



تشخیص بیماری لکوز گاوی (BLV) در گاوهای شیری هلستاین به کمک تست DNA

مهدی خسروی^۱، محمد رضا نصیری^۲، امیر رضا پریزاده^۳

چکیده

بیماری لکوز گاوی که به وسیله ویروس لوسمی گاو، یک انکوویروس تیپ C اگزوزن در خانواده رتروویریده ایجاد می‌شود، یکی از بیماریهای کشنده ویروسی است که می‌تواند گونه‌های مختلف جانوری را به صورت طبیعی یا تجربی آلوده می‌کند. جهت تشخیص این بیماری، تعداد ۱۷۵ نمونه خون از گاوهای هلستاین جمع آوری گردید. DNA ژنومی از ۱۰۰ میکرولیتر خون با روش (BOOM R., ET AL 1989) که توسط دکتر شیخایف (۱۹۹۵) تغییراتی در آن داده شده بود، استخراج شد. جهت تعیین کیفیت و کمیت DNA استخراجی از روش مقایسه با DNA استاندارد فاژ لامبدا استفاده گردید. تکثیر ناحیه پلی مورفیک ژن BLV به طول ۳۴۷ جفت باز با آغاز گرهای GAG1 و GAG2 صورت گرفت. برای مشاهده محصولات PCR از ژل آگارز ۱/۴٪ با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده شد. از مجموع دامهای مورد بررسی ۳۲ رأس (۱۸/۲٪) آلوده به ویروس لکوز گاو بودند.

کلمات کلیدی: گاو هلستاین، لکوز گاوی، تست DNA

مقدمه

ویروس لکوز گاو (BLV) متعلق به جنس دلتا ویروس از خانواده رتروویریده است. این ویروس بسیار وابسته به سلول است و به صورت آزاد وجود ندارد. BLV در تعدادی از لمفوسیت های B محیطی که در نتیجه عفونت تکثیر می‌یابند، استقرار می‌یابد. از بین دام های مختلف تنها گاو به طور طبیعی به این ویروس آلوده می‌شود اما به طور تجربی توانستند ویروس را به گونه‌های مختلفی از حیوانات از قبیل گوسفند، بز، خوک، خرگوش، راسو، میمون، شامپانزه، و گاو میش انتقال دهند [۴، ۸، ۱۲، ۱۴، ۱۹]. بیماری ابتدائاً در سال ۱۹۸۱ در آلمان گزارش شد و بعد از جنگ جهانی دوم بر میزان وقوع آن اضافه شد و از اکثر کشورها گزارش گردید [۱۹]. لکوز آنزوتوتیک گاو موجب ضررهای اقتصادی می‌گردد که شامل حذف گاوهای مبتلا، کاهش توان تولید و فعالیت تولید مثلی و محدودیت های صادرات گاو و اسپرم به کشورهای وارد کننده می‌باشند [۶، ۲۰]. با توجه به صرفه‌های قابل توجه برای انجام برنامه های کنترل و ریشه کنی بعضی از کشورها برنامه هایی جهت ریشه کنی آن در دست اجرا دارند [۱۳، ۱۴، ۲۰]. چهار حالت پس از قرار گرفتن گاو در معرض ویروس ممکن است رخ دهد: ۱- عدم بروز عفونت به دلیل مقاومت ژنتیکی دام در معرض ابتلا ۲- بروز عفونت پایدار و تولید پادتن های قابل ردیابی ۳- بروز عفونت پایدار و لنفوسیتوز پایدار که نوعی تکثیر خوش خیم لنفوسیتی است و به لمفوسار کوما تبدیل می‌شود ۴- بروز عفونت پایدار، همراه یا بدون لمفوسیتوز پایدار و وقوع تومورهای سرطانی بدخیم لمفوسارکوما [۱۳، ۱۶، ۱۹، ۲۱]. مبتلا شدن یا نشدن و بروز اشکال مختلف درمانگاهی بیماری در دام بستگی به وضعیت ژنتیکی دارد. همچنین ممکن است به توان

-
- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر
 - ۲- استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
 - ۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر



