

**ANKARA BÖLGESİ KÜMES HAYVANLARINDA
Infectious Bronchitis (İB), Infectious Laryngotracheitis
(İLT), Infectious Bursal Disease (İBD), Egg-Drop-
Syndrom-76 (EDS-76), Avian Encephalomyelitis (AE)
ve Adenovirus Enfeksiyonlarının Epizootiolojik
Araştırılması ve İzolasyon Çalışmaları**

Yavuz SAYIM

Ayten AKMAN

Hamdi GİRGİN

G İ R İ Ş

1980 yılına kadar, bir merkezde tesbit edilen sporadik İnf. Laryngotracheitis (Lit. 8) vak'ası dışında araştırma kapsamına giren viral hastalıklardan hiçbirisinin Ülkemiz kanatlılarında mevcut olduğunu belirten bir rapor veya şikayete rastlamıyoruz.

O tarihlerde dünya kümes hayvanlarını etkilediği bilinen bu hastalıkların ithal edilen damızlık civciv, yumurta ve canlı tavuk aşıları ile her an Ülkemize sıçrayabileceği ve yeni gelişmekte olan tavukculuk sektörümüzde büyük ekonomik kayıplar meydana getirebileceği dikkate alınarak bu hastalıkların tanı metodlarının laboratuvarlarımızın rutin çalışmaları içine alınması gerekiyordu.

Nitekim 1981 yılında Ülkemizde görülmeye başlayan EDS-76 hastalığı, teşhis yöntemlerine yabancı olduğumuzdan, kısa zamanda teşhis edilememiş ve büyük ekonomik kayıplara neden olmuştur.

Bu araştırma sonunda, bir taraftan konu edilen viral hastalıkların teşhisi laboratuvarlarımızda yapılabilir hale gelirken aynı zamanda Ülkemizdeki epizootiolojik durumları aydınlığa kavuşmuş-

tur. Böylece bu hastalıklarla mücadele programlarının hazırlanmasında ilgililere ışık tutulmuştur.

M A T E R Y A L V E M E T O D

MATERYAL

Araştırmada kullanılan hasta ve ölü tavuk, tavuk marazi madesi ile tavuk kan serumları, laboratuvarımıza muayene ve newcastle bağışıklığının kontrolü için getirilen örneklerden seçilmiştir.

METOD

Araştırmada sırası ile aşağıdaki teşhis metodları kullanılmıştır.

- 1 — Klinik muayene
- 2 — Otopsi muayenesi
- 3 — Histopatolojik muayene
- 4 — Serolojik muayene
- 5 — Etken izolasyonu

1 — Klinik Muayene :

Bu viral hastalıklara ait klinik bulgular patogonik olmakla beraber yine de bir seri klinik belirtiler meydana getirirler. Muayene edilen materyaller araştırma kapsamındaki viral hastalıklar yönünden dikkatlice incelenmiş ve şüphe edilenler diğer muayenelere tabi tutulmuştur.

2 — Otopsi Muayenesi :

Bu hastalıkların meydana getirdiği makro-patolojik bulgular da patogonik değildir, ancak şüphe ettirebilecek değişimler meydana getirirler.

3 — Histopatolojik Muayene :

Laboratuvarımızda muayene edilen materyalde bu hastalıklardan herhangi birinden şüphe edildiğinde, şüphelenilen hastalığa göre seçilen organlar tetkik için histopatoloji laboratuvarına gön-

derildi. Hastalık türüne göre histopatolojik yönden tetkik edilen organlar:

- İB...de : Trachea, böbrek, akciğer ve oviduct.
İLT : Trachea (farinks ve farinks ile birlikte)
İBD : Bursa fabrisius, böbrek.
AE : Beyin, beyincik, duodenum, pankreas.
EDS-76 : Karaciğer, oviduct, böbrek, duodenum, akciğer ve paraliz durumlarında beyin.

Adenoviral Hastalıklarda : Bütün iç organlar.

4 — Serolojik Muayeneler :

a — Agar-jel-diffuzyon test'i : (AGDT)

İB-İLT-İBD-AE ve Adenovirus enfeksiyonlarının serolojik yoklamasında kullanılmıştır.

b — Hemagglutinasyon-İnhibisyon test'i (HI) :
EDS-76 serolojisinde.

a — Agar-jel-Diffuzyon Test'i : (AGDT)

A — Agar'ın Hazırlanması :

Nobl Agar ... : 6.25 gr.

