düşünüldü. ELISA (+)/PCR (-) olması durumunun da örnekleme zamanında örneklenen hayvanlarda güçlü bir serokonversiyon gelişmiş olabileceği bu durumda da kanda virus tespitinin düşük olmasından kaynaklı olabileceği düşünüldü.

Öneriler

Sonuç olarak Doğu Akdeniz Bölgesi'nin (Hatay, Kahramanmaraş, Osmaniye) küçük ruminant yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı yer olması nedeniyle SRLV'nin yakın geçmiş tarihteki bölgedeki durumu ortaya konulmuş olması açısından bu çalışma önem arz etmektedir. Bu sonuçların gelecekte bölgesel olarak bu hastalıkların eradikasyon çalışmalarına da ışık tutabileceği düşünülmektedir. SRLV enfeksiyonlarının klinik olarak tespitinin zor olması nedeniyle laboratuvar tanısının önemli olduğu ve bu amaçla sadece ELISA veya sadece moleküler yöntemlerin tek başına kullanılmasının yeterli olmayacağı anlaşılmaktadır. SRLV enfeksiyonunda tedaviden çok koruma ve kontrol programları önemlidir. Sürü içerisindeki seropozitif hayvanlar persiste enfeksiyonun taşınması ve saçılmasında önemli rol oynadığından SRLV enfeksiyonunda sürü bazlı tam eradikasyon için ELISA ve PCR testlerinin birlikte kullanılması, 3-6 ay aralıklarla sürünün test edilmesi, sürüye hayvan giriş çıkışlarının kontrollü bir şekilde yapılması gerekmektedir. SRLV enfeksiyonu koyun ve keçilerde türler arası geçişi olabilen bir enfeksiyon olması nedeniyle de mümkün olduğu kadar keçi ve koyunların farklı ortamlarda barındırılmasının sağlanması uygun olacaktır. Ayrıca moleküler çalışmaların artırılması, farklı gen bölgelerine ve tam genom analizlerine yönelik detaylı araştırmaların da yapılarak farklı alt tiplerin ortaya konulması, böylece ülkede sirküle olan alt tiplerin belirlenmesi adına önemli olacaktır.

Teşekkür

Çalışmanın istatistiksel analizleri Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Elemanı Araş. Gör. Dr. K. Pınar AMBARCIOĞLU KISAÇAM tarafından yapılmıştır. Katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.