نمونه‌های خون استفاده شد [۲۱،۹]. پس از استخراج DNA از نمونه خون تام در گاوهای هلشتاین، جهت تشخیص BLV در گاوهای مبتلا، واکنش PCR جهت تکثیر قطعه (bp) ۳۷۴ جفت باز از ژن BLV صورت پذیرفت [۲۱]. توالی آغازگرهای gag1 و gag2 مورد استفاده برای این آزمایش بصورت زیر است:

gag 1 : 5' GGAGGTGGGAAGATGCGAACTATT 3'
gag 2 : 5' GTCCGCTCTACCAACCCTGAACTT 3'

مراحل PCR انجام گرفته نیز به شرح زیر است:

سیکل سوم (۴۳X)	سیکل دوم	سیکل اول
95 °C 50S	95 °C 60S	95 °C 120S
58 °C 40S	60 °C 50S	62 °C 60S
74 °C 60S	74 °C 60S	74 °C 120S

وآخرین مرحله جهت تکثیر نهایی و زمان لازم برای آن بصورت دمای 74 °C و زمان 120s لحاظ گردید.

لازم به توضیح است که سیکل ۳ به تعداد ۴۳ مرتب (۴۳X) تکرار می شود.

برای تشخیص محصولات PCR از ژل آگارز استفاده شد [۲۶،۲۱]. با قرار دادن چند میکرولیتر از نمونه محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۴٪ و رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید در زیر لامپ UV، قطعه تکثیر شده به صورت یک باند مجزا رویت شد.

نتایج

در این روش مقدار زیادی DNA ژنومی (حدود ۵۰ u/μl) و با طول حدود ۵۰ تا ۶۰ هزار جفت باز حاصل شد که در مجاورت مقادیر مختلف DNA فاژ لامبدا به راحتی قابل ارزیابی می باشد (شکل ۱).

دستگاه ایمنی حیوان و مقدر ویروس نیز وابسته باشد [۲۰،۲۲].

با توجه به اینکه بیماری در اکثر کشورها از جمله کشور ما وارداتی می باشد و در کش اور ما در چند دهه اخیر به منظور نژادگیری از کشورهای دیگر گاو خریداری و یا اسپرم وارد شده است که باعث آلوده شدن گاوها به این ویروس شده است. بر همین اساس انجام مطالعات وسیع به منظور تعیین وضعیت آلودگی به این ویروس را در سطح کشور می طلبد. این مطالعه در شهر مشهد صورت گرفته تا میزان آلودگی گاوها را به ویروس لکوز گاو عامل ایجاد کننده لکوز مشخص نماید.

مواد و روش کار

برای انجام این تحقیق خونگیری از ۱۷۵ رأس گاو ماده شیری هلشتاین از گاو‌داریهای صنعتی اطراف مشهد انجام گرفت. گاوهای مورد آزمایش بین ۲ تا ۷ سال سن داشتند و همه گاوهای هلشتاین حداقل یک بار زایش داشتند. در زمان نمونه گیری سن و تعداد زایمان آنها ثبت می شد. خون مورد نیاز با خونگیری از رگ زیر دم حیوان و به میزان ۱۰-۵CC فراهم گردید. به منظور جلوگیری از انعقاد خون، ماده ضد انعقاد EDTA را مورد استفاده قرار دادیم. خون ها تا زمان انجام آزمایشات، در فریزر و در دمای ۲۰ °C - نگهداری شدند.

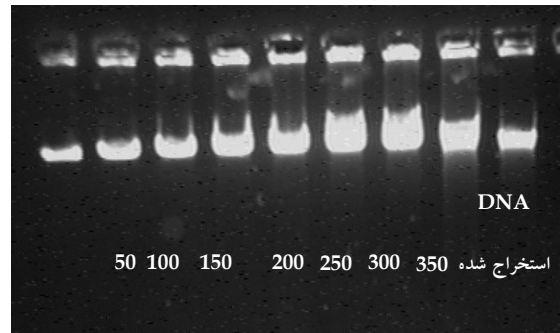
جهت استخراج DNA از روش تیوسیانات گوانیدین - سیلیکاژل استفاده شد. در روش مربوطه از تیوسیانات گوانیدین به عنوان عامل لیز کننده سلولی و از ذرات سیلیکون به عنوان جاذب DNA در مخلوط حاصل از لیز سلول ها استفاده می شود. در این آزمایش از کیت BIODOM DIATOM DNA PREP محصول شرکت BIODOM مسکو که مبتنی بر استفاده از روش BOOM و همکاران (۱۹۹۰) که تغییراتی نیز توسط SHEIKHAEV (۱۹۹۵) در آن داده شده، جهت استخراج DNA از

