

Evcil ve yabani kanatlılardan izole edilen Newcastle Hastalığı viruslarının patotiplendirilmesi

Asiye DAKMAN¹, Metin GÜLEÇ¹, Elçin GÜNAYDIN¹, Mustafa COŞAR¹

¹Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarı, Ankara-Türkiye

Özet: Kanatlı sektöründe önemli ekonomik kayıplara neden olan Newcastle hastalığının (ND) klinik seyri virusun patojenitesi ile doğrudan ilgilidir. Velojenik suşlar önemli klinik bulgular ve yüksek mortaliteye sebep olurken, mezojenik ve lentojenik suşların meydana getirdiği hastalık nispeten daha hafif seyirli olmaktadır. Ayrıca virusun patojenitesini belirlemek epidemiyolojik açıdan da büyük önem arz etmektedir. Bu çalışmada 2007 yılında Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde izole ve identifiye edilen toplam 39 adet ND virusunun patojenitesi belirlendi. Virus izolasyon ve identifikasyonunda RT-PCR, Spesifik patojen free (SPF) embriyolu tavuk yumurtasına ekim, Hemaglutinasyon inhibisyon (HI) testi uygulandı. ND virusunun patotiplendirilmesinde Intracerebral Pathogenicity Index (ICPI) yöntemi kullanıldı.

Köy tavuklarından izole edilen 28 ND virusunun tamamı velojenik olarak belirlendi. Evcil güvercinlerden izole edilen 4 adet ND virusunun 3'ünün mesojenik, 1'inin lentojenik olduğu tespit edildi. Yabani güvercinlerden izole edilen 5 adet NDV suşunun 2'sinin velojenik, 3'ünün ise mezojenik, yabani kumrularından izole edilen 2 adet ND virusunun ise mezojenik olduğu tespit edildi. Yabani güvercinlerden velojenik suşların izole edilmesi ülkemizde virusun sirkülasyonunda yabani kuşların önemine dikkat çekmektedir.

Anahtar sözcükler: Newcastle Disease Virus, evcil kanatlı, yabani kuş, patotiplendirme.

Pathotyping of the Newcastle Disease virus strains isolated from the domestic and wild birds

Summary: The clinical symptoms of the Newcastle disease (ND) that cause considerable losses in poultry sector are directly related to the pathogenicity of the virus. When the velogenic strains cause severe clinical findings and higher mortality, disease caused by mesogenic and the lentogenic strains is relatively in a moderate mode. Also, determination of the pathogenicity of the virus represents a great importance for the epidemiological meaning. In this study the pathogenicity of the 39 ND viruses isolated and identified in Etlik Central Veterinary Control and Research Institute in 2007 was determined. For the isolation and identification of the virus, reverse transcription- polymerase chain reaction (RT-PCR), inoculation of the samples into the Specific Pathogen Free (SPF) embryonated eggs, and haemagglutination inhibition (HI) test were performed. The Intracerebral Pathogenicity Index (ICPI) test were used for the pathotyping of the ND viruses.

All of the 28 ND viruses isolated from the backyard poultry were determined as velogenic. Three of the four ND viruses isolated from the domestic pigeons were found be mesogenic, and the remaining one was lentogenic. Two of the five ND strains isolated from the wild pigeons were determined as velogenic, and three of the five were determined as mesogenic. The virus isolated from the two doves was found to be mesogenic. The isolation of the velogenic strains from the wild pigeons shows the importance of the wild birds for the circulation of the ND viruses in Turkey.

Key words: Newcastle Disease Virus, Poultry, Wild Bird, pathotypical characterization

Giriş

Paramyxoviridae familyasının *Avulavirus* genusunda yer alan *Avian Paramyxoviruslar* (PMV) 1-9'a alt gruba ayrılmıştır. Newcastle hastalığı (ND) *Avian PMV-1* tarafından oluşturulan çok bulaşıcı ve öldürücü seyreden, kanatlılarda solunum sindirim ve sinir sistemi bozuklukları ile karakterize viral bir hastalıktır. İlk kez 1926 yılında tanımlanan ND günümüzde tüm dünyada yaygın olarak görülmekte ve önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır

(ALEXANDER, 2003; ANONİM, 2008). Türkiye'de ilk ND salgınının 1946 yılında tanımlanmasından sonra hastalık günümüzde de varlığını sürdürmektedir (ÇÖVEN ve ÇARLI, 1997; ÇÖVEN ve ark., 2004; ÖZDEMİR, 1992).