% 8.0 lik tuzlu su ... : 495 ml.

pH. : 7.5

Agar tuzlu su içinde açık otoklav veya benmaride eritilir, süzülür ve pH.'sı 7.2 ayarlandıktan sonra +4°C'de muhafaza edilir. Kullanılacağı zaman 121°C'de 20 dakika siterlize edilip tekrar pH kontrol edildikten sonra (pH. : 7.2 olmalı) Ø : 9 cm.lik petrilere 15-20 ml. tevzi edilir. (Agar kalınlığı 2.5-3 mm. olmalıdır.)

Agar dökülmüş petrilere kullanılmadan önce 24 saat süre ile buzdolabında tutulur. Bu presipitan bantların oluşması bakımından önemlidir.

Kullanılacak agar plağı üzerinde Şekil 1.'de görüldüğü gibi 5 mm. çapında çukurlar açılır. Çukurların birbirleri arasındaki açıklık 4-5 mm. olmalı ve çukurların tabanı 1'er damla agarla kapatılmalıdır.

Test'in Yapılışı :

Yine Şekil 1'e uygun olarak hazırlanmış bir şablon üzerine konan petride başlangıç noktası işaretlenir. 1 ve 2 nolu çukurlar pozitif ve negatif kontrol serumları ile; 3-30 nolu çukurlar test edilecek serumlarla ve ortadaki çukurlar spesifik antijenle doldurularak kapağı kapantılan petri, oda sıcaklığında ve rutubetli bir ortamda, presipitan bantların oluşması için iki gün bekletilir.

Test Sonucunun Okunması :

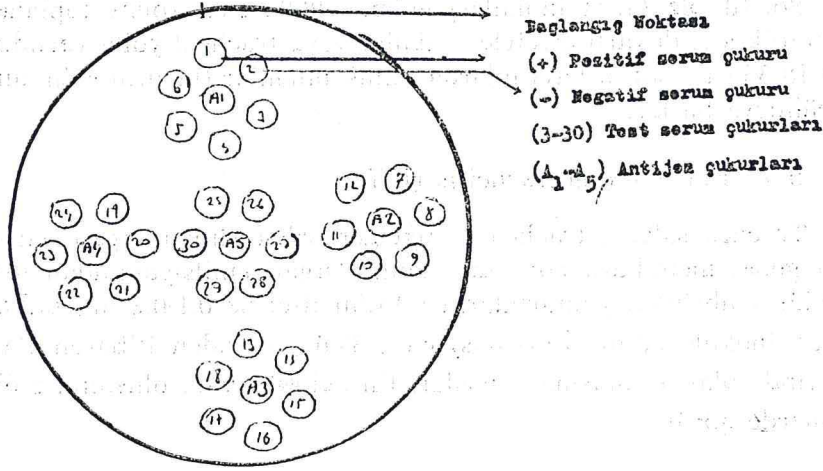
Reaktörlerin yüzde nisbetlerini belirlemek için yapılan bu serolojik test'te pozitif olaylarda antijen ile antikor taşıyan (serum) çukur arasında test'in yapıldığından 12-24 saat sonra spesifik presipitan çizgisi oluşur. Yalnız bazı virus nev'ilerinde (İBD ve İLT gibi) presipitan çizgisi 2.ci günde ortaya çıkabilir. Antijen konsantre olduğunda presipitan çizgi seruma doğru; presipite edici antikor fazla ise presipitan çizgi antijene yakın teşekkül eder. Test sonuçları 24-48 nci saatte okunur ve değerlendirilir.

Test edilecek serumlar enfeksiyonun görülmesinden 18-20 gün sonra alınmalı ve gerektiğinde 15-20 gün aralarla tekrarlanmalıdır. Gerek reaktör taraması gerekse rutin muayeneler için alınan serumlar test'e tabi tutuluncaya kadar -20°C 'de muhafaza edilir.

B — Hemagglutinasyon-Inhibisyon (HI) test'i :

Test'e tabi tutulacak serumlar $+56^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika inaktive edilir. Test aynen «Newcastle HI test'i» gibi yapılır ve okunur. Antijen ve serum dilusyonları tercihan fosfat bafır (PBS) solusyonu ile yapılır. HI test'inde 4 HA ünitesi antijen ve % 0.8'lik eritrosit süspansiyonu kullanılır.