فراوانی مطلق	فراوانی نسبی	
۳۲	۱۸/۲	BLV+
۱۴۳	۸۱/۸	BLV-
۱۷۵	۱۰۰	کل

جدول ۱- نتایج حاصل از بررسی آلودگی گاوها به ویروس لکوز

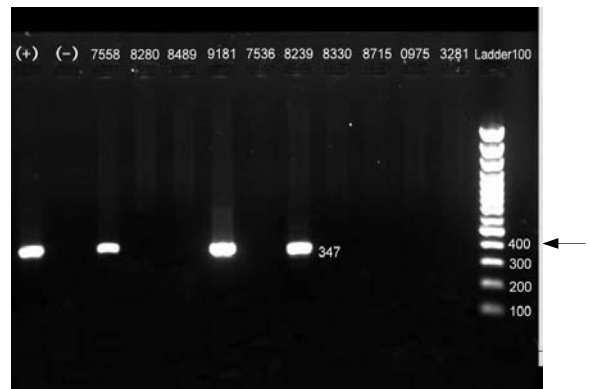
بحث

انتقال BLV از طریق لمفوسیت‌های آلوده صورت می‌گیرد و تبادل مواد بیولوژیک حاوی اینگونه لمفوسیت‌ها مانند خون، شیر و توده‌های توموری به تماس فیزیکی نزدیک و طولانی مدت نیاز دارد، بدیهی است که این شرایط در گله‌هایی که از تراکم بالا برخوردارند و دام‌های با سنین مختلف به صورت مخلوط نگهداری می‌شوند بسیار بهتر فراهم می‌شود [۱، ۱۲، ۱۴، ۱۷، ۲۰، ۲۱]. این بیماری در بعضی از کشورها مانند ایران به عنوان یک بیماری وارداتی مطرح است که از طریق وارد نمودن گاو یا اسپرم و جنین آلوده به کشور وارد شده است [۱، ۲۲]. حدادزاده با استفاده از ۴۷۹۷ نمونه جمع‌آوری شده از گاوداری‌های صنعتی و نیمه صنعتی نشان دادند که ۹/۸۱ درصد از لحاظ BLV مثبت بوده‌اند و به منظور تحقیق در صحت نظریه وارداتی بودن بیماری در کشور اقدام به نمونه‌گیری از ۲۰۰ رأس گاو بومی در دو نوبت به فاصله یک سال از هم نمودند و هیچ اثری از پادتن ضد ویروس لکوز آنزوتیک گاو در آنها یافت نشد که دال بر تأیید نظریه وارداتی بودن بیماری در کشور بود [۱]. در بررسی قائم مقامی و همکاران نیز ۶۴۳ رأس گاو از نژادهای اصیل، دو رگ و بومی ۳ درصد از لحاظ BLV مثبت بودند و ۸۴/۴۲ درصد نمونه‌های مثبت متعلق به دام‌های اصیل و کمترین میزان (۵/۳۴ درصد) مربوط به گاوهای بومی بود که تأیید نظریه وارداتی بودن بیماری در کشور را به دنبال داشت [۲]. در بررسی ممتاز و همت‌زاده که از مجموع ۳۶۸ رأس گاو تحت بررسی در استان چهارمحال بختیاری ۵/۷۰ درصد دارای BLV



شکل ۱- مقایسه مقدار کمی DNA استخراج شده با مقادیر مختلف فاز لامبدا

نتیجه واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطور که مورد انتظار بود یک قطعه دارای ۳۴۷ جفت باز برای دام‌های بیمار تکثیر شده است که برای تشخیص از اندازه مارکر ۱۰۰ جفت بازی استفاده شده است (شکل ۲).