Newcastle hastalığından korunmada canlı ve inaktif aşılardan beri kullanılmaktadır (ALEXANDER, 2003; Jordan, 1996). Ülkemizde de ND aşılı hastalıklardan korunmada etkin bir şekilde uygulanmaktadır. Ancak hastalığın çevrede dağı-

lımı, maternal antikör düzeyi, hayvanların yetiştirme yönü, aşılama zamanı, aşılama yöntemi, seçilen aşı suşu gibi faktörler bağışıklık düzeyini ve etkinliğini doğrudan etkilemektedir (AKAN ve ark., 1999).

Hastalığa tavuklar başta olmak üzere aralarında güvercin ve kumruların da bulunduğu 250'nin üzerinde kuş türünün duyarlı olduğu saptanmıştır (JORDAN, 1996; ALDOUS ve ALEXANDER, 2001). Hastalık tavuklarda olduğu gibi güvercinlerde de oldukça akut seyretmektedir. Güvercinlerde görülen vakaların çoğunun tavuklarda şekillenen ND salgınları sırasında güvercinlerin infekte tavuklarla teması sonucu gerçekleştiği saptanmıştır (ANONİM, 1986). Gerek dünyada (ALDOUS ve ark., 2004; MEULEMANS ve ark., 2002) gerekse ülkemizde ND hastalığının güvercinlerdeki durumunu araştıran yayınlar mevcuttur (ÖNCEL ve ark., 1997; ÇÖVEN ve ark., 1999; MUTLU, 1997).

Newcastle virusları infekte hayvanlarda hastalığın klinik seyrine göre 5 gruba ayrılmaktadırlar (ALEXANDER, 2003).

1. *Visserotropik velojenik*: Hemorajik sindirim sistemi lezyonları görülen yüksek patojen form

2. *Neurotropik velojenik*: Sinirsel ve solunum sistemi bozuklukları görülen ölüm oranı yüksek form

3. *Mesojenik*: Solunum bozuklukları ve nadiren sinirsel bozuklukların görüldüğü ölüm oranı düşük form

4. *Lentojenik*: Orta şiddette veya subklinik solunum sistemi enfeksiyonunun bulunduğu form

5. *Aseptomatik enterik*: Genellikle subklinik sindirim bozukluklarının görüldüğü form

Virusun patotiplendirmesinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Avrupa Birliği Konseyi Direktifi (EU Council Directive) 92/66/EEC'e göre izole edilen ND viruslarının Intracerebral Patojenite İndeksinin (ICPI) belirlenmesi gerekmektedir. Günümüzde 'gene sequencing' yöntemi ile etkenin patojenesini belirlemek kabul edilen geçerli diğer bir yöntemdir (ANONİM, 2008). Hastalığın ND olarak bildirilmesi için; *Avian PMV-1* olarak tiplendirilmesi ve izole edilen virusun ICPI sonucu 0.7 ve üzerinde olması gerekmektedir (ANONİM, 1992).

Bu çalışmada Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Kanatlı Teşhis

Laboratuvarında 2007 yılında çeşitli kanatlı hayvanlardan izole edilen ve teyit amacıyla diğer enstitülerden gönderilen toplam 39 adet ND virusunun ICPI testi ile patotiplendirilmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot

Test edilen örnekler: Laboratuvara gelen hasta veya ölü kanatlı hayvanlardan nekropsi sırasında alınan iç organlardan hazırlanan inokulum ikiye bölünerek bir kısmı Reverse- Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), diğer kısmı ise etken izolasyonu için kullanıldı. Ayrıca teyit amacı ile diğer enstitülerden gelen allantoik sıvıdaki virus örnekleri çalışmada kullanıldı.