ŞEKİL 1 : Test petrisinin hazırlama ve doldurma şeması.



5 — İzolasyon Çalışmaları :

a — Enfeksiyöz Bronchitis (İB) izolasyonu :

İlk izolasyon için akciğer ve trachea'dan yapılmış organ emil-siyonundan; enfeksiyonun başlangıcında ise tracheal swab'dan yararlanılır. Bazı araştırmacılar nefrozisin görüldüğü vak'alarda, bazı-ları ise her vak'ada böbrek emil-siyonunun akciğer ve trachea emil-siyonu kadar başarılı sonuç verdiğini ifade etmektedirler.

Dokular mümkün olduğu kadar aseptik şartlarda alınır, ha-vanda siteril kum veya cam tozu ile iyice öğütülür ve PBS ile % 1 lik emil-siyon yapılır. Emil-siyon 1000 r.p.m. devirde 10 dakika santrifüj edilerek üstteki süpernetant sıvı alınır. Bunun üzerine 1000 ÜN. penisillin ve 1 mgr. streptomycin/1 ml. konur ve oda de-recesinde 30 dakika bekletildikten sonra 9-12 günlük embriyolu yumurtaların choric-allantoik boşluğuna 0.1 ml. miktarında inokule edilir. İnokulasyondan sonra 7 gün içinde embriyolarda ölüm, ha-reket yavaşlığı, küçülme, kanamalar ve böbreklerde nefrozis görü-lür. İlk pasajlarda bu bulgular görülmezse 48-72 saat içinde 1-2 embriyolu yumurta açılarak allantoik sıvısı toplanır ve tekrar, 0.1 ml. miktarında, embriyolu yumurtalara inokule edilir. Bu şe-

kilde 3 tercihan 5 pasaj yapılarak virusun embriyoda yaptığı olumsuzluklar izlenir.

Pozitif olgularda inokulasyondan 48-96 saat sonra toplanan allantoik sıvı duyarlı civcivlere okular veya tracheal yolla verildikten 18-36 saat sonra hayvanlarda klinik bulgular (hırıltılı solunum) görülmeye başlar.

b — Enf. Laryngotracheitis (İLT) :

Trachea salgısı, trachea ve akciğerlerden alınan organ parçaları genel metodlara göre hazırlanır. Organ emülsiyonundan 9-12 günlük embriyolu yumurtaların CAM'ını üzerine 0.1-0.2 ml. miktarında inokule edilir. İnokulasyonun 3'cü gününden itibaren CAM üzerinde plaklar oluşmaya başlar. En belirgin plak oluşumu 5-6'cı günlerde görülür.

c — Enf. Bursal Hastalığı (İBD) :

Hastalığın erken dönemlerinde yaklaşık 2-3 pilicin bursa fabrisiusları aseptik şartlarda çıkarılarak genel metodlara göre organ emülsiyonu hazırlanır. Hazırlanan emülsiyon 2000 rpm'de santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernetant sıvıdan 0.1 ml. miktarında 9-11 günlük embriyolu yumurtaların korioallantoik boşluğuna inokule edilir. İnokulasyonun 4-6'cı günlerinde embriyolarda ölüm, küçülme ve peteşiyal kanamalar görülür.

Şüpheli materyal 2-3 haftalık duyarlı civcivin gözüne damlatılarak enfekte edilir. İnokulasyonun 3'cü gününden itibaren klinik tablo görülmeye başlar. Enfekte piliçlerin otopsisinde bursa fabrisiuslarda konjessiyon, pilikalarında kanamalar ve müköit bir içerik, bacak ve göğüs adelerinde kanamalar görülebilir. İnokule edilmemiş kontrol piliçlerin bursa fabrisiusları enfekte edilenlerinki ile karşılaştırılarak aradaki fark gözlelenebilir.

d — Chicken Embriyo Lethal Orfan Virus (CELO) :

Adenovirus enfeksiyonları sistematiktir, birçok organdan virus izole edilebilir. Yanlız İnklusion-body-hepatitis (İB) enfeksiyonu-

nun erken dönemlerinde karaciğer ve bursa-fabrius'ta yüksek konsantrasyonda virus bulunmaktadır.