شکل ۲- تکثیر قطعه ۳۴۷ جفت بازی ژن BLV در نمونه‌ها

از مجموع ۱۷۵ گاو که مورد بررسی قرار گرفتند، قطعه (bp) ۳۷۴ برای ۳۲ نمونه تشکیل شد. (جدول شماره ۱). سن و شکم زایش گاوهای آلوده در جدول شماره ۳ و ۴ آورده شده است. نه تنها در زمان نمونه‌گیری گاوهای مبتلا به شکل بالینی بیماری مشاهده نگردیدند بلکه دامداران اطلاعات مشخصی از سابقه وجود اشکال بالینی بیماری ارائه ندادند. در تمام دامداری‌های تحت مطالعه واکسیناسیون تحت نظارت شبکه دامپزشکی صورت می‌گرفت.



بودند [۵]. در یک بررسی که توسط کارگر و همکاران در ۲۴ استان ایران صورت گرفت میانگین آلودگی به این ویروس ۱/۷ گزارش گردید [۳].

جدول ۲- مشخصات گاوهای آلوده به ویروس لکوز برحسب سن

سن (سال)	فراوانی	درصد
۳	۲	۶/۲۵
۴	۳	۹/۳۷
۵	۵	۱۵/۶۲
۶	۱۱	۳۴/۳۷
۷	۱۱	۳۴/۳۷

جدول ۳- مشخصات گاوهای آلوده به ویروس لکوز برحسب شکم زایش

شکم زایش	فراوانی	درصد
۲	۲	۶/۲۵
۳	۴	۱۲/۵
۴	۴	۱۲/۵
۵	۱۲	۳۷/۵
۶	۱۰	۳۱/۲۵

در مورد میزان وقوع آلودگی به بیماری در کشورهای مختلف گزارشات حاکی از آن است که میزان آن در داخل گله‌های مختلف و در بین کشورهای مختلف متفاوت می‌باشد به طوری که میزان آلودگی در داخل گله‌ها در آمریکا بین ۱۰۰-۰ درصد می‌باشد یعنی بعضی از گله‌ها ممکن است آلوده نباشند و بعضی حتی آلودگی آنها به ۱۰۰ درصد برسد ولی آلودگی در جمعیت گاوهای آمریکا حداقل ۲۰ درصد، کانادا ۶-۱۱ درصد، فرانسه ۲۷ درصد، ونزوئلا ۳۷ درصد، ترکیه ۱۱ درصد، تانزانیا ۳۶ درصد و اوگاندا ۱۷ درصد گزارش شد [۲۰، ۱۵، ۸، ۷].

میزان شیوع آلودگی ارتباط مستقیم با افزایش سن دارد و میزان آن در گاوهای پایین تر از ۲۴-۱۷ ماه کم می‌باشد و با

افزایش سن شاهد افزایش سریعی در میزان آلودگی خواهیم بود [۲۰]. در این مطالعه سن گاوهای مثبت بین ۷-۵ سال بود و ۴-۳ شکم زایمان کرده بودند و از آخرین زایش آنها ۴-۲ ماه می‌گذشت. حدادزاده نشان داد که بین آلودگی به ویروس لکوز آنزوتوتیک گاو در گله آلوده و فاکتورهایی نظیر سن، تعداد زایمان و میزان تولید شیر در گله‌های آلوده ارتباط معنی‌دار بوده به طوری که بیشترین درصد آلودگی در گاوهای چهار شکم زاییده و بالاتر از ۶ سال و یا میزان تولید شیر کمتر یا مساوی ۲۰ کیلوگرم دیده شد نتایج با فاکتورهای مانند آخرین زایش تا زمان نمونه‌گیری و رکورد شیر گله‌های آلوده و جمعیت گله ارتباط معنی‌داری نداشت [۱]. در بررسی قائم مقامی همه نمونه‌های مثبت بالای ۲ سال سن داشتند و بیشترین درصد آلودگی (۸۴/۲۴ درصد) در گاوهای ۴-۳ ساله دیده شد [۲]. در مطالعه ممتاز و همت زاده (۱۳۸۲) کمترین میزان آلودگی در سه گروه سنی ۱، ۲ و ۳ سال با صفر درصد و بیشترین مقدار در گروه گاوهای ۷ سال و بالاتر با ۱۷/۱۸ درصد آلودگی تعیین شد [۵]. در مطالعه Azuba و همکاران نشان داده شد که بین میزان آلودگی و سن ارتباط مستقیم وجود دارد به طوری که در گروه سنی ۳-۱ سال، ۵-۳ سال، ۷-۵ سال و بالاتر به ترتیب ۱۷، ۱۳، ۲۲ و ۳۳ درصد آلوده بودند. بیشترین آلودگی در نژاد زبو بود که علت آن را بلوغ دیرتر و در نتیجه سن بالاتر آنها هنگام کشتار و یا حساسیت ژنتیکی به این بیماری می‌دانند [۷]. همچنین در مطالعه باتماز و همکاران در ترکیه محدوده سنی گاوهای آلوده ۶-۲ سال بود [۸].