RT-PCR: Aldous ve ark. (2003)'nın bildirdikleri yöntem modifiye edilerek yapıldı. Şüpheli marazi maddeden ve allantoik sıvıdan ticari kit kullanılarak (Qiagen; QIAamp Viral RNA Mini Kit, 52906) RNA izolasyonu yapıldı. PCR aşaması OneStep RT-PCR kiti (Qiagen; OneStep RT-PCR kit, 210212) kullanılarak yapıldı. RT-PCR işleminde kullanılan reaksiyon hacimleri şu şekildedir: 12.5 µl 2x Rxn mix (her dNTP'den 0.4 mM, 3.2 mM MgSO₄ içermektedir) (Invitrogen; SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum Taq DNA Polymerase, 12574-026), 7,5 µl deionize su, 1 µl Taq Mix (Invitrogen; Superscript™ III RT/Paltinum Taq Mix), 1'er µl primerler (20 pmol/ µl), 2 µl templeyt olmak üzere toplam reaksiyon hacmi 25 µl'dir. Termal cyclus'da uygulanan ısı döngüleri şu şekildedir: RT; 50°C 30 dk, 95°C 15 dk, 40 siklus; 94°C 1 dk, 55°C 30 sn, 72°C 30 sn, Final uzama; 72°C 5 dk. Reaksiyon sonunda % 2 'lik agaroz jelde (Seakem; Seakem LE agarose, 50004L), 90V'da 30 dk sürüyle DNA ürünlerinin göçü sağlandı ve oluşan bantlar UV transilliminator (Ultra-violet products/UVP) ve jel dokümantasyon sistemi (Biotech Image Master-VDS+ Fuiifilm Termal Imagine System FTI-500) yardımı ile görüntüledi. Oluşan PCR ürünlerinin büyüklüğü yaklaşık 700 bp olarak belirlendi.

Tablo 1: PZR' de kullanılan primer dizinleri ve elde edilen ürün büyüklükleri.

Kullanılan primerler	Ürün Büyüklüğü
(MSF1)5'- GACCGCTGACCACGAGGTTA-3'	700 bp
(#2) 5'-AGTCGGAGGATGTTGGCAGC-3'	(Aldous ve ark., 2003)

Virus İzolasyonu: Office International Epizootics (OIE) Manual'de bildirilen yönteme göre yapıldı (Anonim, 2008). Laboratuvara gelen Avian Influenza (AI) ve/veya ND Şüpheli kanatlılara ait i  organlardan hazırlanan inokulumdan 0.1-0.2 ml 9-11 günlük embriyolu Spesifik Patogen Free (SPF) tavuk yumurtasının allantoik boŐluĐuna inokule edildi. Yumurtalar 5 gün 37°C'de inkube edildi ve embriyo ölümleri takip edildi. Ölen embriyoların allantoik sıvıları toplandı. Virusun varlığı Hemaglutinasyon (HA) testi ile değerlendirildi. Embriyo  l mlerinin ŐekillenmediĐi yumurtaların ise en az 2 kez pasajları yapıldı. Pasajların sonunda ölüm olmadığı takdirde örnekler negatif olarak değerlendirildi.

Hemaglutinasyon İnhibisyon Testi (HI): OIE Manual'de bildirilen yönteme göre yapıldı (ANONİM, 2008). HA pozitif olduğu belirlenen allantoik sıvılar Avian influenza H5, H7 ve NDV (PMV-1) spesifik standart antiserumları (VLA-Weybridge) ile test edildi.

Intracerebral Pathogenicity Index (ICPI) Testi: OIE Manual'de bildirilen yönteme göre yapıldı (ANONİM, 2008). En az 16 HAU gösteren ND virusları 1/10 sulandırıldı ve 0.1 ml/civciv olmak üzere 10 adet 1 günlük SPF civcive intracerebral olarak inokule edildi. Kontrol grubuna ise 0,1 ml PBS inokule edilerek hayvanlar izolatorlerde 8 gün süre ile gözlem altında tutuldu. Her gün düzenli olarak kontrol edilen hayvanların durumu normal: 0, hasta:1 ve  l :2 olmak üzere skorlandı. Index sonucu 0,7'den küçük olanlar lentojenik, 0.7-1.5 arası mesojenik ve 1.5'in üzeri velojenik olarak belirlendi (ALLAN ve ark., 1978).



Resim 1. ICPI testinin uygulanması.



Resim 2. ICPI testinde kullanılan izolator.