İB'de olduğu gibi genel metodlara göre hazırlanan organ emülsiyonundan 6 günlük embriyolu yumurtaların yumurta sarısına 0.1-0.2 ml. miktarında inokule edilir. İnokulasyondan 2-10 gün sonra embriyoda ölüm ve gelişim geriliği görülür. Bazılarında ise (Celo) 9-11 günlük embriyonun korio-allantoik boşluğuna inokule edildiğinde, inokulasyondan 4-5 gün sonra embriyoda ölüm ve kanamalar görülür. Diğer bazı adenovirüsler ise CAM üzerine verildiğinde plaklar oluştururlar.

e — Avian Encephalomyelitis (AE, Epidemik tremor) :

Şüpheli materyalden, genel metodlara göre hazırlanan beyin emülsiyonu SPF vasıflı 6 günlük 24 adet embriyolu yumurtanın yumurta sarısına 0.2-0.5 ml. miktarında inokule edilir. İnokulasyonun 21'ci gününde yumurtalardan 12'si açılarak kontrol edilir. Pozitif olaylarda embriyolarda hareketsizlik, küçülme, adelelerde atrofi ve bazende ölüm görülür. Şayet bunlarda herhangi bir lezyon görülmezse diğer 12 embriyodan civciv çıkışı beklenir. Civcivler 10 gün gözlem altında tutularak AE enfeksiyonuna ait klinik bir belirti gösterip göstermedikleri kontrol edilir. Hastalığın tipik klinik belirtisini gösteren civcivlerin beyin, ön mide ve pankreasları histopatolojik yöntemle incelenerek hastalığa özgü lezyonlar aranır.

f — Egg-drop Sendrom-76 (EDS-76) :

Hastalıktan şüpheli hayvanlardan alınan ovarium, ovidukt ve sekal lenf parçalarından genel metodlara göre hazırlanan organ emülsiyonları ördek veya tavuk civcivi böbrek hücre kültürüne inokule edilerek oluşturacağı sitopatik efektler izlenir. İlk kültürlerde sitopatik efektler görülmezse birkaç pasaj yapılır. Pozitif veya şüpheli olgularda doku kültürünün santrifüjü sonu elde edilen süpernatant sıvı ile HA test'i yapılarak virusun varlığı saptanır.

B U L G U L A R

Araştırma süreci içinde 3151 çiftlikten muayene için laboratuvarımıza getirilen 6000'den fazla kanatlı hayvan materyali (hasta

ve ölü tavuk, piliç ve civciv) konu kapsamına giren hastalıklar yönünden muayene edilmiş ve sonuçta :

- a — 131 Çiftlikte (İBD) Enfeksiyöz bursal hastalığı,
 - b — 19 Çiftlikte (EDS-76) Egg Drop Sendrome,
 - c — 1 Çiftlikte (İB) Enfeksiyöz bronşitis,
 - d — 2 Çiftlikte (Adenovirus) Cartilago Disease saptanmıştır.
- Tablo 1.

3151 çiftlikten hiçbirinde klinik ve otopsi bulgularına göre İLT ve AE enfeksiyonlarından şüpheli bir olguya rastlanmamıştır.

Klinik ve otopsi bulgularına göre enfeksiyondan şüphe edilen bu olgularda diğer teşhis yöntemleri (Histopatoloji, seroloji ve virus izolasyonu) uygulanarak kesin teşhise gidilmiştir.

İzolasyon çalışmalarında, imkânlarımızın yetersizliği nedeni ile sadece İBD'de başarı sağlanmıştır. 131 çiftlikte tesbit edilen İBD olgularının 12'sinden virus izolasyonu yapılmıştır. Bunlardan 2'sinde ise elde edilen virus sıvısı hassas piliçlere verilerek deneysel İBD oluşturulmuş ve deneme piliçlerinin toplanan bursa fabrisiusları antijen üretiminde kullanılmıştır.

Klinik ve serolojik metodlarla saptanan EDS-76 olgularında da izolasyon çalışması yapılmış ancak başarı sağlanamamıştır.

İB ve Adenovirus olgularında ise klinik, otopsi, serolojik ve histopatolojik teşhis yöntemleri uygulanmıştır.

Epizootiolojik taramalarda ise newcastle bağışıklığının kontrolü için laboratuvarımıza getirilen tavuk kan serumları ve hastalıktan şüpheli vak'alarda mahallinden alınan kan serumları araştırma kapsamına giren İBD, İB, İLT, EDS-76 ve Adenovirus yönünden serolojik muayeneye tabi tutulmuştur. Bu gaye ile 107 çiftlikten 1200 adet kan serumu test edilmiştir. Tablo: 2.