Finansal Kaynak

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 20.M.005. numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Adams DS, Klevjer-Anderson P, Carlson JL, McGuire TC, et al., 1983. Transmission and control of caprine arthritis-encephalitis virus. *Am J Vet Res*, 44, 1670-1675.
- Adams DS, Oliver RE, Ameghino E, DeMartini JC, et al., 1984. Global survey of serological evidence of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *Vet Rec*, 115, 493-495.
- Akkan HA, Karaca M, Tütüncü M, Keles I, et al., 2009. Investigation of the seroprevalance of maedi-visna in the region of Van using Elisa and histopathological findings. *JAVA-MJ*, 8(8), 1595-1598.
- Albayrak H, Yazici Z, Okur-Gumusova S, Ozan E 2012. Maedi-visna virus infection in Karayaka and Amasya Herik breed sheep from provinces in northern Turkey. *Trop Anim Health Prod*, 44(5), 939-41.
- Ameen PM, 2016. Van ili ve çevresinde Visna-MAedi Virus (VMV) ve Bordes Disease Virus (BDV) enfeksiyonlarının seroprevalansı. Yüksek Lisans Tezi. Yüzüncü Yıl Üni. Sağlık Bilimler Enstitüsü, Van, Türkiye.
- Arık C, 2013. Afyonkarahisar ili ve çevresinde Visna-Maedi Virus enfeksiyonunun klinik ve serolojik olarak araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üni. Sağlık Bilimler Enstitüsü. Afyonkarahisar, Türkiye.
- Aslantaş Ö, Pınar D, Güngör B, 2002. Hatay yöresinde maedi-visna enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. *Vet Hek Mikrob Derg*, 2(2), 31-34.
- Bertolotti L, Mazzei M, Puggioni G, Carrozza ML, et al., 2011. Characterization of new small ruminant lentivirus subtype B3 suggests animal trade within the Mediterranean Basin. *Gen Virol*, 92(8), 1923-1929.
- Brodie SJ, de la Concha-Bermejillo A, Snowden GD, DeMartini JC, 1998. Current concepts in the epizootiology, diagnosis, and economic importance of ovine progressive pneumonia in North America. *Small Rumin Res*, 27,1-17.
- Burgu İ, Tokar A, Akça Y, Alkan F, et al., 1990. Türkiye'de Visna-Maedi enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. *AÜ Vet Fak Derg*, 37(3), 538-553.
- Burgu İ, Akça Y, Alkan F, Özkul A, et al., 1994. Antibody prevalence of Caprine Arthritis Encephalitis Virus (CAEV) in goats in Turkey. *Dtsch Tierarzti. Wschr* 101, 390-391.
- Cimtay İ, Keskin O, Şahin T, 2004. Şanlıurfa yöresinde koyun ve keçilerde bazı lentivirus enfeksiyonlarının araştırılması. *Uludağ Univ J Fac Vet Med*, 23 (1-2-3), 33-38.
- Clements JE, Gdovin SL, Montelaro RC, Narayan O, 1988. Antigenic Variation in Lentiviral Diseases. *Ann Res Immunol*, 6,139-59.
- Clements JE, Wall RJ, Narayan O, Hauer D, et al., 1994. Development of Transgenic Sheep That Express the Visna Virus Envelope Gene. *Virology* 200, 370-80.
- Chebloune Y, Sheffer D, Karr BM, Stephens E, et al., 1996. Restrictive type of replication of ovine/caprine lentiviruses in ovine fibroblast cell cultures. *Virology*, 222, 21-30.
- Cork LC, Hadlow WJ, Crawford TB, Gorham JR, et al., 1974. Infectious leukoencephalomyelitis of young goats. *J Infect Dis*, 129(2), 134-141.
- Cork LC, Narayan O, 1980. The pathogenesis of viral leukoencephalomyelitis-arthritis of goats. I. Persistent viral infection with progressive pathologic changes. *Lab Invest*, 42, 596-602.
- Crawford T, Adams DS, Cheevers WP, Cork LC, 1980. Chronic arthritis in goats caused by a retrovirus. *Science*, 207, 997-999.
- Cutlip RC, Jackson TA, Laird GA, 1977. Immunodiffusion test for ovine progressive pneumonia. *Am J Vet Res*, 38, 1081-1084.
- Dawson M, 1987. Pathogenesis of Maedi-Visna Virus. *Vet Rec*, 120, 451-454.
- Garey N, Dalziel RG, 1993. The Biology of Maedi-Visna Virus- An Overview. *Br Vet J*, 149, 437-54.
- Granoff A, Webster RG, 1999. Encyclopedia of Virology. Second Edition. 223-229.
- Gürçay M, Parmaksız A, 2013. An Investigation of Visna-Maedi virus Infection in Şanlıurfa Province, Southeast Anatolia, Turkey. *AVKAE Derg*, 3(1), 46-50
- Karaoğlu T, Alkan F, Burgu I, 2003. Küçük Aile işletmelerindeki Koyunlarda Maedi-Visna Enfeksiyonunun Seroprevalansı, *AÜ Vet Fak Derg*, 50(2), 123-126.
- Karapınar BZ, 2010. Keçilerde caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) enfeksiyonunun kan ve süt örneklerinde ELISA ve PCR teknikleri ile tanısı ve yerel virusların moleküler karakterizasyonu. Doktora Tezi. Ankara Üni. Sağlık Bilimler Enstitüsü. Ankara, Türkiye.
- Knight AP, Jokinen MP, 1982. Caprine arthritis-encephalitis. *Compend Cont Educ Pract Vet*, 4, 263-269.
- Konishi M, Tsuduku S, Haritani M, Murakami K, et al., 2004. An epidemic of caprine arthritis encephalitis in Japan: Isolation of the virus. *J Vet Med Sci*, 66(8), 911-917.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K, 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution* 33(7), 1870-1874.
- Kwang J, Torres J, 1994. Oligopeptide-based enzyme immunoassay for ovine lentivirus antibody detection. *J Clin Microbiol*, 32, 1813-1815.
- Minguijón E, Reina R, Pérez M, Polledo L, et al., 2015. Small ruminant lentivirus infections and diseases. *Vet Mic*, 181(1-2), 75-89.
- Muz D, 2009. Maedi- Visna enfeksiyonunun tanısında PCR tekniğinin kullanımı ve yerel virusların moleküler karakterizasyonu. Doktora Tezi. Ankara Üni, Sağlık Bilimler Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Muz D, Oguzoglu TC, Rosati S, Reine R, Bertolotti L, et al., 2013. First Molecular Characterization of Visna/Maedi Viruses from Naturally Infected Sheep in Turkey. *Arch Virol*, 1583, 559-570,
- Narayan O, Clements JE, 1989. Biology and pathogenesis of