Bulgular

RT-PCR: Bu çalışmada 14 ilden gelen 75 kanatlıdan alınan marazi maddelerden hazırlan inokulumlara RT-PCR uygulandı. 75 örneğin 26 (%34.66) adeti RT-PCR ile ND (PMV-1) pozitif olarak saptandı. Ayrıca teyit amaçlı gönderilen ND Şüpheli 12 adet izolatın tamamı yapılan RT-PCR sonucunda ND pozitif bulundu.

Virus İzolasyonu: 9-11 günlük ETY'a yapılan ekimler sonucu 75 örneğin 29'unda embriyonun  ld Đu ve toplanan CAS'ların HA pozitif olduğu görüldü. Ayrıca teyit amaçlı gönderilen 12 adet ND Şüpheli izolatın da ETY'a yapılan ekimleri sonrasında, tamamının embriyoyu  ld rd Đu ve HA pozitif olduğu tespit edildi.

Hemaglutinasyon İnhibisyon Testi (HI): HA pozitif bulunan 29 izolat standart PMV-1 antiserumu kullanılarak HI ile test edildi ve 27 (%93.1)'i ND pozitif bulundu. Ayrıca teyit amaçlı gönderilen ND Şüpheli 12 izolatın tamamı HI ile ND pozitif bulundu.

Intracerebral Pathogenicity Index (ICPI) Testi: Bu çalışmada izole ve identifiye edilen 27 adet ve diğer enstitülerde izole edilip teyit ama ı ile gönderilen 12 adet olmak üzere toplam 39 adet ND virusu tiplendirildi. Köy tavuklarından izole edilen 28 ND virusunun tamamı velojenik olarak belirlendi. Evcil güvercinlerden izole edilen 5 adet ND virusunun 4'ünün mesojenik, 1'inin lentojenik olduğu tespit edildi. Yabani güvercinlerden izole edilen 5 adet NDV suşunun 2'sinin velojenik, 3'ünün

ise mezojenik, yabancı kumrularından izole edilen 2 adet ND virusunun ise mezojenik olduğu belirlendi.

Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsüne bağlı illerden AI ve ND şüphesi ile gelen 75 adet kanatlı örneğinin 27 (%36)'sinden ND(PMV-1) izole ve identifiye edildi. Bu bölgede 2007 yılında görülen ND vakalarının 16'sı (% 59.25) köy tavuklarına ait iken geri kalan ND viruslarının 5'i (% 18.51) evcil güvercin, 5'si (%)

yabancı güvercin ve 2'si (% 7.4) ise kumrudan izole edildi. Diğer Enstitülerden gönderilen 12 ND virusunun tamamı köy tavuğu kökenlidir.

Enstitüye bağlı bölgedeki köy tavuklarına ait laboratuvar sonuçları Tablo-2, evcil güvercinlere ait sonuçlar Tablo.3 ve yabancı kuşlara ait laboratuvar sonuçları Tablo 4'de verilmiştir. Ayrıca diğer enstitülerden teyit amaçlı gönderilen izolatlara ait laboratuvar sonuçları Tablo 5'de özetlenmiştir.

Tablo 2. Köy tavuklarından izole edilen ND viruslarının laboratuvar sonuçları.