AE antijenimiz olmadığından serumlar bu enfeksiyon yönünden değerlendirilememiştir.

TABLO : 1 Muayene Sonuçları.

Hastalık adı	Muayene edilen çiftlik sayısı	Alınan Sonuç			Kullanılan Teşhis Yöntemleri			
		Pozitif	Şüpheli	Negatif	Klinik otopsi	Seroloji	Hist. Pat.	İzolas-yon
İBD	3151	131	—	3020	+	+	+	+
İB	3151	1	—	3150	+	+	—	—
İLT	3151	—	—	3151	+	+	—	—
Adenovirus	3151	2	—	3149	+	+	+	—
EDS-76	3151	19	—	3132	+	+	—	+
AE	3151	—	4	3151	+	—	+	—

TABLO : 2 Serolojik Muayene Sonuçları.

Hastalık adı	Çiftlik Sayısı	Alınan Sonuç			Pozitif % oranı	Serolojik yöntem
		Pozitif	Şüpheli	Negatif		
İBD	107	68	—	39	% 63.5	AGPT
İB	107	2	—	105	% 1.8	AGPT
İLT	107	—	—	107	% 0.0	AGPT
CELO	107	9	—	98	% 8.4	AGPT
EDS-76	107	19	—	88	% 17.7	Hİ
AE	—	—	—	—	—	AGPT

TARTIŞMA

Araştırmada işlenen materyal Ankara, Bolu, Çorum, Kayseri, Afyon, Çankırı Samsun, Antalya ve Erzincan illerinden gelmiştir. Pozitif olguların illere göre dağılımında, kaynak sayısı dikkate alındığında farklılık görülmemiştir.

İBD ve EDS-76 olguları 1983 yılında görülmeye başlamış ve hızla yayılmıştır. Halen İBD'ye karşı aşı uygulaması yapılmaktadır. Fakat bu konuda düzenli bir mücadele program olmadığından hastalık önemini korumaktadır. EDS-76 ise yayılma yolunun vertikal oluşu ve disiplinli aşı uygulamasının yapılması nedeni ile olgu sayısı bölgemizde çok azalmış ve son altı aydır görülmemektedir.

İLT hastalığının bölgemizde varlığı 1977 yılında rapor edilmiş olmasına (Lt. 8) karşılık araştırmamızda bu hastalık yönünden şüpheli veya pozitif bir olguya rastlamadık. İB hastalığının bir olguya sınırlı kalmasına rağmen gelecekte bölgemiz için tehlike yaratabileceği ve bu nedenle şimdiden tedbir alınmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

Araştırmada karşılaştığımız problemler :

a — Standart test antijen ve serumlarının olmayışı,

b — Yeteri miktarda SPF kalitede döllü yumurta bulma imkanımızın olmaması,

c — Teşhis laboratuvarlarımızın bünyesinde doku kültürü çalışmalarının yapılmaması karşılaştığımız problemler olarak sıralanabilir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırma sonuçlarına göre Bölgemizdeki kümes hayvanlarında İBD, İB, EDS-76, ve Adenovirus enfeksiyonları görülmektedir. EDS-76 ve İBD enfeksiyonları 1983-1984 yıllarında hızla yayılmaya başlamış ve aşı uygulamasına geçildikten sonra insidensleri azalmıştır. İB olgusuna bölgemizde fazla rastlamamış olmamıza rağmen bu enfeksiyonunda gelecekte bölgemizi büyük oranda etkileyeceği söylenemez.

Bu sonuçlara göre adı geçen viral hastalıklar ve gelecekte Ülkemize sıçraması muhtemel diğer viral hastalıklar ile etkin bir mücadele verebilmek ve tahribatlarını azaltabilmek için bu hastalıklara karşı etkin aşılarda Ülkemizde de üretimine başlanması ve mücadele programlarının belirlenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Ayrıca tavuk hastalıkları teşhis laboratuvarımızın kesin ve erken teşhis yapabilir donanıma kavuşturulması gerektiği inancındayız.

Ö Z E T

Araştırmada Ankara bölgesi kümes hayvanlarında İB, İBD, İLT, EDS-76, AE ve Adenovirus enfeksiyonlarının epizootiolojik durumu incelenmiştir.