میزان فراوانی آلودگی در گاوهای شیری و گوشتی ممکن است متفاوت باشد به طوری که در بررسی Schoepf و همکاران [۲۲] آلودگی در گاوهای شیری ۴۲٪ و گوشتی ۲۱/۴٪ بوده است. علاوه بر این میزان آن در نژادهای مختلف گاو ممکن است متفاوت باشد در مطالعه Batmaz و همکاران (۱۹۹۵) در ترکیه آلودگی در گاوهای هلشتاین، براون سوئیس و بومی به ترتیب ۱۰/۳، ۹/۴ و ۲ درصد بوده است [۸]. در مطالعه BurrIDGE نژاد جرسی بیشتر از



دادن شیر از مخزن شیر به گوساله‌ها می‌توانند در انتقال آلودگی کمک کنند [۲۰، ۸، ۷]. در مطالعه Brenner و همکاران در فلسطین اشغالی در فاصله بین ۱۹۸۵ تا ۲۰۰۱-۱۹۹۹، میزان فراوانی آلودگی از ۸۰/۶ به ۵/۵ درصد کاهش یافت و برخی از گله‌ها به طور کلی عاری از آلودگی شدند. در این فاصله زمانی تلاش شده است تا به منظور کنترل آلودگی برخی از عوامل که در کاهش آلودگی حائز اهمیت هستند مانند تعویض سر سوزن‌ها، تغییر در روش‌های شاخ‌بری و تعویض دستکش‌ها در بین هر توش رکتال مورد توجه قرار گیرد [۱۰].

با توجه به نتایج حاصل از این بررسی و مقایسه آن با مطالعات مشابه در سایر نقاط ایران می‌توان نتیجه گرفت وقوع این بیماری رابطه مستقیم با افزایش سن و شکم‌زایش دارد علاوه بر این بررسی‌ها نشان داد که سه واحد گاوداری مورد مطالعه از اسپرم‌های وارداتی استفاده می‌کنند یا قبلاً استفاده کرده بودند و این امر بر وارداتی بودن این بیماری صحت می‌گذارد. در نهایت پیشنهاد می‌گردد با بررسی جامع‌تر در سطح استان خراسان و همچنین در سطح کشور و با حذف موارد مثبت امکان جلوگیری از انتشار بیشتر بیماری و پاک‌شدن گاوداری‌ها از بیماری‌ها را فراهم آورد.

منابع

۱- حدادزاده، حمیدرضا ۱۳۶۵؛ بررسی میزان آلودگی به ویروس لکوز آنزوتوتیک گاو در گاوداری‌های اطراف تهران، پایان‌نامه دوره دکترای عمومی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۱۵۸۷.

۲- قائم مقامی، شمس‌الدین، اولیایی، محمد مهدی، نیرومند، حجت‌الله، فیروزی، محمود و بخشش، مهران ۱۳۷۸؛ مطالعه سرولوژیک لکوز آنزوتوتیک گاو در استان مرکزی، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره (۱) ۱۳، ۵۴-۱۱.

نژادهای دیگر آلوده بودند و علت آن را احتمالاً حساسیت ژنتیکی و یا اختلاف در مدیریت گله عنوان نمودند [۱۱]. هر چند که در مطالعه Uysal ارتباط معنی‌داری بین سن، نژاد و جنس با آلودگی مشاهده نشد [۲۵].