N	İzolat Kodu*	Kanatlı Türü	Marazi Madde Orijini	RT-PZR	HI**	ICPI
1	ND/Chicken/TR/37/Küre-1/01.07	Tavuk	Kastamonu	+	2 ⁷	1,8250
2	ND/Chicken/ TR/ 74/Merkez-1/02.07	Tavuk	Bartın	+	2 ⁸	1,8600
3	ND/Chicken/ TR/ 67/Çaycuma-1/02.07	Tavuk	Zonguldak	+	2 ⁸	1,8620
4	ND/Chicken/ TR/ 37/Şenpazar-1/02.07	Tavuk	Kastamonu	+	2 ⁸	1,8750
5	ND/Chicken/ TR/ 37/Taşköprü-1/02.07	Tavuk	Kastamonu	+	2 ⁹	1,9300
6	ND/Chicken/ TR/ 74/Ulus-1/02.07	Tavuk	Bartın	+	2 ⁸	1,8870
7	ND/Chicken/ TR/37/Doğanyurt-1/02.07	Tavuk	Kastamonu	+	2 ⁹	1,9700
8	ND/Chicken/ TR/ 67/Çaycuma-2/02.07	Tavuk	Zonguldak	+	2 ⁸	1,7750
9	ND/Chicken/ TR/ 06/Haymana-1/03.07	Tavuk	Ankara	+	2 ¹¹	1,8870
10	ND/Chicken/ TR/ 06/Mamak-1/03.07	Tavuk	Ankara	+	2 ¹¹	1,7500
11	ND/Chicken/ TR/ 50/Avanos-1/03.07	Tavuk	Nevşehir	+	2 ⁷	1,8750
12	ND/Chicken/ TR/ 06/Kalecik-2/04.07	Tavuk	Ankara	+	2 ¹⁰	1,8750
13	ND/Chicken/ TR/ 37/Şenpazar-2//02.07	Tavuk	Kastamonu	+	2 ⁸	1,8750
14	ND/Chicken/ TR/ 53/Ardeşen-1/04.07	Tavuk	Rize	+	2 ¹⁰	1,8870
15	ND/ Chicken / TR/ 06/Çubuk-1/06.07	Tavuk	Ankara	+	2 ⁸	1,8750
16	ND/Chicken/ TR/ 74/ Merkez-2/07.07	Tavuk	Bartın	+	2 ⁹	1,9620

*: Suşların Uluslararası Referans laboratuvarında kayıtlı kodları

**I:Suşların HI titresini Avian PMV-1 antiserumu ile Log₂ 2'ye göre hesaplanmıştır.

Tablo 3. Evcil güvercinlerden izole edilen ND viruslarının laboratuvar sonuçları

İzolat Kodu	Kuş Türü	Marazi mad-denin Orijini	RT-PZR	HI**	ICPI
ND/Domestic pigeon/TR/06/Y.Mahalle-2/04.07	Güvercin	Ankara	+	2 ⁸	0,5370
ND/Domestic pigeon/TR/06/Çankaya-1/05.07	Güvercin	Ankara	+	2 ⁷	1,0125
ND/ Domestic pigeon/TR/18/Merkez-1/06.07	Güvercin	Çankırı	+	2 ⁸	0,8250
ND/ Domestic pigeon /TR/06/Altındağ-1/07.07	Güvercin	Ankara	-	2 ⁹	1,0120

*: Suşların Uluslar arası Referans laboratuvarında kayıtlı kodları

**I:Suşların HI titresini Avian PMV-1 antiserumu ile Log₂ 2'ye göre hesaplanmıştır

Tablo 4. Yabani kuşlardan izole edilen ND viruslarının laboratuvar sonuçları

İzolat Kodu	Kuş Türü	Marazi maddenin Orijini	RT-PZR	HI**	ICPI
ND/Dove/TR/ 06/Kalecik-1//02.07	Kumru	Ankara	+	2 ⁷	1,4000
ND/ Dove/TR/ 06/Etimesgut-1//02.07	Kumru	Ankara	+	2 ⁹	1,3870
ND/Wild pigeon/TR/40/Mucur-1//02.07	Güvercin	Kırşehir	+	2 ⁹	1,4750
ND/ Wild pigeon / TR/06/Sincan-1//02.07	Güvercin	Ankara	+	2 ⁸	1,4250
ND/Wild pigeon/TR/06/Y.Mahalle-1/04.07	Güvercin	Ankara	+	2 ⁸	1,9000
ND/Wild pigeon /TR/06/Altındağ-2/07.07	Güvercin	Ankara	+	2 ⁷	1,9750
ND/Wild pigeon/TR/06/Y.Mahalle-3/09.07	Güvercin	Ankara	+	2 ⁹	1,1750

*: Suşların Uluslar arası Referens laboratuvarında kayıtlı kodları

**I:Suşların HI titresi Avian PMV-1 antiserumu ile Log₂ 2'ye göre hesaplanmıştır.

Tablo 5. Diğer enstitülerden teyit amaçlı gönderilen ND viruslarının laboratuvar sonuçları