Çalışma süresi içinde 3151 çiftlikten 6000 adet kanatlı hayvan adı geçen hastalıklar yönünden muayene edilmiş ve sonuçta 131 çiftlikte İBD; 19 çiftlikte EDS-76; 1 çiftlikte İB; ve 2 çiftlikte adenovirus enfeksiyonu tesbit edilmiştir. AE ve İLT enfeksiyonlarına rastlanmamıştır.

Epizootiolojik taramalarda 107 çiftlikten alınan 1200 adet kan serumu serolojik muayeneye tabi tutulmuş ve sonuçta 68 çiftlikte İBD; 2 çiftlikte İB; 19 çiftlikte EDS-76 ve 9 çiftlikte adenovirus enfeksiyonu pozitif bulunmuştur.

S U M M A R Y

The epizootiological situation of the İB, İBD, İLT, EDS-76, AE and Adenovirus infection in chickens of Ankara Regions were examined.

During the research period a total of 6000 chickens from 3151 farms were examined for diseases mentioned above and consequently İBD infection was found in 131 farms; EDS-76 was found 19 farms; İB was found in 1 farm and adenovirus infection was found in 2 farms. AE and İLT infections couldn't be observed.

In the epizootical surveys 1200 blood samples from 107 farms were examined serologically and as a result İBD infection in 68 farms, İB infection in 2 farms, EDS-76 in 19 farms and Adenovirus infection in 9 farms were found positively.

LİTERATÜR

- 1 — ADAIR, B.M., McFERRAN, J.B., CONNOR, T.J., McNULTY M.S. and McKILLOP, E.R. (1972) : Biological and physical properties of a virus (strain 127) associated with the egg drop sendrome 1976. Avian pathology 8: 249-264.
- 2 — CALNEK, B.W. (1978) : Haemagglutination-Inhibition Antibodies against and adeno-virus (Virus 127) in white Pekin Duck in the United States. Avian diseases, vol. 2, no: 4.
- 3 — Central Veterinary Weybridge, New, Haw, Surrey and Evans Medical, England'tan 1976. Laboratuvar notları.
- 4 — PARAGHER, J.T., ALLAN, W.H. and CULLEN, G.A. (1972) : Immuno suppressive effect of the Infectious bursal agent in the chicken. Nature New Biology 237, 118-119.
- 5 — FERRAN, J.B., R.M., McCRAIKEN, R.M., EILEEN R., McKILLOP, McNULTY. M.S., and COLLINS, D.S. (1978) : Studies on a depressed egg production syndrome in Northern Ireland. Avian Pathology 7, 35-47.
- 6 — FERRAN, J.B., ROWLEY M.HELEN., McNULTY, M.S., and LINDO J. MONTGOMERY. (1977) : Serological studies on the flocks showing depressed egg production. Avian Pathology. 6: 405-413.
- 7 — FUHR, R., SİPAHİOĞLU, A., ERGÜN, A., YALÇIN, Ş. (1976) : Önemli ve bulaşıcı olan bazı tavuk hastalıklarının teşhisinde Agar-gel presipitasyon testinin uygulanması. Etlik Vet. Bakteriyoloji Enst. Dergisi Cilt: 4, Sayı: 5-10.
- 8 — MİNBAŞ, A., ERGÜN, A., CAN, S. (1977) : Ankara'da bir tavukçuluk işletmesinde görülen İLT üzerinde araştırmalar.
- 9 — SİPAHİOĞLU, A., GİRGIN, H., ERGÜN, A., FUHR, R. (1978) : Tavukların marek ve leucosis hastalıklarının araştırılması ve marek hastalığına karşı etkin bir aşı hazırlama. Etlik Vet. Mikrobiyoloji Enst. Cilt: 4, Sayı: 11-12.
- 10 — WOERNLS, H. (1972) : Agar-gel diffusion technigue saatl. Tierärztliches untersuchungsamt stuttgart.
- 11 — WOERNLE, H. (1972) : Agar-gel presipitasyon test. Resmi Veteriner muayene dairesi Azenbergstrasse 16.700 Stuttgart. 1.
- 12 — VAN ECK, J.H.N., DEVELAER, F.G., THEA, A.M., VON DEN HEUVEL PLESMAN, NELVAN KOL, KOUWNHOVEN, B., and GULDIE, F.H.M. (1976) : Dropped egg production soft shelled and shellless eggs associated with appearance of presipitin to adenovirus in flocks of laying fowls. Avian Pathology 5: 261-272.