بین گاوداری‌های صنعتی و سنتی ممکن است از نظر میزان وقوع آلودگی متفاوت باشد. در مطالعه قائم مقامی و همکاران در دامداری‌های صنعتی نسبت به سایر دامداری‌ها آلودگی بیشتر بوده است [۲] و در بررسی حاضر دام‌های آلوده همه از نوع دامداری‌های صنعتی بودند. هر چند که نوع مدیریت در انتشار آلودگی نقش به‌سزایی دارد [۲۵، ۸] ولی آنچه که حائز اهمیت است حضور ویروس می‌باشد که در صورت موجود بودن و فراهم بودن شرایط انتقال، از گاو به گاو دیگر انتقال می‌یابد. عامل بعدی تعداد دام‌های موجود در گله می‌باشد که هر چه بیشتر باشد و در صورت حضور ویروس فراوانی آلودگی بیشتر خواهد بود [۲۰].

بین مناطق مختلف یک کشور ممکن است تفاوت‌هایی از نظر میزان آلودگی وجود داشته باشد که به عوامل مختلفی مانند مدیریت نسبت می‌دهند [۲۵، ۸]. در منطقه‌ای که گاوهای آلوده به خصوص شکل مبتلا به لمفوسیتوز با دوام حضور داشته باشند باعث افزایش آلودگی می‌شوند زیرا علاوه بر راههای دیگر انتقال، پشه‌ها نیز باعث انتقال بیشتر آلودگی می‌شوند و در حضور گاوهای مبتلا به لمفوسیتوز با دوام تعداد لمفوسیت‌های آلوده بیشتری در خون هستند چون عفونت زایی بیشتری دارند در نتیجه باعث انتقال بیشتر و بهتر آلودگی می‌شوند [۷] در بررسی Azuba و همکاران میزان آلودگی در شرق و شمال شرق اوگاندا ۳۰ درصد و در نواحی مرکزی و جنوبی ۱۳ درصد گزارش شد و علت احتمالی این اختلاف چراگاه‌های کم و در نتیجه تماس بیشتر و نزدیک‌تر گاوها و همچنین وجود تعداد بیشتری پشه‌های تسه‌تسه و حشرات گزنده در مناطق شرق و شمال شرق بیان شده است [۷]. از طرف دیگر اعمالی مانند خون‌گیری، آزمایش توبرکولین و واکسیناسیون بودن تغییر سر سوزن، شاخ‌بری دام‌های مختلف با وسایل مشترک، توش رکتال و