N	İzolat Kodu*	Kanatlı Türü	Marazi Madde Orijini	RT-PZR	HI**	ICPI
1	ND/Chicken/ TR/ 21/Çermik-1/02.07	Tavuk	Diyarbakır	+	2 ⁷	1,8700
2	ND/Chicken/ TR/ 72/Kozluk-1/03.07	Tavuk	Batman	+	2 ⁹	1,8870
3	ND/Chicken/ TR/ 73/Merkez-1/03.07	Tavuk	Şırnak	+	2 ⁷	1,6870
4	ND/Chicken/ TR/ 21/Dicle-1/03.07	Tavuk	Diyarbakır	+	2 ⁷	1,8870
5	ND/Chicken/ TR/ 21/Dicle-2/03.07	Tavuk	Diyarbakır	+	2 ⁷	1,9120
6	ND/Chicken/ TR/ 21/Dicle-3/03.07	Tavuk	Diyarbakır	+	2 ⁷	1,8750
7	ND/Chicken/TR/24/Kemaliye-1/03.07	Tavuk	Erzincan	+	2 ⁸	1,8750
8	ND/Chicken/ TR/ 29/Kelkit-1/03.07	Tavuk	Gümüşhane	+	2 ⁹	1,8750
9	ND/Chicken/ TR/ 76/Merkez-1/04.07	Tavuk	Iğdır	+	2 ¹²	1,5620
10	ND/Chicken/ TR/ 73/Merkez-2/04.07	Tavuk	Şırnak	+	2 ¹³	1,7370
11	ND/Chicken/ TR/ 30/Merkez-1/06.07	Tavuk	Hakkari	+	2 ⁹	1,7750
12	ND/Chicken/ TR/ 13/Merkez-1/07.07	Tavuk	Bitlis	+	2 ¹¹	1,8750

*: Suşların Uluslar arası Referens laboratuvarında kayıtlı kodları

**I:Suşların HI titresi Avian PMV-1 antiserumu ile Log₂ 2'ye göre hesaplanmıştır.

Tartışma ve Sonuç

Ülkemizde 1940'lı yıllardan beri varlığını sürdüren Newcastle hastalığı tavuklarda yapılan sistematik aşılama programlarına rağmen zaman zaman salgınlar halinde ortaya çıkmakta ve önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

ND teşhisinde virus izolasyonu halen büyük önem taşımaktadır. Ancak moleküler tekniklerin gelişmesiyle beraber virusu üretmeden varlığını ortaya koymak mümkün olmaktadır. Bu da hastalık teşhisinin çok kısa sürede yapılmasına olanak sağlar. Özellikle ND gibi pek çok salgın hastalığın çabuk ve güvenilir yöntemlerle teşhis edilmesi hastalıkla

mücadelede başarı oranını artırmaktadır. Bu çalışmada virus izolasyon yöntemi ile 39 ND pozitif sonuç alınırken RT-PCR yöntemi ile 38 örnek ND pozitif bulunmuştur. Çoğu organ ve dokularda RNA inhibitörlerinin bulunması zaman zaman yanlış negatif sonuçlara yol açmaktadır (WILDE ve ark., 1990). Ayrıca enfeksiyondan uzun bir süre sonra gelişen antikorların virusu nötralize etmesi nedeniyle etken izolasyonunun mümkün olmadığı durumlarda da RT-PCR ile teşhis yapılabileceği bildirilmektedir (GOHM ve ark., 2000). Ancak RT-PCR ile alınan sonuçların virus izolasyonu ile doğrulanması teşhisin güvenilirliğini artırmaktadır. Ayrıca

ICPI testi ile virüsü tiplendirebilmek için etken izolasyonunun yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada bir yıllık dönemde izole edilen ND virüsü sayısı dikkat çekicidir. Ancak ülkemizde ilk kez 2005 yılı sonunda görülen Avian influenza salgını ile beraber şüpheli her türlü vakanın kısa sürede ilgili makamlara bildirilmesi ve laboatuvarlara ulaştırılması, bu vakaların belirlenmesinde etkili bir faktör olarak düşünülebilir. 2007 yılında NDV izolasyonu gerçekleştirilen tavuk sürüleri arasında ticari işletme bulunmamaktadır. İzolasyonlar köy tavuklarından gerçekleştirilmiştir. Ticari işletmelerde yoğun ve düzenli aşı programları uygulanmakta ve tavuk yetiştiriciliğinin genellikle kapalı sistemlerde yapılarak yabancı kuşlarla temas asgari düzeyde tutulmaya çalışılmaktadır. Ancak köy tavuklarında düzenli aşılama, etkin bir koruma ve kontrol uygulaması bulunmamaktadır. Bu nedenle hastalığın köy tavuklarında ticari işletmelere göre daha yüksek düzeyde ortaya çıkması beklenen bir sonuçtur ve bu çalışmada elde edilen sonuçlar bu görüşü destekler niteliktedir.