- lentiviruses. *J Gen Virol*, 70, 1617-1639.
- OIE, 2017. Terrestrial Manual. Chapter 2.7.2/3. Caprine arthritis-encephalitis & Maedi-Visna
- Oliver R, Carhcart A, Mcniven R, Poole W, et al., 1984. Transmission of caprine arthritis encephalitis virus to sheep. *New Zealand Vet Journal*, 32 (11), 199-200.
- Özkan VC, 2012. Kronik solunum sistemi problemleri olan keçi sürülerinde caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) enfeksiyonunun rolünün araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üni. Sağlık Bilimler Enstitüsü. Afyonkarahisar, Türkiye.
- Palsson PA, 1976. Maedi and visna in sheep. *Front Biol*, 44:17-43.
- Perk K, Yaniv A, Gazit A, DeMartini JC, 1996. Evaluation of vaccines for ovine lentivirus infection. *AIDS research and human retroviruses*, 12(5), 425-426.
- Peterhans E, Greenland T, Badiola J, Harkiss G, et al., 2004. Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. *Vet Res*, 35(3), 257-274.
- Ramírez H, Reina R, Amorena B, Andrés DD, et al., 2013. Small ruminant lentiviruses: genetic variability, tropism and diagnosis. *Viruses*, 5(4), 1175-1207.
- Sanchez AB, Rodriguez D, Garzon A, Amorena B et al., 2002. Visna/maedi virus Env protein expressed by a vaccinia virus recombinant induces cell-to-cell fusion in cells of different origins in the apparent absence of Env cleavage: Role of glycosylation and of proteoglycans. *Arch Virol*, 147, 2377-2392.
- Shah C, Huder JB, Böni J, Schönmann M, et al., 2004. Direct evidence for natural transmission of small-ruminant lentiviruses of subtype A4 from goats to sheep and vice versa. *J Virol*, 78 (14), 7518-7522.
- Sihvonen, L., 1980. Studies on Transmission of Maedi-Visna Virus in Lambs. *Acta Vet Scand*, 20, 1-10.
- Smith MC, Sherman DM, 1994. *Goat Medicine*. Lea & Febiger Philadelphia, 73-79, 135-138.
- Stamp JT, 1980. Slow Virus Infections of the Nervous System of Sheep. *Vet Rec*, 107, 529-30.
- Tan MT, Alkan F, 2002. Türkiye’de Maedi-Visna Enfeksiyonunun Seroepidemiolojisi ve Virus İzolasyonu. *AÜ Vet Fak Derg*, 49, 45-50.
- Ün H, Özgünlük İ, Çabalar M, 2018. Şanlıurfa Yöresinde Maedi-Visna Virus (MVV) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 7(2), 144-148.
- Yavru S, Şimşek A, Kale M, Levent O, 2001. Comparison of AGID and ELISA tests for serodiagnosis of Caprine Arthritis -Encephalitis Virus (CAEV) infection in goats in Turkey. X. International Symposium of Veterinary Laboratory Diagnosticians and OIE Seminar on Biotechnology. Salsomaggiore- Parma, Italy, 4-7 July
- Yavru S, Simsek A, Bulut O, Kale M, 2002. Koyunlarda maedi-visna virus (MVV) enfeksiyonu üzerine serolojik araştırma. 5. Ulusal Vet Mikrobiyoloji Kong 24-26 Eylül 2002, 114-115.
- Yılmaz H, Gürel A, Özgür Y, Turan N, et al., 2002. Abotitir

study of maedi-visna virus infection in Turkey. *Vet Rec*, 151 (12): 358-360.

Zanoni RG, 1998. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses. *J Gen Virol*, 79, 1951-1961.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Fırat Doğan, Veysel Soydal Ataseven, Seval Bilge Dağalp

Tasarım: Fırat Doğan, Veysel Soydal Ataseven, Seval Bilge Dağalp

Denetleme/Danışmanlık: Fırat Doğan, Veysel Soydal Ataseven, Seval Bilge Dağalp, Yaşar Ergün

Veri Toplama ve/veya İşleme: Fırat Doğan, Veysel Soydal Ataseven, Seval Bilge Dağalp

Analiz ve/veya Yorum: Fırat Doğan, Veysel Soydal Ataseven, Seval Bilge Dağalp

Kaynak Taraması: Fırat Doğan, Veysel Soydal Ataseven, Seval Bilge Dağalp

Makalenin Yazımı: Fırat Doğan, Veysel Soydal Ataseven, Seval Bilge Dağalp, Yaşar Ergün

Eleştirel İnceleme: Fırat Doğan, Veysel Soydal Ataseven, Seval Bilge Dağalp,

Etik Onay

Sunulan çalışma, 10.09.2019 tarihli 2019/07-6 karar sayılı Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun onayı ve izniyle yürütüldü.

CITE THIS ARTICLE: Doğan F, Ataseven VS, Dağalp SB, Ergün Y, 2021. Küçük ruminant lentivirüs enfeksiyonlarının serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. *Eurasian J Vet Sci*, 37, 3, 193-201