- 11- Burrige, M, J., Puhr, D.M. and Hennemann. J.M. 1980; Epidemiological study of Bovine Leukosis Virus infection in Florida. Fourth international symposium on Bovine Leukosis. Current topics in Veterinary Medicine and Animal Science. Vol 15 pp: 373-383.
- 12- Feldman B.V. Zinkl J.G. and Jain, N.C. 2000; Schalm, s Veterinary Hematology. 5th ed. Philadelphia, USA:614-619.
- 13- Gottschau, A., Willeberg, P., Franti, CE. and Flensburg, JC. 1990; The effect of a control program for enzootic bovine leukosis changes in herd prevalence in Denmark 1969-1978; American Journal of Epidemiology. Abst. 131(2):356-364.
- 14- Howard, J.L. and Smith, RA. 1999, Current veterinary therapy food animal practice. 4th ed. Philadelphia, USA:296-299.
- 15- Islas, LA., Lopez, M.J. and Aguilar, M.F. 1992; Diagnosis of enzootic bovine leucosis by agar gel immunodiffusion and ELISA. Agro Ciencia. Abst.20(1)27-31.
- 16- Jacobson, KL., Kaneene, JB., Miller, JM. And Bull, RW. 1985; Comparison of the commercial agar-gel immunodiffusion test and radioimmunoprecipitation assay for detection of antibodies to bovine leukemia Virus. American Journal of Veterinary Research. 46(7):1430-1433.
- 17- Kahras, R.F. 2001, Viral diseases of cattle. 2nd ed. Iowa State University press, USA:103-112.
- 18- Klintevall, K., Berg, A., Svedlund, G., Ballagi-Pordani, A. and Belak, S. 1993, Differentiation between enzootic and sporadic bovine leukosis by use of serological and virological methods. Veterinary Record. 133:272.
- 19- Murphy, F.A., Paul, E., Gibbs. J., Harzinek, M.C. and Studdert, M.J. 1999; Veterinary virology. 3rd ed. Academic Press. New York, USA. 364-373, 382-383.
- 20- Radostits, O.M., Gay, C.C. Blood, D.C. and Hinchcliff, K.W. 2000; Veterinary medicine, 9th ed. W.B. Saunders Company, London, UK. 1047-1058.
- ۳- کارگر، روحانی، اهورایی، پرویز، قابوسی، بهروز، خدمتی، کمال الدین، عزیزی، عباس، پورزاهدی، رامین و سرمست رضاه ۱۳۷۵؛ بررسی سرواپیدمیولوژی بیماری لکوز آنژیوتیک گاو (EBL) در ایران. پژوهش و سازندگی، شماره ۳۰، ۱۶۶-۱۶۴.
- ۴- کیوان فر، هادی، همت زاده، فرهید و محمودیان، علیرضا ۱۳۸۰؛ ویروس شناسی دامپزشکی (بیولوژی ویروس ها)، تألیف فنر، گیبس، مورفی، روت، استادرت و وایت، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۲۳۸-۲۲۴.
- ۵- ممتاز، حسن و همت زاده فرید ۱۳۸۲؛ بررسی سرولوژیک آلودگی با ویروس لکوز گاوها (BLV) در گاوداری های استان چهارمحال و بختیاری مجله تحقیقات دامپزشکی ایران. دوره چهارم، شماره اول ۴۴-۳۷
- 6- Angelino, D., Gacia, J.L. and Birgel, M. 1998; Epidemiological study of enzootic bovine leucosis in Brazil. Tropical Animal Health and Production. Abst. 30 (1): 13-15.
- 7- Azuba, R.B., Zieger, U. and Schmidt, F.W. 1994; A prevalence study of bovine leukemia virus infection in slaughtered cattle in selected areas in Uganda. Bulletin Animal Production African. 42:13-17.7
- 8- Batmaz, H., Carli, k. T., Kahraman, M., cetin, C. and Kennerman, E. 1995; Serological and hematological diagnosis of enzootic bovine leucosis in cattle in Turkey. Veterinary Record 136(27): 42-44.
- 9- Boom R., C. J. A. SOL, M. M. M. Salimans, C. L. Jansen, P. M. E. Wertheim-Van Dillen, and J. Van Der Moordea. 1989. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. Journal of Clinical Microbiology. 28(3): 495-503.
- 10- Brenner, J., Meiom, R., Avraham, R., Trainin, Z. 2000; Bovine leukemia virus seroprevalence in large Israeli dairy herds. Israeli Journal of Veterinary Medicine. 57(2): 107-113.



21- Shaikhayev, G. O., Myakishev, M. V., Kapanadze, G. I., Georgivev, G. P. and Beritashvili, D. R. 1995. Extraction of DNA from the whole blood by silica gel. Institute of gene biology, Moscow, Russia.

22-Schoepf,K.C.Kapaga,A.M.,Msami,H.M. and Hyera,J.M.K.1997;Serological evidence of the occurrence of enzootic bovine leukosis(EBL) virus infection in cattle in Tanzania. Tropical Animal Health and Production.29(1):15-19.

23- Smith, B.P.2002; Larg animal internal medicine. 3rd ed. Mosby Company, Missouri, USA:1067-1072.

24- Udina, I. G., Karamysheva, E. E., Turkova, S. O., Orlova, A. R. and Sulimova, G. E. 2003. Gentic mechanisms of resistance and susceptibility to leukemia in ayrshire and black paid cattle breeds determined by allelic distribution of gene BoLA-DRB3. Russian Journal of Genetics. 39: 383-396

25- Uysal, A., Yilmaz., H., Bilal, T., Berriatua, E., Bakirel, U., Arslan, M.,Zerin, M. and Tan, H.1998; Seroprevalenc of enzootic bovine leukosis in Trakya district (Marmara region) in Turkey. Preventive Veterinary Medicine.37:121-128.

26-Zanotti, M., Poli, G., Ponti, W., Polli, M., Rocchi, M., Bolzani, E., Longeri, M., Russo, S., Lewin, H. A. and Van Eijk, M. J. 1996. Association of BoLA classII haplotypes with subclinical progression of bovine leukaemia viruse infection in holstein-friesian cattle. J. Animal Genetics. 27: 337-341