Bu çalışmada köy tavuklarından izole edilen virüslerin tamamı velojenik NDV olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmaya paralel olarak; Öncel ve ark. (1997), yapmış oldukları bir çalışmada Güney Marmara bölgesindeki köy tavuklarından izole ettikleri ND virüsünün da velojenik olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada evcil ve yabancı güvercinlerdeki 9 vakada NDV izole edilmiş ve yabancı güvercinlerden izole edilen 2 NDV izolatının velojenik olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda güvercinlerde hastalığın varlığı ortaya konulmuştur (ÇÖVEN ve ark., 1999, MUTLU, 1997, ÖZDEMİR, 1992). Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda güvercinlerden izole edilen ND virüsünün patotiplendirmesi yapılmış ve velojenik oldukları bildirilmiştir (ÖNCEL ve ark., 1997; ÖZDEMİR, 1992; BARUT, 2005), yapmış olduğu çalışmada Türkiye'den izole edilen suşların İngiltere ve Çin gibi uzak ülkelerden izole edilen suşlarla yakınlığını tespit etmiş, hastalığın yayılmasında uluslar arası kanatlı ve kanatlı ürünleri ile kafes kuşları ve güvercin ticaretinin önemli yer tuttuğu fikrini (ALDOUS ve ark., 2003) destekler mahiyette sonuçlar almıştır. Türkiye'den izole edilen suşların Çin'de kazlardan izole edilen suşla benzer bulunması, hastalık etkenini vücutlarında barındırmakla

beraber klinik belirti göstermeyen su kuşlarının gerek göçleri gerekse ithalat ve ihracatları sırasında Newcastle hastalığının farklı bölgelerdeki kanatlı hayvanlara bulaştırılmasında önem arz ettiğini ve yabancı kuşlar üzerinde yapılacak kontrollerin önemini vurgulamaktadır (BARUT, 2005). Güvercinlerin hastalığın yayılmasında önemli rolleri olduğu bilinmektedir (ALEXANDER, 2003). Güvercinlerde ND salgını ilk kez 1970'li yıllarda Orta Asya'da ortaya çıkmış, 1981'de Avrupa'da görüldükten sonra hızla dünyaya yayılmıştır (KALETA ve ark., 1985; ALEXANDER ve ark., 2003). Hastalık pek çok ülkedeki evcil güvercinlerde enzootik olarak bulunmakta, yabancı güvercinler ve kumrulara yayılmaktadır. Bu nedenle hastalık, kümes hayvanlarını tehdit etmeye devam etmektedir. Yapılan bu çalışmada kumrular da ND virüsü izole edilmiştir. Çöven ve ark. 1999, yılında yapmış oldukları çalışmada kumrular da NDV izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak; ülkemizde Newcastle hastalığı köy tavuklarında önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Yabancı güvercinlerden velojenik ND virüsünün izole edilmesi hastalığın yayılmasında önemli risk teşkil etmektedir. Yabancı kuşlarda hastalığın bulunması, köy tavukları kadar ticari işletmeler içinde önemli bir tehdit unsurudur. Ülkemizde yabancı kuşlarda hastalığın durumunun araştırılması ve bu çalışmada izole edilen suşların filogenetik analizlerinin yapılması gerek ülkemizde gerekse dünyada hastalığın epidemiyolojik durumunun belirlenmesine önemli katkılar sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Akan M, Keskin O, İlhan Z, Dakman A, Kökçü L, (1999). *Newcastle Hastalığına Karşı Aşılama Denemeleri*. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 46 (2-3), 242-248
2. Aldous EW, Fuller CM, Mynn JK and Alexander D.J. (2004). *A molecular epidemiological investigation of the variant avian paramyxovirus type 1 virus (PPMV-1) responsible for the 1978 to present panzootic in pigeons*. Avian Pathol 32 (2), 258-269.
3. Aldous EW, Mynn JK, Banks J, Alexander DJ, (2003). *A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene*. Avian Pathol 32, 239-257.
4. Aldous EW, Alexander DJ, (2001). *Detection and differentiation of Newcastle disease virus (avian paramyxovirus type 1)*. Avian Pathol., 30, 117-128.
5. Alexander DJ, (2003). *Newcastle Disease, Other Avian Paramyxoviruses, and Pneumovirus Infections*. Saif

- Y.M.ed. Disease of Poultry. 11th Edition Iowa State Press. p.63-87
6. **Allan WH, Lancaster JE, Toth B**, (1978). *Newcastle disease vaccines*. FAO
 7. **Anonim**, (1986). *Avian Paramyxovirus Type 1(NDV) Infection in Pigeons and Spread to Domestic Poultry in Great Britain*. MAFF,CVL Report
 8. **Anonim**, (2008). *Newcastle disease* in OIE Manual of Standard's for Diagnostic tests and vaccines. 576-589. Erişim: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.03.14_NEWCASTLE_DIS.pdf
 9. **Anonim**, (1992). *Introducing Community measures for the control of Newcastle disease* in Council Directive 92/66/EEC
 10. **Barut T**, (2005). Kanatlı hayvanlarda Newcastle hastalığı viruslarının reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) ile teşhisi ve moleküler karakterizasyonu. Doktora Tezi, AÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
 11. **Çöven F, Alexander DJ, Mısırhoğlu Z, Özdemir İ**, (1999). *Güvercinlerde Paramyxovirus-1 Enfeksiyonunun Araştırılması*. Bornova Vet Kont Araşt Enst Derg 24, 1-10.
 12. **Çöven F, Çarlı T**, (1997). *Gumboro salgınlarında Reovirus, Adenovirus ve Newcastle hastalığı virus izolasyonu*. Pendik Vet Kont Araşt Enst Yayını 2, 153-161.
 13. **Çöven F, Ruth Manvell, Orhan G, Çöven N, Genç A**, (2004). *Yumurtacı ve broyler sürülerde görülen Newcastle Hastalığı olgularından Avian Paramyxovirusların izolasyonu ve identifikasyonu*. VI.Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi. Kongre Özet Kitabı , 222.
 14. **Gohm DS, Thur B, Hofmann MA**, (2000). *Detection of Newcastle virus in organs and faeces of experimentally infected chickens using RT-PCR*. Avian Pathol. 29, 143-152.
 15. **Jordan FT**, (1996). *Poultry Disease*. Fourth edition. WB Saunders Company Ltd. London, p.469-483.
 16. **Kaletta EF, Alexander DJ, Russel PH**, (1985). *The first isolation of the avian PMV-1 virus responsible for the current panzootic in pigeons*. Avian Pathol 553-557.
 17. **Meulemans G, van den Berg TP, Decaesstecker M, Boschmans M**, (2002). *Evolution of pigeon Newcastle disease virus strains*. Avian Pathol 31, 515-519.
 18. **Mutlu ÖF**, (1997). *Evcil güvercinlerde (Columba Livia Gmel.1789 var.Domestica) Paramyxovirus -1 enfeksiyonları üzerine seroepidemiolojik çalışmalar*. Bornova Vet. Kontr ve Araşt Enst Md Derg, 22 (36), 73-84.
 19. **Öncel T, Alexander DJ, Manvell RJ, Türe O**, (1997). *Characterization of Newcastle Diseases Viruses isolated from chickens and pigeons in the South Marmara region of Turkey*. Avian Path 26, 129-137.
 20. **Özdemir İ**, (1992). *Current new-castle disease situation in Turkey*. Workshop On Avian Paramyxovirus. Proceedings. Rauschholzhausen, July, 27-29;109-116. Germany
 21. **Wilde J, Eiden J, Yolken R**, (1990). *Removal of inhibitory substances from human fecal specimens for detection of group A Rotaviruses by reverse transcriptase and p.c.r*. J. Clin Microbiol 28,1300-1307.